

Padronização de modelo experimental adequado a estudos do efeito do exercício na artrite

Standardization of an experimental model suitable for studies on the effect of exercise on arthritis

Raquel Pinheiro Gomes¹, Elisângela Bressan², Tatiane Morgana da Silva¹, Monique da Silva Gevaerd¹, Carlos Rogério Tonussi², Susana Cristina Domenech¹

RESUMO

Objetivo: Padronizar um modelo experimental de monoartrite crônica induzida por adjuvante completo de Freund apropriado à análise do efeito da deambulação na nocicepção e no edema articular. **Métodos:** Foram avaliados os seguintes fatores para a indução da monoartrite: via e local de administração, número e intervalo das inoculações, espécie de micobactéria e gênero dos animais. Para tanto, ratos Wistar machos e fêmeas (200 a 250g) receberam duas injeções de adjuvante completo de Freund contendo *Mycobacterium tuberculosis* (1,0mg/mL; 50µL) ou *Mycobacterium butyricum* (0,5mg/mL; 50µL) intra-articular nas articulações tibiotársica ou tibiofemural ou, ainda, uma injeção de adjuvante completo de Freund (*Mycobacterium butyricum* ou *tuberculosis*) intradérmica na base da cauda e outra intra-articular (tibiotársica ou tibiofemural). Os animais foram submetidos à avaliação da incapacitação e edema articulares. A incapacitação articular foi avaliada pelo tempo de elevação da pata (em segundos) durante a marcha de 1 minuto. O edema da articulação tibiofemural foi avaliado pela variação do diâmetro articular (cm). O edema da articulação tibiotársica foi medido pelo volume da pata (mL). **Resultados:** A administração de adjuvante completo de Freund, contendo *Mycobacterium butyricum*, aumentou o tempo de elevação da pata e o edema, em ambas as articulações. **Conclusão:** Esses dados possibilitaram a padronização de um modelo animal de monoartrite crônica, adequado à análise dos efeitos do exercício no tratamento da artrite reumatoide.

Descritores: Artrite experimental; Edema; Modelos animais; Nociceptividade; Adjuvante de Freund/administração & dosagem; Exercício; Wistar

ABSTRACT

Objective: To standardize an experimental model of chronic monoarthritis induced by complete Freund's adjuvant appropriate

for the analysis of the effect of walking on nociception and on joint edema. **Methods:** The following factors were evaluated as to monoarthritis induction: route and site of administration, number and interval of inoculations, *Mycobacterium* species, and animal gender. Wistar male and female rats (200 to 250g) received two injections of complete Freund's adjuvant containing *Mycobacterium tuberculosis* (1.0mg/mL; 50µL) or *Mycobacterium butyricum* (0.5mg/mL; 50µL) intra-articularly in the tibiotarsal or tibiofemoral joints, or an injection of complete Freund's adjuvant (*Mycobacterium butyricum* or *tuberculosis*) intradermally at the base of the tail and another intra-articularly (tibiotarsal or tibiofemoral). The animals were submitted to evaluations of articular disability and edema. Articular disability was assessed by paw elevation time (in seconds) during the one-minute walk test. Edema of the tibiofemoral joint was assessed by variation of joint diameter (cm). Tibiotarsal joint edema was measured by the volume of the paw (mL). **Results:** Administration of complete Freund's adjuvant containing *Mycobacterium butyricum* increased paw elevation time and edema in both joints. **Conclusion:** These data allow standardization of an animal model of chronic monoarthritis adequate for analysis of the effects of exercise on treatment of rheumatoid arthritis.

Keywords: Arthritis, experimental; Edema; Models, animal; Nociception; Freund's adjuvant/administration & dosage; Exercise; Wistar

INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é um processo inflamatório crônico e sistêmico, que destrói gradativamente a sinóvia e as estruturas periarticulares⁽¹⁻³⁾. A dor e o edema articulares são os principais sintomas^(4,5), gerando limitações no movimento, restrições funcionais e declínio dos sistemas musculoesquelético, cardiopulmonar e neuromuscular⁽⁶⁾. Estudos têm evidenciado que a

Estudo realizado na Universidade do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil.

¹ Universidade do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil.

² Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil.

Autor correspondente: Susana Cristina Domenech – Rua Pascoal Simone, 380 – Coqueiros – CEP: 88080-350 – Florianópolis, SC, Brasil – Tel.: (48) 3321-8681 – E-mail: scdomenech@gmail.com

Data de submissão: 27/6/2012 – Data de aceite: 16/11/2012

Conflito de interesse: não há.

prática regular de exercício atenua a resposta inflamatória, a dor e o edema articulares, contribuindo para a restauração da amplitude de movimento articular, força muscular e melhora das condições cardiovasculares⁽⁶⁻⁸⁾, porém, seu efeito ainda não foi totalmente esclarecido.

Com a finalidade de estudar a etiopatogenia da artrite e de buscar diferentes tratamentos, inúmeros modelos experimentais que representam a artrite humana têm sido desenvolvidos durante anos^(4,9-27). Dentre os modelos experimentais de AR desenvolvidos⁽⁹⁻²⁶⁾ destaca-se a artrite induzida por adjuvante completo de Freund (CFA)^(9,10-17,19,22,23,25,26). Em modelos animais, a manifestação e a severidade dos sintomas podem variar em função do gênero do animal utilizado, via e local de administração, espécie de micobactéria, número e intervalo das inoculações^(9-17,19,22,23,25,26). Dessa forma, a realização de um estudo sobre os efeitos do exercício nos sintomas da artrite induzida por adjuvante requer, primeiramente, a padronização de um modelo animal adequado a essa finalidade.

OBJETIVO

Padronizar um modelo experimental de monoartrite crônica induzida por CFA em ratos, para análise do efeito da deambulação na nocicepção e no edema articular.

MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 30 ratos Wistar, sendo 18 machos, com 60 dias de idade (200 a 250g), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os animais foram mantidos em condições controladas de umidade e temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), com ciclo claro/escuro de 12 horas e livre acesso a água e ração. Os experimentos foram conduzidos conforme as diretrizes éticas da Associação Internacional para o Estudo da Dor e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSC (protocolo 100/CEUA/PRPe/2007).

Drogas e reagentes

Neste estudo, foram utilizados: CFA *Mycobacterium tuberculosis* (1mg/mL, Sigma®) ou *Mycobacterium butyricum* (0,5mg/mL, Difco®); solução isotônica de cloreto de sódio (0,9%, Aster®); gás halotano (250mL, 1:1_{v/v}, 2 a 4% diluído em O₂ hospitalar, Cristália®); álcool iodado (1%, Rialcool®); e solução aquosa de sulfato de lauril (2,5% Vetec®).

Teste de incapacitação articular

A incapacitação articular foi mensurada por meio do tempo (segundos) de elevação da pata (TEP) dos animais, com o auxílio do sistema de registro proposto por Tonussi e Ferreira⁽²¹⁾, que avalia a nocicepção. Nessa análise, os animais foram submetidos à deambulação forçada em um cilindro de aço inox (30x30cm) em velocidade constante (3 rpm) por 60 segundos. Sapatilhas metálicas foram ajustadas nas patas traseiras, sendo que apenas a sapatilha da pata direita foi conectada a um computador, que registrou o tempo total que esta ficava sem tocar a superfície do cilindro durante o teste. Uma semana antes do início do experimento, os animais foram habituados ao procedimento de deambulação pelo tempo suficiente para aprenderem a se manter no topo do cilindro em movimento. Uma hora antes do teste, foi feita a habituação com as sapatilhas. O TEP de animais sem nenhum tratamento intra-articular é de aproximadamente 10 segundos⁽²⁰⁾. O aumento do TEP após a injeção intra-articular de agentes flogísticos indica desenvolvimento de incapacitação articular⁽²⁰⁾.

Avaliação do edema articular

A avaliação do edema da articulação tibiofemural (TF) foi realizada com o auxílio de um paquímetro analógico (precisão de 0,05mm) pelo registro da variação do diâmetro articular (DA) em centímetros⁽¹⁵⁾. A avaliação do edema da articulação tibiotársica (TT) foi realizada com o auxílio de uma cubeta plástica preenchida com sulfato de lauril (2,5%) em água, acoplada a uma balança eletrônica de precisão (Acculab, V-121). A pata do animal foi submersa até imediatamente acima da articulação TT. Registrou-se o deslocamento da coluna líquida dentro da cubeta, em mililitros. Cada 1mL de líquido deslocado na cubeta correspondia a 1g de peso da pata⁽²⁷⁾.

Os registros de TEP e edema foram realizados imediatamente antes do estímulo com CFA (medida basal) e posteriormente até o final de cada experimento. As medidas de edema foram realizadas antes da análise do TEP.

Procedimentos experimentais

O estudo foi realizado no Laboratório de Neurobiologia da Nocicepção (LANEN) do Departamento de Farmacologia da UFSC. Para desenvolver o modelo de artrite, foram testados diferentes procedimentos, variando-se a via e o local de administração (TF, na região do ligamento suprapatelar, ou TT, região lateral da articulação); a espécie de micobactéria; o número e o intervalo das inoculações e o gênero dos animais. Para tanto, foram rea-

lizados cinco experimentos, nos quais foram avaliados a incapacitação e o edema articulares até que os valores retornassem ao basal (final do experimento).

Experimento 1

Para definir o número de administrações de CFA necessárias para promover uma artrite crônica, 6 ratos machos receberam 2 injeções de CFA (intra-articular) contendo *Mycobacterium tuberculosis* (1mg/mL; 50 μ L) na articulação TF com um intervalo de 8 dias entre cada injeção. O TEP e DA foram avaliados diariamente até o 19^o dia e a cada 2 dias, até o 29^o dia de experimento.

Experimento 2

Para definir a via de administração e o intervalo entre as inoculações, seis ratos machos receberam uma injeção intradérmica de CFA contendo *Mycobacterium tuberculosis* (1mg/mL; 50 μ L) na base da cauda e na articulação TF (intra-articular, 50 μ L), após 21 dias. O TEP e DA foram avaliados diariamente até o 28^o dia e a cada 2 dias até o 42^o dia.

Para verificar diferenças no comportamento da indução de artrite ao modificar o gênero dos animais, a espécie de micobactéria empregada e o tipo de articulação, foram realizados os experimentos 3 a 5.

Experimento 3

Seis ratos machos receberam uma injeção de CFA contendo *Mycobacterium tuberculosis* (1mg/mL; 50 μ L) na base da cauda (intradérmica) e outra na articulação TT (intra-articular, 50 μ L), após 21 dias. O TEP e edema foram avaliados diariamente até o 28^o dia e a cada 2 dias, até o 39^o dia.

Experimento 4

Seis ratos fêmeas receberam uma injeção de CFA contendo *Mycobacterium butyricum* (0,5mg/mL; 50 μ L) na base da cauda (intradérmica) e outra na articulação TT (intra-articular, 50 μ L), após 21 dias. O TEP e edema foram avaliados diariamente até o 28^o dia e a cada 2 dias, até o 45^o dia.

Experimento 5

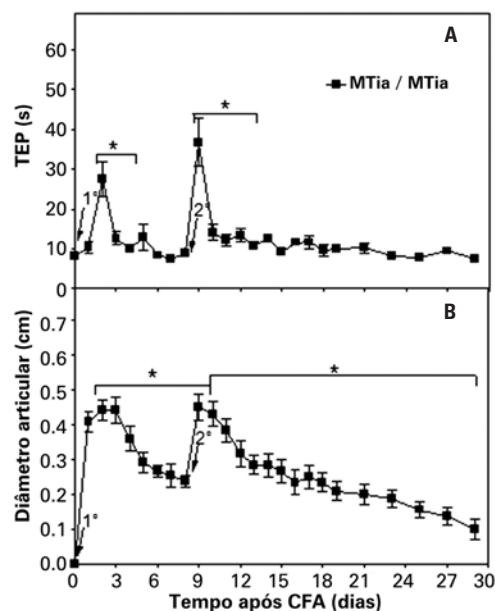
Seis ratos fêmeas receberam uma injeção de CFA contendo *Mycobacterium butyricum* (0,5mg/mL; 50 μ L) na base da cauda (intradérmica) e outra na articulação TF (intra-articular, 50 μ L), após 21 dias. O TEP e DA foram avaliados diariamente até o 27^o dia e a cada 2 dias, até o 44^o dia.

Análise estatística

O teste de Shapiro-Wilk e o teste de Levene foram aplicados para verificação da normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias, respectivamente. O teste *t* de Student pareado foi utilizado nas comparações entre os valores basais e os obtidos diariamente para o TEP e o edema. Para as análises foi utilizado o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) para Windows®, versão 19.0, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Na figura 1, observa-se que a primeira administração (intra-articular) de CFA promoveu aumento do TEP e DA. O pico da curva ocorreu no segundo dia (TEP=27,4 \pm 4,23 segundos, 234% dos níveis basais; DA=0,44 \pm 0,03cm, 44% dos níveis basais). Posteriormente, houve queda da incapacitação, verificando-se ausência de significância estatística em relação ao nível basal a partir do 5^o dia, retornando a 2,02% dos níveis basais no 6^o dia (TEP=8,83 \pm 0,33 segundos). O DA diminuiu em torno do 7^o dia (DA=0,25 \pm 0,03cm, 25% acima dos níveis basais), demonstrando tendência a manter tal comportamento. Considerando que uma única administração não foi eficiente para a obtenção de uma artrite persistente, efetuou-se uma segunda administração (intra-articular) de CFA após 8 dias. Após 24 horas do segundo estímulo, houve novo aumento da incapacitação



*p=0,05, teste *t* pareado.

Figura 1. Efeito de duas administrações intra-articulares (intra-articular, 0^o e 8^o dia, setas 1^o e 2^o) de adjuvante completo de Freund contendo *Mycobacterium tuberculosis* (MT), na articulação tibiofemoral de ratos machos (MTia/MTia, n=6), sobre (A) incapacitação e (B) diâmetro articular

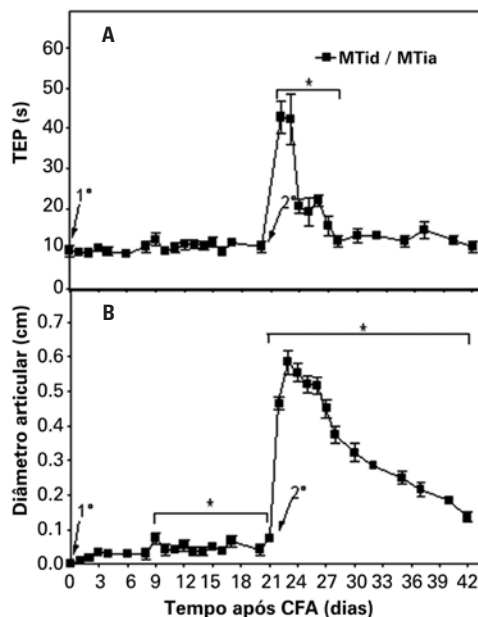
(TEP=36,68±6,06 segundos, 346% dos níveis basais) e do edema (DA=0,45±0,03cm, 45% dos níveis basais). Esses dados evidenciaram a necessidade de duas inoculações para promover algum efeito considerável nos parâmetros TEP e DA. Entretanto, observou-se diminuição nos valores de ambos os parâmetros, perdendo a significância estatística a partir do 13º dia para TEP e no 29º dia para o DA.

A figura 2 mostra os resultados da investigação da via de administração e do intervalo entre inoculações sobre os parâmetros avaliados. A primeira injeção de CFA (intradérmica) alterou significativamente apenas os valores de DA (a partir do 9º dia). Entretanto, a segunda estimulação com CFA (intra-articular) promoveu uma elevação do TEP e DA, cujo máximo foi observado no 22º dia para a incapacitação (TEP=42,70±3,98 segundos, 356% dos níveis basais) e no 23º dia para o edema (DA=0,58±0,03cm, 58% dos níveis basais). Em seguida, verificou-se diminuição progressiva da incapacitação, perdendo significância estatística a partir do 28º dia. Em contrapartida, apesar da diminuição gradativa observada no DA, os valores médios apresentaram diferenças significativas em relação aos níveis basais até o final do experimento. Comparando-se tais resultados com os do experimento anterior, verificou-se que, após a segunda inoculação de CFA, o TEP foi um pouco mais elevado e duradouro. Quanto ao DA, verificou-se que a

injeção intradérmica de CFA provocou uma sensibilização dos animais promovendo um aumento significativo do efeito para a segunda inoculação. Com esses dados, padronizaram-se o intervalo (21 dias) e a via de indução de artrite (uma administração intradérmica de CFA seguida de outra intra-articular).

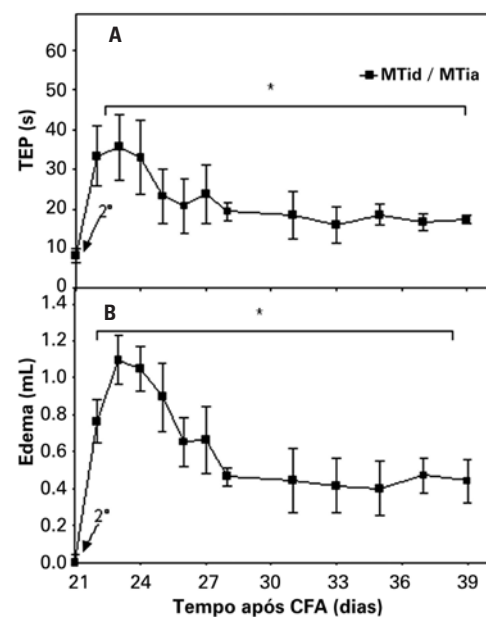
Na figura 3 encontram-se os dados da investigação da articulação mais adequada para indução da artrite crônica. Observou-se que a segunda estimulação com CFA na articulação TT promoveu aumento do TEP e do edema a partir do 22º dia, com valores máximos no 23º dia (TEP=35,58±8,23 segundos, 209% dos níveis basais; edema=1,09±0,13mL, 109% dos níveis basais). Posteriormente, foi verificada uma queda progressiva nos valores do TEP e edema, perdendo significância estatística a partir 37º dia. No entanto, observou-se edema com aspecto necrótico em três animais, que foram sacrificados antes da conclusão do experimento. Comparando-se esses resultados com os obtidos no experimento 2, verificou-se que, para essa micobactéria (*Mycobacterium tuberculosis*), a articulação TT foi menos adequada, produzindo uma artrite severa, em relação à articulação TF.

A avaliação do efeito da espécie de micobactéria e do gênero dos animais sobre os parâmetros TEP e edema estão ilustrados na figura 4. Nesse experimento, somente após a segunda estimulação com CFA, foi observado au-



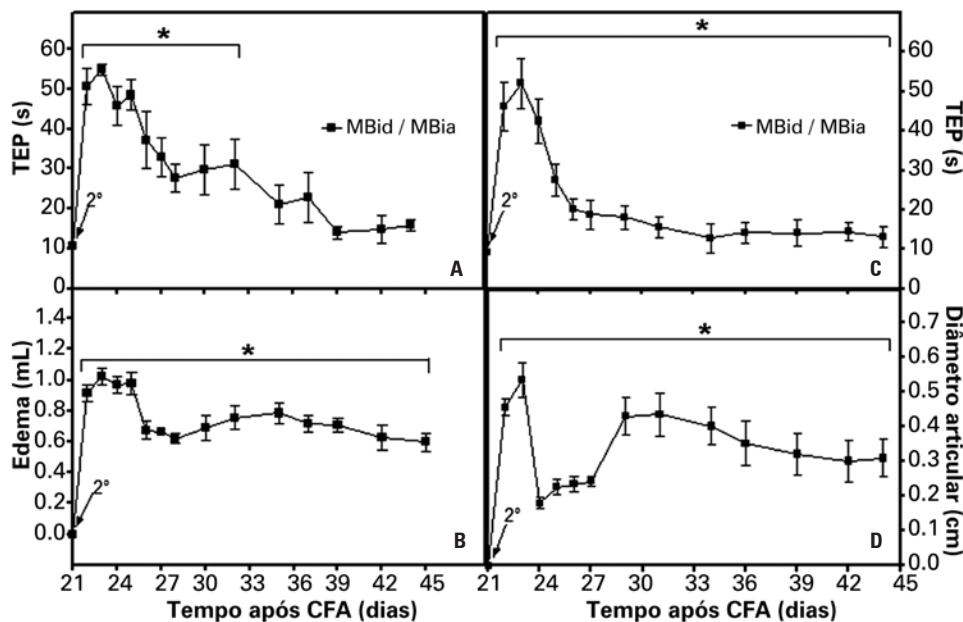
* p=0,05, teste t pareado.

Figura 2. Efeito da administração de adjuvante completo de Freund contendo *Mycobacterium tuberculosis* (MT) na base da cauda (intradérmica, 0º dia, seta 1º) e na articulação tibiofemural (intra-articular, 21º dia, seta 2º) de ratos machos (MTid/MTia, n=6), sobre (A) incapacitação e (B) diâmetro articular



* p=0,05, teste t pareado.

Figura 3. Efeito da administração de adjuvante completo de Freund contendo *Mycobacterium tuberculosis* (MT) na base da cauda (intradérmica, 0º dia, seta 1º) e na articulação tibiotársica (intra-articular, 21º dia, seta 2º), de ratos machos (MTid/MTia, n=3), sobre (A) incapacitação e (B) edema articular



* $p=0,05$, teste t pareado.

Figura 4. Efeito da administração de adjuvante completo de Freund contendo *Mycobacterium butyricum* (MB) com a segunda estimulação (intra-articular, 21º dia, seta 2º) na articulação tibiotársica (lado esquerdo: A e B) ou na tibiofemural (lado direito: C e D) de ratos fêmeas (MBid/MBia, n=6), sobre incapacitação (acima: A e C) e edema (abaixo: edema articular em B; diâmetro articular em D)

mento significativo do TEP e edema. Esses valores atingiram máximos no 23º dia (TEP=54,8±1,40 segundos, 319% dos níveis basais; edema=1,02±0,05mL, 188% dos níveis basais), reduzindo após o 25º dia. Foi observada perda da significância estatística em relação aos valores basais a partir do 35º dia de experimento para o TEP. Já o edema, apesar de apresentar um decréscimo nos valores, estes permaneceram significativamente acima dos valores basais até o final do experimento (Figuras 4A e 4B). Com o uso de fêmeas e da *Mycobacterium butyricum* foi possível observar indução de monoartrite duradoura, para a articulação TT, de características menos severas que as observadas no experimento 3.

As figuras 4C e 4D apresentam o resultado da investigação da monoartrite por *Mycobacterium butyricum* na articulação TF em fêmeas. Verificou-se que a segunda estimulação com CFA promoveu aumento do TEP e do DA. Esses valores atingiram o máximo no 23º dia de experimento (TEP=51,3±6,22 segundos, 467% dos níveis basais; DA=0,53±0,04mL, 53% dos níveis basais), tendo redução iniciada no 24º dia. Entretanto, os valores de ambos os parâmetros apresentaram diferenças significativas em relação aos respectivos valores basais até o final do experimento (44º dia). Tais resultados indicam que a segunda injeção na articulação TF provocou uma artrite duradoura, pois, apesar dos resultados do teste de incapacitação indicarem que a nocicepção reduziu ao longo do estudo, o edema permaneceu estável até o final do experimento.

DISCUSSÃO

Segundo Wauben et al.⁽²²⁾, a dose ideal para indução de artrite severa é de 0,1mL de micobactéria a 10,0mg/mL e, para casos menos severos, 1,0 a 5,0mg/mL. As indicações do volume de adjuvante, da via de administração e da articulação utilizada em ratos variam entre os estudos: Nagakura et al.⁽¹⁷⁾ e Cook e Moore⁽¹²⁾ injetaram 100µL de CFA (5,0mg/mL, *Mycobacterium butyricum*) intraplantares; Zhang et al.⁽²⁵⁾ utilizaram 100µL de CFA (0,5mg/mL, *Mycobacterium tuberculosis*) na base da cauda, intradérmicos; Zheng et al.⁽²⁶⁾ empregaram 100µL de adjuvante, (10mg/mL, *Mycobacterium tuberculosis*), também na base da cauda, intradérmicos; Yu et al.⁽⁴⁾ utilizaram 125µL de CFA (250µg, *Mycobacterium butyricum*), no joelho; Sharif Naeini et al.⁽¹⁸⁾ injetaram 25µL de CFA (135µg/mL, *Mycobacterium butyricum*), na articulação do tornozelo. Todos obtiveram indução de artrite por adjuvante satisfatória aos seus propósitos.

Neste estudo, a concentração de CFA, segundo o tipo de micobactéria e o volume injetado, considerou as particularidades do teste de incapacitação articular (deambulação forçada). A indução de uma artrite severa prejudicaria a realização do teste, entretanto, a artrite teve que ser duradoura para permitir a avaliação de um tratamento em futuros estudos.

Inicialmente, verificou-se a necessidade de duas inoculações de CFA intra-articular, para promover efei-

to considerável nos parâmetros TEP e DA. A literatura evidencia que a administração de 100 e 150 μ L de CFA (1mg/mL, *Mycobacterium tuberculosis*) na articulação do joelho causa hiperalgesia e edema por 14 e 90 dias, respectivamente⁽²⁴⁾. Yu et al.⁽⁴⁾ administraram 125 μ L de CFA (250 μ g, *Mycobacterium butyricum*) na articulação do joelho, observando hiperalgesia e edema por 20 a 30 dias. Adicionalmente, Donaldson et al., demonstraram que os efeitos intra-articulares de CFA são dose-dependentes⁽¹⁴⁾. Apesar da diferença na concentração e no volume de administração de CFA em relação ao presente estudo, estes autores não analisaram dor espontânea ao movimento.

O uso de uma injeção de CFA (*Mycobacterium tuberculosis*) na base da cauda (intradérmica), foi baseada nos achados de Wauben et al.⁽²²⁾, que sugerem esta como a via preferencial de imunização. Porém, esta não promoveu sinais significativos de dor e edema. Somente após a segunda injeção de CFA, na articulação TF, verificou-se um TEP um pouco mais duradouro e o DA elevado. Por outro lado, na articulação TT, houve edema com aspecto necrótico na pata. Portanto, a injeção de CFA *Mycobacterium tuberculosis* na articulação TT foi menos adequada em relação à articulação TF, por ter produzido uma artrite muito severa. Cai et al.⁽¹¹⁾ e Zheng et al.⁽²⁶⁾ induziram artrite por uma única injeção intradérmica de 100 μ L de CFA (5,0mg/mL, *Mycobacterium tuberculosis*), na base da cauda de ratos Lewis. Contudo, esses autores não descreveram detalhadamente as técnicas de manipulação e doses de *Mycobacterium tuberculosis* que influenciaram na indução e na gravidade da indução da artrite^(11,26).

Os resultados obtidos para verificar o efeito da espécie de micobactéria e do gênero dos animais sobre os parâmetros estudados demonstraram novamente aumento significativo do TEP e edema somente após a segunda estimulação, em ambas as articulações. Banik et al.⁽²⁸⁾ demonstraram que os sinais inflamatórios e artríticos, após injeção de *Mycobacterium butyricum* na base da cauda, apareceram forma mais precoce, severa e consistente em ratos Lewis. No entanto, Costa et al.⁽¹³⁾ realizaram uma indução de artrite com injeção de 50 μ L de CFA (5mg/mL, *Mycobacterium butyricum*) na base da cauda de ratos *Wistar*, observando edema por 25 dias na articulação TT. Resultados similares de hiperalgesia e edema foram encontrados por Sharif Naeini et al.⁽¹⁸⁾, após injeção de 25 μ L de CFA, contendo 135 μ g/mL de *Mycobacterium butyricum*, na articulação TT⁽¹⁸⁾.

Com o uso de fêmeas e da *Mycobacterium butyricum* foi possível observar a indução de uma monoartrite duradoura, para as articulações TT e TF, com características menos severas que as observadas com a

Mycobacterium tuberculosis e com o uso de machos. A influência do gênero tem sido reportada em alguns estudos para algumas raças de ratos, porém não há restrição significativa do gênero na suscetibilidade da artrite^(11,22).

Em relação ao número de inoculações, Buttler et al.⁽¹⁰⁾ administraram seis injeções de CFA (300mg/0,05mL, *Mycobacterium butyricum*) na articulação TT, sugerindo esse modelo para estudos de artrite crônica e reforçando a necessidade de realização de mais de uma inoculação com CFA para o desenvolvimento de estudos a longo prazo. Entretanto, foram suficientes duas doses de CFA (*Mycobacterium butyricum*) para aumentar o TEP e o edema de forma persistente, em ambas as articulações estudadas. Esses dados possibilitaram a padronização de um modelo animal de artrite induzida por CFA, adequado à análise do efeito da deambulação na nocicepção e no edema articular, permitindo o desenvolvimento de futuros estudos na avaliação do exercício no tratamento da AR.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, observou-se que o modelo de indução de artrite por CFA adequado à análise do efeito da deambulação na nocicepção e no edema articular apresenta as seguintes características: duas inoculações de CFA contendo *Mycobacterium butyricum*, sendo a primeira injeção intradérmica e realizada na base da cauda 21 dias antes da segunda, esta intra-articular, na articulação TF ou TB, tanto em ratos *Wistar* machos quanto em fêmeas. Considerando que os testes de incapacitação articular e de medição de edema são importantes na avaliação da efetividade do exercício como tratamento da artrite, a padronização do modelo adequado a essas análises são relevantes aos nossos propósitos. Conclui-se que este modelo animal de indução de artrite é adequado para o estudo em deambulação, permitindo o desenvolvimento de futuros estudos para a avaliação do exercício no tratamento da AR.

REFERÊNCIAS

1. Can C, Cinar MG, Koşay S, Evinç A. Vascular endothelial dysfunction associated with elevated serum homocysteine levels in rat adjuvant arthritis: effect of vitamin E administration. *Life Science*. 2002;71(1):401-10.
2. Khurana R, Berney SM. Clinical aspects of rheumatoid arthritis. *Pathophysiology*. 2005;12(3):153-65.
3. Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*. 2003;423(1):356-61.
4. Yu YC, Koo ST, Kim CH, Lyu Y, Grady JJ, Chung JM. Two variables that can be used as pain indices in experimental animal models of arthritis. *J Neurosci Methods*. 2002;115(1):107-13.
5. Schaible HG, Grubb BD. Afferent and spinal mechanisms of joint pain. *Pain*. 1993;55(1):5-54.

6. Iversen MD. Physical therapy for older adults with arthritis: what is recommended? In *J Clin Rheumatol*. 2010;5(1):37-51.
7. Lana AC, Paulino CA, Gonçalves ID. Efeitos dos exercícios físicos sobre o edema inflamatório agudo em ratos Wistar. *Rev Bras Med Esporte*. 2008;14(1):33-7.
8. Benhamou MA. Reconditioning in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Réadapt Méd Phys*. 2007;50(1):382-5.
9. Carrette S. Management of Rheumatoid Arthritis. *Can Fam Phys*. 1984;30:1363-8.
10. Butler SH, Godefroy F, Besson JM, Weil-Fugazza J. Increase in "pain sensitivity" induced by exercise applied during the onset of arthritis in a model of monoarthritis in the rat. In *J Phys React*. 1991;13(6):299-303.
11. Cai X, Wong YF, Zhou H, Liu ZQ, Xie Y, Jiang ZH, et al. Manipulation of the induction of adjuvant arthritis in Sprague-Dawley rats. *Inflamm Res*. 2006;55(9):368-77.
12. Cook CD, Moore KI. Effects of sex, hindpaw injection site and stimulus modality on nociceptive sensitivity in arthritic rats. *Physiol Behav*. 2006;87(3):552-62.
13. Costa MC, Sutter P, Gybels J, Van Hees J. Adjuvant-induced arthritis in rats: a possible model of chronic pain. *Pain*. 1981;10(2):173-85.
14. Donaldson LF, Seckl JR, Mcqueen DS. A discrete adjuvant-induced monoarthritis in the rat: effects of adjuvant dose. *J Neurosci Methods*. 1993;49(1-2):5-10.
15. Faria TJ, Souza-Silva E, Oliveira DT, Senna EL, Tonussi CR. Evaluation of the pro-inflammatory potential of nanostructured drug carriers in knee-joints of rats: effect on nociception, edema, and cell migration. *J Pharm Sci*. 2009;98(12):4844-51.
16. Iigo Y, Takashi T, Tamatani T, Miyasaka M, Higashida T, Yagita H, et al. ICAM-1-dependent pathway is critically involved in the pathogenesis of adjuvant arthritis in rats. *J Immunol*. 1991;15(12):4167-71.
17. Nagakura Y, Okada M, Kohara A, Kiso T, Toya T, Iwai A, et al. Allodynia and hyperalgesia in Adjuvant-Induced Arthritic rats: Time course of progression and efficacy of analgesics. *J Pharm Exp Ther*. 2003;306(2):490-7.
18. Sharif Naeini R, Cahill CM, Ribeiro-da-Silva A, Ménard HA, Henry JL. Remodelling of spinal nociceptive mechanisms in an animal model of monoarthritis. *Eur J Neurosci*. 2005;22(8):2005-15.
19. Pearson CM. Development of arthritis, peri-arthritis and periostitis in rats given adjuvants. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1956;91(1):95-101.
20. Tonussi CR, Ferreira SH. Tumor necrosis factor-alpha mediates carrageenin-induced knee-joint incapacitation and also triggers overt nociception in previously inflamed rat knee-joints. *Pain*. 1999;82(1):81-7.
21. Tonussi CR, Ferreira SH. Rat knee-joint carrageenin incapacitation test: an objective screen for central and peripheral analgesics. *Pain*. 1992;48(3):421-7.
22. Wauben MH, Wagenaar-Hilgers JP, Wan Eben W. Adjuvant arthritis. In: Cohen IR, Miller A. *Autoimmune diseases models: a guide book*. United States: Academic Press; 1994. p. 211-6.
23. Whitehouse MW. Adjuvant arthritis 50 years on: The impact of the 1956 article by C. M. Pearson, 'Development of arthritis, peri-arthritis and periostitis in rats given adjuvants'. *Inflamm Res*. 2007;56(4):133-8.
24. Wilson AW, Medhurst SJ, Dixon CI, Bontoft NC, Winyard LA, et al. An animal model of chronic inflammatory pain: Pharmacological and temporal differentiation from acute models. *Eur J Pain*. 2006;10(6):537-49.
25. Zhang L, Mia MY, Zheng CL, Hossain MA, Yamasaki F, Tokunaga O, et al. The preventive effects of incomplete Freund's adjuvant and other vehicles on the development of adjuvant-induced arthritis in Lewis rats. *Immunology*. 1999;98(1):267-72.
26. Zheng C, Hossain A, Kukita A, Ohki K, Satoh T, Kohashi O. Complete Freund's adjuvant suppresses the development and progression of pristane-induced arthritis in rats. *Clinical Immunol*. 2002;103(2):204-29.
27. Daher J B, Melo MD, Tonussi CR. Evidence for a spinal serotonergic control of the peripheral inflammation in the rat. *Life Sci*. 2005;76(20):2349-59.
28. Banik RK, Kasai M, Mizumura K. Reexamination of the difference in susceptibility to adjuvant-induced arthritis among LEW/Crj, Slc/Wistar/ST and Slc/SD rats. *Exp Anim*. 2002;51(2):197-201.