

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO**

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**Rodolfo Pessato Timóteo**

Avaliação da resposta inflamatória e da capacidade funcional em pacientes com  
Lúpus Eritematoso Sistêmico: efeito da intervenção fisioterapêutica.

Uberaba – MG

2012

RODOLFO PESSATO TIMÓTEO

Avaliação da resposta inflamatória e da capacidade funcional em pacientes com  
Lúpus Eritematoso Sistêmico: efeito da intervenção fisioterapêutica.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas. Área de Concentração I: Bioquímica, Fisiologia e Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Beatriz Martins Tavares Murta.

Co-orientador: Prof. Dr. Dernival Bertoncello.

Uberaba – MG

2012

# **RODOLFO PESSATO TIMÓTEO**

## **AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA E DA CAPACIDADE FUNCIONAL EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO: EFEITO DA INTERVENÇÃO FIOTERAPÊUTICA**

Esta dissertação foi submetida ao processo de avaliação da Banca Examinadora para a obtenção do Título de:

### **MESTRE EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

e aprovada na sua versão final em 19 de dezembro de 2012, atendendo às normas da legislação vigente da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Área de concentração I: Bioquímica, Fisiologia e Farmacologia.

---

*Prof. Dr. Valdo José Dias da Silva*  
Coordenador do CPGCF/UFTM

BANCA EXAMINADORA

---

*Profa. Dra. Beatriz Martins Tavares*  
Orientadora  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM

---

*Prof. Dr. Carlo José Freire de Oliveira*  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM

---

*Prof. Dr. Valdeci Carlos Dionísio.*  
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

## **APOIO FINANCEIRO**

- Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM);
- Instituto de Pesquisa em Oncologia (IPON);
- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG);
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## **LOCAL DE DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO**

- Laboratório da Disciplina de Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas e Naturais da UFTM;
- Laboratório do Instituto de Pesquisa em Oncologia (IPON) da UFTM;
- Ambulatório de Colagenoses da Disciplina de Reumatologia do Hospital Escola da UFTM;
- Centro de Reabilitação do Hospital de Clínicas da UFTM.

## **DESENVOLVIMENTO TÉCNICO**

- Douglas Côbo Micheli;
- Januário Barbosa dos Santos Júnior;
- Andrezza Silva Ferreira;
- Prof. Dr. Eddie Fernando Candido Murta
- Prof. Dra. Marlene Freire;
- Prof. Ms. Reginaldo Botelho Teodoro;
- Fernando Max Lima.

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus, que nos deu tal capacidade para poder entender a complexidade de sua obra; aos meus pais Antônio Reginaldo Timóteo e Lúcia Mara Pessato Timóteo, que me deram a oportunidade para estudar e chegar onde estou; aos pacientes.*

## **AGRADECIMENTO**

Agradeço ao meu país por oferecer oportunidades para pesquisa; à Universidade Federal do Triângulo Mineiro; à Coordenação do Curso de Pós graduação em Ciências Fisiológicas, principalmente ao Prof. Dr Valdo José Dias da Silva por sua atenção e dedicação; a todos os profissionais da Disciplina de Farmacologia da UFTM, principalmente à Prof<sup>a</sup>. Dra Beatriz Martins Tavares Murta, os quais, sem exceção, foram extremamente atenciosos e cordiais, promovendo um ambiente propício para um bom aprendizado; aos pacientes pela atenção, confiança e dedicação ao tratamento.

Agradeço ao Prof. Dr. Dernival Bertoncello por todo o contínuo apoio nestes 8 anos de caminhada científica e profissional.

Agradeço ao corpo técnico: Douglas Côbo Micheli, Januário Barbosa dos Santos Júnior, Andrezza Silva Ferreira, Fernando Max Lima, pela essencial ajuda com os procedimentos deste trabalho, e desde já, a todos e para todos continuarei me esforçando para que a completa realização deste trabalho faça valer o tempo empregado por todos.

*Tudo que conhecemos hoje, desde a galáxia mais distante até a menor porção de matéria viva em nosso planeta, foram criados a partir de um único evento, portanto, nosso corpo é uma extensão do nosso próprio mundo, e tudo que precisamos está contido nele.*

*Rodolfo Pessato Timóteo*

## RESUMO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença auto-imune caracterizada por lesões cutâneas e manifestações sistêmicas, com períodos de exacerbação e remissão. Na fisiopatologia da doença destaca-se a produção de auto-anticorpos, hiperatividade dos linfócitos B e T, e alteração na expressão de citocinas. O objetivo geral foi avaliar a resposta inflamatória, a capacidade funcional e a qualidade de vida de pacientes com LES sob medicação, submetidos ou não à cinesioterapia. Foram avaliadas 16 mulheres com LES, em diferentes estágios evolutivos, em uso de corticóides e/ou drogas modificadoras de doenças reumáticas e 18 mulheres voluntárias que constituíram o grupo controle. Na primeira etapa foi avaliada a resposta inflamatória entre controles e pacientes com LES, por meio da dosagem sérica (ELISA) de IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- $\alpha$ , ensaio de fagocitose de neutrófilos, quantificação da expressão do receptor CXCR2 e da integrina CD11b na superfície de neutrófilos e linfócitos por citometria de fluxo. Houve aumento significativo dos níveis séricos de IL-6, IL-8 e IL-10 nas pacientes com LES comparado ao grupo controle. No grupo de pacientes houve redução no índice fagocítico e na expressão de CD11b em linfócitos comparado ao grupo controle. Na segunda etapa, as pacientes foram divididas em 2 grupos, sendo grupo 1: medicação (n=10) e grupo 2: medicação + cinesioterapia (n=6), após 4 meses de tratamento foram avaliadas novamente. A capacidade funcional foi avaliada por meio de avaliação postural, antropométrica, de flexibilidade (banco de Wells, peitorais e isquiotibiais), do equilíbrio (Tinetti) e da força muscular. A qualidade de vida foi avaliada pelo questionário SF-36. O questionário SLEDAI foi utilizado para avaliar a gravidade da doença, o qual não apresentou diferenças entre os grupos. Após seguimento do tratamento, houve redução dos níveis séricos de IL-5 e IL-6 nos dois grupos, e de IL-8 e IL-10 no grupo tratado apenas com medicação. No grupo tratado com medicação e cinesioterapia houve redução de IL-2 no soro, redução da expressão de CD11b em neutrófilos, bem como aumento da expressão de CXCR2 em neutrófilos e de CD11b em linfócitos. Ainda, nesse grupo, houve aumento significativo de flexibilidade e da força muscular, e melhora significativa na limitação por aspectos físicos e na dor, após seguimento, enquanto que o grupo tratado apenas com medicação apresentou aumento nas circunferências do abdome e quadril. Em conclusão, pacientes com LES sob terapia medicamentosa, sem doença em atividade, apresentam diferenças nos parâmetros de resposta inflamatória em relação ao grupo controle, como aumento de IL-6 e IL-10, redução da capacidade fagocítica e da expressão de CD11b em linfócitos. A cinesioterapia aumentou a expressão de CXCR2 em neutrófilos e de CD11b em linfócitos, reduziu IL-2 sérica, aumentou a força e a flexibilidade dos pacientes tratados, com consequente melhora da dor e da limitação por aspectos físicos.

**Palavras-chave:** Lúpus eritematoso sistêmico. Citocinas. Receptor CXCR2. Fagocitose. Cinesioterapia. Capacidade funcional.

## ABSTRACT

The Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease characterized by cutaneous lesions and systemic manifestations, with periods of exacerbation and remission. In the physiopathology of the disease, an autoantibody production, B and T lymphocyte hyperactivity, and alteration in the expression of cytokines. The general aim was to essay the inflammatory response, the functional capacity and the quality of life of the patients with SLE under medication, submitted or not to the kinesiotherapy. Avaluated 16 women with SLE in different evolutive stages, using corticoids and/or rheumatic disease modifying drugs and 18 women volunteers constituted the control group. In the first stage the inflammatory response was assessed between the control and the patients with SLE, by the serum dosage of cytokines (ELISA) of the pattern IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- $\alpha$ , an assay of neutrophil phagocytosis and quantification of the receptor expression CXCR2 and the integrin CD11b in the surface of neutrophil and lymphocyte by flow cytometry. There was a significant increase in serum levels of IL-6, IL-8 e IL-10 in patients with SLE compared to the control group. Yet, the group of patients there was a reduction in the phagocitic index and expression of CD11b in lymphocytes in the compared to the control group. In the second stage, the patients were divided into two groups, being group 1: medication (n=10) e group 2: medication + kinesiotherapy (n=6) and again assessed. The functional capacity of the group of patients, was evaluated by postural, flexibility (Wells bench, chest and ischiotibials), anthropometric, balance (Tinetti) as well as muscular strength analyzing. The quality of life was assessed by the questionnaire SF-36. The questionnaire SLEDAI was used to assess the illness severity, which did not present significant difference between the groups. After following the treatment, there was reduction of serum levels of IL-5 and IL-6 in both groups, and IL-8 and IL-10 in the group treated only with medication. In the groups treated with medication and kinesiotherapy there was a reduction of IL-2 in serum, reduction of the expression CD11b in neutrophils, as well as an increase of the expression of CXCR2 in neutrophils and CD11b in lymphocyte. Yet, in this group, it was observed a meaningful increase of flexibility and muscular strength, and significative improvement in the limitation by physical aspects and in the pain, after following, while the group treated only with medication presented increase in the waist and hip circumferences. In conclusion there was no difference in relation to the SLEDAI index between the groups. In conclusion, patients with SLE under medication therapy, without disease in activity, presented differences in the parameters of the inflammatory response in relation to the control group, as increase of cytokines IL-6 e IL-10, reduction of the phagocytic capacity and expression of CD11b in lymphocytes. The kinesiotherapy increased the expression of CXCR2 in neutrophils and CD11b in lymphocyte, decreased IL-2 serum, increased the strength and the flexibility of patients treated with, with a following improvment of the pain and limitation by physical aspects.

**Keywords:** Systemic lupus erythematosus. Cytokines. Receptor CXCR2. Phagocytosis. kinesiotherapy. Physiotherapy intervention. Functional capacity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: Representação de mecanismos patogénicos no LES incluindo nefrite lúpica ....	18
FIGURA 2: Migração de leucócitos .....	22
FIGURA 3: Organograma demonstrando divisão dos grupos analisados .....	31
FIGURA 4: Separação de leucócitos a partir do sangue total contendo anticoagulante .....	33
FIGURA 5: Neutrófilos purificados do sangue periférico .....	34
FIGURA 6: Teste de 10 repetições máxima (RM) na posição supina para MMSS .....	38
FIGURA 7: Testes de 10 RM para MMII .....	39

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. Concentrações de citocinas no soro de controles e pacientes com LES .....	48
GRÁFICO 2. Índice fagocítico de controles e pacientes com LES .....	49
GRÁFICO 3. Expressão de CD11b em neutrófilos e linfócitos de controles e pacientes com LES .....	50
GRÁFICO 4. Expressão de CXCR2 em neutrófilos e linfócitos de controles e pacientes com LES .....	51
GRÁFICO 5. Testes de flexibilidade nos grupos de pacientes com LES antes e após seguimento do tratamento .....	53
GRÁFICO 6. Representação em Kilogramas (Kg) da carga máxima elevadas durante as 10 repetições nos respectivos testes .....	54
GRÁFICO 7. Valores em milímetros da dobra torácica avaliada por plicômetro antes e após 4 meses de acompanhamento .....	55
GRÁFICO 8. Valores das medidas das circunferências abdominal (painel A) e do quadril (painel B) mensuradas nos respectivos pontos anatômicos .....	56
GRÁFICO 9. Análise de qualidade de vida por meio do questionário SF-36 de pacientes com LES antes (pré) e após (pós) seguimento do tratamento .....	57
GRÁFICO 10. SLEDAI pré e pós seguimento do tratamento .....	58
GRÁFICO 11. Concentrações de IL-2, IL-8 e TNF- $\alpha$ no soro de pacientes com LES após seguimento do tratamento .....	59
GRÁFICO 12. Concentrações de IL-5, IL-6 e IL-10 no soro de pacientes com LES após seguimento do tratamento .....	60
GRÁFICO 13. Índice fagocítico de pacientes com LES após seguimento do tratamento .....	61
GRÁFICO 14. Expressão de CD11b em neutrófilos e linfócitos de pacientes com LES após seguimento do tratamento .....	62
GRÁFICO 15. Expressão de CXCR2 em neutrófilos e linfócitos de pacientes com LES após seguimento do tratamento .....	63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Absoluto (Abs);

Ácido desoxiribonucléico (DNA);

Ácido ribonucléico (RNA);

Antígeno de linfócitos T citotóxicos (CTLA4);

Fator ativador de células B -cell activating factor (*BAFF*);

Centímetros (cm);

Cluster de diferenciação (CD);

Data de nascimento (D.N.);

Desvio padrão (DP);

Exercícios físicos (EFs);

Espécies reativas de oxigênio (ROS);

Frequência cardíaca máxima (FC<sub>máx</sub>);

Formil-metionil-leucil-fenilalanina (fMLP);

Gás carbônico (CO<sub>2</sub>);

Graus (°);

Grau Celsius (°C);

health survey manual and interpretation guide (SF-36);

Horas (h);

Imunoglobulina (Ig);

Índice de massa corporal (IMC);

Índice fagocítico (IF);

Interleucinas (ILs);

Interferon alfa (IFN- $\alpha$ );

Kilograma (kg);

Leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>);

Lúpus eritematoso sistêmico (LES);

Microlitro (μl);

Micrômetro (μm);

Micromol (μM);

Miligrama (mg);

Milímetros (mm);

Milímetros cúbicos (mm<sup>3</sup>);

Milimol (mM);

Mililitro (ml);

Minutos (min);

Murphy Roths Large (MRL);

Natural Killers (NK);

New Zealand Black (NZB);

New Zealand White cross (NZB/W);

Padrões Ventilatórios Voluntários (PVV's);

Picogramas (pg);

Polimorfonucleados (PBMCs);

Porcento (%);

Proteína C reativa (PCR);

Receptor de citocinas C-X-C (CXCR);

Repetições máxima (RM);

Sistema nervoso central (SNC);

Systemic lupus erythematosus disease activity index (SLEDAI);

T helper (Th);

Tumor necrosis factor alfa (TNF- $\alpha$ );

Unidade internacional (UI);

Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM);

Universidade Federal de Uberlândia (UFU);

Velocidade de oxigênio (VO<sub>2</sub>).

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
1.1 LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO - CARACTERÍSTICAS GERAIS .....	16
1.2 ALTERAÇÕES DA RESPOSTA IMUNE NO LES .....	17
<b>1.2.1 Produção de citocinas no LES</b> .....	17
<b>1.2.2 Eventos envolvidos na adesão, migração e capacidade fagocítica de leucócitos</b> ....	20
1.3 EXERCÍCIOS FÍSICOS E ALTERAÇÕES NA RESPOSTA IMUNE .....	23
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	28
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	29
3.1. OBJETIVOS GERAIS .....	29
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	30
4.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	30
4.2 AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA .....	32
<b>4.2.1 Coleta de sangue</b> .....	32
<b>4.2.2 Ensaio de fagocitose de neutrófilos</b> .....	32
<b>4.2.3 Dosagem de citocinas</b> .....	34
<b>4.2.4 Expressão do receptor CXCR2 e da integrina CD11b na superfície de leucócitos por citometria de fluxo</b> .....	35
4.3 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE FUNCIONAL E QUALIDADE DE VIDA DAS PACIENTES .....	36
<b>4.3.1. Avaliação de flexibilidade</b> .....	36
<b>4.3.2. Avaliação da força muscular</b> .....	37
<b>4.3.3 Avaliação para predição de esforço aeróbico</b> .....	40
<b>4.3.4 Avaliação postural</b> .....	40
<b>4.3.5 Avaliação antropométrica</b> .....	41
<b>4.3.6 Avaliação de equilíbrio</b> .....	41
<b>4.3.7 Qualidade de vida</b> .....	42
4.4 CINESIOTERAPIA .....	42
4.4.1 Aquecimento .....	43
4.4.2 Fortalecimento .....	43

4.4.3 Relaxamento .....	44
4.5 AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE ATIVIDADE DA DOENÇA PARA LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO – SLEDAI .....	45
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	45
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>46</b>
5.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO .....	46
5.2 AVALIAÇÃO ENTRE CONTROLES E PACIENTES COM LES .....	47
<b>5.2.1 Quantificação sistêmica de citocinas em controles e pacientes com LES .....</b>	<b>47</b>
<b>5.2.2 Avaliação da capacidade fagocítica de neutrófilos em controles e pacientes com LES .....</b>	<b>47</b>
<b>5.2.3 Quantificação da expressão de CD11b e de CXCR2 em neutrófilos e linfócitos de controles e pacientes com LES .....</b>	<b>49</b>
5.3 AVALIAÇÃO DOS GRUPOS DE PACIENTES COM LES APÓS SEGUIMENTO DO TRATAMENTO .....	52
<b>5.3.1 Avaliação cinesiofuncional .....</b>	<b>52</b>
<b>5.3.2 Avaliação antropométrica .....</b>	<b>55</b>
<b>5.3.3 Avaliação da qualidade de vida .....</b>	<b>56</b>
<b>5.3.4 Avaliação do índice de atividade da doença .....</b>	<b>58</b>
<b>5.3.5 Quantificação sistêmica de citocinas nos grupos de pacientes com LES antes e após seguimento do tratamento .....</b>	<b>58</b>
<b>5.3.6 Avaliação da capacidade fagocítica de neutrófilos nos grupos de pacientes com LES antes e após seguimento do tratamento .....</b>	<b>61</b>
<b>5.3.7 Quantificação da expressão de CD11b em neutrófilos e linfócitos dos grupos de pacientes com LES antes e após seguimento do tratamento .....</b>	<b>61</b>
<b>5.3.8 Quantificação da expressão de CXCR2 em neutrófilos e linfócitos dos grupos de pacientes com LES antes e após seguimento do tratamento .....</b>	<b>63</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>73</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>85</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>105</b>