

Alterações histomorfométricas na articulação do joelho de ratos Wistar após remobilização em meio aquático

Histomorphometric changes in the knee joint of Wistar rats after remobilization in a water environment

Alteraciones histomorfométricas en la articulación de la rodilla de ratones Wistar después de removilización en medio acuático

Regina Inês Kunz¹, Lígia Inez Silva², Juliana Roncini Gomes da Costa³, Carmen Lúcia Rondon Soares⁴, Gladson Ricardo Flor Bertolini⁵, Rose Meire Costa Brancalhão⁵, Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro⁵

Resumo | O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos da imobilização e analisar a influência da remobilização livre ou por associação de exercícios terapêuticos em meio aquático, sobre a morfologia da articulação do joelho. Foram utilizados 18 ratos Wistar que tiveram seu membro posterior direito imobilizado em extensão completa do joelho por 15 dias e que foram divididos igualmente em três grupos: G1 não sofreu nenhuma intervenção; G2 foi submetido à remobilização livre; e G3 teve remobilização por exercícios (natação e salto) em meio aquático por 14 dias. As articulações do joelho, direitas e esquerdas, foram coletadas e incluídas em parafina para análise morfológica. A imobilização e remobilização alteraram a espessura da cartilagem articular e o número de condrócitos. A cartilagem articular e a membrana sinovial sofreram mudanças degenerativas devido ao desuso articular na imobilização e estas mudanças foram progressivamente revertidas pela remobilização em meio aquático. A combinação de natação e salto em meio aquático se mostraram uma alternativa eficiente de remobilização articular, podendo ser utilizada como exercício em programa de reabilitação fisioterapêutica.

Descritores | Cartilagem Articular; Membrana Sinovial; Articulação do Joelho; Imobilização; Reabilitação; Natação, Modalidades de Fisioterapia; Ratos Wistar

Abstract | The objective of this study was to investigate the effects of immobilization and analyze the influence of free remobilization or the association of therapeutic exercises in an aquatic environment on the morphology of the knee joint. Eighteen Wistar rats were used. They had had their right hind limb immobilized at the full extension of the knee for 15 days, and also divided into three groups: G1, which suffered no intervention; G2, which were subjected to free remobilization; and G3, which had remobilization through exercises (swimming and jumping) in an aquatic environment for 14 days. The right and left knee articulations were collected and embedded in paraffin for morphological analysis. The immobilization and remobilization altered the thickness of the articular cartilage and the number of chondrocytes. The articular cartilage and the synovial membrane suffer degenerative changes due to articular disuse during immobilization; and these changes were gradually reversed by remobilization in an aquatic environment. The combination of swimming and jumping in an aquatic environment proved to be an efficient alternative to articular remobilization and can be used as exercises in physiotherapy rehabilitation programs.

Keywords | Cartilage, Articular; Synovial Membrane; Knee Joint; Immobilization; Rehabilitation; Swimming; Physical Therapy Modalities; Rats, Wistar

¹Mestre em Biociências e Saúde pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel – (PR), Brasil.

²Fisioterapeuta formada pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel – (PR), Brasil.

³Graduada em Fisioterapia pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel – (PR), Brasil.

⁴Mestre em Ciências da Reabilitação, Docente do curso de Fisioterapia Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel – (PR), Brasil.

⁵Docentes Doutores do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Biociências e Saúde – Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel – (PR), Brasil.

Endereço para correspondência: Regina Inês Kunz – Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional – Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Rua Universitária, 2069 – CEP 85819-110 – Cascavel (PR), Brasil.

E-mail: regina_kunz@hotmail.com

Apresentação: nov. 2014 – Aceito para publicação: out. 2015 – Fonte de financiamento: CAPES – Conflito de interesses: nada a declarar – Resultados parciais apresentados no XXVI Congresso Brasileiro de Anatomia e II Encontro de Ligas Estudantis de Morfologia, 2014 – Curitiba/PR.

Resumen | El objetivo de este estudio fue verificar los efectos de la inmovilización y analizar la influencia de la removilización libre o por asociación de ejercicios terapéuticos en medio acuático, sobre la morfología de la articulación de la rodilla. Se utilizó 18 ratones Wistar, que tuvieron sus miembros superiores derechos inmovilizados en extensión completa de la rodilla, por 15 días, y divididos igualmente en tres grupos: G1, no ha sufrido ninguna intervención; G2, fue sometido a removilización libre; y G3, removilización por ejercicios (natación y salto) en medio acuático por 14 días. Las articulaciones de la rodilla, derechas e izquierdas, fueron colectadas e incluidas en parafina para análisis morfológica. La inmovilización

y removilización alteraron el espesor del cartílago articular y el número de condrocitos. El cartílago articular y la membrana sinovial sufrieron cambios degenerativos, debido al desuso articular en la inmovilización; estos cambios fueron progresivamente revertidos por la inmovilización en medio acuático. La combinación de natación y salto en medio acuático se mostró una alternativa eficiente de removilización articular, pudiendo ser utilizados como ejercicios en programas de rehabilitación fisioterapéutica.

Palabras clave | Cartílago Articular; Membrana Sinovial; Articulación de la Rodilla; Inmovilización; Rehabilitación; Natación; Modalidades de Fisioterapia; Ratas Wistar

INTRODUÇÃO

O joelho é a maior articulação sinovial do corpo, desenvolvido estruturalmente para suportar carga¹, sendo uma das articulações mais complexas devido à necessidade constante em se aliar mobilidade e estabilidade, funções antagonistas dentro de um sistema articular². Por isso está sujeito a lesões, em especial nas pessoas que praticam atividades desportivas. Isto ocorre em virtude da sua anatomia, da exposição aos traumas, bem como das necessidades funcionais a ele impostas².

Após uma lesão e independentemente do método de tratamento, cirúrgico ou conservador, as lesões associadas estarão presentes, refletindo na saúde articular e comprometendo a funcionalidade do joelho³. A imobilização é uma opção terapêutica comum nas desordens ortopédicas, indicada frequentemente em entorses, injúrias ligamentares, musculares e articulares, bem como nas fraturas^{4,5}. Além dos efeitos benéficos, como redução da dor, manutenção do alinhamento ósseo e melhoria da qualidade de vida^{5,6}, a imobilização leva a uma restrição do movimento que pode afetar negativamente a composição óssea e muscular, o suprimento sanguíneo do segmento imobilizado e, nesse caso, a estrutura e a integridade articular^{5,7,8}.

O aparecimento dessas injúrias multifatoriais pós-lesão evidenciam a necessidade de se utilizar um protocolo de reabilitação completa do indivíduo, com vista a reestabelecer suas atividades de vida diária e melhorar sua capacidade funcional o mais rápido possível⁹. Nesse sentido, o tratamento fisioterápico, composto por exercícios e terapias distintas, é uma indicação frequente em lesões musculoesqueléticas, com destaque para o alongamento muscular passivo^{10,11,12,13}, corrida

em esteira¹⁴, exercício de salto no solo¹⁵, natação^{16,17} e combinação de exercícios em meio aquático¹⁸.

Dentre as opções terapêuticas disponíveis, a fisioterapia aquática pode ser considerada uma das principais intervenções no tratamento de lesões articulares. A água, por meio de suas propriedades físicas, possibilita a realização de exercícios dificilmente executados no solo por meio da redução do peso corporal. Além disso, a maior amplitude de movimento e temperatura elevada da água aumentam a mobilidade articular, acelerando o processo de reabilitação^{19,20}.

Apesar disso, não há um consenso na literatura sobre a fase mais indicada para o retorno aos exercícios físicos após lesão, sua intensidade ou modalidade a ser executada no ambiente aquático. À vista disso, o objetivo deste estudo foi verificar os efeitos da imobilização e analisar a influência da remobilização livre ou por associação de exercícios terapêuticos em meio aquático, iniciados imediatamente após a imobilização, sobre a morfologia da articulação do joelho de ratos Wistar. Considerando isso, hipotetiza-se que um programa de remobilização em meio aquático atue de forma benéfica na homeostase dos constituintes morfológicos da articulação do joelho submetidos ao estresse da imobilização.

METODOLOGIA

Foram utilizados 18 ratos Wistar, com 10 semanas de idade, mantidos em fotoperíodo claro-escuro de 12 horas e temperatura de 23°C, com água e ração *ad libitum*. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná sob o protocolo 03012.

Após uma semana de aclimação, todos os animais tiveram seu membro posterior direito imobilizado por um período de 15 dias. A imobilização foi realizada por meio de atadura gessada moldada diretamente ao corpo do animal, que mantinha a extensão completa do joelho e flexão plantar completa do tornozelo, conforme modelo proposto por Carvalho, Shimano e Volpon²¹. Após os 15 dias de imobilização, os animais foram divididos em três grupos experimentais com seis ratos em cada grupo:

G1 – imediatamente eutanasiados após o período de imobilização;

G2 – remobilização livre na gaiola, e contato com a água por aproximadamente um minuto por 14 dias, de maneira que recebessem estímulo aquático diariamente;

G3 – remobilizados por 14 dias por meio de natação e salto em meio aquático, realizados em dias alternados. Nos seis primeiros dias de remobilização a natação foi realizada durante 20 minutos e os saltos foram efetuados em duas séries de 10 saltos cada, com 30 segundos de intervalo entre as séries. Nos oito dias restantes de remobilização efetuou-se uma progressão quanto ao tempo e séries dos exercícios realizados, sendo que o tempo de natação foi de 40 minutos e os saltos foram realizados em quatro séries de 10 saltos cada com intervalo de 1 minuto entre as séries. O exercício de natação foi realizado sem nenhuma sobrecarga, enquanto o exercício de salto em meio aquático foi realizado com sobrecarga de 50% do peso corporal, adaptado de Gaffuri et al.²².

Os animais do G1, logo após o período de imobilização, e os animais de G2 e G3, logo após a remobilização, foram pesados e anestesiados com cloridrato de quetamina (50mg/Kg) e cloridrato de xilazina (10mg/Kg). Sob o efeito dos anestésicos, os animais foram decapitados em guilhotina e foram dissecadas e reduzidas as articulações do joelho direitas e esquerdas.

Após fixação em formol 10% e descalcificação em ácido tricloroacético 5%, o material seguiu o procedimento histológico de rotina para inclusão em parafina. Os cortes sagitais de 7µm foram montados em lâminas de vidro e corados com hematoxilina e eosina²³ para análise da morfologia geral e em safranina O-fast green para análise da cartilagem articular²⁴.

As lâminas foram analisadas em microscópio de luz e fotomicrografadas em microscópio Olympus® DP71 (USA). Utilizou-se o Programa Image Pro Plus 6.0 (USA), previamente calibrado para as análises morfométricas da espessura da cartilagem articular, realizada nas áreas

de contato, transicional e não contato do fêmur e nas regiões articulares anterior, média e posterior da tibia²⁵. A contagem do número de condrócitos foi realizada em uma área de interesse, um retângulo com 100µm de largura por 200µm de comprimento, que foi sobreposta às mesmas regiões de análise da espessura da cartilagem articular, tanto no fêmur quanto na tibia.

Os resultados foram apresentados como média ± desvio padrão e analisados pelo programa GraphPad Prism 6.0 (USA). Foi utilizado o teste t de Student para comparação entre os lados controle e imobilizado/remobilizado e Anova One Way com pós-teste de Tukey para a comparação entre os grupos. Estabeleceu-se $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

RESULTADOS

Espessura da cartilagem articular

Houve um aumento estatisticamente significativo na espessura da cartilagem articular na área de contato do fêmur no lado imobilizado/remobilizado em relação ao lado controle dos animais do grupo G3 ($p=0,02$), bem como na área transicional do fêmur nos animais de G1 ($p=0,01$). Na comparação entre os grupos, a cartilagem articular esquerda na área de não contato se apresentou mais espessa nos animais somente imobilizados em comparação àqueles remobilizados por exercícios em meio aquático ($p=0,03$) (Tabela 1).

Em relação à tibia, não houve diferenças na espessura da cartilagem articular (Tabela 1).

Contagem de condrócitos

Não foram verificadas diferenças no número de condrócitos entre os lados controle e imobilizado/remobilizado em nenhum ponto de mensuração no fêmur. Na comparação entre os grupos, a área transicional da cartilagem articular esquerda apresentou maior quantidade de condrócitos em G3 quando comparado com G1 e G2 ($p=0,01$). Ainda, ao se comparar os grupos em relação ao membro direito, se verificou uma densidade celular menor na área de não contato de G1 em relação à G2 e G3 ($p=0,01$), bem como redução dos condrócitos na área de contato da cartilagem articular do fêmur do grupo somente imobilizado em comparação com o grupo remobilização por exercícios em meio aquático ($p=0,01$) (tabela 2).

Tabela 1. Espessura da cartilagem articular (μm) do fêmur e da tíbia

Espessura da cartilagem			Grupos		
			G1	G2	G3
Fêmur	Área de não contato	Direito	233,9 \pm 91,3	247,1 \pm 194,2	219,5 \pm 153,0
		Esquerdo	234,7 \pm 85,3 ^a	180,4 \pm 25,6	148,8 \pm 21,0
	Área de contato	Direito	253,4 \pm 50,0	239,4 \pm 59,6	253,7 \pm 42,8*
		Esquerdo	250,5 \pm 55,3	242,6 \pm 52,9	193,6 \pm 36,9
	Área transicional	Direito	333,5 \pm 104,7*	247,7 \pm 94,0	215,1 \pm 58,3
		Esquerdo	222,2 \pm 81,2	249,6 \pm 68,1	261,4 \pm 42,5
Tíbia	P1 ¹	Direito	267,3 \pm 144,9	196,8 \pm 60,3	204,3 \pm 36,6
		Esquerdo	205,8 \pm 52,5	167,3 \pm 48,6	198,4 \pm 67,3
	P2	Direito	287,4 \pm 69,2	231,3 \pm 43,2	306,5 \pm 101,1
		Esquerdo	274,7 \pm 129,9	252,4 \pm 99,9	255,7 \pm 73,1
	P3	Direito	204,8 \pm 58,6	138,1 \pm 48,9	209,2 \pm 36,0
		Esquerdo	231,8 \pm 71,4	151,2 \pm 34,7	194,0 \pm 53,6

P1 - região articular anterior; P2 - região articular média; P3 - região articular posterior

* diferença estatisticamente significativa entre os lados imobilizado/remobilizado (direito) e controle (esquerdo). ^a diferença estatisticamente significativa entre G1 e G3

Tabela 2. Número de condrócitos na cartilagem articular do fêmur e da tíbia

Número de condrócitos			Grupos		
			G1	G2	G3
Fêmur	Área de não contato	Direito	19,8 \pm 4,4 ^{a,b}	34,0 \pm 9,5	33,3 \pm 8,4
		Esquerdo	20,5 \pm 1,9	25,5 \pm 6,4	25,7 \pm 2,0
	Área de contato	Direito	18,5 \pm 3,9 ^a	24,5 \pm 5,2	28,7 \pm 2,6
		Esquerdo	20,5 \pm 7,1	21,7 \pm 4,6	25,2 \pm 6,4
	Área transicional	Direito	24,2 \pm 4,4	26,2 \pm 7,0	28,8 \pm 3,1
		Esquerdo	19,3 \pm 3,7 ^a	21,3 \pm 9,0 ^c	33,2 \pm 6,3
Tíbia	P1 ¹	Direito	23,0 \pm 7,0	27,0 \pm 9,4	27,3 \pm 6,7
		Esquerdo	20,7 \pm 5,7 ^a	27,3 \pm 6,7	32,0 \pm 8,5
	P2	Direito	23,7 \pm 4,3	26,0 \pm 5,2	29,2 \pm 8,1
		Esquerdo	21,8 \pm 4,6	29,2 \pm 8,1	30,8 \pm 8,6
	P3	Direito	18,8 \pm 4,4 ^{*a,b}	26,3 \pm 5,6	30,2 \pm 2,6
		Esquerdo	25,3 \pm 6,3	30,2 \pm 2,6	26,7 \pm 5,0

P1 - região articular anterior; P2 - região articular média; P3 - região articular posterior

* diferença estatisticamente significativa entre os lados imobilizado/remobilizado (direito) e controle (esquerdo)

^a diferença estatisticamente significativa entre G1 e G3

^b diferença estatisticamente significativa entre G1 e G2

^c diferença estatisticamente significativa entre G2 e G3

O membro posterior submetido a imobilização apresentou menor número de condrócitos em relação ao membro controle na região articular posterior (P3) da tíbia ($p=0,03$). Ao se comparar os grupos, foi verificada uma maior densidade celular na região articular anterior (P1) esquerda de G3 em relação a G1 ($p=0,04$). Em relação ao membro imobilizado/remobilizado, G1 mostrou reduzido número de condrócitos na região articular posterior (P3) ao ser comparado a G2 e G3 ($p=0,01$) (Tabela 2).

Análise morfológica

As articulações do joelho esquerdo (controle) de todos os grupos mostraram morfologia característica,

com a cartilagem articular apresentando superfície lisa e organizada em quatro camadas celulares normais. Na zona superficial se visualizou uma densidade celular maior, estando os condrócitos dispostos em aglomerados horizontais, de aspecto achatado. Na zona intermediária as células assumiram um aspecto arredondado e dispuseram-se isoladas ou em grupos isógenos. Em seguida, os condrócitos organizam-se em lacunas, correspondendo à zona profunda, separada da zona calcificada por uma linha basofílica, a *tidemark* (Figura 1A).

A membrana sinovial também se apresentava com características normais, ou seja, de duas a três camadas de células (sinoviócitos tipo A e tipo B) na íntima

sinovial, e subíntima com predominância de células adiposas (Figura 2A).

Na articulação do joelho direita de G1 (Figura 1B) foi verificado que a imobilização causou alterações morfológicas na cartilagem tanto no fêmur quanto na tíbia. Foram constatadas áreas de floculações, principalmente no fêmur, e descontinuidade da *tidemark*, tanto no fêmur quanto na tíbia. A membrana sinovial se apresentou moderadamente espessada, com a íntima desorganizada quanto à distribuição epitelióide dos sinoviócitos e, na subíntima, substituição do tipo de tecido conjuntivo, de adiposo para fibroso (Figura 2B).

Nos animais do G2, remobilizados livremente, a cartilagem ainda se mostrou floculada, tanto no fêmur quanto na tíbia, onde também se verificou uma sutil descontinuidade da *tidemark* (Figura 1C), com presença de alguns clones celulares. Quanto à membrana sinovial, a subíntima ainda se mantinha levemente fibrosa (Figura 2C); porém, a íntima mostrou-se desorganizada somente em dois animais.

Em G3, remobilizados por associação de exercícios em meio aquático, a cartilagem se manteve um pouco floculada, embora a organização da *tidemark* tenha se restabelecido (Figura 1D). A membrana sinovial mostrou áreas de reorganização tecidual na íntima, embora a subíntima ainda se apresentasse discretamente fibrosa (Figura 2D).

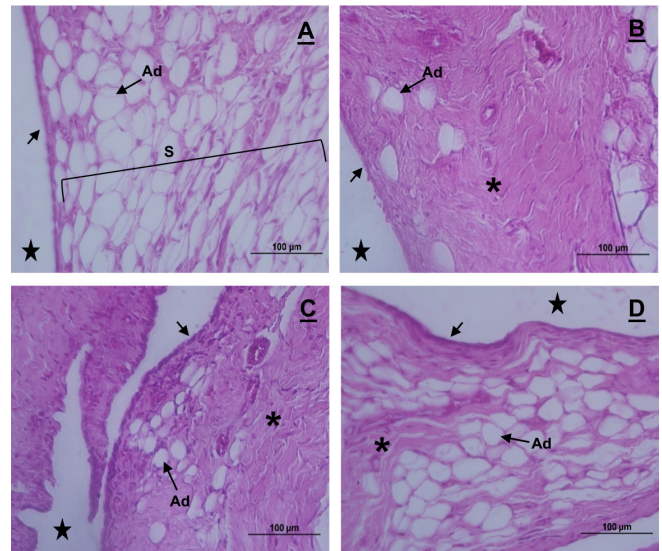


Figura 2. Fotomicrografias da membrana sinovial da articulação do joelho de ratos Wistar controle (A), G1 (B), G2 (C) e G3 (D); corte sagital, coloração em hematoxilina e eosina. Em A, membrana com íntima sinovial delgada (seta preta) e subíntima (S), com predominância de células adiposas (Ad). Em B, espessamento da membrana sinovial que se apresenta fibrosa (asterisco) com poucas células adiposas e íntima com sinoviócitos desorganizados (seta preta). Em C, espessamento moderado na subíntima (asterisco) e presença de adipócitos (Ad), com início da reorganização da íntima (seta preta). Em D, membrana sinovial com a íntima morfologicamente normal (seta preta), subíntima menos fibrosa (asterisco) e com predominância de células adiposas (Ad). Cavidade articular (estrela)

DISCUSSÃO

No presente estudo se verificou que duas semanas de imobilização fixa da articulação do joelho em completa extensão altera, em graus variados, a espessura e a densidade celular da cartilagem articular no fêmur e na tíbia, bem como causa degenerações cartilagueas e da membrana sinovial. As formas de remobilização adotadas no presente estudo recuperaram a morfologia articular do joelho, sendo que a associação dos exercícios em meio aquático produziram efeitos mais significativos, indicando a reversibilidade das alterações induzidas pelo modelo de imobilização utilizado.

A espessura da cartilagem articular da tíbia não foi alterada. Quanto ao fêmur, se verificou que a imobilização, grupo G1, aumentou a espessura da cartilagem na área transicional em relação ao controle. Hagiwara et al.²⁵, em seu modelo de imobilização em 150° de flexão do joelho, também verificaram um aumento da espessura na área transicional após 8 e 16 semanas. Já Maldonado et al.²⁶ verificaram uma redução na espessura da cartilagem na área de contato do fêmur com a imobilização do joelho

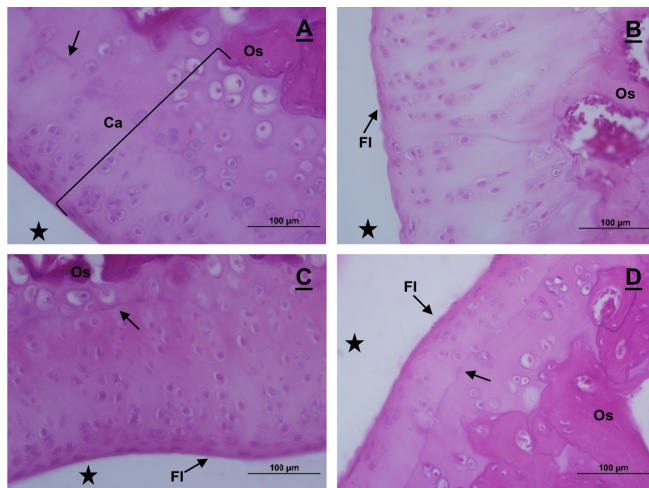


Figura 1. Fotomicrografias da cartilagem articular do joelho de ratos Wistar controle (A), G1 (B), G2 (C) e G3 (D); corte sagital, coloração em hematoxilina e eosina. Em A, detalhes da organização celular normal da cartilagem articular (Ca), evidenciando a presença da *tidemark* (seta preta). Em B, floculações (FI) na superfície da cartilagem e ausência da *tidemark*. Em C, floculação (FI) menos evidente na superfície e descontinuidade da *tidemark* (seta preta). Em D, floculação (FI) leve na superfície e reorganização da *tidemark*. Cavidade articular (estrela), osso subcondral (Os)

em 90° de flexão por 8 semanas. Os autores postulam que a força compressiva existente entre o fêmur e a tíbia na área de contato durante o período de imobilização seria responsável por promover uma perda de espessura nesta área e regeneração cartilaginosa em áreas adjacentes, como o caso da área transicional^{25,26}.

Observou-se também um aumento da espessura da cartilagem articular na área de contato no membro imobilizado/remobilizado, animais de G3, em relação ao controle. Segundo Roos e Dahlberg²⁷, a relação entre atividade física e volume da cartilagem é resultado de um complexo mecanismo de transdução mecanocelular, no qual os condrócitos respondem à descarga de peso com um aumento do conteúdo de proteoglicanos após o exercício, causando uma tumefação da cartilagem. Isso poderia representar um mecanismo compensatório para suportar cargas adicionais após um período de imobilização, representadas pelo exercício em meio aquático realizado pelos animais de G3.

Não foram verificadas diferenças no número de condrócitos do fêmur no membro imobilizado/remobilizado em relação ao controle. Quanto à tíbia, a imobilização reduziu o número de condrócitos na região articular posterior em relação ao controle, resultado da alteração na biomecânica articular, causada pela imobilização em extensão, onde o contato entre a região articular posterior da tíbia e o côndilo femoral foi minimizado. Hagiwara et al.²⁵, Ando et al.²⁴ e Maldonado et al.²⁶ verificaram uma redução no número de condrócitos nas diferentes regiões do fêmur e da tíbia, após períodos que variavam entre 2 e 16 semanas de imobilização. O ângulo de imobilização em flexão do joelho utilizado nesses estudos pode ter sido responsável pela diferença nos resultados.

Na comparação entre os grupos, se verificou um aumento do número de células na área transicional, não contato e contato do fêmur, bem como na região articular anterior e posterior da tíbia nos animais remobilizados em meio aquático em relação aos animais somente imobilizados. Diferentemente do presente estudo, Ando et al.²⁸, em seu modelo de remobilização livre por 16 semanas, verificaram uma redução da densidade celular nas áreas de contato e transicional do fêmur e tíbia. Segundo os autores, o modelo de imobilização por eles utilizado, em 150° de flexão, causa uma degeneração progressiva da cartilagem e, a remobilização livre não foi capaz de reverter esses danos. A difusão de líquido sinovial no interior da articulação é necessária para a nutrição dos condrócitos²⁸, e a remobilização com

exercícios em meio aquático parece ter melhorado essa característica, levando a uma maior densidade celular nesses animais.

A imobilização fixa é uma medida terapêutica indicada em alguns casos de injúrias musculoesqueléticas, mas pode levar a algumas mudanças no segmento corporal imobilizado. Verificamos que 2 semanas de imobilização causaram floculações na superfície da cartilagem articular e desarranjos na matriz cartilaginosa, como também verificado previamente^{24,26,29-31}. A imobilização pode dificultar a difusão do líquido sinovial na cavidade articular, diminuindo a oferta de nutrientes aos condrócitos^{16,30}, que tem sua síntese de matriz extracelular e de proteoglicanos reduzida frente ao desuso³². As alterações verificadas na membrana sinovial dos animais de G1 também foram descritas por Melo et al.²⁹, Kojima et al.³⁰, Nagai et al.³¹, Ando et al.³³ e Trudel et al.³⁴. Segundo Del Carlo et al.¹⁶, a rigidez articular é resultado da imobilização e gera uma redução do movimento, o que seria responsável pelo espessamento da membrana sinovial.

Tanto nos animais remobilizados livremente quanto naqueles remobilizados por exercícios, a cartilagem articular se mostrou com sinais de recuperação. Em G2 foi possível verificar a presença de clones celulares que, segundo Melo et al.²⁹, representam a hiperatividade dos condrócitos em uma tentativa de reparação tecidual após um período de imobilização. Em G3, os clones celulares não foram visualizados e a *tidemark* havia se reestabelecido, indicando que o exercício físico realizado acelerou a recuperação da cartilagem.

Da mesma forma, a membrana sinovial, tanto nos animais de G2 quanto de G3, se apresentava em tentativa de reparo, com redução do tecido fibroso na subíntima, principalmente nos animais remobilizados com exercícios. De acordo com Ando et al.²⁴, a restauração do movimento reduz a rigidez da articulação, melhora o fluxo do líquido sinovial na cavidade articular, promovendo a nutrição da cartilagem e sua consequente regeneração. A recuperação da membrana sinovial após a remobilização livre e natação também foi verificada no estudo de Del Carlo et al.¹⁶.

As duas modalidades de remobilização adotadas no presente estudo atuaram de forma benéfica no restabelecimento dos parâmetros morfológicos da cartilagem e membrana sinovial. Porém, verifica-se que os exercícios realizados pelos animais de G3 foram mais eficientes na recuperação da articulação, devido

a menor força gravitacional existente na execução do movimento no meio aquático, o que facilita a execução deste e melhora a distribuição do líquido sinovial, necessário à manutenção da homeostase da articulação do joelho.

CONCLUSÃO

A imobilização em completa extensão da articulação do joelho por 14 dias altera seus parâmetros morfológicos. A associação de natação e salto em meio aquático, quando iniciados logo após a retirada da imobilização, proporcionam melhora na morfologia da articulação, verificada na cartilagem pela diminuição da floculação, reorganização da *tidemark* e presença de clones celulares, e na membrana sinovial. Desta forma, estes exercícios podem ser utilizados em um programa de reabilitação fisioterapêutica.

REFERÊNCIAS

- Silva AS, Miranda PVB, Soares JF, Amor A, Demarchi KL, Piedade SR, et al. Avaliação da qualidade de vida em pacientes submetidos à reconstrução do LCA. *Saúde Rev.* 2007; 9(22):47-52. <http://www.unimep.br/phpg/editora/revistaspdf/saude22art06.pdf>
- Witvrouw E, Lysens R, Bellemans J, Cambier D, Vanderstraeten G. Intrinsic risk factors for the development of anterior knee pain in athletic population. *Am J Sports Med.* 2000; 28(4):480-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10921638>
- Vasconcelos RA, Bevilaqua-Grossi D, Shimano AC, Paccola CAJ, Salvini TF, Prado CL, et al. Análise da correlação entre pico de torque, desempenho funcional e frouxidãoligamentar em indivíduos normais e com reconstrução do ligamento cruzado anterior. *Rev Bras Ortop.* 2009; 44(2):134-42. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-36162009000200008
- Belangero PS, Tamaoki MJS, Nakama GY, Shoit MV, Gomes RVF, Belloti JC. How does the Brazilian orthopedic surgeon treat acute lateral ankle sprain? *Rev Bras Ortop.* 2010; 45(5):468-473. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-36162010000500015&script=sci_arttext
- Boyd AS, Benjamin HJ, Asplund C. Principles of casting and splinting. *Am Fam Physician.* 2009; 79(1):16-22. <http://www.aafp.org/afp/2009/0101/p16.pdf>
- Lamb SE, Marsh JL, Hutton JL, Nakash R, Cooke MW. Collaborative Ankle Support Trial (CAST Group). Mechanical supports for acute, severe ankle sprain: a pragmatic, multicentre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2009; 373(9663):575-81. [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(09\)60206-3/abstract](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(09)60206-3/abstract)
- Arakaki K, Kitamura N, Kurokawa T, Onodera S, Kanaya F, Gong JP, et al. Joint immobilization inhibits spontaneous hyaline cartilage regeneration induced by a novel double-network gel implantation. *J Mater Sci Mater Med.* 2011; 22:417-25. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21181239>
- Thaxter TH, Mann RA, Anderson CE. Degeneration of immobilized knee joints in rats. *J Bone Joint Surg.* 1965; 47(A):567-85. <http://jbjs.org/content/47/3/567>
- Peccin MS, Ciconelli R, Cohen M. Questionário específico para sintomas do joelho “lysholmkneescoringscale” – Tradução e validação para a língua portuguesa. *Acta Ortop Bras.* 2006; 14(5):268-72. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-78522006000500008&script=sci_abstract&lng=pt
- Cação-Benedini LO, Ribeiro PG, Gomes ARS, Ywazaki JL, Monte-Raso VV, Prado CM, et al. Remobilization through stretching improves gait recovery in the rat. *Acta Histochem.* 2013; 115:460-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23265777>
- Cação-Benedini LO, Ribeiro PG, Prado CM, Chesca DL, Mattiello-Sverzut AC. Immobilization and therapeutic passive stretching generate thickening and increase the expression of laminin and dystrophin in skeletal muscle. *Braz J Med Biol Res.* 2014; 47(6):483-91. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24820070>
- Renner AF, Carvalho E, Soares E, Mattiello-Rosa SM. The effect of a passive muscle stretching protocol. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006; 14(2):196-202. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16243547>
- Vasilceac FA, Renner AF, Teodoro WR, Mattiello-Rosa SM. The remodeling of collagen fibers in rats ankles submitted to immobilization and muscle stretch protocol. *Rheumatol Int.* 2011; 31(6):737-42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20155269>
- Morimoto A, Winaga H, Sakurai H, Ohmichi M, Yoshimoto T, Ohmichi Y, et al. Treadmill running and static stretching improve long-lasting hyperalgesia, joint limitation, and muscle atrophy induced by cast immobilization in rats. *Neurosci Lett.* 2013; 8(534):295-300. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23153829>
- Ju Y-I, Sone T, Okamoto T, Fukunaga M. Jump exercise during remobilization restores integrity of the trabecular architecture after tail suspension in young rats. *J Appl Physiol.* 2008; 104(6):1594-1600. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18420719>
- Del Carlo RJ, Galvão MR, Vitoria MIV, Natali AJ, Barbosa ALT, Monteiro BS, et al. Experimental immobilization and remobilization rat knee joints: clinical and microscopic study. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2007; 59(2):363-70. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352007000200015
- Galvão MR, Del Carlo RJ, Vitoria MIV, Natali AJ, Barbosa AL, Monteiro BS et al. Aspectos clínicos e morfofisiológicos do joelho de ratos após imobilização prolongada e remobilização. *Rev Ceres.* 2006; 53(308):495-505. <http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/3175/1067>
- Kunz RI, Coradini JG, Silva LI, Bertolini GR, Brancalhão RM, Ribeiro LF. Effects of immobilization and remobilization of the ankle joint in Wistar rats. *Braz J Med Biol Res.* 2014; 47(10):842-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25140815>

19. Aguiar Júnior AS, Gêremias VC. Efeitos da hidroterapia na osteoartrose de joelho. *Fisio Magaz.* 2003; 1(1):12-15.
20. Hinman RS, Heywood SE, Day AR. Aquatic therapy for hip and knee osteoarthritis: results of a single-blind randomized controlled trial. *Phys Ther.* 2007; 87:32-43. <http://physther.org/content/87/1/32.full>
21. Carvalho CMM, Shimano AC, Volpon JB. Effects of immobilization and physical training on the mechanical properties of the striated muscle. *Rev Bras Eng Biomed.* 2002; 18(2):65-73. <http://www.rbeb.org.br/articles/view/id/4ea831bc5ce02a031e000006>
22. Gaffuri J, Meireles A, Rocha BP, Rosa CT, Artifon EL, Silva LI, et al. Physical exercise assessment as a analgesia factor in a sciatica experimental model. *Rev Bras Med Esporte.* 2011; 17(2):115-8. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-86922011000200009&script=sci_arttext&tlng=en
23. Junqueira LC, Junqueira LMMS. *Técnicas básicas de citologia e histologia.* São Paulo: Santos; 1983.
24. Ando A, Hagiwara Y, Chimoto E, Hatori K, Onoda Y, Itoi E. Intra-articular injection of hyaluronan diminishes loss of chondrocytes in a rat immobilized-knee model. *Tohoku J Exp Med.* 2008; 215(4):321-31. https://www.jstage.jst.go.jp/article/tjem/215/4/215_4_321/_article
25. Hagiwara Y, Ando A, Chimoto E, Saijo Y, Ohmori-Matsuda K, Itoi E. Changes of articular cartilage after immobilization in a rat knee contracture model. *J Orthop Res.* 2009; 27:236-42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18683886>
26. Maldonado DC, Silva MC, Neto Sel-R, de Souza MR, de Souza RR. The effects of joint immobilization on articular cartilage of the knee in previously exercised rats. *J Anat.* 2013; 222(5):518-25. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23480127>
27. Roos EM, Dahlberg L. Positive effects of moderate exercise on glycosaminoglycan content in knee cartilage: a four-month, randomized, controlled trial in patients at risk of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2005; 52(11):3507-14. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16258919>
28. Ando A, Suda H, Hagiwara Y, Onoda Y, Chimoto E, Saijo Y, et al. Reversibility of immobilization-induced articular cartilage degeneration after remobilization in rat knee joints. *Tohoku J Exp Med.* 2011; 224(2):77-85. https://www.jstage.jst.go.jp/article/tjem/224/2/224_2_77/_article
29. Melo EG, Nunes VA, Rezende CMF, Gomes MG, Malm C, Gheller VA. Chondroitin sulfate and sodium hyaluronate in the treatment of the degenerative joint disease in dogs. Histological features of articular cartilage and synovium. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2008; 60(1):83-92. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352008000100013&script=sci_arttext
30. Kojima S, Hosono M, Watanabe M, Matsuzaki T, Hibino I, Sasaki K. Experimental joint immobilization and remobilization in the rats. *J Phys Ther Sci.* 2014; 26(6):865-71. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4085210/>
31. Nagai M, Aoyama T, Ito A, Tajino J, Iijima H, Yamaguchi S, et al. Alteration of cartilage surface collagen fibers differs locally after immobilization of knee joints in rats. *J Anat.* 2015; 226(5):447-457. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25939458>
32. Vanwanseele B, Lucchinetti E, Stussi E. The effects of immobilization on the characteristics of articular cartilage: current concepts and future directions. *Osteoarthritis Cartilage.* 2002; 10(5):408-19. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12027542>
33. Ando A, Hagiwara Y, Onoda Y, Hatori K, Suda H, Chimoto E, et al. Distribution of type A and type B synoviocytes in the adhesive and shortened synovial membrane during immobilization of the knee joint in rats. *Tohoku J Exp Med.* 2010; 221(2):161-8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20501969>
34. Trudel G, Jabi M, Uhthoff HK. Localized and adaptive synoviocyte proliferation characteristics in rat knee joint contractures secondary to immobility. *Arch Phys Med Rehabil.* 2003; 84:1350-1356. [http://www.archives-pmr.org/article/S0003-9993\(03\)00233-8/abstract](http://www.archives-pmr.org/article/S0003-9993(03)00233-8/abstract)