



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

**INFLUÊNCIA DO CICLO MENSTRUAL NA ATIVIDADE  
ELETROMIOGRÁFICA E NA CINEMÁTICA DO JOELHO  
DURANTE A ATERISSAGEM DO SALTO**

GUILHERME MANNA CESAR

SÃO CARLOS

2009



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

**INFLUÊNCIA DO CICLO MENSTRUAL NA ATIVIDADE  
ELETROMIOGRÁFICA E NA CINEMÁTICA DO JOELHO  
DURANTE A ATERISSAGEM DO SALTO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Fisioterapia na área de concentração Processos de Avaliação e Intervenção em Fisioterapia.

**Discente:** Guilherme Manna Cesar

**Orientador:** Prof. Dr. Fábio Viadanna Serrão

SÃO CARLOS

2009

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

M282i

Cesar, Guilherme Manna.

Influência do ciclo menstrual na atividade eletromiográfica e na cinemática do joelho durante a aterrissagem do salto / Guilherme Manna Cesar. -- São Carlos : UFSCar, 2009. 141 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

1. Ligamento cruzado anterior. 2. Ciclo menstrual. 3. Cinemática. 4. Eletromiografia. I. Título.

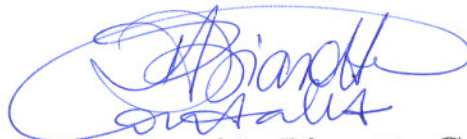
CDD: 611.72 (20ª)

**MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA PARA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE Guilherme Manna César APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM 20 DE FEVEREIRO DE 2009.**

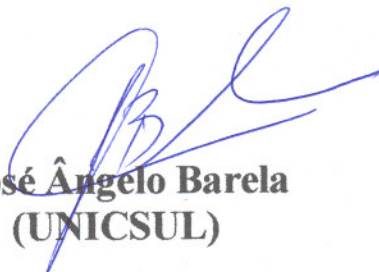
**BANCA EXAMINADORA:**



**Fábio Viadanna Serrão  
(UFSCar)**



**Daniela Aparecida Biasotto-Gonzalez  
(UNINOVE)**



**José Ângelo Barela  
(UNICSUL)**

## **DEDICATÓRIA**

---

Dedico este trabalho à minha família...

Ausentei-me, novamente, para completar mais uma etapa em minha vida. Amo muito vocês, Tuca, Nelson e Gustavo, pelo enorme suporte, compreensão e pelo eterno carinho.

## AGRADECIMENTOS

---

A todas as voluntárias pela participação e colaboração nesse trabalho; e também por terem aceitado depilações gratuitas em pelo menos 12 locais no corpo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia (PPG-Ft) da UFSCar, incluindo todo o corpo docente, pelos ensinamentos fundamentais ao meu crescimento profissional e, também, às secretárias Ana Claudia M. B. Gianlorenzo, Kelly Legoro e Cristiane de Oliveira Barbosa pela paciência e dedicação durante todas as etapas de conclusão do mestrado.

Ao Dr. Alessandro R. M. Rosa e as secretárias do Laboratório Médico Dr. Maricondi por propiciar e auxiliar nas coletas sangüíneas para a realização dos perfis hormonais.

Ao Prof. Dr. Fábio Viadanna Serrão por ter me auxiliado em subir mais um degrau de meu objetivo acadêmico.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela Ap. Biasotto-Gonzalez, minha eterna orientadora. Não tenho palavras para descrever todos os seus auxílios e pela grande amizade.

Ao Prof. Dr. José Ângelo Barela pelas correções e sugestões em ambos os artigos desenvolvidos nesse mestrado.

Ao grande amigo Paulo Roberto Pereira Santiago; sem os seus ensinamentos e sua imprescindível ajuda durante as coletas esse trabalho certamente não se concretizaria.

Aos colegas de Laboratório (Daniel, Theresa e Rodrigo), e em especial à Vanessa Santos Pereira por ter se dedicado com tanto afinco em todas as etapas desse trabalho; você é uma excelente companheira de pesquisa.

À Mariana Arias Ávila pela prontidão em nos ajudar durante todas as coletas (indiferente do horário e do dia), pela grande amizade e pelos episódios de gargalhada em dias de coleta.

Ao “filhão” Marcus Vinicius Marques de Moraes; sua presença nos confortava e nos iluminou em todos os momentos; você é uma pessoa muito especial e um eterno amigo.

À Larissa Ariane R. Moraes pela paciência em nos emprestar o Paulo e os computadores em todas as coletas de dados.

À Prof<sup>a</sup>. e amiga Dr<sup>a</sup>.Paula Hentschel Lobo da Costa por ter fornecido não apenas o espaço para a coleta de dados e auxílio nas coletas, e sim oportunidades extras para o crescimento profissional e pessoal.

Ao Prof. e amigo Dr. Benedito Galvão Benze pelos incansáveis encontros que se tornavam aulas particulares e muito agradáveis de bioestatística.

Ao Prof Dr. Sérgio Augusto Cunha por emprestar as câmeras de alta velocidade durante todo o período de coleta de dados, mesmo quando estas foram necessárias para sua disciplina.

Às “Meninas da Helenice” (Letícia, Cris, Roberta, Luciana, Bia e Tati); agradeço minhas vizinhas de laboratório pela prontidão em esclarecer muitos tópicos relacionados à minha pesquisa e pelos momentos de descontração.

À amiga Selva Maria Guimarães Barreto, pelo grande auxílio e “aulas particulares” na fase final do mestrado.

Aos amigos Solange, Daniel e Baiano, pelo suporte, torcida e muitos pensamentos positivos.

À Lígia Yumi Mochida pelo enorme auxílio e prontidão durante todo o período de coleta de dados (mesmo precisando de tempo para terminar seu próprio mestrado), pelo tratamento fisioterapêutico após minha cirurgia de reconstrução do LCA durante o mestrado, pelo imprescindível processamento dos dados eletromiográficos (também realizado durante sua atarefada fase de defesa), pelo ensino de conhecimentos de cinemetria e plataforma, pelo contínuo companheirismo e ter me ajudado a espairecer em fases de estresse, e por me fazer profundamente feliz e completo (223.8!!).

À Deus e seu Filho, pois sem Ele nada é possível.

*Não há saber mais ou saber menos. Há saberes diferentes.*

(Paulo Freire)



## LISTA DE TABELAS

---

### ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- Tabela 1** Autores, ano de publicação e método de avaliação executado para detectar frouxidão do ligamento cruzado anterior. 25
- Tabela 2** Fase do ciclo menstrual onde foi observada maior frouxidão do ligamento cruzado anterior. 26
- Tabela 3** Método de avaliação por levantamento de dados de lesão e de questionários administrados após lesão e as conseqüentes fases do ciclo menstrual onde foi observada a lesão do ligamento cruzado anterior. 27

### ESTUDO I

- Tabela 1** Características das quinze participantes do gênero feminino. 37
- Tabela 2** Hormônios sexuais, valgo do joelho e início de ativação EMG do músculo glúteo médio durante as diferentes fases do ciclo menstrual. Valores estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. 46

### ESTUDO II

- Tabela 1** Nível sanguíneo dos hormônios estradiol e progesterona durante as três diferentes fases do ciclo menstrual da amostra de mulheres não atletas (n=15). 65

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

---

### ESTUDO I

- Figura 1** Fotografias representativas da tarefa de aterrissagem unipodal (*single leg drop landing*), e configuração dos marcadores refletivos. **A**, posição inicial da participante. **B**, início da queda da plataforma de 31cm de altura. **C**, contato inicial (CI) com o solo. **D**, máxima amplitude de valgo. **E**, 2s após CI com manutenção do equilíbrio. 41
- Figura 2** Vista superior (**A**) e diagonal (**B**) das posições das câmeras de vídeo de alta velocidade. O quadrado preto em **A** representa a plataforma de onde as participantes realizaram a tarefa, aterrissando de maneira unipodal na marca X (esta marca é apenas ilustrativa para indicar a direção da tarefa, e não estava presente no solo durante as coletas). 42

### ESTUDO II

- Figura 1** Distribuição anatômica de quatorze dos dezesseis marcadores refletivos e passivos (os marcadores da primeira vértebra sacral e tuberosidade calcânea não estão visíveis nesta figura). 61
- Figura 2** Período entre contato inicial (CI) com o solo e pico do componente vertical da força de reação do solo (FRSV) onde a razão de co-contração dos músculos reto femoral e bíceps femoral foi calculada durante a fase inicial de desaceleração da aterrissagem unipodal. 63

- Figura 3** Média dos ângulos de flexão do joelho apresentada pela amostra de mulheres não atletas durante as três distintas fases do ciclo menstrual. 66
- Figura 4** Média da razão de co-contração entre os músculos da coxa reto femoral e bíceps femoral apresentada pela amostra de mulheres não atletas durante as três distintas fases do ciclo menstrual. 67

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

---

### Língua Portuguesa

°	Graus
Ag/AgCl	Prata / Cloreto de prata
CI	Contato inicial
CIVM	Contração isométrica voluntária máxima
cm	Centímetro
dB	Decibel, intensidade de sinal
DP	Desvio padrão
E2	Estradiol (17 $\beta$ -estradiol)
EMG	Eletromiografia
<i>et al</i>	Abreviação do Latim <i>et alii</i> , significando “e outros”
FRSV	Força de reação do solo, componente ortogonal vertical
Hz	Hertz, unidade derivada do sistema internacional para frequência
IMC	Índice de massa corporal
kg	Quilograma
LCA	Ligamento cruzado anterior
n	Número de indivíduos utilizados na amostra
ng/ml	Nanograma por mililitro
mm	Milímetro
ms	Milisegundo
$\mu$ l	Microlitro
p	Nível de significância
<i>P</i>	Diferença mínima significativa (aumento percentual) da variabilidade entre as variáveis em estudo.
pg/ml	Picograma por mililitro
PRGE	Progesterona
r	Coefficiente de correlação de Pearson, também chamado de coeficiente de correlação produto-momento
s	Segundos

## Língua Inglesa

°	Degrees
ACL	Anterior cruciate ligament
Ag/AgCl	Silver / Silver chloride
BMI	Body mass index
cm	Centimeter
dB	Decibel, signal intensity
DLT	Direct linear transformation
E2	Estradiol or oestradiol (17 $\beta$ -estradiol)
EMG	Electromyography
et al	Abbreviation from the Latin language <i>et alii</i> , meaning “and others”
Hz	Hertz, unit of frequency
IC	Initial contact
kg	Kilogram
n	Number of individuals utilized in the sample
ng/ml	Nanograms per milliliter
$\mu$ l	Microliter
mm	Millimeter
ms	Millisecond
MVIC	Maximum voluntary isometric contraction
p	Significance level
<i>P</i>	Minimal significant difference (percent increase) of variability between the studied variables.
pg/ml	Picograms per milliliter
PRGE	Progesterone
r	Pearson correlation coefficient, also referred to as product-moment correlation coefficient
RMS	Root mean square
s	Seconds
VGRF	Vertical ground reaction force

## SUMÁRIO

---

<b>CONTEXTUALIZAÇÃO</b> .....	12
<b>OBJETIVOS</b> .....	17
<b>COMPOSIÇÃO DA DISSERTAÇÃO</b> .....	18
<b>ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: Influência dos Hormônios Sexuais na Frouxidão e Lesão do LCA: Revisão Bibliográfica</b> .....	20
Resumo .....	21
Introdução .....	22
Metodologia .....	24
Resultados .....	25
Discussão .....	28
Conclusão .....	31
<b>ESTUDO I: Influência dos Hormônios Sexuais Femininos no Valgo Dinâmico do Joelho e Tempo de Ativação do Músculo Glúteo Médio</b> .....	32
Resumo .....	33
Introdução .....	34
Materiais e Método .....	36
Resultados .....	45
Discussão .....	47
Conclusão .....	52
<b>ESTUDO II: Influência da Flutuação dos Hormônios do Ciclo Menstrual no Ângulo de Flexão e Comportamento Neuromuscular do Joelho</b> .....	53
Resumo .....	54
Introdução .....	55
Materiais e Método .....	57
Resultados .....	65
Discussão .....	68
Conclusão .....	72
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	73
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	74
<b>APÊNDICES</b> .....	88
<b>ANEXOS</b> .....	95

## CONTEXTUALIZAÇÃO

---

O ligamento cruzado anterior (LCA) é o ligamento da articulação do joelho que apresenta maior frequência de lesões, sendo lesionado até três vezes mais do que as estruturas meniscais dessa articulação (BOLLEN, 1998; HEITZ *et al.*, 1999). Destas lesões 78% acontecem em situações sem contato (FARYNIARZ *et al.*, 2006) que incluem movimentos de desaceleração, mudanças bruscas de direção e aterrissagem de um salto (RUSSELL *et al.*, 2006), sendo que o último é o mecanismo mais observado para lesões do LCA (OLSEN *et al.*, 2004). Estudos epidemiológicos comparando a incidência de lesões entre homens e mulheres concluíram que as mulheres são de duas a oito vezes mais propensas à ruptura do LCA que seus congêneres masculinos quando participam de uma mesma atividade (ARENDDT *et al.*, 1999; HARMON e IRELAND, 2000; HERTEL *et al.*, 2006).

A discrepância no número de lesões apresentadas pelas mulheres quando comparado aos homens pode ser justificada por fatores anatômicos (GRIFFIN *et al.*, 2000; ANDERSON *et al.*, 2001), biomecânicos (GRIFFIN *et al.*, 2000; HEWETT *et al.*, 2005), neuromusculares (HEWETT, 2000; LLOYD, 2001; HEWETT *et al.*, 2002; MCLEAN *et al.*, 2004), e hormonais (SLAUTERBECK e HARDY, 2001; ARENDT *et al.*, 2002; WOJTYS *et al.*, 2002; IRELAND e OTT, 2004). Os fatores anatômicos se baseiam em variáveis discrepantes entre os gêneros, como a espessura do LCA e da fossa intercondilar (GRIFFIN *et al.*, 2000). A pelve feminina mais alargada se apresenta como um fator biomecânico (ZELLER *et al.*, 2003) que pode influenciar na conformidade estrutural do membro inferior. Já os autores que se baseiam nos fatores neuromusculares utilizam recursos eletromiográficos para demonstrar os diferentes padrões de ativação do quadríceps em relação aos isquiotibiais (HEWETT *et al.*, 2002; MYER *et al.*, 2005), que promovem translações tibiais que favorecem o mecanismo de lesão.

Quanto aos fatores hormonais, estudos têm demonstrado relações entre os picos dos hormônios sexuais femininos e o aumento da frouxidão ligamentar, especificamente do LCA (SLAUTERBECK e HARDY, 2001; DEIE *et al.*, 2002; SHULTZ *et al.*, 2005). A teoria hormonal baseia-se na oscilação cíclica dos hormônios sexuais observada como característica única do sistema endócrino feminino. A taxa desses hormônios e a razão entre eles se alteram por meio de uma sincronia endócrina entre o hipotálamo, a glândula pituitária e os ovários, onde os níveis de estrógeno e progesterona oscilam durante todo o ciclo menstrual (WOJTYS

*et al.*, 1998). Durante a fase inicial do ciclo (entre os dias 1 e 9, em um ciclo fisiológico de 28 dias), denominada fase folicular, as concentrações de estrógeno e progesterona no plasma sanguíneo são baixas. Na fase intermediária (entre os dias 10 e 14), denominada fase ovulatória ou fase folicular tardia, há um aumento na concentração do hormônio estrógeno. Na fase final do ciclo (fase lútea, entre os dias 15 até o final do ciclo), há uma queda e novamente um aumento na secreção de estrógeno, porém, ocorre um aumento considerável na concentração de progesterona no plasma (ZAZULAK *et al.*, 2006).

A relação entre o pico dos hormônios femininos e a frouxidão ligamentar foi sugerida devido à presença de receptores dos hormônios progesterona e estrógeno no LCA humano, que promove uma alteração na proliferação de fibroblastos e a consequente síntese de colágeno (LIU *et al.*, 1996). De acordo com o estudo conduzido por Yu *et al.* (2001), uma diminuída proliferação de fibroblastos e síntese de procolágenos tipo I no tecido do LCA humano ocorreu com o aumento da concentração do hormônio estrógeno enquanto o nível de progesterona permaneceu baixo e inalterado. No entanto, a proliferação de fibroblastos aumentou juntamente com a síntese de procolágenos tipo I com o aumento da concentração de progesterona. Os picos de concentração do hormônio progesterona observados na circulação sanguínea podem proporcionar uma diminuição da elasticidade das fibras do LCA e dos tecidos adjacentes. De outra maneira, o pico de hormônios estrogênicos durante baixa concentração de progesterona aumenta a extensibilidade dos tecidos moles, e para Faryniarz *et al.* (2006), essa alteração na síntese de colágeno pode contribuir com um maior efeito nas lesões dos tecidos ligamentares.

A variação na quantidade absoluta de hormônios sexuais femininos e sua associação com alterações teciduais e incidência de lesões de LCA não-traumáticas, embora primeiramente apontadas por Moller-Nielsen e Hammar (1989), vêm apenas atualmente sendo mais explorada (BELANGER *et al.*, 2004; BEYNNON *et al.*, 2005; DEDRICK *et al.*, 2006; HERTEL *et al.*, 2006; HEWETT *et al.*, 2007; ADACHI *et al.*, 2008). No entanto, os resultados são ainda controversos, falhando em esclarecer a adequada ação dos hormônios sexuais no risco de lesão de LCA. Enquanto alguns autores demonstraram relação entre o pico destes hormônios e a frouxidão ligamentar (SLAUTERBECK e HARDY, 2001; WOJTYS *et al.*, 2002), outros estudos não demonstraram tal relação (LUNEN *et al.*, 2003; BELANGER *et al.*, 2004; HERTEL *et al.*, 2006).

Dentre os estudos que observaram a associação entre a oscilação dos hormônios sexuais e lesão do LCA, existe também discordância quanto às fases do ciclo menstrual onde a lesão, decorrente da frouxidão ligamentar, foi evidenciada. Resultados indicam maior



frouxidão do LCA tanto na fase folicular inicial (SLAUTERBECK e HARDY, 2001), quanto na fase folicular tardia (DEIE *et al.*, 2002; WOJTYS *et al.*, 2002), e durante a fase lútea (DEIE *et al.*, 2002; SHULTZ *et al.*, 2004). No entanto, alguns estudos utilizaram dados retrospectivos, questionando as voluntárias quanto à fase do ciclo menstrual em que elas se encontravam quando sofreram a lesão. Este fato torna os resultados encontrados pouco fidedignos pela subjetividade da coleta referente à fase do ciclo menstrual.

O valgo do joelho durante a aterrissagem de um salto é considerado o principal mecanismo de lesão do LCA em mulheres (FORD *et al.*, 2003). A relação entre cargas em valgo no joelho e a ruptura das fibras do LCA tem sido demonstrada em estudos cadavéricos (KANAMORI *et al.*, 2000; FUKUDA *et al.*, 2003) e em pesquisas *in vivo* (MARKOLF *et al.*, 1995; LLOYD e BUCHANAN, 2001). O valgo observado na aterrissagem do salto é denominado valgo dinâmico e é definido como o movimento ou posicionamento da região distal da tíbia para longe da linha sagital mediana do corpo, enquanto a região distal do fêmur está mais próxima da linha sagital mediana (HEWETT *et al.*, 2005). Assim, o valgo dinâmico é composto de adução e rotação medial do fêmur e da abdução e rotação lateral da tíbia (ZAZULAK *et al.*, 2005). Durante a aterrissagem, as mulheres demonstram maior adução e rotação medial do fêmur, as quais produzem maior momento valgo comparado aos homens (RUSSELL *et al.*, 2006), predispondo-as à maior incidência de lesão do LCA.

O recrutamento, o padrão de disparo e a força muscular são fatores importantes no controle dinâmico do alinhamento do joelho. Considerando o movimento associado entre os segmentos do membro inferior durante atividades com suporte do peso corporal, uma maior atenção aos músculos do quadril se faz necessária. A ativação muscular alterada dos músculos do quadril, particularmente do glúteo médio, pode ter um papel essencial no alinhamento em valgo do joelho exibido pelas mulheres durante a aterrissagem (ZAZULAK *et al.*, 2005). O músculo glúteo médio é o abductor primário do quadril e importante estabilizador pélvico durante a marcha e outras atividades funcionais (EARL, 2005). Desta forma, esse músculo atua na desaceleração da adução do quadril durante a aterrissagem de um salto, controlando a amplitude do valgo dinâmico do joelho. Por outro lado, a sua insuficiência poderia aumentar potencialmente o valgo dinâmico.

Portanto, baseado nas informações supracitadas onde foi comprovada que a oscilação hormonal altera a frouxidão ligamentar, podemos hipotetizar que o controle neuromuscular também poderia ser alterado durante as diferentes fases do ciclo menstrual. Isso ocorreria pelo fato da frouxidão ligamentar resultar em déficit proprioceptivo, que por sua vez influenciaria o controle neuromuscular (MCNAIR e MARSHALL, 1994). Dedrick *et al.* (2006)

investigaram a influência dos altos níveis de exposição ao estrogênio sofrido pelas mulheres durante o ciclo menstrual e o consequente padrão de controle neuromuscular do membro inferior (músculos glúteo máximo, semitendíneo, vasto lateral, vasto medial oblíquo, tibial anterior e gastrocnêmio lateral) em uma tarefa de aterrissagem de um salto. Para estes autores, a oscilação hormonal não alterou o padrão temporal de ativação muscular, observando-se significância apenas no atraso do início de ativação do músculo semitendinoso na fase lútea, e no tempo de ativação entre os músculos glúteo máximo e semitendinoso entre a fase folicular inicial e a fase lútea.

Os autores Abt *et al.* (2007) também avaliaram as características neuromusculares e biomecânicas de dez mulheres universitárias saudáveis e fisicamente ativas durante as diferentes fases do ciclo menstrual. Nenhuma diferença foi detectada embora alterações significativas das concentrações dos níveis hormonais foram observadas. No entanto, nenhum estudo até o momento investigou o padrão de ativação do músculo glúteo médio nessas diferentes fases de exposição aos hormônios sexuais femininos. Tendo em vista a importância desse músculo no controle do valgo dinâmico, a compreensão do seu comportamento durante a oscilação hormonal poderia fornecer informações essenciais sobre predisposição e prevenção de lesões do LCA.

Os músculos que controlam o ângulo de flexão do joelho durante a aterrissagem apresentam importância similar ao glúteo médio com relação à dissipação de forças que, quando não controladas, são lesivas às estruturas da articulação do joelho. Se a força de reação do solo durante a aterrissagem é transmitida ao joelho sem um movimento de acomodação da articulação (flexão de joelho), o corpo apresentará uma menor chance de atenuar essa força. Assim, o deslocamento angular máximo de flexão de joelho distribui o componente ortogonal vertical da força de reação do solo promovendo condições ideais para prevenção de lesões (LEPHART *et al.*, 2002). Alguns estudos têm demonstrado que as mulheres apresentam um menor ângulo de flexão do joelho durante a aterrissagem de um salto quando comparadas aos homens (MALINZAK *et al.*, 2001; HUSTON *et al.*, 2001; SALCI *et al.*, 2004; YU *et al.*, 2005). No entanto, na literatura consultada, não foram encontrados estudos que verificassem esta angulação nas diferentes fases do ciclo menstrual.

Em situações de cadeia cinética fechada, como no caso da aterrissagem de um salto, o quadríceps femoral controla a magnitude da flexão do joelho, freando este movimento. Porém, durante essa ação o quadríceps femoral exerce uma força que tende a transladar anteriormente o platô tibial e, assim, sobrecarregar o LCA (MARKOLF *et al.*, 1995). Observa-se, portanto, a importante ação dos músculos isquiotibiais como sinergistas do LCA,

promovendo forças que impedem a translação anterior da tíbia em relação ao fêmur (HEWETT *et al.*, 2005). Assim, um estudo que avaliasse a possível influência hormonal no ângulo de flexão do joelho e no controle dos músculos quadríceps e isquiotibiais durante a aterrissagem de um salto permitiria uma maior compreensão sobre a predisposição das lesões do LCA e, conseqüentemente, uma melhor abordagem preventiva dessas lesões.

Diante disso nós hipotetizamos que a atividade elétrica dos músculos glúteo médio, reto femoral e bíceps femoral pode ser alterada devido à influência da oscilação dos hormônios sexuais femininos. Mais adiante, o comportamento do membro inferior durante situações dinâmicas pode também ser alterado pela oscilação hormonal, alterando a cinemática da articulação do joelho.

## **OBJETIVO**

---

Diante do exposto, o presente estudo teve como propósito investigar o comportamento biomecânico da articulação do joelho de mulheres durante uma tarefa dinâmica nas três diferentes fases do ciclo menstrual.

## COMPOSIÇÃO DA DISSERTAÇÃO

---

A presente dissertação de mestrado foi composta por um artigo de revisão bibliográfica (Influência dos Hormônios Sexuais na Frouxidão e Lesão do LCA: Revisão Bibliográfica) e dois artigos originais (*Influence of Female Sex Hormones on Dynamic Knee Valgus and Gluteus Medius Onset Timing*, Anexo I; *Menstrual cycle hormone fluctuations on knee flexion angle and neuromuscular behavior*, Anexo II). Os artigos originais foram desenvolvidos simultaneamente, mas pelos distintos e característicos enfoques de cada um, eles serão apresentados a seguir separadamente, seguindo também a ordem cronológica do término dos mesmos.

O artigo de revisão bibliográfica foi confeccionado durante as atividades iniciais do projeto de mestrado e publicado na Revista Fisioterapia em Movimento. Neste foram mencionadas e discutidas as pesquisas realizadas sobre a influência dos hormônios sexuais femininos na frouxidão do LCA e na incidência ou prevalência de lesões dessa estrutura devido a oscilações hormonais. Ressalta-se que artigos nesta área não foram observados em periódicos nacionais e nem na Língua Portuguesa. O conteúdo desse artigo foi abordado na seção contextualização e seus tópicos atualizados.

O primeiro artigo original, Estudo I, investigou o início da ativação eletromiográfica do músculo glúteo médio e a amplitude máxima do valgo dinâmico da articulação do joelho em diferentes fases do ciclo menstrual durante uma aterrissagem unipodal, mecanismo este confirmado em aumentar a possibilidade de lesão do ligamento cruzado anterior (LCA) do joelho. Não há estudos na literatura que investigaram tais variáveis em uma amostra de mulheres não atletas, embora lesões do LCA também ocorram em populações não atletas durante atividades de vida diária e atividades recreativas. Assim, esse estudo permitiu maior compreensão da influência dos hormônios sexuais femininos no controle neuromuscular da articulação do joelho e no comportamento cinemático dessa articulação durante tarefas dinâmicas, promovendo um melhor escopo de entendimento das lesões de LCA sofridas por mulheres.

Com o objetivo de analisar em um diferente plano anatômico as variáveis que influenciam no mecanismo de lesão do LCA, o segundo artigo original, Estudo II, foi realizado. Foi então analisado o ângulo máximo de flexão do joelho em diferentes fases do ciclo menstrual durante a aterrissagem unipodal. Sabe-se que a grande maioria dos casos de

lesão do LCA ocorre entre os ângulos de 0° (extensão completa) a 30° de flexão durante uma tarefa dinâmica. Juntamente com a análise do ângulo de flexão do joelho, avaliou-se a razão de co-contracção de dois músculos (um anterior e outro posterior à articulação do joelho) que atuam diretamente na amplitude de flexão do joelho. Portanto, esse estudo permitiu melhorar a compreensão de mecanismos de lesão de LCA em uma amostra de mulheres não atletas com diferentes condições internas de oscilação hormonal.

## **ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

---

### **Influência dos Hormônios Sexuais na Frouxidão e Lesão do LCA: Revisão Bibliográfica**

Manuscrito publicado na Revista Fisioterapia em Movimento, volume 21, número 3, julho/setembro 2008.

## RESUMO

Estudos epidemiológicos indicam que as mulheres são de duas a oito vezes mais propensas à ruptura do ligamento cruzado anterior (LCA) que os homens quando participam de uma mesma atividade. Dentre os fatores utilizados para explicar tal discrepância, a relação entre picos dos hormônios sexuais femininos e o aumento da frouxidão ligamentar têm sido recentemente abordada com resultados ainda controversos. Diante disso, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão sobre a influência da oscilação dos hormônios sexuais femininos na frouxidão e lesão do LCA. Para tanto, foi realizada uma revisão na literatura com consulta às bases de dados eletrônicas (MEDLINE, PubMed, PEDro, EMBASE, CINAHL, COCHRANE, LILACS e SciELO) do ano de 1966 até 2008. Neste período nenhum estudo foi encontrado em língua portuguesa, sendo destacados 19 estudos em língua inglesa. Destes estudos, apenas dois realizaram a mensuração da frouxidão do LCA de maneira dinâmica, enquanto que os outros estudos realizaram de forma estática por meio do instrumento KT. A frouxidão do LCA foi observada com maior frequência nas fases folicular tardia e lútea. Estes resultados foram obtidos em sua grande maioria por meio de uma avaliação estática, portanto não inteiramente reprodutível dos mecanismos de lesão do LCA que usualmente ocorrem em situações dinâmicas. Já nos resultados dos estudos que realizaram questionários pós-lesão e levantamento de dados a fase folicular inicial foi indicada, no entanto, esse achado foi baseado em dados subjetivos, limitando sua fidedignidade.

**Palavras-chave:** Ligamento cruzado anterior; Ciclo menstrual; Lesão; Frouxidão.



## INTRODUÇÃO

O ligamento cruzado anterior (LCA) é o ligamento da articulação do joelho que apresenta lesões com maior frequência (HEITZ *et al.*, 1999). Destas, 78% acontecem em situações sem contato (FARYNIARZ *et al.*, 2006) que incluem movimentos de desaceleração, mudanças bruscas de direção e aterrissagem de um salto (RUSSELL *et al.*, 2006). Estudos epidemiológicos comparando a incidência de lesões entre homens e mulheres concluíram que as mulheres são de duas a oito vezes mais propensas a uma ruptura do LCA que os homens quando participam de uma mesma atividade (ARENDRT e DICK, 1995; HARMON e IRELAND, 2000; HERTEL *et al.*, 2006).

Embora sem etiologia definida, tal discrepância tem sido explicada pela interação de fatores intrínsecos e extrínsecos. Os fatores extrínsecos podem ser alterados pelo indivíduo tais como a força, a coordenação neuromuscular, a técnica do movimento, as condições do campo e o calçado. Já os fatores intrínsecos não podem sofrer modificações e incluem as propriedades dos ligamentos, o alinhamento anatômico do membro inferior, a dimensão do sulco intercondilar do fêmur e a variação hormonal (EILING *et al.*, 2007; CHAUDHARI *et al.*, 2007). Com ênfase na prevenção de lesões, muitos estudos buscaram identificar os efeitos da variação hormonal cíclica feminina na frouxidão e lesão do LCA.

Esta hipótese baseia-se na oscilação cíclica dos hormônios sexuais observada como característica única do sistema endócrino feminino. Em um ciclo menstrual fisiológico de 28 dias, baixos níveis de estrógeno e progesterona são observados no plasma sanguíneo na fase folicular inicial (dias 1-6); na fase folicular tardia (dias 7-14) há um aumento na taxa de estrógeno sanguíneo; e na fase lútea (dias 15-28) observa-se um aumento significativo na taxa de progesterona enquanto a concentração de estrógeno mantém-se elevada (WOJTYS *et al.*, 1998; CONSTANTINI *et al.*, 2005).

Em estudo laboratorial, Liu *et al.* (1996) demonstraram a presença de receptores dos hormônios estrógeno e progesterona no LCA humano, o que pode alterar a proliferação de fibroblastos e a síntese de colágeno, modificando, conseqüentemente, a estrutura e a composição desse ligamento. Faryniarz e colaboradores (2006) sugerem, então, que estas alterações nos níveis de hormônios sexuais durante o ciclo menstrual podem aumentar a extensibilidade dos tecidos moles, promovendo a predisposição a lesões ligamentares devido ao aumento da frouxidão destes tecidos. Portanto, a flutuação hormonal contribuiria para a delimitação de uma “janela de lesão potencial” mensal.

Apesar das recentes publicações neste tópico, não há um consenso com relação à frouxidão do LCA e a sua conseqüente predisposição a lesão não-traumática nas diferentes fases do ciclo menstrual. Portanto, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão bibliográfica sobre a influência da variação dos hormônios femininos na frouxidão e lesão do LCA.

## **METODOLOGIA**

Bases de dados eletrônicas (MEDLINE, PubMed, PEDro, EMBASE, CINAHL, COCHRANE, LILACS e SciELO) foram consultadas do ano de 1966 até 2008 utilizando como palavras-chave: ciclo menstrual (*menstrual cycle*), combinada com frouxidão LCA (*ACL laxity*) e frouxidão joelho (*knee laxity*).

Após a busca inicial, os artigos identificados foram avaliados independentemente por dois avaliadores sendo incluídos aqueles que relacionavam a fase do ciclo menstrual e a frouxidão ou lesão do ligamento cruzado anterior em mulheres. O conteúdo dos artigos pesquisados deveria conter informações relevantes ao tópico explanado e passível de comparação com os demais artigos.

## RESULTADOS

Na pesquisa realizada nas bases de dados SciELO e LILACS não foram encontrados nenhum estudo relacionado ao tópico aqui discutido. Portanto, os 19 estudos demonstrados são artigos na língua inglesa, encontrados nas demais bases de dados.

Com relação à análise da frouxidão do LCA, foram encontrados dois métodos de avaliação: (a) estático, realizado pela aplicação de uma força pósterio-anterior para o movimento de translação anterior da tíbia em relação ao fêmur, por meio do artrômetro KT-1000 ou KT-2000; e (b) dinâmico, com a utilização da análise cinemática durante a aterrissagem de um salto. A avaliação estática está presente na maioria dos estudos incluídos, como observado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Autores, ano de publicação e método de avaliação executado para detectar frouxidão do ligamento cruzado anterior.

<b>Autores</b>	<b>Método de Avaliação</b>
Heitz <i>et al.</i> , 1999	KT-2000
Karageanes <i>et al.</i> , 2000	KT-1000
Deie <i>et al.</i> , 2002	KT-2000
Van Lunen <i>et al.</i> , 2003	KT-2000
Romani <i>et al.</i> , 2003	KT-2000
Belanger <i>et al.</i> , 2004	KT-2000
Carcia <i>et al.</i> , 2004	KT-2000
Beynnon <i>et al.</i> , 2005	KT-1000
Shultz <i>et al.</i> , 2005	KT-2000
Hertel <i>et al.</i> , 2006	KT-1000
Dedrick <i>et al.</i> , 2006	Cinemática
Eiling <i>et al.</i> , 2007	KT-2000
Abt <i>et al.</i> , 2007	Cinemática

Os estudos que relacionaram a frouxidão do LCA e as diferentes fases de oscilação dos hormônios durante um ciclo menstrual completo encontraram resultados diversos, onde alguns autores não observaram variações significativas da frouxidão do LCA nas diferentes fases do ciclo menstrual (KARANGEANES *et al.*, 2000; VAN LUNEN *et al.*, 2003; BELANGER *et al.*, 2004; BEYNNON *et al.*, 2005; HERTEL *et al.*, 2006), enquanto outros autores observaram a variação da frouxidão nas diferentes fases do ciclo menstrual (HEITZ *et al.*, 1999; DEIE *et al.*, 2002, ROMANI *et al.*, 2003; SHULTZ *et al.*, 2005; DEDRICK *et al.*, 2006). Estes estudos podem ser observados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Fase do ciclo menstrual onde foi observada maior frouxidão do ligamento cruzado anterior.

<b>Autores</b>	<b>Fase do Ciclo Menstrual</b>	<b>Significância</b>
Heitz <i>et al.</i> , 1999	Folicular tardia e lútea	Sim
Karageanes <i>et al.</i> , 2000	Nenhuma	
Deie <i>et al.</i> , 2002	Folicular tardia e lútea	Sim
Van Lunen <i>et al.</i> , 2003	Nenhuma	
Romani <i>et al.</i> , 2003	Folicular tardia e lútea	Sim
Belanger <i>et al.</i> , 2004	Nenhuma	
Carcia <i>et al.</i> , 2004	Nenhuma	
Beynnon <i>et al.</i> , 2005	Nenhuma	
Shultz <i>et al.</i> , 2005	Folicular tardia e lútea	Sim
Hertel <i>et al.</i> , 2006	Nenhuma	
Dedrick <i>et al.</i> , 2006	Folicular tardia	Sim
Eiling <i>et al.</i> , 2007	Nenhuma	
Abt <i>et al.</i> , 2007	Nenhuma	

Também foi observada na literatura a análise da relação entre as fases do ciclo e a incidência de lesões por meio de levantamento de dados e questionários administrados após a lesão (MYKLEBUST *et al.*, 1998), e também pela realização de exames de dosagem hormonal após a mesma (WOJTYS *et al.*, 1998; ARENDT *et al.*, 1999; SLAUTERBECK *et al.*, 2001; WOJTYS *et al.*, 2002; BEYNNON *et al.*, 2006). Tais estudos indicaram os resultados observados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Método de avaliação por levantamento de dados de lesão e de questionários administrados após lesão e as conseqüentes fases do ciclo menstrual onde foi observada a lesão do ligamento cruzado anterior.

<b>Autores</b>	<b>Método</b>	<b>Fase do ciclo</b>
Myklebust <i>et al.</i> , 1998	Levantamento de dados	Fase lútea
Wojtys <i>et al.</i> , 1998	Questionário pós lesão	Fase folicular tardia
Arendt <i>et al.</i> , 1999	Levantamento de dados	Fase folicular
Slauterbeck e Hardy, 2001	Questionário pós lesão com dosagem hormonal	Fase folicular inicial
Wojtys <i>et al.</i> , 2002	Questionário pós lesão com dosagem hormonal	Fase folicular tardia
Beynnon <i>et al.</i> , 2006	Questionário pós lesão com dosagem hormonal	Fase folicular

## DISCUSSÃO

Observa-se que recentemente há estudos que abordam a associação entre o ciclo menstrual e a frouxidão do ligamento cruzado anterior; no entanto, não existe uma clara relação de causa e efeito devido à falta de concordância dos estudos que tratam deste assunto. Estudos laboratoriais com modelos animais (STRICKLAND *et al.*, 2003; SENEVIRATNE *et al.*, 2004; WENTORF *et al.*, 2006) buscaram encontrar essa relação por meio de análises citológicas, histológicas e das propriedades mecânicas do LCA. As conclusões encontradas são pouco claras e questionáveis quanto à sua reprodutibilidade para os seres humanos.

Além disso, apesar da identificação de receptores de estrógeno no ligamento cruzado anterior, os métodos de avaliação, tanto estático quanto dinâmicos, avaliam a frouxidão da articulação do joelho como um todo. O fato de não isolar o LCA recomenda certa cautela quanto à afirmação de que os estudos com tais métodos de avaliação comprovam ou não a influência dos hormônios sexuais femininos especificamente no LCA.

Existe também uma grande dificuldade na comparação dos estudos aqui demonstrados, uma vez que os protocolos utilizados não são semelhantes entre si. Não existe uma compatibilidade quanto ao número de coletas para dosagem hormonal durante o ciclo menstrual, que variam de três coletas no período de um mês (VAN LUNEN *et al.*, 2003) a análises hormonais diárias (HERTEL *et al.*, 2006). Os estudos discordam também quanto à terminologia empregada para designar as fases do ciclo menstrual. Segundo Zazulak *et al.* (2006), a nomenclatura fase “ovulatória”, empregada em diversos artigos, é erroneamente utilizada, uma vez que a ovulação representa um evento no ciclo e não uma fase completa, como usualmente definida.

Foi possível observar a partir dos resultados apresentados uma grande diferença entre o número de estudos conduzidos de maneira estática para os estudos realizados em situações dinâmicas. Embora as análises realizadas de maneira estática, por meio do instrumento KT-1000 ou KT-2000, foram observadas em maior número, sabe-se que esta forma de avaliação pouco reproduz as situações observadas em casos de lesões do LCA.

Segundo Wroble *et al.* (1990), o instrumento KT (1000 ou 2000) é desconfortável, podendo causar um reflexo muscular protetor que, conseqüentemente, resiste à translação anterior da tíbia sobre os côndilos femorais. Este fato poderia acarretar uma alteração nos resultados obtidos. Os mesmos autores indicam uma possível contaminação dos dados devido à familiarização com o instrumento pelos voluntários, alterando a mensuração obtida conforme a repetição do procedimento.

Mais além, a literatura (BERRY *et al.*, 1999) demonstra uma diminuída confiabilidade dos dados coletados por meio do instrumento KT para examinadores não experientes. Deve-se, então, assegurar a experiência dos examinadores para a utilização clínica dos dados obtidos, bem como a utilização destes dados de maneira comparativa em pesquisas científicas.

Estudos conduzidos de maneira dinâmica, embora se aproximem dos mecanismos usualmente observados na lesão do LCA, são ainda escassos na literatura. A análise cinemática da aterrissagem de um salto foi explorada em estudos relacionando as diferenças entre os gêneros masculino e feminino (FAGENBAUM e DARLING 2003; ZAZULAK *et al.*, 2005; RUSSELL *et al.*, 2006; CHAUDHARI *et al.*, 2007). Nesses estudos que investigam dinamicamente as diferenças entre os gêneros não existiu uma concordância quanto à altura da plataforma de salto. Este é um fato limitante para comparações entre estudos, bem como para futuros estudos que pretendam apresentar metodologia semelhante. Apenas outros dois estudos realizaram a análise dinâmica da aterrissagem em indivíduos do gênero feminino durante as diferentes fases do ciclo menstrual (DEDRICK *et al.*, 2006; ABT *et al.*, 2007).

A não utilização de grupo controle é outra questão metodológica que dificulta a confiabilidade dos resultados dos estudos que relacionam as taxas hormonais e a frouxidão ligamentar. Apenas dois dos estudos citados apresentam grupo controle (WOJTYS *et al.*, 2002; BEYNNON *et al.*, 2006). Para a comparação dos dados obtidos em cada fase do ciclo menstrual, um grupo controle poderia ser formado por indivíduos do sexo masculino, ou ainda indivíduos do gênero feminino em uso de contraceptivo oral.

Outra falha metodológica observada foi o fato de que muitos dos autores (72%) não demonstraram o cálculo de amostra obtido para estipular a quantidade de voluntárias utilizadas em seus estudos. Este fato proporciona uma fraca relação entre os achados dos estudos e a possível representação destes para a população em geral. Portanto, as conclusões observadas nestes estudos apresentam restrições quando extrapoladas para indivíduos de faixa etária equivalentes.

Quando considerados os artigos que fizeram uso de questionários pós-lesão e artigos que realizaram levantamentos de dados de lesão e dosagem hormonal, observou-se uma maior homogeneidade dos resultados, onde vários autores indicaram a fase folicular com maior incidência de lesão. Entretanto, alguns desses estudos não realizaram a dosagem hormonal, utilizando apenas o relato da voluntária como forma de indicar a fase do ciclo em que houve a lesão. Este fato torna os resultados pouco fidedignos pela subjetividade da coleta referente à estipulação da fase do ciclo menstrual.



Moller-Nielsen e Hammar, em 1989, foram os primeiros pesquisadores a relacionar as fases do ciclo menstrual e as lesões de mulheres no esporte. Após esta publicação houve uma lacuna nas pesquisas nesta área. Nos últimos anos, a preocupação com as conseqüências observadas pelo aumento da incidência de lesões de LCA em mulheres, trouxe novamente o assunto às páginas dos principais periódicos. São necessárias mais pesquisas sobre a associação entre as fases do ciclo menstrual e a incidência de lesões de LCA para que resultados confiáveis possam ser aplicados na prática clínica e preventiva.

## CONCLUSÃO

De acordo com a literatura pesquisada, a frouxidão do ligamento cruzado anterior (inferida por meio da frouxidão da articulação do joelho) foi observada com maior frequência nas fases folicular tardia e lútea do ciclo menstrual. Resultados estes que foram obtidos em sua grande maioria por meio de uma avaliação estática, portanto não inteiramente reprodutível para os mecanismos de lesão, que usualmente ocorrem de maneira dinâmica. Já nos resultados dos estudos que realizaram questionários pós-lesão e levantamento de dados a fase folicular inicial foi indicada, no entanto, esse achado foi baseado em dados subjetivos, limitando sua fidedignidade.

## **ESTUDO I**

---

### **Influência dos Hormônios Sexuais Femininos no Valgo Dinâmico do Joelho e Tempo de Ativação do Músculo Glúteo Médio**

## RESUMO

**Contextualização:** Atividades recreacionais ou de vida diária contribuem no cenário total de lesões do LCA em mulheres. No entanto, nenhum estudo até o momento focou no comportamento do membro inferior de uma amostra de não atletas para comparar esse comportamento ou mesmo compreender a adaptação do membro inferior em certos movimentos cotidianos que se assimilam aos movimentos atléticos. **Hipótese:** Uma maior amplitude de valgo dinâmico ocorrerá durante a fase folicular tardia do ciclo menstrual, acompanhado por alterações no tempo de ativação do músculo glúteo médio. **Desenho Experimental:** Estudo longitudinal com alocação aleatória das participantes e delineamento em blocos completos. **Métodos:** 23 mulheres universitárias não atletas participaram deste estudo e a amostra final utilizada no tratamento estatístico foi composta de 15 indivíduos. Cada participante realizou a aterrissagem unipodal (*single leg drop landing*) para que a análise tridimensional do movimento do joelho e o tempo de ativação do músculo glúteo médio fossem realizados. Esse procedimento ocorreu em três diferentes fases do ciclo menstrual, as quais foram confirmadas por meio da análise da taxa hormonal sanguínea. Diferenças entre as variáveis foram testadas com a análise de variância não paramétrica de Friedman, enquanto que o teste de correlação de Pearson foi utilizado para verificar a correlação entre tempo de ativação eletromiográfica e amplitude do valgo dinâmico. **Resultados:** Valores significativamente menores foram detectados na amplitude do valgo dinâmico na fase lútea comparada a ambas as fases foliculares ( $p < 0,005$ ). Diferenças não foram observadas entre as fases do ciclo menstrual para o tempo de ativação do glúteo médio ( $p > 0,05$ ). A análise estatística descritiva indicou um tempo de ativação mais tardio do glúteo médio na fase folicular tardia comparada as fases folicular inicial e lútea. **Conclusão:** Uma menor amplitude do valgo dinâmico do joelho foi observada durante a fase lútea, sugerindo uma influência do hormônio progesterona na cinemática do joelho durante tarefas dinâmicas. No entanto, tal influencia não foi observada no tempo de ativação eletromiográfica das fibras médias do músculo glúteo médio, e correlação entre o tempo de ativação e amplitude do valgo na articulação do joelho não foi determinada. **Relevância Clínica:** Os hormônios sexuais podem apresentar uma função importante na contribuição do cenário geral de lesões do LCA em mulheres, promovendo um ambiente mais susceptível à lesão devido às maiores amplitudes de movimento em valgo na articulação do joelho. **Palavras-chave:** valgo dinâmico, ligamento cruzado anterior, sobrecarga articular, cinemática, eletromiografia, ciclo menstrual.

## INTRODUÇÃO

Alguns estudos (ZAZULAK *et al.*, 2005; RUSSELL *et al.*, 2006) vêm demonstrando a disparidade entre o comportamento da articulação do joelho entre homens e mulheres durante diferentes atividades, e outros estudos (SHULTZ *et al.*, 2005) demonstraram o efeito dos hormônios sexuais femininos (e.g. estrógeno) no tecido do ligamento cruzado anterior (LCA). Este efeito demonstrado promove um aumento da frouxidão deste ligamento, acarretando um conseqüente aumento no risco de lesão (WOJTYS *et al.*, 2002; BEYNNON *et al.*, 2006) quando esses hormônios atingem picos de concentração sanguínea. No entanto, poucos estudos (ABT *et al.*, 2007; DEDRICK *et al.*, 2008) avaliaram essa esperada frouxidão durante uma tarefa dinâmica em diferentes aspectos do ambiente hormonal. Deve-se destacar que o mecanismo de lesão ocorre durante tarefas dinâmicas, confirmando a importância da avaliação da amplitude articular dinâmica durante as diferentes fases do ciclo menstrual.

Segundo Childs (2002) quedas e acidentes com veículos motorizados contribuem para os casos gerais de lesões do LCA nos Estados Unidos, totalizando 250.000 ocorrências no ano. Embora a maioria dos casos ocorra em ambientes atléticos, lesões de uma população de não atletas podem ser oriundas de atividades de vida diária (28,1%) e atividades recreativas (60,1%) (CASTELEYN e HANDELBERG, 1996), contribuindo para a sobrecarga financeira sofrida pelo sistema de saúde devido as intervenções cirúrgicas e gastos na reabilitação de lesões do LCA. Até o momento nenhum estudo enfocou no entendimento do comportamento do membro inferior de uma amostra de não atletas para comparação com indivíduos atletas ou simplesmente para compreender a adaptação do membro inferior durante certos movimentos diários que imitam tarefas atléticas (como mudanças de direção, pisar de uma plataforma mais elevada e realizar um apoio unipodal, entre outras).

Mais além, nenhum estudo apresentou o tempo de ativação de um dos principais músculos que controlam o movimento no plano coronal da coxa durante as diferentes fases do ciclo menstrual. A contração executada pelo músculo glúteo médio abduz a coxa, contribuindo conseqüentemente no controle da excursão do valgo do joelho durante tarefas dinâmicas. Esse valgo dinâmico já foi confirmado (HEWETT *et al.*, 2005) como um fator de risco de lesão de LCA; no entanto, se o padrão de ativação do glúteo médio permanece inalterado durante o ciclo menstrual, e seu correspondente controle sobre o movimento do joelho no plano coronal, ainda não foi investigado.

O objetivo deste estudo foi avaliar a amplitude do valgo dinâmico do joelho em três diferentes fases do ciclo menstrual de uma amostra de mulheres não atletas realizando uma tarefa dinâmica. O tempo de ativação do músculo glúteo médio também foi verificado para indicar se existe diferença no tempo de ativação devido ao diferente ambiente interno hormonal, e a correlação com a amplitude de movimento do joelho no plano coronal também foi estudada.

## MATERIAIS E MÉTODO

### Desenho Experimental

Um estudo longitudinal com alocação aleatória das participantes e delineamento em blocos completos foi planejado para investigar se a oscilação de dois hormônios sexuais femininos altera o movimento da articulação do joelho e o padrão de atividade muscular. O fator dosagem hormonal (variável independente), que apresenta três níveis (fase folicular inicial, fase folicular tardia e fase lútea) foi tratado com duas variáveis dependentes: eletromiografia (glúteo médio) e cinemática do joelho (ângulo de valgo). Portanto, a hipótese nula postula que as variáveis dependentes apresentariam comportamento similar durante os três diferentes níveis, enquanto que a hipótese alternativa afirma que pelo menos uma fase apresentaria diferença significativa das variáveis dependentes quando comparada às outras fases do ciclo.

As participantes foram avaliadas três vezes durante o ciclo menstrual; no entanto, a fase do ciclo que a participante iniciaria sua coleta foi randomizada, e todas participantes foram alocadas aleatoriamente com relação ao início da coleta de dados. Esse procedimento foi realizado para excluir o efeito de aprendizado da tarefa como um fator confundidor. Estudo piloto e procedimentos experimentais iniciaram apenas após a assinatura do termo de consentimento em participação neste estudo, o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade (protocolo 124/2007) (Anexo III).

### Justificativa do Tamanho Amostral

Resultados obtidos com estudo piloto ( $n=8$ ) demonstraram a variabilidade esperada para as variáveis de interesse. Para atingir um poder estatístico de 80% ou maior, com dois graus de liberdade e nível de significância estipulado em 0,05, nós calculamos uma amostra necessária de 20 indivíduos com  $P$  em 15% (MONTGOMERY, 1984), onde  $P$  representa o aumento percentual significativo da variabilidade entre cada fase do ciclo menstrual para que os dados fossem considerados significativamente diferentes.

## Participantes

Os critérios de exclusão adotados para o presente estudo foram: indivíduos atletas, ou seja, indivíduos envolvidos em qualquer evento esportivo organizado ou serem considerados atletas recreativos; fumantes (BARON *et al.*, 1990); utilização de qualquer tipo de contraceptivo oral; e histórico de lesão em membros inferiores. A investigação focou em uma amostra de não atletas representando indivíduos com idade universitária (entre 18 e 30 anos, ver Tabela 1) que apresentassem o nível de atividade de aproximadamente 30 minutos diários de caminhada. A intensidade do nível de atividade dos membros inferiores foi classificada de acordo com a escala de atividade de Wojtys *et al.* (1996), a qual varia de 0 a 10, com 0 representando inatividade e sedentarismo, e 10 representando esportes competitivos que incluem saltos, rotações e mudanças de direção. Os valores obtidos pelas participantes não ultrapassaram a pontuação 2 (esportes que não apresentam saltos, rotações e mudanças de direção com a realização ocasional de jogging, natação ou andar de bicicleta).

Vinte e três universitárias do gênero feminino foram avaliadas e no decorrer do estudo oito destas foram afastadas: duas participantes foram excluídas devido a irregularidade do perfil hormonal (o hormônio progesterona permaneceu inalterado durante todo o ciclo); uma participante apresentou falhas nos dados cinemáticos (não foi possível realizar a reconstrução do marcador do epicôndilo medial do fêmur devido a sua oclusão durante a tarefa); e cinco participantes apresentaram irregularidades no ciclo menstrual durante o mês prévio ao início da coleta de dados. Conseqüentemente, as 15 participantes restantes compuseram a amostra final utilizada para os tratamentos estatísticos, e suas características podem ser observadas por meio de médias e desvios padrões (DP) na Tabela 1 (valores gerais observados no Anexo IV).

**Tabela 1.** Características das quinze participantes do gênero feminino.

	<b>Média</b>	<b>DP</b>	<b>Alcance</b>
<b>Idade (anos)</b>	22,8	2,6	19 – 27
<b>Estatura (cm)</b>	1,64	0,06	1,55 – 1,76
<b>Peso (kg)</b>	58,0	9,8	52,0 – 84,5
<b>IMC (%)</b>	21,6	2,5	18,9 – 27,3



A amostra final não apresentou histórico de lesões ou cirurgias de membros inferiores (avaliação ortopédica realizada por um fisioterapeuta, Apêndice I), e não apresentaram queixas de dor nos membros inferiores durante atividades de vida diária. Todas as participantes apresentaram preferência pedal à direita e preferem chutar uma bola de futebol a distância mais longe possível com o membro inferior direito (HEWETT *et al.*, 2005). Portanto, as variáveis de interesse analisadas nesse estudo foram extraídas do membro inferior direito de cada participante.

#### Avaliação do Perfil Hormonal

Os dias de avaliação foram estipulados da seguinte maneira: fase folicular inicial (entre os dias 1 e 3 do ciclo menstrual), fase folicular tardia (entre os dias 11 e 13), e fase lútea (entre os dias 21 e 24). Tais dias foram considerados de acordo com Beynon *et al.* (2005) e Dedrick *et al.* (2008), pois representam as flutuações mais exacerbadas dos hormônios estradiol (principal hormônio estrogênico na faixa etária estudada) e progesterona dentro do ciclo menstrual feminino. No entanto, esses dias estão baseados em um ciclo fisiológico de 28 dias. Portanto, uma correção na extensão do ciclo foi realizada de acordo com Speroff e Fritz (2005) para igualar a oscilação hormonal observada em uma específica fase para todas as participantes, uma vez elas apresentaram diferentes comprimentos do ciclo menstrual (mínimo de 26 dias e máximo de 31 dias).

As participantes foram acompanhadas durante um ciclo menstrual completo, e mensurações de suas temperaturas sublinguais foram realizadas no período da manhã (DE JONGE *et al.*, 2001) com um termômetro de mercúrio. Esse procedimento ocorreu previamente ao início da coleta de dados para que os pesquisadores confirmassem o relato subjetivo do comprimento do ciclo menstrual com o verdadeiro comprimento do ciclo pela utilização a temperatura corpórea das participantes que indicou o período de ovulação e o momento de término da fase lútea.

No dia específico de coleta de dados alocado para as participantes, 3ml de amostra sanguínea foram coletados por venopunção previamente aos procedimentos de análise cinemática e eletromiográfica. Cada tubo de ensaio com a amostra sanguínea foi identificado com um código de barras para estipular a relação amostra sanguínea-participante-fase do ciclo e armazenado a uma temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$  caso futuras análises fossem necessárias. Imediatamente após a coleta sanguínea, 75 $\mu\text{l}$  de sangue foram utilizados para a análise do hormônio estradiol, e 20 $\mu\text{l}$  para a análise da progesterona, realizadas com os kits E2 Bayer

Healthcare<sup>®</sup> e PRGE Bayer Healthcare<sup>®</sup>, respectivamente, no Laboratório Médico Dr. Maricondi - São Carlos. Tais procedimentos foram realizados no mesmo período do dia (entre 11:00 e 13:00) para todas as participantes.

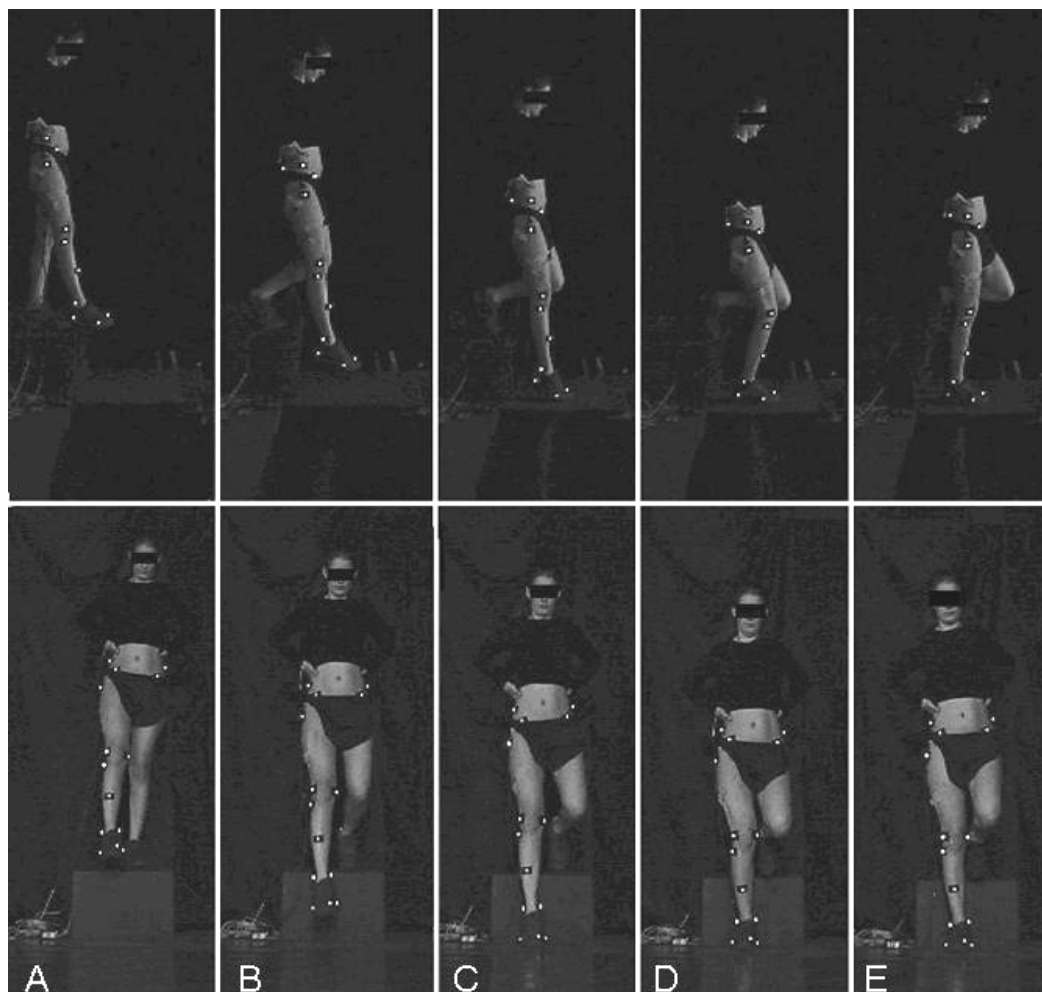
### Tarefa Experimental

Após o procedimento de coleta sanguínea as participantes eram transportadas ao laboratório para análise da tarefa em estudo. Elas realizaram a aterrissagem um número suficiente de vezes (em torno de 4 a 5 aterrissagens) para familiarização com a tarefa e instrumentação. Foi solicitado a cada participante que utilizasse nos dias de coleta seu próprio calçado que era utilizado habitualmente durante atividades de vida diária. Após o período de adaptação, três aterrissagens foram gravadas. Baseado em dados piloto, três práticas de aterrissagens seguidas de 10-12 tentativas durante a coleta de dados foram determinadas como adequadas para capturar o verdadeiro desempenho de aterrissagem sem que as participantes atingissem fadiga ou variabilidade sistemática do desempenho. A tarefa de aterrissagem (da tarefa em Inglês *single leg drop landing*) consistiu em realizar um passo para fora de um plano elevado com 31cm de altura e aterrissar em uma plataforma de força (Bertec<sup>®</sup> modelo 4060-08, Bertec Corp., Ohio, USA) posicionada ao nível do solo. As participantes foram instruídas a manter seus braços apoiados na cintura e apenas dar o passo à frente, para fora do plano elevado, sem nenhum componente vertical, como saltar (direção para cima), ou para baixo, como descer uma escada. Elas deveriam simplesmente sair do plano elevado e aterrissar naturalmente com o pé direito no solo, onde a plataforma de aterrissagem estava posicionada. Após a aterrissagem as participantes deveriam manter o equilíbrio por pelo menos 2 segundos, e nenhuma dica visual ou verbal foi fornecida com relação à técnica de aterrissagem em nenhum momento.

O componente ortogonal vertical da força de reação do solo (FRSV), obtida com por meio da plataforma de força (Bertec<sup>®</sup>) foi utilizada para detectar o momento específico do contato inicial (CI) do pé com o solo. A FRSV estava sincronizada pelo tempo com o sinal eletromiográfico via *software* de aquisição de dados eletromiográficos. Com relação ao comportamento da articulação do joelho, a amplitude máxima no plano coronal foi utilizada nesse estudo devido à sua conhecida contribuição no mecanismo de lesão do LCA; portanto, os dados serão apresentados no instante de máxima amplitude de valgo da articulação do joelho, e correlação com o tempo de ativação do músculo glúteo médio será fornecida.

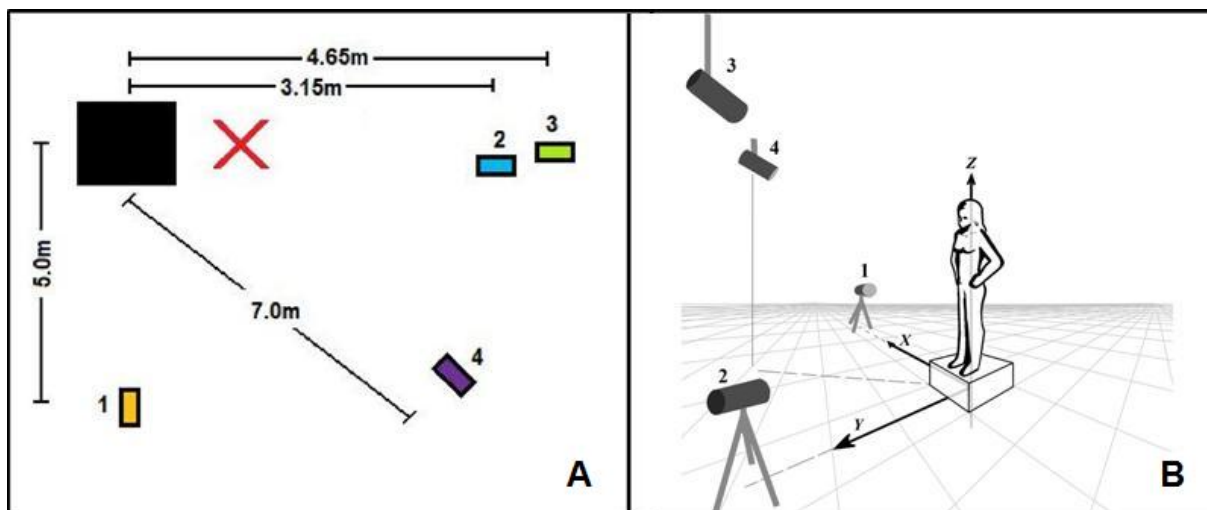
## Cinemática

Dezesseis marcadores passivos e refletivos (diâmetro de 10mm) foram fixados nas seguintes proeminências ósseas: ambas as espinhas ilíacas ântero-superiores, ápice de ambas as cristas ilíacas (alinhado com o trocânter maior do fêmur), primeira vértebra sacral, proeminência do trocânter maior, epicôndilo lateral e medial do fêmur, cabeça da fíbula, aspecto anterior do ponto médio da perna, maléolo lateral e medial, aspecto lateral da tuberosidade calcânea, cabeça do primeiro e quinto metatarso, e hálux (adaptado de FORD *et al.*, 2006) (Figura 1). Essa distribuição dos marcadores foi necessária para a realização da tomada estática ortostática das participantes para a construção tridimensional da posição anatômica. A tomada estática foi primeiramente realizada, onde foi instruído à participante que permanecesse imóvel com os braços cruzados a frente do tronco para posicionarmos as coordenadas articulares alinhadas com o sistema de coordenadas do laboratório (global). Essa medida estática foi utilizada como o alinhamento articular neutro de cada participante com as medidas subseqüentes referidas a essa posição.



**Figura 1.** Seqüência de imagens da tarefa de aterrissagem unipodal (*single leg drop landing*), e configuração dos marcadores refletivos. **A**, posição inicial da participante. **B**, início da queda do plano elevado de 31cm de altura. **C**, contato inicial (CI) com o solo. **D**, máxima amplitude de valgo. **E**, 2s após contato inicial com manutenção do equilíbrio.

As tentativas foram gravadas por quatro câmeras digitais (JVC GR-DVL9800u<sup>®</sup>) ajustadas à frequência de aquisição de 120 Hz. Elas foram posicionadas de maneira em que todos os marcadores passivos fossem visualizados durante a tarefa pelo menos por duas câmeras, sendo posicionadas lateralmente (câmera 1), em frente (câmeras 2 e 3), e diagonalmente (câmera 4) à participante (Figura 2). As câmeras frontais apresentaram um ângulo de 70° entre elas, enquanto que a câmera 1 estava posicionada perpendicularmente à tarefa, e a câmera 4 estava em um ângulo de 40° em relação à tarefa.



**Figura 2.** Vista superior (A) e diagonal (B) das posições das câmeras de vídeo de alta velocidade. O quadrado preto em A representa o plano elevado de onde as participantes realizaram a tarefa, aterrissando de maneira unipodal na marca X (esta marca é apenas ilustrativa para indicar a direção da tarefa, e não estava presente no solo durante as coletas).

Para o procedimento de calibração um objeto com dimensões 1,80m x 0,80m x 1,00m foi filmado na área onde as participantes realizaram a tarefa. Nesse objeto foram fixados 24 pontos de controle (marcadores) com posições absolutas conhecidas no sistema Cartesiano de coordenadas. O sistema de referência global foi então definido com o objeto calibrador onde o eixo  $z$  foi definido na posição vertical orientado para cima, o eixo  $y$  foi orientado na direção pósterio-anterior da participante, e o eixo  $x$  foi definido como o produto vetorial de  $y$  e  $z$ . Os eixos do sistema de referência global foram alinhados com os eixos do corpo humano.

As imagens foram capturadas *online* para dois computadores, para que posteriormente as coordenadas brutas dos marcadores fossem rastreadas e as coordenadas tridimensionais destes obtidas por meio de procedimentos de videogrametria com a utilização do *software* Dvideow<sup>®</sup> (*Digital Video for Biomechanics for Windows 32 bits*) (FIGUEROA *et al.*, 2003), o qual utiliza o método de transformação direta linear para representações 3D (ABDEL-AZIZ e KARARA, 1971). As coordenadas  $x$ ,  $y$  e  $z$  de cada marcador relativo ao tempo ( $x_t$ ,  $y_t$  e  $z_t$ ) foram suavizados com a função Loess (CUNHA e LIMA FILHO, 2003) onde os parâmetros para o ajuste foram estipulados baseados na análise gráfica de resíduo, posição, velocidade e aceleração das coordenadas dos dados tridimensionais digitalizados. Os dados foram então submetidos ao *software* Matlab<sup>®</sup> (Mathworks Inc., Natick, MA, USA) onde rotinas foram criadas para quantificar a amplitude de movimento do joelho no plano coronal por meio da representação matemática dos ângulos de Euler, seqüência  $x,y,z$  (WU *et al.*, 2002).

Tais ângulos foram obtidos pela matriz de rotação entre os dois sistemas de coordenadas locais de interesse (coxa e perna), com a perna estipulada como o segmento rotacional (móvel) em redor do segmento fixo coxa. Nesse estudo foi escolhida a seqüência de rotação XYZ. Assim, os movimentos ocorridos em torno do eixo Y corresponderam a adução do joelho (valgo), representado por valores abaixo da posição anatômica (valores negativos), e abdução (varo) representado por valores acima do anatômico (valores positivos). O erro experimental foi verificado com o teste específico de acurácia (EHARA *et al.*, 1997) que nos forneceu uma acurácia de 2,1mm. Os marcadores foram posicionados pelo mesmo pesquisador em cada avaliação.

### Eletromiografia

O sinal eletromiográfico (EMG) da porção média do músculo glúteo médio foi capturado com eletrodos (Ag/AgCl) pré-amplificados bipolares de superfície, acoplados aos eletrodos auto-adesivos e descartáveis da Miotec<sup>®</sup> (Hal eletrodo duplo, Miotec, Equipamentos Biomédicos, Porto Alegre, RS, Brasil; distância entre eletrodos de 20mm, ganho de 20 vezes com ganho total de 2000). Os eletrodos foram posicionados sobre o ventre do músculo glúteo médio após prova de função muscular e procedimentos para diminuição da impedância da pele como limpeza com algodão embebido em álcool 70%, abrasão e tricotomia. O eletrodo de referência foi posicionado no punho direito. Todos os posicionamentos dos eletrodos e procedimentos relacionados foram realizados de acordo com as recomendações do SENIAM (HERMENS *et al.*, 1999). Os eletrodos foram também fixados com fitas adesivas hipoalergênicas na pele das participantes para reduzir artefatos de movimento.

Dados eletromiográficos foram coletados com um módulo condicionador de sinais de 8 canais (modelo EMG 800C, EMG System do Brasil<sup>®</sup>, São José dos Campos, SP, Brasil) com conversor digital-analógico A/D com resolução de 12 bits, frequência de aquisição de 1000 Hz por canal e *software* de aquisição de dados Dataq (EMG System do Brasil<sup>®</sup>). Cada canal apresentou um ganho de 100 vezes, filtro Butterworth com passa-banda de 20 a 400 Hz e rejeição de modo comum de 100 dB.

O sinal EMG estava sincronizado (pelo tempo) com a plataforma de força (Bertec), a qual indicava o contato inicial do pé com o solo. Os dados EMG brutos foram processados por meio da criação de um envelope linear utilizando uma retificação de onda completa, filtrados a 50 Hz (passa-baixa) com filtro Butterworth de 2ª ordem. Um algoritmo foi criado para identificar o início de ativação da atividade EMG do glúteo médio, onde foi identificado

o ponto em que o sinal EMG desviou por mais de 2 desvios-padrões acima da linha de base por pelo menos 25ms. A linha de base da atividade EMG foi calculada dentro da janela de 198ms antecedentes ao contato inicial. Esse tempo de início do cálculo foi estipulado pela estimativa do tempo para cada participante entrar em contato com o solo após pisar para fora do plano elevado de 31cm. Esse procedimento foi realizado para assegurarmos que o início da atividade EMG seria referido aos valores de linha de base calculados exclusivamente durante o período aéreo. Portanto, esse procedimento (adaptado de DEDRICK *et al.*, 2008) foi realizado para evitar o acusamento errôneo do tempo de ativação referido ao glúteo médio durante a fase de “pisar para fora do plano elevado” no início da tarefa. A procura pelo início da ativação começou 136ms antes do contato inicial com o solo em janelas de 25ms (adaptado de DEDRICK *et al.*, 2008).

#### Análise Estatística

Todas as variáveis cinemáticas e eletromiográficas dependentes representaram o equivalente à média de três tentativas de cada participante. Dados cinemáticos e EMG foram testados para normalidade e homoscedasticidade por meio dos testes Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, e os dados não atingiram condições paramétricas. Para indicar diferenças entre as fases menstruais, a análise de variância não paramétrica de Friedman foi aplicada separadamente para o hormônio estradiol e o hormônio progesterona, considerando dois fatores: Participante (15 níveis) e Tratamento (3 níveis) (HOLLANDER e WOLFE, 1999). O mesmo teste foi conduzido para indicar diferenças entre cada uma das três diferentes fases do ciclo menstrual para as avaliações cinemáticas e eletromiográficas, considerando os dois fatores acima mencionados. Correlação entre tempo de ativação EMG e amplitude de valgo do joelho foi verificada com o teste de correlação de Pearson. O Erro Tipo I foi controlado com o nível de significância estipulado em 0,05, e todos os cálculos foram realizados no *software* Minitab<sup>®</sup> 14.0 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

## RESULTADOS

### Concentração Hormonal

Com relação ao hormônio estradiol, diferenças foram observadas entre as fases folicular inicial e folicular tardia ( $p < 0,01$ ), e entre as fases folicular inicial e lútea ( $p < 0,01$ ), com a concentração mais baixa desse hormônio observada durante a fase folicular inicial. Diferenças não foram observadas para esse hormônio entre as fases folicular tardia e lútea ( $p > 0,05$ ), como esperado (Tabela 2).

Uma alta concentração do nível de hormônio progesterona foi observada durante a fase lútea, e diferenças foram detectadas entre a fase lútea e ambas as fases foliculares ( $p < 0,01$ ). Diferença não foi observada, como também esperado, entre as duas fases foliculares ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2).

### Valgo do Joelho

Diferenças significativas não foram observadas entre as fases foliculares ( $p > 0,05$ ); no entanto, a fase lútea apresentou valores significativamente diferentes de ambas as fases foliculares (inicial e tardia,  $p < 0,005$ ) (HOLLANDER e WOLFE, 1999). Os valores médios observados nas fases foliculares foram maiores do que os valores médios da fase lútea, como observados na Tabela 2.

### Eletromiografia do Glúteo Médio

Diferenças significativas não foram observadas entre as fases do ciclo menstrual ( $p > 0,05$ ) com relação ao tempo de ativação do glúteo médio. Análise descritiva demonstra uma tendência para uma ativação mais tardia (ativação iniciou mais próxima do contato inicial do pé com o solo) durante a fase folicular tardia quando comparada a fase folicular inicial e fase lútea (Tabela 2).



**Tabela 2.** Hormônios sexuais, valgo do joelho e início de ativação EMG do músculo glúteo médio durante as diferentes fases do ciclo menstrual. Valores estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão.

	<b>Folicular Inicial</b>	<b>Folicular Tardia</b>	<b>Lútea</b>
<b>Estradiol</b> (pg/ml)	28,07 $\pm$ 19,40 <sup>‡</sup>	178,70 $\pm$ 164,70	136,10 $\pm$ 70,60
<b>Progesterona</b> (ng/ml)	0,98 $\pm$ 0,46	0,95 $\pm$ 0,50	7,78 $\pm$ 4,79 <sup>*</sup>
<b>Valgo do Joelho</b> (graus)	-8,1° $\pm$ 2,9°	-8,2° $\pm$ 2,7°	-6,7° $\pm$ 2,3° <sup>*</sup>
<b>Tempo de Ativação EMG</b> (ms)	-24,4 $\pm$ 63,9	-12,8 $\pm$ 48,5	-28,7 $\pm$ 40,3

O sinal negativo (-) representa valgo e tempo de ativação EMG prévio ao contato inicial.

<sup>‡</sup> Diferença significativa foi detectada entre a fase folicular inicial e as outras duas fases do ciclo menstrual de acordo com o teste não paramétrico de Friedman.

<sup>\*</sup> Diferença significativa foi detectada entre a fase lútea e as fases foliculares do ciclo menstrual de acordo com o teste não paramétrico de Friedman.

#### Correlação entre Tempo de Ativação EMG e Valgo do Joelho

Correlação linear não foi observada entre a amplitude do valgo do joelho e o tempo de ativação EMG do glúteo médio na fase folicular inicial ( $p=0,092$ ;  $r = -0,266$ ), fase folicular tardia ( $p=0,107$ ;  $r = +0,259$ ), e fase lútea ( $p=0,553$ ;  $r = -0,097$ ).

## DISCUSSÃO

O objetivo principal desse estudo foi avaliar os dados cinemáticos e eletromiográficos de uma amostra de mulheres não atletas durante as três distintas fases do ciclo menstrual com o intuito de avaliar a influência da oscilação dos hormônios sexuais na amplitude de movimento no plano coronal da articulação do joelho e seu controle neuromuscular durante uma tarefa corriqueira e desafiante. Com relação à avaliação cinemática, os resultados obtidos suportaram a hipótese alternativa por apresentar maiores valores de amplitude de valgo do joelho durante as fases foliculares quando comparadas à fase lútea. Embora os valores médios dos dados EMG demonstraram padrões diferentes de tempo de ativação, os dados EMG coletados suportaram apenas a hipótese nula.

### Cinemática

No estudo conduzido por Pollard *et al.* (2006) a tarefa analisada consistiu na aterrissagem bipodal, e os autores postularam que tal tarefa não foi desafiante o suficiente para demonstrar mudanças aparentes na cinemática do joelho de 26 atletas de futebol do gênero feminino com idades entre 14 e 17 anos. Baseado nessa informação os autores do presente estudo decidiram utilizar a aterrissagem unipodal para melhor investigar, por meio da cinemática, o comportamento do joelho de mulheres em condições fisiológicas de alteração tecidual por influência dos hormônios.

Como a literatura não apresenta variáveis similares às estudadas nessa presente investigação, os dados serão comparados com valores de amostras ligeiramente diferentes. Dedrick *et al.* (2008) avaliaram 26 mulheres ativas com média de idade e estatura similar às médias observadas em nossa amostra. A tarefa executada por Dedrick *et al.* (2008) foi similar ao nosso estudo e os resultados apresentaram certa disparidade. Embora o valor do valgo observado na fase folicular tardia (9,2°) foi a maior amplitude angular, a fase folicular inicial apresentou a menor amplitude angular de todas as fases (6,8°). Dedrick *et al.* (2008) não discutiram tais achados devido à estatística não ter apontado diferenças significativas e os dados apresentarem um baixo efeito; no entanto, deve ser mencionado que com o aumento da concentração de estradiol, o valgo obtido aumentou (similar à análise estatística descritiva de nosso estudo), indicando uma influência desse hormônio estrogênico na frouxidão tecidual. No entanto, o menor valor angular do valgo foi observado durante a concentração basal de

ambos os hormônios sexuais estudados, o que contradiz a interpretação dos nossos achados (6,7° durante o pico de progesterona contra 8,1° e 8,2° para as fases foliculares inicial e tardia, respectivamente), como mencionado a seguir.

Nossa investigação apresentou a menor amplitude de valgo com a quantidade aumentada na circulação sanguínea do hormônio progesterona. Tal achado é suportado pela conhecida ação desse hormônio como fortalecedor tecidual pela estimulação da síntese de células procolágenas. De acordo com Yu *et al.* (2001) uma diminuída proliferação de fibroblastos e síntese de procolágenos tipo I no tecido do LCA humano ocorreu com o aumento da concentração de estrógeno enquanto a progesterona permaneceu controlada (concentração permaneceu igual e em baixo nível). De outro modo, a proliferação de fibroblastos aumentou juntamente com a síntese de procolágenos tipo I com o aumento da concentração de progesterona. Portanto, o menor valor da amplitude do valgo do joelho apresentada pela amostra de mulheres não atletas de nosso estudo pode ser atribuído à ação protetora dos tecidos do hormônio progesterona, que estava em maior concentração sanguínea na fase lútea. Esse pico de progesterona pode ter proporcionado uma diminuição da elasticidade das fibras do LCA e dos tecidos adjacentes.

Tem sido reportada uma maior incidência de lesões de LCA durante a fase folicular inicial (ARENDR *et al.*, 1999; SLAUTERBECK *et al.*, 2002; MYKLEBUST *et al.*, 2003) e folicular tardia (WOJTYS *et al.*, 2002) em atletas do gênero feminino. Tais investigações suportam a ação do hormônio progesterona como um protetor do LCA durante atividades mais rigorosas. Mais além, esses estudos confirmam a importância de avaliar o comportamento da articulação do joelho de maneira dinâmica ao invés de uma maneira estática. No momento as avaliações estáticas não são elucidativas, uma vez é reportado que a frouxidão do joelho aumenta durante a fase folicular tardia (DEIE *et al.*, 2002; SHULTZ *et al.*, 2004) e lútea (DEIE *et al.*, 2002; SHULTZ *et al.*, 2005). As fases do ciclo menstrual com relatos de aumento da frouxidão contradizem o cenário atlético de lesões com relação à fase lútea. Esses relatos também contradizem os dados observados no presente estudo realizado com uma amostra de mulheres não atletas, onde amplitudes menores do valgo do joelho foram observadas durante a fase lútea comparada às duas fases foliculares.

### Eletromiografia

Estudos têm indicado padrões diferentes de atividade eletromiográfica dos músculos do quadril e dos membros inferiores de mulheres quando comparadas aos padrões observados

em homens durante tarefas desafiantes como mudanças de direção (SIGWARD e POWERS, 2006), salto vertical após parada brusca (CHAPPELL *et al.*, 2007) e aterrissagem de um salto (ROZZI *et al.*, 1999; ZAZULAK *et al.*, 2005; HART *et al.*, 2007).

Apenas um estudo (DEDRICK *et al.*, 2008) investigou os distintos padrões de ativação eletromiográfica da musculatura do quadril e membro inferior de mulheres sobre diferentes condições hormonais. No entanto, os autores não incluíram um dos músculos mais importantes e responsáveis pela abdução da coxa, o qual apresenta um papel essencial no controle do valgo dinâmico do joelho (CLAIBORNE *et al.*, 2006). Pelo fato da carga em valgo representar um mecanismo de lesão de LCA (HEWETT *et al.*, 2005), investigar a ativação do glúteo médio sobre influência das flutuações dos hormônios sexuais femininos propicia um maior escopo para o entendimento do comportamento neuromuscular do membro inferior durante tarefas que se assimilam ao mecanismo de lesão de LCA em mulheres. Se uma ativação mais tardia do abductor da coxa ocorre (por exemplo, mais próximo do ou após o contato inicial com o solo), uma maior possibilidade de adução da coxa com rotação medial pode resultar durante tarefas que sobrecarregam a articulação do joelho.

No estudo de comparação entre gêneros com variáveis diferentes das variáveis aqui estudadas, Zazulak *et al.* (2005) avaliou o músculo glúteo médio de treze mulheres atletas com idade universitária. Avaliando a mesma tarefa aqui apresentada, os autores investigaram a janela de 200 milissegundos prévia ao contato inicial. Os resultados demonstraram um pico EMG de  $39,6 \pm 16,5$  (% da contração isométrica voluntária máxima, CIVM) e média EMG de  $20,8 \pm 10,4$  (%CIVM). Ambos os valores foram menores que os valores apresentados pelos atletas masculinos do estudo ( $48,4 \pm 27,0$ ;  $26,0 \pm 17,8$ ; respectivamente). Embora o nosso estudo não apresentou diferenças significantes entre as fases, o tempo de ativação mais tardio do glúteo médio foi observado na análise descritiva dos resultados quando o hormônio estradiol atingiu seu pico sanguíneo e a progesterona permaneceu em seu nível basal. Portanto, a diferença entre os gêneros obtida por Zazulak *et al.* (2005) poderia ser alterada se as avaliações fossem realizadas em uma diferente fase do ciclo menstrual das mulheres atletas? Os dados observados em nosso estudo sugerem uma mudança do padrão de controle neuromuscular representado pelo tempo de ativação muscular da amostra investigada. Logo, deve ser relatada a fase em que uma participante mulher está sendo avaliada, uma vez a análise estatística descritiva indicou variações no tempo de ativação EMG durante as fases do ciclo menstrual.

Por outro lado, a diferença observada não foi estatisticamente significativa. Nós devemos, portanto, considerar que o músculo glúteo médio pode não influenciar o valgo do

joelho durante cargas dinâmicas de mulheres não atletas como primariamente hipotetizado pelos autores. Estudos devem ser realizados para focar o padrão de ativação de todas as diferentes fibras do músculo glúteo médio, juntamente com outros músculos do quadril que controlam as cargas aplicadas no joelho durante tarefas dinâmicas.

### Tempo de Ativação e Valgo do Joelho

Os autores do presente estudo hipotetizaram que o tempo de ativação do glúteo médio influenciaria a quantidade de amplitude do valgo dinâmico da articulação do joelho durante a aterrissagem unipodal. O padrão observado pela análise descritiva sugeriu que uma ativação mais tardia do glúteo médio permitiu uma maior amplitude de valgo do joelho (fase folicular tardia), a qual ocorreu com o pico do hormônio que favorece a frouxidão ligamentar, estradiol. Agora, quando o hormônio protetor dos tecidos, progesterona, alcançou seu pico sanguíneo, as participantes apresentaram uma menor amplitude do valgo com uma ativação mais prematura do músculo glúteo médio (fase lútea).

Essa hipótese foi baseada sobre a ação proprioceptiva das fibras do LCA durante o alongamento de suas células mecanorreceptoras. Com uma frouxidão aumentada das fibras do LCA, uma cinestesia articular alterada é observada, o que modifica o controle neuromuscular do membro inferior durante situações dinâmicas (EILING *et al.*, 2007). Portanto, é esperado que durante a fase lútea o aumento confirmado da síntese de procolágeno tipo I, que diminui a frouxidão tecidual, pode promover um tempo mais prematuro de ativação muscular. A explicação desse comportamento, no entanto, é apenas uma sugestão, pois tal correlação não foi significativa. Portanto, o tempo de ativação das fibras médias do músculo glúteo médio apenas pode não ser o suficiente para controlar a carga aplicada durante o valgo dinâmico do joelho na amostra de mulheres não atletas investigadas.

### Limitações do Estudo

De acordo com o cálculo do tamanho amostral realizado durante os estágios iniciais do projeto e previamente às coletas de dado, a amostra necessária para obter um poder estatístico razoável seria 20 participantes. Devido a certos eventos incontroláveis a amostra final foi composta de 15 participantes que podem ter gerado os resultados não significantes obtidos. Além disso, embora os hormônios estrogênicos e a progesterona representem os focos principais das pesquisas que investigam as propriedades ligamentares e riscos de lesão de

LCA, a flutuação de outros hormônios, como a relaxina e testosterona (ZAZULAK *et al.*, 2006), IGF-1, inibina, LH e FSH podem também influenciar nas propriedades teciduais. A falta da avaliação de tais hormônios foi uma limitação desse presente estudo.

## CONCLUSÃO

Os resultados desse estudo demonstraram uma amplitude diminuída de valgo da articulação do joelho durante a fase lútea do ciclo menstrual, sugerindo uma influência do hormônio sexual progesterona na cinemática do joelho durante uma tarefa dinâmica. No entanto, tal influência não foi observada com relação ao tempo de ativação eletromiográfico das fibras médias do músculo glúteo médio, uma vez diferenças não foram observadas nas diferentes fases analisadas do ciclo menstrual. Do mesmo modo, a correlação entre tempo de ativação do glúteo médio e amplitude do valgo do joelho não foi determinada para a amostra de mulheres não atletas utilizada nesse estudo.

## ESTUDO II

---

### **Influência da Flutuação dos Hormônios do Ciclo Menstrual no Ângulo de Flexão e Comportamento Neuromuscular do Joelho**

Manuscrito submetido ao periódico *Knee Surgery, Sports Traumatology and Arthroscopy*  
(Anexo II).



## RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o ângulo de flexão da articulação do joelho e seu comportamento neuromuscular durante três diferentes fases do ciclo menstrual de mulheres não atletas. Quinze mulheres (idade  $22,8 \pm 2,6$  anos, estatura  $1,64 \pm 0,06$ cm, peso  $58,0 \pm 9,8$ kg, índice de massa corporal  $21,6 \pm 2,5\%$ ) foram avaliadas durante as fases folicular inicial (entre os dias 1-3 do ciclo menstrual), folicular tardia (11-13) e lútea (21-24). Cinemática tridimensional foi obtida durante a tarefa de aterrissagem unipodal do membro inferior de cada participante juntamente com a razão de co-contração entre os músculos reto femoral e bíceps femoral no intervalo entre o contato inicial do pé com o solo e o pico do componente vertical da força de reação do solo. Diferenças significativas não foram observadas para os ângulos de flexão do joelho e para as razões de co-contração. A oscilação dos hormônios sexuais estradiol e progesterona não influenciaram o ângulo de flexão do joelho e o controle neuromuscular da articulação do joelho da amostra de mulheres saudáveis e não atletas durante as três diferentes fases do ciclo menstrual.

**Palavras-chave:** joelho, cinemática, eletromiografia, ciclo menstrual, controle neuromuscular, aterrissagem.

## INTRODUÇÃO

Vários estudos vêm demonstrando a disparidade entre o comportamento da articulação do joelho entre homens e mulheres durante diferentes atividades (FORD *et al.*, 2003; FERBER *et al.*, 2003; ZAZULAK *et al.*, 2005; RUSSELL *et al.*, 2006), enquanto outros estudos demonstraram o efeito dos hormônios sexuais femininos no tecido do ligamento cruzado anterior (LCA), promovendo um aumento em sua frouxidão e conseqüente aumento no risco de lesão (WOJTYS *et al.*, 2002; SHULTZ *et al.*, 2005; BEYNNON *et al.*, 2006). No entanto, poucos estudos (ABT *et al.*, 2007; DEDRICK *et al.*, 2008) avaliaram o comportamento da articulação do joelho feminino durante uma tarefa dinâmica em diferentes aspectos do ambiente hormonal interno. Deve-se destacar que o mecanismo de lesão ocorre durante tarefas dinâmicas, confirmando a importância da avaliação da amplitude articular dinâmica durante as diferentes fases do ciclo menstrual.

Durante aterrissagens e manobras de mudança de direção mulheres apresentam menores angulações na articulação do joelho quando comparadas aos homens (LEPHART *et al.*, 2002; SALCI *et al.*, 2004; MCLEAN *et al.*, 2004), e de acordo com Tagawa *et al.* (2001) maiores ângulos atingidos no plano sagital pela articulação do joelho durante tarefas de aterrissagem direcionam uma melhor dissipação das forças de reação do solo. Também, menores ângulos de flexão de joelho aumentam a excursão da articulação do joelho em diferentes direções, aumentando o movimento do joelho no plano frontal (excursão em valgo) (POLLARD *et al.*, 2008) que é considerado risco de lesão do LCA (HEWETT *et al.*, 2005).

Em aproximadamente 80% dos casos, o mecanismo de lesão de LCA ocorre em uma situação de não-contato com uma seqüência de movimento pré-determinada que inclui desaceleração ou mudança de direção com o membro inferior de suporte apoiado no chão e joelhos fletidos entre 20° e extensão completa (MCNAIR *et al.*, 1990; BODEN *et al.*, 2000). Portanto, a flexão do joelho (plano sagital) durante tarefas dinâmicas é essencial para evitar ângulos articulares que podem promover lesões ligamentares. Além disso, a coordenação entre os músculos anteriores e posteriores da coxa influencia a excursão da articulação do joelho e a translação anterior da tíbia em relação ao fêmur durante situações de descarga de peso. Estudos têm demonstrado a dominância dos músculos anteriores da coxa em mulheres durante diferentes tarefas, como no agachamento unipodal (ZELLER *et al.*, 2003), mudanças de direção (COLBY *et al.*, 2000), e durante o período prévio a aterrissagem (CHAPPELL *et*

*al.*, 2007) quando comparadas aos seus congêneres masculinos, que apresentam uma dominância da musculatura posterior da coxa que atua em sinergismo com o LCA.

Juntamente com as estruturas restritivas passivas e a conformação anatômica articular, a estabilidade satisfatória na articulação do joelho é atingida durante tarefas dinâmicas pelo suporte oriundo dos tecidos contráteis. A quantidade de ativação e sincronia entre musculatura anterior e posterior de coxa promove estabilidade na articulação do joelho (KELLIS, 1998), protegendo a articulação de lesões de tecidos moles e prevenindo a translação anterior da tibia. De acordo com Granata *et al.* (2002) uma reduzida co-contracção entre isquiotibiais e quadríceps apresentada pelas mulheres pode contribuir para a maior tendência de instabilidade musculoesquelética e lesão entre os gêneros. Portanto, quanto maior a razão de co-contracção, determinada para definir a ativação relativa dos músculos flexores e extensores que cruzam a articulação do joelho, fornecendo um valor menor ou igual a 1, ou maior o índice de co-contracção (calculado pelo produto da ativação média de todos os músculos com a razão de co-contracção) (BESIER *et al.*, 2003), maior estabilização dinâmica será gerada à articulação durante a descarga de peso.

Sabe-se que a maioria dos casos de lesões do LCA ocorre em ambientes esportivos; no entanto, lesões na população não atleta podem ocorrer durante atividades de vida diária (28,1%) e atividades recreativas (60,1%) (CASTELEYN e HANDELBERG, 1996), contribuindo para os grandes gastos observados no sistema de saúde devido aos custos das intervenções cirúrgicas e reabilitações de lesões do LCA. Nenhum estudo até o momento investigou o comportamento do membro inferior de uma amostra de mulheres não atletas para comparação com indivíduos atletas ou simplesmente para compreender a adaptação do membro inferior durante certos movimentos diários que imitam tarefas atléticas, como mudanças de direção, desacelerações abruptas, e pisar para fora de uma plataforma mais elevada (i.e. degrau de ônibus). O objetivo deste estudo foi avaliar o ângulo de flexão do joelho durante as três diferentes fases do ciclo menstrual de uma amostra de mulheres não atletas realizando uma tarefa dinâmica, juntamente com a avaliação da razão de co-contracção entre os músculos reto femoral e bíceps femoral para investigar se há alteração nessa razão devido ao diferente ambiente hormonal interno.

## MATERIAIS E MÉTODO

### Desenho Experimental

Um estudo longitudinal com alocação aleatória das participantes e delineamento em blocos completos foi planejado para investigar se a oscilação de dois hormônios sexuais femininos (estradiol e progesterona) altera o comportamento da articulação do joelho de uma amostra de mulheres não atletas. O fator dosagem hormonal (variável independente), que apresenta três níveis (fase folicular inicial, fase folicular tardia e fase lútea) foi tratado com duas variáveis dependentes: eletromiografia (co-contracção dos músculos reto femoral e bíceps femoral) e cinemática do joelho (ângulo de flexão). Portanto, a hipótese nula apresentada sugere que as variáveis dependentes apresentariam comportamento similar durante os três diferentes níveis, enquanto que a hipótese alternativa suporta que pelo menos uma fase apresentaria diferença significativa das variáveis dependentes quando comparada às outras fases do ciclo.

As participantes foram avaliadas três vezes durante o ciclo menstrual; no entanto, a fase do ciclo que a participante iniciaria sua coleta foi randomizada, e todas participantes foram alocadas aleatoriamente com relação ao início da coleta de dados. Esse procedimento foi realizado para excluir o efeito de aprendizado da tarefa como um fator confundidor. Estudo piloto e procedimentos experimentais iniciaram apenas após a assinatura do termo de consentimento em participação neste estudo, o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade (protocolo 124/2007) (Anexo III).

### Participantes

Resultados obtidos com estudo piloto ( $n=8$ ) demonstraram a variabilidade esperada para as variáveis de interesse. Para atingir um poder estatístico de 80% ou maior, com dois graus de liberdade e nível de significância estipulado em 0,05, nós calculamos uma amostra necessária de 20 indivíduos com  $P$  em 15% (MONTGOMERY, 1984), onde  $P$  representa o aumento percentual significativo da variabilidade entre cada fase do ciclo menstrual para que os dados fossem considerados significativamente diferentes.

Os critérios de exclusão adotados foram: indivíduos atletas (ou seja, indivíduos envolvidos em qualquer evento esportivo organizado ou serem considerados atletas

recreativos); fumantes (BARON *et al.*, 1990); utilização de qualquer tipo de contraceptivo oral; e histórico de lesão em membros inferiores. A investigação focou em uma amostra não atleta representando indivíduos com idade universitária (entre 18 e 30 anos). A intensidade do nível de atividade dos membros inferiores foi classificada de acordo com a escala de atividade de Wojtys *et al.* (1996), a qual varia de 0 a 10, com 0 representando inatividade e sedentarismo, e 10 representando esportes competitivos que incluem saltos, rotações e mudanças de direção. Os valores obtidos não ultrapassaram a pontuação 2 (esportes que não apresentam saltos, rotações e mudanças de direção com a realização ocasional de jogging, natação ou andar de bicicleta).

Vinte e três universitárias do gênero feminino foram avaliadas e no decorrer do estudo oito destas não foram utilizadas. Duas participantes foram excluídas devido à irregularidade do perfil hormonal (o hormônio progesterona permaneceu inalterado durante todo o ciclo), uma participante apresentou falha nos dados cinemáticos (o marcador refletivo do epicôndilo medial do fêmur foi ocluído durante a tarefa), e cinco participantes apresentaram irregularidades no ciclo menstrual durante o mês prévio ao início da coleta de dados.

Conseqüentemente, as 15 participantes restantes compuseram a amostra final utilizada para os tratamentos estatísticos. Suas médias de idade, estatura, peso corporal, e índice de massa corporal foram  $22,8 \pm 2,6$  anos,  $1,64 \pm 0,06$  cm,  $58,0 \pm 9,8$  kg, e  $21,6 \pm 2,5$  %, respectivamente (valores gerais em Anexo IV). Elas não apresentaram histórico de lesões ou cirurgias em membros inferiores (avaliação ortopédica realizada por um fisioterapeuta, Apêndice I), e não apresentaram queixas de dor nos membros inferiores durante atividades de vida diária. Todas as participantes apresentaram preferência lateral à direita e preferiam chutar uma bola de futebol a distância mais longe possível com o membro inferior direito (HEWETT *et al.*, 2005). Portanto, as variáveis de interesse analisadas nesse estudo foram extraídas do membro inferior direito de cada participante.

#### Avaliação Hormonal

Os dias de avaliação foram estipulados de acordo com os dias característicos de flutuação exacerbada dos hormônios estradiol e progesterona dentro do ciclo menstrual feminino (BEYNNON *et al.*, 2005; DEDRICK *et al.*, 2008), e estão apresentados a seguir: fase folicular inicial (entre os dias 1 e 3 do ciclo menstrual), fase folicular tardia (entre os dias 11 e 13), e fase lútea (entre os dias 21 e 24). Devido ao fato desses dias serem baseados em um ciclo fisiológico de 28 dias, uma correção na extensão do ciclo foi realizada de acordo

com Speroff e Fritz (2005) para igualar a oscilação hormonal observada em uma específica fase para todas as participantes. O comprimento do ciclo menstrual apresentado pelas participantes variou de um mínimo de 26 dias a um máximo de 31 dias.

As participantes foram acompanhadas durante um ciclo menstrual completo e mensurações de suas temperaturas sublinguais foram realizadas no período da manhã (DE JONGE *et al.*, 2001) com um termômetro de mercúrio. Esse procedimento ocorreu previamente ao início da coleta de dados para que os pesquisadores confirmassem o relato (dado subjetivo) do comprimento do ciclo menstrual com o verdadeiro comprimento do ciclo pela utilização da temperatura corpórea das participantes que indicou o período de ovulação e o momento onde a fase lútea terminou.

No dia específico de coleta de dados alocado para as participantes, 3ml de amostra sanguínea foram coletados por venopunção previamente aos procedimentos de análise cinemática e eletromiográfica. Cada tubo de ensaio foi identificado com um código de barras para estipular a relação amostra sanguínea-participante-fase do ciclo e armazenado (a uma temperatura de -18°C) caso futuras análises fossem necessárias. Imediatamente após a coleta sanguínea, 75µl de sangue foram utilizados para a análise do hormônio estradiol, e 20µl para a análise da progesterona, realizadas com os kits E2 Bayer Healthcare® e PRGE Bayer Healthcare®, respectivamente, no Laboratório Médico Dr. Maricondi - São Carlos. Tais procedimentos foram realizados no mesmo período do dia (entre 11:00 e 13:00) para todas as participantes.

### Aterrissagem Unipodal

Pollard *et al.* (2006) investigaram a aterrissagem bipodal em 26 mulheres atletas de futebol com idades entre 14 e 17 anos. Os autores afirmaram que tal tarefa não foi desafiante o suficiente para demonstrar mudanças aparentes na cinemática do joelho; portanto, baseado nessa informação nós decidimos analisar a aterrissagem unipodal para melhor investigar o comportamento cinemático do joelho de mulheres em condições fisiológicas de alteração tecidual por influência dos hormônios sexuais. As participantes realizaram a aterrissagem um número suficiente de vezes para familiarização com a tarefa e instrumentação. Foi solicitado a cada participante que utilizasse nos dias de coleta seu próprio calçado que era utilizado habitualmente durante atividades de vida diária. Após o período de adaptação, três aterrissagens válidas foram gravadas. Baseado em dados piloto, os autores observaram que três aterrissagens de prática seguidas de 10-12 tentativas durante a coleta de dados foram

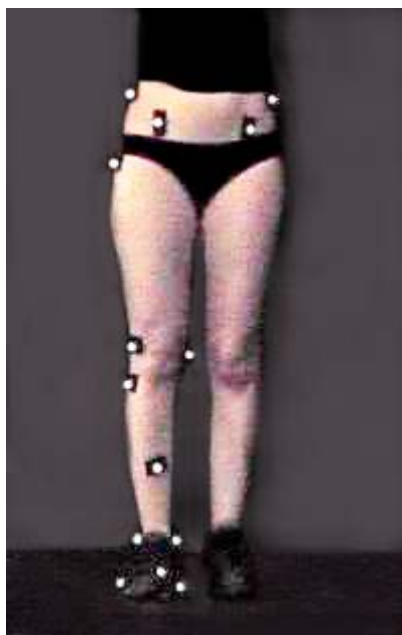
suficientes para capturar adequadamente o verdadeiro desempenho de aterrissagem sem que as participantes atingissem fadiga ou variabilidade sistemática do desempenho. A tarefa de aterrissagem (da tarefa em Inglês *single leg drop landing*) consistiu em pisar para fora de um plano elevado de 31cm de altura (HEWETT *et al.*, 2005) e aterrissar em uma plataforma de força (Bertec<sup>®</sup> modelo 4060-08, Bertec Corp., Ohio, USA). As participantes foram instruídas a manter seus braços apoiados na cintura e apenas pisar para fora do plano elevado, sem nenhum componente vertical, como saltar (direção para cima), ou para baixo, como descer uma escada. Elas deveriam simplesmente sair do plano elevado e aterrissar naturalmente com o pé direito na plataforma de aterrissagem. Após a aterrissagem as participantes foram instruídas em manter o equilíbrio por pelo menos 2 segundos antes de apoiar seu pé contralateral no solo, e nenhuma dica verbal ou visual foi fornecida com relação à técnica de aterrissagem em nenhum momento.

### Cinemática

Dezesseis marcadores passivos e refletivos (diâmetro de 10mm) foram fixados nas seguintes proeminências ósseas: ambas as espinhas ilíacas ântero-superiores, ápice de ambas as cristas ilíacas (alinhado com o trocânter maior do fêmur), primeira vértebra sacral, proeminência do trocânter maior, epicôndilo lateral e medial do fêmur, cabeça da fíbula, aspecto anterior do ponto médio da perna, maléolo lateral e medial, aspecto lateral da tuberosidade calcânea, cabeça do primeiro e quinto metatarso, e hálux (Figura 1). Essa distribuição dos marcadores foi necessária para a realização da tomada estática ortostática das participantes para a construção tridimensional da posição anatômica. A tomada estática foi primeiramente realizada, onde foi instruída à participante que permanecesse imóvel com os braços cruzados a frente do tronco para posicionarmos, o mais próximo possível, as coordenadas articulares alinhadas com o sistema de coordenadas do laboratório (global). Essa medida estática foi utilizada como o alinhamento articular neutro de cada participante com as medidas subsequentes referidas a essa posição.

As tentativas foram gravadas por quatro câmeras digitais (JVC GR-DVL9800u<sup>®</sup>) ajustadas à frequência de aquisição de 120 Hz. Elas foram posicionadas de maneira que todos os marcadores passivos fossem capturados durante a tarefa, e foram posicionadas lateralmente, em frente (2 câmeras com 70° de angulação entre elas), e diagonalmente (angulação de 40° em relação à tarefa) à participante. Para o procedimento de calibração um objeto com dimensões 1,80m x 0,80m x 1,00m foi filmado na área onde as participantes

realizaram a aterrissagem. Esse objeto apresentava 24 pontos de controle (marcadores) com posições absolutas conhecidas no sistema Cartesiano de coordenadas. O sistema de referência global foi então definido com o objeto calibrador onde o eixo  $z$  foi definido na posição vertical orientado para cima, o eixo  $y$  foi orientado na direção pósterio-anterior da participante, e o eixo  $x$  foi definido como o produto vetorial de  $y$  e  $z$ . Os eixos do sistema de referência global foram alinhados com os eixos do corpo humano.



**Figura 1.** Distribuição anatômica de quatorze dos dezesseis marcadores refletivos e passivos (os marcadores da primeira vértebra sacral e tuberosidade calcânea não estão visíveis nesta figura).

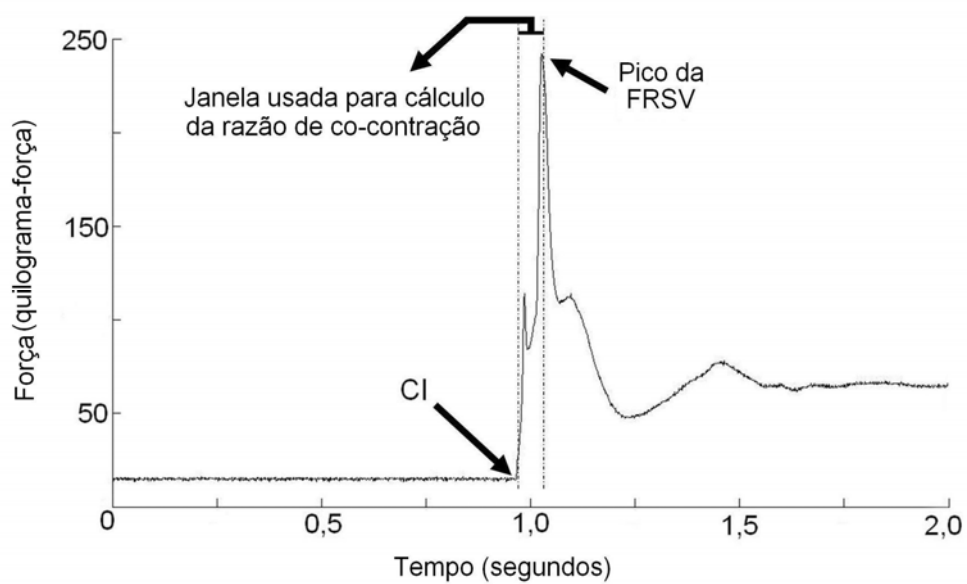
As imagens foram capturadas *online*, e por meio de procedimentos de videogrametria as coordenadas brutas dos marcadores foram rastreadas com o *software* Dvideow<sup>®</sup> (*Digital Video for Biomechanics for Windows 32 bits*) (FIGUEROA *et al.*, 2003), o qual utiliza o método de transformação direta linear para representações 3D (ABDEL-AZIZ e KARARA, 1971). As coordenadas  $x$ ,  $y$  e  $z$  de cada marcador relativo ao tempo ( $x_t$ ,  $y_t$  e  $z_t$ ) foram suavizados com a função Loess (CUNHA e LIMA FILHO, 2003) onde os parâmetros foram estipulados baseados na análise gráfica de resíduo, posição, velocidade e aceleração das coordenadas dos dados tridimensionais digitalizados. Os dados foram então submetidos ao *software* Matlab<sup>®</sup> (Mathworks Inc., Natick, MA, USA) onde rotinas foram criadas para quantificar a amplitude máxima de movimento do joelho no plano sagital por meio da representação matemática dos ângulos de Euler (seqüência  $x,y,z$ , WU *et al.*, 2002). Tais ângulos foram obtidos pela matriz de rotação entre os dois sistemas de coordenadas locais de



interesse (coxa e perna), com a perna estipulada como o segmento rotacional em redor do segmento fixo coxa. O erro experimental foi verificado com o teste específico de acurácia (EHARA *et al.* 1997) que nos forneceu uma acurácia de 2,1mm. Os marcadores foram posicionados pelo mesmo pesquisador em cada avaliação.

### Força de Reação do Solo

Para os propósitos desse estudo apenas a fase inicial de desaceleração da aterrissagem unipodal foi considerada, uma vez essa fase de desaceleração ou absorção de energia tem sido sugerida como o período em que ambos o joelho e o LCA sofrem as maiores forças durante a aterrissagem (BODEN *et al.*, 2000). A força de reação do solo, componente ortogonal vertical (FRSV), obtida na plataforma de força (taxa de aquisição de 1000 Hz) foi usada para detectar o tempo específico do contato inicial (CI) do pé com o solo. CI foi detectado como o instante exato em que a linha da FRSV excedeu a linha de base e iniciou sua subida. O pico da FRSV foi obtido pelo máximo valor indicado na linha FRSV após CI. A janela de interesse analisada foi então definida como o intervalo entre CI e pico da FRSV (Figura 2). A força de reação do solo foi apenas utilizada para obter o intervalo de tempo (entre CI e pico da FRSV) onde os cálculos eletromiográficos para co-contração foram realizados. Uma rotina foi criada para obter tais parâmetros, e todos os cálculos foram executados no *software* Matlab<sup>®</sup> (Mathworks Inc., Natick, MA, USA). Os dados da FRSV estavam sincronizados com o sinal eletromiográfico por meio do *software* de aquisição de sinais eletromiográficos.



**Figura 2.** Período entre contato inicial (CI) com o solo e pico do componente vertical da força de reação do solo (FRSV) onde a razão de co-contracção dos músculos reto femoral e bíceps femoral foi calculada durante a fase inicial de desaceleração da aterrissagem unipodal.

### Eletromiografia

O sinal eletromiográfico (EMG) foi coletado com um módulo condicionador de sinais de 8 canais (modelo EMG 800C, EMG System do Brasil<sup>®</sup>, São José dos Campos, SP, Brasil) com conversor digital-analógico A/D com resolução de 12 bits, frequência de aquisição de 1000 Hz por canal e *software* de aquisição de dados Dataq (EMG System do Brasil<sup>®</sup>). Cada canal apresentou um ganho de 100 vezes, filtro Butterworth com passa-banda de 20 a 400 Hz e rejeição de modo comum de 100 dB.

Eletromiografia de superfície dos músculos reto femoral e bíceps femoral foi capturada com eletrodos (Ag/AgCl) pré-amplificados bipolares de superfície, acoplados aos eletrodos auto-adesivos e descartáveis da Miotec<sup>®</sup> (Hal eletrodo duplo, Miotec, Equipamentos Biomédicos, Porto Alegre, RS, Brasil; distância entre eletrodos de 20mm, ganho de 20 vezes com ganho total de 2000). Os eletrodos foram posicionados sobre o ventre de ambos os músculos após teste de função muscular e limpeza da pele com algodão embebido em álcool 70%, tricotomia e abrasão. O eletrodo de referência foi posicionado no punho direito. Todos os posicionamentos dos eletrodos e procedimentos relacionados foram realizados de acordo com as recomendações do SENIAM (HERMENS *et al.* 1999). Os eletrodos foram também fixados com fitas adesivas hipoalergênicas na pele das participantes para reduzir artefatos de movimento.

O sinal EMG estava sincronizado (pelo tempo) com a plataforma de força (Bertec), a qual indicava o intervalo de tempo entre CI e pico da FRSV. Os dados RMS da EMG foram processados por meio da criação de um envelope linear utilizando uma retificação de onda completa, filtrados a 50 Hz (passa-baixa) com filtro Butterworth de 2ª ordem. A razão de co-contracção foi obtida primeiramente pela normalização dos valores de ambos os músculos obtidos durante a tarefa. Os dados EMG foram normalizados pelo procedimento de normalização dinâmica. O sinal de cada músculo dentro da janela de interesse foi dividido pelo sinal máximo (pico) gerado dentro da específica tentativa analisada. Tal método tem sido comumente utilizado para analisar sinais EMG durante tarefas dinâmicas (LLOYD e BUCHANAN, 2001; RODACKI *et al.*, 2002; BESIER *et al.*, 2003; CROCE *et al.*, 2004; MANOLOPOULOS *et al.*, 2006). O valor da integral do bíceps femoral foi utilizado como divisor se seu valor fosse maior do que o valor do reto femoral; no entanto, o valor da integral do reto femoral foi utilizado como divisor se este apresentava-se maior do que o valor do bíceps femoral. Portanto, a razão de co-contracção sempre nos fornecia um valor menor ou igual a 1. Uma razão de co-contracção próxima de 1 indicava uma excelente co-contracção (melhor estabilidade da articulação do joelho), enquanto valores obtidos próximos a 0 (zero) representavam uma pobre co-contracção entre ambos os músculos que cruzam a articulação do joelho. Todos os procedimentos relacionados à razão de co-contracção foram realizados de acordo com Lloyd e Buchanan (2001), Besier *et al.* (2003) e Ortiz *et al.* (2008).

### Análise Estatística

Todas as variáveis cinemáticas e eletromiográficas dependentes apresentadas de cada participante representaram o equivalente à média de três tentativas. Dados cinemáticos e EMG foram testados para normalidade e homoscedasticidade por meio dos testes de Bartlett's e Levene, e os dados atingiram condições paramétricas. Para indicar diferenças entre as fases menstruais para as avaliações cinemáticas e de EMG, o teste *two-way* ANOVA foi aplicado considerando dois fatores: Participante (15 níveis) e Tratamento (3 níveis) (HOLLANDER e WOLFE, 1999). Para indicar diferenças entre as fases do ciclo menstrual (variável que não atingiu condições paramétricas), foi aplicada a análise não-paramétrica de Friedman separadamente para o estradiol e para a progesterona considerando os mesmos fatores mencionados acima. Erro Tipo I foi controlado com o nível de significância em 0,05, e todos os cálculos foram realizados no *software* Minitab<sup>®</sup> 14.0 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

## RESULTADOS

### Concentração Hormonal

A menor concentração do hormônio estradiol foi observada durante a fase folicular inicial. Essa diferença foi significativa quando comparada à fase folicular tardia ( $p < 0,01$ ) e à fase lútea ( $p < 0,01$ ). Diferença não foi observada para esse hormônio entre as fases folicular tardia e lútea ( $p > 0,05$ ), como esperado. A maior concentração do nível do hormônio progesterona foi observada durante a fase lútea, e diferenças foram detectadas entre as fases lútea e ambas as fases foliculares ( $p < 0,01$ ). Diferença não foi observada, como esperado, entre as duas fases foliculares ( $p > 0,05$ ). As concentrações obtidas por ambos os hormônios podem ser observadas na Tabela 1.

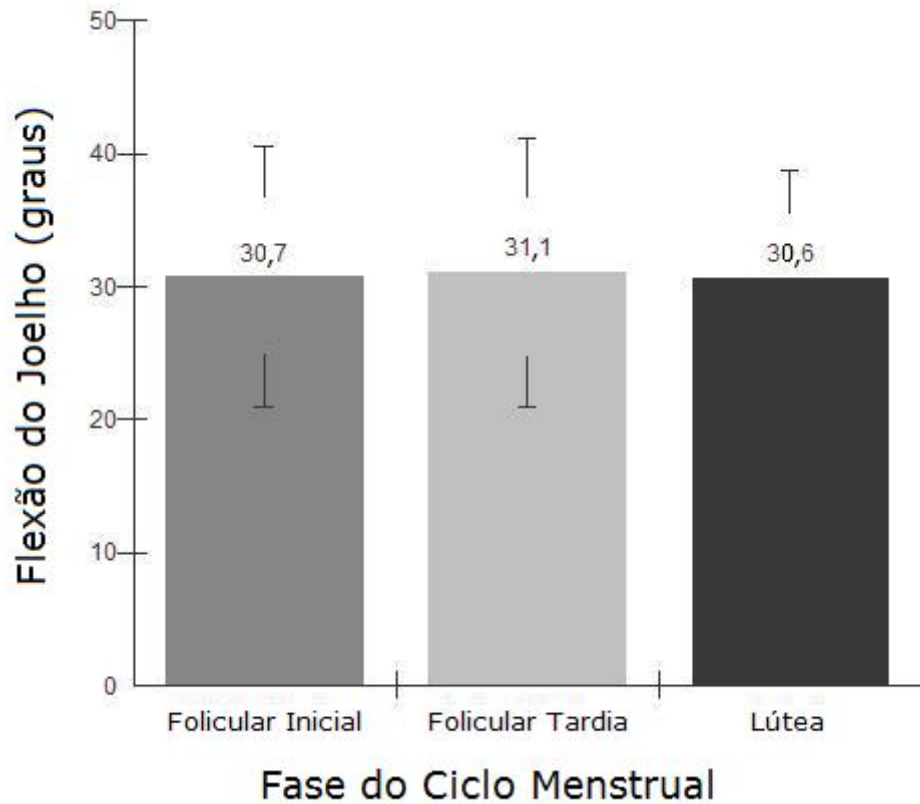
**Tabela 1.** Nível sanguíneo dos hormônios estradiol e progesterona durante as três diferentes fases do ciclo menstrual da amostra de mulheres não atletas ( $n=15$ ).

	Folicular Inicial	Folicular Tardia	Lútea
<b>Estradiol (pg/ml)</b>	28,07 ± 19,40 *	178,70 ± 164,70	136,10 ± 70,60
<b>Progesterona (ng/ml)</b>	0,98 ± 0,46	0,95 ± 0,50	7,78 ± 4,79 **

\* Diferença significativa detectada entre a fase folicular inicial e as outras duas fases do ciclo menstrual. \*\* Diferença significativa detectada entre a fase lútea e as fases foliculares.

### Flexão do Joelho

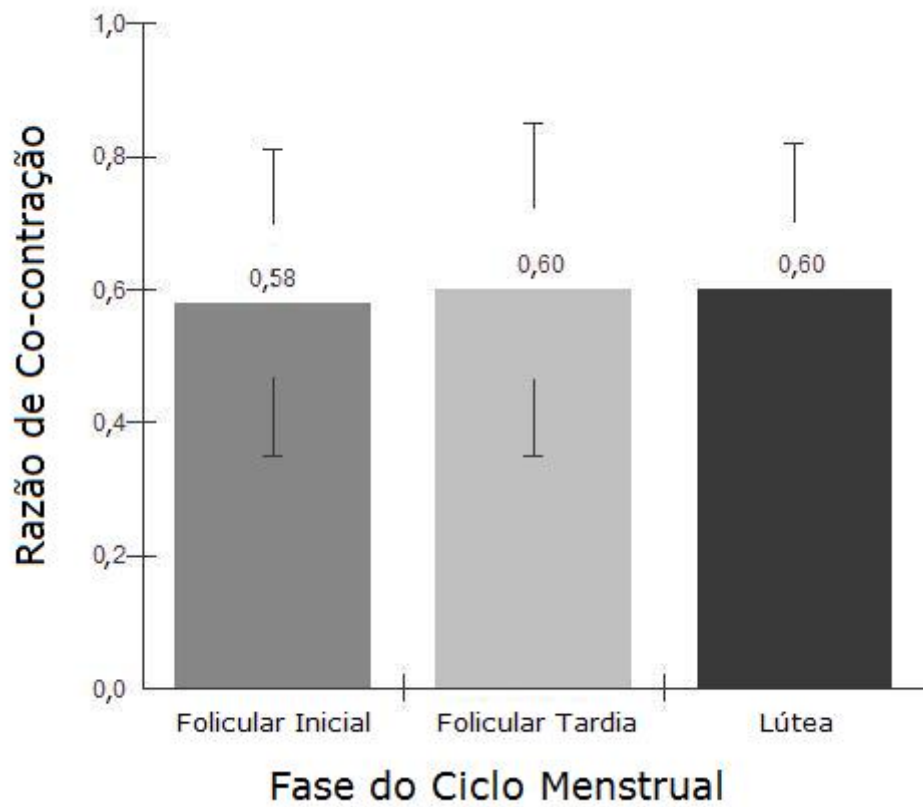
Dados descritivos representando a média dos valores de excursão máxima no plano sagital (graus) da articulação do joelho do membro inferior dominante durante o ciclo menstrual feminino estão apresentados na Figura 3. Pequenas alterações podem ser observadas durante as fases do ciclo, e por meio do teste *two-way* ANOVA nenhuma diferença significativa foi observada nos ângulos de flexão do joelho ( $p=0,950$ ).



**Figura 3.** Média dos ângulos de flexão máxima do joelho apresentada pela amostra de mulheres não atletas durante as três distintas fases do ciclo menstrual.

#### Comportamento Neuromuscular

Dados descritivos representando a média da razão de co-contração entre os músculos reto femoral e bíceps femoral do membro inferior dominante durante as fases do ciclo menstrual podem ser observados na Figura 4. Embora valores menores de co-contração foram detectados na fase folicular inicial, diferença estatística não foi observada ( $p=0,923$ ).



**Figura 4.** Média da razão de co-contração entre os músculos da coxa reto femoral e bíceps femoral apresentada pela amostra de mulheres não atletas durante as três distintas fases do ciclo menstrual.

## DISCUSSÃO

Em nosso estudo investigamos se a flutuação dos hormônios sexuais femininos estradiol e progesterona alteravam o ângulo de flexão e o comportamento neuromuscular do joelho de uma amostra de mulheres não atletas durante a execução de uma tarefa dinâmica. Baseado nos resultados obtidos nós não rejeitamos a hipótese nula, onde os ângulos de flexão do joelho e a razão de co-contração entre os músculos reto femoral e bíceps femoral mantiveram-se significativamente inalteradas durante o ciclo menstrual.

Diferentemente dos resultados observados em outros estudos com mulheres atletas realizando tarefas similares (HUSTON *et al.*, 2001; FAGENBAUM e DARLING, 2003; SALCI *et al.*, 2004; HASS *et al.*, 2005; NAGANO *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2008; KELLIS e KOUVELIOTI, 2009), nosso resultado demonstrou uma média de 30° de flexão da articulação do joelho realizada por uma amostra de mulheres não atletas. Essa angulação média obtida no presente estudo é similar à média observada por Lephart *et al.* (2002) onde as mulheres realizaram a aterrissagem unipodal de uma distância vertical menor (16cm). Portanto, nossos resultados demonstram uma menor média de ângulo de flexão do joelho (apresentada pela amostra de mulheres não atletas) quando comparada com a distância vertical de queda. Esse resultado promove um ambiente de maior risco de lesão de LCA, pois é considerado que a maior tensão aplicada nas fibras do LCA e o mecanismo de lesão de LCA ocorrem usualmente durante desacelerações, manobras de mudança de direção, ou durante aterrissagens de saltos com a articulação do joelho em relativa extensão (MARKOLF *et al.*, 1995; MCLEAN *et al.*, 1999; RUSSELL *et al.*, 2006). Associado a esse fato, as mulheres não atletas não apresentam um preparo muscular como mulheres atletas, podendo também contribuir para o maior risco de lesão.

Mais adiante, o movimento máximo do joelho no plano sagital não necessariamente corresponde às maiores forças *in situ* sofridas pelo LCA, as quais ocorrem no início da fase de descarga de peso (LI *et al.*, 1999). No estudo conduzido por Li *et al.* (1999) com dez joelhos humanos cadavéricos, a maior translação anterior da tíbia ocorreu a 30° de flexão com ativação isolada do quadríceps. No entanto, forças *in situ* no LCA foram maiores quando a articulação do joelho estava a 15° de flexão. Quando as forças antagonistas pela ativação dos isquiotibiais foram aplicadas junto ao quadríceps, as mudanças cinemáticas de translação anterior da tíbia foram reduzidas significativamente, juntamente com a redução das forças *in situ* no LCA em 15°, 30° e 60° de flexão.

Um componente neuromuscular que protege a articulação do joelho contra lesões de LCA é a maior ativação do grupo muscular isquiotibial comparada à ativação do quadríceps, ou a maior razão de co-contração entre esses grupos musculares, a qual promove uma melhor estabilização do joelho e uma menor translação anterior da tíbia em relação ao fêmur. Quanto maior a co-contração entre os grupos musculares quadríceps e isquiotibiais, melhor será a capacidade do joelho em lidar com a absorção de energia durante a fase inicial de desaceleração (fase de descarga) da aterrissagem unipodal para gerar uma melhor estabilidade articular (GRANATA *et al.*, 2002). Se essa razão de co-contração é alterada em algum momento durante o ciclo menstrual, essa fase onde a alteração é observada se apresentaria como uma fase com maior probabilidade de lesão comparada as outras fases do ciclo caso essa alteração seria uma menor razão de co-contração. No entanto, esse fato não foi evidenciado com a amostra utilizada, onde a co-contração permaneceu significativamente inalterada nas três fases avaliadas. Tal observação indica uma distribuição igual do comportamento neuromuscular durante o ciclo menstrual.

Sabe-se que a co-ativação dos isquiotibiais reduz a translação anterior da tíbia em relação ao fêmur, reduzindo conseqüentemente o risco biomecânico de lesões de tecido mole do joelho e forças excessivas sobre o LCA (MORE *et al.*, 1993; MACWILLIAMS *et al.*, 1999). A razão de co-contração observada pela amostra de mulheres não atletas é similar à razão da amostra utilizada por Ortiz *et al.* (2008) durante a tarefa de aterrissagem unipodal de uma altura de 40cm, composta de 15 mulheres saudáveis e sem lesões de membro inferior (idade  $24,6 \pm 2,6$  anos; estatura  $164,7 \pm 6,5$  cm; massa corporal  $58,4 \pm 8,9$  kg). Portanto, a razão de co-contração próxima de 0,6 pode representar uma razão adequada para mulheres saudáveis durante aterrissagens, e tal razão pode corresponder ao padrão suficiente de ativação agonista-antagonista para promover a estabilização necessária à articulação do joelho durante a tarefa em estudo.

De acordo com Lloyd e Buchanan (2001) e Besier *et al.* (2003), a razão de co-contração representa a “rigidez” articular e a relativa ativação entre os grupos musculares extensor e flexor que cruzam a articulação do joelho. Pesquisas em animais demonstraram uma reduzida “rigidez” em músculo liso da artéria uterina durante fases do ciclo estrual com alta concentração de estrógeno versus baixa concentração de progesterona (WAITE *et al.*, 1990). Embora pesquisas com seres humanos não apresentem concordância entre elas, certo resultado indicou uma reduzida “rigidez” dos músculos lisos da aorta após a administração do hormônio estradiol (STEFANADIS *et al.*, 1990). Mais adiante, um tópico importante mencionado por Granata *et al.* (2002) foi que investigações sobre o fator hormonal humano



elucidariam mecanismos para explicar as diferenças entre os gêneros na “rigidez” efetiva músculo-esquelética e a conseqüente estabilização da articulação do joelho e risco de lesões. Nosso estudo demonstrou que a razão de co-contração entre os músculos reto femoral e bíceps femoral não influenciou no risco de instabilidade músculo-esquelética feminina e no mecanismo de lesão da articulação do joelho, uma vez essa razão permaneceu inalterada durante o ciclo menstrual.

As cargas aplicadas na articulação do joelho durante atividades funcionais ultrapassam a capacidade de tensão suportada apenas pelas estruturas passivas, e o suporte adicional oriundo dos músculos (componentes ativos) é necessário para estabilizar a articulação. Os músculos atuam, portanto, como estabilizadores ativos primários do joelho durante condições de sobrecarga funcional, propiciando uma proteção adicional à articulação contra lesões (SHULTZ *et al.*, 2004). A estabilidade do joelho requer a “rigidez” ativa dos músculos, que é proporcional a ativação mioelétrica e a força gerada pelo músculo (WAGNER e BLICKHAN, 1999). Como a “rigidez” ativa dos músculos contribui no comportamento músculo-esquelético, a oscilação dos hormônios sexuais femininos não é uma variável que impediria a manutenção da estabilidade articular, já que foi observado que tal flutuação não alterou a razão de co-contração na amostra utilizada em nosso estudo.

Uma vez a co-contração não se apresentou como uma variável determinante no risco de lesão na amostra de mulheres não atletas utilizada, focos em outras variáveis neuromusculares devem ser enfatizados. Cinestesia é provida pelo input neural de mecanorreceptores da pele, músculos, tendões, ligamentos e cápsula articular. Esses receptores periféricos enviam informações ao sistema nervoso central, onde movimentos articulares são reconhecidos (FRIDEN *et al.*, 2006). Alguns estudos sugerem que mudanças proprioceptivas podem ocorrer devido à oscilação dos hormônios do ciclo menstrual, alterando as mensurações dos potenciais evocados (KANEDA *et al.*, 1997; YILMAZ *et al.*, 1998; YADAV *et al.*, 2002). Os dados obtidos em nosso estudo não indicaram alterações na co-contração muscular sobre diferentes concentrações dos hormônios femininos. Comportamento neuromuscular alterado de membros inferiores pode então ocorrer devido a diferentes aspectos de excitabilidade dos mecanorreceptores, alteração da latência distal, ou uma interação de outras variáveis neuromusculares que não foram analisadas nesse estudo.

Como alterações conscientes podem ser feitas para re-treinar padrões de movimento durante a mecânica de aterrissagens (HEWETT *et al.*, 1996), intervenções podem ser implementadas para reduzir o risco de lesão de mulheres não atletas. Se o ângulo de flexão de joelho pode ser aumentado, juntamente com o controle dos movimentos da articulação do

joelho em diferentes planos anatômicos, um menor pico do componente vertical da força de reação do solo pode gerar menores cargas sobrepostas aos membros inferiores durante tarefas dinâmicas desafiantes. A limitação do presente estudo envolve o fato que embora os hormônios estrogênicos e a progesterona representam o foco principal de pesquisas que investigam riscos de lesões do LCA as outras propriedades ligamentares, a flutuação de outros hormônios, como a relaxina e testosterona (ZAZULAK *et al.*, 2006), IGF-1, inibina, LH e FSH podem também influenciar as propriedades teciduais, e a falta de avaliação de tais hormônios pode ter limitado nossos achados. Mais além, de acordo com o cálculo amostral executado durante os estágios primários do projeto, a amostra necessária para obter o poder estatístico razoável seria de 20 indivíduos. Devido a certos eventos incontroláveis, a amostral final foi composta de 15 participantes. Outras investigações com o correto número na amostra de mulheres não atletas devem ser realizadas para atingir o efeito necessário para obter conclusões que possam ser extrapoladas para a população em geral.

## CONCLUSÃO

A oscilação dos hormônios sexuais estradiol e progesterona não influenciou o ângulo de flexão do joelho durante as três diferentes fases do ciclo menstrual. O comportamento neuromuscular da articulação do joelho, avaliado pela razão de co-contração entre os músculos reto femoral e bíceps femoral, não foi influenciado pelos hormônios sexuais femininos na amostra de mulheres saudáveis e não atletas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

A partir dos dados obtidos e discutidos nos dois estudos apresentados nessa dissertação de mestrado podemos concluir, para mulheres saudáveis, não atletas e com faixa etária universitária, que:

- uma menor excursão de valgo dinâmico do joelho ocorreu na fase lútea do ciclo menstrual, sugerindo uma influência positiva do hormônio sexual progesterona na articulação do joelho durante tarefas dinâmicas, com uma menor amplitude no plano coronal, diminuindo conseqüentemente a chance de aumentar a carga em valgo no joelho que se assemelha ao mecanismo de lesão do LCA;
- a flexão da articulação do joelho permaneceu inalterada durante as três fases avaliadas, onde diferentes concentrações de hormônios sexuais estradiol e progesterona foram detectadas;
- embora os valores obtidos sugeriram uma tendência para um início mais tardio de ativação eletromiográfica do músculo responsável pelo controle da adução da coxa durante altas concentrações de estradiol, diferença estatística entre as três fases do ciclo menstrual não foi observada. Esse fato não indica, portanto, uma relação entre o tempo de início de ativação eletromiográfica das fibras médias do músculo glúteo médio e a amplitude de valgo dinâmico do joelho durante tarefas dinâmicas. Um conjunto de fatores pode influenciar no valgo dinâmico e no colapso que ocorre no joelho durante o mecanismo de lesão de LCA;

a oscilação dos hormônios sexuais femininos não alterou o padrão de co-contração dos músculos reto femoral e bíceps femoral. Portanto, a oscilação dos hormônios estradiol e progesterona durante o ciclo menstrual não influenciou no comportamento neuromuscular da articulação do joelho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

ABDEL-AZIZ, Y.I.; KARARA, H.M. Direct linear transformation from comparator coordinates into object space coordinates in close-range photogrammetry. In: **Symposium on Close-Range Photogrammetry**. Falls Church, Va: American Society of Photogrammetry; p.1-18, 1971.

ABT, J.P.; SELL, T.C.; LAUDNER, K.G.; MCCRORY, J.L.; LOUCKS, T.L.; BERGA, S.L.; LEPHART, S.M. Neuromuscular and biomechanical characteristics do not vary across the menstrual cycle. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc**, v.15, n.7, p.901-907, 2007.

ADACHI, N.; NAWATA, K.; MAETA, M.; KUROZAWA, Y. Relationship of the menstrual cycle phase to anterior cruciate ligament injuries in teenaged female athletes. **Arch Orthop Trauma Surg**, v.128, n.5, p.473-478, 2008.

ANDERSON, A.F.; DOME, D.C.; GAUTAM, S.; AWH, M.H.; RENNIRT, G.W. Correlation of Anthropometric Measurements, Strength, Anterior Cruciate Ligament Size, and Intercondylar Notch Characteristics to Sex Differences in Anterior Cruciate Ligament Tear Rates. **Am J Sports Med**, v.29, n.1, p.58-66, 2001.

ARENDDT, E.A.; AGEL, J.; DICK, R. Anterior cruciate ligament injury patterns among collegiate men and women. **J Athl Training**, v.34, n.2, p.86-92, 1999.

ARENDDT, E.A.; BERSHADSKY, B.; AGEL, J. Periodicity of noncontact anterior cruciate ligament injuries during the menstrual cycle. **J Gend Specif Med**, v.5, n.2, p.19-26, 2002.

ARENDDT, E.; DICK, R. Knee injury patterns among men and women in collegiate basketball and soccer. NCAA data and review of literature. **Am J Sports Med**, v.23, n.6, p.694-701, 1995.

BARON, J.A. Smoking and estrogen-related disease. **Am J Epidemiol**, v.119, n.1, p.9-22, 1984.

BARON, J.A.; LAVECCHIA, C.; LEVI, F. The antiestrogenic effect of cigarette smoking in women. **Am J Obstet Gynecol**, v.162, n.2, p.502-514, 1990.

BARROS, R.M.L.; BRENZIKOFER, R.; LEITE, N.J.; FIGUEROA, P. Desenvolvimento e avaliação de um sistema para análise cinemática tridimensional de movimentos humanos. **Rev Bras Eng Biom**, v.15, n.1-2, p.79-86, 1999.

BELANGER, M.J.; MOORE, D.C.; CRISCO, J.J.; FADALE, P.D.; HULSTYN, M.J.; EHRLICH, M.G. Knee Laxity Does Not Vary With the Menstrual Cycle, Before or After Exercise. **Am J Sports Med**, v.32, n.5, p.1150-1157, 2004.

BERRY, J.; KRAMER, K.; BINKLEY, J.; BINKLEY, G.A.; STRATFORD, P.; HUNTER, S. Error estimates in novice and experts raters for the KT-1000 arthrometer. **J Orthop Sports Phys Ther**, v.29, n.1, p.49-55, 1999.

BESIER, T.F.; LLOYD, D.G.; ACKLAND, T.R. Muscle activation strategies at the knee during running and cutting maneuvers. **Med Sci Sports Exerc**, v.35, n.1, p.119-127, 2003.

BEYNNON, B.D.; BERNSTEIN, I.M.; BELISLE, A.; BRATTBAKK, B.; DEVANNY, P.; RISINGER, R.; DURANT, D. The Effect of Estradiol and Progesterone on Knee and Ankle Joint Laxity. **Am J Sports Med**, v.33, n.9, p.1298-1304, 2005.

BEYNNON, B.D.; JOHNSON, R.J.; BRAUN, S.; SARGENT, M.; BERNSTEIN, I.M.; SKELLY, J.M.; VACEK, P.M. The relationship between menstrual cycle phase and anterior cruciate ligament injury: a case-control study of recreational alpine skiers. **Am J Sports Med**, v.34, n.5, p.757-764, 2006.

BIRMINGHAM, T.B. Test-Retest Reliability of Lower Extremity Functional Instability Measures. **Clin J Sport Med**, v.10, n.4, p.264-268, 2000.

BLACKBURN, J.T.; MYNARK, R.G.; PADUA, D.A.; GUSKIEWICZ, K.M. Influences of experimental factors on spinal stretch reflex latency and amplitude in the human triceps surae. **J Electromyogr Kinesiol**, v.16, n.1, p.42-50, 2006.

BODEN, B.P.; DEAN, G.S.; FEAGIN, J.A.; GARRET, W.E. Mechanisms of Anterior Cruciate Ligament Injury. **Orthopedics**, v.23, n.6, p.573-578, 2000

BOLLEN, S. Ligament Injuries of the Knee - Limping Forward? **Br. J. Sports Med**, v.32, n.1, p.82-84, 1998.

BRINDLE, T.J.; MATTACOLA, C.; MCCRORY, J. Electromyographic changes in the gluteus medius during stair ascent and descent in subjects with anterior knee pain. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc**, v.11, n.4, p.244-251, 2003.

BUTLER, R.J.; CROWELL, H.P.; DAVIS, I.M. Lower extremity stiffness: implications for performance and injury. **Clin Biomech**, v.18, n.6, p.511-517, 2003.

CARCIA, C.R.; SHULTZ, S.J.; GRANATA, K.P.; GANSNEDER, B.M.; PERRIN, D.H. Knee ligament behavior following a controlled loading protocol does not differ by menstrual cycle day. **Clin Biomech**, v.19, n.10, p.1048-1054, 2004.

CASTELEYN, P.P.; HANDELBERG, F. Non-operative management of anterior cruciate ligament injuries in the general population. **J Bone Joint Surg [Br]**, v.78, n.3, p.446-451, 1996.

CHAPPELL, J.D.; CREIGHTON, R.A.; GIULIANI, C.; YU, B.; GARRETT, W. Kinematics and electromyography of landing preparation in vertical stop-jump. **Am J Sports Med**, v.35, n.2, p.235-241, 2007.

CHAPPELL, J.D.; YU, B.; KIRKENDALL, D.T.; GARRETT, W.E. A Comparison of Knee Kinetics between Male and Female Recreational Athletes in Stop-Jump Tasks. **Am J Sports Med**, v.30, n.2, p.261-267, 2002.

CHAUDHARI, A.M.; LINDENFELD, T.N.; ANDRIACCHI, T.P.; HEWETT, T.E.; RICCOBENE, J.; MYER, G.D. Knee and hip loading patterns at different phases in the menstrual cycle: implications for the gender difference in anterior cruciate ligament injury rates. **Am J Sports Med**, v.35, n.5, p.793-800, 2007.

CHILDS, S.G. Pathogenesis of anterior cruciate ligament injury. **Orthop Nurs**, v.21, n.4, p.35-40, 2002.

CLAIBORNE, T.L.; ARMSTRONG, C.W.; GANDHI, V.; PINCIVERO, D.M. Relationship between hip and knee strength and knee valgus during a single leg squat. **J Appl Biomech**, v.22, n.1, p.41-50, 2006.

COLBY, S.; FRANCISCO, A.; YU, B.; KIRKENDALL, D.; FINCH, M.; GARRETT, W. Electromyographic and kinematic analysis of cutting maneuvers: Implications for anterior cruciate ligament injury. **Am J Sports Med**, v.28, n.2, p.234-240, 2000.

CONSTANTINI, N.W.; DUBNOV, G.; LEBRUN, C.M. The menstrual cycle and sports performance. **Clin Sports Med**, v.24, n.2, p.51-82, 2005.

COWAN, S.M.; BENNELL, K.L.; HODGES, P.W.; CROSSLEY, K.M.; MCCONNELL, J. Delayed onset of electromyographic activity of vastus medialis obliquus relative to vastus lateralis in subjects with patellofemoral pain syndrome. **Arch Phys Med Rehabil**, v.82, n.2, p.183-189, 2001.

COWLEY, H.R.; FORD, K.R.; MYER, G.D.; KERNOZEK, T.W.; HEWETT, T.E. Differences in Neuromuscular Strategies Between Landing and Cutting Tasks in Female Basketball and Soccer Athletes. **J Athl Training**, v.41, n.1, p.67-73, 2006.

CROCE, R.V.; RUSSELL, P.J.; SWARTZ, E.E.; DECOSTER, L.C. Knee muscular response strategies differ by developmental level but not gender during jump landing. **Electromyogr Clin Neurophysiol**, v.44, n.6, p.339-348, 2004.

CUNHA, S.A.; LIMA FILHO, E.C. Metodologia para suavização de dados biomecânicos por função não paramétrica ponderada local robusta. **Rev Bras Biomec**, v.1, n.6, p.23-28, 2003.

DE JONGE, X.A.K.J.; BOOT, C.R.L.; THOM, J.M.; RUELL, P.A.; THOMPSON, M.W. The influence of menstrual cycle phase on skeletal muscle contractile characteristics in humans. **J Physiol**, v.530, n.1, p.161-166, 2001.

DEDRICK, G.S.; SIZER, P.S.; MERKLE, J.N.; HOUNSHELL, T.R.; ROBERT-MCCOMB, J.J.; SAWYER, S.F.; BRISMÉE, J.M.; JAMES, C.R. Effect of sex hormones on neuromuscular control patterns during landing. **J Electromyogr Kinesiol**, v.18, n.1, p.68-78, 2008. Epub 2006 Oct 31.

DEIE, M.; SAKAMAKI, Y.; SUMEN, Y.; URABE, Y.; IKUTA, Y. Anterior knee laxity in young women varies with their menstrual cycle. **Int Orthop**, v.26, n.3, p.154-156, 2002.

DING, R.; LOGEMANN, J.A.; LARSON, C.R.; RADEMAKER, A.W. The effects of taste and consistency on swallow physiology in younger and older healthy individuals: a surface electromyographic study. **J Speech Lang Hear Res**, v.46, n.6, p.977-989, 2003.

EARL, J.E. Gluteus Medius Activity During 3 Variations of Isometric Single-Leg Stance. **J Sport Rehabil**, v.14, n.1, p.1-11, 2005.

EHARA, Y.; FUJIMOTO, H.; MIYAZAKI, S.; MOCHIMARU, M.; TANAKA, S.; YAMAMOTO, S. Comparison of the performance of 3D camera systems II. **Gait Posture**, v.5, n.3, p.251-255, 1997.



EILING, E.; BRYANT, A.L.; PETERSEN, W.; MURPHY, A.; HOHMANN, E. Effects of menstrual cycle hormone fluctuations on musculotendinous stiffness and knee joint laxity. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc**, v.15, n.2, p.126-132, 2007.

FAGENBAUM, R.; DARLING, W.G. Jump landing strategies in male and female college athletes and the implications of such strategies for anterior cruciate ligament injury. **Am J Sports Med**, v.31, n.2, p.233-240, 2003.

FARYNIARZ, D.A.; BHARGAVA, M.; LAJAM, C.; ATTIA, E.T.; HANNAFIN, J.A. Quantitation of estrogen receptors and relaxin binding in human anterior cruciate ligament fibroblasts. **In Vitro Cell Dev Biol Anim**, v.42, n.7, p.176-181, 2006.

FERBER R, DAVIS IM, WILLIAMS DS. Gender differences in lower extremity mechanics during running. **Clin Biomech**, v.18, n.4, p.350-357, 2003.

FIGUEROA, P.J.; LEITE, N.J.; BARROS, R.M. A flexible software for tracking of markers used in human motion analysis. **Comput Methods Programs Biomed**, v.72, n.2, p.155-165, 2003.

FLYNN, M.G.; FAHLMAN, M.; BRAUN, W.A.; LAMBERT, C.P.; BOUILLON, L.E.; BROLINSON, P.G.; ARMSTRONG, C.W. Effects of resistance training on selected indexes of immune function in elderly women. **J Appl Physiol**, v.86, n.6, p.1905-1913, 1999.

FORD, K.R.; MYER, G.D.; HEWETT, T.E. Valgus knee motion during landing in high school female and male basketball players. **Med Sci Sports Exerc**, v.35, n.10, p.1745-1750, 2003.

FORD, K.R.; MYER, G.D.; SMITH, R.L.; VIANELLO, R.M.; SEIWERT, S.L.; HEWETT, T.E. A comparison of dynamic coronal plane excursion between matched male and female athletes when performing single leg landings. **Clin Biomech**, v.21, n.1, p.33-40, 2006.

FRIDEN, C.; HIRSCHBERG, A.L.; SAARTOK, T.; RENSTRÖM, P. Knee joint kinaesthesia and neuromuscular coordination during three phases of the menstrual cycle in moderately active women. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc**, v.14, n.4, p.383-389, 2006.

FUKUDA, Y.; WOO, S.L.; LOH, J.C.; TSUDA, E.; TANG, P.; MCMAHON, P.J.; DEBSKI, R.E. A quantitative analysis of valgus torque on the ACL: a human cadaveric study. **J Orthop Res**, v.21, n.6, p.1107-1112, 2003.

GRANATA, K.P.; WILSON, S.E.; PADUA, D.A. Gender differences in active musculoskeletal stiffness. Part I. Quantification in controlled measurements of knee joint dynamics. **J Electromyogr Kinesiol**, v.12, n.2, p.119-126, 2002.

GRIFFIN, L.Y.; AGEL, J.A.; ALBOHM, M.J.; ARENDT, E.A.; DICK, R.W.; GARRETT, W.E.; GARRICK, J.G.; HEWETT, T.E.; HUSTON, L.; IRELAND, M.L.; JOHNSON, R.J.; KIBLER, W.B.; LEPHART, S.; LEWIS, J.L.; LINDENFELD, T.N.; MANDELBAUM, B.R.; MARCHAK, P.; TEITZ, C.C.; WOJTYS, E.M. Noncontact anterior cruciate ligament injuries: Risk factors and prevention strategies. **J Am Acad Orthop Sug**, v.8, n.3, p.141-150, 2000.

HARGRAVE, M.D.; CARCIA, C.R.; GANSNEDER, B.M.; SHULTZ, S.J. Subtalar Pronation Does Not Influence Impact Forces or Rate of Loading During a Single-Leg Landing. **J Athl Train**, v.38, n.1, p.18-23, 2003.

HARMON, K.G.; IRELAND, M.L. Gender differences in noncontact anterior cruciate ligament injuries. **Clin Sports Med**, v.19, n.2, p.287-302, 2000.

HART, J.M.; GARRISON, J.C.; KERRIGAN, D.C.; PALMIERI-SMITH, R.; INGERSOLL, C.D. Gender differences in gluteus medius muscle activity exists in soccer players performing a forward jump. **Res Sports Med**, v.15, n.2, p.147-155, 2007.

HASS, C.J.; SCHICK, E.A.; TILLMAN, M.D.; CHOW, J.W.; BRUNT, D.; CAURAUGH, J.H. Knee biomechanics during landings: comparison of pre- and postpubescent females. **Med Sci Sports Exerc**, v.37, n.1, p.100-107, 2005.

HEITZ, N.A.; EISENMAN, P.A.; BECK, C.L.; WALKER, J.A. Hormonal Changes Throughout the Menstrual Cycle and Increased Anterior Cruciate Ligament Laxity in Females. **J Athl Training**, v.34, n.2, p.144-149, 1999.

HERMENS, H.J.; FRERIKS, B.; DISSELHORST-KLUG, C.; RAU, G. Development of recommendations for sEMG sensors and sensor placement procedures. **J Electromyogr Kinesiol**, v.10, n.5, p.361-374, 2000.

HERMENS, H.J.; FRERIKS, B.; MERLETTI, R.; STEGEMAN, D.; BLOK, J.; RAU, G.; DISSELHORST-KLUG, C.; HAGG, G. **European Recommendations for Surface Electromyography - SENIAM**. Deliverable 8. Biomedical and Health Research Program. Roessingh Research and Development. 1999. 122p.

HERTEL, J.; WILLIAMS, N.I.; OLMSTED-KRAMER, L.C.; LEIDY, H.J.; PUTUKIAN, M. Neuromuscular performance and knee laxity do not change across the menstrual cycle in female athletes. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc**, v.14, n.9, p.817-822, 2006.

HEWETT, T.E. Neuromuscular and hormonal factors associated with knee injuries in female athletes: strategies for intervention. **Sports Med**, v.29, n.5, p.313-327, 2000.

HEWETT, T.E.; MYER, G.D.; FORD, K.R.; HEIDT, R.S.; COLOSIMO, A.J.; MCLEAN, S.G.; VAN DEN BOGERT, A.J.; PATERNO, M.V.; SUCCOP, P. Biomechanical measures of neuromuscular control and valgus loading of the knee predict anterior cruciate ligament injury risk in female athletes - A prospective study. **Am J Sports Med**, v.33, n.4, p.492-501, 2005.

HEWETT, T.E.; PATERNO, M.V.; MYER, G.D. Strategies for enhancing proprioception and neuromuscular control of the knee. **Clin Orthop Relat Res.**, v.402, p.76-94, 2002.

HEWETT, T.E.; STROUPE, A.L.; NANCE, T.A.; NOYES, F.R. Plyometric training in female athletes: decreased impact forces and increased hamstring torques. **Am J Sports Med**, v.24, n.6, p.765-773, 1996.

HEWETT, T.E.; ZAZULAK, B.T.; MYER, G.D. Effects of the menstrual cycle on anterior cruciate ligament injury risk: a systematic review. **Am J Sports Med**, v.35, n.4, p.659-668, 2007.

HOLLANDER, M.; WOLFE, D.A. **Nonparametric Statistical Methods**. 2. ed. New York: Wiley-Interscience, 1999. 787p.

HUSTON, L.J.; VIBERT, B.; ASHTON-MILLER, J.A.; WOJTYS, E.M. Gender differences in knee angle when landing from a drop-jump. **Am J Knee Surg**, v.14, n.4, p.215-219, 2001.

IRELAND, M.L. The female ACL: why is it more prone to injury? **Orthop Clin North Am**, v.33, n.4, p.637-651, 2002.

IRELAND, M.L.; OTT, S.M. Special concerns of the female athlete. **Clin Sports Med**, v.23, n.2, p.526-536, 2004.

KAI, S.; NARA, I. Relationships among Jump Motion Control Ability, Knee Joint Position Sense, and Adjusting Muscle Contraction in Healthy Subjects. **J Phys Ther Sci**, v.16, n.2, p.119-127, 2004.

KANAMORI, A.; WOO, S.L.; MA, C.B.; ZEMINSKI, J.; RUDY, T.W.; LI, G.; LIVESAY, G.A. The forces in the anterior cruciate ligament and knee kinematics during a simulated pivot shift test: A human cadaveric study using robotic technology. **Arthroscopy**, v.16, n.6, p.633-639, 2000.

KANEDA, Y.; IKUTA, T.; NAKAYAMA, H.; KAGAWA, K.; FURUTA, N. Visual evoked potential and electroencephalogram of healthy females during the menstrual cycle. **J Med Invest**, v.44, n.1-2, p.41-46, 1997.

KARANGEANES, S.I.; BLACKBURN, K.; VANGELOS, Z.A. The association of menstrual cycle with the laxity of the anterior cruciate ligament in adolescent female athletes. **Clin J Sport Med**, v.10, n.3, p.162-168, 2000.

KELLIS, E. Quantification of quadriceps and hamstring antagonist activity. **Sports Med**, v.25, n.1, p.37-62, 1998.

KELLIS, E.; KOUVELIOTI, V. Agonist versus antagonist muscle fatigue effects on thigh muscle activity and vertical ground reaction during drop landing. **J Electromyogr Kinesiol**, v.19, n.1, p.55-64, 2009.

LEPHART, S.M.; FERRIS, C.M.; RIEMANN, B.L.; MYERS, J.B.; FU, F.H. Gender differences in strength and lower extremity kinematics during landing. **Clin Orthop Relat Res**, v.401, p.162-169, 2002.

LI, G.; RUDY, T.W.; SAKANE, M.; KANAMORI, A.; MA, C.B.; WOO, S.L.Y. The importance of quadriceps and hamstring muscle loading on knee kinematics and in-situ forces in the ACL. **J Biomech**, v.32, n.4, p.395-400, 1999.

LIU, S.H.; AL-SHAIKH, R.A.; PANOSSIAN, V.; YANG, R.S.; NELSON, S.D.; SOLEIMAN, N.; FINERMAN, G.A.; LANE, J.M. Primary immunolocalization of estrogen and progesterone target cell in the human anterior cruciate ligament. **J Orthop Res**, v.14, n.4, p.526-533, 1996.

LLOYD, D.G. Rationale for training programs to reduce anterior cruciate ligament injuries in Australian football. **J Orthop Sports Phys Ther**, v.31, n.11, p.645-654, 2001.

LLOYD, D.G.; BUCHANAN, T.S. Strategies of muscular support of varus and valgus isometric loads at the human knee. **J Biomech**, v.34, n.10, p.1257-1267, 2001.

LOHMAN, T.G. **Advances in Body Composition Assessment**. Champaign, Illinois: Human Kinetics Publisher, 1992. 160p.

LOVERING, R.M.; ROMANI, W.A. Effect of testosterone on the female anterior cruciate ligament. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.289, n.1, p.R15–R22, 2005.

LUNEN, B.L.V.; ROBERTS, J.; BRANCH, J.D.; DOWLING, E.A. Association of Menstrual-Cycle Hormone Changes with Anterior Cruciate Ligament Laxity Measurements. **J Athl Training**, v.38, n.4, p.298-303, 2003.

MACWILLIAMS, B.A.; WILSON, D.R.; DESJARDINS, J.D.; ROMERO, J.; CHAO, E.Y. Hamstrings cocontraction reduces internal rotation, anterior translation, and anterior cruciate ligament load in weight-bearing flexion. **J Orthop Res**, v.17, n.6, p.817-822, 1999.

MALINZAK, R.A.; COLBY, S.M.; KIRKENDALL, D.T.; YU, B.; GARRETT, W.E. A comparison of knee joint motion patterns between men and women in selected athletic tasks. **Clin Biomech**, v.16, n.5, p.438-445, 2001.

MANOLOPOULOS, E.; PAPADOPOULOS, C.; KELLIS, E. Effects of combined strength and kick coordination training on soccer kick biomechanics in amateur players. **Scand J Med Sci Sports**, v.16, n.2, p. 102-110, 2006.

MARKOLF, K.L.; BURCHFIELD, D.M.; SHAPIRO, M.M.; SHEPARD, M.F.; FINERMAN, G.A.; SLAUTERBECK, J.L. Combined knee loading states that generate high anterior cruciate ligament forces. **J Orthop Res**, v.13, n.6, p.930-935, 1995.

MCLEAN, S.G.; LIPFERT, S.; VAN DEN BOGERT, A.J. Effect of gender and defensive opponent on the biomechanics of sidestep cutting. **Med Sci Sports Exerc**, v.36, n.6, p.1008-1016, 2004.

MCLEAN, S.G.; NEAL, R.J.; MYERS, P.T.; WALTERS, M.R. Knee joint kinematics during the sidestep cutting maneuver: Potential for injury in women. **Med Sci Sports Exerc**, v.31, n.7, p.959-968, 1999.

MCNAIR, P.J.; MARSHALL, R.N. Landing characteristics in subjects with normal and anterior cruciate ligament deficient knee joints. **Arch Phys Med Rehabil**, v.75, n.5, p.584-589, 1994.

MCNAIR, P.J.; MARSHALL, R.N.; MATHESON, J.A. Important features associated with anterior cruciate ligament injury. **N Z Med J**, v.103, n.901, p.537-539, 1990.

MOLLER-NIELSEN, J.; HAMMAR, M. Women's soccer injuries in relation to the menstrual cycle and oral contraceptive use. **Med Sci Sports Exerc**, v.21, n.2, p.126-129, 1989.

MONTGOMERY, D.C. **Design and Analysis of Experiments**. 2. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 1984. 660p.

MORE, R.C.; KARRAS, B.T.; NEIMAN, R.; FRITSCHY, D. Hamstrings - an anterior cruciate ligament protagonist: An in-vitro study. **Am J Sports Med**, v.21, n.2, p.231-237, 1993.

MYER, G.D.; FORD, K.R.; HEWETT, T.E. The effects of gender on quadriceps muscle activation strategies during a maneuver that mimics a high ACL injury risk position. **J Electromyogr Kinesiol**, v.15, n.2, p.181-189, 2005.

MYKLEBUST, G.; ENGBRETSSEN, L.; BRAEKKEN, I.H.; SKJOLBERG, A.; OLSEN, O.E.; BAHR, R. Prevention of anterior cruciate ligament injuries in female team handball players: a prospective intervention study over three seasons. **Clin J Sport Med**, v.13, n.2, p.71-78, 2003.

MYKLEBUST, G.; MAEHLUM, S.; HOLM, I.; BAHR, R. A prospective cohort study of anterior cruciate ligament injuries in elite Norwegian team handball. **Scand J Med Sci Sports**, v.8, n.3, p.149-153, 1998.

NAGANO, Y.; IDA, H.; AKAI, M.; FUKUBAYASHI, T. Gender differences in knee kinematics and muscle activity during single limb drop landing. **Knee**, v.14, n.3, p.218-223, 2007.

NORDANDER, C.; WILLNER, J.; HANSSON, G.A.; LARSSON, B.; UNGE, J.; GRANQUIST, L.; SKERFVING, S. Influence of the subcutaneous fat layer, as measured by ultrasound, skinfold calipers and BMI, on the EMG amplitude. **Eur J Appl Physiol**, v.89, n.6, p.514-519, 2003.

OLSEN, O.E.; MYKLEBUST, G.; ENGBRETSSEN, L.; BAHR, R. Injury mechanisms for anterior cruciate ligament injuries in team handball: a systematic video analysis. **Am J Sports Med**, v.32, n.4, p.1002-1012, 2004.

ORTIZ, A.; OLSON, S.; LIBBY, C.L.; TRUDELLE-JACKSON, E.; KWON, Y.H.; ETNYRE, B.; BARTLETT, W. Landing mechanics between noninjured women and women with anterior cruciate ligament reconstruction during 2 jump tasks. **Am J Sports Med**, v.36, n.1, p.149-157, 2008.

POLLARD, C.D.; SIGWARD, S.; OTA, S.; LANGFORD, K.; POWERS, C.M. The Influence of In-Season Injury Prevention Training on Lower-Extremity Kinematics during Landing in Female Soccer Players. **Clin J Sport Med**, v.16, n.3, p.223-227, 2006.

POLLARD, C.D.; SIGWARD, S.; POWERS, C.M. Stiff landing increases frontal plane loading of the knee. **J Athl Train**, v.43, n.5, p.544-545, 2008.

QUATMAN, C.E.; FORD, K.R.; MYER, G.D.; HEWETT, T.E. Maturation Leads to Gender Differences in Landing Force and Vertical Jump Performance - A Longitudinal Study. **Am J Sports Med**, v.34, n.5, p.806-813, 2006.

REESE, N.B. **Testes de Função Muscular e Sensorial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 505p.

RODAKCI, A.L.; FOWLER, N.E.; BENNETT, S.J. Vertical jump coordination: fatigue effects. **Med Sci Sports Exerc**, v.34, n.1, p.105-116, 2002.

ROMANI, W.A.; PATRIE, J.; CURL, L.A.; FLAWS, J.A. The Correlations between Estradiol, Estrone, Estriol, Progesterone, and Sex Hormone-Binding Globulin and Anterior Cruciate Ligament Stiffness in Healthy, Active Females. **J WOM Health**, v.12, n.3, p.287-298, 2003.

ROZZI, S.L.; LEPHART, S.M.; GEAR, W.S.; FU, F.H. Knee joint laxity and neuromuscular characteristics of male and female soccer and basketball players. **Am J Sports Med**, v.27, n.3, p.312-319, 1999.

RUSSELL, K.A.; PALMIERI, R.M.; ZINDER, S.M.; INGERSOLL, C.D. Sex Differences in Valgus Knee Angle During a Single-Leg Drop Jump. **J Athl Train**, v.41, n.2, p.166-171, 2006.

SALCI, Y.; KENTEL, B.B.; HEYCAN, C.; AKIN, S.; KORKUSUZ, F. Comparison of landing maneuvers between male and female college volleyball players. **Clin Biomech**, v.19, n.6, p.622-628, 2004.

SENEVIRATNE, A.; ATTIA, E.; WILLIAMS, R.J.; RODEO, S.A.; HANNAFIN, J.A. The effect of estrogen on ovine anterior cruciate ligament fibroblasts: cell proliferation and collagen synthesis. **Am J Sports Med**, v.32, n.7, p.1613-1618, 2004.

SHULTZ, S.J.; CARCIA, C.R.; PERRIN, D.H. Knee joint laxity affects muscle activation patterns in the healthy knee. **J Electromyogr Kinesiol**, v.14, n.4, p.475-483, 2004.

SHULTZ, S.J.; KIRK, S.E.; JOHNSON, M.L.; SANDER, T.C.; PERRIN, D.H. Relationship between sex hormones and anterior knee laxity across the menstrual cycle. **Med Sci Sports Exerc**, v.36, n.7, p.1165-1174, 2004.

SHULTZ, S.J.; SANDER, T.C.; KIRK, S.E.; PERRIN, D.H. Sex differences in knee joint laxity change across the female menstrual cycle. **J Sports Med Phys Fitness**, v.45, n.4, p.594-603, 2005.

SIGWARD, S.M.; POWERS, C.M. The influence of gender on knee kinematics, kinetics and muscle activation patterns during side-step cutting. **Clin Biomech**, v.21, n.1, p.41-48, 2006.

SLAUTERBECK, J.R.; FUZIE, S.F.; SMITH, M.P.; CLARK, R.J.; XU, K.; STARCH, D.W.; HARDY, D.M. The menstrual cycle, sex hormones, and anterior cruciate ligament injury. **J Athl Train**, v.37, n.3, p.275-278, 2002.

SLAUTERBECK, J.R.; HARDY, D.M. Sex hormones and knee ligament injuries in female athletes. **Am J Med Sci**, v.322, n.4, p.196-199, 2001.

SPEROFF, L.; FRITZ, M.A. **Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility**. 7. ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2005. 1334p.

STEFANADIS, C.; TSIAMIS, E.; DERNELLIS, J.; TOUTOUZAS, P. Effect of estrogen on aortic function in postmenopausal women. **Am J Physiol**, v.276, n.2, p.658-662, 1999.

STRICKLAND, S.M.; BELKNAP, T.W.; TURNER, S.A.; WRIGHT, T.M.; HANNAFIN, J.A. Lack of hormonal influences on mechanical properties of sheep knee ligaments. **Am J Sports Med**, v.31, n.2, p.210-215, 2003.

TAGAWA, Y. ; SHIBA, N.; MIYAZAKI, K.; MATSUO, S.; INOUE, A.; YAMASHITA, T. Effects of knee and ankle movements on foot impact forces in human walking. **JSME Intl J Series C**, v.44, n.4, p.1089-1096, 2001.

VAN LUNEN, B.L.; ROBERTS, J.; BRANCO, J.D.; DOWLING, E.A. Association of menstrual-cycle hormone changes with anterior cruciate ligament laxity measurements. **J Athl Train**, v.38, n.4, p.298-303, 2003.

WAGNER, H.; BLICKHAN, R. Stabilizing function of skeletal muscles: an analytical investigation. **J Theor Biol.**, v.199, n.2, p.163-179, 1999.



WAITE, L.R.; FORD, S.P.; YOUNG, D.F.; CONLEY, A.J. Use of ultrasonic Doppler waveforms to estimate changes in uterine artery blood flow and vessel compliance. **J Anim Sci**, v.68, n.8, p.2450-2458, 1990.

WENTORF, F.A.; SUDOH, K.; MOSES, C.; ARENDT, E.A.; CARLSON, C.S. The effects of estrogen on material and mechanical properties of the intra- and extra-articular knee structures. **Am J Sports Med**, v.34, n.12, p.1948-1952, 2006.

WOJTYS, E.M.; ASHTON-MILLER, J.A.; HUSTON, L.J. A gender-related difference in the contribution of the knee musculature to sagittal-plane shear stiffness in subjects with similar knee laxity. **J Bone Joint Surg Am**, v.84, n.1, p.10-16, 2002.

WOJTYS, E.M.; BRADFORD, W.B.; HUSTON, L.J. The effects of muscle fatigue on neuromuscular function and anterior tibial translation in healthy knees. **Am J Sports Med**, v.24, n.5, p.615-621, 1996.

WOJTYS, E.M.; HUSTON, L.J.; LINDENFELD, T.N.; HEWETT, T.E.; GREENFIELD, M.L.V.H. Association between the menstrual cycle and anterior cruciate ligament injuries in female athletes. **Am J Sports Med**, v.26, n.5, p.614-619, 1998.

WROBLE, R.R.; VAN GINKEL, L.A.; GROOD, E.S.; NOYES, F.R.; SHAFFER, B.L. Repeatability of the KT-1000 arthrometer in a normal population. **Am J Sport Med**, v.18, n.4, p.396-399, 1990.

WU, G.; SIEGLER, S.; ALLARD, P.; KIRTLEY, C.; LEARDINI, A.; ROSENBAUM, D.; WHITTLE, M.; D'LIMA, D.D.; CRISTOFOLINI, L.; WITTE, H.; SCHMID, O.; STOKES, I. ISB recommendation on definitions of joint coordinate system of various joints for the reporting of human joint motion-part I: ankle, hip, and spine. **J Biomech**, v.35, n.4, p.543-548, 2002.

YADAV, A.; TANDON, O.P.; VANEY, N. Auditory evoked responses during different phases of menstrual cycle. **Indian J Physiol Pharmacol**, v.46, n.4, p.449-456, 2002.

YILMAZ, H.; ERKIN, E.F.; MAVIOGLU, H.; SUNGURTEKIN, U. Changes in pattern reversal evoked potentials during menstrual cycle. **Intl Ophthalmol**, v.22, n.1, p.27-30, 1998.

YU, B.; MCCLURE, S.B.; ONATE, J.A.; GUSKIEWICZ, K.M.; KIRKENDALL, D.T.; GARRETT, W.E. Age and gender effects on lower extremity kinematics of youth soccer players in a stop-jump task. **Am J Sports Med**, v.33, n.9, p.1356-1364, 2005.

YU, W.D.; PANOSSIAN, V.; HATCH, J.D.; LIU, S.H.; FINERMAN, G.A.M. Combined effects of estrogen and progesterone on the anterior Cruciate ligament. **Clin Orthop Relat Res**, v.383, p.268-281, 2001.

ZAZULAK, B.T.; PATERNO, M.; MYER, G.D.; ROMANI, W.A.; HEWETT, T.E. The effects of the menstrual cycle on anterior knee laxity. A systematic review. **Sports Med**, v.36, n.10, p.847-862, 2006.

ZAZULAK, B.T.; PONCE, P.L.; STRAUB, S.J.; MEDVECKY, M.J.; AVEDISIAN, L.; HEWETT, T.E. Gender comparison of hip muscle activity during single-leg landing. **J Orthop Sports Phys Ther**, v.35, n.5, p.292-299, 2005.

ZELLER, B.L.; MCCRORY, J.L.; KIBLER, W.B.; UHL, T.L. Differences in kinematics and electromyographic activity between man and women during the single-legged squat. **Am J Sports Med**, v.31, n.3, p.449-456, 2003.

ZHANG, S.; DERRICK, T.R.; EVANS, W.; YU, Y.J. Shock and impact reduction in moderate and strenuous landing activities. **Sports Biomech**, v.7, n.2, p.296-309, 2008.

## **APÊNDICES**

---

### **Apêndice I** **Avaliação Física**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA

LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO  
EM ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

## FICHA DE AVALIAÇÃO

Data da Avaliação: \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_

Examinador(es): \_\_\_\_\_

### DADOS PESSOAIS

Nome:

Voluntário número:

Idade:

Sexo: (M) (F)

Peso:

Altura:

IMC:

Dominância de Membro Inferior: D ( ) E ( ) Ambidestro ( )

Tabagista: Sim ( ) Não ( )

Uso de Contraceptivo Oral: Sim ( ) Não ( )

Regularidade do Ciclo: \_\_\_\_ dias

Uso de Outro Medicamento: \_\_\_\_\_

Presença de Dor em Atividades Funcionais: \_\_\_\_\_

Atividade Física: Sim ( ) Não ( )

Modalidade: \_\_\_\_\_

Frequência: \_\_\_\_\_

Há quanto tempo: \_\_\_\_\_

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA

LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO  
EM ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

## **HISTÓRIA PREGRESSA**

Histórico de lesão na articulação do tornozelo? Sim ( ) Não ( )

Se sim, há quanto tempo? \_\_\_\_\_

Histórico de lesão na articulação do joelho? Sim ( ) Não ( )

Se sim, há quanto tempo? \_\_\_\_\_

Histórico de lesão na articulação do quadril? Sim ( ) Não ( )

Se sim, há quanto tempo? \_\_\_\_\_

Histórico de lesão muscular no membro inferior? Sim ( ) Não ( )

Se sim, há quanto tempo? \_\_\_\_\_

Histórico de problemas cárdio-respiratórios, sistêmicos ou vestibulares?

Sim ( ) Não ( )

Histórico de disfunção metabólica, neurológica periférica ou central?

Sim ( ) Não ( )

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA

LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO  
EM ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

## EXAME FÍSICO

<b>PROVAS DE FORÇA MUSCULAR</b>		
	<b>MEMBRO INFERIOR DIREITO</b>	<b>MEMBRO INFERIOR ESQUERDO</b>
<b>FLEXORES DO QUADRIL</b>		
<b>EXTENSORES DO QUADRIL</b>		
<b>ADUTORES DO QUADRIL</b>		
<b>ABDUTORES DO QUADRIL</b>		
<b>QUADRÍCEPS DA COXA</b>		
<b>ISQUIOTIBIAIS</b>		

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA

LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO  
EM ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

<b>PROVAS DE RETRAÇÃO MUSCULAR</b>		
	<b>MEMBRO INFERIOR DIREITO</b>	<b>MEMBRO INFERIOR ESQUERDO</b>
<b>ISQUIOTIBIAIS</b>		
<b>GASTROCNÊMIO</b>		
<b>SÓLEOS</b>		
<b>PROVA DE THOMAS</b>	Reto da coxa ( ) Iliopsoas ( )	Reto da coxa ( ) Iliopsoas ( )
<b>PROVA DE OBER</b>		

<b>PATELA</b>		
	<b>MEMBRO INFERIOR DIREITO</b>	<b>MEMBRO INFERIOR ESQUERDO</b>
<b>MOBILIDADE</b>	Hipermóvel ( ) Hipomóvel ( )	Hipermóvel ( ) Hipomóvel ( )
<b>POSICIONAMENTO</b>	Normal ( ) Alta ( ) Medializada ( ) Lateralizada ( )	Normal ( ) Alta ( ) Medializada ( ) Lateralizada ( )

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA

LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO  
EM ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

<b>JOELHO – TESTES ESPECIAIS</b>		
	<b>MEMBRO INFERIOR DIREITO</b>	<b>MEMBRO INFERIOR ESQUERDO</b>
<b>GAVETA ANTERIOR</b>	Rot. Neutra ( ) Rot. Interna ( ) Rot. Externa ( )	Rot. Neutra ( ) Rot. Interna ( ) Rot. Externa ( )
<b>GAVETA POSTERIOR</b>	Rot. Neutra ( ) Rot. Interna ( )	Rot. Neutra ( ) Rot. Interna ( )
<b>TESTE DE LACHMAN</b>		
<b>DESLOCAMENTO-PIVÔ</b>		
<b>“JERK TEST”</b>		
<b>Mc MURRAY</b>		
<b>TESTE DE APLEY</b>	Compressão ( ) Tração ( )	Compressão ( ) Tração ( )
<b>STRESS VALGO (0° e 30°)</b>		
<b>STRESS VARO (0° e 30°)</b>		
<b>SINAL DE ROMBERG</b>		



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA

LABORATÓRIO DE AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO  
EM ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

<b>AVALIAÇÃO POSTURAL</b>	
VISTA ANTERIOR	
VISTA LATERAL	
VISTA POSTERIOR	

<b>ÂNGULO Q</b>	
MEMBRO INFERIOR DIREITO	
MEMBRO INFERIOR ESQUERDO	

## **ANEXOS**

---

### **Anexo I**

#### **Influence of Female Sex Hormones on Dynamic Knee Valgus and Gluteus Medius Onset Timing**

## **Influence of Female Sex Hormones on Dynamic Knee Valgus and Gluteus Medius Onset Timing**

### **Authors**

Guilherme Manna Cesar<sup>†</sup>, Vanessa Santos Pereira<sup>†</sup>, Paulo Roberto Pereira Santiago<sup>‡</sup>, Benedito Galvão Benze<sup>\*</sup>, Paula Hentshel Lobo da Costa<sup>‡</sup>, César Ferreira Amorim<sup>¶</sup>, Fabio Viadanna Serrão<sup>†</sup>.

<sup>†</sup>Department of Physical Therapy, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil.

<sup>‡</sup>Department of Physical Education, State University of São Paulo UNESP, Rio Claro, SP, Brazil.

<sup>\*</sup>Department of Statistics, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil.

<sup>‡</sup>Department of Physical Education and Human Motricity, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil.

<sup>¶</sup>Department of Mechanical Engineering, State University of São Paulo UNESP, Guaratingueta, SP, Brazil.

### **ABSTRACT**

**Background:** Daily living activities contribute to female ACL injury scenario. No studies have focused on lower extremity behavior of non-athletic samples to compare or understand the lower extremity adeptness towards daily movements that mimics athletic tasks.

**Hypothesis:** Increased knee valgus excursion would occur during the late follicular phase of the menstrual cycle accompanied by different onset timing of the gluteus medius muscle.

**Study Design:** Controlled laboratory study. **Methods:** 23 non-athletic collegiate women participated and 15 subjects comprised the final sample for statistical treatment. Subjects performed the single leg drop landing while knee 3D kinematics and gluteus medius muscle onset timing was assessed throughout three distinct phases of the menstrual cycle, confirmed by blood hormone analysis. **Results:** Knee valgus excursion presented significant lesser values in the luteal phase compared to both follicular phases ( $p < 0.005$ ). Differences were not observed for gluteus medius onset timing ( $p > 0.05$ ). Descriptive statistical analysis indicated later onset timing during the late follicular phase compared to initial follicular and luteal phases. **Conclusions:** Decreased knee joint valgus excursion was observed during the luteal phase, suggesting an influence of the hormone progesterone on knee kinematics during a dynamic task. However, such influence was not observed for gluteus medius EMG onset timing, and correlation between gluteus medius onset timing and knee valgus excursion could

not be determine. **Clinical Relevance:** Sex hormones may play an important role in the general female ACL injury scenario, promoting a more susceptible environment of injury due to greater coronal plane knee joint amplitudes.

**Key Terms:** dynamic valgus; anterior cruciate ligament (ACL); knee joint load; kinematics; electromyography (EMG); menstrual cycle.

## INTRODUCTION

A plethora of works have demonstrated the disparity between male and female knee joint behavior during different activities,<sup>18,20,25,26,27,28,34,44</sup> and many others have demonstrated the effect of female sex hormones (e.g. estrogen) on ACL tissue, leading to an increased laxity and consequent increased risk of injury<sup>5,36,40</sup> when such hormones are in their peak level. However, very few studies<sup>2,13</sup> assessed such purported laxity during a dynamic task throughout different aspects of hormonal milieu. It should be stressed that injury mechanism occurs during dynamic tasks, which confirms the importance of assessing dynamically joint excursions during the different phases of the menstrual cycle.

According to Childs,<sup>9</sup> falls and motor vehicle accidents contribute to the general cases of ACL injuries in the United States, which comprises of 250,000 occurrences per year. Though most of such cases occur in an athletic environment, injuries from a non-athletic population may derive from daily living activities (28.1%) and recreational activities (60.1%),<sup>7</sup> contributing to the pecuniary burden placed on the health system by the surgical intervention and rehabilitation costs of ACL injuries. As yet no studies have focused on the lower extremity behavior of a non-athletic sample to either compare it to athletic individuals or simply understand the lower extremity adeptness towards certain daily movements that mimics athletic tasks (ie. changing directions, stepping off a platform and perform a single leg land, among others).

Moreover, no studies presented the onset timing of one the major muscles that control thigh coronal plane movement during the different phases of the menstrual cycle. The contraction executed by the gluteus medius muscle abducts the thigh, which consequently contributes to the controlling of knee valgus excursion during a dynamic task. Such dynamic valgus has already been confirmed<sup>23</sup> as an ACL injury risk factor; however, whether gluteus medius activation pattern remains unchanged throughout the menstrual cycle, and its corresponded control over knee coronal plane excursions, has yet to be investigated.

The purpose of this investigation was to assess knee valgus excursion during the three different phases of the menstrual cycle of a non-athletic female sample performing a dynamic task. Moreover, the onset timing of gluteus medius muscle was verified to indicate whether an onset difference could be observed due to different hormonal milieu, and correlation with the coronal plane amplitude of knee excursion was also investigated.

## MATERIALS AND METHODS

### Experimental Design

A longitudinal complete block design study with random subject allocation was designed to investigate whether the oscillation of two female sex hormones alters knee joint movement and muscle activity pattern. The factor hormonal dosage (independent variable), which presents three levels (initial follicular phase, late follicular phase, and luteal phase) was treated with two dependent variables: electromyography (gluteus medius) and knee kinematics (valgus angle). Therefore, the null hypothesis presented by the authors was that the dependent variables would present similar behavior throughout the three different levels, whereas the alternate hypothesis supported that at least one phase would present significant different dependent variables from the other phases.

Subjects were assessed three times along their menstrual cycle; however, data collection initiation was randomly allocated for each phase of the menstrual cycle for each subject. This procedure was executed to exclude the learning effect as a confounding factor. Pilot and experimental procedures initiated only after the signing of the written consent form that was approved by the university's ethics committee for human subject participation in research (protocol 124/2007).

### Sample Size Justification

Pilot study (n=8) findings demonstrated the variability expected for the variables of interest. To achieve 80% or above power with two degrees of freedom at a significant level of 0.05, we calculated a needed sample size of 20 subjects with a  $P$  of 15%,<sup>29</sup> in which  $P$  represented the significant percent increase of variability between each menstrual cycle phase for the data to be considered significantly different.

## Subjects

To participate in the study subjects should not be involved in any organized sport event, nor be considered recreational athletes. The investigation focused on a non-athletic sample, representing age level collegiate individuals (see Table 1) whose activity level should comprise an approximate 30-minute daily walking. Activity level intensity of lower extremity exercise was classified according to Wojtys et al<sup>41</sup> activity scale (ranging from 0 to 10, with 0 representing inactivity and sedentariness, and 10 representing competitive jumping, turning, twisting sports), and the scores obtained were no more than 2 (no jumping, turning, twisting sports with occasionally jog, swim, or bike).

Twenty three female collegiate subjects were assessed, and during the course of the study, eight subjects were lost to attrition. Two subjects were withdrawn due to hormonal profile irregularity (progesterone maintained unaltered throughout the cycle), one subject presented faulty kinematic data (in which the reflective marker of the medial epicondyle of the femur was not visible), and five subjects presented menstrual cycle irregularities in the month prior to testing. Subsequently, the remaining 15 subjects comprised the final sample utilized for statistical treatment, and their characteristics can be seen by means and standard deviations in Table 1.

TABLE 1  
Characteristics of the fifteen female subjects

	<b>Mean</b>	<b>SD</b>	<b>Range</b>
<b>Age (yr)</b>	22.8	2.6	19 – 27
<b>Height (cm)</b>	1.64	0.06	1.55 – 1.76
<b>Weight (kg)</b>	58.0	9.8	52.0 – 84.5
<b>BMI (%)</b>	21.6	2.5	18.9 – 27.3

The final sample presented no history of lower extremity injury or surgery (orthopedic assessment performed by a licensed physical therapist), along with no complaints of lower extremity joint pain during activities of daily living. All subjects were right-limb dominant and preferred to kick a soccer ball as far as possible with their right leg.<sup>23</sup> Thus, the variables of interest analyzed in this study were extracted from the right lower limb of each subject.

## Hormonal Assessment

Testing days were stipulated as follows: initial follicular phase (between days 1 and 3 of the menstrual cycle), late follicular phase (between days 11 and 13), and luteal phase (between days 21 and 24). Such days were considered according to Beynnon et al<sup>4</sup> and Dedrick et al<sup>13</sup> as they represent the most exacerbated fluctuations of the hormones estradiol and progesterone within the human menstrual cycle. Nonetheless, these mentioned days are based on a physiological 28-day cycle. Thus, cycle length correction was executed<sup>39</sup> to place the hormone oscillation observed for a specific phase similar for all subjects, once they presented different ranges of menstrual cycle length (minimum of 26 days, and maximum of 31 days).

Subjects were accompanied during one entire menstrual cycle, and the measurements of their daily sublingual morning temperature<sup>12</sup> were provided with a glass mercury thermometer. This was performed prior to data collection so the authors could confirm the subject's report (subjective data) of their menstrual cycle length with their true cycle length by utilizing their body temperature which indicates the ovulation period and the moment where luteal phase ceases.

On the specific date allocated for data collection for each subject, 3ml of blood sample were collect prior to data collection procedures by means of venopunction, and each test tube was identified with a bar code to stipulate the relation blood-subject-cycle phase and stored (at a temperature of -18°C) in case any future analyses were necessary. Immediately after blood sampling, 75µl of blood serum was utilized for the estradiol analysis, and 20µl for the progesterone analysis, performed with the kits E2 Bayer Healthcare<sup>®</sup> and PRGE Bayer Healthcare<sup>®</sup>, respectively, at the Laboratory Médico Dr. Maricondi - São Carlos. Such procedure was performed at the same time period of the day (between 11:00 and 13:00 hours) for all subjects.

## Experimental Task

Prior to testing (and after blood sample procedure), the subjects performed enough single leg drop landings to be familiarized with procedures and instrumentation. Subjects were asked to use, for each testing day, their own regular shoes that were habitually used during daily activities. After this acquaintance period, three successful single leg drop landings were recorded. Based on pilot data, 3 practice trials followed by 10–12 trials during

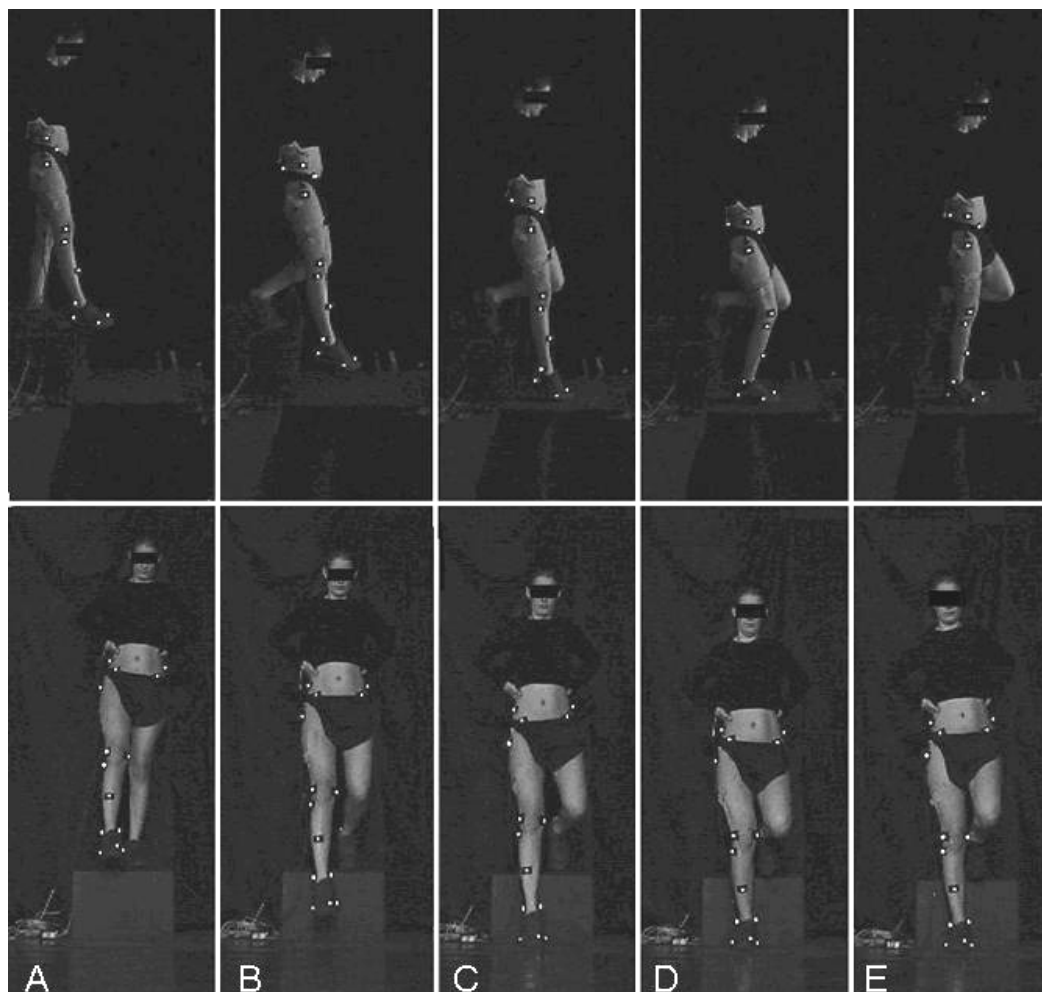
data collection were determined to adequately capture true landing performance without reaching fatigue or variability of systematic performance. The landing task consisted of stepping off a 31cm box onto a landing platform (Bertec force plate model 4060-08, Bertec Corp., Ohio, USA). The subjects were instructed to place and maintain their arms on their hips and step off the box, without jumping up, or stepping down. They should simply “roll off” the box and land as naturally as possible with their right feet on the landing platform. On landing, subjects were instructed to maintain balance for at least 2 seconds, and no verbal or visual clues were given on landing technique at any time.

The vertical ground reaction force (GRF) obtained from the force plate (Bertec force plate) was utilized to detect the specific time of foot initial contact (IC) with the ground. Moreover, vertical GRF was time synchronized with the EMG signal through the EMG data acquisition software. The maximum excursion in the coronal plane movement was utilized in this investigation due to its known influential contribution to ACL injury mechanisms; therefore, data will be presented regarding the instant of maximum excursion of knee valgus and correlation with gluteus medius onset will be provided.

### Kinematics

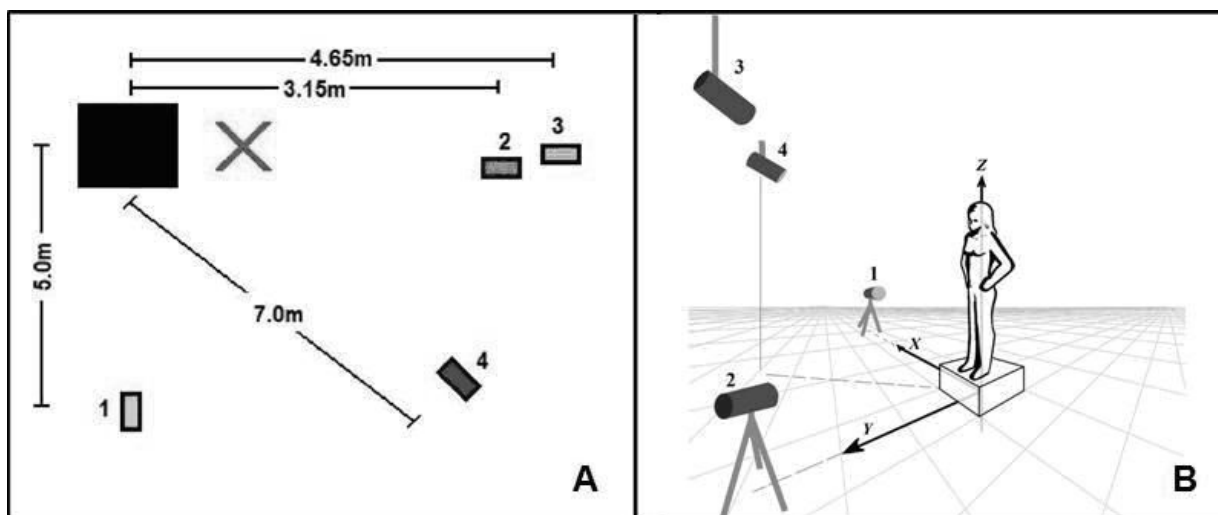
Sixteen passive reflective markers (10mm diameter) were attached to the following anatomical landmarks: both anterior superior iliac spines, apex of both iliac crests (aligned with the greater trochanter of the femur), first sacral vertebra, prominence of the greater trochanter, lateral and medial epicondyle of the femur, head of the fibula, anterior aspect of mid-shank, lateral and medial malleolus, lateral aspect of the calcaneal tuberosity, first and fifth metatarsal heads, and hallux (adapted from Ford et al<sup>19</sup>) (Figure 1). This marker distribution was necessary for the recording of the static standing position of the subject as the 3D anatomical position. The static trial was first collected in which the subject was instructed to stand still with arms across the chest to position the joint coordinates closest to the alignment of the laboratory coordinate system. This static measurement was utilized as each subject’s neutral alignment with subsequent measures referred to this position.





**Figure 1.** Image sequence of the single leg drop landing task along with reflective markers configuration. A, subject's starting position. B, drop off the 31cm-height box. C, initial contact (IC) with the ground. D, maximum valgus excursion. E, 2s after IC in which the subject were instructed to maintain balance.

The trials were recorded by four digital cameras (JVC GR-DVL9800u<sup>®</sup>) adjusted to the acquisition frequency of 120 Hz. They were positioned as so they could capture all the passive markers, and they were located laterally (camera 1), in front of (cameras 2 and 3), and diagonally (camera 4) to the subject (Figure 2). The frontal cameras presented a 70° angle between them, while camera 1 was perpendicular to the task and camera 4 was angled 40° to the task.



**Figure 2.** Top view (A) and diagonal view (B) of the position of the high speed video cameras in the laboratory. The black square in A represents the platform in which the subjects performed the single leg drop landing into the X mark (the X mark is only illustrative to indicate task direction).

For the calibration procedure an object with 1.80m x 0.80m x 1.00m dimension was filmed in the area where the subjects performed the drop landings. This object had 24 control points with known absolute positions in relation to the Cartesian coordinate system. The global reference system was then defined with this calibrated object, in which the  $z$  axis was defined in the vertical position oriented upwards, the  $y$  axis was oriented in the posterior-anterior direction of the subject, and the  $x$  axis was defined as the vector product of  $y$  and  $z$ . The axes of the global reference system were aligned with the human body axes.

Raw marker coordinates were recorded online by means of videogrammetry procedures and marker coordinates were tracked with the software Dvideow<sup>®</sup> (Digital Video for Biomechanics for Windows 32 bits)<sup>17</sup> which utilizes the direct linear transformation (DLT) method for 3D representation.<sup>1</sup> The  $x$ ,  $y$  and  $z$  coordinates of each marker relative to time ( $x_t$ ,  $y_t$  and  $z_t$ ) were smoothed by the function Loess<sup>11</sup> in which function parameters were stipulated based on residual, position, velocity and acceleration graphic analysis of the digitized 3D coordinate data. Data was then submitted to the software Matlab (Mathworks Inc., Natick, MA, USA) where algorithms were created to quantify knee joint coronal plane motion with the mathematical convention of Euler Angles.

Such angles were obtained by rotation matrices between the two local coordinates systems of interest (thigh and shank), in which were derived by the shank as the rotational segment occurring around the fixed segment thigh. Data convention was such that knee

adduction (valgus) was denoted as negative and abduction (varus) as positive. Experimental error was verified with a specific accuracy test,<sup>15</sup> which gave us the system accuracy of 2.1mm. Markers were positioned by the same researcher at each assessment day.

### Electromyography

Surface electromyography (EMG) of the middle portion of the gluteus medius muscle was recorded with bipolar, Ag/AgCl preamplified surface electrodes attached with disposable self-adhesive Miotec electrodes (Hal double-electrode, Miotec<sup>®</sup>, Porto Alegre, RS, Brazil; distance between electrodes of 20mm, gain of 20 times with overall gain of 2000). Electrodes were positioned over the muscle belly of gluteus medius after skin cleansing with gauze soaked in 70% alcohol, abrasion, and shaving. The reference electrode was placed over the right wrist. All electrodes positioning and related procedures were performed according to the SENIAM recommendations.<sup>22</sup> Electrodes were also secured with hypoallergenic adhesive tape to reduce movement artifact.

Electromyographic data were collected with an eight-channel signal conditioning module (EMG-800C, EMG System do Brasil<sup>®</sup>, São José dos Campos, SP, Brazil) with digital-analogue A/D converter with resolution of 12 bits, acquisition frequency of 1000 Hz per channel and the data acquisition software Dataq (EMG System do Brasil<sup>®</sup>). Each channel presented a gain of 100 times, with Butterworth filter at a bandwidth of 20 to 500 Hz and common-mode rejection of 100 dB.

The EMG data were time synchronized with a force plate (Bertec force plate) which indicated foot initial contact. EMG raw data were processed by creating a linear envelope using full-wave rectification and low-pass filtered at 50 Hz with a 2<sup>nd</sup> order Butterworth filter. A computer algorithm was created to identify the onset timing of gluteus medius EMG activity, in which it identified the point where EMG signal deviated by more than 2 standard deviations above the baseline level for at least 25ms. Baseline EMG activity was calculated in the 198ms window prior to foot initial contact. This starting time (198ms) was stipulated by estimating the time for each subject to contact the floor after the 31cm drop off, ensuring that onset threshold was referred to baseline means calculated exclusively during the airborne period. Such procedure (adapted from Dedrick et al<sup>13</sup>) was performed to avoid the incidence of mistakenly attaining onsets referred to gluteus medius muscle activation during the step-off phase of the single leg drop landing. Onset threshold search initiated 136ms prior to initial ground contact in 25ms windows (adapted from Dedrick et al<sup>13</sup>).

## Statistical Analyses

For each subject, all dependent kinematic and electromyographic variables represented the mean of equivalent three trials. Kinematic and EMG data were screened for normality and homoscedasticity assumptions using the Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively, and the data fail to achieve parametric conditions. To indicate differences among the menstrual phases, the nonparametric Friedman analysis of variance was applied separately for estradiol and progesterone, considering two factors: Subject (15 levels) and Treatment (3 levels).<sup>24</sup> The same test was conducted to indicate differences among each of the three different phases for the kinematic and EMG assessments, considering the same two factors mentioned above. Correlation between EMG onset and knee valgus excursion was verified with the Pearson correlation test. Type I error was controlled with the significance level set at 0.05, and all calculations were performed in the software Minitab 14.0 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

## RESULTS

### Hormonal Profile

Regarding the estradiol hormone, differences were observed between the phases initial follicular and late follicular ( $p < 0.01$ ), and between initial follicular and luteal phases ( $p < 0.01$ ), with the lowest concentration of this hormone observed during the initial follicular phase. Difference was not observed for this hormone between late follicular and luteal phases ( $p > 0.05$ ), as expected (Table 2).

A greater concentration of the progesterone hormone level was observed during the luteal phase, and differences were detected between the luteal phase and both initial and late follicular phases ( $p < 0.01$ ). Difference was not observed, as predicted, between the two follicular phases ( $p > 0.05$ ) (Table 2).

### Knee Joint Valgus

Significant differences were not observed between the follicular phases ( $p > 0.05$ ); however, the luteal phase presented significant different values from both initial and late

follicular phases ( $p < 0.005$ ).<sup>24</sup> The mean values observed for the follicular phases were greater than the mean values for the luteal phase, as seen in Table 2.

### Gluteus Medius Electromyography

Significant differences were not observed among the menstrual cycle phases ( $p > 0.05$ ) for gluteus medius onset timing. Descriptive analysis display a tendency towards a later onset timing (onset initiated closer to foot initial contact) during the late follicular phase when compared to the initial follicular and the luteal phases (Table 2).

### Correlation between EMG Onset and Knee Valgus

Linear correlation was not observed between knee valgus amplitude and onset timing of gluteus medius EMG activity for the initial follicular phase ( $p = 0.092$ ,  $r = -0.266$ ), late follicular phase ( $p = 0.107$ ,  $r = +0.259$ ), and luteal phase ( $p = 0.553$ ,  $r = -0.097$ ).

TABLE 2

Sex hormones, knee valgus and gluteus medius EMG onset timing throughout the different phases of the menstrual cycle. Values are presented as mean  $\pm$  standard deviation.

	<b>Initial Follicular</b>	<b>Late Follicular</b>	<b>Luteal</b>
<b>Estradiol</b> (pg/ml)	28.07 $\pm$ 19.40 <sup>‡</sup>	178.70 $\pm$ 164.70	136.10 $\pm$ 70.60
<b>Progesterone</b> (ng/ml)	0.98 $\pm$ 0.46	0.95 $\pm$ 0.50	7.78 $\pm$ 4.79 <sup>*</sup>
<b>Knee valgus</b> (degrees)	-8.1° $\pm$ 2.9°	-8.2° $\pm$ 2.7°	-6.7° $\pm$ 2.3° <sup>*</sup>
<b>EMG onset timing</b> (ms)	-24.4 $\pm$ 63.9	-12.8 $\pm$ 48.5	-28.7 $\pm$ 40.3

The negative sign (-) represents valgus and EMG onset timing prior to initial contact.

<sup>‡</sup> Significant difference was detected between the initial follicular phase and the other two phases of the menstrual cycle according to the non-parametric Friedman test.

<sup>\*</sup> Significant difference was detected between the luteal phase and the follicular phases of the menstrual cycle according to the non-parametric Friedman test.

## DISCUSSION

The main purpose of this investigation was to assess kinematic and electromyographic data of a non-athletic female sample during the three distinct phases of the menstrual cycle in order to assess the influence of sex hormones oscillation in the knee joint coronal excursion and neuromuscular control during a customary demanding task. As regards to the kinematic assessment, the results obtained supported the alternate hypothesis by presenting greater excursion values of knee valgus during the follicular phases compared to the luteal phase. Though the mean values of the EMG data demonstrated different patterns of onset timing, the EMG data collected supported only the null hypothesis.

### Kinematics

In the study conducted by Pollard et al,<sup>32</sup> the task analyzed consisted of the double limb drop landing, in which the authors postulated that such task was not challenging enough to present apparent changes in knee kinematics of 26 female soccer players between the ages of 14 and 17 years. Based on this information the authors of the current study decided to utilize the single leg drop landing to better investigate the knee kinematic behavior of female subjects under physiological conditions of hormone-influenced tissue alterations.

Once literature does not present variables similar to those studied in the present investigation, data will be compared to values of a somewhat different sample. Dedrick et al<sup>13</sup> assessed 26 active female subjects with age level and height similar to the subjects utilized in this research. Also, the task performed was identical and the results presented a certain disparity. Though the valgus value observed for the late follicular phase ( $9.2^{\circ}$ ) comprehended the greater angular excursion, the early follicular phase presented the smaller excursion angle of all phases ( $6.8^{\circ}$ ). The authors did not discuss such findings due to the non-statistical difference achieved and low effect size; however, it should be mentioned that with increasing estradiol concentration, the valgus recorded increased (similar to the descriptive statistical analysis of our study), indicating an influence of this estrogenic hormone on tissue laxity. Nonetheless, the smaller valgus angle was observed during basal concentration of both sex hormones studied, which contradicts the interpretation of our findings ( $6.7^{\circ}$  during peak progesterone against  $8.1^{\circ}$  and  $8.2^{\circ}$  for the initial and late follicular phases respectively), as mentioned below.

Our investigation presented the smaller valgus excursion with the increased amount of circulating progesterone hormone in the blood. Such finding can be supported by the known role of this hormone as tissue strengthening due to the stimulation of procollagen cell synthesis. According to Yu et al,<sup>42</sup> a decreased fibroblast proliferation and type I procollagen synthesis on the human ACL tissue occurred with increasing estrogen concentration while progesterone remained controlled. On the other hand, fibroblast proliferation increased along with type I procollagen synthesis with increasing progesterone concentration. Therefore, the smaller valgus excursion presented by the non-athletic sample of our study may be attributed to the tissue-protective role of the progesterone hormone, which was observed in greater concentration during the luteal phase. This progesterone peak may have consequently reduced ACL and surround tissue laxity.

ACL injury incidence has been reported to be higher during initial follicular<sup>3,30,38</sup> and late follicular<sup>40</sup> phases in female athletes. Such investigations support the role of the progesterone hormone as an ACL tissue protector during demanding activities. Moreover, these reports confirm the importance of assessing knee joint behavior during dynamic tasks rather than statically. Static assessments are unclear once it is reported that knee laxity increases during late follicular<sup>14,29</sup> and luteal<sup>14,30</sup> phases of the cycle. The phases of the menstrual cycle with reported increased laxity contradict the athletic injury scenario as regards to the luteal phase. It also contradicts the data observed in this present investigation for a non-athletic sample, once lesser knee valgus excursion was observed during the luteal phase when compared to both follicular phases.

### Electromyography

Studies have indicated different patterns of electromyographic activity of hip and lower extremity muscles of female subjects compared to their male counterpart when performing demanding tasks such as cutting and changing directions,<sup>37</sup> vertical stop-jump task,<sup>8</sup> and landing from a jump.<sup>21,33,44</sup>

Moreover, investigation regarding the distinctive patterns of electromyographic activation of such musculature of female subjects under different hormonal conditions was solely conducted by Dedrick et al<sup>13</sup>. However, the authors did not include one of the major muscles responsible for thigh abduction, which represents an essential role in controlling dynamic knee valgus.<sup>10</sup> Once valgus loading represents an ACL injury mechanism,<sup>23</sup> investigating the activation of the gluteus medius under fluctuations of sex hormones creates

an ampler scope to understand the neuromuscular behavior of lower extremity mechanics during tasks that emulate female ACL injury mechanism. If a later activation of the thigh abductor occurs (e.g. closer to or after ground initial contact), a greater possibility of thigh adduction and medial rotation may result during knee loading tasks.

In the between gender analysis of different variables but similar task performed in the present investigation, Zazulak et al<sup>44</sup> assessed the gluteus medius muscle of thirteen female collegiate athletes during the 200 milliseconds window prior to initial contact. Results demonstrated a peak EMG of  $39.6 \pm 16.5$  (%MVIC) and a mean EMG of  $20.8 \pm 10.4$  (%MVIC). Both values were smaller than the results displayed by the male athletes of the study ( $48.4 \pm 27.0$ ,  $26.0 \pm 17.8$ , respectively). Though our investigation did not present a significant difference among the phases, later gluteus medius onset timing was observed in the descriptive analysis of the results when the hormone estradiol was on its peak and progesterone remained in its base level. So, could the gender difference attained by Zazulak et al<sup>44</sup> be altered if the assessment was performed in a different phase of the female subject's menstrual cycle? The data observed in our study suggest a change in neuromuscular control pattern represented by the muscle onset timing of the sample investigated. Therefore, it should be stressed the phase in which the female subject is being assessed, once the descriptive statistical analysis indicated EMG onset timing variations during the menstrual cycle phases.

On the other hand, the difference observed was not statistically significant. We should then consider that the gluteus medius muscle may not affect the knee valgus during dynamic loads of non-athletes as primarily hypothesized by the authors. Further studies should focus on the activation pattern of all different fibers of the gluteus medius muscle, along with other hip muscles that control knee loading during dynamic tasks.

#### GM Onset versus Knee Valgus

The authors of this present investigation hypothesized that gluteus medius onset timing would influence the amount of valgus excursion presented by the knee joint during the single leg drop landing. The pattern observed through descriptive analysis suggested that a latter activation of the gluteus medius allowed an increased valgus excursion (late follicular phase), which occurred with the peak of the hormone that promotes ligament laxity, estradiol. Now, when the tissue protector hormone progesterone reached its peak, the subjects presented a decreased valgus excursion with a much premature activation of the gluteus medius (luteal phase).



This hypothesis was based upon the proprioceptive role of ACL fibers during the stretching of its mechanoreceptor cells. With an increased laxity of the ACL fibers, an altered joint kinesthesia is observed which modifies the neuromuscular control of lower extremity during dynamic situations.<sup>16</sup> Therefore, it is expected that during the luteal phase the confirmed increased synthesis of type I procollagen, which promotes a decreased tissue laxity, may provide a more premature onset timing of the muscle activation. The explanation of this behavior, nonetheless, is still a suggestion due to the fact that such correlation was not significant. Thus, the onset timing alone of the middle fibers of gluteus medius may not be sufficient to control the loading of knee dynamic valgus for the non-athletic sample investigated.

#### Limitations of the Study

According to the sample size calculation performed during the primary stages of the project and before data collection, the sample needed to obtain reasonable power was 20. Due to certain unmanageable events the final sample comprised of 15 subjects that may have furnished the non-significant results obtained. Moreover, although estrogenic hormones and progesterone are the main target of researches including ligament properties and ACL injury risk, the fluctuation of other hormones, such as relaxin and testosterone, may also influence tissue properties.<sup>43</sup> The lack of assessment of such hormones was a limitation of this present investigation.

#### CONCLUSION

The results of this study demonstrated a decreased knee joint valgus excursion during the luteal phase of the menstrual cycle suggesting an influence of the sex hormone progesterone on knee kinematics during a dynamic task. However, such influence was not observed as regards to the EMG onset timing of the middle fibers of the gluteus medius muscle once differences were not observed throughout the different phases studied. Moreover, a correlation between gluteus medius onset timing and knee valgus excursion could not be determine for the non-athletic sample utilized in this investigation.

## ACKNOWLEDGMENT

The authors would like to acknowledge the funding support from *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo* FAPESP Grant 2007/02272-7, and the Laboratory Médico Dr. Maricondi - São Carlos for conducting all blood analyses and providing the hormonal profiles. We would also like to thank Lígia Yumi Mochida, MS, PT, for her pivotal assistance with the creation of the algorithms for data analysis; and Sérgio Augusto Cunha, PhD, for providing the high speed video cameras from State University of São Paulo UNESP, Rio Claro.

## REFERENCES

1. Abdel-Aziz YI, Karara HM. Direct linear transformation from comparator coordinates into object space coordinates in close-range photogrammetry. In: *Symposium on Close-Range Photogrammetry*. Falls Church, Va: American Society of Photogrammetry; 1971:1-18.
2. Abt JP, Sell TC, Laudner KG, McCrory JL, Loucks TL, Berga SL, Lephart SM. Neuromuscular and biomechanical characteristics do not vary across the menstrual cycle. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2007, 15:901-907.
3. Arendt EA, Bershadsky B, Agel J. Periodicity of noncontact anterior cruciate ligament injuries during the menstrual cycle. *J Gend Specif Med*. 2002;5(2):19-26.
4. Beynnon BD, Bernstein IM, Belisle A, Brattbakk B, Devanny P, Risinger R, Durant D. The Effect of Estradiol and Progesterone on Knee and Ankle Joint Laxity. *Am J Sports Med*. 2005;33(9):1298-1304.
5. Beynnon BD, Johnson RJ, Braun S, Sargent M, Bernstein IM, Skelly JM, Vacek PM. The relationship between menstrual cycle phase and anterior cruciate ligament injury: a case-control study of recreational alpine skiers. *Am J Sports Med*. 2006;34(5):757-64.
6. Boden BP, Dean GS, Feagin JA, Garret WE. Mechanisms of Anterior Cruciate Ligament Injury. *Orthopedics*. 2000;23(6):573-578.
7. Casteleyn PP, Handelberg F. Non-operative management of anterior cruciate ligament injuries in the general population. *J Bone Joint Surg [Br]*. 1996;78-B:446-451.

8. Chappell JD, Creighton RA, Giuliani C, Yu B, Garrett W. Kinematics and electromyography of landing preparation in vertical stop-jump. *Am J Sports Med.* 2007;35(2):235-241.
9. Childs SG. Pathogenesis of anterior cruciate ligament injury. *Orthop Nurs.* 2002;21(4):35-40.
10. Claiborne TL, Armstrong CW, Gandhi V, Pincivero DM. Relationship between hip and knee strength and knee valgus during a single leg squat. *J Appl Biomech.* 2006;22(1):41-50.
11. Cunha SA, Lima Filho EC. Metodologia para suavização de dados biomecânicos por função não paramétrica ponderada local robusta. *Rev Bras Biomec.* 2003; 1(6):23-28.
12. De Jonge XAKJ, Boot CRL, Thom JM, Ruell PA, Thompson MW. The influence of menstrual cycle phase on skeletal muscle contractile characteristics in humans. *J Physiol.* 2001;530(1):161-166.
13. Dedrick GS, Sizer PS, Merkle JN, Hounshell TR, Robert-McComb JJ, Sawyer SF, Brismée JM, James CR. Effect of sex hormones on neuromuscular control patterns during landing. *J Electromyogr Kinesiol.* 2008;18(1):68-78.
14. Deie M, Sakamaki Y, Sumen Y, Urabe Y, Ikuta Y. Anterior knee laxity in young women varies with their menstrual cycle. *Int Orthop.* 2002;26(3):154-156.
15. Ehara Y, Fujimoto H, Miyazaki S, Mochimaru M, Tanaka S, Yamamoto S. Comparison of the performance of 3D camera systems II. *Gait Posture.* 1997;5(3):251-255.
16. Eiling E, Bryant AL, Petersen W, Murphy A, Hohmann E. Effects of menstrual cycle hormone fluctuations on musculotendinous stiffness and knee joint laxity. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2007;15(2):126-132.
17. Figueroa PJ, Leite NJ, Barros RM. A flexible software for tracking of markers used in human motion analysis. *Comput Methods Programs Biomed.* 2003;72(2):155-165.
18. Ford KR, Myer GD, Hewett TE. Valgus knee motion during landing in high school female and male basketball players. *Med Sci Sports Exerc.* 2003, 35(10):1745-1750.
19. Ford KR, Myer GD, Smith RL, Vianello RM, Seiwert SL, Hewett TE. A comparison of dynamic coronal plane excursion between matched male and female athletes when performing single leg landings. *Clin Biomech.* 2006;21:33-40.
20. Ford KR, Myer GD, Toms HE, Hewett TE. Gender differences in the kinematics of unanticipated cutting in young athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2005, 37(1):124-129.

21. Hart JM, Garrison JC, Kerrigan DC, Palmieri-Smith R, Ingersoll CD. Gender differences in gluteus medius muscle activity exists in soccer players performing a forward jump. *Res Sports Med.* 2007;15:147-155.
22. Hermens HJ, Freriks B, Merletti R, Stegeman D, Blok J, Rau G, Disselhorst-Klug C, Hagg G. *SENIAM 8: European Recommendations for Surface Electromyography. Results of the SENIAM Project.* Biomedical and Health Research Program. Roessingh Research and Development. 1999.
23. Hewett TE, Myer GD, Ford KR, Heidt RS, Colosimo AJ, McLean SG, Van den Bogert AJ, Paterno MV, Succop P. Biomechanical measures of neuromuscular control and valgus loading of the knee predict anterior cruciate ligament injury risk in female athletes - A prospective Study. *Am J Sports Med.* 2005;33(4):492-501.
24. Hollander M, Wolfe DA. *Nonparametric Statistical Methods.* 2<sup>nd</sup> ed. Wiley-Interscience, 1999, 787p.
25. Kernozek TW, Torry MR, Van Hoof H, Cowley H, Tanner S. Gender differences in frontal and sagittal plane biomechanics during drop landings. *Med Sci Sports Exerc.* 2005, 37(6):1003-1012.
26. Lephart SM, Ferris CM, Riemann BL, Myers JB, Fu FH. Gender differences in strength and lower extremity kinematics during landing. *Clin Orthop Relat Res.* 2002, 401:162-169.
27. McLean SG, Lipfert SW, van den Bogert AJ. Effect of gender and defensive opponent on the biomechanics of sidestep cutting. *Med Sci Sports Exerc.* 2004, 36(6):1008-1016.
28. McLean SG, Walker KB, van den Bogert AJ. Effect of gender on lower extremity kinematics during rapid direction changes: an integrated analysis of three sports movements. *J Sci Med Sport.* 2005, 8(4):411-422.
29. Montgomery DC. *Design and Analysis of Experiments.* 2<sup>nd</sup> ed. John Wiley & Sons, 1984, 660p.
30. Myklebust G, Engebretsen L, Braekken IH, Skjølberg A, Olsen OE, Bahr R. Prevention of anterior cruciate ligament injuries in female team handball players: a prospective intervention study over three seasons. *Clin J Sport Med.* 2003;13(2):71-78.
31. Ortiz A, Olson S, Libby CL, Trudelle-Jackson E, Kwon YH, Etnyre B, Bartlett W. Landing mechanics between noninjured women and women with anterior cruciate ligament reconstruction during 2 jump tasks. *Am J Sports Med.* 2008;36(1):149-157.

32. Pollard CD, Sigward S, Ota S, Langford K, Powers CM. The Influence of In-Season Injury Prevention Training on Lower-Extremity Kinematics during Landing in Female Soccer Players. *Clin J Sport Med*. 2006;16(3):223-227.
33. Rozzi SL, Lephart SM, Gear WS, Fu FH. Knee joint laxity and neuromuscular characteristics of male and female soccer and basketball players. *Am J Sports Med*. 1999;27(3):312-319.
34. Russell KA, Palmieri RM, Zinder SM, Ingersoll CD. Sex Differences in Valgus Knee Angle During a Single-Leg Drop Jump. *J Athl Train*. 2006;41(2):166–171.
35. Shultz SJ, Kirk SE, Johnson ML, Sander TC, Perrin DH. Relationship between sex hormones and anterior knee laxity across the menstrual cycle. *Med Sci Sports Exerc*. 2004;36(7):1165-1174.
36. Shultz SJ, Sander TC, Kirk SE, Perrin DH. Sex differences in knee joint laxity change across the female menstrual cycle. *J Sports Med Phys Fitness*. 2005;45(4):594-603.
37. Sigward SM, Powers CM. The influence of gender on knee kinematics, kinetics and muscle activation patterns during side-step cutting. *Clin Biomech*. 2006;21:41-48.
38. Slauterbeck JR, Fuzie SF, Smith MP, Clark RJ, Xu K, Starch, DW, Hardy DM. The menstrual cycle, sex hormones, and anterior cruciate ligament injury. *J Athl Train*. 2002;37(3):275-278.
39. Speroff L, Fritz MA. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2005, 1334p.
40. Wojtys EM, Ashton-Miller JA, Huston LJ. A gender-related difference in the contribution of the knee musculature to sagittal-plane shear stiffness in subjects with similar knee laxity. *J Bone Joint Surg Am*. 2002;84(1):10-16.
41. Wojtys EM, Bradford WB, Huston LJ. The effects of muscle fatigue on neuromuscular function and anterior tibial translation in healthy knees. *Am J Sports Med*. 1996;24(5):615-621.
42. Yu WD, Panossian V, Hatch JD, Liu SH, Finerman GAM. Combined effects of estrogen and progesterone on the anterior Cruciate ligament. *Clin Orthop Relat Res*. 2001;383:268-281.
43. Zazulak BT, Paterno M, Myer GD, Romani WA, Hewett TE. The effects of the menstrual cycle on anterior knee laxity. A systematic review. *Sports Med*. 2006;36(10):847-862.

44. Zazulak BT, Ponce PL, Straub SJ, Medvecky MJ, Avedisian L, Hewett TE. Gender comparison of hip muscle activity during single-leg landing. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2005, 35(5):292-299.

**Anexo II**  
**Menstrual Cycle Hormone Fluctuations on Knee Flexion Angle**  
**and Neuromuscular Behavior**

## **Menstrual cycle hormone fluctuations on knee flexion angle and neuromuscular behavior**

### **Authors**

Guilherme Manna Cesar, PT; Department of Physical Therapy, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil.

Vanessa Santos Pereira, PT; Department of Physical Therapy, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil.

Paulo Roberto Pereira Santiago, PE, PhD; Department of Physical Education, State University of São Paulo UNESP, Rio Claro SP, Brazil.

Lígia Yumi Mochida, PT, MSc; Department of Physical Education and Human Motricity, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil.

Paula Hentschel Lobo da Costa, PE, PhD; Department of Physical Education and Human Motricity, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil.

Benedito Galvão Benze, PhD; Department of Statistics, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil.

Fábio Viadanna Serrão, PT, PhD; Department of Physical Therapy, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil.

### **Abstract**

The purpose of this study was to assess knee flexion angle and neuromuscular behavior during three different phases of the menstrual cycle of non-athletic women. Fifteen subjects (age  $22.8 \pm 2.6$  years, height  $1.64 \pm 0.06$ cm, weight  $58.0 \pm 9.8$ kg, body mass index  $21.6 \pm 2.5\%$ ) were assessed during the initial follicular (days 1-3 of menstrual cycle), late follicular (11-13) and luteal (21-24) phases. During the single leg drop landing 3D kinematic was obtained from the subject's lower extremity along with co-contraction ratio between the muscles rectus femoris and biceps femoris in the window from initial contact to peak vertical ground reaction



force. Significant differences were not observed for the knee flexion angles and for the co-contraction ratios. The oscillation of the sex hormones estradiol and progesterone did not influence the knee flexion angle and knee joint neuromuscular behavior of the healthy female non-athletic sample during the three different phases of the menstrual cycle.

**Keywords** Knee • Kinematics • Electromyography • Menstrual cycle • Neuromuscular control • Landing

## Introduction

Several studies have demonstrated the discrepancy between male and female knee joint behavior during different tasks [16, 18, 46, 60], while others have demonstrated the effects of female sex hormones on anterior cruciate ligament (ACL) tissue, leading to an increased laxity and consequent increased risk of injury [4, 49, 55]. Nonetheless, few studies [2, 13] assessed the female knee joint behavior during a dynamic task throughout different aspects of hormonal milieu. It should be stressed that injury mechanism occurs during dynamic tasks, confirming the importance of assessing dynamically joint excursions during the different phases of the menstrual cycle.

During landings and cutting maneuvers women display lesser knee joint angles when compared to men [30, 37, 47], and according to Tagawa et al. [52] higher angles attained in the sagittal plane by the knee joint during landing tasks direct better dissipation of the ground reaction forces. Also, less knee flexion increases knee joint excursion to different directions, increasing knee motion in the frontal plane (valgus excursion) [44].

In approximately 80% of the cases, ACL injury mechanism is comprised of a non-contact situation with a predetermined motion sequence including abrupt deceleration or cutting maneuver on a planted foot with knee flexion between  $\sim 20^\circ$  to full extension [6, 38]. Hence, knee movement pattern in the sagittal plane during dynamic tasks is essential in order to avoid joint angles that may lead to ligament injuries. Moreover, the coordination between the anterior and posterior thigh muscles influence knee joint excursion and anterior tibial translation in relation to the femur during weight-bearing situations. Studies demonstrated anterior thigh muscle dominance in women during tasks such as single-legged squat [61], cutting maneuvers [9], and landing preparation of a stop-jump task [8] compared to their male counterpart, who present a posterior thigh dominance that acts as a synergist of the ACL.

Along with the passive restraints and joint anatomical geometry, the satisfactory knee joint stability is reached during dynamic tasks by the support provided by the contractile tissue. The amount of activation and synchrony between posterior and anterior thigh muscles provide knee joint stability [28], protecting the joint from soft tissue injuries and preventing the anterior tibial translation. According to Granata et al. [20] a reduced co-contraction between the hamstrings and quadriceps may contribute to the gender bias in risk of musculoskeletal instability and injury. Therefore, the higher co-contraction ratio, determined to define the relative activation of the flexor and extensor muscles crossing the knee, which renders a value less than or to 1, or a greater co-contraction index (calculated as the product of the average activation of all muscles and the co-contraction ratio) [5], the greater dynamic stabilization will be provided to the weight-bearing joint.

It is known that most cases of ACL injuries occur in athletic environments; however, injuries from a non-athletic population may occur during daily living activities (28.1%) and recreational activities (60.1%) [7], contributing to the financial burden placed on health system by surgical interventions and rehabilitation costs of ACL injuries. No studies to date have focused on the lower extremity behavior of a non-athletic sample to either compare it to the behavior observed in athletic individuals or simply understand the lower extremity adeptness towards certain daily movements that mimics athletic tasks, such as changing directions, decelerating abruptly, and stepping off a high step (i.e. bus step) with a single-legged land. The purpose of this study was to assess knee flexion angle during the three different phases of the menstrual cycle of a non-athletic female sample performing a dynamic task, along with investigating whether the co-contraction across the knee joint was altered due to the different hormonal milieu.

## **Materials and Methods**

### **Design of the Study**

A longitudinal complete block design study with random subject allocation was designed to investigate whether the oscillation of two female sex hormones (estradiol and progesterone) alters knee joint behavior of a female non-athletic sample. The factor hormonal dosage (independent variable), which presents three levels (initial follicular phase, late follicular phase, and luteal phase) was treated with two dependent variables: electromyography (co-contraction of the muscles rectus femoris and biceps femoris) and knee

kinematics (flexion angle). Therefore, the null hypothesis was that the dependent variables would present similar behavior throughout the three different levels, whereas the alternate hypothesis supported that at least one phase of the menstrual cycle would present a significant different dependent variable from the other phases.

Subjects were assessed three times along their menstrual cycle; however, data collection initiation was randomly allocated for each phase of the menstrual cycle for each subject. This procedure was executed to exclude the learning effect as a confounding factor. All pilot and experimental procedures initiated only after the signing of the written consent form that was approved by the university's ethics committee for human subject participation in research (protocol 124/2007).

## Subjects

Pilot data ( $n=8$ ) demonstrated the variability expected for the variables of interest. To achieve 80% or above power with two degrees of freedom ( $\alpha=0.05$ ), we calculated a needed sample size of 20 subjects with a  $P$  of 15% [39], in which  $P$  represented the significant percent increase of variability between each menstrual cycle phase for the data to be considered significantly different.

To participate in the study subjects should not be involved in any organized sport event, nor be considered recreational athletes. The investigation focused on a non-athletic sample, representing age level collegiate individuals. Activity level intensity of lower extremity exercise was classified according to the activity scale presented by Wojtys et al. [56], which ranges from 0 to 10, with 0 representing inactivity and sedentariness, and 10 representing competitive jumping, turning, twisting sports. The scores obtained for our sample were no more than 2 (no jumping, turning, twisting sports with occasionally jog, swim, or bike).

Twenty three female collegiate subjects were evaluated and during the experimental procedures eight subjects were excluded. Two subjects were withdrawn due to hormonal profile irregularity (progesterone maintained unaltered throughout the cycle), one subject presented faulty kinematic data (reflective marker of the medial epicondyle of the femur was not visible during the task), and five subjects presented menstrual cycle irregularities in the month prior to testing.

Subsequently, the remaining 15 subjects comprised the final sample utilized for statistical treatment. Their average age, height, weight, and body mass index was  $22.8 \pm 2.6$

years,  $1.64 \pm 0.06$  cm,  $58.0 \pm 9.8$  kg, and  $21.6 \pm 2.5$  %, respectively. They presented no history of lower extremity injury or surgery (orthopedic assessment performed by a licensed physical therapist), along with no complaints of lower extremity joint pain during activities of daily living. All subjects were right-limb dominant and preferred to kick a soccer ball as far as possible with their right leg [23]. Thus, the variables of interest analyzed were extracted from each subject's right lower extremity.

## **Experimental Protocol**

### Hormonal Assays

Testing days were stipulated considering the most exacerbated fluctuations of the hormones estradiol and progesterone within the female menstrual cycle [3, 13], and were as follows: initial follicular phase (between days 1 and 3 of the menstrual cycle), late follicular phase (between days 11 and 13), and luteal phase (between days 21 and 24). Due to the fact that these mentioned days are based on a physiological 28-day cycle, a cycle length correction was executed according to Speroff and Fritz [50] to place the hormone oscillation observed for a specific phase similar to all subjects. Menstrual cycle length observed ranged from the minimum of 26 days to the maximum of 31 days.

Subjects were accompanied during one entire menstrual cycle, and the measurements of their daily sublingual morning temperature [12] were provided with a glass mercury thermometer. This was performed prior to data collection so the authors could confirm the subject's report (subjective data) of their menstrual cycle length with their true cycle length by utilizing their body temperature which indicates the ovulation period and the moment where luteal phase ceases.

On the specific date allocated for data collection for each subject, 3ml of blood sample were collected prior to data collection procedures by means of venopuncture, and each test tube was identified with a bar code to stipulate the relation blood-subject-cycle phase and stored (at a temperature of  $-18^{\circ}\text{C}$ ) in case any future analysis was necessary. Immediately after blood sampling,  $75\mu\text{l}$  of blood serum was utilized for the estradiol analysis, and  $20\mu\text{l}$  for the progesterone analysis, performed with the kits E2 Bayer Healthcare<sup>®</sup> and PRGE Bayer Healthcare<sup>®</sup>, respectively, at the Laboratory Médico Dr. Maricondi - São Carlos. Such procedure was performed at the same time period of the day (between 11:00 and 13:00 hours) for all subjects.

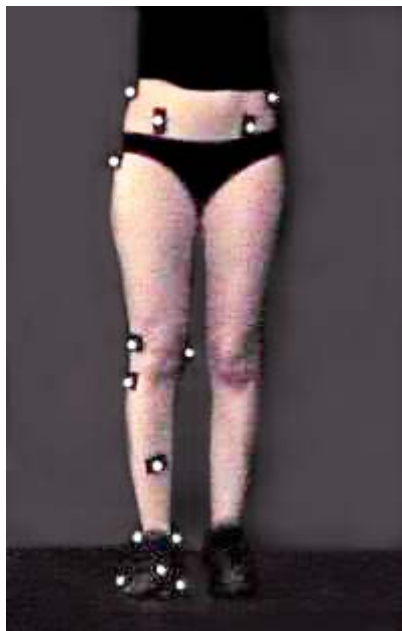
## Single Leg Drop Landing

Pollard et al. [43] investigated the double limb drop landing in 26 female soccer players of ages 14 to 17 years old. The authors stated that such task was not challenging enough to present apparent changes in knee kinematics; thus, based on this information we decided to investigate the single leg drop landing to better analyze the knee kinematic behavior of female subjects under physiological conditions of hormone-influenced tissue alterations. Prior to testing, the subjects performed enough single leg drop landings to be familiarized with the procedures and instrumentation. Subjects were asked to use, for each testing day, their own regular shoes that were habitually used during daily activities. After this acquaintance period, three successful single leg drop landings were recorded. Based on pilot study data the authors observed that 3 practice trials followed by 10–12 trials for data collection were sufficient to adequately capture true landing performance without reaching fatigue or variability of systematic performance. The landing task consisted of stepping off a 31cm box [23] onto a landing platform (Bertec force plate model 4060-08, Bertec Corp., Ohio, USA). The subjects were instructed to place and maintain their arms on their hips and step off the box, without jumping up, or stepping down. They should simply “roll off” the box and land as naturally as possible with their right feet on the landing platform. On landing, subjects were instructed to maintain balance for at least 2 seconds before placing their contralateral foot down, and no verbal or visual clues were given on landing technique at any time.

## Kinematics

Sixteen passive reflective markers (10mm diameter) were attached to the following anatomical landmarks: both anterior superior iliac spines, apex of both iliac crests (aligned with the greater trochanter of the femur), first sacral vertebra, prominence of the greater trochanter, lateral and medial epicondyle of the femur, head of the fibula, anterior aspect of mid-shank, lateral and medial malleolus, lateral aspect of the calcaneal tuberosity, first and fifth metatarsal heads, and hallux (Fig. 1). This marker distribution was necessary for the recording of the static standing position of the subject as the 3D anatomical position. The static trial was first collected in which the subject was instructed to stand still with arms across the chest to position the joint coordinates closest to the alignment of the laboratory

coordinate system. This static measurement was utilized as each subject's neutral alignment with subsequent measures referred to this position.



**Fig. 1** Anatomical distribution of fourteen of the sixteen passive reflective markers (the markers from first sacral vertebra and calcaneal tuberosity are not visible in this view).

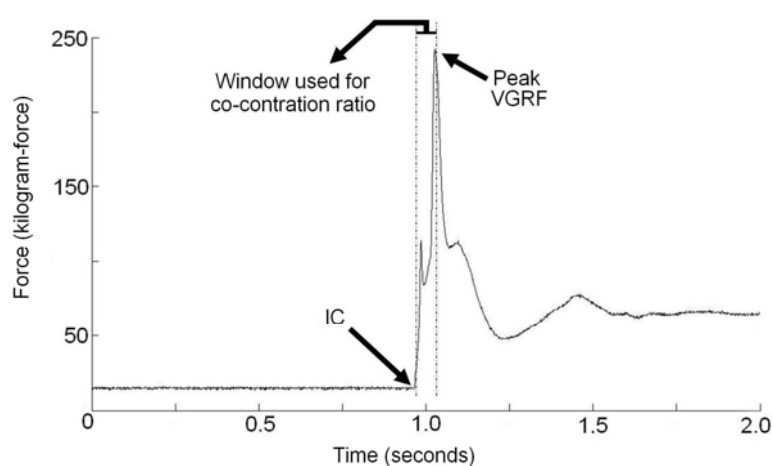
The trials were recorded by four digital cameras (JVC GR-DVL9800u<sup>®</sup>) adjusted to the acquisition frequency of 120 Hz. They were positioned as so they could capture all passive markers throughout the task, and they were located laterally, in front of (2 cameras with a 70° angle between them), and diagonally (angled 40° to the task) to the subject. For the calibration procedure an object with 1.80m x 0.80m x 1.00m dimension was filmed in the area where the subjects performed the drop landings. This object had 24 control points with known absolute positions in relation to the Cartesian coordinate system. The global reference system was then defined with this calibrated object, in which the  $z$  axis was defined in the vertical position oriented upwards, the  $y$  axis was oriented in the posterior-anterior direction of the subject, and the  $x$  axis was defined as the vector product of  $y$  and  $z$ . The axes of the global reference system were aligned with the human body axes.

Raw marker coordinates were recorded online by means of videogrammetry procedures and marker coordinates were tracked with the software Dvideow<sup>®</sup> (Digital Video for Biomechanics for Windows 32 bits) [17] which utilizes the direct linear transformation (DLT) method for 3D representation [1]. The  $x$ ,  $y$  and  $z$  coordinates of each marker relative to time ( $x_t$ ,  $y_t$  and  $z_t$ ) were smoothed by the function Loess [11] in which function parameters

were stipulated based on residual, position, velocity and acceleration graphic analysis of the digitized 3D coordinate data. Data was then submitted to the software Matlab (Mathworks Inc., Natick, MA, USA) where algorithms were created to quantify knee joint coronal plane motion with the mathematical convention of Euler Angles. Such angles were obtained by rotation matrices between the two local coordinates systems of interest (thigh and shank), in which were derived by the shank as the rotational segment occurring around the fixed segment thigh. Experimental error was verified with a specific accuracy test [14], which gave us the system accuracy of 2.1mm. Markers were positioned by the same researcher at each assessment day.

### Ground Reaction Force

For the purposes of this study, only the initial deceleration phase of the single leg drop landing was considered once the deceleration or energy absorption phase has been suggested as the period in which both knee joint and ACL undergo the greatest forces during landing [6]. The vertical ground reaction force (VGRF) obtained from the force plate was used to detect the specific time of foot initial contact (IC) with the ground. IC was detected as the exact instant where VGRF line exceeded the baseline and initiated its rising. Peak VGRF was obtained by means of the maximum value indicated in the VGRF line after IC. The window of interest analyzed was then defined as the interval between IC and peak VGRF (Fig. 2). The force plate window of interest was only used to obtain the time frame (from IC to peak VGRF) where the calculations for EMG co-contraction were performed. An algorithm was created to obtain such parameters, and all calculations were performed in the software Matlab (Mathworks Inc., Natick, MA, USA). Moreover, VGRF data was time synchronized with the EMG signal through the EMG data acquisition software.



**Fig. 2** Period from ground initial contact (IC) to peak vertical ground reaction force (VGRF), in which co-contraction ratio of the muscles rectus femoris and biceps femoris was calculated during the initial decelerating phase of the single leg drop landing.

#### Electromyography

Electromyography (EMG) was collected with an eight-channel system (EMG-800C, EMG System do Brasil<sup>®</sup>, São José dos Campos, SP, Brazil) with digital-analogue A/D converter with resolution of 12 bits, acquisition frequency of 1000 Hz per channel and the data acquisition software Dataq (EMG System do Brasil<sup>®</sup>). Each channel presented a gain of 100 times, with Butterworth filter at a bandwidth of 20 to 400 Hz and common-mode rejection of 100 Db.

Surface electromyography of the muscles rectus femoris and biceps femoris was recorded with bipolar, Ag/AgCl preamplified surface electrodes attached with disposable self-adhesive Miotec<sup>®</sup> electrodes (Hal double-electrode, Miotec<sup>®</sup>, Porto Alegre, RS, Brazil; distance between electrodes of 20mm, gain of 20 times with overall gain of 2000). Electrodes were placed over the muscle belly of both muscles after skin cleansing with gauze soaked in alcohol (70%), shaving, and abrasion. Reference electrode was placed over the right wrist. All electrodes positioning and related procedures were performed according to the SENIAM recommendations [22]. Electrodes were also secured with hypoallergenic adhesive tape to reduce movement artifact.

EMG data were time synchronized with a force plate (Bertec) which indicated the window from foot IC to peak VGRF. EMG raw data were processed and converted to a linear envelope through full-wave rectification and low-pass filtering at a cut-off frequency of 50 Hz with a 2<sup>nd</sup> order Butterworth filter. Muscle co-contraction ratio was obtained by first



normalizing the values of both muscles during the targeted window of time. EMG data were normalized by using a dynamic normalization procedure. The signal for each muscle in the window of interest was divided by the maximum signal (peak) generated on that specific trial analyzed. Such method has been commonly utilized to analyze EMG activity during dynamic tasks [5, 10, 32, 34, 45]. Biceps femoris integrated EMG value was used as the divisor if its value was greater than that of the rectus femoris; however, the rectus femoris value was used if its value was greater than that of the biceps femoris. Therefore, the co-contraction ratio was always less than or equal to one. A co-contraction ratio closer to one indicated excellent co-contraction (greater knee joint stability), while values obtained closer to zero represented poor co-contraction between both muscles that cross the knee joint. All procedures regarding the co-contraction ratio were according to Lloyd and Buchanan [32], Besier et al. [5], and Ortiz et al. [42].

### Statistical Analysis

For each subject, all dependent kinematic and electromyographic variables represented the mean of equivalent three trials. Kinematic and EMG data were screened for normality and homoscedasticity assumptions using the Bartlett's and Levene tests, and the data achieve parametric conditions. To indicate differences among each of the three different menstrual phases for the kinematic and EMG assessments, the two-way ANOVA was applied considering two factors: Subject (15 levels) and Treatment (3 levels) [25]. To indicate differences among the menstrual phases (variable which did not achieve parametric conditions), the nonparametric Friedman analysis of variance was applied separately for estradiol and progesterone considering the same two factors mentioned above. Type I error was controlled with the significance level set at 0.05, and all calculations were performed in the software Minitab 14.0 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

## Results

### Hormone concentrations

The lowest estradiol hormone concentration was observed during the initial follicular phase, which was significantly different than the late follicular phase ( $p < 0.01$ ) and the luteal phase ( $p < 0.01$ ). Difference was not observed for this hormone between late follicular and

luteal phases ( $p>0.05$ ), as expected. A greater concentration of the progesterone hormone level was observed during the luteal phase, and differences were detected between the luteal phase and both initial and late follicular phases ( $p<0.01$ ). Difference was not observed, as predicted, between the two follicular phases ( $p>0.05$ ). Concentrations of both hormones are seen in Table 1.

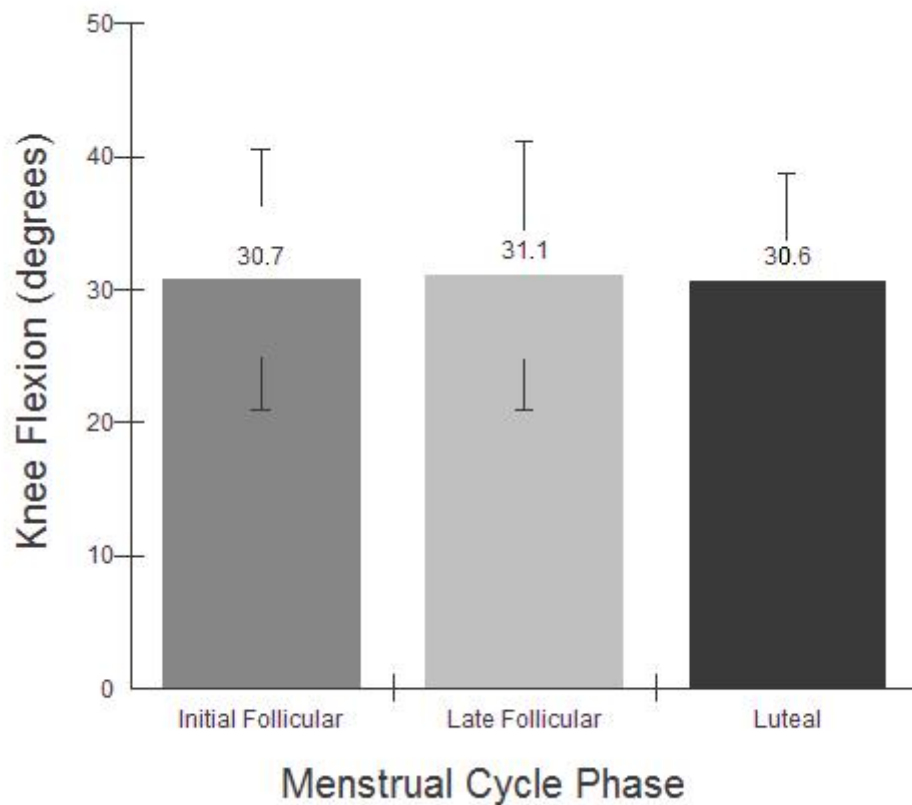
**Table 1** Blood level of the hormones estradiol and progesterone throughout the three different phases of the menstrual cycle of a non-athletic female sample ( $n=15$ ).

	<b>Initial Follicular</b>	<b>Late Follicular</b>	<b>Luteal</b>
<b>Estradiol (pg/ml)</b>	28.07 ± 19.40 *	178.70 ± 164.70	136.10 ± 70.60
<b>Progesterone (ng/ml)</b>	0.98 ± 0.46	0.95 ± 0.50	7.78 ± 4.79 **

\* Significant difference detected between the initial follicular phase and the other two phases of the menstrual cycle. \*\* Significant difference detected between the luteal phase and the follicular phases.

#### Knee joint flexion

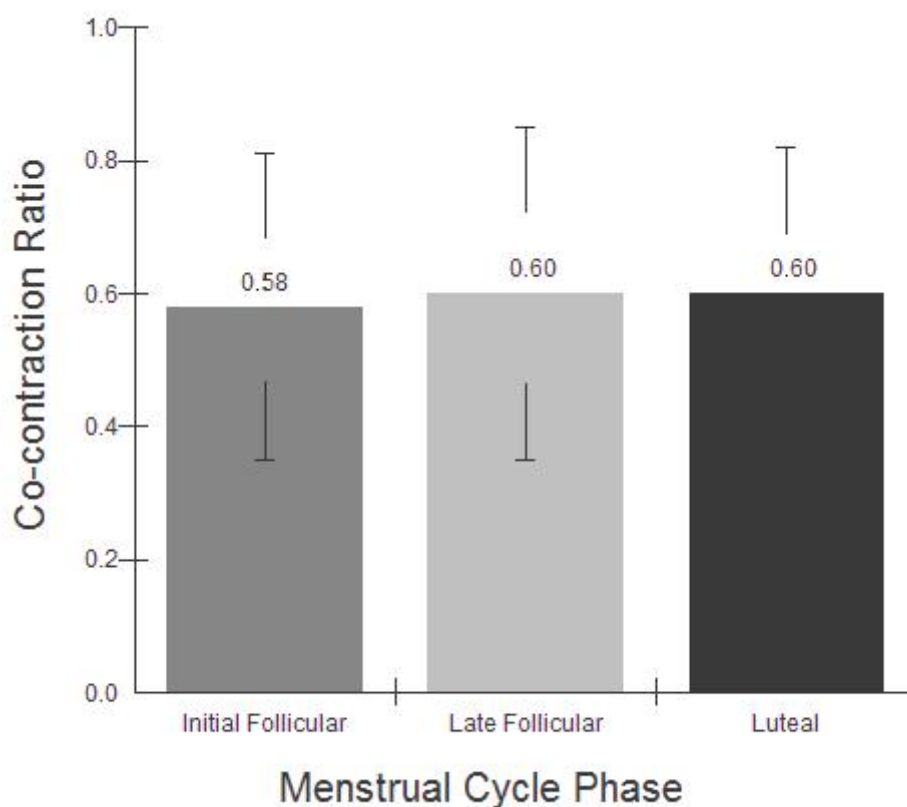
Descriptive data pertaining to the mean knee joint sagittal excursion (degrees) for the dominant lower extremity during the female menstrual cycle are presented in Fig. 3. Very subtle changes can be observed throughout the cycle; however, such minimal alterations may be questioned regarding its clinical value. Moreover, two-way ANOVA displayed no significant differences of the knee flexion angles ( $p=0.950$ ).



**Fig. 3** Mean knee flexion angle displayed by the female non-athletic sample during the three distinct phases of the menstrual cycle.

#### Neuromuscular behavior

Descriptive data representing the mean ratio of co-contraction of the thigh muscles rectus femoris and biceps femoris for the dominant lower extremity during the female menstrual cycle can also be observed in Fig. 4. Although lesser values of co-contraction were detected in the initial follicular phase, statistical difference was not observed ( $p=0.923$ ).



**Fig. 4** Mean co-contraction ratio of the thigh muscles rectus femoris and biceps femoris displayed by the female non-athletic sample during the three distinct phases of the menstrual cycle.

## Discussion

We investigated whether the fluctuation of female sex hormones estradiol and progesterone altered knee flexion angle and knee neuromuscular behavior of a non-athletic female sample performing a dynamic task. Based on the results obtained we could not reject the null hypothesis, in which the knee flexion angles and the co-contraction ratio between the muscles rectus femoris and biceps femoris maintained significantly unaltered throughout the menstrual cycle.

Differently than the results observed elsewhere by athletic samples performing somewhat similar tasks [15, 21, 26, 29, 41, 47, 62], our results displayed a mean of 30° of knee flexion performed by the non-athletic female sample. The mean angle obtained in the present investigation is similar to that observed by Lephart et al. [30] where the subjects performed the single leg land from a lower vertical distance (16cm). Our results display then a

lower mean knee flexion angle (presented by the non-athletic female sample) when compared to the vertical height drop. This result places them at heightened risk for ACL injury if considered that greater tension in the ACL fibers and ACL injury mechanism usually occurs during deceleration, cutting maneuvers, or landing from a jump with the knee joint positioned in relative extension [35, 36, 46].

Moreover, the maximum knee sagittal plane movement may not necessarily correspond to the highest in-situ forces in the ACL, which occurs early in the loading phase [31]. In the study conducted by Li et al. [31] with ten fresh frozen human cadaveric knees, the greatest anterior tibial displacement happened at 30° of flexion with isolated quadriceps activation. However, in-situ forces in the ACL were highest at 15° of flexion. When antagonistic hamstrings loads (activation) were placed with the quadriceps, the kinematic changes of anterior tibial translation were reduced significantly along with reducing ACL in-situ forces at 15°, 30° and 60° of flexion.

One of the neuromuscular components that protect the knee joint against ACL injuries is the greater activation of the hamstring muscles compared to the quadriceps activation or the greater co-contraction ratio between both groups to promote a better knee stabilization and a decreased anterior tibial translation in relation to the femur. The higher the co-contraction ratio between the quadriceps and the hamstrings muscle group the better the knee joint would deal with the energy absorption during the initial decelerating phase (loading phase) of the single leg drop landing to generate better joint stabilization [20]. If co-contraction ratio is somehow altered throughout the menstrual cycle, that specific phase would present itself more injury-prone compared to the other phases in case it presents a lesser co-contraction ratio. Nonetheless, this fact was not evidenced with the sample utilized, where the co-contraction remained significantly unaltered in the three studied phases. Such observation indicates an equally distributed neuromuscular behavior throughout the menstrual cycle.

It is known that hamstrings co-activation reduces anterior tibial translation in relation to the femur, reducing consequently the biomechanical risk of knee soft tissue injury and ACL excessive forces [33, 40]. The co-contraction ratio observed by the non-athletic sample is similar to the ratio of the sample utilized by Ortiz et al. [42] during the single leg 40cm drop jump task, which comprised of 15 healthy non-injured women (age,  $24.6 \pm 2.6$  years; height,  $164.7 \pm 6.5$  cm; body mass,  $58.4 \pm 8.9$  kg). Thus, the co-contraction around 0.6 may represent an adequate ratio for non-injured women during drop landings, and such ratio may correspond

to the sufficient pattern of agonist-antagonist activation to provide the necessary knee joint stabilization for the analyzed task.

According to Lloyd and Buchanan [32] and Besier et al. [5], the co-contraction ratio represents joint stiffness and the relative activation of the flexor and extensor muscle groups crossing the knee joint. Animal research has demonstrated reduced stiffness in smooth muscle of the uterine artery during the estrous cycle phases of high estrogen versus low progesterone concentrations [54]. Though human researches are not in accordance, certain result indicated reduced aorta smooth muscle stiffness after the administration of estradiol hormone [51]. Moreover, an important topic mentioned by Granata et al. [20] was that investigation of human hormonal factors could elucidate mechanisms for explaining the gender differences in effective musculoskeletal stiffness and consequently knee joint stabilization and risk of injury. Our study demonstrated that co-contraction ratio between the muscles rectus femoris and biceps femoris did not influence the risk of female musculoskeletal instability and knee joint injury mechanism once it maintained unaltered throughout the menstrual cycle.

During functional activities knee joint load surpasses the tension capacity of passive tissue structures alone, requiring the additional support provided by active muscles to stabilize the joint. Muscles function then as the primary active stabilizers of the knee during functional loading conditions, further protecting the joint against injuries [48]. Stability of the knee requires active muscle stiffness, which is proportional to the myoelectric activation and force generated by the muscle [53]. As active muscle stiffness contributes to musculoskeletal behavior, the oscillation of the female sex hormones is not a variable that would hinder the maintenance of joint stability, once it was observed that such fluctuation did not alter the co-contraction ratio of the sample used in our investigation.

Once co-contraction did not present itself as a determinant variable in the risk of injury in the female sample used in our research, focus on other neuromuscular variables should be emphasized. Kinesthesia is provided by neural input from mechanoreceptors in skin, muscles, tendons, ligaments, and joint capsules. These peripheral receptors send information signals to the central nervous system, where joint movement is recognized [19]. Some studies suggest that changes in proprioception might occur due to menstrual cycle hormones oscillation, altering evoked potential measurements [27, 57, 58]. The data obtained in our study indicated no alteration in muscle co-contraction under different female hormonal concentration. Altered lower extremity neuromuscular behavior may occur then to different aspects of mechanoreceptor excitability, alteration of distal latency, or an interaction of other neuromuscular variables not analyzed in this study.

As conscious alterations can be made to retrain movement patterns during landing mechanics [24], interventions may be implemented to reduce risk of injury of non-athletic women. If knee flexion angle can be increased, along with controlling knee joint movement in different anatomical planes, a decreased peak vertical ground reaction force may generate lesser loads experienced by the lower extremity during dynamic demanding tasks. The limitation of the present study involves the fact that although estrogenic hormones and progesterone are the main focus of researches including ACL injury risk and other ligament properties, the fluctuation of other hormones, such as relaxin and testosterone, may also influence tissue properties [59], and the lack of assessment of such hormones may restrain our findings. Moreover, according to the sample size calculation performed during the primary stages of the project, the sample needed to obtain reasonable power was 20. Due to certain unmanageable events the final sample comprised of 15 subjects. Further investigations with the proper non-athletic sample size should be performed to reach the effect necessary to obtain conclusions that can be extrapolated to the general population.

## **Conclusion**

The oscillation of the sex hormones estradiol and progesterone did not influence knee flexion angle during the three different phases of the menstrual cycle. Also, knee joint neuromuscular behavior, assessed by means of the co-contraction ratio of the muscles rectus femoris and biceps femoris, was not influenced by the female sex hormones of the healthy female non-athletic sample.

## **Acknowledgements**

The authors would like to thank the funding support from *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo* FAPESP Grant 2007/02272-7, and the Laboratory Médico Dr. Maricondi - São Carlos for conducting all blood analysis and hormonal profiles. We would also like to acknowledge Sérgio Augusto Cunha, PhD, for providing the high speed video cameras from the State University of São Paulo UNESP, Rio Claro.

## References

1. Abdel-Aziz YI, Karara HM (1971) Direct linear transformation from comparator coordinates into object space coordinates in close-range photogrammetry. In: Symposium on Close-Range Photogrammetry. Falls Church, Va: American Society of Photogrammetry 1–18.
2. Abt JP, Sell TC, Laudner KG, McCrory JL, Loucks TL, Berga SL, Lephart SM (2007) Neuromuscular and biomechanical characteristics do not vary across the menstrual cycle. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 15(7):901–907.
3. Beynon BD, Bernstein IM, Belisle A, Brattbakk B, Devanny P, Risinger R, Durant D (2005) The Effect of Estradiol and Progesterone on Knee and Ankle Joint Laxity. *Am J Sports Med* 33(9):1298–1304.
4. Beynon BD, Johnson RJ, Braun S, Sargent M, Bernstein IM, Skelly JM, Vacek PM (2006) The relationship between menstrual cycle phase and anterior cruciate ligament injury: a case-control study of recreational alpine skiers. *Am J Sports Med* 34(5):757–64.
5. Besier TF, Lloyd DG, Ackland TR (2003) Muscle activation strategies at the knee during running and cutting maneuvers. *Med Sci Sports Exerc* 35(1):119–127.
6. Boden BP, Dean GS, Feagin JA, Garret WE (2000) Mechanisms of anterior cruciate ligament injury. *Orthopedics* 23(6):573–578.
7. Casteleyn PP, Handelberg F (1996) Non-operative management of anterior cruciate ligament injuries in the general population. *J Bone Joint Surg [Br]* 78-B:446–451.
8. Chappell JD, Creighton RA, Giuliani C, Yu B, Garrett WE (2007) Kinematics and electromyography of landing preparation in vertical stop-jump: risks for noncontact anterior cruciate ligament injury. *Am J Sports Med* 35(2):235–241.
9. Colby S, Francisco A, Yu B, Kirkendall D, Finch M, Garrett W (2000) Electromyographic and kinematic analysis of cutting maneuvers: Implications for anterior cruciate ligament injury. *Am J Sports Med* 28(2):234–240.
10. Croce RV, Russell PJ, Swartz EE, Decoster LC (2004) Knee muscular response strategies differ by developmental level but not gender during jump landing. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 44(6):339–348.
11. Cunha SA, Lima Filho EC (2003) Metodologia para suavização de dados biomecânicos por função não paramétrica ponderada local robusta. *Rev Bras Biomec* 1(6):23–28.
12. De Jonge XAKJ, Boot CRL, Thom JM, Ruell PA, Thompson MW (2001) The influence of menstrual cycle phase on skeletal muscle contractile characteristics in humans. *J Physiol* 530(1):161–166.



13. Dedrick GS, Sizer PS, Merkle JN, Hounshell TR, Robert-McComb JJ, Sawyer SF, Brismée JM, James CR (2008) Effect of sex hormones on neuromuscular control patterns during landing. *J Electromyogr Kinesiol* 18(1):68–78.
14. Ehara Y, Fujimoto H, Miyazaki S, Mochimaru M, Tanaka S, Yamamoto S (1997) Comparison of the performance of 3D camera systems II. *Gait Posture* 5(3):251–255.
15. Fagenbaum R, Darling WG (2003) Jump landing strategies in male and female college athletes and the implications of such strategies for anterior cruciate ligament injury. *Am J Sports Med* 31(2):233–240.
16. Ferber R, Davis IM, Williams DS (2003) Gender differences in lower extremity mechanics during running. *Clin Biomech* 18(4):350–357.
17. Figueroa PJ, Leite NJ, Barros RM (2003) A flexible software for tracking of markers used in human motion analysis. *Comput Methods Programs Biomed* 72(2):155–165.
18. Ford KR, Myer GD, Hewett TE (2003) Valgus knee motion during landing in high school female and male basketball players. *Med Sci Sports Exerc* 35(10):1745–1750.
19. Friden C, Hirschberg AL, Saartok T, Renström P (2006) Knee joint kinaesthesia and neuromuscular coordination during three phases of the menstrual cycle in moderately active women. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 14(4):383–389.
20. Granata KP, Wilson SE, Padua DA (2002) Gender differences in active musculoskeletal stiffness. Part I. Quantification in controlled measurements of knee joint dynamics. *J Electrom Kinesiol* 12(2):119–126.
21. Hass CJ, Schick EA, Tillman MD, Chow JW, Brunt D, Cauraugh JH (2005) Knee biomechanics during landings: comparison of pre- and postpubescent females. *Med Sci Sports Exerc* 37(1):100–107.
22. Hermens HJ, Freriks B, Merletti R, Stegeman D, Blok J, Rau G, Disselhorst-Klug C, Hagg G (1999) SENIAM 8: European Recommendations for Surface Electromyography. Results of the SENIAM Project. Biomedical and Health Research Program. Roessingh Research and Development.
23. Hewett TE, Myer GD, Ford KR, Heidt Jr RS, Colosimo AJ, McLean SG, Van den Bogert AJ, Paterno MV, Succop P (2005) Biomechanical measures of neuromuscular control and valgus loading of the knee predict anterior cruciate ligament injury risk in female athletes – A prospective Study. *Am J Sports Med* 33(4):492–501.
24. Hewett TE, Stroupe AL, Nance TA, Noyes FR (1996) Plyometric training in female athletes: decreased impact forces and decreased hamstring torques. *Am J Sports Med* 24(6):765–773.

25. Hollander M, Wolfe DA (1999) *Nonparametric Statistical Methods*. 2<sup>nd</sup> ed. Wiley-Interscience, 787p.
26. Huston LJ, Vibert B, Ashton-Miller JA, Wojtys EM (2001) Gender differences in knee angle when landing from a drop-jump. *Am J Knee Surg* 14(4):215–219.
27. Kaneda Y, Ikuta T, Nakayama H, Kagawa K, Furuta N (1997) Visual evoked potential and electroencephalogram of healthy females during the menstrual cycle. *J Med Invest* 44(1–2):41–46.
28. Kellis E (1998) Quantification of quadriceps and hamstring antagonist activity. *Sports Med* 25(1):37–62.
29. Kellis E, Kouveliotti V (2009) Agonist versus antagonist muscle fatigue effects on thigh muscle activity and vertical ground reaction during drop landing. *J Electromyogr Kinesiol* 19(1):55–64.
30. Lephart SM, Ferris CM, Riemann BL, Myers JB, Fu FH (2002) Gender differences in strength and lower extremity kinematics during landing. *Clin Orthop Relat Res* 401:162–169.
31. Li G, Rudy TW, Sakane M, Kanamori A, Ma CB, Woo SLY (1999) The importance of quadriceps and hamstring muscle loading on knee kinematics and in-situ forces in the ACL. *J Biomech* 32(4):395–400.
32. Lloyd DG, Buchanan TS (2001) Strategies of muscular support of varus and valgus isometric loads at the human knee. *J Biomech* 34(10):1257–1267.
33. MacWilliams BA, Wilson DR, DesJardins JD, Romero J, Chao EY (1999) Hamstrings cocontraction reduces internal rotation, anterior translation, and anterior cruciate ligament load in weight-bearing flexion. *J Orthop Res* 17(6):817–22.
34. Manolopoulos E, Papadopoulos C, Kellis E (2006) Effects of combined strength and kick coordination training on soccer kick biomechanics in amateur players. *Scand J Med Sci Sports* 16(2): 102–110.
35. Markolf KL, Burchfield DM, Shapiro MM, Shepard MF, Finerman GA, Slauterbeck JL (1995) Combined knee loading states that generate high anterior cruciate ligament forces. *J Orthop Res* 13(6):930–5.
36. McLean SG, Neal RJ, Myers PT, Walters MR (1999) Knee joint kinematics during the sidestep cutting maneuver: Potential for injury in women. *Med Sci Sports Exerc* 31(7):959–968.
37. McLean SG, Lipfert S, Van Den Bogert AJ (2004) Effect of gender and defensive opponent on the biomechanics of sidestep cutting. *Med Sci Sports Exerc* 36(6):1008–1016.

38. McNair PJ, Marshall RN, Matheson JA (1990) Important features associated with anterior cruciate ligament injury. *N Z Med J* 103(901):537–539.
39. Montgomery DC. *Design and Analysis of Experiments*. 2<sup>nd</sup> ed. John Wiley & Sons, 1984, 660p.
40. More RC, Karras BT, Neiman R, Fritschy D (1993). Hamstrings - an anterior cruciate ligament protagonist: An in-vitro study. *Am J Sports Med* 21(2):231–237.
41. Nagano Y, Ida H, Akai M, Fukubayashi T (2007) Gender differences in knee kinematics and muscle activity during single limb drop landing *Knee* 14(3):218–223.
42. Ortiz A, Olson S, Libby CL, Trudelle-Jackson E, Young-Hoo K, Etnyre B, Bartlett W (2008) Landing Mechanics Between Noninjured Women and Women With Anterior Cruciate Ligament Reconstruction During 2 Jump Tasks. *Am J Sports Med* 36(1):149–157.
43. Pollard CD, Sigward S, Ota S, Langford K, Powers CM (2006) The Influence of In-Season Injury Prevention Training on Lower-Extremity Kinematics during Landing in Female Soccer Players. *Clin J Sport Med* 16(3):223–227.
44. Pollard CD, Sigward S, Powers CM (2008) Stiff landing increases frontal plane loading of the knee. *J Athl Train* 43(5):544–545.
45. Rodacki AL, Fowler NE, Bennett SJ (2002) Vertical jump coordination: fatigue effects. *Med Sci Sports Exerc* 34(1):105–116.
46. Russell KA, Palmieri RM, Zinder SM, Ingersoll CD (2006) Sex Differences in Valgus Knee Angle During a Single-Leg Drop Jump. *J Athletic Training* 41(2):166–71.
47. Salci Y, Kentel BB, Heycan C, Akin S, Korkusuz F (2004) Comparison of landing maneuvers between male and female college volleyball players. *Clin Biomech* 19(6):622–628.
48. Shultz SJ, Carcia CR, Perrin DH (2004) Knee joint laxity affects muscle activation patterns in the healthy knee. *J Electromyogr Kinesiol* 14(4):475–83.
49. Shultz SJ, Sander TC, Kirk SE, Perrin DH (2005) Sex differences in knee joint laxity change across the female menstrual cycle. *J Sports Med Phys Fitness* 45(4):594–603.
50. Speroff L, Fritz MA. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2005, 1334p.
51. Stefanadis C, Tsiamis E, Dernellis J, Toutouzas P (1999) Effect of estrogen on aortic function in postmenopausal women. *Am J Physiol* 276(2):658–662.
52. Tagawa Y, Shiba N, Miyazaki K, Matsuo S, Inoue A, Yamashita T (2001) Effects of knee and ankle movements on foot impact forces in human walking. *JSME Intl J SC* 44(4):1089–1096.

53. Wagner H, Blickhan R (1999) Stabilizing function of skeletal muscles: an analytical investigation. *J Theor Biol* 199(2):163–79.
54. Waite LR, Ford SP, Young DF, Conley AJ (1990) Use of ultrasonic Doppler waveforms to estimate changes in uterine artery blood flow and vessel compliance. *J Anim Sci* 68(8):2450–2458.
55. Wojtys EM, Ashton-Miller JA, Huston LJ (2002) A gender-related difference in the contribution of the knee musculature to sagittal-plane shear stiffness in subjects with similar knee laxity. *J Bone Joint Surg Am* 84(1):10–16.
56. Wojtys EM, Bradford WB, Huston LJ (1996) The effects of muscle fatigue on neuromuscular function and anterior tibial translation in healthy knees. *Am J Sports Med* 24(5):615–621.
57. Yadav A, Tandon OP, Vaney N (2002) Auditory evoked responses during different phases of menstrual cycle. *Indian J Physiol Pharmacol* 46(4):449–456.
58. Yilmaz H, Erkin EF, Mavioglu H, Sungurtekin U (1998) Changes in pattern reversal evoked potentials during menstrual cycle. *Intl Ophthalmol* 22(1):27–30.
59. Zazulak BT, Paterno M, Myer GD, Romani WA, Hewett TE (2006) The effects of the menstrual cycle on anterior knee laxity. A systematic review. *Sports Med* 36(10):847–862.
60. Zazulak BT, Ponce PL, Straub SJ, Medvecky MJ, Avedisian L, Hewett TE (2005) Gender comparison of hip muscle activity during single-leg landing. *J Orthop Sports Phys Ther* 35(5):292–299.
61. Zeller BL, McCrory JL, Kibler WB, Uhl TL (2003) Differences in kinematics and electromyographic activity between man and women during the single-legged squat. *Am J Sports Med* 31(3):449–456.
62. Zhang S, Derrick TR, Evans W, Yu YJ (2008) Shock and impact reduction in moderate and strenuous landing activities. *Sports Biomech* 7(2):296–309.

**Anexo III****Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
 PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
 Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos  
 Via Washington Luís, km. 235 - Caixa Postal 676  
 Fones: (016) 3351.8109 / 3351.8110  
 Fax: (016) 3361.3176  
 CEP 13560-970 - São Carlos - SP - Brasil  
[propg@power.ufscar.br](mailto:propg@power.ufscar.br) - [www.propg.ufscar.br](http://www.propg.ufscar.br)

## CAAE 0030.0.135.000-07

**Título do Projeto:** Influência do Ciclo Menstrual na Atividade Eletromiográfica e na Cinemática do Joelho Durante a Aterrissagem do Salto

**Classificação:** Grupo III

**Pesquisadores (as):** Fábio Viadanna Serrão, Guilherme Manna Cesar (orientando); Vanessa Santos Pereira (orientanda)

### Parecer N<sup>o</sup>. 124/2007

#### 1. Normas a serem seguidas

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprobatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e).
- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ e ao término do estudo.

#### 2. Avaliação do projeto

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (CEP/UFSCar) analisou o projeto de pesquisa acima identificado e considerando os pareceres do relator e do revisor DELIBEROU: A proposta de estudo apresentada atende às exigências éticas e científicas fundamentais previstas na Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde.

#### 3. Conclusão:

Projeto aprovado

São Carlos, 17 de maio de 2007.

Prof. Dra. Márcia Niituma Ogata  
 Coordenadora do CEP/UFSCar

**Anexo IV**  
**Características Físicas da Amostra Final Utilizada**

Características físicas da amostra final composta por 15 participantes.

<b>Voluntária</b>	<b>Idade (anos)</b>	<b>Peso (Kg)</b>	<b>Estatura (m)</b>	<b>IMC (%)</b>
<b>A</b>	21	52	1,63	19,57
<b>B</b>	24	75,4	1,73	25,19
<b>C</b>	22	51,6	1,65	18,95
<b>D</b>	22	53	1,64	19,71
<b>E</b>	20	63	1,59	24,92
<b>F</b>	21	52	1,61	20,06
<b>G</b>	24	58	1,70	20,07
<b>H</b>	23	54,8	1,58	21,95
<b>L</b>	19	50	1,57	20,28
<b>M</b>	20	62	1,68	21,97
<b>N</b>	27	55	1,66	19,96
<b>O</b>	25	53	1,62	20,20
<b>P</b>	21	55,1	1,56	22,64
<b>Q</b>	27	84,5	1,76	27,28
<b>R</b>	26	52	1,62	19,81