



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

ASPECTOS FUNCIONAIS, MORFOLÓGICOS E
IMUNOHISTOQUÍMICOS DO MÚSCULO
QUADRÍCEPS FEMORAL DE INDIVÍDUOS COM
GRAUS I OU II DE OSTEOARTRITE DE JOELHO

PAULA REGINA MENDES DA SILVA SERRÃO

São Carlos
2012

PAULA REGINA MENDES DA SILVA SERRÃO

**ASPECTOS FUNCIONAIS, MORFOLÓGICOS E IMUNOHISTOQUÍMICOS
DO MÚSCULO QUADRÍCEPS FEMORAL DE INDIVÍDUOS COM GRAUS I
OU II DE OSTEOARTRITE DE JOELHO.**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Fisioterapia.

Área de concentração: Processos de Avaliação e Intervenção em Fisioterapia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Stela Márcia Mattiello

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ana Cláudia Mattiello Sverzut

Processo Fapesp: 2007/07200-4

**São Carlos
2012**

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

S487af

Serrão, Paula Regina Mendes da Silva.

Aspectos funcionais, morfológicos e imunohistoquímicos do músculo quadríceps femoral de indivíduos com graus I ou II de osteoartrite de joelho / Paula Regina Mendes da Silva Serrão. -- São Carlos : UFSCar, 2012.
178 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2012.

1. Osteoartrite. 2. Torque extensor do joelho. 3. Fisioterapia. 4. Eletromiografia. 5. Biópsia muscular. I. Título.

CDD: 616.7223 (20^a)

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da banca examinadora para defesa de tese de doutorado de PAULA REGINA MENDES DA SILVA SERRÃO, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, em 24 de Fevereiro de 2012

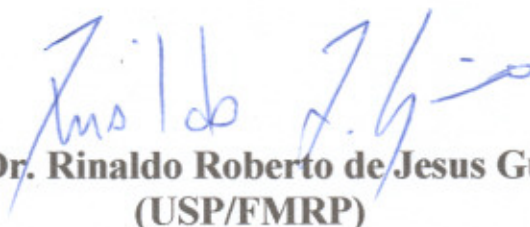
Banca Examinadora:



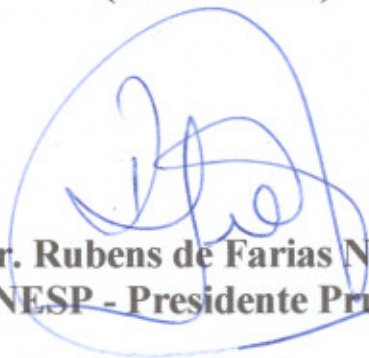
Prof.ª Dr.ª Stela Márcia Mattiello
(UFSCar)



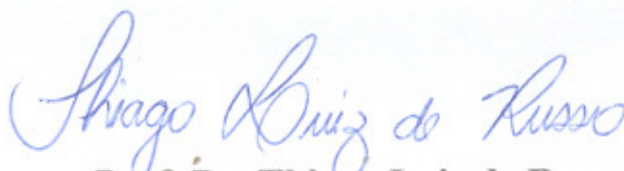
Prof. Dr. Ibsen Bellini Coimbra
(UNICAMP)



Prof. Dr. Rinaldo Roberto de Jesus Guirro
(USP/FMRP)



Prof. Dr. Rubens de Farias Negrão Filho
(UNESP - Presidente Prudente)



Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo
(UFSCar)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais *José Milton da Silva e Maria Regina Mendes da Silva* que sempre me incentivaram nos estudos. Vocês são a minha fortaleza!

Ao meu filho *Luís Felipe da Silva Serrão*, a razão da minha vida, e ao meu marido e companheiro **Fábio Viadanna Serrão**, que sempre esteve ao meu lado.

*“A verdadeira felicidade está na própria casa,
entre as alegrias da família.”*

Léon Tolstoi

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À **Deus**, por ser presença constante em toda minha jornada. Por ser meu consolo nos momentos mais difíceis, até mesmo me carregando nos braços quando era preciso. Por me dar saúde e forças na realização desse sonho.

Aos meus **pais**, que sempre estiveram ao meu lado e sempre me apoiaram incondicionalmente, em todos os momentos da minha vida, mesmo diante da distância física. Agradeço por todos os ensinamentos. Não existem palavras suficientes para agradecer tudo que fizeram por mim para que esse momento se concretizasse. Obrigada pelo esforço que tiveram para que eu pudesse chegar até aqui. Sem vocês nada disso seria possível! Muito obrigada, meus pais amados!!

Agradeço a minha mãe, **Maria Regina Mendes da Silva**, por tudo que sempre fez por mim. Bastava eu ligar e você estava lá, pronta para me ouvir e me dar uma palavra de conforto. Obrigada por ser meu refúgio nos momentos de maior angústia, e por dividir comigo os momentos felizes!

Agradeço ao meu pai, **José Milton da Silva**, que sempre me incentivou nos estudos. Foi você que me ensinou a nunca desistir diante das dificuldades. Talvez você não saiba, mas a sua história me orgulha muito! Minha eterna gratidão!

Ao meu filho **Luís Felipe da Silva Serrão**, a razão da minha vida. Você me trouxe a maior das alegrias quando nasceu e também me mostrou que uma mãe é capaz de dar a sua vida para não ver o sofrimento de seu filho! Embora você ainda não possa entender

tudo isso, quero te agradecer por me proporcionar momentos tão felizes. Você que me traz forças, todos os dias! Obrigada por me ensinar, com esse seu jeito alegre e carinhoso, que mesmo diante das dificuldades um sorriso é capaz de superar tudo. Que Deus abençoe sempre sua caminhada! Te amo muito, meu “branquinho”!

Ao meu marido **Fábio Viadanna Serrão** pela paciência, companheirismo, incentivo e apoio, praticamente todos os dias, durante o desenvolvimento desse trabalho. Amo muito você! Obrigada por me ensinar os primeiros passos da pesquisa, já que antes mesmo de ser meu marido você também foi meu orientador/professor. Muito do que sei hoje eu aprendi com você!

Aos meus irmãos **Raphael e Luís Otávio**. Vocês são pessoas fundamentais na minha vida!! Tenho muito orgulho de vocês! Obrigada pela presença e ajuda dispensada durante todos esses anos. Pelo carinho com que vocês cuidaram do Luís Felipe sempre que precisei, desde bem pequeno! Sou muito grata a vocês!

Aos meus avós **Mauro (Padrito) e Martha**, que mesmo morando em Minas sempre comemoraram comigo todas as minhas conquistas! Vocês são os alicerces de nossa família!

AGRADECIMENTOS

À **Profª. Drª. Stela Márcia Mattiello**, minha orientadora, por me permitir fazer parte de seu laboratório. Muito obrigada por ter acreditado em mim, desde a época em que fui apoio técnico. Agradeço pelos ensinamentos, pela paciência, pelas muitas oportunidades que você me proporcionou, não só relacionadas a esse trabalho. Enfim agradeço por todo o incentivo profissional, sempre! Quero também agradecer os conselhos e a sua amizade. Você que esteve presente em tantos momentos especiais da minha vida e que também me escutou, me apoiou e soube compreender meus momentos difíceis. Obrigada pelo carinho que você sempre teve não só comigo, mas também com minha família, em especial com o **Luís Felipe!** Muito obrigada mesmo!

À **Profª. Drª. Ana Cláudia Mattiello** por ter aceitado prontamente ser minha co-orientadora. Ana, obrigada pela paciência durante o desenvolvimento desse trabalho, e por tudo que me ensinou, principalmente com relação à técnica de armazenagem e processamento do fragmento muscular.

Aos **professores, membros da banca**, por se disponibilizarem a avaliar o trabalho e pelas valiosas contribuições.

À **Coordenação e Professores do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia (PPG-Ft) da UFSCar**, pelo aprendizado e pelo exemplo de dedicação no desenvolvimento da pesquisa na área da Fisioterapia.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pela Bolsa de Estudo concedida.

À **Profª. Drª. Ana Beatriz de Oliveira**, pela colaboração no processamento dos dados. Bia, muito obrigada pela atenção e pelos conhecimentos transmitidos durante a elaboração das rotinas!

À Professora Dra. **Karina Gramani Say**, minha companheira de trabalho, mas que no decorrer desse se tornou muito mais do que minha amiga. Agradeço por todos os

conhecimentos que adquiri com você, tanto durante a graduação quanto nos anos de convívio no laboratório (afinal nem todos sabem, mas você já foi minha Professora!!). Obrigada por todo apoio que você me deu nas várias intercorrências que eu tive durante a gravidez, deixando suas tarefas pessoais e profissionais para me fazer companhia no hospital. Saiba que sou muito grata por tudo isso, minha grande amiga! Volta logo, que você faz muita falta aqui em São Carlos!

À minha grande amiga **Giovanna Camparis Lessi**. Amigo é aquele que te apóia nos momentos alegres e também nos difíceis. E você, quando eu mais precisei, quando meu filho resolveu que deveria nascer 1 mês antes, estava lá auxiliando a Karina no final das coletas. Parte desse trabalho eu devo muito a você! Obrigada pelas conversas e pelos conselhos. Por ter tornado, junto com o **Zé**, meu 3.0 mais alegre de ser comemorado! Vocês não imaginam como isso foi importante para mim! A nossa amizade surgiu de um trabalho de laboratório e hoje eu tenho certeza que é amizade para se levar por toda vida.

Ao meu grande amigo **Zé (Fernando Augusto Vasilceac)**, pelo apoio no processamento e análise do fragmento muscular. Tantas foram as viagens para Ribeirão Preto, para processar os fragmentos, e você sempre lá pronto para me ajudar. Obrigado por dividir comigo as supervisões do atendimento da nossa atividade de extensão. Quero aproveitar para agradecer todo o seu apoio pessoal. O que você fez pela minha família é coisa de amigo-irmão. Você tem um coração enorme Zé, e eu não tenho palavras para agradecer!

Enfim, quero agradecer, como diz minha mãe, aos meus anjos-da-guarda de São Carlos: **Karina Gramani Say, Giovanna Camparis Lessi e Zé “Fernando”!!!** Vocês são pessoas importantes na minha vida e na vida de minha família! Nunca vou esquecer o que vocês fizeram por mim, pelo **Fabinho** e pelo **Luís Felipe**! Como disse Antoine de Saint-Exupéry “*Somos responsáveis por aquilo que cativamos*”. Por isso, vocês não são o *Kit* da minha família, vocês são parte dela, vocês são os responsáveis por isso!

Às amigas **Gisele Zanca e Vanessa Pereira** pela amizade e pelo prazer e oportunidade de ter trabalhado com vocês. Parece que foi ontem que trabalhamos juntas na iniciação

científica. Saiba que tenho grande admiração por vocês, tão novas mas sempre muito dedicadas e competentes em tudo que fazem!

Às minhas eternas amigas, irmãs, companheiras de todas as horas **Verena e Maria Fernanda**. Obrigada por comemorarem junto comigo todas as minhas conquistas. Vocês também foram muito importantes na conquista desse trabalho. Não existe distância que possa nos separar afinal vocês nunca medem esforços para estarem presentes! Muito obrigada por me apoiarem sempre!

Representando todos os meus tios (**Mauro, Adriani, Dudu e Virgínia**) agradeço minha tia Lú (*in memoriam*) que nos deixou tão cedo, mas que eu sei, que onde quer que esteja, está comemorando comigo esse momento. Vocês são para mim, o que hoje meus irmãos são para meu filho, muito mais do que tios!

Às alunas de iniciação científica **Marcela, Ana Cláudia, Thaís, Yurika, Larissa e Rafaela** por terem participado desse projeto.

Aos companheiros de laboratório **Michele, Luiz Fernando, Andressa, Adriana, Carol e Walter** muito obrigada pela amizade, pelos cafés, pelas conversas, pelas risadas, pelo companheirismo. Enfim pelos muitos momentos alegres!

À **Prof.^aDr.^aPatrícia Driusso** que teve o seu sonho de ser mãe concretizado junto com o meu. Obrigada pelas longas conversas, pela troca de experiências, pela sua amizade!

À amiga de São Carlos **Marê**, que ajudou a Karina (quando a Gi não pode) na finalização das coletas no dinamômetro, muito obrigada!

À **equipe da Clínica Santa Mônica**, em especial ao **Dr. Rodrigo Reiff** e ao **Enfermeiro Mathias**, pela realização das biópsias. Obrigada por disponibilizarem seus tempos, até mesmo aos sábados!

À técnica do laboratório de Neuropatologia, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, **Deise** por ter me recebido para o processamento do fragmento muscular e pela

ajuda na realização da última imunohistoquímica, em pleno recesso de final de Ano. Muito obrigada!

Às meninas do laboratório de Neuropatologia, de Ribeirão Preto, **Anabelle Cornachione, Priscila e Letícia Benedini** por me ensinarem como utilizar o criótomo. À **Juliana Polizello** pelo pronto aceite em me ajudar com a ATPase e à **Renata Jucá** por me auxiliar na utilização do microscópio de fluorescência. Muito obrigada, meninas, pela paciência!

Aos voluntários que participaram dessa pesquisa. Sem vocês esse trabalho não teria sido concluído. Vocês não só me ajudaram como me ensinaram com suas histórias de vida. *“Ser voluntário é uma relação humana, rica e solidária. Não é uma atividade fria, racional e impessoal. É relação de pessoa a pessoa, oportunidade de se fazer amigos, viver novas experiências, conhecer outras realidades.”* Levo cada um de vocês no coração, e serei eternamente grata, pela boa vontade e grande auxílio nesse trabalho.

Aos amigos e colegas do programa de pós-graduação em Fisioterapia: **Scattone, Theresa, Cleber, Baldon, Rafaela, Lu Guaçu, Cris Shinohara, Roberta, Letícia, Chris Prado, Paulinha Camargo, Adrianinha** por todos os obstáculos superados, pelos momentos agradáveis que pudemos passar juntos. Sucesso a todos!

Enfim, a todos que contribuíram de alguma forma, para a execução desse trabalho.

“De tudo, ficaram três coisas:

A certeza de que estamos sempre começando.

A certeza de que precisamos continuar.

A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar.

Portanto devemos:

Fazer da interrupção um caminho novo.

Da queda um passo de dança.

Do medo, uma escada.

Do sonho, uma ponte.

Da procura, um encontro.”

Fernando Pessoa.

RESUMO

A fraqueza do músculo quadríceps é comum em sujeitos com osteoartrite (OA) de joelho, levando a déficits funcionais. Alguns fatores são apontados como causas, tais como alterações morfológicas, como atrofia e redução no número de fibras musculares, alterações nas proteínas não contráteis do músculo e alterações no nível de ativação muscular. No entanto, esses fatores ainda não estão bem esclarecidos, principalmente com relação se os mesmos já estão presentes em estágios mais precoces da doença. Diante disso, o objetivo dessa tese foi verificar se homens com graus iniciais de OA de joelho apresentam alterações funcionais, morfológicas e imunohistoquímicas do músculo quadríceps, bem como comprometimento de sua qualidade de vida. Participaram desse estudo homens, com idade entre 40 e 65 anos, divididos em dois grupos: Grupo Controle (GC) com indivíduos saudáveis e Grupo Osteoartrite (GOA) com indivíduos com OA de joelho graus I ou II. Foi realizada biópsia do músculo vasto lateral (VL) para análise morfológica (por meio da reação de ATPase) e imunohistoquímica (análise da expressão e localização dos receptores dos produtos finais da glicosilação – RAGE, e análise da expressão dos colágenos tipo I e III). A avaliação do torque extensor do joelho, concêntrico e excêntrico, a 90°/s e 180°/s, foi realizada simultaneamente à avaliação da atividade eletromiográfica do músculo VL (valor de RMS). O questionário WOMAC foi aplicado para análise da qualidade de vida. Na análise intergrupo, foi utilizado o teste T de student para amostras independentes e o teste não-paramétrico U Mann-Whitney. Foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman para analisar a relação entre as três seções do questionário WOMAC e os picos de torque extensor do joelho ($\alpha < 0.05$). Para os colágenos foi feita análise semiquantitativa. Foram encontrados menores valores para o GOA no pico de torque extensor excêntrico a 90°/s ($p=0,01$) e a 180°/s ($p=0,04$), e na atividade eletromiográfica (valor RMS), durante contração excêntrica, nas duas velocidades angulares ($p < 0,01$). Maiores valores para o GOA foram encontrados na proporção ($p=0,03$) e área transversa relativa das fibras tipo 2b ($p=0,02$). Foi encontrada correlação negativa entre as três seções do questionário WOMAC e os valores de pico de torque para os indivíduos com OA de joelho ($p > 0,05$). Na análise do RAGE não foi encontrada diferença entre os grupos. Na análise semiquantitativa foi encontrada maior expressão dos colágenos tipo I e tipo III para o GOA. Assim, homens com OA de joelho graus I ou II apresentam alterações funcionais, morfológicas e imunohistoquímica do músculo quadríceps, podendo essas alterações serem possíveis adaptações neuromusculares. Dessa forma, desde os graus iniciais de OA de joelho, devem se recomendados exercícios com o objetivo de minimizar ou retardar os déficits funcionais decorrentes da OA.

Palavras-chave: Osteoartrite de joelho. Biópsia muscular. Torque extensor do joelho. Eletromiografia. RAGE. Colágeno. WOMAC.

ABSTRACT

The quadriceps muscle weakness is common in subjects with knee osteoarthritis (OA), leading to functional deficits. Some risk factors are causes, such as morphological changes (atrophy and reduced number of muscle fibers), changes in non-contractile proteins of muscle and changes in the level of muscle activation. However, these factors are not well understood, particularly with respect if they are already present in earlier stages of the disease. Therefore, the aim of this study was to verify if men with early degrees of knee OA have functional and morphological impairments and immunohistochemical changes of the quadriceps muscle, as well as investigate if this subjects had compromising of their quality of life . The men (40-65 years) who participated in this study were divided into two groups: Control Group (CG) with healthy subjects and Osteoarthritis Group (OAG) with individuals with knee OA grade I or II. A biopsy of the vastus lateralis (VL) was performed for morphological (through the ATPase reaction) and immunohistochemical analysis (analysis of expression and localization of the receptor for advanced glycation end products - RAGE, and analysis of the expression of collagen type I and III) . An evaluation of knee extensor torque (KET), concentric and eccentric at 90°/s and 180°/s, was performed simultaneously with an evaluation of the electromyographic activity of the VL (RMS value). Moreover, the WOMAC questionnaire was used. For the intergroup analysis, we used the independent t-test and the Mann-Whitney U test. Spearman's correlation coefficient was used to detect the relationship between the three subscales of WOMAC questionnaire and the average knee extensor peak torque ($\alpha < 0.05$). The collagen was analyzed by semiquantitative analysis. We found lower values for the GOA in eccentric knee extensor peak torque at 90 °/s ($p = 0.01$) and 180°/s ($p = 0.04$), and in electromyography activity (RMS) during eccentric contraction, in two angular velocities ($p < 0.01$). Higher values were found for the GOA in the proportion ($p = 0.03$) and in the relative cross-sectional area of type 2b fibers ($p = 0.02$). It was found a negative correlation between the concentric and eccentric knee extensor torque and the three subscales of the WOMAC questionnaire ($p < 0.05$). In the analysis of RAGE no difference was found between the groups. In semiquantitative analysis of collagen was found increased expression of collagen type I and type III for the GOA. Thus, men with knee OA grades I or II present functional, morphological and immunohistochemical changes of the quadriceps muscle, indicating possible neuromuscular adaptations. Therefore, in the early stages of knee OA, exercises should be recommended in order to minimize or delay the functional deficits resulting from OA.

Key words: Knee Osteoarthritis. Muscle biopsy. Knee extensor torque. Electromyography. RAGE. Collagen. WOMAC.

LISTA DE FIGURAS

ESTUDO I

Figura 1: Fotomicrografia, após reação enzimática de mATPase, para cortes transversais seriados (8 μm), de fragmentos do músculo VL, de um indivíduo com osteoartrite. As lâminas foram pré-incubadas em meio ácido (**figura 1A:** pH 4.3; **figura 1B:** pH 4.6) e em meio alcalino (**figura 1C:** pH 9.4). * indicam fibras tipo 1; setas (\rightarrow) indicam fibras tipo 2a e # indicam as fibras tipo 2b (aumento de 20X); setas duplas (\leftrightarrow) indicam o diâmetro menor. Barra = 50 μm . **52**

Figura 2: **53**

A - Proporção (%) dos tipos/subtipos de fibras para os grupos controle (GC) e osteoartrite (GOA);

B - Área Relativa (%) dos tipos/subtipos de fibras para o GC e GOA.

*: diferença estatística, $p < 0,05$ quando comparada a proporção de FT2b entre os grupos; #: diferença estatística, $p < 0,05$ quando comparada a área relativa de FT2b entre os grupos.

FT1: fibra tipo 1; FT2a: fibra tipo 2a; FT2b: fibra tipo 2b; Fhib: fibra híbrida

ESTUDO III

Figura 1: Fotomicrografia das lâminas com imunomarcção de RAGE (**figuras A e B**), laminina (**figuras C e D**) e a sobreposição das imagens (**figuras E e F**). **Figuras A, C e E** são representativas do grupo controle e **figuras B, D e F** do grupo osteoartrite. Seta cheia indica imunomarcção de RAGE intersticial e seta vazia imunomarcção de RAGE intracelular. (aumento de 40X); Barra = 50 μm **96**

Figura 2: **Figura 2:** **A e B** representam imunomarcção do colágeno I para o grupo controle (classificada como +) e grupo osteoartrite (classificada como +/+++), respectivamente. **C e D** representam imunomarcção do colágeno III para o grupo controle (classificada como ++/+++) e grupo osteoartrite (classificada como +++), respectivamente. (aumento de 20X); Barra = 100 μm híbrida **99**

LISTA DE TABELAS

ESTUDO I

Tabela 1: Média e desvio padrão dos dados antropométricos dos sujeitos	48
Tabela 2: Valores de pico de torque e RMS para o grupo controle e grupo osteoartrite	50
Tabela 3: Pontuação das seções dor, rigidez e função física do questionário WOMAC	51
Tabela 4: Mediana, máximo e mínimo valor para o diâmetro menor (μm) das fibras do músculo vasto lateral.	51

ESTUDO II

Tabela 1: Características dos indivíduos com osteoartrite	74
Tabela 2: Torque extensor do joelho normalizado pelo peso corporal	75
Tabela 3: Seções do questionário WOMAC	75
Tabela 4: Correlações entre o torque extensor concêntrico e excêntrico do joelho e as seções do questionário WOMAC em homens com osteoartrite graus I ou II	76

ESTUDO III

Tabela 1: Características demográficas **95**

Tabela 2: Localização do RAGE (intracelular, intersticial, intracelular+intersticial). **97**

Tabela 3: Análise de reatividade dos colágenos tipo I e tipo III, para os grupos controle (n=17) e osteoartrite (n=18) **98**

SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO	18
2. REVISÃO DA LITERATURA	20
3. ESTUDO I	35
3.1. Introdução	38
3.2. Pacientes e Métodos	40
3.2.1. Pacientes	40
3.2.2. Procedimentos	41
<i>Avaliação Isocinética</i>	42
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>	43
<i>Questionário WOMAC</i>	44
<i>Biópsia Muscular e Estudo Morfométrico</i>	45
3.3. Análise Estatística	47
3.4. Resultados	47
3.5. Discussão	54
4. ESTUDO II	65
4.1. Introdução	68
4.2. Materiais e Métodos	70
4.2.1. Sujeitos	70
4.2.2. Instrumentos e Procedimentos	71
<i>Avaliação Isocinética</i>	72
<i>Questionário WOMAC</i>	73
4.3. Análise Estatística	73
4.4. Resultados	74
4.5. Discussão	76
5. ESTUDO III	84
5.1. Introdução	88
5.2. Materiais e Métodos	90
5.2.1. Sujeitos	90
5.2.2. Biópsia Muscular	91
5.2.3. Imunohistoquímica	92
<i>Receptor de Produto Final da Glicação Avançada (RAGE)</i>	92

<i>Colágeno</i>	93
5.3. Análise dos Dados	94
5.4. Resultados	94
5.5. Discussão	99
5.6. Conclusão	103
APÊNDICE A	108
APÊNDICE B	110
APÊNDICE C	114
ANEXO A	117
ANEXO B	119
ANEXO C	151
ANEXO D	154
ANEXO E	156

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Essa tese foi desenvolvida com o propósito de avaliar indivíduos com osteoartrite (OA) de joelho, visto que essa desordem é altamente prevalente na população economicamente ativa, sendo seu estudo de grande interesse médico-social.

Indivíduos com OA de joelho apresentam muitas alterações funcionais, tal como a fraqueza muscular, principalmente do músculo quadríceps. Existe um crescente interesse no estudo da fraqueza do músculo quadríceps, principalmente porque essa tem sido apontada como responsável tanto pela patogênese quanto pela evolução da OA. No entanto essa fraqueza muscular tem sido avaliada em todos os graus de OA, ou apenas em graus mais avançados, sendo escassos os estudos que avaliaram os estágios iniciais dessa doença.

Além de alterações na força muscular, tem sido relatado que sujeitos com OA de joelho podem apresentar alterações morfológicas no músculo quadríceps, no entanto os estudos nos graus iniciais da OA também são escassos.

Nesse sentido, faz-se necessário que estudos morfológicos e funcionais do músculo quadríceps sejam realizados já nos graus I ou II da OA de joelho. Para a fisioterapia, investigar tais aspectos é fundamental com o intuito de direcionar programas de reabilitação. A detecção precoce das alterações funcionais, e também das suas possíveis causas, pode auxiliar no desenvolvimento de programas de reabilitação que contribuam para minimizar ou retardar o aparecimento dos déficits funcionais decorrentes da OA.

Tendo em vista o exposto, esta tese compreende três manuscritos que buscaram contemplar tais aspectos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A osteoartrite (OA) é uma doença crônica, de evolução lenta e progressiva (JONES *et al.*, 2012; COIMBRA *et al.*, 2002), caracteriza pela interação complexa entre degradação e reparo na cartilagem, osso e sinóvia, com componente inflamatório (BONFANTE *et al.*, 2008). O número de pessoas afetadas pela OA aumenta com a idade, sendo que existe uma reduzida incidência antes dos 40 anos (JONES *et al.*, 2012; ZHANG; JORDAN, 2010). Estima-se que em 2030 cerca de 20 a 30% da população mundial apresentará algum tipo de OA (FRENCH *et al.*, 2009). No Brasil essa desordem é altamente prevalente, sendo responsável pela aposentadoria precoce e incapacidade de muitos indivíduos economicamente ativos (MALDONADO, 1994).

Ressalta-se, porém, que ainda que a expectativa de vida esteja aumentando, e essa doença seja comum principalmente na população acima de 60 anos (HAQ; MURPHY; DACRE, 2003), não está bem esclarecido na literatura sua etiologia, bem como se é possível a sua detecção precoce (GOBEZIE *et al.*, 2007).

Numerosos fatores de risco são citados para o desenvolvimento da OA tais como a idade, sexo, traumas prévios, fatores genéticos e obesidade (BEATTIE *et al.*, 2012; ABRAMSON; ATTUR, 2009; MIYAGUCHI *et al.*; 2003). A idade é o fator de risco mais fortemente correlacionado com a OA. Alterações morfológicas na cartilagem articular, decorrentes do envelhecimento, ocorrem pela diminuição na capacidade dos condrócitos em manter e reparar esse tecido (MARTIN; BUCKWALTER, 2002), o que pode levar ao desenvolvimento da OA. Além disso, os condrócitos possuem receptores de estrógeno, e existem evidências de que esse hormônio tem uma característica condroprotetora. Sendo assim, a incidência de OA em mulheres acima dos 40-50 anos (após a menopausa) é maior que em homens nessa mesma faixa etária (SOWERS *et al.*, 2006; RICHMOND *et al.*, 2000). Além disso, fatores mecânicos também têm sido relacionados à etiologia e progressão da OA de joelho. Isso porque o mau alinhamento

do joelho no plano frontal altera a distribuição local de carga, na superfície articular, o que determina a progressão da OA, acelerando déficits funcionais (GIBSON; SAYERS; MINOR, 2010). Waters; Mulroy (1999) demonstraram que a fraqueza muscular, a dor, a deformidade articular e a instabilidade em pacientes com OA de joelho aumentam a energia despendida durante a marcha.

Clinicamente a OA é caracterizada por dor, rigidez matinal, crepitação óssea, edema e progressiva perda funcional (KIDD, 2006), sendo o joelho a articulação de sustentação de peso mais frequentemente acometida (GOMES *et al.*, 2012; FELSON, 2006). Indivíduos com OA de joelho relatam dificuldades principalmente na realização de atividades funcionais tais como sentar por períodos prolongados, subir e descer escadas, caminhar, agachar e ajoelhar (BENNELL *et al.*, 2003). Diante dessas alterações funcionais, muitos estudos têm demonstrado que sujeitos com OA de joelho apresentam redução na sua qualidade de vida (SANTOS *et al.*, 2011; LESSI *et al.*, 2011; BROOKS, 2002; BUCKWALTER *et al.*, 2001), o que torna seu estudo relevante.

O diagnóstico clínico da OA geralmente é baseado nos critérios do *American College of Rheumatology*, que inclui dor no joelho e presença de osteófitos, associados com pelo menos um dos seguintes aspectos: idade igual ou superior a 50 anos, rigidez matinal que dura menos que trinta minutos, ou crepitação à movimentação ativa do joelho (ALTMAN *et al.*, 1986). Para se graduar a severidade dessa doença utiliza-se a classificação radiológica segundo os critérios de Kellgren e Lawrence (1957) considerada padrão ouro entre os métodos de imagem que podem ser utilizados na avaliação da OA (SHAMIR *et al.*, 2010; SCHIPHOF; BOERS; BIERMA-ZEINSTR, 2008).

O critério de Kellgren e Lawrence avalia a severidade e a progressão da OA de acordo com a avaliação do espaço articular, do osso subcondral e pela presença de

osteófitos, tendo sido adotado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como referência padrão para estudos epidemiológicos longitudinais. Com base nesse critério a OA pode ser classificada em diferentes estágios, sendo esses: grau I o início da OA com presença de mínimos osteófitos de importância duvidosa, grau II a OA com presença de osteófitos definidos não existindo, porém, diminuição do espaço intra-articular, grau III a articulação com osteófitos e com diminuição do espaço intra-articular e grau IV com a articulação com importante diminuição do espaço intra-articular e esclerose do osso subcondral (LINK *et al.*, 2003).

Sujeitos com OA de joelho também apresentam alterações em outras estruturas intra-articulares, além da cartilagem, e em estruturas extra-articulares, tais como sinóvia, meniscos, ligamentos, músculos e sistema sensorial aferente (ROOS *et al.*, 2011). Sendo assim, a OA de joelho além de estar relacionada com os sintomas de dor e rigidez articular também está associada com fraqueza muscular (JONES *et al.*, 2012; IWAMOTO; TAKEDA; SATO., 2007) e com reduzida estabilidade articular (HURLEY, 2003).

Desse modo, a presença da OA afeta negativamente a integridade da estrutura articular e a função dos músculos, tornando a fraqueza muscular, principalmente do músculo quadríceps, um problema secundário à OA de joelho (BENNELL *et al.* 2008). No entanto, uma vez que os músculos são importantes estruturas de absorção de choque e de estabilização dinâmica da articulação, a fraqueza desse músculo pode também ser considerada um fator de risco para o desenvolvimento e progressão da OA. Já que estando fracos deixam de desempenhar suas funções, o que pode levar ao aumento da sobrecarga articular (CONROY *et al.*, 2012; BENNELL *et al.*, 2008; LEWEK; RUDOLPH; SNYDER-MACKLER, 2004; SEMBLE; LOESER; WISE, 1990).

A maioria dos estudos que investigou a força do músculo quadríceps em OA de joelho utilizou avaliação isométrica (O'REILLY *et al.*, 1998; VAN DER ESCH *et al.*, 2007). Foi encontrado que indivíduos com OA de joelho apresentam diminuição na força isométrica do músculo quadríceps quando comparados a um grupo controle saudável (PALMIERI-SMITH *et al.*, 2010). Hurley *et al.* (1997) detectaram que pacientes com vários graus de OA de joelho apresentam o músculo quadríceps 10 a 60% mais fraco, isometricamente, quando comparados com indivíduos saudáveis do mesmo sexo e mesma faixa etária. No entanto, os sintomas de sujeitos com OA de joelho são relatados durante atividades de vida diária tais como subir e descer escadas, levantar ou sentar de uma cadeira (HALL; HAYES; FALCONE, 1993). E essas atividades envolvem tanto ações concêntricas (HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002) quanto excêntricas (HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002; STEULTJENS *et al.*, 2001) do músculo quadríceps.

A atividade concêntrica do músculo quadríceps é funcionalmente importante, sendo necessária, por exemplo, durante a subida de degraus. Além disso, a coordenação precisa entre a atividade desse músculo e o movimento da articulação do joelho é essencial para atenuar forças e controlar a sobrecarga articular durante a locomoção. Isso porque o controle da flexão do joelho pelo músculo quadríceps ocorre quando o peso é transferido para o membro de apoio, e atua para dissipar a carga (BENNELL *et al.*, 2008; HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002). Para que esse evento ocorra é necessária, principalmente, a ação excêntrica desse músculo. Assim, a inabilidade em atenuar adequadamente as forças compressivas no joelho, decorrente da fraqueza muscular, pode resultar em carga excessiva na articulação (LEWEK; RUDOLPH; SNYDER-MACKLER, 2004). Estudos em indivíduos com OA de joelho observaram que os mesmos tocam o solo, durante a marcha, com menor flexão do joelho

(MÜNDERMAN; DIRBY; ANDRIACCHI, 2005), estando essa limitação também presente durante a descida de degraus (HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002). Possivelmente isso seria pela menor ação excêntrica do músculo quadríceps.

O declínio gradual da força do músculo quadríceps associado à OA de joelho, tem sido atribuído, em partes, à inibição muscular artrogênica (HASSAN; MOCKETT; DOHERTY, 2001; O'REILLY *et al.*, 1998; HURLEY *et al.*, 1997). É sugerido que a falha de ativação em OA pode ser decorrente da dor, edema e das lesões articulares (SCOPAZ *et al.*, 2009; LEWEK; RUDOLPH; SNYDER-MACKLER, 2004), que resultam em informações articulares aferentes anormais enviadas aos motoneurônios α , consequentemente reduzindo a ativação muscular (HURLEY *et al.*, 1997). Assim, uma vez que os músculos podem não estar totalmente ativados, eles deixam de desempenhar corretamente sua função de estabilidade dinâmica da articulação, consequentemente carga excessiva é transmitida para a superfície articular, acelerando o processo da doença e iniciando um ciclo de descontrole (LEPHART; FU, 2000).

Existem alguns outros fatores, apontados na literatura, que também podem contribuir para o surgimento da fraqueza do músculo quadríceps na OA de joelho: diminuição na área de secção transversa muscular e atrofia e/ou redução no número de fibras musculares (PAN *et al.*, 2011; FINK *et al.*, 2007; IKEDA; TSUMURA; TORISU, 2005).

Ikeda; Tsumura; Torisu (2005) encontraram que mulheres com OA de joelho graus II ou mais têm 12% de redução na área de secção transversa do músculo quadríceps quando comparadas com mulheres da mesma idade, mas sem alterações do joelho. Fink *et al.* (2007) encontraram atrofia de fibras tipo 1 e tipo 2 no músculo vasto medial de pacientes com graus avançados de OA de joelho que foram submetidos à artroplastia total.

Sirca; Susec-Michieli (1980) estudaram a distribuição de fibras tipo 1 e 2 nos músculos glúteo máximo, glúteo médio e tensor da fáscia lata em pacientes com OA de quadril e compararam com indivíduos normais mais jovens e com indivíduos normais de mesma faixa etária. Encontraram diminuição significativa no diâmetro de ambos os tipos de fibras e no número total de fibras tipo 2 conforme o aumento da idade. No entanto, nos indivíduos portadores de OA o grau de atrofia seletiva de fibras tipo 2 foi significativamente maior quando comparado aos indivíduos normais jovens e adultos com mesma faixa etária. Esses autores interpretaram tal atrofia como uma possível consequência da diminuição da atividade muscular decorrente da OA.

Nakamura; Suzuki (1992) estudaram as anormalidades musculares em pacientes com OA degenerativa por meio de exame histológico e histoquímico. Foram realizadas biópsias de 26 músculos vasto lateral de pacientes com OA de joelho, 21 músculos glúteo médio em pacientes com OA de quadril e de 16 indivíduos normais, não portadores de OA, da mesma faixa etária que o grupo com OA, compondo o grupo controle. Foi detectada atrofia de fibras tipo 2 tanto nos indivíduos com OA quanto nos indivíduos normais. No entanto, houve maior frequência de atrofias de fibras tipo 2 no músculo vasto lateral de pacientes com OA de joelho (73,1% das fibras atrofiadas para o grupo OA e 6,3% para o grupo controle), quando comparado ao grupo controle.

Além de alterações articulares degenerativas, é sabido que existe inflamação nas articulações acometidas pela OA, sendo que algumas citocinas inflamatórias tais como a IL1- β (interleucina 1 beta) e o TNF- α (fator de necrose tumoral) são apontados como citocinas chaves na patogênese da OA (BONDESON *et al.*, 2006).

Alguns estudos demonstraram que muitas doenças inflamatórias crônicas, tais como diabetes, aterosclerose e a OA podem apresentar acúmulo de produtos finais da

glicosilação avançada, os AGEs (HIROSE *et al.* 2011; BIERHAUS; STERN; NAWROTH 2006).

Os AGEs constituem uma grande variedade de substâncias formadas a partir de interações, não-enzimáticas, entre açúcares redutores (como a glicose) ou lipídeos oxidados e proteínas, aminofosfolipídeos ou ácido nucléicos. Seus efeitos patológicos estão relacionados à capacidade de gerarem estresse oxidativo e aumento da expressão de mediadores inflamatórios. Esses compostos são capazes de formar ligações cruzadas com proteínas, gerando alterações funcionais em muitos tecidos e órgãos (BARBOSA *et al.*, 2008). Muitos dos efeitos deletérios dos AGEs são mediados por seus receptores (DE LA MAZA *et al.*, 2008). Os RAGEs são os receptores de AGEs mais conhecidos, e pertencem à família de imunoglobulinas (MAILLARD-LEFEBVRE *et al.*, 2009). Também são considerados receptores multi-ligantes uma vez que também se ligam a mediadores de citocinas pró-inflamatórias (STERN *et al.*, 2002).

Desse modo, uma vez que foram encontrados esses compostos na cartilagem, na urina (DEGROOT *et al.*, 2004), no plasma e no líquido sinovial de pacientes com OA (CHAYANUPATKUL; HONSAWEK, 2010), e tendo a OA uma caráter sistêmico, poderia ser esperado acúmulo de AGEs e RAGEs também no músculo desses indivíduos.

De maneira geral, no músculo esquelético esses compostos estão acumulados em proteínas de meia-vida longa (DE LA MAZA *et al.*, 2008). Intracelularmente a miosina está susceptível à glicosilação (RAMAMURTHY *et al.*, 2001) enquanto que extracelularmente tem sido demonstrado aumento da concentração desses produtos no colágeno (HAUS *et al.*, 2007).

A presença de AGEs e RAGEs no colágeno muscular leva à maturação das pontes cruzadas do tecido conjuntivo tornado-as mais firmes e estáveis, aumentando a

rigidez e, conseqüentemente, diminuindo a função muscular (HAUS *et al.*, 2007). Assim, uma vez que a função das fibras colágenas no músculo é estrutural e de transmissão de forças, seja ativamente produzidas pelo músculo ou passivamente impostas a ele (KUROSE *et al.*, 2006), pode-se sugerir que a presença de produtos finais da glicosilação e de seus receptores, no músculo de indivíduos com OA, decorrente da presença de citocinas inflamatórias, podem acarretar em alterações funcionais.

Assim, em pacientes com graus iniciais de OA de joelho os déficits de força muscular, que podem estar relacionados com alterações de ativação e com possíveis alterações morfológicas, ainda não estão esclarecidos, o que torna essa investigação relevante. Além disso, a análise da expressão dos receptores do AGE e de expressão do colágeno muscular também é importante, principalmente no que diz respeito se alterações funcionais podem também ter influência desses compostos. Cabe salientar também a necessidade do estudo da ação tanto concêntrica quanto excêntrica do músculo quadríceps, e da sua relação com a capacidade funcional e sintomas nessa população, o que pode auxiliar no desenvolvimento de programas de reabilitação que contribuam para minimizar ou retardar o aparecimento dos déficits funcionais decorrentes da OA, desde os seus estágios mais precoces.

Tendo em vista todos esses aspectos, o objetivo dessa tese foi investigar a força e os aspectos morfológicos e imunohistoquímicos do músculo quadríceps de homens com graus I ou II de osteoartrite de joelho, e verificar se existe relação entre a força do músculo quadríceps e os sintomas auto-relatados por indivíduos nos graus iniciais de OA de joelho. Para tanto foram desenvolvidos três estudos que são apresentados a seguir.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMSON, S.B.; ATTUR, M. Developments in the Scientific Understanding of Osteoarthritis. **Arthritis Res Ther**, v. 11, p. 227, 2009.

ALTMAN, R. *et al.* Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: Classification of osteoarthritis of the knee. **Arthritis Rheum**, v. 29, p. 1039-1049, 1986.

BARBOSA, J.H.P.; OLIVEIRA, S.L.; SEARA, L.T. O papel dos produtos finais da glicosilação avançada (AGEs) no desencadeamento das complicações vasculares do diabetes. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 52, p. 940-950, 2008.

BEATTIE, K.A. *et al.* Longitudinal changes in intermuscular fat volume and quadriceps muscle volume in the thighs of women with knee osteoarthritis. **Arthritis Care Res**, v.64, p. 22-9, 2012.

BENNELL, K. L. *et al.* Relation of knee joint proprioception to pain and disability in individuals with knee osteoarthritis. **J Orth Research**, v. 21, p. 729-97, 2003.

BENNELL, K.L. *et al.* Role of muscle in the genesis and management of knee osteoarthritis. **Rheum Dis Clin N Am**, v. 34, p. 731-754, 2008.

BIERHAUS, A.; STERN, D.M.; NAWROTH, P.P. RAGE in inflammation: a new therapeutic target? **Curr Opin Investig Drugs**, v. 7, p. 985-991, 2006.

BONDESON, J. *et al.* The role of synovial macrophages and macrophage-produced cytokines in driving aggrecanases, matrix metalloproteinases, and other destructive and inflammatory responses in osteoarthritis. **Arthr Res Ther**, v. 8, p. R187, 2006.

BONFANTE, H.L. *et al.* Avaliação do uso da hidroxicloroquina no tratamento da osteoartrite sintomática de joelhos. **Rev Bras Reumat**, v. 48, p.208-212, 2008.

BROOKS, P.M.. Impact of osteoarthritis on individuals and society: how much disability? Social consequences and health economic implications. **Curr Opin Rheumatol**, v. 14, p 573-577, 2002.

BUCKWALTER, J.A *et al.* The increasing need for nonoperative treatment of patients with osteoarthritis. **Clin Orthop Relat Res**, v. 385, p 36-345, 2001.

CHAYANUPATKULA, M.; HONSAWEKB, S. Soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in plasma and synovial fluid is inversely associated with disease severity of knee osteoarthritis. **Clin Bioch**, v. 43, p. 1133–1137, 2010.

COIMBRA, I.B. *et al.* Consenso brasileiro para o tratamento da osteoartrite (artrose). **Rev Bras Reum**, v. 42, p. 371-374, 2002.

CONROY, M.B. *et al.* Muscle strength, mass, and quality in older men and women with knee osteoarthritis. **Arthritis Care Res**, v. 64, p. 15-21, 2012.

DEGROOT, J. *et al.* Accumulation of advanced glycation end products as a molecular mechanism for aging as a risk factor in osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 50, p. 1207-1215, 2004.

DE LA MAZA, M.P. *et al.* Weight increase is associated with skeletal muscle immunostaining for advanced glycation end products, receptor for advanced glycation end products, and oxidation injury. **Rejuvenation Res**, v. 11, p. 1041-1048, 2008.

FELSON, D.T. Osteoarthritis of knee. **New Engl J Med**, v. 354, p. 841-848, 2006.

FINK, B. *et al.* Morphologic changes in the vastus medialis muscle in patients with osteoarthritis of the knee. **Arthritis Rheum**, v. 56, p. 3626-3633, 2007.

FRENCH, H.P *et al.* Exercise and manual physiotherapy arthritis research trial (EMPART): a multicentre randomised controlled trial. **BMC Muscul Dis**, v. 10, 2009.

GIBSON, K.; SAYERS, S.P.; MINOR, M.A. Measurement of varus/valgus alignment in obese individuals with knee osteoarthritis. **Arthritis Care Res**, v. 62, p. 690-96, 2010.

GOBEZIE, P. *et al.* High abundance synovial fluid proteome: distinct profiles in health and osteoarthritis. **Arthritis Res Ther**, v. 9, p. 2-15, 2007.

GOMES, W.F. *et al.* Effect of aerobic training on plasma cytokines and soluble receptors in elderly women with knee osteoarthritis, in response to acute exercise. **Clin Rheumatol**, published online, 2012.

HAQ, I.; MURPHY, E.; DACRE, J. Osteoarthritis. **Prostgrad Med**, v.79, p. 377-83, 2003.

HALL, K.D.; HAYES, K.W.; FALCONE, J.. Differential strength decline in patients with osteoarthritis of the knee: revision of a hypothesis. **Arthritis Care Res**, v. 6, p. 89-96, 1993.

HASSAN, B.S.; MOCKETT, S.; DOHERTY, M. Static postural sway, proprioception, and maximal voluntary quadriceps contraction in patients with knee osteoarthritis and normal control subjects. **Ann Rheum Dis**, v. 60, p. 612-8, 2001.

HAUS, J.M. *et al.* Collagen, cross-linking, and advanced glycation end products in aging human skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v. 103, p. 2068-2076, 2007.

HINMAN, R.S.; BENNELL, K.L.; CROSSLEY, K.M. Delayed onset of quadriceps activity and altered knee joint kinematics during stair stepping in individuals with knee osteoarthritis. **Arch Phys Med Rehabil**, v. 83, p. 1080-6, 2002.

HIROSE, J. *et al.* Immunohistochemical distribution of advanced glycation end products (AGEs) in human osteoarthritic cartilage. **Acta Histochemica**, v. 113, p. 613-618, 2011.

HORTOBÁGYI, T. *et al.* Aberrations in the control of quadriceps muscle force in patients with knee osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 51, p. 562-9, 2004.

HURLEY, M.V. *et al.* Sensorimotor changes and functional performance in patients with knee osteoarthritis. **Ann Rheum Dis**, v. 56, p. 641-648, 1997.

HURLEY, M.V. Muscle dysfunction and effective rehabilitation of knee osteoarthritis: what we know and what we need to find out. **Arthritis Rheum**, v. 49, p. 444-452, 2003.

IKEDA, S.; TSUMURA, H.; TORISU, T. Age-related quadriceps-dominant muscle atrophy an incidence radiographic knee osteoarthritis. **J Orthop Sci**, v. 10, p. 121-126, 2005.

IWAMOTO, J.; TAKEDA, T.; SATO, Y. Effect of muscle strengthening exercises on the muscle strength in patients with osteoarthritis of the knee. **Knee**, v. 14, p. 224-230, 2007.

JONES, A. *et al.* Impact of cane use on pain, function, general health and energy expenditure during gait in patients with knee osteoarthritis: a randomised controlled trial. **Ann Rheum Dis**, v. 71, p. 172-79, 2012.

KELLGREN, J.H.; LAWRENCE, J.S. Radiological assessment of osteo-arthrosis. **Ann Rheum Dis**, v.16, p. 494-502, 1957.

KIDD, B.L. Osteoarthritis and joint pain. **Pain**, v. 123, p. 6-9, 2006.

KUROSE, T. *et al.* Distribution and change of collagen types I and III and elastin in developing leg muscle in rat. **Hiroshima J Med Sci**, v. 55, p. 85-91, 2006.

LESSI, G.C. *et al.* Male subjects with early-stage knee osteoarthritis do not present biomechanical alterations in the sagittal plane during stair descent. **Knee**, doi:10.106/j.knee.2011.07.001, 2011.

LEWEK, M.D.; RUDOLPH, K. S.; SNYDER-MACKLER, L. Control of frontal plane knee laxity during gait in patients with medial compartment knee osteoarthritis. **Osteoarth Cart**, v. 12, p. 745–51, 2004.

LEPHART, S.M.; FU, F.H. **Proprioception and Neuromuscular Control in Joint Stability**. USA: Human Kinetics, 2000. 464 p.

LINK, T.M. *et al.* Osteoarthritis: MR imaging findings in different stages of disease and correlation with clinical findings. **Radiology**, v. 226, p. 373–381, 2003.

MAILLARD-LEFEBVRE, H. *et al.* Soluble receptor for advanced glycation end products: a new biomarker in diagnosis and prognosis of chronic inflammatory diseases. **Rheum**, v. 48, p. 1190–1196, 2009.

MALDONADO, N.G. Epidemiology of osteoarthritis in Latin America. **Rev Bras Reumat**, v.34, p. 261-266, 1994.

MARTIN, J.A.; BUCKWALTER, J.A. Aging, articular cartilage chondrocyte senescence and osteoarthritis. **Biogeront**, v. 3, p. 257-64, 2002.

MIYAGUCHI *et al.* Biochemical change in joint fluid after isometric quadriceps exercise for patients with osteoarthritis of the knee. **Osteoarthritis Cartil**, v. 11, p. 252-259, 2003.

MÜNDERMANN, A.; DYRBY, C.O.; ANDRIACCHI, T.P. Secondary gait changes in patients with medial compartment knee osteoarthritis - Increased load at the ankle, knee, and hip during walking. **Arthritis Rheum**, v. 52, p. 2835-2844, 2005.

NAKAMURA, T.; SUZUKI, K. Muscular changes in osteoarthritis of the hip and knee. **Nippo Seikeg Gak Zas**, v. 66, p. 467-75, 1992.

O'REILLY, S.C. *et al.* Quadriceps weakness in knee osteoarthritis: the effect on pain and disability. **Ann Rheum Dis**, v. 57, p. 588-594, 1998.

PALMIERI-SMITH, R.M. *et al.* Isometric quadriceps strength in women with mild, moderate, and severe knee osteoarthritis. **Am J Phys Med Rehabil**, v. 89, p. 541-548, 2010.

PAN, J. *et al.* Vastus lateralis/vastus medialis cross-sectional area ratio impacts presence and degree of knee joint abnormalities and cartilage T2 determined with 3T MRI – an analysis from the incidence cohort of the Osteoarthritis Initiative. **Osteoarthritis Cartil**, v. 19, p. 65-73, 2011.

RAMAMURTHY, B. *et al.* Changes in myosin structure and function in response to glycation. **FASEB J**, v. 15, p. 2415- 2422, 2001.

RICHMOND *et al.* Functional estrogen receptors in adult articular cartilage: estrogen replacement therapy increases chondrocyte synthesis of proteoglycans and insulin-like growth factor binding protein. **Arthritis Rheum**, v. 43, p. 2081-2090, 2000.

ROOS, E.M. *et al.* Muscle weakness, afferent sensory dysfunction and exercise in knee osteoarthritis. **Rheumat**, v. 7, p. 57-63, 2011.

SANTOS, M.L.A.S. *et al.* Muscle strength, muscle balance, physical function and plasma interleukin-6 (IL-6) levels in elderly women with knee osteoarthritis (OA). **Arch Gerontol Geriatr**, v. 52, p. 322-326, 2011.

SCHIPHOF, D.; BOERS, M., BIERMA-ZEINSTRAS, S.M.A. Differences in descriptions of Kellgren and Lawrence grades of knee osteoarthritis. **Ann Rheum Dis**, v. 67, p. 1034–1036, 2008.

SCOPAZ, K.A. *et al.* Effect of baseline quadriceps activation on changes in quadriceps strength after exercise therapy in subjects with knee osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 61, p. 951-957, 2009.

SEMBLE, E.L.; LOESER, R.F.; WISE, C.M. Therapeutic exercise for rheumatoid and osteoarthritis. **Sem Arthritis Rheum**, v. 20, p. 32-40, 1990.

SHAMIR, L., *et al.* Assessment of osteoarthritis initiative Kellgren and Lawrence scoring projects quality using computer analysis. **J Muscul Res**, v. 13, 197-201, 2010.

SIRCA, A.; SUSEC-MICHIELI, M. Selective type II fiber muscular atrophy in patients with osteoarthritis of the hip. **J Neurol Sci**, v. 44, p. 149-152, 1980.

SOWERS, M.R. *et al.* Estradiol and its metabolites and their association with knee osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 54, p. 2481-2487, 2006.

STERN, D. Receptor for advanced glycation end products: a multiligand receptor magnifying cell stress in diverse pathologic settings. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 54, p. 1615-25, 2002.

STEULTJENS, M.P.M. *et al.* Muscle strength, pain and disability in patients with osteoarthritis. **Clin. Rehabil**, v. 15, p. 331-334, 2001.

VAN DER ESCH, M. *et al.* Joint proprioception, muscle strength, and functional ability in patients with osteoarthritis of the knee. **Arthritis Rheum.**, v. 57, p. 787-793, 2007.

WATERS, R.L.; MULROY, S. The energy expenditure of normal and pathologic gait. **Gait Posture**, v. 9, p. 207-231, 1999.

ZHANG, Y.; JORDAN, J.M. Epidemiology of osteoarthritis. **Clin Geriatr Med**, v. 26, p. 355-369, 2010.

3. ESTUDO I

**HOMENS COM OSTEOARTRITE DE JOELHO GRAUS I OU II APRESENTAM
ALTERAÇÕES FUNCIONAIS E MORFOLÓGICAS DO MÚSCULO
QUADRÍCEPS FEMORAL**

Paula Regina Mendes da Silva Serrão¹; Karina Gramani Say¹; Fernando Augusto Vasilceac¹; Giovanna Camparis Lessi¹; Ana Beatriz Oliveira²; Ana Cláudia Mattiello Sverzut³; Stela Márcia Mattiello¹.

¹Laboratório de Análise da Função Articular, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos / São Carlos-SP; ²Laboratório de Cinesiologia Clínica e Ocupacional, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos / São Carlos-SP; ³Laboratório de Neuropatologia, Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo / Ribeirão Preto-SP.

RESUMO

OBJETIVO: Verificar se indivíduos com graus iniciais de OA de joelho apresentam alterações funcionais e morfológicas do músculo quadríceps. **MÉTODOS:** Participaram desse estudo 40 homens divididos em dois grupos: Grupo Controle (GC; 18 indivíduos saudáveis; $51,86 \pm 6,47$ anos) e Grupo Osteoartrite (GOA; 22 indivíduos com OA de joelho graus I ou II; $52 \pm 8,1$ anos). Foi realizada biópsia do músculo vasto lateral (VL) para análise morfométrica. A avaliação do torque extensor do joelho, concêntrico e excêntrico, a $90^\circ/s$ e $180^\circ/s$, foi realizada simultaneamente à avaliação da atividade eletromiográfica do músculo vasto lateral (valor do RMS). Além disso, foi aplicado o questionário WOMAC. Para análise intergrupo foi utilizado o teste T de student para amostras independentes e teste não-paramétrico U Mann-Whitney ($\alpha < 0,05$).

RESULTADOS: Foram encontradas diferenças significativas intergrupos no pico de torque extensor excêntrico a $90^\circ/s$ ($p=0,01$) e a $180^\circ/s$ ($p=0,04$), e no valor RMS, durante a mesma contração, nas duas velocidades angulares ($p < 0,01$) com maiores valores para o GC. Maiores valores no diâmetro menor das fibras tipo 1 ($p=0,03$), na proporção ($p=0,03$) e área transversa relativa da fibras tipo 2b ($p=0,02$) foram encontrados no GOA. Para o questionário WOMAC foram encontradas diferenças significativas, indicando pior qualidade de vida para o GOA ($p < 0,05$).

CONCLUSÃO: Assim, homens com estágios iniciais de OA apresentam déficits de força e na atividade elétrica dos músculos extensores do joelho e aumento no número fibras tipo 2b do músculo VL, indicando adaptações neuromusculares.

Palavras-chave: Osteoartrite de joelho. Biópsia muscular. Força muscular. Eletromiografia.

3.1. INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) de joelho é uma das mais comuns causas de incapacidade em todo mundo, sendo que sua prevalência aumenta com a idade (BRANDT; DIEPPE; ERIC, 2009; AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY, 2000). A fraqueza dos músculos ao redor da articulação do joelho, principalmente do músculo quadríceps, é comum em sujeitos com OA de joelho (HEIDEN; LLOYD; ACKLAND, 2009). Essa fraqueza pode ser decorrente da dor presente na OA, sendo determinante na diminuição funcional progressiva nesses indivíduos, o que pode levar a um aumento na dependência de caminhar, subir escadas e outras tarefas que envolvem o membro inferior (SANTOS *et al.*, 2011; BENNELL *et al.*, 2008; BENNELL; HINMAN; METCALF, 2004; FITZGERALD *et al.*, 2004; HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002). Entretanto, a fraqueza muscular também tem sido identificada como um potencial fator de risco para o desenvolvimento da OA (LEWEK; RUDOLPH; SNYDER-MACKLER, 2004). Dessa forma, a fraqueza do músculo quadríceps parece ser tanto uma consequência da OA de joelho quanto um fator de risco para o desenvolvimento da mesma.

A fraqueza desse músculo tem sido quantificada pela redução das forças isométrica e concêntrica máximas em indivíduos com graus mais avançados de OA (PALMIERI-SMITH *et al.*, 2010). Entretanto, sabe-se que os sintomas de sujeitos com OA ocorrem durante atividades de vida diária (AVD), e essas atividades envolvem tanto ações concêntricas assim como excêntricas (HORTOBÁGYI *et al.*, 2004). Dessa forma, investigações da força concêntrica e excêntrica do músculo quadríceps na OA de joelho tornam-se relevantes.

Alguns fatores têm sido apontados como possíveis causas da fraqueza do músculo quadríceps em OA de joelho em graus avançados, como a diminuição na área

de secção transversa (AST) muscular, a atrofia preferencial de fibras tipo 2 (FT2) e a redução no número dessas fibras (PAN *et al.*, 2011; FINK *et al.*, 2007; IKEDA; TSUMURA; TORISU, 2005; SLEMENDA *et al.*, 1997; NAKAMURA; SUZUKI, 1992). Considerando essas alterações morfológicas musculares na OA também poderiam ser esperadas alterações no nível de ativação muscular (HOUTMAN *et al.*, 2003; McHUGH *et al.*, 2001).

Desse modo, a falha na ativação muscular voluntária também tem sido considerada como um fator contribuinte na redução da força de extensão do joelho em pacientes com OA (HEIDEN; LLOYD; ACKLAND, 2009; BENNELL *et al.*, 2008; MIZNER *et al.* 2005; LEWEK; RUDOLPH; SNYDER-MACKLER, 2004), sendo atribuída ao déficit da capacidade do sistema nervoso central em ativar totalmente o músculo de forma voluntária (FITZGERALD *et al.*, 2004; LEWEK; RUDOLPH; SNYDER-MACKLER, 2004). Essa falha de ativação pode ser decorrente da degradação articular progressiva, que resulta em informação articular aferente anormal para os motoneurônios- α , conseqüentemente reduzindo sua ativação (inibição artrogênica) (HURLEY *et al.*, 1997). Estudos prévios da atividade elétrica dos músculos da coxa demonstraram que o músculo vasto lateral (VL) é o músculo mais ativado, dentre as quatro porções do músculo quadríceps, durante a realização de AVD (HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002). Dessa forma a análise da atividade elétrica desse músculo parece ser a mais importante.

Cabe ressaltar que esses estudos que investigaram a fraqueza do músculo quadríceps avaliaram vários graus de OA de joelho ou indivíduos com graus mais avançados da doença. Considerando a fraqueza do músculo quadríceps, que tem sido apontada como potencial fator de risco na evolução da OA, faz-se necessário que estudos morfológicos e funcionais sejam realizados nas fases iniciais da doença, ou seja,

nos graus I ou II da OA. Investigar tais aspectos é fundamental com o intuito de direcionar programas de reabilitação.

Assim, o objetivo desse estudo foi verificar possíveis alterações funcionais e morfológicas do músculo quadríceps em sujeitos com graus iniciais de OA de joelho, e comparar com um grupo controle saudável, sem alteração articular. Poderíamos hipotetizar que indivíduos com OA de joelho graus I ou II apresentam déficits de força muscular e estes estariam associados a déficits de ativação e alterações na quantidade e tamanho das fibras.

3.2. PACIENTES E MÉTODOS

3.2.1. Pacientes

Foram avaliados nesse estudo 60 homens, com idade entre 40 e 65 anos, que não realizavam atividade física regular – frequência menor que 3 vezes na semana (BLACKBURN *et al.*, 2006). Eles foram divididos em dois grupos: Grupo Controle (GC) com 26 sujeitos, sem qualquer disfunção na articulação do joelho e Grupo Osteoartrite (GOA) composto por 34 sujeitos com OA de joelho graus I ou II, unilateral ou bilateral.

O diagnóstico de OA foi baseado nos critérios clínicos recomendados pelo *American College of Rheumatology* (2000). Todos os sujeitos realizaram exame radiológico, de ambos os joelhos. Nos casos de presença de OA, sua gravidade foi graduada por um médico radiologista segundo os critérios de Kellgren & Lawrence (1957).

Para inclusão no GOA os sujeitos deveriam apresentar sinais de OA em pelo menos um dos compartimentos da articulação do joelho (tibiofemoral ou femoropatelar) (LESSI *et al.*, 2011), sem redução do espaço articular, e sendo classificada como grau I ou II (KELLGREN; LAWRENCE, 1957). Para inclusão no GC, os indivíduos não deveriam apresentar alterações radiográficas nos joelhos, bem como história de dor, traumas, cirurgias ou fraturas dos membros inferiores (LESSI *et al.*, 2011).

Os critérios de exclusão do GOA foram tratamento fisioterapêutico há pelo menos 12 meses prévios, uso de infiltração com corticosteróide no joelho (6 meses prévios) (HEIDEN; LLOYD; ACKLAND, 2009). Para ambos os grupos foram excluídos os sujeitos que apresentaram alguma restrição médica que os impossibilitassem de participar das avaliações propostas (alterações cardiorrespiratórias, neurológicas e/ou músculo-esqueléticas) e cirurgias prévias do joelho ou quadril (HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002; BENNELL *et al.*, 2003).

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (número 143/2007) (**Apêndice A**) e todos os participantes assinaram um Termo de Consentimento (**Apêndice B**).

3.2.2. Procedimentos

O membro afetado ou o mais sintomático (nos casos de OA bilateral) foi avaliado no GOA (HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002). Para o GC foi avaliado o lado dominante (foi demonstrado ausência de diferenças estatísticas na análise de parâmetros isocinéticos entre os membros) (AQUINO *et al.*, 2002). O membro dominante foi determinado a partir da pergunta “Qual perna você utiliza para chutar uma bola o mais longe possível?”.

Avaliação isocinética: A avaliação do torque extensor do joelho foi feita por meio de um dinamômetro isocinético (Biodex Multi-Joint System 3, Biodex Medical Incorporation, New York, NY, USA).

Foram avaliados os torques extensores concêntrico e excêntrico do joelho, nas velocidades angulares de 90°/s e 180°/s. Previamente ao início da avaliação, o dinamômetro isocinético foi devidamente calibrado de acordo com o manual fornecido pelo fabricante do equipamento. Além disso, antes da avaliação os indivíduos realizaram aquecimento em bicicleta ergométrica por 5 minutos, com carga de 75W e velocidade constante de 20km/h (VAN CINGEL *et al.*, 2006), e auto-alongamento dos músculos quadríceps, isquiotibiais e tríceps sural (3 vezes de 30 segundos para cada grupo muscular).

A avaliação foi realizada com o sujeito sentado, estabilizado na cadeira do equipamento por meio de dois cintos que transpassam o tronco, por um cinto na coxa do membro a ser avaliado e por um cinto pélvico. O eixo da articulação do joelho (epicôndilo lateral do fêmur) foi alinhado ao eixo de rotação do braço mecânico do dinamômetro e a resistência foi aplicada distalmente na perna, 5 cm acima do maléolo medial.

O sujeito foi instruído a manter os braços cruzados na frente do tronco durante o teste, para evitar compensações. Após as instruções a respeito do teste, antes de cada modalidade de contração muscular, os sujeitos realizaram 3 contrações submáximas para familiarização. Os indivíduos realizaram 5 contrações isocinéticas concêntricas máximas (no modo concêntrico-concêntrico) e 5 contrações isocinéticas excêntricas máximas (no modo excêntrico-excêntrico), na amplitude de movimento de 20° a 90° (0° extensão completa do joelho), na velocidade angular de 90°/s. Em seguida foram realizadas 10 contrações isocinéticas concêntricas máximas e 10 contrações isocinéticas

excêntricas máximas, na mesma amplitude de movimento, na velocidade angular de 180°/s. Entre cada tipo de contração e entre cada velocidade foi permitido um período de repouso de 5 minutos (HORTOBÁGYI *et al.*, 2004). Durante as contrações utilizou-se um comando verbal para encorajar os participantes a produzir torque máximo. Para corrigir a influência do efeito da gravidade no torque, o membro foi pesado, seguindo as instruções do manual do dinamômetro isocinético. Os resultados de torque dos testes foram automaticamente corrigidos pelo software.

Os dados de dinamometria isocinética foram coletados numa frequência de aquisição de 100hz. Para cada tipo de contração e velocidade foi calculada a média de todos os picos de torque. Os dados de torque, mensurados em Nm, foram normalizados pela massa corporal em Kg, usando a seguinte fórmula: (torque Nm / peso corporal Kg) X 100 (ROBINSON; NEE, 2007).

Avaliação Eletromiográfica: A atividade eletromiográfica de superfície (EMG) do músculo VL foi captada durante a avaliação do torque extensor do joelho. Foi utilizado um eletromiógrafo EMG System do Brasil, modelo EMG-8, que possui uma placa de conversão analógico-digital de 12 bits, ganho de amplificação total de 1000 vezes, filtro passa-banda de 20 a 400Hz, e modo-comum de rejeição de 100dB. Os sinais foram captados a partir de dois eletrodos de superfície descartáveis, auto-adesivos, de Ag/AgCl (Medi-Trace™, Kendall, Mansfield, MA, USA), conectados a um pré-amplificador simples diferencial (ganho de 20 vezes). Os dados foram registrados com frequência de amostragem de 1000 Hz por canal, a partir do software AqDados, que também registrou os dados de amplitude de movimento do dinamômetro isocinético, o que possibilitou a sincronização dos dados.

Após tricotomia e limpeza da pele com álcool 70%, os eletrodos foram fixados na pele a uma distância de 20 mm entre eles, sobre o ventre muscular, de acordo com as recomendações do SENIAM (a 2/3 da borda lateral da patela, em uma linha que une a espinha ilíaca ântero-superior à borda lateral da patela) (HERMENS; FRERIKS, 1999). Um eletrodo de referência foi posicionado no punho oposto ao membro a ser avaliado. Os eletrodos também foram fixados com fita adesiva hipoalergênica para reduzir artefatos de movimento.

Os dados eletromiográficos foram normalizados pela atividade eletromiográfica obtida durante a contração isométrica máxima (a contração isométrica foi realizada previamente aos testes isocinéticos, com o joelho a 60° de flexão, e teve duração de 10 segundos).

Os sinais eletromiográficos do músculo VL, obtidos durante as contrações isocinéticas concêntricas e excêntricas máximas, foram processados a partir do software MatLab (versão 7.0.1, MathWorks Inc., Natick, USA). Os dados foram filtrados com filtro passa-banda de 20 a 400Hz, Butterworth de segunda ordem, e atraso de fase zero. Foi calculada a amplitude RMS (raiz quadrada da média dos quadrados) referente ao intervalo de tempo em que o joelho estava posicionado entre 30 e 70°. Este período foi identificado a partir dos dados de amplitude de movimento obtidos pelo goniômetro do dinamômetro isocinético e armazenados junto aos sinais eletromiográficos.

Questionário WOMAC: A dor, rigidez e a função física foram avaliadas por meio de um questionário específico para OA de membro inferior, o WOMAC (*Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index*). O WOMAC é um questionário, auto-relatado, de qualidade de vida, tridimensional, traduzido e validado para a língua Portuguesa (SANTOS *et al.*, 2011) (**Anexo C**). Os escores de cada item desse

questionário correspondente a uma determinada seção (dor, rigidez e a função física) foram obtidos e calculados utilizando a Escala Likert. Foi considerada a pontuação máxima de cada seção em porcentagem, sendo que quanto maior a pontuação pior a dor, rigidez e função física. Esse questionário foi aplicado previamente à realização de todos os procedimentos.

Biópsia Muscular e estudo morfométrico: A retirada do fragmento do músculo VL da coxa foi realizada duas semanas antes das avaliações funcionais, por meio de biópsia, no membro acometido (ou mais acometido) do GOA, e no membro dominante para o GC.

A biópsia foi realizada no músculo VL utilizando técnica de Bergström (BERGSTROM, 1975). O fragmento do músculo VL foi obtido a partir da metade da distância entre uma linha imaginária, que vai do trocânter maior do fêmur até o ápice da patela. Previamente à biópsia foram realizadas assepsia e anestesia local utilizando lidocaína a 2% sem vasoconstrictor. Em seguida, uma pequena incisão foi feita com aproximadamente 0,5 cm de pele, tecido subcutâneo e fáscia muscular utilizando lâmina de bisturi 11 (SCHILLING *et al.*, 2005). O procedimento foi feito por meio de biópsia de agulha (4.5 mm) (a partir de um modelo de agulha Bergström). Após a retirada dos fragmentos musculares, a incisão foi ocluída com esparadrapo estéril, e bandagem compressiva foi colocado sobre o local da incisão.

Imediatamente após sua retirada, todos os fragmentos foram recobertos por talco, congelados em nitrogênio líquido e armazenados em criotubo, em freezer a -80° Celsius. Posteriormente, cortes transversais seriados (8 µm) foram feitos em criostato (Leica, CM 1850, Nussloch, Germany). Reações histoenzimológicas para Adenosina Trifosfatase Miofibrilar (mATPase) foram realizadas, sendo as lâminas coradas para

mATPase pré-incubadas em meios ácidos (pH 4.3 e 4.6) e alcalino (pH 9.4), o que possibilitou a caracterização das fibras musculares Tipo 1 (FT1), Tipo 2a (FT2a), Tipo 2b (FT2b) e híbridas (Fhib). Essa caracterização dos tipos de fibras musculares, conforme reportado por Engel e Cunningham (1963), permitiu a análise morfométrica do fragmento muscular de cada sujeito, sendo realizado por um observador treinado para essa tarefa, que não teve acesso prévio à identificação das lâminas.

As lâminas coradas pela reação de ATPase foram observadas em microscópio de luz (Axiolab, Carl Zeiss, Jena, Germany), em um aumento de 20 vezes. Três campos foram capturados aleatoriamente de cada corte por meio de uma câmera digital (Sony DSCs75, Tokyo, Japan) acoplada ao microscópio. A análise morfométrica foi realizada com auxílio do sistema de análises Image J (version 1.45, National Institutes of Health, Bethesda, USA).

Após a classificação/identificação dos tipos de fibras musculares foi avaliado o diâmetro menor das fibras, que foi definido por Brooke e Engel (1969) como a “maior distância entre os lados opostos considerando o aspecto mais estreito de uma fibra muscular”. Essa variável não é alterada pela obliquidade ou por possíveis distorções subsequentes ao seccionamento transversal imperfeito da amostra (DUBOWITZ, 1985). A análise da porcentagem de fibras (número do tipo-subtipo de fibra muscular / número total de fibras musculares) foi realizada utilizando as lâminas pré-incubadas em pH 4.6.

Também foi calculada a área transversal relativa (ATR) de cada tipo-subtipo de fibras no fragmento analisado. A ATR das fibras musculares determina a porcentagem da área ocupada por cada tipo de fibra em uma amostra de músculo. Para o cálculo da ATR foram realizadas as seguintes etapas: 1) cálculo da área transversal (AT) de cada tipo/subtipo de fibra muscular: proporção do tipo/subtipo de fibra muscular X área transversal do tipo/subtipo de fibra; 2) cálculo da área transversal total (ATT) das fibras

da amostra do fragmento muscular: AT FT1 + AT FT2a + AT Fhib + AT FT2b; 3) cálculo da ATR de cada tipo/subtipo de fibra: $(AT \div ATT) \times 100$.

3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados por meio do programa Statistica[®] 7.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, USA). Inicialmente valores descritivos (média, desvio padrão, mediana, máximo e mínimo) foram obtidos para todos os dados. Para verificar a normalidade dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilks. Para a análise intergrupo, para os dados que apresentaram distribuição normal (dados antropométricos, torque extensor do joelho concêntrico e excêntrico e dados eletromiográficos) foi utilizado o teste-T Student para amostras não dependentes. Para os dados que não apresentaram distribuição normal (questionário WOMAC, diâmetro menor, proporção de fibras e área relativa) foi aplicado o teste não-paramétrico U Mann-Whitney. Foi considerado um nível de significância de 5% ($\alpha < 0.05$) para todas as análises.

3.4. RESULTADOS

Dentre os 60 sujeitos avaliados nesse estudo, 40 realizaram todos os procedimentos, sendo alocados em 2 grupos: GC (n=18) com idade média de 51,86 anos ($\pm 6,47$) e GOA (n=22) com idade média de 52 anos ($\pm 8,1$). Vinte sujeitos não foram incluídos no estudo pelos seguintes motivos: cinco indivíduos, após a avaliação inicial, desistiram de participar da pesquisa; nove sujeitos não aceitaram realizar biópsia muscular; um indivíduo, no decorrer dos procedimentos, foi diagnosticado com doença

reumatológica; um indivíduo não conseguiu realizar os testes isocinéticos no modo excêntrico; um sujeito apresentou, na análise de seu fragmento muscular, artefatos de congelamento, o que dificultou sua análise; e três indivíduos apresentaram OA de joelho graduada como grau III.

Os dados antropométricos de ambos os grupos estão apresentados na **Tabela 1**, sendo que não foram detectadas diferenças entre os grupos quanto à idade, peso, altura e índice de massa corporal (IMC).

Com relação aos compartimentos do joelho afetados pela OA, cinco sujeitos apresentaram OA no compartimento patelofemoral (PF), um sujeito no compartimento tibiofemoral medial (TFM). Compartimentos afetados conjuntamente foram encontrados em 16 sujeitos: sete com OA nos compartimentos PF e TFM, três nos compartimentos PF e tibiofemoral lateral (TFL) e seis nos compartimentos PF, TFL e TFM.

Tabela 1: Média e desvio padrão dos dados antropométricos dos sujeitos

Características	Grupo Osteoartrite (n=22)	Grupo Controle (n=18)
Idade (anos)	51,86±6,47	52±8,19
Altura (m)	1,70±0,06	1,72±0,09
Peso (kg)	84,25±12,32	80,61±12,62
IMC (kg/m ²)	29,20±4,66	27,06±3,65
Evidência radiológica de OA (%)		
K/L grau I	45,45	
K/L grau II	54,55	

IMC= Índice de massa corporal; K/L = Critério de Kellgren e Lawrence;

Na análise do pico de torque extensor concêntrico não foram encontradas diferenças entre os grupos, em nenhuma das velocidades ($p=0,73$ para $90^\circ/s$ e $p=0,97$ para $180^\circ/s$). Para o pico de torque extensor excêntrico foram encontradas diferenças significativas entre os grupos a $90^\circ/s$ ($p=0,01$) e a $180^\circ/s$ ($p=0,04$), com maiores valores encontrados para o GC (**Tabela 2**).

Na análise do sinal eletromiográfico, não foram encontradas diferenças estatísticas intergrupos para o valor RMS durante a contração concêntrica, tanto a $90^\circ/s$ ($p=0,52$) quanto à $180^\circ/s$ ($p=0,46$). No entanto, na contração excêntrica foram encontradas diferenças significativas no valor RMS nas duas velocidades angulares ($p=0,01$ a $90^\circ/s$ e $p<0,01$ a $180^\circ/s$), sendo que o GOA apresentou valores menores de RMS, conforme pode ser observado na **Tabela 2**.

Tabela 2: Valores de pico de torque e RMS para o grupo controle e grupo osteoartrite

	GC	GOA	P
Pico de torque concêntrico (Nm/Kg X 100)			
90°/s	132,98±26,3	129,42±37,03	0,73
180°/s	100,22±24,98	100,47±25,59	0,97
Pico de torque excêntrico (Nm/Kg X 100)			
90°/s	265,09±61,17	216,89±54,62	0,01*
180°/s	251,15±72,45	209,94±54,30	0,04*
RMS concêntrico (%)			
90°/s	1,39±0,31	1,32±0,38	0,52
180°/s	1,52±0,33	1,44±0,37	0,46
RMS excêntrico (%)			
90°/s	1,35±0,28	1,11±0,19	<0,01*
180°/s	1,39±0,2	1,02±0,18	<0,01*

Valores são apresentados em média ± desvio padrão; RMS: raiz quadrada da média dos quadrados; GC: grupo controle; GOA: grupo osteoartrite; *diferença estatística intergrupos

Para o questionário WOMAC foi encontrada diferença estatística intergrupos para as três seções, sendo que os maiores valores foram encontrados no GOA, indicando piores resultados (**Tabela 3**).

Tabela 3: Pontuação das seções dor, rigidez e função física do questionário WOMAC

WOMAC	Grupo Controle	Grupo Osteoartrite	p valor
Dor	0 (5 – 0)	10 (55 – 0)	<0,01*
Rigidez	0 (0 – 0)	0 (62,5 – 0)	0,03*
Função Física	0 (13,23 – 0)	11,76 (51,47 – 0)	<0,01*

Valores em porcentagem: mediana (máximo e mínimo) do total de pontos em cada seção; * diferença estatística intergrupo

Na análise morfométrica foi encontrada diferença significativa, entre os grupos, no diâmetro menor para as FT1, sendo que os maiores valores para essa variável foram apresentados pelos sujeitos do GOA (p=0,03). Não foram detectadas diferenças para as FT2a (p=0,44), FT2b (p=0,66) e FThib (p=0,62) (**Tabela 4**).

Tabela 4: Mediana, máximo e mínimo valor para o diâmetro menor (μm) das fibras do músculo vasto lateral.

Tipo de fibra	Grupo Controle	Grupo Osteoartrite	p
FT1	54,67 (72,19 – 45,32)	62,50 (76,76 – 52,26)	0,03*
FT2a	61,70 (76,39 – 51,03)	63,87 (87,98 – 44,96)	0,45
FT2b	53,12 (74,89 – 41,57)	53,57 (77,47 – 44,18)	0,66
Fhib	53,39 (104,80 – 40,04)	54,57 (79,72 – 40,40)	0,62

Mediana (máximo – mínimo); GC: grupo controle; GOA: grupo osteoartrite;

* diferença significativa intergrupos

FT1: fibra tipo 1; FT2a: fibra tipo 2a; FT2b: fibra tipo 2b; Fhib: fibra híbrida

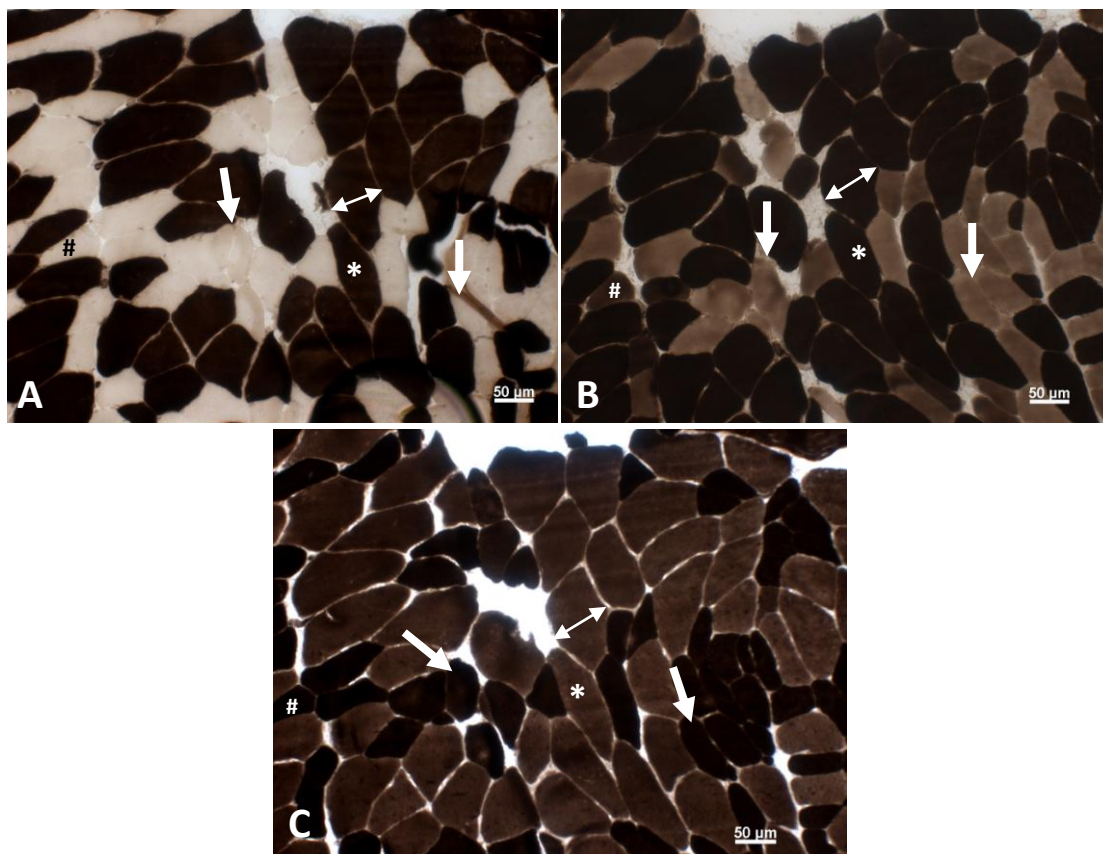


Figura 1: Fotomicrografia, após reação enzimática de mATPase, para cortes transversais seriados (8 μm), de fragmentos do músculo VL, de um indivíduo com osteoartrite. As lâminas foram pré-incubadas em meio ácido (**figura 1A:** pH 4.3; **figura 1B:** pH 4.6) e em meio alcalino (**figura 1C:** pH 9.4). * indicam fibras tipo 1; setas (\rightarrow) indicam fibras tipo 2a e # indicam as fibras tipo 2b (aumento de 20X); setas duplas (\leftrightarrow) indicam o diâmetro menor. Barra = 50 μm .

Para a proporção de fibras detectou-se diferença significativa intergrupo na quantidade de FT2b ($p=0,03$), sendo que os sujeitos do GOA apresentaram a maior proporção desse tipo de fibra. Observar na **Figura 1** o predomínio de FT2 para o GOA. Para os outros tipos de fibras não foram encontradas diferenças entre os grupos. No entanto, conforme pode ser observado na **Figura 2A** há predomínio de FT1, seguido pelas FT2a, FT2b e FThib no GC. Na análise da área relativa, situação semelhante foi

observada. O GOA apresentou maiores valores de área relativa para as FT2b em relação ao GC, sendo essa diferença significativa ($p=0,02$). (**Figura 2B**).

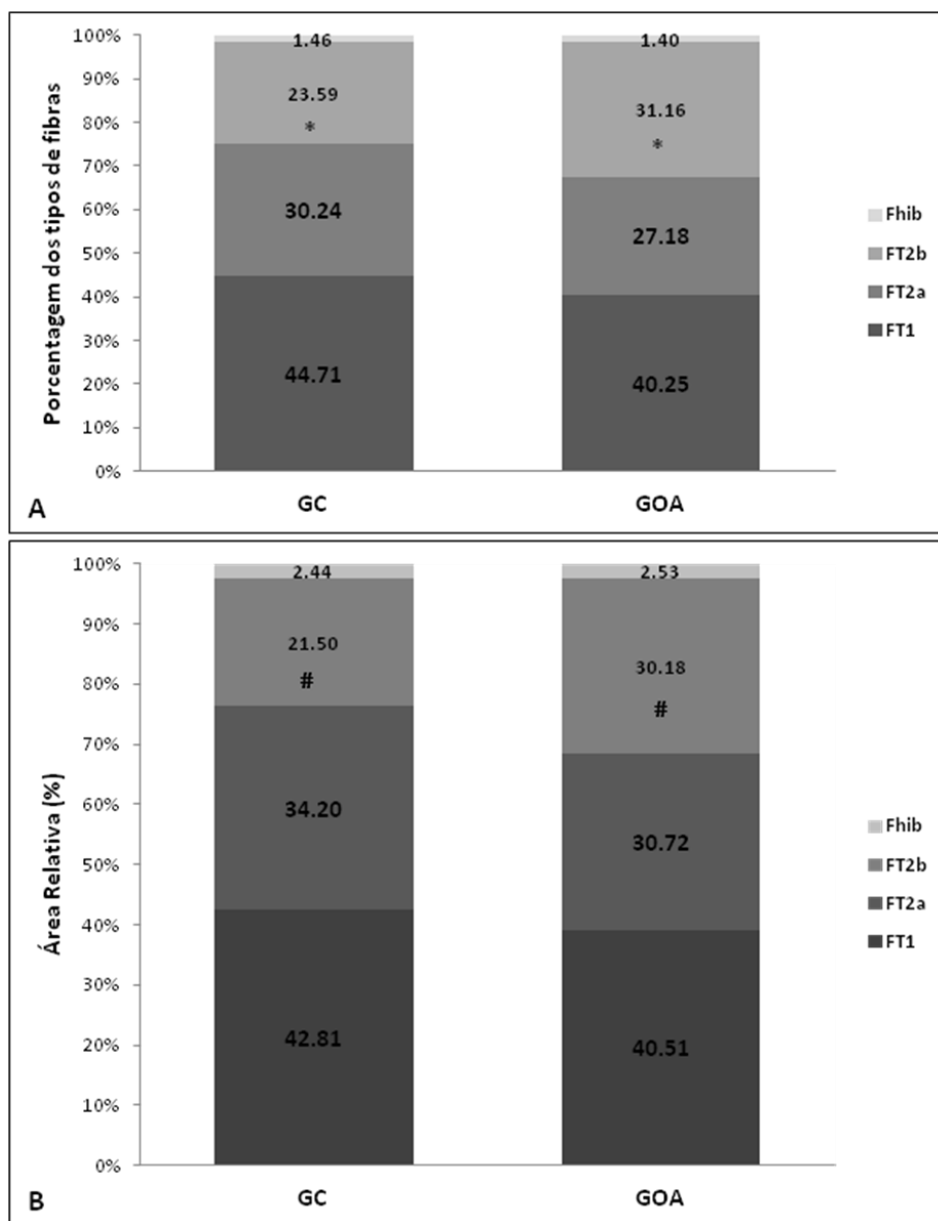


Figura 2:

A - Proporção (%) dos tipos/subtipos de fibras para os grupos controle (GC) e osteoartrite (GOA);

B - Área Relativa (%) dos tipos/subtipos de fibras para o GC e GOA.

*: diferença estatística, $p<0,05$ quando comparada a proporção de FT2b entre os grupos;
#: diferença estatística, $p<0,05$ quando comparada a área relativa de FT2b entre os grupos.

FT1: fibra tipo 1; FT2a: fibra tipo 2a; FT2b: fibra tipo 2b; Fhib: fibra híbrida

3.5. DISCUSSÃO

Os resultados desse estudo indicam que indivíduos com OA de joelho graus I ou II apresentam diminuição na força excêntrica do músculo quadríceps acompanhada de alterações na ativação do músculo VL, comprovando nossa hipótese inicial. Além disso, alterações morfométricas das fibras musculares também foram observadas, sendo que os indivíduos acometidos pela doença apresentam maior proporção e maior área relativa de FT2b. Com relação ao questionário WOMAC foram encontradas diferenças significativas para as três seções (dor, rigidez e função física) indicando diminuição na qualidade de vida para o GOA.

No presente estudo não foi observado déficit no torque extensor concêntrico, tanto em ações lentas (90°/s) quanto em ações rápidas (180°/s). Sabe-se que a ação do músculo esquelético envolve o recrutamento seletivo das unidades motoras, sendo que durante as contrações concêntricas o recrutamento das unidades motoras segue o princípio do tamanho descrito por Henneman et al. (HENNEMAN *et al.*, 1975; HENNEMAN; SOMJEN; CARPENTER, 1965). Nesse estudo a proporção de FT1 foi igual entre os grupos. Dessa forma, sugere-se que essa igual proporção de FT1 entre os grupos pode estar relacionada com a manutenção da força concêntrica observada nos sujeitos do GOA.

No entanto, o princípio do tamanho nem sempre acontece realmente durante contrações rápidas, e o recrutamento de unidades motoras rápidas sem ativação prévia de unidades motoras lentas pode ocorrer (WAKELING; UEHLI; ROZITIS, 2006; WAKELING, 2004). Em nosso estudo, não houve diferença na porcentagem de ativação durante as ações concêntricas lentas (90°/s) e durante as ações concêntricas

rápidas (180°/s). Nós, portanto, sugerimos que mesmo em ações concêntricas rápidas, nesses pacientes pode não estar ocorrendo recrutamento inverso de unidades motoras.

Foi constatada uma redução significativa no torque extensor excêntrico do joelho para o GOA quando comparado ao GC, nas duas velocidades avaliadas. Vários estudos identificaram redução na força do músculo quadríceps em pacientes com OA de joelho quando comparados com sujeitos controle (LEVINGER *et al.*, 2011; HEIDEN; LLOYD; ACKLAND, 2009; FITZGERALD *et al.* 2004; LEWEK; RUDOLPH; SNYDER-MACKLER, 2004). Entretanto, grande parte dos estudos citados anteriormente avaliou sujeitos com OA de joelho em vários graus da doença ou apenas em graus avançados, enquanto nós avaliamos indivíduos com OA nos graus iniciais (graus I e II).

Dessa forma, os resultados desse estudo sugerem que a habilidade dos sujeitos com OA de joelho nos graus iniciais em produzir força excêntrica é mais comprometida que a produção de força sob condições concêntricas, sejam elas ações rápidas ou lentas. A flexão controlada do joelho, que ocorre no contato do pé com o solo durante a marcha, atua na absorção da carga resultante do peso corporal (HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002). Isso é alcançado pela contração excêntrica do quadríceps. Assim, o déficit de força excêntrica observado nos sujeitos com OA de joelho nos graus iniciais poderia resultar na diminuição na capacidade de absorção de carga podendo contribuir para a progressão da OA.

Esses déficits na força muscular excêntrica, encontrados nos pacientes acometidos pela OA de joelho, poderiam estar associados com a atrofia e/ou redução no número de fibras musculares, ou com reduzida habilidade em ativar as fibras musculares, ou com ambos.

Na análise morfométrica, não foi detectada atrofia de fibras musculares nos sujeitos do GOA. Esses resultados não concordam com estudos com graus mais avançados de OA, uma vez que atrofia seletiva de FT2 foi observada nos músculos ao redor das articulações osteoartríticas (FINK *et al.*, 2007; NAKAMURA; SUZUKI, 1992; SIRCA; SUSEC-MICHIELI, 1980). A diferença entre os achados desse estudo e esses estudos prévios pode estar relacionada a diferenças metodológicas: o presente estudo avaliou homens com OA de joelho graus I ou II, com idade entre 40 e 65 anos, enquanto que os outros estudos avaliaram homens e mulheres até 75 anos, com graus avançados de OA.

Ainda, no presente estudo, encontramos maior proporção de FT2b no GOA. Possivelmente, o que pode ter ocorrido foi uma transformação das FT1 e FT2a em FT2b. Vários fatores podem ter contribuído para a mudança dos tipos de fibras, dentre eles destacamos que os músculos de sujeitos submetidos à imobilização também sofrem transformação no sentido de fibras lentas (FT1) para rápidas (FT2) (LIEBER, 2010), indicando que músculos submetidos ao desuso tendem a apresentar maior proporção de FT2 (LIEBER, 2010; PETTE; STARON, 1997). Assim, podemos sugerir que a presença de dor e a consequente diminuição no nível de função física observada nos indivíduos acometidos pela doença do presente estudo (constatado pelos maiores valores no questionário WOMAC) poderiam estar relacionados à maior quantidade identificada de FT2b. No entanto, ressalta-se que esse desuso não foi suficiente para gerar atrofia em nenhum tipo de fibra.

Segundo estudo *in vitro* de fibras musculares isoladas, as fibras rápidas (FT2) produzem, quando recrutadas, um incremento na potência 10 vezes maior que nas fibras lentas (FT1) (BOTTINELLI *et al.*, 1999). Além disso, a velocidade de encurtamento das FT2b é cinco a seis vezes maior que a velocidade da FT1 (LARSSON; MOSS,

1993). Entre os subtipos das FT2, as FT2b têm valores de picos de potência duas vezes maior que as FT2a (WIDRICK *et al.* 1996). Portanto, era esperado que o GOA apresentasse maior torque extensor que o GC. No entanto, apesar da maior porcentagem de FT2b para o GOA, menores valores de torque excêntrico foram observados. Embora tenha sido avaliada a morfologia e a atividade eletromiográfica de apenas um dos quatro componentes do músculo quadríceps, ressaltamos a importância de analisar este grupo uma vez que este componente é o produtor predominante de força (e o mais ativo) dos 4 componentes do músculo quadríceps durante tarefas funcionais (HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002).

Outro fator que interfere diretamente no desempenho muscular, sobretudo na produção de torque, é a AST das fibras musculares. No presente estudo o tamanho das fibras também foi determinado usando a medida correspondente à AST de cada fibra muscular, e a ATR das fibras musculares foi calculado. Assim, foi encontrada maior ATR para FT2b no GOA em relação ao GC. Apesar de ter sido encontrado aumento no diâmetro de FT1, esse aumento não influenciou os valores de ATR. Isso pode ser decorrente do predomínio de FT2b. Ainda que possa existir uma correlação direta entre a AST e a habilidade em gerar força (FUKUNAGA *et al.*, 2001), e o músculo tenha características do tipo de fibra cuja área seja mais representativa, ressalta-se, novamente, que mesmo com maior ATR para as FT2b, para o GOA, menores valores de torque foram observados nesse grupo.

Por outro lado, uma vez que na contração excêntrica pode ocorrer o recrutamento preferencial de FT2 (NARDONE; SCHIEPPATI, 1988; ENOKA, 1996), não seguindo o princípio do tamanho, e tenha sido encontrada maior porcentagem de FT2b no GOA, era esperado que não houvesse déficit de força nesse grupo. No entanto, conforme exposto anteriormente, menores valores de força excêntrica foram

observados. Provavelmente esse déficit de força, encontrado em indivíduos com OA de joelho nos graus iniciais, pode ser devido, principalmente, à inibição muscular artrogênica (HORTOBÁGYI *et al.*, 2004). Isso foi demonstrado, no nosso estudo, pelos menores valores de RMS obtidos pelos sujeitos do GOA durante a contração excêntrica. Assim, essa possível falha na ativação voluntária sugere que as unidades motoras, principalmente do tipo 2b, podem não estar sendo completamente ativadas, podendo essa falha ser decorrente da dor, derrame ou lesões articulares (LEWEK; RUDOLPH; SNYDER-MACKLER, 2004), as quais estão geralmente presentes na OA de joelho.

Os resultados do nosso estudo não concordam com os achados de Heiden *et al.* (2009) que demonstraram reduzida força de extensão de joelho na ausência de falha de ativação voluntária máxima, sugerindo que a atrofia muscular parece ser a maior causa da fraqueza do quadríceps. Esses autores sugeriram que a ausência de diferença na falha de ativação entre os sujeitos do GC e do GOA indica que a deterioração articular parece não alterar o nível de ativação muscular. Cabe ressaltar, porém, que esses autores avaliaram a ativação muscular durante contrações isométricas enquanto nós avaliamos durante contrações dinâmicas, concêntricas e excêntricas.

Além dos déficits de força e de ativação muscular, os indivíduos acometidos pela doença, nesse estudo, também apresentaram comprometimento da qualidade de vida. Para as três seções do questionário WOMAC o GOA apresentou maiores valores que o GC. Esses resultados indicam uma percepção alterada da dor e comprometimento da rigidez e função física decorrentes da doença, já nos estágios iniciais de OA. Resultados semelhantes foram encontrados por Hurlbly-Kozey *et al.* (2006) em sujeitos com OA de joelho graus de I a III.

Diante do exposto, ressalta-se a relevância dos resultados encontrados, que indicam que os participantes desse estudo (com OA de joelho graus I ou II) apresentam

déficit de ativação muscular voluntária associada com déficits de torque extensor excêntrico. Além disso, a contribuição da inibição muscular resultando na diminuição da força do músculo quadríceps, excêntrica, pode implicar em comprometimento das AVD nesses sujeitos com graus iniciais de OA, afetando a qualidade de vida.

Os autores reconhecem algumas limitações do estudo. A natureza transversal do estudo não permite estabelecer uma relação de causa e efeito entre as variáveis analisadas. Ou seja, não é possível identificar se as alterações de força do músculo quadríceps, bem como as alterações morfológicas e eletromiográficas do músculo VL precedem a OA de joelho ou se são consequência da mesma. Dessa forma estudos prospectivos são necessários para acompanhar melhor o papel das alterações morfológicas e funcionais do músculo quadríceps na patogênese da OA de joelho. A avaliação das alterações morfológicas e eletromiográficas apenas do músculo VL também pode ser considerada uma limitação do presente estudo. No entanto, a avaliação apenas do músculo VL se justifica pela natureza invasiva da biópsia muscular.

Assim, conclui-se que homens com OA de joelho graus I ou II apresentam, concomitantemente, déficits de força e de ativação do músculo quadríceps, assim como aumento na proporção de FT2b que pode indicar possíveis mecanismos de adaptação neuromuscular. Os resultados do presente estudo indicam que o treino excêntrico dos músculos extensores do joelho deve ser enfatizado já nas fases iniciais da doença. A identificação precoce dessas alterações poderá auxiliar no delineamento de programas de reabilitação que visem retardar ou controlar as alterações funcionais decorrentes da presença de OA de joelho, desde os seus graus iniciais.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de estudo concedida ao primeiro autor desse estudo (Processo no. 2007/07200-4).

REFERÊNCIAS

AQUINO, M.A. *et al.* Isokinetic assessment of knee flexor/extensor muscular strength in elderly women. **Rev Hosp Clín Fac Med S. Paulo**, v. 57, p. 131-134, 2002.

AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY Subcommittee on Osteoarthritis Guidelines. Recommendations for the medical management of osteoarthritis of the hip and knee: 2000 update. **Arthritis Rheum**, v.43, p. 1905-1915, 2000.

BENNEL, K.L. *et al.* Relation of knee joint proprioception to pain and disability in individuals with knee osteoarthritis. **J Orth Research**, v. 21, p. 729-797, 2003.

BENNELL, K.L.; HINMAN, R.S.; METCALF, B.R.. Association of sensorimotor function with knee joint kinematics during locomotion in knee osteoarthritis. **Am J Phys Med Rehabil**, v. 83, p. 455-63, 2004.

BENNELL, K.L. *et al.* Role of muscle in the genesis and management of knee osteoarthritis. **Rheum Dis Clin N Am**, v. 34, p. 731-754, 2008.

BERGSTROM, J. Percutaneous needle biopsy of skeletal muscle in physiological and clinical research. **Scand J Clin Laboratory Invest**, v. 35, p. 609–616, 1975.

BLACKBURN, J.T. *et al.* Influences of experimental factors on spinal stretch reflex latency and amplitude in the human triceps surae. **J Electromyogr Kinesiol**, v. 16, p. 42-50, 2006.

BOTTINELLI, R. *et al.* Specific contributions of various muscle fibres types to human muscle performance: an in vitro study. **J Electromyogr Kinesiol**, v. 9, p. 87-95, 1999.

BRANDT, K.D.; DIEPPE, P.A.; ERIC, R. Etiopathogenesis of osteoarthritis. **Med Clin N Am**, v. 93, p. 1-24, 2009.

BROOKE, M.H.; ENGEL, W.K. The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types 1. Adult male and female. **Neurol**, v. 19, p. 221-33, 1969.

DUBOWITZ, V. **Muscle biopsy “a practical approach”**. In Baillière Tindall. 2.ed. Definition of pathological changes seen in muscle biopsies. London, 1985, p. 82-101.

ENOKA, R. Eccentric contractions require unique activation strategies by the nervous system. **J Appl Physiol**, v. 81, p. 2339-2346, 1996.

ENGEL, W.K.; CUNNINGHAM, G.G. Rapid examination of muscle tissue. An improved trichrome method for fresh-frozen biopsy sections. **Neurology**, v. 13, p. 919-923, 1963.

FINK, B. *et al.* Morphologic changes in the vastus medialis muscle in patients with osteoarthritis of the knee. **Arthritis Rheum**, v. 56, p. 3626-3633, 2007.

FITZGERALD, G.K. *et al.* Quadriceps activation failure as a moderator of the relationship between quadriceps strength and physical function in individuals with knee osteoarthritis. **Arthritis Care Res**, v. 51, p. 40-48, 2004.

FUKUNAGA, T. *et al.* Muscle volume is a major determinant of joint torque in humans. **Acta Physiol Scand**, v. 172, p. 249-255, 2001.

HEIDEN, T.L.; LLOYD, D.G.; ACKLAND, T.R. Knee extension and flexion weakness in people with knee osteoarthritis: Is antagonist cocontraction a factor? **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 39, p. 807-815, 2009.

HENNEMAN, E.; SOMJEN, G.; CARPENTER, D.O. Functional significance of cell size in spinal motoneurons. **J Neurophysiol**, v. 28, p. 560-580, 1965.

HENNEMAN, E. *et al.* Rank order of motoneurons within a pool: law of combination. **J Neurophysiol**, v. 37, p. 1338-1349, 1975,

HERMENS, H.J.; FRERIKS, B. **European recommendations for surface electromyography.[CD-room]**. Roessingh Research and Development; 1999.

HINMAN, R.S.; BENNELL, K.L.; CROSSLEY, K.M. Delayed onset of quadriceps activity and altered knee joint kinematics during stair stepping in individuals with knee osteoarthritis. **Arch Phys Med Rehabil**, v. 83, p. 1080-1086, 2002

HORTOBÁGYI, T. *et al.* Aberrations in the control of quadriceps muscle force in patients with knee osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 51, p. 562-569, 2004.

HOUTMAN, C.J. *et al.* Changes in muscle fiber conduction velocity indicate recruitment of distinct motor unit populations. **J Appl Physiol**, v. 95, p. 1045-1054, 2003.

HUBLEY-KOZEY, C.L. *et al.* Neuromuscular alterations during walking in persons with moderate knee osteoarthritis. **J Electromyogr Kinesiol**, v. 16, p. 365–378, 2006.

HURLEY, M.V. *et al.* Sensorimotor changes and functional performance in patients with knee osteoarthritis. **Ann Rheum Dis**, v. 56, p. 641-648, 1997.

IKEDA, S.; TSUMURA, H.; TORISU, T. Age-related quadriceps-dominant muscle atrophy an incidence radiographic knee osteoarthritis. **J Orthop Sci**, v. 10, p. 121-126, 2005.

KELLGREN JH, LAWRENCE JS. Radiological assessment of osteo-arthritis. **Ann Rheum Dis**, v. 16, p. 494-502, 1957.

LARSSON, L.; MOSS, R.L. Maximum velocity of shortening in relation to myosin isoform composition in single fibres from human skeletal muscles. **J Physiol**, v. 472, p. 595-614, 1993.

LESSI, G.C. *et al.* Male subjects with early-stage knee osteoarthritis do not present biomechanical alterations in the sagittal plane during stair descent. **Knee**, doi:10.1016/j.knee.2011.07.001 (in press), 2011.

LEVINGER, I. *et al.* Increased inflammatory cytokine expression in the vastus lateralis of patients with knee osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 63, p. 1343-1348, 2011.

LEWEK, M.D.; RUDOLPH, K.S.; SNYDER-MACKLER, L. Quadriceps femoris muscle weakness and activation failure in patients with symptomatic knee osteoarthritis. **J Orthop Res**, v. 22, p. 110-115, 2004.

LIEBER, R.L. **Skeletal muscle structure function and plasticity: the physiological basis of rehabilitation**. Linppicott: Philadelphia; 2010. 141-226 p.

McHUGH, M.P. *et al.* Electromyographic analysis of quadriceps fatigue after anterior cruciate ligament reconstruction. **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 31, p. 25-32, 2001.

MIZNER, R.L. *et al.* Early quadriceps strength loss after total knee arthroplasty. The contributions of muscle atrophy and failure of voluntary muscle activation. **J Bone Joint Surg Am**, v. 87, p. 1047-1053, 2005.

NAKAMURA, T.; SUZUKI K. Muscular changes in osteoarthritis of the hip and knee. **Nippo Seikeg Gak Zas**, v. 66, p. 467-475, 1992.

NARDONE, A.; SCHIEPPATI, M. Shift of activity from slow to fast muscle during voluntary lengthening contractions of the triceps surae muscles in humans. **J Physiol**, v. 395, p. 363-381, 1988.

PALMIERI-SMITH, R.M. *et al.* Isometric quadriceps strength in women with mild, moderate, and severe knee osteoarthritis. **Am J Phys Med Rehabil**, v. 89, p. 541-548, 2010.

PAN, J. *et al.* Vastus lateralis/vastus medialis cross-sectional area ratio impacts presence and degree of knee joint abnormalities and cartilage T2 determined with 3T MRI – an analysis from the incidence cohort of the Osteoarthritis Initiative. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 19, p. 65-73, 2011.

PETTE, D.; STARON, R.S. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. **Int Rev Cytol**, v. 170, p. 143-223, 1997.

ROBINSON, R.L.; NEE, R.J. Analysis of hip strength in females seeking physical therapy treatment for unilateral patellofemoral pain syndrome. **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 37, p. 232-238, 2007.

- SANTOS, M.L.A.S. *et al.* Muscle strength, muscle balance, physical function and plasma interleukin-6 (IL-6) levels in elderly women with knee osteoarthritis (OA). **Arch Gerontol Geriatr**, v. 52, p. 322-326, 2011.
- SCHILLING, B.K. *et al.* Myosin heavy chain isoform expression and in vivo isometric performance: a regression model. **J Streng Cond Res**, v. 19, p. 270-275, 2005.
- SLEMENDA, C. *et al.* Quadriceps weakness and osteoarthritis of the knee. **Ann Intern Med**, v. 127, p. 97-104, 1997.
- SIRCA, A.; SUSEC-MICHIELI, M. Selective type II fiber muscular atrophy in patients with osteoarthritis of the hip. **J Neurol Sci**, v. 44, p. 149-152, 1980.
- VAN CINGEL, R.E.H. *et al.* Repeated ankle sprains and delayed neuromuscular response: acceleration time parameters. **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 36, p. 72-79, 2006.
- WAKELING, J.M. Motor units are recruited in a task-dependent fashion during locomotion. **J Exp Biol**, v. 207, p. 3883-3890, 2004.
- WAKELING, J.M.; UEHLI, K.; ROZITIS, A.I. Muscle fibre recruitment can respond to the mechanics of the muscle contraction. **J R Soc Interface**, v. 3, p. 533-544, 2006.
- WIDRICK, J.J. *et al.* Force-velocity and force-power properties of single muscle fibers from elite master runners and sedentary men. **Am J Physiol**, v. 271, p. 676-683, 1996.

4. ESTUDO II

**HOMENS COM GRAUS INICIAIS DE OSTEOARTRITE APRESENTAM
CORRELAÇÃO ENTRE TORQUE EXTENSOR DO JOELHO E DOR, RIGIDEZ
E FUNÇÃO**

Paula Regina Mendes da Silva Serrão¹; Karina Gramani Say¹; Giovanna Camparis Lessi¹; Stela Márcia Mattiello¹.

¹Laboratório de Análise da Função Articular, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos / São Carlos-SP

RESUMO

CONTEXTUALIZAÇÃO: A Osteoartrite (OA) é uma doença crônico-degenerativa. O joelho é a articulação mais afetada e os sintomas geralmente são atribuídos à fraqueza do músculo quadríceps. Entretanto, poucos estudos têm avaliado essa relação em indivíduos com graus iniciais de OA. **OBJETIVO:** Verificar se existe correlação entre o torque extensor do joelho e as seções dor, rigidez e função física do questionário WOMAC, de homens com OA de joelho nos graus iniciais. **MÉTODOS:** Participaram desse estudo 21 homens com OA de joelho graus I ou II (segundo critérios de Kelgren e Lawrence). Foi avaliado o torque extensor concêntrico e excêntrico do joelho, por meio do dinamômetro isocinético (Biodex System 3), na velocidade de 90°/s. O auto-relato de sintomas e incapacidades foi avaliado por meio do questionário WOMAC. O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para detectar a relação entre as variáveis dependentes (três seções do questionário WOMAC) e as variáveis independentes (média dos picos de torque). **RESULTADOS:** Foi encontrada correlação forte e negativa do torque extensor concêntrico com a seção dor ($r=-0.7$, $p<0.001$), e moderada e negativa com as seções rigidez ($r=-0.62$, $p=0.002$) e função física ($r=-0.54$, $p=0.011$). O torque extensor excêntrico se correlacionou moderada e negativamente com as três seções do questionário ($r=-0.40$ a -0.69 , $p<0.05$). **CONCLUSÕES:** Os torques extensores concêntrico e excêntrico se correlacionaram com os auto-relatos de indivíduos com graus iniciais de OA de joelho. Assim, o fortalecimento do músculo quadríceps, por meio de exercícios concêntricos e excêntricos, é indicado para esses pacientes para minimizar tais sintomas.

Palavras-chave: Fisioterapia. Osteoartrite de Joelho. WOMAC. Força muscular

4.1. INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é a enfermidade músculo-esquelética mais comum mundialmente, estando associada a significantes custos sociais e de saúde (SANGHI *et al.*, 2011; HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002) com considerável impacto na qualidade de vida (SANTOS *et al.* 2011; MURAKI *et al.*, 2010). Indivíduos com OA de joelho apresentam rigidez articular, dor e disfunção (ZHANG; JORDAN, 2010; DIEPPE; LOMHMANDER, 2005).

Ainda que os sintomas de OA de joelho sejam atribuídos à fraqueza do músculo quadríceps (PALMIERI-SMITH *et al.*, 2010), não existe consenso na literatura no que diz respeito à relação entre a força desse músculo e os sintomas apresentados por indivíduos com OA de joelho (BENNELL *et al.*, 2008). Essa discordância pode ser decorrente das diferenças metodológicas entre os estudos. Slemenda *et al.* (1997) avaliaram a associação entre a força isocinética do músculo quadríceps, graus de OA, dor no joelho e função física. Esses autores encontraram que a fraqueza do músculo quadríceps foi forte preditora da dor no joelho e da disfunção física. Em contraste, Steultjens *et al.* (2001) encontraram que reduzida força isométrica desse músculo estava associada com aumento nas incapacidades. No entanto, nenhuma relação pode ser estabelecida entre a fraqueza muscular e a dor.

Poucos estudos avaliaram essa relação numa população com graus iniciais de OA (STEULTJENS *et al.*, 2001). Geralmente os estudos avaliaram pacientes com OA em graus avançados (HORTOBÁGYI *et al.*, 2004; ROGIND *et al.*, 1998) ou incluíram no mesmo estudo pacientes com OA leve, moderada e avançada (BENNELL *et al.*, 2003; HASSAN; MOCKETT; DOHERTY, 2001), o que impossibilita que os resultados sejam extrapolados para populações com graus iniciais. Assim, um estudo que avalie a

relação entre a força do músculo quadríceps e os sintomas apresentados por indivíduos com estágios iniciais de OA de joelho é relevante, especialmente com relação a desenvolver programas de reabilitação. Se correlações entre a força do músculo quadríceps e os sintomas forem detectadas, espera-se que um protocolo de fortalecimento muscular possa reduzir os sintomas de pacientes com estágios iniciais de OA do joelho.

Geralmente a força do músculo quadríceps em pacientes com OA de joelho tem sido avaliada isometricamente (PALMIERI-SMITH *et al.*, 2010; VAN DER ESCH *et al.*, 2007; O'REILLY *et al.*, 1998; HURLEY *et al.*, 1997). Entretanto, é possível que alterações na habilidade em gerar força por toda amplitude de movimento não sejam detectadas nas avaliações isométricas. Assim, uma vez que a avaliação das contrações concêntricas e excêntricas permite quantificar a capacidade de gerar força por toda a amplitude de movimento, talvez esse modo de avaliação seja mais sensível e, portanto, mais eficiente em detectar diminuições na força muscular em indivíduos com OA de joelho.

É interessante notar que a coordenação precisa da atividade do músculo quadríceps e o movimento do joelho é essencial para atenuar a força e controlar a carga articular durante a locomoção. Essa coordenação é necessária porque o controle do movimento do joelho ocorre quando o peso é transferido para o membro em apoio, sendo um processo que atua para dissipar a carga. Esse processo requer ação excêntrica do músculo quadríceps (HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002). A redução na força excêntrica do músculo quadríceps é particularmente importante na patogênese e progressão da OA de joelho, o que torna o estudo da força excêntrica desse músculo ainda mais relevante em uma população com estágios iniciais da doença.

Na área clínica, o WOMAC (Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index) é um dos questionários mais utilizados para avaliar os sintomas e a função de indivíduos com OA (SANGHI *et al.*, 2011). Não existem estudos na literatura consultada que correlacionaram a força concêntrica e excêntrica do músculo quadríceps com as três seções desse questionário. Os estudos que avaliaram essas ações musculares correlacionaram as forças concêntricas e/ou excêntricas com o tempo necessário para desempenhar algumas tarefas funcionais (BENNELL; HINMAN; METCALF, 2004; GÜR *et al.*, 2003). No entanto, esses testes funcionais podem não estar relacionados diretamente com o desempenho dos sujeitos em suas atividades habituais. Assim, a percepção de cada indivíduo sobre sua função física, como avaliada pelo questionário WOMAC, parece relevante.

Diante do exposto, o objetivo desse estudo foi verificar se existe correlação entre o torque extensor concêntrico e excêntrico do joelho e as seções dor, rigidez e função física, do questionário WOMAC, de homens com OA de joelho graus I ou II. Ainda que os voluntários apresentem graus iniciais de OA poderíamos hipotetizar que quanto menor o torque extensor do joelho nesses indivíduos maior a dor, rigidez e a incapacidade funcional.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1. Sujeitos

Foram avaliados nesse estudo 27 voluntários com OA de joelho. Os indivíduos foram recrutados no ambulatório de fisioterapia e na comunidade da Universidade Federal de São Carlos. Os seguintes critérios de inclusão foram utilizados: homens,

sedentários, com idade entre 40 e 65 anos, com OA de joelho unilateral ou bilateral diagnosticada de acordo com os critérios clínicos do *American College of Rheumatology* (2000), e grau I ou II de OA joelho graduada segundo os critérios de Kellgren & Lawrence (1957). Seis sujeitos não atenderam a esses critérios (apresentavam grau III de OA de joelho) e foram excluídos.

Exame radiográfico de ambos os joelhos, nas posições axiais, anteroposterior e lateral foi feito para confirmar se os indivíduos apresentavam sinais de OA, tais como presença de osteófitos mínimos (grau I) ou presença de pequenos mas definidos osteófitos (grau II) em pelo menos um dos compartimentos da articulação do joelho (tibiofemoral ou patelofemoral) (LESSI *et al.*, 2011). A severidade da OA foi graduada por um radiologista segundo critério de Kellgren e Lawrence (1957).

Os critérios de exclusão foram: tratamento fisioterapêutico (12 meses prévios); cirurgias do joelho ou quadril; história anterior de trauma do membro inferior; uso de infiltração com corticosteróide no joelho (6 meses prévios); alguma restrição médica que impossibilitasse de participar das avaliações propostas (alterações cardiovasculares, respiratórias, neurológicas e/ou músculo-esqueléticas) (BENNELL *et al.*, 2003).

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (Processo no. 143/2007) (**Apêndice A**), e todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (**Apêndice B**)

4.2.2. Instrumentos e Procedimentos

Foi avaliado o membro afetado ou o mais sintomático (nos casos de OA bilateral) (HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002). Peso e altura foram obtidos, e o índice de massa corpórea foi calculado.

Avaliação isocinética: A força muscular foi avaliada usando um dinamômetro isocinético (Biodex Multi-Joint System 3, Biodex Medical Incorporation, New York, NY, USA). A ordem dos testes foi determinada de maneira aleatória, por meio de sorteio. Previamente ao início da avaliação, o dinamômetro isocinético foi devidamente calibrado de acordo com o manual fornecido pelo fabricante do equipamento.

Antes da avaliação o voluntário realizou aquecimento em bicicleta ergométrica por 5 minutos, com carga de 75W e velocidade constante de 20km/h e auto-alongamento dos músculos do joelho e quadril.

Foram avaliados os torques extensores concêntrico e excêntrico do joelho, na velocidade de 90°/s. As avaliações foram realizadas com o voluntário sentado, estabilizado na cadeira do equipamento por meio de cintos que transpassam o tronco e pelo cinto pélvico, com flexão de joelho a 90°. O eixo mecânico de rotação do dinamômetro foi alinhado ao epicôndilo lateral do fêmur; a resistência foi aplicada distalmente na articulação do tornozelo, 5 cm acima do maléolo medial.

Os voluntários foram instruídos a manter os braços cruzados na frente do tronco durante o teste, para evitar compensações. Após as instruções a respeito do teste, o indivíduo realizou 5 contrações isocinéticas concêntricas máximas e 5 contrações isocinéticas excêntricas máximas, na amplitude de movimento de 20° a 90° (0° extensão completa do joelho). Entre cada tipo de contração foi permitido um período de repouso de 5 minutos (HORTOBÁGYI *et al.*, 2004). Antes de cada avaliação, os voluntários realizaram 3 contrações submáximas para familiarização com os procedimentos. Durante as contrações utilizou-se um comando verbal para encorajar os pacientes a produzir torque máximo (HASSAN; MOCKETT; DOHERTY, 2001).

Os dados de torque, mensurados em Nm, foram normalizados pela massa corporal em Kg, usando a seguinte fórmula: (Nm torque/Kg body weight) X 100

(ROBINSON; NEE, 2007). Para a análise estatística foi utilizada a média dos picos de torque das cinco contrações.

Questionário WOMAC: O *Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index* (WOMAC) é um questionário auto-relatado, que reflete os problemas apresentados por indivíduos com OA de membro inferior. Esse questionário é traduzido e validado para a língua Portuguesa (IVANOVITH, 2002) (**Anexo C**). Os escores de cada item desse questionário, correspondentes a uma determinada seção (dor, rigidez e a função física), foram obtidos e calculados pela Escala Likert (nenhuma= 0, pouca=25, moderada=50, intensa=75 e muito intensa=100) (GOMES, 2007). Foi considerada a pontuação máxima de cada seção em porcentagem, sendo que quanto maior a pontuação pior a dor, rigidez e função física.

4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise dos dados foi utilizado o Programa *Statistica 7.0* (StatSoft, Inc., Tulsa, USA). Inicialmente foram obtidos valores descritivos para todos os dados (média, desvio padrão, mediana, máximo e mínimo). Para verificação da normalidade dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilks. Os dados não apresentaram normalidade em sua distribuição. Foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman para analisar a relação entre as variáveis dependentes (seções dor, rigidez e função física do questionário WOMAC) e as variáveis independentes (média normalizada dos picos de torque extensor do joelho concêntrico e excêntrico). Os valores de r foram interpretados seguindo os seguintes valores: 0.00-0.19 = nenhum-leve; 0.20-0.39 = baixa; 0.40-0.69 = moderada;

0.70-0.89 = forte e 0.9-1.00 = muito forte (WEBER; LAMB, 1970). Foi considerado um nível de significância de 5%.

4.4. RESULTADOS

As características demográficas dos participantes desse estudo estão descritas na **Tabela 1**, sendo que 45,5% dos indivíduos possuíam OA grau I e 54,5% OA grau II.

O compartimento do joelho afetado pela OA foi identificado por meio do exame radiológico. Um sujeito apresentou OA somente no compartimento patelofemoral (PF), três apresentaram OA no compartimento tibiofemoral medial (TFM) e um no compartimento tibiofemoral lateral (TFL). Combinação de compartimentos afetados foi encontrada em 16 sujeitos: PF + TFM foi encontrado em 5 sujeitos; PF + TFL em 3 sujeitos, e PF + TFM + TFL em 8 sujeitos.

Tabela 1: Características dos indivíduos com osteoartrite

Características	Sujeitos (n=21)
Idade (anos)	51,80±6,23
Altura (m)	1,71±0,06
Peso (kg)	86,66±10,82
IMC (kg/m ²)	29,62±4,22
Evidência Radiológica de OA (%)	
K/L grau I *	45,5
K/L grau II *	54,5

Média ± Desvio Padrão; * valores em porcentagem

IMC = índice de massa corporal; K/L = critério de Kellgren e Lawrence

Nas **Tabelas 2 e 3** podem ser observados, respectivamente, valores descritivos para o torque extensor do joelho e as 3 seções do questionário WOMAC (dor, rigidez e função física).

Tabela 2: Torque extensor do joelho normalizado pelo peso corporal

Torque extensor do joelho (Nm/kg x 100)	Mediana (máximo – mínimo) (%)
Concêntrico	141,34 (198,80 – 54,14)
Excêntrico	179,04 (272,20– 92,88)

Tabela 3: Seções do questionário WOMAC

WOMAC	Mediana (máximo – mínimo) (%)
Dor	15 (70 – 0)
Rigidez	0 (62,5 – 0)
Função física	11,76 (54,41 – 0)

Foram encontradas correlações entre o torque extensor do joelho e as três seções do questionário WOMAC. O torque extensor concêntrico se correlacionou forte e negativamente com a seção dor ($r = -0.7$, $p < 0,001$) e moderada e negativamente com as seções rigidez ($r = -0,62$, $p = 0,002$) e função física ($r = -0.54$, $p = 0,011$). O torque extensor excêntrico se correlacionou moderada e negativamente com as três seções do questionário (**Tabela 4**). Essas correlações negativas indicam que quanto maior o torque

extensor do joelho, tanto concêntrico quanto excêntrico, menor a dor e a rigidez e menor o nível de disfunção física.

Tabela 4: Correlações entre o torque extensor concêntrico e excêntrico do joelho e as seções do questionário WOMAC em homens com osteoartrite graus I ou II

	Concêntrico		Excêntrico	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
WOMAC				
Dor	-0,70	< 0,001*	-0,56	0,008*
Rigidez	-0,62	0,002*	-0,44	0,046*
Função Física	-0,54	0,011*	-0,52	0,015*

* $p < 0,05$ = correlação significativa

4.5. DISCUSSÃO

Está bem documentado na literatura que indivíduos com OA de joelho apresentam déficit de força do músculo quadríceps quando comparados com indivíduos saudáveis da mesma faixa etária (THOMAS *et al.*, 2010; STEVENS; MIZNER; SNYDER-MACKLER, 2003; O'REILLY *et al.*, 1998). Entretanto, na literatura consultada não foram encontrados estudos que avaliaram a relação entre a força do músculo quadríceps e os sintomas auto-relatados por indivíduos com OA de joelho em graus iniciais. Dessa forma, o presente estudo buscou verificar as correlações entre o torque extensor do joelho e a dor, rigidez e função em homens com OA de joelho grau I e II.

De acordo com nossa hipótese inicial, a análise dos dados apontou correlação negativa e forte entre o torque extensor concêntrico e a seção dor do questionário WOMAC, e correlação moderada e negativa entre o torque extensor excêntrico e a mesma seção para homens com graus iniciais de OA de joelho. Esses resultados indicam que quanto maior o torque extensor do joelho menor o nível de dor que é auto-relatada por esses indivíduos.

É relatado na literatura que o músculo quadríceps é uma importante estrutura de absorção de impacto da articulação do joelho, especialmente durante ações excêntricas (LaSTAYO *et al.* 2003). Assim, déficits de força nesse músculo podem comprometer esse papel de absorção de cargas (HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002; HORTOBÁGYI *et al.*, 2004). Considerando que indivíduos com OA de joelho geralmente apresentam fraqueza do músculo quadríceps, nós sugerimos que esses pacientes podem apresentar sobrecarga articular, que pode contribuir para aumento da dor. Isso poderia explicar, parcialmente, a relação entre o torque extensor do joelho e a dor encontrada nesse estudo.

Esses achados não estão de acordo com o estudo de Steultjens *et al.* (2001) que não encontraram correlação entre fraqueza do músculo quadríceps e dor em indivíduos com OA de joelho. Esses autores avaliaram a força isométrica do músculo quadríceps de pacientes com OA de joelho por meio do dinamômetro de mão, sendo que foram avaliados tanto homens quanto mulheres, não especificando exatamente o grau da OA desses indivíduos. Uma vez que o teste isométrico avalia o torque articular apenas no ângulo do joelho pré-determinado pelo avaliador, a nossa avaliação pode ter sido mais sensível, já que o torque extensor do joelho foi avaliado em uma maior amplitude de movimento, de 90 ° a 20 ° de flexão (0 ° corresponde à extensão completa do joelho).

Embora os voluntários que participaram desse estudo tenham graus I ou II de OA de joelho, nossos resultados indicam que correlações entre os torques extensores concêntrico e excêntrico do joelho e a função física já estão presentes em indivíduos com estágios iniciais de OA de joelho. Esses resultados também apontam que quanto menor a força desse músculo maior o déficit funcional. Ainda que tenham sido avaliados sujeitos com vários graus de OA de joelho, alguns estudos também encontraram correlação entre a fraqueza do músculo quadríceps e disfunções físicas (GÜR *et al.*, 2003; SLEMENDA *et al.* 1998; HURLEY; NEWHAM, 1993), concordando com nossos resultados.

Gür *et al.* (2003) encontraram correlações fracas e moderadas entre o torque flexor e extensor do joelho e o tempo para desempenhar algumas tarefas (caminhar e subir e descer degraus), e também entre esses torques e a dor em pacientes com graus II ou III de OA. Hortobágyi *et al.* (2004) encontraram correlação moderada e negativa entre a força do músculo quadríceps (expressa como a soma das forças isométrica, concêntrica e excêntrica máximas) e o tempo despendido por pacientes com OA de joelho, grau II ou superior, em desempenhar tarefas funcionais. Deve ser enfatizado que a seção função física do questionário WOMAC abrange várias atividades funcionais que exigem contrações concêntricas e excêntricas do músculo quadríceps. Esta pode ser uma possível explicação para a correlação negativa encontrada no presente estudo entre os torques extensores concêntrico e excêntrico do joelho e as respostas para esta seção do questionário WOMAC.

A rigidez articular é um sintoma clínico extensivamente estudado na OA de joelho. Nesse estudo a seção rigidez também se correlacionou negativamente com a força do músculo quadríceps, indicando que quanto menor a força desse músculo maior a rigidez relatada por esses indivíduos. Um estudo epidemiológico de lesão articular, em

OA, concluiu que a fraqueza do músculo quadríceps pode preceder as alterações articulares detectadas na radiografia (SLEMENDA *et al.* 1997), e Sanghi *et al.* (2011) encontraram que em modelos de regressão linear as incongruências articulares são um importante preditor da rigidez. Uma vez que o nível de congruência entre as superfícies articulares dos côndilos dependem da posição do mesmo, se não existe qualquer subluxação lateral ou inclinação da articulação do joelho, essas superfícies são congruentes. Na OA de joelho, a degeneração da cartilagem cria incongruências entre as superfícies articulares devido à mudança no eixo mecânico de sustentação de peso. Tal mudança na cinemática articular, persistente ao longo do tempo, pode causar tensões anormais que resultam em fadiga gradual da cartilagem, que podem progredir para mudanças que conduzem à rigidez na OA. Isto pode explicar a correlação entre fraqueza do músculo quadríceps e rigidez nestes pacientes. No entanto, não existem estudos que avaliaram esta correlação nos estágios iniciais da OA do joelho, e por isso uma comparação com outros estudos não foi possível.

Assim, programas de reabilitação, especialmente para fortalecer os músculos do joelho, devem ser enfatizados, com o intuito de promover aumento da força muscular e de reduzir a dor e melhorar a função já nos estágio iniciais da OA de joelho. Além disso, como demonstrado, quanto menor a força, tanto concêntrica e excêntrica, maiores os sintomas, e uma vez que o tratamento pode ser específico, exercícios de fortalecimento concêntricos e excêntricos devem ser enfatizados.

Ressalta-se também que a composição de nossa amostra foi criteriosa. Nós avaliamos apenas indivíduos do sexo masculino, sendo 45,5% com OA de joelho grau I e 54,5% com grau II. Somente homens foram avaliados para evitar os efeitos hormonais decorrentes da diminuição dos níveis de estrógenos em mulheres. Uma vez que o estrógeno é condroprotetor e após a menopausa seu nível reduz, a incidência de OA em

mulheres nessa faixa etária (40-65 anos) pode variar conforme os níveis de estrógeno (SOWERS *et al.*, 2006). Além disso, já que o presente estudo avaliou apenas homens, e dado que pode haver diferenças entre os sexos, a exclusão das mulheres pode ser considerada uma limitação do estudo. Assim, estudos futuros sobre a correlação de sintomas auto-relatados e fraqueza muscular devem ser realizados em mulheres com fases iniciais da OA do joelho. Outra limitação desse estudo deve ser considerada. O fato desse estudo ter um desenho transversal não é possível estabelecer relações de causa e efeito entre as variáveis estudadas.

Assim concluindo, nos estágios iniciais de OA de joelho, os torques extensores concêntrico e excêntrico já se correlacionam negativamente com os auto-relatos de dor rigidez e disfunção física. Assim, o fortalecimento do músculo quadríceps, enfocando tanto exercícios excêntricos quanto concêntricos, é indicado nesses pacientes para minimizar tais sintomas.

AGRADECIMENTOS

Nós gostaríamos de agradecer a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela bolsa de doutorado direto concedida ao primeiro autor (Processo no. 2007/07200-4).

REFERÊNCIAS

AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY Subcommittee on Osteoarthritis Guidelines. Recommendations for the medical management of osteoarthritis of the hip and knee: 2000 update. **Arthritis Rheum**, v.43, p. 1905-1915, 2000.

BENNEL, K.L. *et al.* Relation of knee joint proprioception to pain and disability in individuals with knee osteoarthritis. **J Orth Research**, v. 21, p. 729-797, 2003.

BENNELL, K.L.; HINMAN, R.S.; METCALF, B.R.. Association of sensorimotor function with knee joint kinematics during locomotion in knee osteoarthritis. **Am J Phys Med Rehabil**, v. 83, p. 455-63, 2004.

BENNELL, K.L. *et al.* Role of muscle in the genesis and management of knee osteoarthritis. **Rheum Dis Clin N Am**, v. 34, p. 731-754, 2008.

DIEPPE, P.A.; LOMHMANDER, L.S. Pathogenesis and management of pain in osteoarthritis. **Lancet**, v. 365, p 965-973, 2005.

GOMES, W.F. **Impacto de um programa estruturado de fisioterapia aquática em idosos com osteoartrite de joelho.** Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007. (in Portuguese).

GÜR, H. *et al.* Concentric versus combined concentric-eccentric isokinetic training: effects on functional capacity and symptoms in patients with osteoarthrosis of the knee. **Arch Phys Med Rehabil**, v. 83, p. 308-316, 2003.

HASSAN, B.S.; MOCKETT, S.; DOHERTY, M. Static postural sway, proprioception, and maximal voluntary quadriceps contraction in patients with knee osteoarthritis and normal control subjects. **Ann Rheum Dis**, v. 60, p. 612–8, 2001.

HINMAN, R.S.; BENNELL, K.L.; CROSSLEY, K.M. Delayed onset of quadriceps activity and altered knee joint kinematics during stair stepping in individuals with knee osteoarthritis. **Arch Phys Med Rehabil**, v. 83, p. 1080-1086, 2002

HORTOBÁGYI, T. *et al.* Aberrations in the control of quadriceps muscle force in patients with knee osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 51, p. 562-9, 2004.

HURLEY, M.V.; NEWHAM, D.J. The influence of arthrogenous muscle inhibition on quadriceps rehabilitation of patients with early unilateral osteoarthritic knees. **Br J Rheumatol**, v.; 32, p.127-131, 1993.

HURLEY, M.V. *et al.* Sensorimotor changes and functional performance in patients with knee osteoarthritis. **Ann Rheum Dis**, v. 56, p. 641-648, 1997.

IVANOVITH, M.F. **Translation and Validation of the Quality of Life Questionnaire Specific WOMAC Osteoarthritis (Western Ontario and McMaster Osteoarthritis Universities Index) to Portuguese Language.** Federal University of São Paulo, São Paulo, 2002. (in Portuguese).

KELLGREN JH, LAWRENCE JS. Radiological assessment of osteo-arthritis. **Ann Rheum Dis**, v. 16, p. 494-502, 1957.

LaSTAYO, P.C. *et al.* Eccentric muscle contractions: their contribution to injury, prevention, rehabilitation, and sports. **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 33, p. 557-571, 2003.

LESSI, G.C. *et al.* Male subjects with early-stage knee osteoarthritis do not present biomechanical alterations in the sagittal plane during stair descent. **Knee**, doi:10.1016/j.knee.2011.07.001 (in press), 2011.

MURAKI, S. *et al.* Association of radiographic and symptomatic knee osteoarthritis with health-related quality of life in a population-based cohort study in Japan: the **ROAD study**, v. 18, p. 1227-1239, 2010.

O'REILLY, S.C. *et al.* Quadriceps weakness in knee osteoarthritis: the effect on pain and disability. **Ann Rheum Dis**, v. 57, p. 588-594, 1998.

PALMIERI-SMITH, R.M. *et al.* Isometric quadriceps strength in women with mild, moderate, and severe knee osteoarthritis. **Am J Phys Med Rehabil**, v. 89, p. 541-548, 2010.

ROBINSON, R.L.; NEE, R.J. Analysis of hip strength in females seeking physical therapy treatment for unilateral patellofemoral pain syndrome. **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 37, p. 232-238, 2007.

ROGIND, H. *et al.* The effects of a physical training program on patients with osteoarthritis of the knees. **Arch Phys Med Rehabil**, v. 79; p. 1421-1427, 1998.

SANGHI, D. *et al.* Is radiology a determinant of pain, stiffness and functional disability in knee osteoarthritis? A cross sectional-study. **J Orthop Sci**, v. 16, p. 719-725, 2011.

- SANTOS, M.L.A.S. *et al.* Muscle strength, muscle balance, physical function and plasma interleukin-6 (IL-6) levels in elderly women with knee osteoarthritis (OA). **Arch Gerontol Geriatr**, v. 52, p. 322-326, 2011.
- SLEMENDA, C. *et al.* Quadriceps weakness and osteoarthritis of the knee. **Ann Intern Med**, v. 127, p. 97-104, 1997.
- SLEMENDA C. *et al.* Reduced quadriceps strength relative to body weight: a risk factor for knee osteoarthritis in women? **Arthritis Rheum**, v. 41, p. 1951-1959. 1998
- SOWERS, M.R. *et al.* Estradiol and its metabolites and their association with knee osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 54, p. 2481-2487, 2006.
- STEULTJENS, M.P.M. *et al.* Muscle strength, pain and disability in patients with osteoarthritis. **Clin. Rehabil**, v. 15, p. 331-334, 2001.
- STEVENS, J.E.; MIZNER, R.L.; SNYDER-MACKLER, L. Quadriceps strength and volitional activation before and after total knee arthroplasty for osteoarthritis. **J Orthop Res**, v. 21, p. 775-779, 2003.
- THOMAS, M.J. *et al.* Anterior knee pain in younger adults as a precursor to subsequent patellofemoral osteoarthritis: a systematic review. **BMC Musculoskelet Disord**, v. 11, p. 201, 2010;
- VAN DER ESCH, M. *et al.* Joint proprioception, muscle strength, and functional ability in patients with osteoarthritis of the knee. **Arthritis Rheum.**, v. 57, p. 787-793, 2007.
- WEBER, J.C.; LAMB, D.R. **Statistics and Research in Physical Education**. Mosby Company, Saint Luis: C.V, 1970.
- ZHANG, Y.; JORDAN, J.M. Epidemiology of osteoarthritis. **Clin Geriatr Med**, v. 26, p. 355-369, 2010.

5. ESTUDO III

**EXPRESSÃO DE RECEPTORES DE PRODUTOS FINAIS DA GLICOSILAÇÃO
AVANÇADA (RAGES) E DOS COLÁGENOS TIPOS I E III NO MÚSCULO
VASTO LATERAL DE INDIVÍDUOS COM GRAUS INICIAIS DE
OSTEOARTRITE DE JOELHO.**

Paula Regina Mendes da Silva Serrão¹; Fernando Augusto Vasilceac¹; Karina Gramani Say¹; Ana Cláudia Mattiello Sverzut²; Stela Márcia Mattiello¹.

¹Laboratório de Análise da Função Articular, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos / São Carlos-SP; ²Laboratório de Neuropatologia, Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo / Ribeirão Preto-SP.

RESUMO

A presença de produtos finais da glicosilação avançada e de seus receptores (RAGEs) no colágeno muscular pode gerar efeitos deletérios. No entanto, não foram encontrados estudos que analisaram o RAGE, bem como a expressão de colágeno, no músculo de pacientes com osteoartrite (OA), seja nos graus avançados da doença ou nos graus iniciais. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a imunorreatividade dos colágenos tipo I e III e a expressão e localização de RAGE no músculo vasto lateral (VL) de homens com graus I ou II de OA de joelho, e comparar com um grupo controle. Participaram desse estudo 35 homens, divididos em dois grupos: grupo controle (GC) com 17 indivíduos (52.59 ± 8.05 anos) sem disfunção ou desordem na articulação do joelho, e grupo osteoartrite (GOA) com 18 sujeitos (51.27 ± 6.29) com OA de joelho graus I ou II. Todos os indivíduos foram submetidos ao procedimento de biópsia de agulha do músculo VL. Para identificação e localização do RAGE (intersticial, intramuscular e total) foi utilizada técnica de imunohistoquímica de dupla marcação, utilizando anticorpos primários para caracterização de RAGE e da laminina (componente da membrana). Foi feita a contagem da expressão do RAGE em cada um desses locais. A imunoreatividade do colágeno foi analisada utilizando anticorpos primários para colágeno I e III. Para análise intergrupo da localização do RAGE foi utilizado o teste-t Student para amostras independentes e o teste U Mann-Whitney ($\alpha \leq 0.05$). Para análise da reatividade do colágeno foi feita avaliação semiquantitativa das lâminas. Não foram observadas diferenças significativas em nenhuma das localizações analisadas para o RAGE: intracelular ($p=0.32$), intersticial ($p=0.19$) e total ($p=0.61$). Na análise do colágeno foi observada maior imunorreatividade no GOA para os dois tipos de colágeno, com maior reatividade para o colágeno III. Deste modo, podemos concluir

que nos graus iniciais da OA de joelho ainda não são encontrados níveis de RAGE capazes de gerar efeitos deletérios sobre a fibra muscular. No entanto, as maiores expressões de colágeno para o GOA podem representar adaptações na tentativa de reduzir a rigidez muscular e evitar o aparecimento de lesões.

Palavras-chave: RAGE. Colágeno. Músculo Vasto Lateral. Osteoartrite de joelho.

5.1. INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é uma doença inflamatória, crônico-degenerativa, que envolve não somente a cartilagem articular, mas também a sinóvia, o osso subcondral, músculos e ligamentos ao redor da articulação acometida (GOLDRING; OTERO, 2011; SANGHI *et al.*, 2011).

Os músculos dos membros inferiores, particularmente o músculo quadríceps, desempenham um importante papel na gênese e evolução da OA. Uma vez que no joelho os músculos têm função de produzir movimento, de absorver cargas e de fornecer estabilidade articular dinâmica, e na OA sua função pode estar alterada em decorrência de possível fraqueza, os mesmos podem ser identificados como potencial fator de risco para a progressão da doença (BENNELL *et al.*, 2008).

O declínio gradual da força muscular na OA de joelho tem sido atribuído à inibição artrogênica (HURLEY *et al.*, 1997). No entanto, tem sido demonstrado que alterações nas proteínas contráteis e não contráteis do músculo esquelético, que surgem com o avançar da idade, também podem diminuir a função muscular (SNOW; FUGERE; THOMPSON, 2007). Uma vez que um dos fatores envolvidos com a OA é o envelhecimento, alterações nessas proteínas somar-se-iam à etiologia e progressão da doença.

Um dos mecanismos que influencia a qualidade das proteínas musculares é a formação e o acúmulo de produtos finais da glicosilação avançada (AGEs) (VERZIIL *et al.*, 2003), principalmente nas proteínas de meia-vida longa, como o colágeno (De La MAZA *et al.*, 2008).

O colágeno é a proteína não contrátil mais abundante no músculo, sendo os principais colágenos do músculo os tipos I e III. As suas propriedades mecânicas de

resistir à tensão dependem de sua orientação e de suas pontes-cruzadas (IMAMURA; IMAMURA; HIROSE-PASTOR, 1999; KUROSE *et al.*, 2006). Alguns estudos em tecidos músculos esqueléticos de animais demonstraram que com o envelhecimento ocorreu aumento nas concentrações de colágeno tipo I, tornando os músculos mais firmes e estáveis devido à maturação dessas pontes (HINDLE *et al.*, 2009; KOVANEN; SUOMINEN, 1989). Também foi identificado aumento nas concentrações de AGEs (HAUS *et al.*, 2007; DUCOMPS *et al.*, 2003; WILLEMS; MILLER; STAUBER, 2001), podendo gerar aumento da rigidez muscular e redução da função muscular.

Cabe salientar que as respostas celulares dos AGEs são mediadas por um receptor específico, o RAGE, que tem a capacidade de transdução de sinais inflamatórios (YAN *et al.*, 2007), o que torna a análise desse receptor importante. No entanto, ainda que a presença de RAGEs seja apontada como geradora de efeitos deletérios sobre o tecido músculo esquelético devido à capacidade de amadurecerem suas pontes-cruzadas, não foram encontrados estudos que analisaram o RAGE e sua localização no músculo de pacientes com OA, seja nos graus avançados da doença ou nos graus iniciais.

Dessa forma, sendo o músculo esquelético composto por fibras colágenas que dão resistência e estabilidade ao músculo, e podendo ocorrer perda dessas propriedades com o decorrer da idade, bem como com acúmulo de RAGE, um estudo da expressão dos diferentes tipos de colágenos e da expressão desses receptores em indivíduos com graus I ou II de OA parece relevante. Tal relevância se deve principalmente ao intuito de verificar se as alterações funcionais, já bem estabelecidas nessa população, são acompanhadas também de alterações morfológicas e bioquímicas, desde os graus iniciais da doença.

Diante disso, o objetivo desse estudo foi avaliar a reatividade do colágeno intramuscular e a expressão e localização de RAGE no músculo vasto lateral (VL) de homens com graus I ou II de OA de joelho, e comparar com um grupo controle. Poderíamos hipotetizar que pacientes com OA de joelho apresentam maior expressão de RAGE e aumento na imunorreatividade do colágeno tipo I no músculo VL.

5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1. Sujeitos

35 sujeitos, com idade entre 40 e 65 anos, sedentários, participaram desse estudo. Os sujeitos foram divididos em dois grupos: grupo controle (GC) com 17 indivíduos com nenhuma disfunção ou desordem na articulação do joelho, e grupo osteoartrite (GOA) com 18 sujeitos com OA de joelho graus I ou II. O diagnóstico de OA foi baseado nos critérios clínicos do *American College of Rheumatology* (2000). Todos os voluntários foram submetidos à radiografia bilateral dos joelhos para graduação da OA de acordo com os critérios de Kellgren e Lawrence (1957).

Os critérios de inclusão para o GOA foram: presença de mínimos osteófitos (grau I) ou de pequenos osteófitos mas definidos (grau II) em pelo menos um dos compartimentos da articulação do joelho (tibiofemoral ou patelofemoral), unilateral ou bilateral. Para o GC os voluntários deveriam apresentar radiografia normal de ambos os joelhos.

Os voluntários do GOA foram excluídos caso tivessem realizado fisioterapia prévia (12 meses prévios à avaliação) ou tivessem sido submetidos à injeção intra-articular de esteróides (6 meses prévios à avaliação) (HEIDEN; LLOYD; ACKLAND,

2009). Para ambos os grupos os critérios de exclusão foram presença de história de trauma ou fratura de membros inferiores (LESSI *et al.*, 2011), cirurgia prévia do joelho e/ou quadril, presença de outras doenças reumatológicas ou sistêmicas tais como alterações cardiovasculares, respiratória, neurológicas e/ou músculo-esqueléticas (BENNELL *et al.*, 2003; HINMAN; BENNELL; CROSSLEY, 2002).

Todos os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**Apêndice B**), sendo que o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (número 143/2007) (**Apêndice A**).

5.2.2. Biópsia muscular

O procedimento de obtenção do fragmento muscular foi realizado no membro afetado (ou no mais afetado nos casos de OA bilateral) para o GOA e no membro dominante para o GC.

O fragmento muscular foi retirado do músculo vasto lateral (VL) por meio de biópsia percutânea de agulha. Previamente à biópsia foi realizada assepsia e anestesia local utilizando lidocaína a 2% sem vasoconstrictor. Em seguida, uma pequena incisão foi feita com aproximadamente 0,5 cm de pele, tecido subcutâneo e fáscia muscular utilizando bisturi de lâmina 11 (SCHILING, 2005). Posteriormente, foi inserida agulha de biópsia 4,5mm - modelo de agulha Bergström (BERGSTRÖM, 1975). O fragmento do músculo VL foi obtido a partir da metade da distância entre uma linha imaginária, que vai do trocânter maior do fêmur, até o ápice da patela (SCHILING, 2005).

Imediatamente após sua retirada, todos os fragmentos foram recobertos por talco, congelados em nitrogênio líquido e armazenados em criotubo, em freezer a -80° Celsius. Posteriormente, cortes transversais seriados (8 µm) foram feitos em criostato

(Leica, 1850), à -24° Celsius. Os cortes foram aderidos em lâminas para imunohistoquímica (ImmunoSlide, EasyPath) e armazenados em freezer -80° Celsius para posterior análise.

5.2.3. Imunohistoquímica

Receptor de Produto Final da Glicosilação Avançada (RAGE): Para identificação e localização do RAGE foi utilizada uma técnica imunohistoquímica de dupla marcação, utilizando RAGE e laminina. Essa técnica consiste na aplicação de anticorpo primário para caracterização do RAGE (anticorpo mouse anti-hum RAGE; diluição 1:10, A11, Santa Cruz Biotechnology) e do anticorpo primário para caracterização da laminina, componente da membrana basal (laminina rabbit anti-human, diluição 1:100, Z0097, Dako). Os anticorpos secundários utilizados foram Dako anti-mouse biotilado (diluição 1:200, E0433, Dako) para o RAGE e fluorescent goat anti-rabbit Alexa Fluor 488 (diluição 1:200, A11008, Molecular Probes) para identificação da laminina. A indicação do RAGE foi visualizada utilizando o kit de polímeros Vector Elite ABC HRP e o cromógeno Vector Purple Color (VIP). Após esses procedimentos as lâminas foram desidratadas e diafanizadas, e montadas em Permount (Fisher).

Três campos aleatórios de cada corte do fragmento muscular, de cada voluntário, foram avaliados por meio de Microscópio Óptico de luz (Leica DM 2500) no aumento de 40 vezes. Para facilitar a identificação da localização do RAGE na fibra muscular foi utilizada a localização fluorescente da laminina, por meio de microscópio para fluorescência (Leica DM 2500), permitindo que os locais do RAGE nas fibras musculares, dentro ou fora da membrana basal do músculo, pudessem ser determinados. Os locais foram classificados como intracelular (dentro da membrana basal da

miofibras), intersticial (fora da membrana basal da fibra) e total (intracelular + intersticial).

Foi feita a contagem da expressão do RAGE em cada um desses locais, para os três campos analisados.

Colágeno: A reatividade do colágeno foi analisada utilizando anticorpos primários para colágeno I (anticorpo monoclonal mouse anti-human Collagen I, diluição 1:2000, C2456, Sigma) e para colágeno III (anticorpo monoclonal mouse anti-human Collagen III, diluição 1:4000, C7805, Sigma) (overnight). Foi utilizado o anticorpo secundário biotilado Dako Goat anti-mouse (diluição 1:200, E0433, Dako). O kit com polímeros Vector Elite ABC HRP e o cromógeno Diaminobenzidina (DAB) foram utilizados. Essa reação resulta em fibras do tecido conjuntivo coradas em marrom.

As lâminas foram observadas em microscópio de luz (Axiolab, Carl Zeiss, Jena, Germany), no aumento de 20 vezes. Foi obtida uma imagem aleatória de cada corte, usando câmera digital de alta resolução (Sony DSCs75, Tokyo, Japan), para posterior análise.

A avaliação da imunomarcagem dos colágenos tipo I e III foi feita de forma semiquantitativa, seguindo o protocolo descrito por Kurose *et al.* (2006), por 3 avaliadores independentes, que não tinham acesso prévio aos dados dos voluntários. Foi utilizada na análise a seguinte classificação: (-) negativo; (\pm) ligeiramente positivo; (+) fracamente positivo; (++) moderadamente positivo; (+++) fortemente positivo.

5.3. ANÁLISE DOS DADOS

Os dados antropométricos e da localização do RAGE foram analisados utilizando o software Statistica[®] (versão 7.0, StatSoft, Inc., Tulsa, USA). Inicialmente valores descritivos (media e desvio padrão) foram obtidos. Os dados foram analisados quanto a sua normalidade por meio do teste de Shapiro–Wilk. Para os dados com distribuição normal (dados antropométricos e localização intersticial do RAGE) foi utilizado o teste-t Student para amostras independentes; para os dados que não tiveram distribuição normal (localização intracelular e localização total do RAGE) foi utilizado o teste U Mann-Whitney. Foi adotado um nível de significância de 5% ($p < 0.05$).

Para análise da reatividade do colágeno foi feita avaliação semiquantitativa das lâminas, para ambos os grupos, por três avaliadores independentes.

5.4. RESULTADOS

Os dados antropométricos obtidos dos dois grupos, e o grau da OA estão apresentados na **Tabela 1**, sendo que não foram detectadas diferenças entre os grupos quanto à idade, peso, altura e índice de massa corporal (IMC), apontando que os mesmos são homogêneos entre si.

Tabela 1: Características demográficas

Características	Grupo Osteoartrite (n=18)	Grupo Controle (n=17)
Idade (anos)	51,27±6,29	52,59±8,05
Altura (m)	1,70±0,06	1,73±0,09
Peso (kg)	84,75±13,1	81,69±12,12
IMC (kg/m ²)	29,51±5,02	27,25±3,67
Evidência radiológica de OA (%)		
K/L grau I	44,44	
K/L grau II	55,56	
OA unilateral	50,0	
OA bilateral	50,0	

IMC= Índice de massa corporal; K/L = Critério de Kellgren e Lawrence;

Para a localização do RAGE, na comparação intergrupos, não foram observadas diferenças significativas em nenhuma das localizações analisadas (intracelular, intersticial e total), conforme pode ser observado na **tabela 2**. A **figura 1** ilustra as marcações de laminina e RAGE, e a sobreposição da imagem da marcação da laminina sobre a imagem da localização do RAGE para o GC (**figuras 1 A, C e E**) e para o GOA (**figuras 1 B, D e F**).

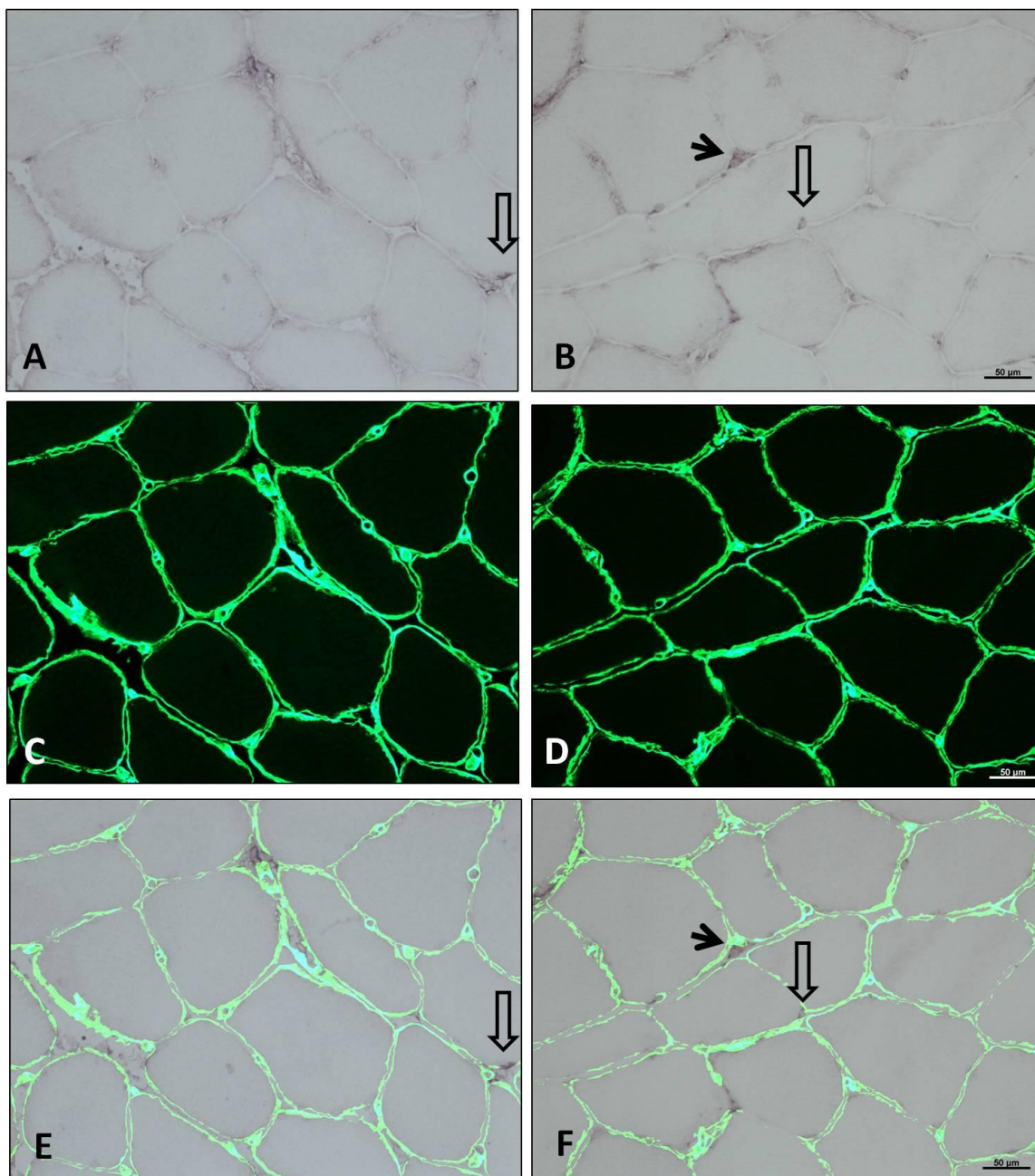


Figura 1: Fotomicrografia das lâminas com imunomarcção de RAGE (**figuras A e B**), laminina (**figuras C e D**) e a sobreposição das imagens (**figuras E e F**). **Figuras A, C e E** são representativas do grupo controle e **figuras B, D e F** do grupo osteoartrite. Seta cheia indica imunomarcção de RAGE intersticial e seta vazia imunomarcção de RAGE intracelular. (aumento de 40X); Barra = 50µm

Tabela 2: Localização do RAGE (intracelular, intersticial, intracelular + intersticial).

	Grupo Controle (n=17)	Grupo Osteoartrite (n=18)	P
RAGE intracelular	6 (21 – 1)	9 (31 – 3)	0,32
RAGE intersticial	29 (45 – 10)	24 (45 – 9)	0,19
RAGE total (intracelular + intersticial)	37 (62 – 17)	34 (62 – 12)	0,61

Os valores representam a mediana, o valor máximo e o mínimo da contagem dos locais onde foram identificadas presença do RAGE

A **tabela 3** apresenta a análise da reatividade para os colágenos I e III, respectivamente. Pode-se observar que 29.41% dos voluntários do GC apresentaram escore entre +/++ e ++ para a reatividade do colágeno tipo I, enquanto que 55.56% dos voluntários do GOA possuíam esse escore, para esse mesmo tipo de colágeno, indicando predomínio de marcação mais intensa para o GOA. Na análise semiquantitativa do colágeno III, comportamento semelhante foi observado, onde 50% dos voluntários do GOA apresentaram escore entre ++/+++ e +++, enquanto 23.53% do GC apresentaram esse escore para a análise de reatividade do colágeno III (**figura 2**).

Tabela 3: Análise de reatividade dos colágenos tipo I e tipo III, para os grupos controle (n=17) e osteoartrite (n=18)

Intensidade da Marcação	Colágeno tipo I		Colágeno tipo III	
	Grupo controle (%)	Grupo Osteoartrite (%)	Grupo controle (%)	Grupo Osteoartrite (%)
-/±	17,65 (n=3)	0	0	0
±	11,77 (n=2)	5,56 (n=1)	0	0
±/+	5,88 (n=1)	16,66 (n=3)	0	0
+	35,29 (n=6)	22,22 (n=4)	0	5,56 (n=1)
+;++	23,53 (n=4)	38,9 (n=7)	29,41(n=5)	16,66 (n=3)
++	5,88 (n=1)	16,66 (n=3)	47,06 (n=8)	27,78 (n=5)
++/+++	0	0	17,65 (n=3)	22,22 (n=4)
+++	0	0	5,88 (n=1)	27,78 (n=5)

Valores em porcentagem; (-) negativo; (±) ligeiramente positivo; (+) fracamente positivo; (++) moderadamente positivo; (+++) fortemente positivo; (-/±), (±/+), (+/++) e (++/+++) representam intensidades de transição da reatividade, (0) representa que nenhuma lâmina teve marcação para a intensidade correspondente.

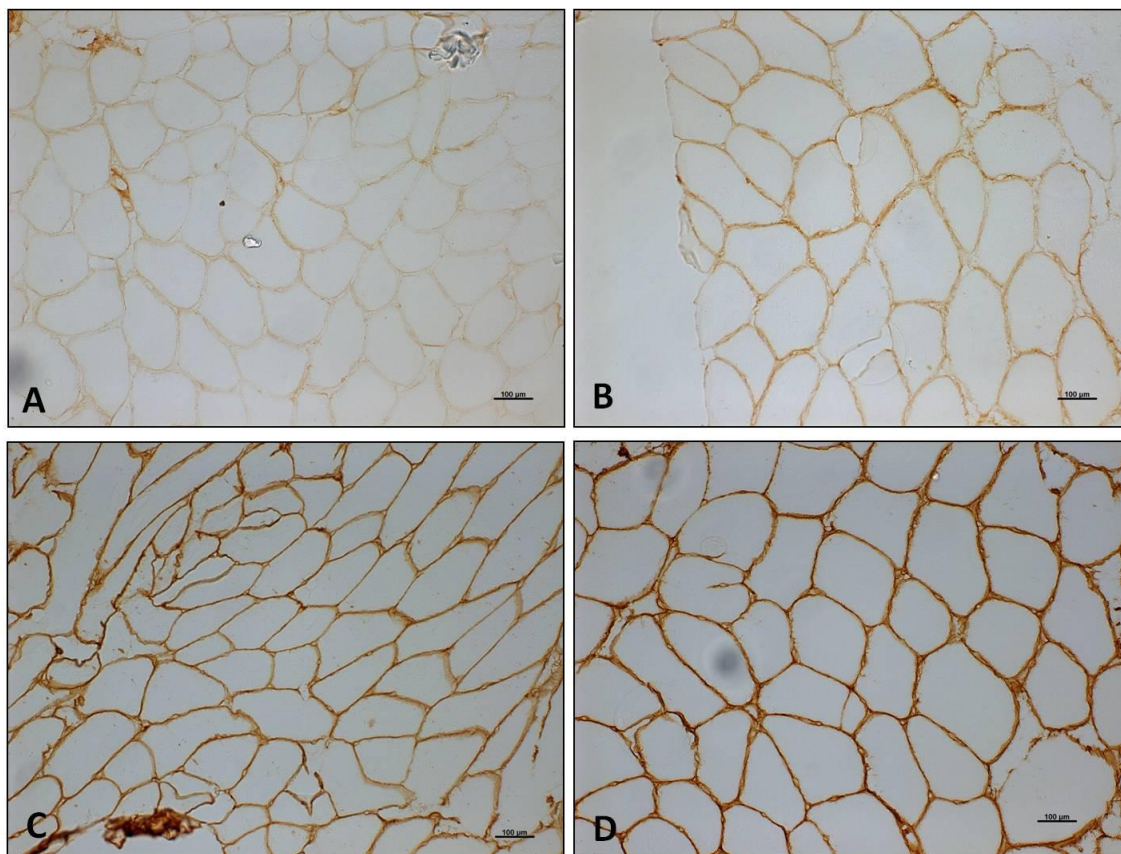


Figura 2: **A e B** representam imunomarcção do colágeno I para o grupo controle (classificada como +) e grupo osteoartrite (classificada como +/+), respectivamente. **C e D** representam imunomarcção do colágeno III para o grupo controle (classificada como ++/+++) e grupo osteoartrite (classificada como +++), respectivamente. (aumento de 20X); Barra = 100µm

5.5. DISCUSSÃO

Os resultados desse estudo indicam que os indivíduos com estágios precoces de OA de joelho não apresentam diferenças quanto à quantidade de RAGE expresso quando comparado aos indivíduos do GC. Com relação à expressão do colágeno, pode-se observar que existe diferença entre os grupos quanto à intensidade da

imunorreatividade de ambos os tipos de colágenos estudados, sendo que os indivíduos do GOA apresentam maiores intensidades.

Os RAGEs são receptores de superfície celular, da superfamília de imunoglobulinas (CHAYANUPATKUL; HONSAWEK, 2010). Em animais saudáveis, a expressão de RAGE em vários tipos de tecidos e células (tais como macrófagos, células endoteliais, neurônios) é muito baixa (FRITZ, 2011; GEROLDI; FALCONE; EMANUELE, 2006; MAILLARD-LEFEBVRE *et al.*, 2009). Em contrapartida, expressão elevada é observada em diferentes doenças crônicas tais como diabetes (BIERHAUS; NAWROTH, 2009), aterosclerose (HOFMANN *et al.*, 1999) e OA (STEENVOORDEN *et al.*, 2006).

Na OA, a ativação desse receptor pode tanto desencadear a doença como influenciar sua progressão (STEENVOORDEN *et al.*, 2006). No entanto, os estudos que analisaram a presença do RAGE na OA, o fizeram em outros tecidos que não o músculo esquelético (HIROSE *et al.*, 2011; CHAYANUPATKUL; HONSAWEK, 2010; SENOLT *et al.*, 2005). O presente estudo identificou níveis semelhantes de expressão de RAGE entre os grupos, intracelularmente e intersticialmente, bem como para a quantidade total. Porém, ainda que tenha sido detectado RAGE no músculo de indivíduos com OA, nessa fase da doença a quantidade expressa pode ainda não ser suficiente para gerar efeitos lesivos sobre esse tecido.

A imunomarcção de RAGE no músculo esquelético tem sido associada com a expressão de TNF- α (GORDON *et al.*, 2006). O TNF- α e a IL1- β são descritos como citocinas envolvidas na patogênese da OA (BONDESON *et al.*, 2006). Levinger *et al.* (2011) detectaram no músculo VL de indivíduos com OA maior expressão de IL6 e de genes de transcrição do TNF- α quando comparados com um grupo controle. Assim, em sujeitos com OA em graus avançados é possível identificar a presença dessas citocinas

circulantes (BONDENSON *et al.*, 2006) , o que explicaria também uma possível presença de RAGE. No entanto, estudos prévios de nosso laboratório, não publicados (GRAMANI-SAY *et al.*), não detectaram níveis plasmáticos de TNF- α nos sujeitos do presente estudo, podendo apontar que tal citocina também não esteja presente no músculo VL nos graus iniciais da doença, o que justifica a ausência de diferença de expressão de RAGE entre os grupos.

No músculo esquelético e em outros tecidos, como na cartilagem articular, os produtos de glicosilação e seus receptores estão acumulados no colágeno (De La MAZA *et al.*, 2008; VERZIIL *et al.*, 2002), o que leva à maturação das pontes-cruzadas desse composto, tornando o tecido mais rígido, comprometendo a sua função (HAUS *et al.*, 2007; DUCOMPS *et al.*, 2003; WILLEMS; MILLER; STAUBER, 2001). Além disso, sabe-se que em algumas doenças degenerativas, como na OA, também pode ocorrer aumento na quantidade muscular de colágeno em decorrência da maturação das pontes cruzadas (HAUS *et al.*, 2007). No entanto o motivo pelo qual essas pontes estão maduras, nessa população, não está claro. No presente estudo foi observada maior expressão dos colágenos tipo I e III no músculo VL de indivíduos com graus iniciais de OA. Porém, não se pode afirmar que esse aumento foi decorrente dos efeitos deletérios da presença do RAGE. Isso porque quantidades semelhantes de RAGE foram encontradas nos músculos de indivíduos saudáveis, sem existir aumento na expressão de colágeno.

Ressalta-se, no entanto, que a proporção relativa entre as expressões dos tipos de colágeno é mais importante que a expressão isolada de cada tipo, sendo que maior expressão de colágeno III em relação ao tipo I é considerado mais favorável. Isso porque o colágeno tipo I está relacionado com altas forças de tensão e com rigidez elástica, enquanto que o colágeno tipo III é mais complacente, permitindo maior

mobilidade entre as fibras (POLIZELLO *et al.*, 2011; KUROSE *et al.*, 2006; MACKEY; DONNELLY; ROPER, 2005). Assim, ainda que tenha sido detectada, maior expressão de colágeno no GOA, a expressão de colágeno III foi maior que do colágeno tipo I no presente estudo.

Nossos resultados diferem do estudo de Hindle *et al.* (2009) que encontrou aumento na quantidade de colágeno tipo I e redução na quantidade de colágeno tipo III em animais idosos, indicando aumento da rigidez muscular. Essa rigidez leva a uma maior estabilidade muscular (KOVANEN *et al.*, 1989). Essa estabilidade pode, no entanto, aumentar a probabilidade de lesão muscular porque pode comprometer a eficiência contrátil do músculo: é preciso superar este componente elástica elevado para se conseguir gerar uma contração de uma determinada intensidade (HINDLE *et al.*, 2009). Dessa forma, os achados de nosso estudo apontam para uma característica mais complacente dos músculos de indivíduos com graus iniciais da OA. Possivelmente isso seria um mecanismo de adaptação na tentativa de evitar o aparecimento de lesões.

Uma das limitações do presente estudo é a ausência de ferramentas que possam apontar resultados sobre as pontes-cruzadas do colágeno. Sendo o AGE um contribuinte da maturação dessas pontes, a sua dosagem direta seria interessante. Entender tais aspectos é relevante uma vez que tem sido sugerido que a manutenção de baixos níveis de pontes-cruzadas nas moléculas de colágeno é benéfica para as propriedades mecânicas do músculo (KRAGSTRUP; KJAER; MACKEY, 2011). Isso reforça ainda mais os efeitos positivos dos exercícios em indivíduos com OA de joelho, visto que existem estudo que relataram os efeitos benéficos dos exercícios sobre as moléculas de colágeno (HOLM *et al.*, 2010; IMAMURA; IMAMURA; HIROSE-PASTOR, 2009), ou seja, foi encontrado que exercícios físicos podem reduzir os níveis de pontes-cruzadas (GOSSELIN, 1998).

6. CONCLUSÃO

Podemos concluir que nos graus iniciais da OA de joelho ainda não são encontrados níveis de RAGE capazes de gerar efeitos deletérios sobre a fibra muscular. No entanto, as modificações de expressão do colágeno, principalmente do tipo III, podem representar adaptações dos sujeitos, desse estudo, na tentativa de reduzir a rigidez muscular e evitar o aparecimento de lesões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American College of Rheumatology Subcommittee on Osteoarthritis Guidelines. Recommendations for the medical management of osteoarthritis of the hip and knee: 2000 update. *Arthritis Rheum* 2000;43:1905-15.

BENNELL, K.L. *et al.* Relation of knee joint proprioception to pain and disability in individuals with knee osteoarthritis. *J Orth Research*, v. 21, p 729-797, 2003.

BENNELL, K.L. *et al.* Role of muscle in the genesis and management of knee osteoarthritis. *Rheum Dis Clin N Am*, v. 34, p. 731-754, 2008.

BERGSTROM, J. Percutaneous needle biopsy of skeletal muscle in physiological and clinical research. *Scand J Clin Laboratory Invest*, v. 35, p. 609–616, 1975.

BIERHAUS, A.; NAWROTH, P.P. Multiple levels of regulation determine the role of the receptor for AGE (RAGE) as common soil in inflammation, immune responses and diabetes mellitus and its complications. *Diabetol*, v. 52, p. 2251-2263, 2009.

BONDENSON, J. *et al.* The role of sinovial macrophages and macrophage-produced cytokines in driving aggrecanases, matrix metalloproteinases, and other destructive and inflammatory responses in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*, v. 8, p. R187, 2006.

CHAYANUPATKULA, M.; HONSAWEKB, S. Soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in plasma and synovial fluid is inversely associated with disease severity of knee osteoarthritis. **Clin Bioch**, v. 43, p. 1133–1137, 2010.

De La MAZA, M.P. *et al.* Weight increase is associated with skeletal muscle immunostaining for advanced glycation end products, receptor for advanced glycation end products, and oxidation injury. **Rejuvenation Res**, v. 11, p. 1041-1048, 2008.

DUCOMPS, C. *et al.* Effects of jump training on passive mechanical stress and stiffness in rabbit skeletal muscle: role of collagen. **Acta Physiol Scand**, v. 178, p. 215-224, 2003.

FRITZ, G. RAGE: a single receptor fits multiple ligands. **Trends Biomec Sc**. doi:10.1016/j.tibs.2011.08.008, 2011.

GEROLDI, D.; FALCONE, C.; EMANUELE, E. Soluble receptor for advanced glycation end products: from disease marker to potential therapeutic target. **Curr Med Chem**, v. 13, p. 1971-1978, 2006.

GOLDRING, M.B.; OTERO, M. Inflammation in osteoarthritis. **Curr Opin Rheumatol**, v. 23, 471-478, 2011.

GORDON, P.L. *et al.* Resistance training alters cytokine gene expression in skeletal muscle of adults with type 2 diabetes. **Int J Immunopathol Pharmacol**, v. 19, p. 739-749, 2006.

GOSSELIN, L.E. Effect of exercise training on passive stiffness in locomotor skeletal muscle: role of extracellular matrix. **J Appl Physiol**, v. 85, p 1011–1016, 1998.

GRAMANI-SAY K. *et al.* Resultados não publicados

HAUS, J.M. *et al.* Collagen, cross-linking, and advanced glycation end products in aging human skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v. 103, p. 2068-2076, 2007.

HEIDEN, T.L.; LLOYD, D.G.; ACKLAND, T.R. Knee extension and flexion weakness in people with knee osteoarthritis: Is antagonist cocontraction a factor? **J Orthop Sports Phys Ther**, v. 39, p. 807-815, 2009.

HINDLE, A.G. *et al.* Diving into old age: muscular senescence in a large-bodied, long-lived mammal, the Weddell seal. **J Exp Biol**, v. 212, p. 790-796, 2009.

HINMAN, R.S.; BENNELL, K.L.; CROSSLEY, K.M. Delayed onset of quadriceps activity and altered knee joint kinematics during stair stepping in individuals with knee osteoarthritis. **Arch Phys Med Rehabil**, v. 83, p. 1080-1086, 2002

HIROSE, J. *et al.* Immunohistochemical distribution of advanced glycation end products (AGEs) in human osteoarthritic cartilage. **Acta Histochemica**, v. 113, p. 613-618, 2011.

HOFMANN, M.A. *et al.* RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. **Cell**, v. 97, p. 889-901, 1999.

HOLM, L. *et al.* Contraction intensity and feeding affect collagen and myofibrillar protein synthesis rates differently in human skeletal muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 298, p. E257-269, 2010.

HURLEY, M.V. *et al.* Sensorimotor changes and functional performance in patients with knee osteoarthritis. **Ann Rheum Dis**, v. 56, p. 641-648, 1997.

IMAMURA, S.T.; IMAMURA, M.; HIROSE-PASTOR, E. Efeitos do envelhecimento e do exercício físico sobre o colágeno do músculo esquelético humano. **Rev Bras Reumatol**, v. 39, p. 35-40, 1999.

KELLGREN, J.H.; LAWRENCE, J.S. Radiological assessment of osteo-arthritis. **Ann Rheum Dis**, v. 16, p. 494-502, 1957.

KOVANEN, V.; SUOMINEN, H. Age- and training-related changes in the collagen metabolism of rat skeletal muscle. **Eur J Appl Physiol**, v. 58, p. 765-771, 1989

KRAGSTRUP, T.W.; KJAER, M.; MACKEY, A.L. Structural, biochemical, cellular, and functional changes in skeletal muscle extracellular matrix with aging. **Scand J Med Sci Sports**, v. 21, p. 749-757, 2011.

KUROSE, T. *et al.* Distribution and change of collagen types I and III and elastin in developing leg muscle in rat. **Hiroshima J Med Sci**, v. 55, p. 85-91, 2006.

LESSI, G.C. *et al.* Male subjects with early-stage knee osteoarthritis do not present biomechanical alterations in the sagittal plane during stair descent. **Knee** 2011 doi:10.1016/j.knee.2011.07.001 (in press).

LEVINGER, I. *et al.* Increased inflammatory cytokine expression in the vastus lateralis of patients with knee osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 63, p. 1343–1348, 2011.

MACKEY AL, DONNELLY AE, ROPER HP: Muscle connective tissue content of endurance-trained and inactive individuals. **Scand J Med Sci Sports** 2005, 15:402-408.

MAILLARD-LEFEBVRE, H. *et al.* Soluble receptor for advanced glycation end products: a new biomarker in diagnosis and prognosis of chronic inflammatory diseases. **Rheumatology**, v. 48, p. 1190–1196, 2009.

POLIZELLO, J.C. *et al.* Morphological effects of resumption of reloading after immobilization in lengthened position of skeletal muscle of female rats. **Braz J Physical Therapy**, v. 15, p. 73-79, 2011.

SANGHI, D. *et al.* Is radiology a determinant of pain, stiffness, and functional disability in knee osteoarthritis? A cross-sectional study. **J Orthop Sci**, v. 16, p. 719-725, 2011.

SCHILLING, B.K. *et al.* Myosin heavy chain isoform expression and in vivo isometric performance: a regression model. **J Streng Cond Res**, v. 19, p. 270-275, 2005.

SENOLT, L. *et al.* Increased pentosidine, an advanced glycation end product, in serum and synovial fluid from patients with knee osteoarthritis and its relation with cartilage oligomeric matrix protein. **Ann Rheum Dis**, v. 64, p. 886-890, 2005.

SNOW, L.M.; FUGERE, N.A.; THOMPSON, L.V. Advanced glycation end-product accumulation and associated protein modification in type II skeletal muscle with aging. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 62, p. 1204-1210, 2007.

STEENVOORDEN, M.M.C. *et al.* Activation of receptor for advanced glycation end products in osteoarthritis leads to increased stimulation of chondrocytes and synoviocytes. **Arthritis Rheum**, v. 54, p. 253–262, 2006.

VERZIIL, N. *et al.* AGEing and osteoarthritis: a different perspective. **Curr Opin Rheumatol**, v. 15, p. 616-622, 2003.

VERZIIL, N. *et al.* Crosslinking by advanced glycation end products increases the stiffness of the collagen network in human articular cartilage: a possible mechanism through which age is a risk factor for osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 46, p. 114-123, 2002.

WILLEMS, M.E.; MILLER, G.R.; STAUBER, W.T. Force deficits after stretches of activated rat muscle-tendon complex with reduced collagen cross-linking. **Eur J Appl Physiol**, v. 85, p. 405-411, 2001.

APÊNDICE A



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
propq@power.ufscar.br - www.propq.ufscar.br

CAAE 0031.0.135.000-07

Título do Projeto: Correlação entre a morfologia do músculo vasto lateral e o controle neuromuscular de indivíduos portadores de osteoartrite de joelho grau I e II

Classificação: Grupo III

Pesquisadores (as): Stela Márcia Mattiello Gonçalves Rosa, Paula Regina Mendes da Silva Serrão (orientanda) ; Profa. Dra. Ana Cláudia Mattiello Sverzut (colaboradora) ; Dr. Rodrigo Bezerra de Menezes Reiff (colaborador)

Parecer Nº. 143/2007

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.

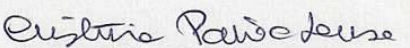
2. Avaliação do projeto

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.

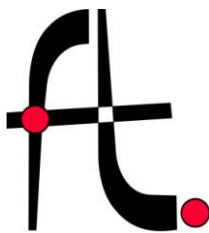
3. Conclusão:

Projeto aprovado

São Carlos, 29 de junho de 2007.


 Profa. Dra. Cristina Paiva de Souza
 Coordenadora do CEP/UFSCar

APÊNDICE B



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
 CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA
 Área de Concentração: Processos de Avaliação e Intervenção em
 Fisioterapia
 Via Washington Luís, Km 235 - C.P.676 - CEP. 13.565-905 - SÃO
 CARLOS - SP - BRASIL
 TEL: (016) 3351-8039- FAX. (016) 3361-2081
 Profa. Dra. Stela Márcia Mattiello
 E-mail: stela@ufscar.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Consentimento formal de participação no estudo intitulado *“Correlação entre a morfologia do músculo vasto lateral e o controle neuromuscular de indivíduos portadores de osteoartrite de joelho grau I e II”*

Responsável pela pesquisa e Orientadora: Profa. Dra. Stela Márcia Mattiello

Mestranda: Paula Regina Mendes da Silva Serrão

Colaboradores: Profa. Dra. Ana Cláudia Mattiello-Sverzut

Dr. Rodrigo Bezerra de Menezes Reiff

Informações da pesquisa

Objetivo do Estudo:

Esta pesquisa tem objetivo de medir o quanto você tem de força para flexionar (dobrar) e estender (esticar) o joelho. Esta medição será realizada em um tipo de equipamento específico que tem sido bastante utilizado para estudar a força dos músculos de atletas, de pacientes, e mesmo de indivíduos saudáveis, não trazendo nenhum prejuízo para você. Juntamente com o teste de força, um eletrodo será colocado sobre a região lateral da sua coxa para que seja verificada a medida do sinal elétrico do seu músculo, não causando nenhum risco para você.

Também será realizada biópsia do músculo da coxa (vasto lateral) através da qual será coletado um pedacinho de seu músculo pelo cirurgião-ortopedista, mas NÃO haverá sutura do local (ou seja, não haverá colocação de pontos com linhas especiais). Neste pedacinho de músculo será estudado o tamanho das células (ou fibras musculares).

No final, os resultados do estudo da força da coxa, do sinal elétrico do seu músculo e do tamanho e número das fibras serão comparados entre si. Esse estudo é importante para que os fisioterapeutas possam escolher os melhores tipos de exercícios para as doenças que acometem as articulações principalmente a osteoartrite, que tem altos índices de prevalência na sociedade.

Explicação dos procedimentos:

Este estudo está dividido em duas etapas:

1. Realização da biópsia muscular na perna não dominante ou aquela, se você for portador de osteoartrite, que estiver acometida. Para tanto, uma pequena área da coxa, acima do músculo vasto lateral, será anestesiada e a seguir um fragmento do músculo (80mg) será retirado através de uma incisão (1 cm). Após a retirada não serão dados pontos, apenas um pequeno curativo. Todo esse procedimento será

realizado por um médico ortopedista em ambulatório e consultório particular e será gratuito.

2. Realização do teste de força muscular no Ambulatório de Fisioterapia da UFSCar no braço não dominante, com movimentos de flexão e extensão do joelho simultaneamente ao registro do sinal elétrico do músculo.

Ao Paciente:

Esclarecimentos gerais:

Durante o experimento, receberei todas as informações necessárias à minha aprovação para participação dos testes e exames necessários neste estudo. Fico comprometido a participar dos mesmos comparecendo nos dias e horários marcados pelos responsáveis pela pesquisa e avisando com antecedência no caso da necessidade de me ausentar. Também estou ciente que não serei submetido a nenhum tipo de tratamento sem minha aprovação ou sem meu consentimento, e que posso me desligar desta pesquisa a qualquer momento, me comprometendo somente a comunicar pelo menos um dos responsáveis por esta pesquisa.

Possíveis Benefícios para a ciência

Estes dados auxiliarão no maior conhecimento sobre o envolvimento entre as fibras do músculo e a capacidade das pessoas desenvolverem força muscular, permitindo conhecer as condições apresentadas por indivíduos portadores de osteoartrite (OA) e propor um programa de reabilitação precoce, visando até mesmo o retardo da progressão da OA.

Desconforto e Risco:

Fui informado e estou ciente que este experimento poderá causar os seguintes riscos e desconfortos:

- Possibilidade de reação alérgica pelo uso da anestesia: Este risco é mínimo em função da pequena quantidade de anestésico utilizado (0,5 ml). A minha informação de que já fui submetido a procedimentos envolvendo o uso de anestésicos locais (como anestesia de dentista) torna este risco desprezível.
- Formação de um hematoma no local da incisão. Este risco será minimizado pelo uso correto do curativo, mantendo-o por três dias após o procedimento. Além disso, serão dadas orientações necessárias a serem tomadas em casa para evitar a formação do hematoma (por exemplo, a aplicação de gelo no local). Caso haja qualquer problema com o curativo, estou ciente de que o Dr. Rodrigo Reiff estará à minha disposição em seu consultório no telefone (16) 3371-0190.
- Possibilidade de dor (sensação da picada de um inseto) durante a anestesia, durante o procedimento de coleta do fragmento muscular, ou nos dias seguintes ao procedimento. Nestes casos, estou ciente de que todas as medidas necessárias para alívio da dor serão tomadas pela mestrandia Paula; o Dr. Rodrigo Reiff, se necessário, indicará medicação analgésica para meu conforto.

Liberdade de Participação:

A minha participação neste estudo é **voluntária**. É meu direito interromper minha participação a qualquer momento, sem que isso determine em penalidade ou prejuízo à minha pessoa. Também entendo que o pesquisador tem o direito de me excluir deste experimento no caso de conduta inadequada durante o período de exames. Por ser voluntária minha participação, **NÃO** receberei qualquer forma de remuneração pela minha participação no experimento, no entanto serei incluído nos agradecimentos anonimamente e de forma geral (“..... *agradeço a todos os voluntários que fizeram parte dessa pesquisa...*”), quando da publicação futura desse trabalho, respeitando o sigilo de minha participação.

Sigilo de Identidade:

As informações obtidas nesta pesquisa **não serão, de maneira alguma, associadas à minha identidade** e não poderão ser consultadas por pessoas leigas sem minha autorização oficial. Estas informações poderão ser utilizadas para fins estatísticos ou científicos, **desde que fiquem resguardados a minha total privacidade e meu anonimato**. Os responsáveis pelo estudo me explicaram todos os riscos envolvidos, a necessidade da pesquisa e se prontificam a responder todas as minhas questões sobre o experimento.

Eu aceitei participar deste estudo de livre e espontânea vontade.

Eu, _____
 portador do RG nº: _____, residente à
 _____,
 nº _____, bairro _____ Cidade: _____ - _____,
 declaro que tenho _____ anos de idade e que concordo em participar, voluntariamente, na pesquisa conduzida pelo aluno responsável e por seu respectivo orientador.

São Carlos, _____ de _____ de _____.

Nome por extenso do Voluntário

Assinatura do voluntário

Profa. Dra. Stela Márcia Mattiello
 Departamento de Fisioterapia – UFSCar
 Tel. (16) 33518039 e 33518341
 São Carlos – SP

Ft. Paula Regina M. Silva Serrão
 Doutoranda Executora do Projeto
 Departamento de Fisioterapia – UFSCar
 São Carlos – SP

Prof. Dra. Ana Cláudia Mattiello-Sverzut
 Departamento de Biomecânica, Medicina e
 Reabilitação do Aparelho Locomotor da FMRP – USP
 Tel. (16) 36022513 e 3602312
 Ribeirão Preto – SP

Dr. Rodrigo B.M. Reiff
 Médico Ortopedista colaborador
 Clínica Ortopédica Santa Monica
 Tel.: (16) 3371-0190
 São Carlos – SP

TRABALHOS VINCULADOS À TESE DE DOUTORADO

1. Atividade de Extensão “Atendimento Fisioterapêutico em Artropatias inflamatórias”.

Paula Regina Mendes da Silva Serrão, Fernando Augusto Vasilceac, Stela Márcia Mattiello

2. Influência do programa fisioterapêutico na manutenção da força submáxima de homens com osteoartrite de joelho

Yurika Maria Fogaça Kawaguchi, Paula Regina Mendes da Silva Serrão, Karina Gramani Say, Ana Beatriz de Oliveira, Stela Márcia Mattiello.

3. Influência do tratamento fisioterapêutico no tempo de recrutamento motor do músculo quadríceps em indivíduos com osteoartrite graus I e II.

Thaís Helena M. M. Vieira, Paula Regina Mendes da Silva Serrão, Karina Gramani Say, Stela Márcia Mattiello.

4. Influência de um tratamento fisioterapêutico no pico de torque de mulheres com osteoartrite de joelho

Marcela Piai Rossi, Paula Regina Mendes da Silva Serrão, Karina Gramani Say, Giovanna Camparis Lessi, Stela Márcia Mattiello Gonçalves Rosa

5. Estudo da atividade muscular e do controle neuromuscular de indivíduos portadores de osteoartrite de joelho graus I ou II

Paulo Pedrazanni, Paula Regina Mendes da Silva Serrão, Stela Márcia Mattiello

6. Efeito de um programa de tratamento fisioterapêutico na qualidade de vida de indivíduos com osteoartrite grau I ou II.

Larissa Martins Garcia, Karina Gramani Say, Paula Regina Mendes da Silva Serrão, Stela Márcia Mattiello.

7. Avaliação da performance e do equilíbrio muscular da coxa em portadores de osteoartrite graus I ou II após intervenção fisioterapêutica

Ana Cláudia Faralli Gimenez, Giovanna Camparis Lessi, Paula Regina Mendes da Silva Serrão, Karina Gramani Say, Stela Márcia Mattiello

8. Influência de um programa fisioterapêutico no controle postural de mulheres portadoras de osteoartrite de joelho graus I ou II – estudo da oscilação postural.

Rafaela de Castro Rodrigues, Karina Gramani Say, Paula Regina Mendes da Silva Serrão, Raquel de Paula Carvalho, José Ângelo Barela, Stela Márcia Mattiello Gonçalves Rosa

9. Alterações morfofuncionais em indivíduos portadores de Osteoartrite graus I ou II

Stela Márcia Mattiello, Ana Cláudia Mattiello Sverzut; Paula Regina Mendes da Silva Serrão

COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ESTUDO I NO PERIÓDICO
ARTHRITIS CARE AND RESEARCH

Arthritis Care & Research



Arthritis Care & Research

**Men with grade I or II knee osteoarthritis present
functional and morphological impairments of the quadriceps
femoris muscle**

Journal:	<i>Arthritis Care and Research</i>
Manuscript ID:	ACR-11-0858
Wiley - Manuscript type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	07-Dec-2011
Complete List of Authors:	Serrao, Paula Regina; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy Gramani-Say, Karina; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy Vasilceac, Fernando; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy Lessi, Giovanna; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy Oliveira, Ana Beatriz; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy Mattiello-Sverzut, Ana Cláudia; Sao Paulo University, Department of Physiotherapy Mattiello, Stela; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy
Key Words:	knee osteoarthritis, muscle biopsy, Muscle Strength, electromyography

SCHOLARONE™
Manuscripts

ANEXO B



Men with grade I or II knee osteoarthritis present functional and morphological impairments of the quadriceps femoris muscle

Journal:	<i>Arthritis Care and Research</i>
Manuscript ID:	ACR-11-0858
Wiley - Manuscript type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	07-Dec-2011
Complete List of Authors:	Serrao, Paula Regina; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy Gramani-Say, Karina; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy Vasilceac, Fernando; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy Lessi, Giovanna; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy Oliveira, Ana Beatriz; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy Mattiello-Sverzut, Ana Cláudia; Sao Paulo University, Department of Physiotherapy Mattiello, Stela; Federal University of Sao Carlos, Department of Physiotherapy
Key Words:	knee osteoarthritis, muscle biopsy, Muscle Strength, electromyography

SCHOLARONE™
Manuscripts

1
2
3
4 **Title:** Men with grade I or II knee osteoarthritis present functional and morphological
5
6 impairments of the quadriceps femoris muscle
7
8
9

10
11 **Running Head:** Functional and morphological impairments in knee OA
12
13

14
15 **Authors:**

16
17 Paula Regina Mendes da Silva Serrão (Physical Therapist), Karina Gramani Say (PhD.),
18
19 Fernando Augusto Vasilceac (Physical Therapist), Giovanna Camparis Lessi (MSc),
20
21 Ana Beatriz Oliveira (PhD.), Ana Cláudia Mattiello Sverzut (PhD.), Stela Márcia
22
23 Mattiello (PhD.)
24
25
26
27

28
29 **Corresponding author:** Stela Márcia Mattiello

30
31 **Address correspondence:** Federal University of São Carlos. Department of Physical
32
33 Therapy.
34

35 Rodovia Washington Luís, Km 235 CEP:13.565-905 CP: 676 - São Carlos, SP – Brazil.

36
37 e-mail address: stela@ufscar.br
38

39
40 Telephone number: +55 16 33518039 – fax number: +55 16 33618203
41
42
43
44
45

46
47 **Author Disclosure:** The work of the first author was supported by São Paulo Research
48
49 Foundation doctorate scholarship
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Abstract

Objective: To determine if subjects with early stages of knee osteoarthritis (OA) already had functional and morphological alterations of the quadriceps muscle.

Methods: The 40 men who participated in this study were divided into two groups: a control group (CG; 18 healthy subjects; 51.86 ± 6.47 years) and an osteoarthritis group (OAG; 22 subjects with grade I or II knee OA; 52 ± 8.1 years). A biopsy of the vastus lateralis (VL) muscle was performed for morphometric analysis. An evaluation of knee extensor torque (KET), concentric and eccentric at $90^\circ/s$ and $180^\circ/s$, was performed simultaneously with an evaluation of the electromyographic activity of the VL (RMS value). Moreover, the WOMAC questionnaire was used. For the intergroup analysis, we used the independent t-test and the Mann-Whitney U test ($\alpha < 0.05$). **Results:** Significant differences were found between the groups in eccentric KET at $90^\circ/s$ ($p = 0.01$) and at $180^\circ/s$ ($p = 0.04$) and in RMS values during the same contraction, also at both angular velocities ($p < 0.01$), with higher values for the CG. Higher values of the minimum diameter of type 1 fibers ($p = 0.03$), the fiber number percentage ($p = 0.03$) and the RCSA of type 2b fibers (T2bF) ($p = 0.02$) were found in the OAG. For the WOMAC, significant differences were found, indicating worse quality of life for the OAG. **Conclusion:** Thus, men with early stages of knee OA have decreased strength of the knee extensors and increased T2bF of the VL muscle, indicating neuromuscular adaptations. Eccentric exercises, even in early stages of knee OA, should be recommended.

Key words: knee osteoarthritis, muscle biopsy, muscle strength, electromyography

1
2
3
4 Knee osteoarthritis (OA) is the most common chronic joint disease, and the
5 prevalence of this disorder increases with age (1,2). Weakness of the muscles around
6 the knee joint is common in subjects with knee OA, especially quadriceps muscle
7 weakness (3). Quadriceps weakness may result from the pain of knee OA and may
8 contribute to substantial functional deficits in these subjects, which leads to increased
9 dependency in walking, stair climbing, and other lower limb tasks (4-8). However,
10 some studies have suggested that muscular weakness is a potential risk factor for the
11 development of OA (9). Thus, quadriceps muscle weakness appears to be both a
12 consequence of knee OA and a risk factor for its development.
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

24 Quadriceps weakness has been quantified as a reduction in maximal concentric
25 and isometric muscle strength in subjects with advanced stages of knee OA (10).
26 However, the symptoms of subjects with OA occur during activities of daily living
27 (ADLs), and these activities involve both concentric and eccentric actions (11). Thus,
28 studies of the concentric and eccentric strength of the quadriceps muscle in subjects
29 with knee OA are relevant.
30
31
32
33
34
35
36

37 Multiple factors have been suggested as possible causes of quadriceps muscle
38 weakness in advanced stage knee OA: decreases in muscle cross-sectional area (CSA),
39 selective atrophy of type 2 muscle fibers (T2F) and reductions in the number of these
40 muscle fibers (12-16). Considering these morphologic changes in the quadriceps muscle
41 in knee OA, changes in the level of muscle activation can also be expected (17,18).
42
43
44
45
46
47

48 Thus, the failure of voluntary activity has also been considered an important
49 contributing factor in reducing the strength of knee extension in patients with knee OA
50 (3,7,9,19), and this failure has been attributed to impairment of the central nervous
51 system's ability to activate the muscle fully and volitionally (6,9). This failure of
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 voluntary activation can result from progressive joint degeneration, which results in
5
6 abnormal articular afferent information being sent to the α -motor neurons, thereby
7
8 reducing their activation (arthrogenous muscle inhibition) (20). The vastus lateralis
9
10 (VL) is the predominant force producer and the most active muscle of the four
11
12 components of the quadriceps muscle during ADLs (4). Therefore, the analysis of the
13
14 activation of the VL muscle appears to be important.
15

16
17 It should be emphasized that the studies that investigated quadriceps muscle
18
19 weakness assessed varying stages of knee OA or subjects with more advanced stages of
20
21 the disease. When considering weakness of the quadriceps muscle, which has been
22
23 identified as a potential risk factor in the progression of OA, it is necessary to conduct
24
25 morphological and functional studies in the early stages of the disease (grade I or II
26
27 knee OA). Investigating these aspects is essential to directing rehabilitation programs.
28
29

30
31 Therefore, the objective of this study was to evaluate possible functional and
32
33 morphological alterations of the quadriceps muscle in subjects with early stages of knee
34
35 OA and to compare these subjects to a healthy control group without joint disorders. We
36
37 hypothesize that individuals with grade I or II knee OA have muscle strength deficits
38
39 and that these deficits are associated with a failure of voluntary activity and changes in
40
41 the number and size of fibers.
42
43
44
45

46 **Patients and methods**

47 **Patients**

48
49
50 Sixty male subjects, aged between 40 and 65 years, who did not engage in
51
52 regular physical activity, often fewer than three times a week (21), were assessed. They
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 were divided into two groups: the control group (CG), which included 26 subjects with
5
6 no dysfunction or joint disease, and the osteoarthritis group (OAG), which included 34
7
8 subjects with grade I or II OA of the knee.
9

10
11 The diagnosis of OA was based on the American College of Rheumatology
12
13 clinical classification criteria (1). All subjects underwent a radiological examination of
14
15 both knees. The severity of OA was graded by a radiologist according to the Kellgren
16
17 and Lawrence system (22).
18

19
20 For inclusion in the OAG, each subject had to present signs of OA in at least one
21
22 knee joint compartment (tibiofemoral or patellofemoral) (23), without joint space
23
24 narrowing, that could be classified as grade I or II (22). For inclusion in the CG, the
25
26 subjects had to show no radiographic alterations and had no history of lower limb pain,
27
28 illness, injury, trauma or fracture (23).
29

30
31 The exclusion criteria for the OAG included knee physiotherapy (previous 12
32
33 months) and steroid injections (previous 6 months) (3). For both groups, we excluded
34
35 subjects with any severe medical condition precluding safe testing (changes
36
37 cardiovascular, respiratory, neurological and/or musculoskeletal) or with previous
38
39 surgery of the knee or hip (4,24).
40

41
42 The study was approved by the Federal University of São Carlos Human
43
44 Research Ethics Committee (number 143/2007). All participants provided written
45
46 informed consent.
47

48 49 50 51 **Procedure**

52
53 The affected limb (or more symptomatic limb in cases of bilateral symptoms) for
54
55 the OAG was tested (4). For the CG the dominant side was chosen (25). The dominant
56
57
58
59
60

1
2
3
4 limb was determined by the question, "Which leg would you use to kick a ball as far as
5 possible?"
6
7

8
9
10
11 **Isokinetic assessment:** The assessment of knee extensor torque (KET) was
12 performed using an isokinetic dynamometer (Biodex Multi-Joint System 3, Biodex
13 Medical Inc., NY, USA).
14
15

16
17 Concentric and eccentric KET were evaluated at angular speeds of 90°/s and
18 180°/s. The order of testing was determined randomly. Before the evaluation, the
19 subjects performed a warm-up exercise on a stationary bike for 5 minutes, at a workload
20 of 75 W and a speed of 20 km/h (26), and performed self-stretching exercises for the
21 lower limb muscles.
22
23
24
25
26
27

28 The evaluations were conducted with the volunteers seated on the device chair,
29 with the knee flexed at 90°. The volunteers were stabilized in the chair of the
30 dynamometer by two belts that ran across the trunk, one belt across the thigh and other
31 across the pelvis. The axis of the knee joint (lateral epicondyle of the femur) was
32 aligned with the rotational axis of the dynamometer; resistance was applied at 5 cm
33 above the medial malleolus.
34
35
36
37
38
39
40
41

42 The subjects were instructed to keep their arms crossed in front of their trunks
43 during the test to avoid compensation. After receiving the test instructions, prior to each
44 assessment, the subjects performed 3 submaximal contractions to familiarize
45 themselves with the procedure. The subjects performed 5 maximal voluntary concentric
46 and 5 maximal voluntary eccentric isokinetic contractions with a range of motion from
47 20° to 90° (0°: full knee extension), at an angular speed of 90°/s. Then they performed
48 10 maximal concentric and 10 maximal eccentric isokinetic contractions, at an angular
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 speed of 180°/s. The rests between each type of contraction and between velocities were
5
6 5 minutes (10). To motivate the subject, verbal encouragement was provided during
7
8 each trial. To correct for the influence of gravity on the torque data acquired, the limb
9
10 was weighed prior to each test, according to the instructions found in the manual for the
11
12 dynamometer, and the results of the test were automatically corrected using data
13
14 acquisition software.
15

16
17 The torque data were collected at an acquisition frequency of 100 Hz. For each
18
19 type of contraction and angular speed, the average of peak torque was calculated. The
20
21 torque data were normalized to body weight using the following formula: (Nm torque /
22
23 kg body weight) x 100 (27).
24
25
26
27

28
29 **Electromyography:** Surface electromyography (EMG) activity of the VL
30
31 muscle was recorded during the assessment of KET. The data were collected with an 8
32
33 channel signal conditioning module (EMG-8, EMG System do Brasil®, SP, Brazil),
34
35 featuring an analogue-to-digital converter with 12-bit resolution. Each channel had a
36
37 100x gain, a Butterworth filter at a bandwidth of 20 to 400 Hz and common-mode
38
39 rejection of 100 dB. After cleaning and trichotomy of the skin, two disposable, self-
40
41 adhesive 20x gain Ag/AgCl preamplified surface electrodes (Medi-Trace™, Kendall,
42
43 Mansfield, USA) were attached over the muscle belly 20 mm apart, according to
44
45 SENIAM recommendations (28) (i.e., placed 2/3 of the way from the superior anterior
46
47 iliac spine to the lateral side of the patella). The reference electrode was placed on the
48
49 wrist. The electrodes were also secured with hypoallergenic adhesive tape to reduce
50
51 movement artifacts.
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 Data were recorded with an acquisition frequency of 1000 Hz per channel and
5
6 with AqDados data acquisition software. This software also recorded the range of
7
8 motion of the dynamometer, allowing for the synchronization of data.
9

10
11 The data were processed using MatLab® (version 7.0.1, MathWorks Inc.,
12
13 Natick, USA). The EMG signals were band-pass filtered using a second-order zero-lag
14
15 Butterworth filter at 20 to 400 Hz. The data were normalized according to the average
16
17 signal obtained during the maximal isometric contraction. This contraction was
18
19 performed using a dynamometer, with the knee flexed at 60° (full knee extension 0°) for
20
21 10 seconds. Finally, the root mean square (RMS) amplitude was calculated for the time
22
23 interval during which the knee was positioned between 30 and 70°. This period was
24
25 identified from the data obtained on the range of motion of the dynamometer and was
26
27 stored with the EMG signals.
28
29
30
31
32

33 **WOMAC questionnaire:** Pain, stiffness and physical function were evaluated
34
35 using a self-report questionnaire, designed specifically to assess quality of life in
36
37 patients with lower limb OA: the Western Ontario and McMaster Universities
38
39 Osteoarthritis (WOMAC) Index. It has been translated into and validated for the
40
41 Portuguese language (8). The scores for the items are expressed using a Likert scale.
42
43 The total score for each section is expressed as a percentage, with higher scores
44
45 indicating greater impairments. This questionnaire was applied prior to the execution of
46
47 all procedures.
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 **Muscle biopsy sampling and morphometric study:** Muscular biopsy was
5 performed 2 weeks before the functional evaluations of the (more) affected limb for the
6 OAG and the dominant limb for the CG.
7
8

9
10 Biopsy specimens were taken from the VL muscle using the percutaneous needle
11 biopsy method of Bergström (29). The muscle sample was taken at half the distance
12 from the greater trochanter of the femur to the apex of the patella. After cleaning and
13 shaving the sample site, a local anesthetic was cutaneously injected (2% lidocaine), and
14 a small (approximately 0.5–1.0 cm) incision was made through the skin and deep fascia
15 with a number 11 scalpel (30). Biopsy specimens were taken by needle biopsy (4.5 mm)
16 (from a model of the Bergström needle). The incision was closed with sterile strips, and
17 a pressure bandage was placed over the incision site.
18
19

20 Immediately after the biopsy, all fragments were covered with talcum powder,
21 frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C . Posterior, serial cross-sections (8 μm) of
22 frozen VL muscle were cut using a cryostat (Leica, CM 1850, Nussloch, Germany).
23 Some muscle sections were also stained to measure myosin adenosine triphosphatase
24 (mATPase) activity, after acidic (pH 4.3 to 4.6) and alkaline (pH 9.4) pre-incubations.
25 This method allowed the characterization of type 1 (T1F), type 2a (T2aF) and type 2b
26 fibers (T2bF) and hybrid fibers type (hybFT). This characterization, according to reports
27 of Engel and Cunningham (31), enabled the morphometric analysis of the muscle. This
28 analysis was performed by a trained observer for this task, who had no prior knowledge
29 about the identification of the blades.
30
31

32 The ATPase-stained sections were observed by light microscopy (Axiolab, Carl
33 Zeiss, Jena, Germany) at x20 magnification. Three different views were captured
34 randomly from each section, using a high-resolution, cooled digital camera (Sony
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 DSCs75, Tokyo, Japan). The images were then analyzed with the Image J image
5
6 analysis system (version 1.45, National Institutes of Health, Bethesda, USA).
7

8
9 The minimum diameter fiber was evaluated after classification/identification of
10
11 the muscle fiber types. This variable was defined by Brooke and Engel (32) as "the
12
13 greatest distance between the opposing sides considering the narrow aspect of a muscle
14
15 fiber," and it is not changed by obliquity or possible distortions due the imperfect
16
17 transversal sectioning of the sample (33). The analysis of fiber number percentage
18
19 (number of a muscle fiber type/subtype / total number of muscle fibers) was performed
20
21 mainly using strips pre-incubated at pH 4.6.
22
23

24
25 The relative cross-sectional area (RCSA) of each fiber type/subtype was also
26
27 calculated. The RCSA determines the percentage of area occupied by each fiber
28
29 type/subtype in a muscle sample. To calculate the RCSA, the following steps were
30
31 performed: 1) calculation of the total CSA of each fiber type/subtype 2) calculation of
32
33 the total CSA of the sample of muscle fragment (TCSAm): $CSAT1F + CSAT2aF +$
34
35 $CSAT2bF + CSAhybFT$; 3) calculation of the RCSA of each fiber type/subtype: $(CSA /$
36
37 $TCSAm) \times 100$.
38
39
40
41

42 **Statistical analysis**

43
44 The data were analyzed using Statistica[®] software (version 7, StatSoft, Inc.,
45
46 Tulsa, USA). Initially, descriptive values (mean, standard deviation, median, maximum
47
48 and minimum) were obtained for all data. The data were then analyzed with regard to
49
50 their statistical distribution (Shapiro–Wilk test). For the intergroup analysis, we used
51
52 the independent t-test for data with a normal distribution (anthropometric data, KET
53
54 data and EMG data). The Mann-Whitney U test was used for data without a normal
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 distribution (fiber number percentage, minimum diameter and RCSA). The results were
5
6 considered statistically significant at $p < 0.05$.
7
8
9

10 11 **Results**

12
13 Sixty male subjects were evaluated in this study. Of these, forty performed all
14 the procedures after being allocated into 2 groups: the CG ($n=18$; 51.86 ± 6.47 years),
15 and the OAG ($n=22$; 52 ± 8.1 years). Twenty subjects were not included in the study for
16 the following reasons: five subjects declined to participate in the study after the initial
17 assessment; nine refused to undergo muscular biopsy; one subject was diagnosed with
18 rheumatic disease in the course of the proceedings; two could not perform the isokinetic
19 tests in the eccentric mode; and three subjects had their knee OA assessed as grade III.
20
21
22
23
24
25
26
27

28 The demographic and clinical characteristics of the groups are presented in
29 **Table 1**. The evaluated groups did not differ in their demographic characteristics.
30
31
32

33 The knee compartment affected by OA was identified through radiological
34 examination. Five subjects presented OA in the patellofemoral (PF) compartment and
35 one in the medial tibiofemoral (MTF) compartment. Combined affected compartments
36 were found in 16 subjects: PF plus MTF was found in 7 subjects, PF plus lateral
37 tibiofemoral (LTF) compartment was found in 3 subjects, and PF plus MTF and LTF
38 was found in 6 subjects.
39
40
41
42
43
44
45

46 In the analysis of concentric KET, no differences were found between the groups
47 at any angular speed ($p=0.73$ at $90^\circ/s$ and $p=0.97$ at $180^\circ/s$). For eccentric KET,
48 differences were found between the groups at $90^\circ/s$ ($p=0.01$) and at $180^\circ/s$ ($p=0.04$),
49 with higher values for the CG.
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 For the RMS values, no significant intergroup differences were found during
5 concentric contractions at either angular speed ($p=0.52$ at $90^\circ/s$ and $p=0.46$ at $180^\circ/s$).
6
7 However, for eccentric contractions, differences were found for the RMS value at both
8 angular speeds ($p=0.01$ at $90^\circ/s$ and $p<0.01$ at $180^\circ/s$). The OAG presented lower values
9
10
11
12
13 **(Table 2)**.

14
15 For the WOMAC, the intergroup differences were significant in all three
16 sections (pain, $p<0.01$; stiffness, $p=0.03$; and physical function, $p<0.01$). The highest
17 values were found in the OAG, indicating worse outcomes **(Table 3)**.

18
19 In the morphometric analysis, a significant difference was observed in the
20 minimum diameter of T1F. The highest values were presented by the subjects in the
21 OAG ($p = 0.03$). No differences were found for T2aF ($p = 0.44$), T2bF ($p= 0.66$) or
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
hybFT ($p = 0.62$) **(Table 4)**. The prevalence of T2F in subjects with OA can be
observed in **Figure 1**.

33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
Significant intergroup differences were found for fiber number percentage in the
T2bF ($p=0.03$), and the subjects in the OAG had the highest proportion of such fibers.
For other fibers types, no significant differences were found. However, in the CG, there
was a predominance of T1F, followed by T2aF, T2bF and hybFT, as shown in **Figure**
2A. In the analysis of RCSA, a similar situation was observed. The OAG had a greater
RCSA of T2bF than the CG ($p = 0.02$) **(Figure 2B)**.

Discussion

51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
The results of this study suggest that patients with grade I or II knee OA exhibit
decreased eccentric strength of the quadriceps muscle, accompanied by a reduction in
the activation of the VL muscle, confirming our initial hypothesis. In addition,

1
2
3
4 morphological changes of muscle fibers were also observed: the OA subjects had a
5 higher proportion and greater RCSA of T2bF. With regard to the WOMAC
6 questionnaire, significant differences were found for all three sections (pain, stiffness
7 and physical function), indicating decreased quality of life for the patients with OA.
8
9

10
11
12
13 In the current study, deficits in concentric KET were not observed, either in slow
14 actions (90°/s) or in fast actions (180°/s). The action of skeletal muscle involves the
15 selective recruitment of motor units, and during concentric contractions, the recruitment
16 of these motor units follows the “size principle” described by Henneman et al. (34, 35).
17
18 In this study the proportion of T1F was similar between the groups. In this way, the
19 same proportion may be related to the maintenance of concentric strength observed
20 among the subjects in the OAG.
21
22
23
24
25
26
27

28
29 However, the size principle might not always hold true during rapid
30 contractions, and the recruitment of faster motor units without prior activation of slower
31 motor units can occur (36,37). In our study, there was no difference in RMS value
32 during the slow concentric actions (90°/s) and the fast concentric actions (180o/s). We
33 thus suggest that even in fast concentric actions, there may have been reverse
34 recruitment of motor units.
35
36
37
38
39
40
41

42
43 However, a significant reduction in eccentric KET was observed in the OAG
44 compared to the CG. Several studies have identified a reduction in the strength of the
45 quadriceps muscle in patients with knee OA (3,6,9,38). However, most of these studies
46 evaluated subjects with OA of the knee in various stages of the disease or only in
47 advanced stages, while we evaluated patients with OA in stages I and II only. Thus, the
48 results of this study suggest that the ability of individuals with knee OA to produce
49 eccentric strength is more compromised than the production of concentric strength,
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 whether slow or fast actions. Controlled knee flexion, which occurs as weight is loaded
5 onto the limb at heel strike, acts to dissipate the load result of body weight (4). This
6 process is achieved by eccentric quadriceps contraction. Thus, the eccentric strength
7 deficits observed in subjects with early stages of knee OA could reduce the normal
8 shock absorption action of the joint, which may contribute to the progression of OA.
9
10
11
12
13

14
15 These deficits in the eccentric muscle strength of patients affected by knee OA
16 could be associated with atrophy and/or reduction in the number of muscle fibers, or
17 with reduced ability to activate the muscle fibers, or with both.
18
19
20
21

22 Muscle fiber atrophy was not found in the morphometric analysis of the subjects
23 in the OAG. These results do not agree with the studies of more advanced stages of OA,
24 because selective atrophy of T2F has been observed in the muscles around osteoarthritic
25 joints (12,15,39). The differences between the findings of this study and these previous
26 studies may be related to methodological differences: the present study assessed men
27 with grade I and II knee OA aged between 40 and 65 years, while other studies assessed
28 men and women up to 75 years with advanced stages of OA.
29
30
31
32
33
34
35
36

37 In this study, we also found a higher proportion of T2bF in the OAG. This
38 finding may have been due to a transformation of T1F and T2aF into T2bF. Several
39 factors may have accounted for the change of fiber types; among them, we emphasize
40 that the muscles of subjects who underwent immobilization also underwent
41 transformation in the direction of slow fibers (T1F) to fast fibers (T2F) (40), indicating
42 that muscles submitted to disuse tend to contain higher proportions of T2F (40,41).
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 number of T2bF found. However, we emphasize that this disuse was not sufficient to
5
6 generate atrophy in any kind of fiber.
7

8
9 According to an *in vitro* study of isolated muscle fibers, fast fibers, when
10 recruited, produce an increase in power 10 times greater than slow fibers (42). In
11 addition, the velocity of the shortening of T2bF is five to six times higher than the speed
12 of T1F (43). Among the subtypes of T2F, T2bF have values of peak power twice as
13 high as those of T2aF (44). Therefore, it was expected that the OAG would present
14 greater KET than the CG. However, despite the higher percentage of T2bF in the OAG,
15 lower values of eccentric KET were observed. Although the morphology and
16 electromyographic activity of only one of four components of the quadriceps muscle
17 was evaluated, we emphasize the importance of analyzing this group because this
18 component is the predominant force producer (and the most active) of the 4 components
19 of the quadriceps muscle during functional tasks (4).
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

33 Another factor that directly affects muscle performance, especially in the
34 production of torque, is the CSA of muscle fibers. In the present study, fiber size was
35 also determined using the value corresponding to the CSA of each muscle fiber, and the
36 RCSA was calculated. Thus, a higher RCSA for T2bF was found in the OAG compared
37 to the CG. Although an increase in the minimum diameter of T1F was found, this
38 increase did not influence the RCSA. This may have been due to the predominance of
39 T2bF. Although a direct correlation between the CSA and the ability to generate force
40 may exist (45) and the muscle may have characteristics of a fiber type whose area is
41 more representative, we emphasize, once again, that even with the greater RCSA for
42 T2bF in the OAG, lower values of torque were observed in this group.
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Conversely, because preferential recruitment of T2F (46,47) can occur in eccentric contractions, not following the “size principle”, and because there was a greater percentage of T2bF in the OAG, it was expected that there would be no strength deficit in this group. However, as explained above, lower levels of eccentric strength were observed. This strength deficit, found in individuals with early stages of knee OA, was probably due primarily to arthrogenous muscle inhibition (11). This relationship was demonstrated in our study by lower RMS values presented by subjects in the OAG during eccentric contractions. Thus, the observed failure in voluntary activation suggests that the motor units, especially T2bF, may not have been fully activated, and this failure may have been due to pain or joint damage (9), which are usually present in knee OA.

The results of our study do not agree with the findings of Heiden et al. (3), which demonstrated reduced knee extension strength in the absence of maximal voluntary activation failure and suggested that muscle atrophy is the main cause of weakness of the quadriceps. These authors suggested that the lack of difference in the failure of activation between subjects in the CG and in the OAG indicates that joint deterioration does not change the level of muscle activation. It should be emphasized, however, that these authors evaluated muscle activation during isometric contractions, whereas we evaluated muscle activation during concentric and eccentric contractions.

Beyond the strength deficits and muscle activation deficits, individuals with grade I or II knee OA also had reduced quality of life. For the three sections of the WOMAC questionnaire, the OAG showed higher values than the CG. These results indicate that even in the early stages of OA, patients have an altered perception of pain, of the impairment of physical function, and of the stiffness resulting from the disease.

1
2
3
4 Similar results were found by Hurlbly-Kozey et al. (48) in subjects with grade I to III
5
6 knee OA.
7

8
9 Given the above observations, we emphasize the relevance of our results, which
10 indicate that the participants in this study (with knee OA) had deficits of voluntary
11 muscle activation associated with deficits of eccentric KET. In addition, the
12 contribution of muscular inhibition to the decreases in the eccentric strength of the
13 quadriceps muscle can result in impairment of ADLs in these subjects, affecting quality
14 of life.
15
16
17
18
19
20

21
22 We recognize some limitations of this study. One limitation is that the
23 transversal design of this study did not allow for the establishment of cause-and-effect
24 relationships among the variables studied. In other words, it was not possible to identify
25 whether changes in the strength of the quadriceps muscle, as well as morphological
26 changes and electromyographic changes of the VL muscle, precede knee OA or are a
27 consequence of knee OA. Therefore, prospective studies are needed to determine the
28 role of morphological and functional changes of the quadriceps muscle in the
29 pathogenesis of knee OA. The evaluation of morphological changes and
30 electromyographic changes of only the VL muscle can also be considered a limitation of
31 this study. However, the evaluation of the VL muscle alone was justified by the
32 invasive character of the muscle biopsy.
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45

46 Therefore, we can conclude that men with early stages of knee OA already have
47 concomitant deficits in KET and deficits in quadriceps muscle activation, as well as
48 increases in the proportion of T2bF which may indicate possible mechanisms of
49 neuromuscular adaptation. The results of this study indicate that eccentric training of the
50 knee extensor muscles should be emphasized, beginning in the early stages of the
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 disease. Early identification of these changes may assist in the design of rehabilitation
5
6 programs aimed at slowing or controlling the functional changes resulting from the
7
8 presence of knee OA in its initial stages.
9

10 11 12 13 **Acknowledgments**

14
15 We would like to thank the São Paulo Research Foundation (FAPESP) because
16
17 the work of the first author was supported by the Foundation through a doctoral
18
19 scholarship (number 2007/07200-4).
20
21
22
23

24 25 **References**

- 26
27 1- American College of Rheumatology Subcommittee on Osteoarthritis Guidelines.
28
29 Recommendations for the medical management of osteoarthritis of the hip and
30
31 knee: 2000 update. Arthritis Rheum 2000;43:1905-15.
32
33
34
35 2- Brandt KD, Dieppe PA, Eric R. Etiopathogenesis of osteoarthritis. Med Clin N Am
36
37 2009; 93: 1-24.
38
39
40
41
42 3- Heiden TL, Lloyd DG, Ackland TR. Knee extension and flexion weakness in
43
44 people with knee osteoarthritis: Is antagonist cocontraction a factor? J Orthop
45
46 Sports Phys Ther 2009; 39:807-15.
47
48
49
50
51 4- Hinman RS, Bennell KL, Crossley KM. Delayed onset of quadriceps activity and
52
53 altered knee joint kinematics during stair stepping in individuals with knee
54
55 osteoarthritis. Arch Phys Med Rehabil 2002;83:1080-6
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4 5- Bennell KL, Hinman RS, Metcalf BR. Association of sensorimotor function with
5
6 knee joint kinematics during locomotion in knee osteoarthritis. *Am J Phys Med*
7
8 *Rehabil* 2004; 83: 455-63.
9
- 10
11
12
13 6- Fitzgerald GK, Piva SR, Irrgang JJ, Bouzubar F, Starz TW. Quadriceps activation
14
15 failure as a moderator of the relationship between quadriceps strength and physical
16
17 function in individuals with knee osteoarthritis. *Arthritis Care Res* 2004; 51:40-48.
18
19
- 20
21
22 7- Bennell KL, Hunt MA, Wrigley TV, Lim BW, Hinman RS. Role of muscle in the
23
24 genesis and management of knee osteoarthritis. *Rheum Dis Clin N Am* 2008;
25
26 34:731-54.
27
28
- 29
30
31 8- Santos MLAS, Gomes WF, Pereira DS, Oliveira DMG, Dias JMD, Ferrioli E et al.
32
33 Muscle strength, muscle balance, physical function and plasma interleukin-6 (IL-6)
34
35 levels in elderly women with knee osteoarthritis (OA). *Arch. Gerontol. Geriatr*
36
37 2011; 52:322-26.
38
39
- 40
41
42 9- Lewek MD, Rudolph KS, Snyder-Mackler L. Quadriceps femoris muscle weakness
43
44 and activation failure in patients with symptomatic knee osteoarthritis. *J Orthop*
45
46 *Res* 2004; 22: 110-15.
47
48
- 49
50
51 10- Palmieri-Smith RM, Thomas AC, Karvonen-Gutierrez C, Sowers MF. Isometric
52
53 quadriceps strength in women with mild, moderate, and severe knee osteoarthritis.
54
55 *Am. J. Phys. Med. Rehabil* 2010; 89:541-48.
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4 11- Hortobágyi T, Garry J, Holbert D, Devita P. Aberrations in the control of
5
6 quadriceps muscle force in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum*
7
8 2004;51:562-9.
9
10
11
12 12- Nakamura T, Suzuki K. Muscular changes in osteoarthritis of the hip and knee.
13
14 *Nippo Seikeg Gak Zas* 1992; 66: 467-75.
15
16
17
18 13- Slemenda C, Brandt KD, Heilman DK, Mazzuca S, Braunstein EM, Katz BP et al.
19
20 Quadriceps weakness and osteoarthritis of the knee. *Ann Intern Med* 1997;127:97-
21
22 104.
23
24
25
26
27 14- Ikeda S, Tsumura H, Torisu T. Age-related quadriceps-dominant muscle atrophy
28
29 an incidence radiographic knee osteoarthritis. *J Orthop Sci.* 2005; 10:121-26.
30
31
32
33
34 15- Fink B, Egl M, Singer J, Fuerst M, Bubenheim M., Neuen-Jacob. Morphologic
35
36 changes in the vastus medialis muscle in patients with osteoarthritis of the knee.
37
38 *Arthritis Rheum* 2007;56:3626-33.
39
40
41
42
43 16- Pan J, Stehling C, Muller-Hocker C, Schwaiger BJ, Lynch J, McCulloch CE et al.
44
45 Vastus lateralis/vastus medialis cross-sectional area ratio impacts presence and
46
47 degree of knee joint abnormalities and cartilage T2 determined with 3T MRI – an
48
49 analysis from the incidence cohort of the Osteoarthritis Initiative. *Osteoarthritis*
50
51 *Cartilage* 2011; 19: 65-73.
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4 17- McHugh MP, Tyler TF, Nicholas SJ, Browne MG, Glein GW. Electromyographic
5
6 analysis of quadriceps fatigue after anterior cruciate ligament reconstruction. J
7
8 Orthop Sports Phys Ther 2001; 31:25-32.
9
- 10
11
12 18- Houtman CJ, Stegeman DF, Van Dijk JP, Zwarts MJ. Changes in muscle fiber
13
14 conduction velocity indicate recruitment of distinct motor unit populations. J Appl
15
16 Physiol 2003; 95:1045-1054.
17
18
19
- 20
21
22 19- Mizner RL, Petterson SC, Stevens JE, Vandenborne K, Snyder-Mackler L. Early
23
24 quadriceps strength loss after total knee arthroplasty. The contributions of muscle
25
26 atrophy and failure of voluntary muscle activation. J Bone Joint Surg Am 2005;
27
28 87:1047-53.
29
30
31
- 32
33 20- Hurley MV, Scott DL, Rees J, Newham DJ. Sensorimotor changes and functional
34
35 performance in patients with knee osteoarthritis. Ann Rheum Dis 1997; 56:641-48.
36
37
38
- 39
40 21- Blackburn JT, Mynark RG, Padua DA, Guskiewicz KM. Influences of experimental
41
42 factors on spinal stretch reflex latency and amplitude in the human triceps surae. J
43
44 Electromyogr Kinesiol. 2006; 16:42-50.
45
46
47
- 48
49 22- Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthrosis. Ann Rheum
50
51 Dis 1957; 16:494-502.
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4 23- Lessi GC, Serrão PRMS, Gimenez ACF, Gramani-Say K, Oliveira AB, Mattiello
5 SM. Male subjects with early-stage knee osteoarthritis do not present
6 biomechanical alterations in the sagittal plane during stair descent. *Knee* 2011
7 doi:10.1016/j.knee.2011.07.001 (in press).
8
9
10
11
12
13
14
15 24- Bennel KL, Hinman RS, Metcalf BR, Crossley KM, Smith M, McColl G. Relation
16 of knee joint proprioception to pain and disability in individuals with knee
17 osteoarthritis. *J Orth Research* 2003; 21:729-97.
18
19
20
21
22
23
24 25- Aquino MA, Leme LEG, Amatuzzi MM, Greve JMA, Terreri ASAP, Andrusaitis
25 FR, Nardelli JCC. Isokinetic assessment of knee flexor/extensor muscular strength
26 in elderly women. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo* 2002; 57:131-34.
27
28
29
30
31
32
33 26- Van Cingel REH, Kleinrensink G, Uitterlinden EJ, Rooijens PPGM, Mulder PGH,
34 Aufdemkampe G et al. Repeated ankle sprains and delayed neuromuscular
35 response: acceleration time parameters. *J Orthop Sports Phys Ther* 2006;36:72-9
36
37
38
39
40
41
42 27- Robinson RL, Nee RJ. Analysis of hip strength in females seeking physical therapy
43 treatment for unilateral patellofemoral pain syndrome. *J Orthop Sports Phys Ther.*
44 2007;37:232-8.
45
46
47
48
49
50
51 28- Hermens HJ, Freriks B. European recommendations for surface
52 electromyography.[CD-room]. Roessingh Research and Development; 1999.
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4 29- Bergstrom J. Percutaneous needle biopsy of skeletal muscle in physiological and
5
6 clinical research. *Scand J Clin Laboratory Invest* 1975; 35: 609–16.
7
8
9
10
11 30- Schilling BK, Fry AC, Chiu LZF, Weiss LW. Myosin heavy chain isoform
12
13 expression and in vivo isometric performance: a regression model. *J Streng Cond*
14
15 *Res* 2005; 19:270-75.
16
17
18
19
20 31- Engel WK, Cunningham GG. Rapid examination of muscle tissue. An improved
21
22 trichrome method for fresh-frozen biopsy sections. *Neurology* 1963;13:919-23
23
24
25
26
27 32- Brooke MH, Engel WK. The histographic analysis of human muscle biopsies with
28
29 regard to fiber types. 1. Adult male and female. *Neurol* 1969; 19:221-33.
30
31
32
33 33- Dubowitz V. Muscle biopsy “a practical approach”. In Baillière Tindall. 2.ed.
34
35 Definition of pathological changes seen in muscle biopsies. London; 1985. p. 82-
36
37 101.
38
39
40
41
42 34- Henneman E, Somjen G, Carpenter DO. Functional significance of cell size in
43
44 spinal motoneurons. *J Neurophysiol* 1965; 28:560-80.
45
46
47
48 35- Henneman E, Clamann HP, Gillies JD, Skinner RD. Rank order of motoneurons
49
50 within a pool: law of combination. *J. Neurophysiol* 1975; 37:1338-49.
51
52
53
54 36- Wakeling JM. Motor units are recruited in a task-dependent fashion during
55
56 locomotion. *J. Exp. Biol* 2004; 207:3883-90.
57
58
59
60

- 1
2
3
4 37- Wakeling JM, Uehli K, Rozitis AI. Muscle fibre recruitment can respond to the
5 mechanics of the muscle contraction. *J. R. Soc. Interface* 2006; 3:533-44.
6
7
8
9
10
11 38- Levinger I, Levinger P, Trenerry MK, Feller JA, Bartlett JR, Bergman N, McKenna
12 MJ, Cameron-Smith D. Increased inflammatory cytokine expression in the vastus
13 lateralis of patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2011; 63:1343-48.
14
15
16
17
18
19 39- Sirca A, Susec-Michieli M. Selective type II fiber muscular atrophy in patients with
20 osteoarthritis of the hip. *J Neurol Sci* 1980; 44:149-152.
21
22
23
24
25
26 40- Lieber RL. Skeletal muscle structure function and plasticity: the physiological basis
27 of rehabilitation. Lippincott: Philadelphia; 2010. Chap. 4,5:141-226.
28
29
30
31
32 41- Pette D, Staron RS. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int Rev*
33 *Cytol* 1997; 170:143-223.
34
35
36
37
38
39 42- Bottinelli R, Pellegrino MA, Canepari R, Reggiani C. Specific contributions of
40 various muscle fibres types to human muscle performance: an in vitro study. *J*
41 *Electromyogr Kinesiol* 1999; 9:87-95.
42
43
44
45
46
47
48 43- Larsson L, Moss RL. Maximum velocity of shortening in relation to myosin
49 isoform composition in single fibres from human skeletal muscles. *The journal of*
50 *Physiology* 1993; 472:595-614.
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4 44- Widrick JJ, Trappe SW, Costill DL, Fitts RH. Force-velocity and force-power
5 properties of single muscle fibers from elite master runners and sedentary men. Am
6 J Physiol 1996; 271: 676-83.
7
8
9
10
11
12
13 45- Fukunaga T, Miyatani M, Tachi M, Kousaki M, Kawakami Y, Kanehisa H. Muscle
14 volume is a major determinant of joint torque in humans. Acta Physiol Scand 2001;
15 172: 249-255.
16
17
18
19
20
21
22 46- Nardone A, Schieppati M. Shift of activity from slow to fast muscle during
23 voluntary lengthening contractions of the triceps surae muscles in humans. J
24 Physiol 1988; 395:363-81.
25
26
27
28
29
30
31 47- Enoka R. Eccentric contractions require unique activation strategies by the nervous
32 system. J Appl Physiol 1996; 81: 2339-46.
33
34
35
36
37
38 48- Hubley-Kozey CL, Deluzio KJ, Landry SC, McNutt JS, Stanish WD.
39 Neuromuscular alterations during walking in persons with moderate knee
40 osteoarthritis. J Electromyogr Kinesiol 2006;16:365-78.
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Tables**Table 1:** Anthropometric data of subjects

Characteristics	Osteoarthritis group	Control group
Age (y)	51.86±6.47	52±8.19
Height (m)	1.70±0.06	1.72±0.09
Weight (kg)	84.25±12.32	80.61±12.62
BMI (kg/m²)	29.20±4.66	27.06±3.65
Radiologic evidence of OA (%)		
K/L score I *	45.45	
K/L score II *	54.55	

BMI = body mass index; K/L = Kellgren and Lawrence.

* Values are the percentage of participants. Other data are mean ± standard deviation.

Table 2: Peak torque and RMS

	Control Group	Osteoarthritis Group	p
Concentric torque (Nm/kg x 100)			
90°/s	132.98±26.3	129.42±37.03	0.73
180°/s	100.22±24.98	100.47±25.59	0.97
Eccentric torque (Nm/kg x 100)			
90°/s	265.09±61.17	216.89±54.62	0.01*
180°/s	251.15±72.45	209.94±54.30	0.04*
Concentric RMS (%)			
90°/s	1.39±0.31	1.32±0.38	0.52
180°/s	1.52±0.33	1.44±0.37	0.46
Eccentric RMS (%)			
90°/s	1.35±0.28	1.11±0.19	<0.01*
180°/s	1.39±0.2	1.02±0.18	<0.01*

Data are the mean±standard deviation. RMS: root mean square; * significant intergroup differences

Table 3: WOMAC scores for pain, stiffness and physical function

WOMAC	Control Group	Osteoarthritis Group	p value
Pain	0 (5 – 0)	10 (55 – 0)	<0.01*
Stiffness	0 (0 – 0)	0 (62.5 – 0)	0.03*
Physical Function	0 (13.23 – 0)	11.76 (51.47 – 0)	<0.01*

Values are expressed as the median percentage (maximum - minimum) of total points

for each section; * significant intergroup differences

Peer Review Only

Table 4: Minimum diameter (μm) of vastus lateralis muscle fibers

Fiber type	Control group	Osteoarthritis group	p
T1F	54.67 (72.19 – 45.32)	62.50 (76.76 – 52.26)	0.03*
T2aF	61.70 (76.39 – 51.03)	63.87 (87.98 – 44.96)	0.45
T2bF	53.12 (74.89 – 41.57)	53.57 (77.47 – 44.18)	0.66
hybFT	53.39 (104.80 – 40.04)	54.57 (79.72 – 40.40)	0.62

Values are expressed as the median (maximum – minimum); * significant intergroup differences.

T1F: type 1 fiber; T2aF: type 2a fiber; T2bF: type 2b fiber; hybFT: hybrid fiber type

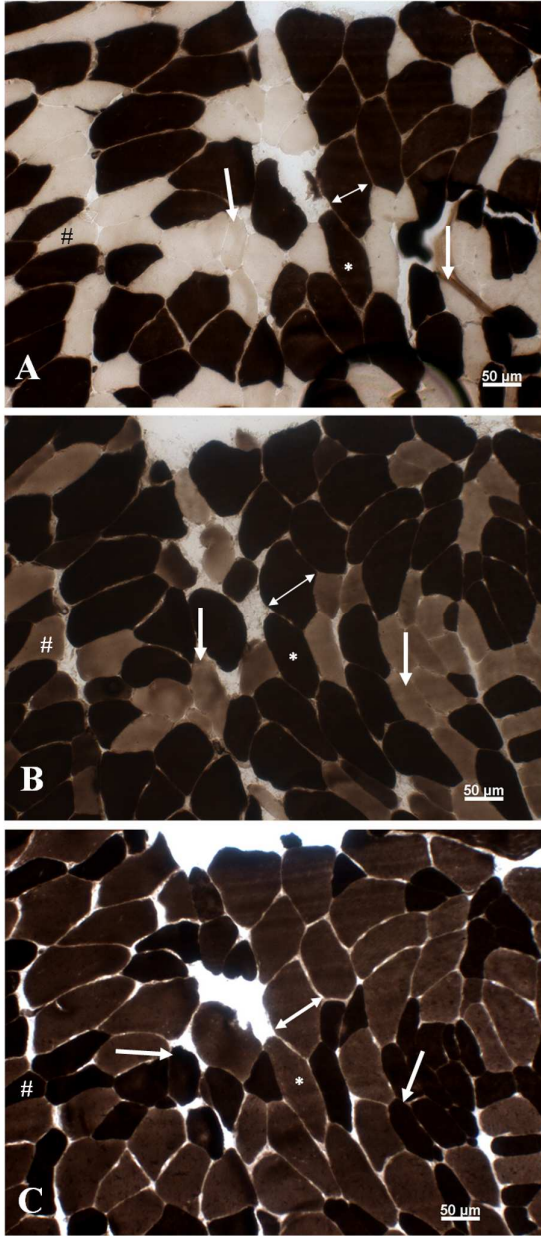


Figure 1: Photomicrograph after mATPase enzyme reaction. VL muscle sample of a person with osteoarthritis. The slides were pre-incubated at an acidic pH (**Figure 1A:** pH 4.3; **Figure 1B:** pH 4.6) and an alkaline pH (**Figure 1C:** pH 9.4). * type 1 fiber; (→) type 2a fiber; # type 2b fiber (magnification x20); (↔) minimum diameter. Bar = 50 μm.

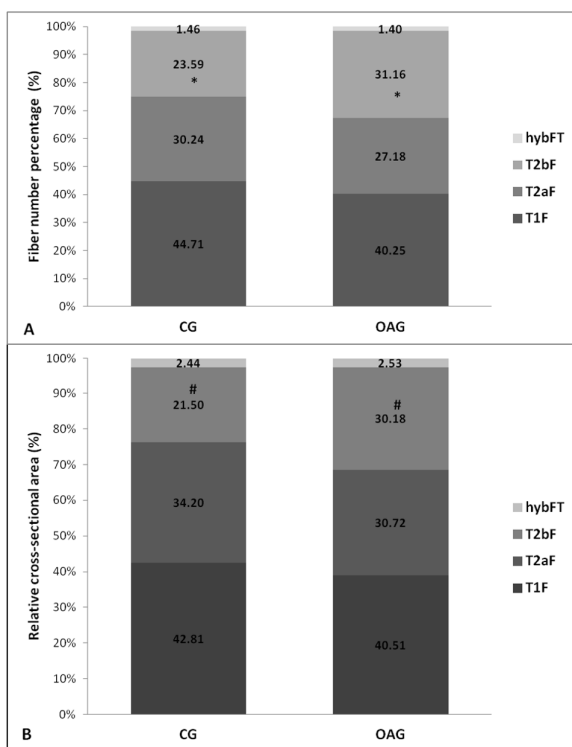


Figure 2:

A - Fiber number percentage (%) for the control group and osteoarthritis group

B - Relative cross-sectional area (%) for the control group and osteoarthritis group

*: significant difference ($p < 0.05$) when comparing the number percentage of type 2b fibers between the groups;

#: significant difference ($p < 0.05$) when comparing the relative cross-sectional area of type 2b fibers between the groups;

T1F: type 1 fiber; T2aF: type 2a fiber; T2bF: type 2b fiber; hybFT: hybrid fiber type.

ÍNDICE WOMAC PARA OSTEOARTRITE

Nome: _____ Data avaliação: ____/____/____

As perguntas a seguir se referem à INTENSIDADE DA DOR que você está atualmente sentindo devido a artrite de seu joelho. Para cada situação, por favor, coloque a intensidade da dor que sentiu nas últimas 72 horas (3 dias)

Pergunta: Qual a intensidade da sua dor?

1-Caminhando em um lugar plano.									
Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
2- Subindo ou descendo escadas.									
Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
3- A noite deitado na cama.									
Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
4-Sentando-se ou deitando-se.									
Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
5. Ficando em pé.									
Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>

TOTAL: _____

As perguntas a seguir se referem a intensidade de RIGIDEZ nas junta (não dor), que você está atualmente sentindo devido a artrite em seu joelho nas últimas 72 horas. Rigidez é uma sensação de restrição ou dificuldade para movimentar suas juntas.

1- Qual é a intensidade de sua rigidez logo após acordar de manhã?									
Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
2- Qual é a intensidade de sua rigidez após se sentar, se deitar ou repousar no decorrer do dia?									
Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>

TOTAL: _____

As perguntas a seguir se referem a sua ATIVIDADE FÍSICA. Nós chamamos atividade física, sua capacidade de se movimentar e cuidar de você mesmo(a). Para cada uma das atividades a seguir, por favor, indique o grau de dificuldade que você está tendo devido à artrite em seu joelho durante as últimas 72 horas.

Pergunta: Qual o grau de dificuldade que você tem ao:

1 - Descer escadas.									
Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
2- Subir escadas.									
Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
3- Levantar-se estando sentada.									
Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
4- Ficar em pé.									
Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>

5- Abaixar-se para pegar algo.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
6- Andar no plano.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
7- Entrar e sair do carro.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
8- Ir fazer compras.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
9- Colocar meias.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
10- Levantar-se da cama.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
11- Tirar as meias.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
12- Ficar deitado na cama.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
13- Entrar e sair do banho.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
14 - Se sentar.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
15- Sentar e levantar do vaso sanitário.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
16- Fazer tarefas domésticas pesadas.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>
17- Fazer tarefas domésticas leves.	Nenhuma	<input type="checkbox"/>	Pouca	<input type="checkbox"/>	Moderada	<input type="checkbox"/>	Intensa	<input type="checkbox"/>	Muito intensa	<input type="checkbox"/>

TOTAL: _____

OBRIGADO POR COMPLETAR ESTE QUESTIONÁRIO

**COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ESTUDO II NA REVISTA
BRASILEIRA DE FISIOTERAPIA**

----- Mensagem encaminhada -----

De: Leonor A. S. Aizza <suporte.aplicacao@scielo.org>

Para: Paula Regina Mendes da Silva Serrão <ppregina@yahoo.com.br>

Enviadas: Terça-feira, 4 de Outubro de 2011 10:25

Assunto: [RBFIS] Agradecimento pela Submissão - "RBFIS-1158 - MEN WITH EARLY DEGREES OF OSTEOARTHRITIS ALREADY HAD KNEE EXTENSOR TORQUE ASSOCIATED WITH PAIN, STIFFNESS AND FUNCTION"

Paula Regina Mendes da Silva Serrão,

Agradecemos a submissão do seu manuscrito "MEN WITH EARLY DEGREES OF OSTEOARTHRITIS ALREADY HAD KNEE EXTENSOR TORQUE ASSOCIATED WITH PAIN, STIFFNESS AND FUNCTION" para Revista Brasileira de Fisioterapia/Brazilian Journal of Physical Therapy.

Informamos que se o manuscrito for aceito para publicação, a RBF enviará, ao autor de correspondência ou pessoa por ele indicada, solicitação do pagamento de uma taxa de processamento/publicação.

Através da interface de administração do sistema, utilizado para a submissão, será possível acompanhar o progresso do documento dentro do processo editorial, bastando logar no sistema localizado em:

URL do Manuscrito:

<http://submission.scielo.br/index.php/rbfis/author/submission/70052>

Login: paulaserrao

Em caso de dúvidas, envie suas questões para este email. Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de transmitir ao público seu trabalho.

Revista Brasileira de Fisioterapia/
Brazilian Journal of Physical Therapy
<http://submission.scielo.br/index.php/rbfis>

<http://br.mg4.mail.yahoo.com/neo/launch?.rand=7e1f2uq9bfirm>

23/01/2012

**VERSÃO EM INGLÊS DO ESTUDO II, QUE FOI SUBMETIDO À REVISTA
BRASILEIRA DE FISIOTERAPIA**

TITLE: MEN WITH EARLY DEGREES OF OSTEOARTHRITIS HAVE KNEE
EXTENSOR TORQUE ASSOCIATED WITH PAIN, STIFFNESS AND FUNCTION.

TÍTULO: HOMENS COM GRAUS INICIAIS DE OSTEOARTRITE APRESENTAM
CORRELAÇÃO ENTRE TORQUE EXTENSOR DO JOELHO E DOR, RIGIDEZ E
FUNÇÃO

Authors: PAULA REGINA MENDES DA SILVA SERRÃO¹; KARINA GRAMANI-
SAY¹; GIOVANNA CAMPARIS LESSI¹; STELA MÁRCIA MATTIELLO¹.

¹Department of Physical Therapy, Federal University of São Carlos, São Paulo - Brazil

Corresponding author: Stela Márcia Mattiello

Federal University of São Carlos. Department of Physical Therapy.

Rodovia Washington Luiz, Km 235 CEP:13.565-905 CP: 676 - São Carlos, SP – Brazil.

e-mail address: stela@ufscar.br

Telephone number: +55 16 33519579; +55 16 33518039 – fax number: +55 16 33618203

ShortTitle: Early degrees of knee OA, knee extensor torque and WOMAC

Título curto: Graus iniciais de OA, torque extensor do joelho e WOMAC

Keywords: Physical therapy, Knee Osteoarthritis, WOMAC, muscle strength.

Palavras-chaves: Fisioterapia, Osteoartrite de Joelho, WOMAC, força muscular

Resumo

CONTEXTUALIZAÇÃO: A Osteoartrite (OA) é uma doença crônico-degenerativa. O joelho é a articulação mais afetada e os sintomas geralmente são atribuídos à fraqueza do músculo quadríceps. Entretanto, poucos estudos têm avaliado essa relação em indivíduos com graus iniciais de OA. **OBJETIVO:** Verificar se existe correlação entre o torque extensor do joelho e as seções dor, rigidez e função física do questionário WOMAC, de homens com OA de joelho nos graus iniciais. **MÉTODOS:** Participaram desse estudo 21 homens com OA de joelho graus I ou II (segundo critérios de Kelgren e Lawrence). Foi avaliado o torque extensor concêntrico e excêntrico do joelho, por meio do dinamômetro isocinético (Biodex System 3), na velocidade de 90°/s. O auto-relato de sintomas e incapacidades foi avaliado por meio do questionário WOMAC. O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para detectar a relação entre as variáveis dependentes (três seções do questionário WOMAC) e as variáveis independentes (média dos picos de torque). **RESULTADOS:** Foi encontrada correlação forte e negativa do torque extensor concêntrico com a seção dor ($r=-0.7$, $p<0.001$), e moderada e negativa com as seções rigidez ($r=-0.62$, $p=0.002$) e função física ($r=-0.54$, $p=0.011$). O torque extensor excêntrico se correlacionou moderada e negativamente com as três seções do questionário ($r=-0.40$ a -0.69 , $p<0.05$). **CONCLUSÕES:** Os torques extensores concêntrico e excêntrico se correlacionaram com os auto-relatos de indivíduos com graus iniciais de OA de joelho. Assim, o fortalecimento do músculo quadríceps, por meio de exercícios concêntricos e excêntricos, é indicado para esses pacientes para minimizar tais sintomas.

Abstract

BACKGROUND: Osteoarthritis (OA) is a chronic-degenerative disease. The knee is the most commonly affected joint and the symptoms of these are attributed to quadriceps muscle weakness. However, few studies have evaluated this relationship in a population with early stages of knee OA. **OBJECTIVE:** To correlate the knee extensor torque and the three subscales of the WOMAC questionnaire in men with early stages of knee OA. **METHODS:** Twenty-one men with knee OA grades I or II (according to Kellgren and Lawrence criteria) participated in this study. The concentric and eccentric knee extensor torque were assessed using a Biodex System 3 Pro® isokinetic dynamometer, at a speed of 90°/s. Self-reported symptoms and disability was assessed using the WOMAC questionnaire. Spearman's correlation coefficient was used to detect the relationship between the dependent variables (three subscales of WOMAC questionnaire) and the independent variables (average knee extensor peak torque). **RESULTS:** It was found a strong negative correlation between the concentric extensor torque and pain ($r = -0.7$, $p < 0.001$) and moderately and negatively with the stiffness ($r = -0.62$, $p = 0.002$) and physical function ($r = -0.54$, $p = 0.011$). Eccentric extensor torque was correlated moderately and negatively with the three subscales ($r = 0.40$ to 0.69 , $p < 0.05$). **CONCLUSIONS:** The concentric and eccentric knee extensor torque correlate with the self-reports patients in initial stages of knee OA. Thus, the strengthening of the quadriceps muscle, through concentric and eccentric exercise, is indicated for these patients in order to minimize these symptoms.

Introduction

Osteoarthritis (OA) is the most common musculoskeletal disease worldwide and is associated with significant societal and health costs^{1,2} with considerable impact on quality of life^{3,4}. Subjects with knee OA experience joint stiffness, pain and physical dysfunction^{5,6}.

Although the symptoms of knee OA are attributed to muscle weakness⁷, especially of the quadriceps muscle, there is no consensus in the literature regarding the relationship between the strength of this muscle and the symptoms experienced by individuals with knee OA⁸. This discordance could be due methodological differences. Slemenda et al.⁹ have evaluated the association between isokinetic quadriceps muscle strength, OA stage, knee pain and physical function. They found that quadriceps muscle weakness was a strong predictor of knee pain and physical dysfunction. In contrast, Steultjens et al.¹⁰ found that reduced isometric muscle strength was associated with increased disability. However, no relationship could be established between muscle weakness and pain.

Few studies have evaluated this relationship in a population with early stages of knee OA¹⁰. Generally, studies have evaluated patients with advanced OA^{11,12} or have included patients with mild, moderate and severe OA in the same study group^{13,14}, making it impossible to extrapolate the results to populations in the early stages of OA. Thus, a study evaluating the relationship between the strength of the quadriceps muscle and the symptoms experienced by individuals with early stages of knee OA is relevant, especially with regard to the design of rehabilitation programs. If correlations between the quadriceps muscle strength and symptoms are detected, it is expected that a muscle-

strengthening protocol would reduce the symptoms of patients with early stages of knee OA.

Generally, the strength of the quadriceps muscle in patients with knee OA has been measured isometrically in most studies^{7,15,16,17}. However, it is possible that changes in the ability to generate force at entire range of motion are not detected in isometric assessments. Thus, because the evaluation of concentric and eccentric contractions allows quantification of the capacity to generate torque for the entire range of motion, it is possible that this assessment technique is more sensitive and thus better able to detect decreases in muscle strength in individuals with knee OA. It is worth noting that precise coordination of quadriceps muscle activity and knee joint movement is essential to mitigate force and control joint load during locomotion. This coordination is required because knee movement control occurs when weight is transferred to the support limb, a process that acts to dissipate the load. This process requires eccentric action of the quadriceps muscle¹. The decrease in eccentric strength of the quadriceps muscle is particularly important in the pathogenesis and progression of knee OA, which makes the study of eccentric strength even more relevant in the population with early stages of this disease.

For a clinical profile the Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC questionnaire) is one the most widely used self report measures of lower-extremity symptoms and function². There are no studies in the reviewed literature that correlate the concentric and eccentric strengths of the quadriceps muscle with the three WOMAC questionnaire subscales. The studies that evaluated these muscle actions correlated the concentric and/or eccentric strengths with the time needed to perform some functional tasks^{18,19}. However, these functional tests may not be directly related to the performance of individuals in their habitual activities. Thus, the individuals'

perceptions of their physical function, such as that evaluated by the WOMAC questionnaire, may be relevant.

Given the above considerations, the objective of this study was to determine whether there exists correlations between concentric and eccentric knee extensor torque and the pain, stiffness and physical function subscales of the WOMAC questionnaire in men with Grade I or II knee OA. Although the volunteers were in the initial stages of OA, we hypothesized that the lower knee extensor torque in these individuals would already be associated with greater pain, stiffness and functional disability.

Materials and Methods

Subjects

Twenty-seven subjects with knee OA were evaluated. The subjects were recruited from the physiotherapy clinic at the XXXX and from the community. The following inclusion criteria were used: male, sedentary, aged between 40 and 65 years, unilateral or bilateral knee OA diagnosed according to the clinical criteria of the American College of Rheumatology²⁰ and grade I or II of knee OA according the Kellgren & Lawrence system²¹. Six subjects not met the inclusion criteria (presented grade III of knee OA). Then, twenty-one subjects were included in this study.

Standing axial, anteroposterior and lateral radiographs of both knees of each subject were obtained to confirm that the subjects displayed signs of OA, such as the presence of minimal osteophytes (grade I) or small but definite osteophytes (grade II) in at least one of the compartments of a knee joint (tibiofemoral or patellofemoral)²². Severity of OA was graded by a radiologist according the Kellgren & Lawrence system²¹.

The exclusion criteria were: physical therapy (previous 12 months); knee or hip surgery; history of lower limb trauma; corticosteroid infiltration of the knee (previous 6 months)¹; medical condition (changes cardiovascular, respiratory, neurological and/or musculoskeletal)¹³. The study was approved by the Ethics Committee on Human Research at the XXXX (no. 143/2007), and all participants provided written informed consent.

Instruments and procedures

The affected or more symptomatic limb (in cases of bilateral OA) was assessed¹. Weight and height were obtained and the body mass index was calculated.

Isokinetic evaluation: The muscle strength was assessed using an isokinetic dynamometer (Biodex Multi-Joint System 3, Biodex Medical Inc., NY, USA). The order of testing was determined randomly, through a drawing. Before beginning the evaluation, the isokinetic dynamometer was calibrated according to the manual provided by the equipment manufacturer.

Before the evaluation, the subject performed a warm up on a stationary bike for five minutes at a workload of 75W and a speed of 20 km/h and performed self-stretching exercises for the lower limb muscles.

We evaluated the concentric and eccentric extensor torques of the knee at a speed of 90°/s. The evaluations were conducted with the volunteer seated on the device chair, stabilized by a belt that ran across the trunk and the pelvic girdle and with the knee flexed at 90 degrees. The rotational axis of the dynamometer was aligned with the lateral epicondyle of the femur; the resistance was applied at 5 cm above the medial malleolus.

The subjects were instructed to keep their arms crossed in front of their trunks during the test to avoid compensation. After receiving the test instructions, the subjects performed five maximal concentric and eccentric isokinetic contractions with a range of motion from 20° to 90° (0 degrees full knee extension). The rests between each type of contraction were 5minutes¹¹. Prior to each assessment, the subjects performed three submaximal contractions to familiarize themselves with the procedure. We used verbal commands to encourage the patients to produce maximum torque during the contractions¹⁴.

The torque data, measured (in Nm), were normalized by body weight (in kg) using the following formula: (Nm torque / kg body weight) X 100²³. For statistical analysis we used the mean of peak torque of five maximal contractions.

WOMAC questionnaire: The Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) is a self-report questionnaire, designed to reflect the problems experienced by individuals with lower limb OA. This is a questionnaire translated and validated for the Portuguese language²⁴. Each item corresponds to a particular dimension (pain, stiffness and physical function). The scores for the items are expressed using a Likert scale where none = 0, low = 25, moderate = 50, severe = 75 and very severe = 100²⁵. The maximum score in each section is expressed as a percentage, with higher scores indicating greater pain, stiffness and physical dysfunction.

Statistical analysis

Data were analyzed using the Statistica[®] software (version 7, StatSoft, Inc., Tulsa, USA). Initially, descriptive values (mean, standard deviation, median, maximum

and minimum) were obtained for all the data. Then, the normality of data was checked using the Shapiro-Wilk test. The sample data present no normal distribution. We used the Spearman's r correlation coefficients to analyze the relationship between the dependent variables (WOMAC subscales for pain, stiffness and physical function) and the independent variables (the normalized mean peak knee concentric and eccentric extensor torques). The r values were interpreted using the following categories: 0.00 to 0.19 = none/mild; 0.20 to 0.39 = low; 0.40 to 0.69 = moderate; 0.70 to 0.89 = strong; and 0.9 to 1.00 = very strong²⁶. For all the statistical tests, the significance level was set at $P < 0.05$. Power analysis was performed using SigmaPlot (11.0, Systat Software, Inc), considering the correlation between concentric extensor torque and pain and the correlation between eccentric extensor torque and pain. According to our data (correlation coefficients = 0.7 and 0.56 for two correlations, respectively; $n = 21$ subjects, and an alpha level set at 0.05), the statistical power were 0.95 or 95% and 0.77 or 77%.

Results

The demographic characteristics of the study participants are described in **Table**

1. Grade I OA was found in 45.5% of the subjects and Grade II in 54.5%.

The knee compartment affected by OA was identified through radiological examination. One subject presented OA only in the patellofemoral (PF) compartment, three in the medial tibiofemoral (MTF) compartment, and one in the lateral tibiofemoral (LTF) compartment. Combined affected compartments were found in sixteen subjects: PF plus MTF was found in 5 subjects, PF plus LTF in three subject, and PF plus MTF and LTF in 8 subjects.

Tables 2 and **3**, respectively, present the descriptive values for knee extensor torque and the three subscales of the WOMAC questionnaire (pain, stiffness and physical function).

Significant correlations were found between knee extensor torque and the three WOMAC questionnaire subscales. The concentric extensor torque correlated strongly and negatively with the pain subscale ($r = -0.7$, $P < 0.001$) and moderately and negatively with the stiffness ($r = -0.62$, $P = 0.002$) and physical function subscales ($r = -0.54$, $P = 0.011$). Eccentric extensor torque was correlated moderately and negatively with the three questionnaire subscales (**Table 4**). These negative correlations indicate that the higher the knee extensor torque (both concentric and eccentric), the less pain and stiffness and the lower the level of physical dysfunction.

Discussion

It is well documented in the literature that individuals with knee OA show a deficit in quadriceps muscle strength compared to healthy individuals of similar ages^{15,27,28}. However, we found no studies in the reviewed literature that assessed the relationships between concentric and eccentric quadriceps muscle strength and the self-reported symptoms of patients with the early stages of knee OA. Given that WOMAC is an outcome which is established with three subscales, all analysis were make on each subscale². Thus, this study aimed to evaluate the correlations between knee extensor torque and pain, stiffness and functional impairment in men with Grades I and II knee OA.

In accordance with our hypothesis, the data analysis revealed a strong negative correlation between the concentric knee extensor torque and the responses to the pain section of the WOMAC questionnaire and a moderate negative correlation between the

extensor eccentric torque and these same responses for men with early stages of knee OA. These results indicate that the greater knee extensor torque is, the lower the level of pain that is self-reported by these individuals.

It is reported in the literature that the quadriceps muscle is an important structure in the absorption of impacts experienced by the knee joint, especially through the eccentric action of this muscle²⁹. In contrast, the strength deficits in this muscle can compromise its role in absorbing loads^{1,11}. Considering that individuals with knee OA usually present weakness of the quadriceps muscle, we suggest that these patients experience increased joint loading, which could contribute to increased pain. This partially explains the relationship between knee extensor torque and pain found in this study.

These findings are not in agreement with those of the studies of Steultjens et al.¹⁰, who found no correlation between quadriceps muscle weakness and pain in individuals with knee OA. These authors evaluated the isometric strength of the quadriceps muscles in patients with knee OA using a hand-held dynamometer. Isometric testing evaluates the joint torque only in the knee angle pre-determined by the evaluator; thus, our evaluation may have been more sensitive because the knee extensor torque was evaluated over a greater range of motion, from 90° to 20° of knee flexion (0° corresponds to full knee extension).

Although the volunteers who participated in this study had degree I or II knee OA, our results indicate that correlations between the concentric and eccentric knee extensor torque and physical function are already present in individuals with early stages of knee OA. These results also indicate that the lower the muscle strength, the greater the functional deficit. Although they evaluated subjects with various stages of

knee OA, some studies also found a correlation between quadriceps muscle weakness and functional disability^{18,30,31}, in agreement with our results.

Gür et al.¹⁸ found weak to moderate correlations between knee flexor and extensor torque and the time to perform some tasks (walking and ascending and descending stairs) and between these torques and pain in patients with OA grade II or III. Hortobágyi et al.¹¹ found a moderate negative correlation between quadriceps muscle strength (expressed as the sum of the maximum isometric, concentric and eccentric forces) and the time spent by patients with knee OA, grade II or greater, to perform functional tasks. It should be emphasized that the physical function section of the WOMAC questionnaire covers several functional activities that require concentric and eccentric contractions of the quadriceps muscle. This could be a possible explanation for the negative correlation between the concentric and eccentric knee extensor torques and the responses for this section of the WOMAC questionnaire that was found in the present study.

Joint stiffness is a clinical symptom extensively studied in reference to knee OA. In this study, the stiffness subscale was also negatively correlated with the quadriceps muscle strength, indicating that the lower the strength of the muscle is, the greater the stiffness reported by the patients. An epidemiologic study⁹ of joint damage in an osteoarthritis community population concluded that quadriceps weakness might precede radiologic joint damage, and Sanchi et al.² found that in linear regression models the articular incongruences as a significant predictor of stiffness. Because the degree of congruity between the loading surfaces of the condyle varies depending on condylar position, if there is no lateral subluxation or tilt the knee joint is congruent. In knee OA, differential degeneration of cartilage creates incongruities between loadings due to the shift in the mechanical axis of weight bearing. Such a change in joint kinematics

persisting over time may cause abnormal stresses that result in gradual cartilage fatigue, which can progress to changes leading to stiffness in OA². This can explain the correlation between quadriceps weakness and stiffness in these patients. However, there were no found studies that have examined this correlation in early stages of knee OA, and for this reason a comparison with other studies was not possible.

Thus, rehabilitation programs, especially to strengthen knee muscles, should be emphasized, in order to improve muscle strength and to reduce pain and improve to function in the initial stages of knee OA. Moreover, as can be seen that the smaller the force, both concentric and eccentric, the greater the symptoms, and the treatment could be specific, strengthening exercises concentric and eccentrics should be emphasized.

It is worth noting again that our study sample was carefully selected; we assessed only males, of whom 45.5% had Grade I knee OA and 54.5% had Grade II OA. Only men were included to avoid the confounding hormonal effects of estrogen levels in women. Because estrogen is chondroprotective and because its level declines after menopause, the incidence of OA in women in this age group (40-65 years) may vary according to the levels of hormones present³². Moreover, because the present study assessed only men, and given that there may be differences between the genders, the exclusion of women can be considered a limitation of this study. Thus, future studies on the relationship of self-reported symptoms and muscle weakness should be performed in women with early stages of knee OA.

Another limitation to this study must be considered. The fact that this study used a transversal design does not allow causal inferences to be made regarding the relationships among the variables studied.

To conclude, in the early stages of knee OA, concentric and eccentric knee extensor torque are already negatively correlated with patient self-reports of pain,

stiffness and physical dysfunction. Thus, the strengthening of the quadriceps muscle, through concentric and eccentric exercise, is indicated for these patients to minimize these symptoms.

Acknowledgments

We would like to thank São Paulo Research Foundation because the work of the first author was supported by the Foundation doctorate scholarship.

References

1. Hinman RS, Bennell KL, Crossley KM. Delayed onset of quadriceps activity and altered knee joint kinematics during stair stepping in individuals with knee osteoarthritis. *Arch Phys Med Rehabil.* 2002;83:1080-6.
2. Sanghi D, Avasthi S, Mishra A, Singh A, Agarwal S, Srivastava RN. Is radiology a determinant of pain, stiffness and functional disability in knee osteoarthritis? A cross sectional-study. *J Orthop Sci.* 2011; 16:719-25.
3. Santos MLAS, Gomes WF, Pereira DS, Oliveira DMG, Dias JMD, Ferrioli E, Pereira LSM. Muscle strength, muscle balance, physical function and plasma interleukin-6 (IL-6) levels in elderly women with knee osteoarthritis (OA). *Arch Gerontol Geriatr.* 2011;52:322-6.
4. Muraki S, Akune T, Oka H, En-yo Y, Yoshida M, Saika A et al. Association of radiographic and symptomatic knee osteoarthritis with health-related quality of life in a population-based cohort study in Japan: the ROAD study. 2010;18:1227-39.
5. Dieppe PA, Lomhander LS. Pathogenesis and management of pain in osteoarthritis. *Lancet.* 2005;365:965-73.
6. Zhang Y, Jordan JM. Epidemiology of osteoarthritis. *Clin Geriatr Med.* 2010; 26:355-69.
7. Palmieri-Smith RM, Thomas AC, Karvonen-Gutierrez C, Sowers MF. Isometric quadriceps strength in women with mild, moderate, and severe knee osteoarthritis. *Am J Phys Med Rehabil.* 2010;89:541-8.
8. Bennell KL, Hunt MA, Wrigley TV, Lim BW, Hinman RS. Role of muscle in the genesis and management of knee osteoarthritis. *Rheum Dis Clin N Am.* 2008;34:731-54.

9. Slemenda C, Brandt KD, Heilman DK, Mazzuca S, Braunstein EM, Katz BP, Wolinsky FD. Quadriceps weakness and osteoarthritis of the knee. *Ann Intern Med.* 1997;127:97-104.
10. Steultjens MPM, Dekker J, van Baar ME, Oostendorp RAB, Bijlsma JWJ. Muscle strength, pain and disability in patients with osteoarthritis. *Clin Rehabil.* 2001;15:331-4.
11. Hortobágyi T, Garry J, Holbert D, Devita P. Aberrations in the control of quadriceps muscle force in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2004;51:562-9.
12. Rogind H, Bibow-Nielsen B, Jensen B, Moller HC, Frimodt-Moller H, Bliddal H. The effects of a physical training program on patients with osteoarthritis of the knees. *Arch Phys Med Rehabil.* 1998;79:1421-7.
13. Bennel KL, Hinman RS, Metcalf BR, Crossley KM, Smith M, McColl G. Relation of knee joint proprioception to pain and disability in individuals with knee osteoarthritis. *J Orth Research.* 2003;21:729-97.
14. Hassan BS, Mockett S, Doherty M. Static postural sway, proprioception, and maximal voluntary quadriceps contraction in patients with knee osteoarthritis and normal control subjects. *Ann Rheum Dis.* 2001;60:612-8.
15. O'Reilly SC, Jones A, Muir KR, Doherty M. Quadriceps weakness in knee osteoarthritis: the effect on pain and disability. *Ann Rheum Dis.* 1998;57:588-94.
16. Van der Esch M, Steultjens M, Harlaar J, Knol D, Lems W, Dekker J. Joint proprioception, muscle strength, and functional ability in patients with osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum.* 2007;57:787-93.

17. Hurley MV, Scott DL, Rees J, Newham DJ. Sensorimotor changes and functional performance in patients with knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 1997;56:641-8.
18. Gür H, Çakin N, Akova B, Okay E, Küçükoglu S. Concentric versus combined concentric-eccentric isokinetic training: effects on functional capacity and symptoms in patients with osteoarthrosis of the knee. *Arch Phys Med Rehabil.* 2003;83:308-16.
19. Bennell KL, Hinman RS, Metcalf BR. Association of sensorimotor function with knee joint kinematics during locomotion in knee osteoarthritis. *Am J Phys Med Rehabil.* 2004;83:455-63.
20. American College of Rheumatology Subcommittee on Osteoarthritis Guidelines. Recommendations for the medical management of osteoarthritis of the hip and knee: update. *Arthritis Rheum.* 2000;43:1905-15.
21. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis.* 1957;16:494-502.
22. Lessi GC, Serrão PRMS, Gimenez ACF, Gramani-Say K, Oliveira AB, Mattiello SM. Male subjects with early-stage knee osteoarthritis do not present biomechanical alterations in the sagittal plane during stair descent. *Knee.* 2011;doi:10.106/j.knee.2011.07.001
23. Robinson RL, Nee RJ. Analysis of hip strength in females seeking physical therapy treatment for unilateral patellofemoral pain syndrome. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2007;37:232-8.
24. Ivanovith MF. Translation and Validation of the Quality of Life Questionnaire Specific WOMAC Osteoarthritis (Western Ontario and McMaster Osteoarthritis

- Universities Index) to Portuguese Language. Federal University of São Paulo, São Paulo, 2002. (in Portuguese).
25. Gomes WF. Impacto de um programa estruturado de fisioterapia aquática em idosas com osteoartrite de joelho. Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007. (in Portuguese).
 26. Weber JC, Lamb DR. Statistics and Research in Physical Education. Mosby Company, Saint Luis: C.V, 1970.
 27. Stevens JE, Mizner RL, Snyder-Mackler L. Quadriceps strength and volitional activation before and after total knee arthroplasty for osteoarthritis. *J Orthop Res.* 2003;21: 775-9.
 28. Thomas MJ, Wood L, Selfe J, Peat G. Anterior knee pain in younger adults as a precursor to subsequent patellofemoral osteoarthritis: a systematic review. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010;11:201.
 29. LaStayo PC, Woolf JM, Lewek MD, Snyder-Mackler L, Reich T, Lindstedt SL. Eccentric muscle contractions: their contribution to injury, prevention, rehabilitation, and sports. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2003; 33:557-71.
 30. Slemenda C, Heilman DK, Brandt KD et al. Reduced quadriceps strength relative to body weight: a risk factor for knee osteoarthritis in women? *Arthritis Rheum.* 1998;41:1951-9.
 31. Hurley MV, Newham DJ. The influence of arthrogenous muscle inhibition on quadriceps rehabilitation of patients with early unilateral osteoarthritic knees. *Br J Rheumatol.* 1993; 32:127-31.
 32. Sowers MR, McConnell D, Jannausch M, Buyuktur AG, Hochberg M, Jamadar DA. Estradiol and its metabolites and their association with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54:2481-7.

Table 1: Characteristics of patients with knee OA

Characteristics	Subjects
	(n=21)
Age (y)	51.80±6.23
Height (m)	1.71±0.06
Weight (kg)	86.66±10.82
BMI (kg/m ²)	29.62±4.22
Radiologic evidence of OA (%)	
K/L degree I *	45.5
K/L degree II *	54.5

Values are mean ± SD; * values are the number of participants (percentage).

BMI = Body mass index; K/L = Kellgren and Lawrence score

Table 2: Descriptive data of knee extensor torque (BW) of OA participants

Knee extensor torque (Nm/kg x 100)	Median (max – min) (%)
Concentric	141.34 (198.80 – 54.14)
Eccentric	179.04 (272.20– 92.88)

Table 3: WOMAC pain, stiffness and physical function scores of OA subjects

WOMAC	Median (max – min)(%)
Pain	15 (70 – 0)
Stifness	0 (62.5 – 0)
Physical function	11.76 (54.41 – 0)

Table 4 Spearman product-moment correlation coefficients between concentric and eccentric knee extensor torque and the WOMAC's sections in mans with OA degrees I or II

	Concentric		Eccentric	
	<i>r</i>	<i>P</i> value	<i>r</i>	<i>P</i> value
WOMAC score				
Pain	-0.70	< 0.001*	-0.56	0.008*
Stifness	-0.62	0.002*	-0.44	0.046*
Physical function	-0.54	0.011*	-0.52	0.015*

* $P < 0.05$ = significant relationship