



19 Congresso de Iniciação Científica

EFEITOS DO EXERCÍCIO SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS EM PORTADORES DE ESPONDILITE ANQUILOSANTE

Autor(es)

RAPHAEL AUGUSTO BUENO GRANDINO

Orientador(es)

ROZANGELA VERLENGIA

Apoio Financeiro

PIBIC/CNPQ

1. Introdução

A Espondilite Anquilosante consiste em uma patologia reumática, inflamatória, auto-imune, pertencente ao maior e mais raro subtipo das espondiloartropatias⁷, é caracterizada por inflamação e dor da sinovial e das entesites, com acometimento do esqueleto axial, podendo evoluir para ossificação e anquilose, decorre da evolução do quadro clínico, por ser uma doença inflamatória, citocinas pró-inflamatórias, como o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF-alfa), parece exercer um papel central na patogênese desta¹². Acredita-se que os sintomas da E.A. são amenizados com uma intervenção concomitante, que conjuga tratamento medicamentoso e exercícios físico¹⁰. O exercício é reportado com o objetivo principal promover o efeito antiinflamatório¹⁶ por meio da redução de citocinas pró-inflamatórias que amplificam a inflamação, além de manter a postura e as atividades normais,²¹sendo essenciais para o tratamento.

2. Objetivos

Geral. Verificar o efeito do treinamento aeróbio sobre a concentração sérica de citocinas pró e anti-inflamatórias e do esforço subjetivo em portadores de Espondilite Anquilosante, assim como dados antropométricos, Capacidade funcional e proteína C reativa. Específicos. Verificar as alterações bioquímicas pré e pós atividade física por meio de: - Dados antropométricos; - Capacidade funcional Dosagem sérica de TNF- α e IL-6; - Dosagem sérica de proteína C-reativa; - Determinação do Esforço Subjetivo por meio da Escala de Borg durante o exercício físico;

3. Desenvolvimento

O estudo foi realizado com indivíduos adultos (acima de 20 anos), de ambos os sexos, portadores de Espondilite Anquilosante, com a doença em processo inflamatório ativo, fazendo uso de medicamentos para o tratamento da doença e com acompanhamento médico. Foram excluídos da pesquisa indivíduos que não estivessem fazendo qualquer tratamento medicamentoso e/ou que apresentasse impossibilidade de realizar caminhada por período constante de no mínimo 30 minutos. Os voluntários foram esclarecidos quanto aos objetivos do projeto de pesquisa e assinaram um Termo de Consentimento Livre Esclarecido. O projeto foi aprovado pelo Comitê de

Ética em Pesquisa da UNIMEP. Os indivíduos foram recrutados na cidade de Piracicaba por meio de médicos reumatologistas inscritos na Sociedade Brasileira de Reumatologia, participantes do programa de fisioterapia no Centro Municipal de Fisioterapia, do Centro de Fisioterapia Unimep e dos participantes do programa de Farmácia de Alto Custo pelo SUS. Os indivíduos fizeram associação da terapia medicamentosa à não-medicamentosa, por meio do treinamento físico proposto.

O exercício físico consistiu em um treinamento de 12 semanas foi de 3 sessões semanais de 30 minutos cada em esteira, a qual incluiu breves períodos de aquecimento e desaceleração, totalizando 36 minutos de exercício aeróbio. A velocidade foi estabelecida de acordo com a frequência cardíaca de trabalho (FCT) e específica para cada indivíduo por meio da avaliação física Composição Corporal foi estabelecida por uma balança antropométrica utilizada para realizar as medidas de massa corporal (kg) e estatura (cm) foi a Filizola, avaliadas antes e após o período de treinamento.

Escala Subjetiva de Esforço de Borg. Foi utilizada para avaliar de forma subjetiva a intensidade do esforço durante sua execução, por meio da escala impressa e colorida, a qual era apresentada ao indivíduo a cada 5 minutos.

A Capacidade Funcional foi avaliada por meio do BASFI -Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index, o qual consiste em 10 questões, sendo as oito primeiras sobre as atividades relacionadas com a anatomia funcional e as duas seguintes refletem a capacidade dos portadores desenvolverem as AVDs - atividades da vida diária com score mais elevado indicando maior comprometimento funcional^{11,16,6,8}

Foram Coletadas amostras de sangue (5 mL) foram obtidas por punção venosa em tubos a vácuo com heparina, para obtenção do plasma, antes do início do treinamento e após 24 horas da última sessão de treinamento realizada por um profissional especializado e todas as normas de biossegurança foram atendidas e o soro foi armazenado à -70°C para posterior análise.

A determinação da concentração sérica de Citocinas (IL-6 e TNF- α) e de Proteína-C-Reativa (PCR) foram realizadas dosagens pelo método ELISA, seguindo as especificações correspondentes ao Kit (R&D Systems, Minneapolis, MN), sendo os resultados expressos em pg/mL. A fidedignidade (R2) das curvas padrões foram obtidas em nosso laboratório para as dosagens da IL-6, TNF- α e PCR. Padrões e amostras serão avaliados em duplicatas. Essa metodologia foi realizada, seguindo cuidados e especificações do Kit.

Método estatístico, resultados foram demonstrados em média, desvio padrão e $\%$. A comparação das variáveis nos momentos pré e pós será realizada por meio do teste não paramétrico de Wilcoxon de Rank e o processamento dos dados e cálculo estatístico pelo software BioEstat 5.0. Foi adotado o nível de 5% de significância (p \geq 0,05).

4. Resultado e Discussão

Apenas quatro indivíduos finalizaram o estudo, sendo caracterizados na com idade média de 47 (10,36) anos, inativos a 4,5 (4,43) anos e tempo da doença de 12,25 (9,11) anos. Não houve diferenças estatísticas na massa corporal e IMC entre os momentos PRÉ e APÓS treinamento, entretanto, em relação à estatura houve um aumento significativo de 2 (0,06) cm. Tabela 1.

Os valores do hematócrito e as contagens absoluta e relativa dos leucócitos circulantes pré e pós-treinamento de 12 semanas são observados na Tabela 2. Houve aumento significativo nas variáveis leucócitos, neutrófilos e linfócitos, ao mesmo tempo em que os monócitos, eosinófilos e bastonetes demonstraram redução significativa nas concentrações.

A redução da atividade inflamatória da patologia pode ser observada por meio da redução do score médio do BASDAI com o $\%$ em 148,2 (16,32).

As concentrações pré e pós das citocinas pró e antiinflamatórias foram apresentadas na Tabela 3. O TNF- α apresentou redução significativa na concentração pós, retornando aos valores de referência para indivíduos saudáveis. A IL-6 apresentou-se acima dos valores de referência no momento pré, mantendo-se inalterada no momento pós.

A concentração da proteína C-reativa, a qual não apresentou mudanças significativas entre concentrações pré e pós.

A redução da atividade inflamatória da patologia também foi demonstrada por meio dos dados por nós obtidos quando da contagem das células do sistema imunológico. No momento pré-treinamento foi observado valores de leucócitos totais, linfócitos e monócitos acima dos valores de referência para adultos do sexo masculino, característicos da patologia.

Os linfócitos podem estar acima dos valores pelos níveis mais elevados das células NK, entretanto sua atividade é inibida em portadores de EA3. Além disso, os linfócitos T e B encontram-se elevados nas regiões acometidas pelo processo inflamatório, podendo ser responsáveis por elevações dos linfócitos circulantes ao estarem migrando para os sítios inflamatórios.¹

Os monócitos, além de estarem em concentrações elevadas nas articulações sacroilíaca, do quadril e zigapofisárias como citadas anteriormente¹ encontram-se acima dos valores de referências de maneira circulante.

O exercício físico moderado está relacionado ao aumento da resposta dos mecanismos de defesa, ou seja, do sistema imunológico.^{13,14} Após o período de treinamento as concentrações dos leucócitos, neutrófilos e linfócitos apresentaram aumento significativo. Ao contrário, as concentrações de monócitos, eosinófilos e bastonetes sofreram reduções significativas, sendo que as duas primeiras retornaram aos valores de referência.

A leucocitose pós-treinamento decorre principalmente pelo aumento da concentração de neutrófilos, os quais se mantêm elevados mesmo durante o repouso¹⁹ bem como o aumento da função de leucócitos por meio do auxílio na quimiotaxia, na desgranulação, na fagocitose e na atividade oxidativa dos neutrófilos.^{13,14,17}

Por ser uma patologia inflamatória a EA tem como marcador inflamatório aumentos na concentração da PCR¹⁵ (LUC et al., 2007).

Entretanto, neste estudo o valor obtido no momento pré (1,01 0,68) encontra-se dentro dos valores de referência, não apresentando diferença significativa no momento pós

A patologia é caracterizada por aumentos significativos na concentração de linfócitos e macrófagos nas áreas em processo inflamatório ativo¹, bem como o de mediadores inflamatórios, entre eles IL-6, TNF- e PGE 5,2. Além disso, as células NK apesar de apresentarem percentuais significativamente mais elevados, levando a leucocitose, têm sua atividade inibida³. Este estudo corrobora com estas informações por meio das altas concentrações de linfócitos (3246,3 847,27), monócitos (1064,5 559,71) e leucócitos (10550 737,11), estando acima dos valores de referência para adultos do sexo masculino, assim como as citocinas pró-inflamatórias TNF-? e IL -6. RESUMIR

O efeito antiinflamatório do exercício em intensidade moderada por meio do aumento da IL-6 no exercício com conseqüente estimulação da produção de citocinas antiinflamatórias, como IL-1ra e IL-10, suprimindo a produção do TNF-?. Apesar de não encontrarmos alterações significativas nas concentrações da IL-6 pós treinamento, o TNF-? foi suprimido, retornando aos valores de referência.

O exercício físico tem sido adicionado como terapia coadjuvante ao tratamento de diversas patologias inflamatórias, inclusive a Espondilite Anquilosante, como manter a postura corporal aumentar a mobilidade articular. Diante deste objetivo, vale ressaltar o ganho médio de 2 0,06 cm de estatura para os indivíduos, em treinamento.

O estudo mostrou ser importante por verificar o efeito antiinflamatório e imunomodulatório do exercício aeróbio de intensidade moderada por 12 semanas, promovendo redução da citocina pró-inflamatória TNF-?, do mediador inflamatório e transmissor da dor, bem como o aumento das células do sistema imunológico como os neutrófilos e linfócitos e a redução dos monócitos. 11,20,6,9

5. Considerações Finais

O exercício aeróbio realizado em intensidade moderada pelo período de 12 semanas promoveu o efeito antiinflamatório em portadores de EA, permitindo melhoras na capacidade funcional, conseqüentemente intervindo positivamente na sua qualidade de vida. Sendo assim, o exercício aeróbio de intensidade moderada (50-60% da FCT -. Frequência Cardíaca de Trabalho) deve ser prescrito como terapia coadjuvante essencial no tratamento dessa patologia.

Referências Bibliográficas

1. American College of Rheumatology. Concise communication_Immunohistologic analysis of peripheral joint disease in ankylosing spondylitis: Arthritis & Rheumatism, p.180-182, 1998.
2. APPEL, H.; KUHNE, M.; SPIEKERMANN, S.; KLER, D.; ZACHER, J.; STEIN, H.; SIEPER, J. LODDENKEMPER C. Immunohistochemical analysis of hip arthritis in ankylosing spondylitis: Arthritis & Rheumatism, p. 1805-1813, 2006
3. AZUZ-LIEBERMAN, N.; MARKEL, G. et al. The involvement of NK cells in ankylosing spondylitis. International Immunology, p. 837-845, 2005.
4. BORG, G. A. Psychophysical bases of perceived exertion. Medicine and Science in Sports and Exercise, v. 14, n. 5, p. 377-381, 1982.
5. BRAUN, J.; SIEPER, J. Ankylosing Spondylitis. Lancet, v.369, p.1379-1390, 2007.
6. CALIN, A. et al. A new approach to defining functional ability in Ankylosing Spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. J Rheumatol 21; p.2281-85, 1994.
7. CHEE, M.M.; STURROCK, R.D. Ankylosing Spondylitis- Educational Review. Scottish Medical Journal, v. 52, Issue 4, nov. 2007.
8. DURMUS, D. et al. Effects of a home-based exercise program on quality of life, fatigue, and depression in patients with ankylosing spondylitis. Rheumatology International, v. 29, p. 673-677, 2009.
9. INCE, G. et al. Effects of a Multimodal Exercise Program for People With Ankylosing Spondylitis. Physical Therapy, v.86, p. 924 935, jul. 2006.
10. KAYSER, C.; SOUZA, A. Agente Antifator de Necrose Tumoral Alfa no Tratamento da Artrite Reumatóide na Prática da Clínica Diária. Rev. Bras. Reumatol., v.47, n.3, p. 212-217, mai./jun. 2007.
11. KARAPOLAT, H.; EYIGOR, S.; ZOGHI, M.; AKKOC, Y.; KIRAZLI, Y.; KESER, G. Are swimming or aerobic exercise better than conventional exercise in ankylosing spondylitis patients? A randomized controlled study. Eur J Phys Rehabil Med, v. 45, p. 449-457, 2009.
12. KELLER, C. et al. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. FASEB J, 10.1096/fj.01-0507fje. oct. 2001.
13. LEANDRO, C.; NASCIMENTO, E.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; DUARTE, J.A. Exercício físico e sistema imunológico: mecanismos e integrações. Revista Portuguesa de Ciências do Desporto, p. 80-90, 2002
14. NIEMAN, D.C.; HENSON, D.A.; AUSTIN, M.D.; BROWN, V.A. Immune response to a 30-minute walk. Medicine and Science in Sports and Exercise, p. 57-62, 2005.
15. LEANDRO, C.G.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; NASCIMENTO, E.; PITHON-CURI, T.C.; CURI, R. Mecanismos adaptativos do sistema imunológico em resposta ao treinamento físico. Rev Bras Med Esporte. P. 343-348, Set./out. 2007.
16. LUC, M et al. C- Reative protein predicts tumor necrosis factor-a blocker Retention Rate in Axial Ankylosing Spondylitis. The journal of Rheumatology, 34, n.10, p. 2078-2081, 2007.
17. MUSTUR, D.; VESOCIC-POTIC, V.; STANISAVLJEVIC, D.; ILLE, T.; ILLE M. Assessment of Functional Disability and Quality of Life in Patients with Ankylosing Spondylitis. Srp Arh Celok Lek, v. 137, no. 9-10, p. 524-528, 2009.
18. PEDERSEN, B.K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the Immune system: Regulation, integration, and adaptation: Physiological Reviews, p. 1055-1081, Jul. 2000.
19. PETERSON, L.; RENSTR, MP. Lesões do Esporte- Prevenção e Tratamento. São Paulo: Manole. 2002
20. ROSA, L., VAISBERG, M. Influências do exercício na resposta imune. Rev Bras Med Esporte, v.8, n 4,

jul./ago. 2002 20. SANTOS, H. et al. Exercise in Ankylosing Spondylitis: how much is optimum? J Rheumatol, v.25, n.11, p.2156-60. 1998. 21. STEENBERG, A. et al. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. Am J Physiol Endocrinol Metab, v.205, p.E433-E437. 2003.

Anexos

Tabela 3 - Concentrações das citocinas pró e antiinflamatórias nos momentos pré e pós treinamento. Dados apresentados como Média \pm erro padrão da média. $\Delta\%$ a variação entre os mesmos.

INDIVÍDUO	PRÉ	TNF- α		PRÉ	IL-6	
		PÓS	$\Delta\%$		PÓS	$\Delta\%$
1	2,11	1,45	46,18	5,34	4,60	16,17
2	3,03	2,94	3,12	1,62	1,73	6,87
3	2,95	2,13	38,29	5,12	4,60	11,30
4	1,51	0,90	67,72	0,99	1,59	60,62
MÉDIA	2,40 \pm 0,72	1,85 \pm 0,88*	38,83 \pm 22,22	3,27 \pm 2,28	3,13 \pm 1,70	23,74 \pm 24,88

Valores de referência para indivíduos saudáveis: TNF- α (até 1,95 pg/mL) e IL-6 (0,77 - 1,6 pg/mL). (*) $p \leq 0,05$.

Tabela 2: Hematócrito e contagem absoluta e relativa dos leucócitos circulantes antes (M1) e após 12 semanas (M2).

VARIÁVEIS SANGUÍNEAS	PRÉ	(%)	PÓS	(%)
HEMATÓCRITO	40,25 \pm 4,99		46,5 \pm 2,52	
LEUCÓCITOS	10550 \pm 737,11		11600 \pm 1143,10*	
NEUTRÓFILOS	4340,8 \pm 1172,3	41,15	6056,5 \pm 1369,46*	52,21
BASTONETES	669,25 \pm 52,25	6,34	385,25 \pm 52,32*	3,09
LINFÓCITOS	3246,3 \pm 847,27	30,77	4181 \pm 233,34*	36,04
MONÓCITOS	1064,5 \pm 559,71	10,09	667,75 \pm 192,11*	5,76
EOSINÓFILOS	638,75 \pm 208,54	6,05	267,25 \pm 93,33*	2,30
BASÓFILOS	50,5 \pm 58,45	0,48	41,75 \pm 28,03	0,36

Valores expressos pela média \pm erro padrão da média, sendo hematócrito (%) e leucócitos (cel/mm³).

Tabela 1. Caracterização dos indivíduos.

VARIÁVEIS	PRÉ	PÓS
IDADE (anos)	47 \pm 10,36	
TEMPO DA PATOLOGIA (anos)	12,25 \pm 9,11	
TEMPO DE INATIVIDADE (anos)	4,50 \pm 4,43	
MASSA CORPORAL (kg)	74,75 \pm 11,40	74,63 \pm 11,34
ESTATURA (m)	1,65 \pm 0,05	1,67 \pm 0,06*
IMC (kg/m ²)	27,35 \pm 3,71	26,75 \pm 3,76

(*) $p < 0,05$. PRÉ- momento antes do período de treinamento;
PÓS- momento após 12 semanas.