



**Universidade Federal de São Carlos
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS)
Departamento de Fisioterapia**

Carolina Carmona de Alcântara

**CARACTERIZAÇÃO DO COMPONENTE NÃO CONTRÁTIL DO TECIDO
MUSCULAR E DA RESISTÊNCIA AO ALONGAMENTO PASSIVO EM
INDIVÍDUOS HEMIPARÉTICOS CRÔNICOS**

**SÃO CARLOS
Fevereiro de 2014**



**Universidade Federal de São Carlos
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS)
Departamento de Fisioterapia**

Carolina Carmona de Alcântara

**CARACTERIZAÇÃO DO COMPONENTE NÃO CONTRÁTIL DO TECIDO
MUSCULAR E DA RESISTÊNCIA AO ALONGAMENTO PASSIVO EM
INDIVÍDUOS HEMIPARÉTICOS CRÔNICOS**

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

Orientador: Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo

**SÃO CARLOS
Fevereiro de 2014**

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

A347cc

Alcântara, Carolina Carmona de.

Caracterização do componente não contrátil do tecido muscular e da resistência ao alongamento passivo em indivíduos hemiparéticos crônicos / Carolina Carmona de Alcântara. -- São Carlos : UFSCar, 2014.
56 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

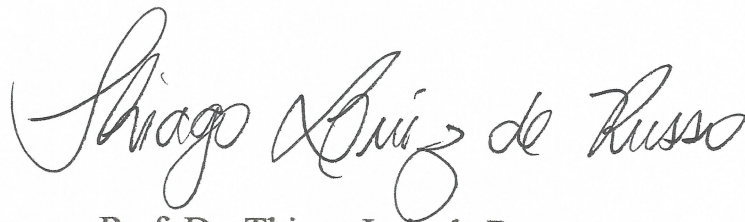
1. Neurologia. 2. Acidentes vasculares cerebrais. 3. Músculo esquelético. 4. Marcadores biológicos. 5. Torque. 6. Reabilitação. I. Título.

CDD: 616.8 (20^a)

FOLHA DE APROVAÇÃO

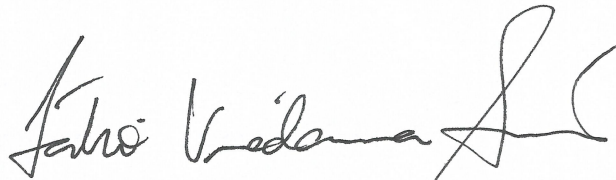
Membros da Banca Examinadora para Defesa de Dissertação de Mestrado de CAROLINA CARMONA DE ALCÂNTARA, apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, em 24 de fevereiro de 2014.

Banca Examinadora



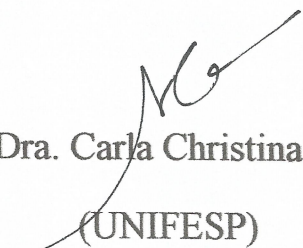
Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo

(UFSCar)



Prof. Dr. Fábio Viadanna Serrão

(UFSCar)



Profa. Dra. Carla Christina Medalha

(UNIFESP)

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Tania, por me abrir a primeira porta para o mundo da pesquisa e da vida acadêmica. Obrigada pela oportunidade que me proporcionou ensinamentos trazidos comigo até hoje. Lições de vida que não esquecerei.

Ao Prof. Thiago, meu orientador, com quem já aprendi muito, desde a minha primeira iniciação científica, e aprendo mais a cada dia. Faz das minhas batalhas as dele, sempre me orientando com toda a sabedoria, tranquilidade e muito otimismo! Thiago, eu não poderia ter encontrado uma pessoa melhor que você para me acompanhar neste processo de aprendizagem. Obrigada por me ajudar a trilhar o meu caminho de maneira tão sábia e agradável! Com certeza, um exemplo a ser seguido.

À Chris, pessoa mais que especial que me tranquilizou em momentos difíceis, e estava sempre pronta para ajudar no que fosse preciso. Obrigada por tudo que aprendi com você nestes anos, pessoal e profissionalmente.

À Sabrina Peviani Messa, que me acompanhou desde o início da minha trajetória na pesquisa. Sá, obrigada por tudo que aprendi com você, por toda a sua paciência e por todo o apoio e amizade no decorrer destes anos.

Às meninas do LaFiN, Luísa, Dri, Laísa, Gabi e Marcela, que me acompanharam durante toda essa jornada e sempre estiveram dispostas a ajudar no que fosse necessário. Obrigada por tudo meninas! Destaco o apoio indispensável da Marcela, amiga, companheira, querida, que caminhou comigo em todos os passos deste projeto. Má, só tenho a agradecer!! Que esse seja só o início de uma parceria, no trabalho e na vida, que seguirá sempre em frente. E Gabi, também preciso te agradecer por seu apoio durante todo o mestrado. Obrigada por dividir comigo os momentos bons e também os difíceis desta trajetória!

À Fer Faturi, Ivana, Clara, Luciana, Maíra, Ari, Jean, Carol Maeda, Celso, e todas as pessoas que me acompanharam nesta fase da minha vida. Sou grata por todo apoio, companhia e bons momentos de risada que tornaram o percurso mais ameno.

Às alunas de iniciação científica, Amanda e Thaianne, que me ajudaram muito na execução deste projeto, e me deram a possibilidade de aprender a ensinar. Meninas, obrigada pela paciência, competência e toda a dedicação neste período! Que eu possa ter contribuído pelo menos um pouquinho para a formação de vocês!

À CAPES e à FAPESP pelo apoio financeiro que viabilizaram meus estudos e a execução deste projeto.

A todos os professores do Departamento de Fisioterapia, que possibilitaram a minha formação e que me auxiliam até hoje.

Aos professores colaboradores deste estudo, Prof^a Ana Beatriz, Prof^a Tatiana Sato e Prof, Fernando Paiva, com os quais aprendi muito durante o processamento e análise dos dados. Muito obrigada por toda a ajuda e paciência ao ensinar.

A todos os funcionários do CIDI e do Pasteur, e à Teresa, que tiveram uma participação essencial na elaboração deste projeto.

A todos os meus amigos, que estiveram comigo no decorrer de todo esse processo, obrigada pelo forte laço de amizade, pelos conselhos e bons momentos vividos juntos que, sem dúvida, me fortaleceram nesta jornada. Agradeço em especial a Marina, amiga, e companheira de apartamento, que acompanhou toda a minha jornada até aqui, e compartilhou comigo as alegrias e também momentos difíceis deste período. Má, obrigada por todo o apoio que me confortou sempre que precisei.

Ao Luciano, meu namorado, amigo e companheiro de todas as horas, que sempre me apoiou em todas as minhas decisões e durante toda a minha jornada na elaboração deste projeto. Lú, obrigada por ser sempre tão compreensivo, por me escutar com toda a paciência do mundo e me dar forças para seguir em frente. Sem você com certeza este caminho teria sido mais difícil. Amo você!

Aos meus irmãos, Dri e Rô, pessoas essenciais na minha vida! Melhores amigos para toda a vida, me apoiaram em cada momento da minha vida e nunca me desamparam. Obrigada por todos os momentos juntos, por toda a força que me deram dia-a-dia e por toda a compreensão pelas minhas ausências quando o trabalho me esperava. Amo vocês!

Aos meus pais, porque sem eles nada disso seria possível. Sem palavras para descrever todo o apoio, encorajamento, amor e carinho que me deram durante toda a minha trajetória até aqui. Simplesmente essenciais e sempre presentes em todos os momentos, me ensinaram a batalhar pelos meus sonhos. Obrigada pelo exemplo de vida a ser seguido, por não serem somente pais, mas amigos, conselheiros e meu porto seguro! Amo vocês incondicionalmente.

E finalmente, agradeço à Deus, por colocar no meu caminho pessoas tão especiais, momentos inesquecíveis, por me acompanhar sempre e me permitir subir mais este degrau em direção à realização de um sonho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma amostral do estudo. GH: Grupo Hemiparético; GC: Grupo Controle; FAC: *Functional Ambulatory Category*; DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. 21

Figura 2. Volume percentual de tecido não contrátil do quadríceps e isquiotibiais no terço proximal da coxa. Figura representativa da RMN no grupo controle [A] e hemiparético [B]. Volume percentual de tecido não contrátil do terço proximal dos músculos RF, VM, VL, VI e SS [C]. † $p < 0,05$: parético versus não parético. Note que houve um aumento no volume percentual de tecido não contrátil apenas no músculo VM do membro parético comparado ao membro não parético. 28

Figura 3. Volume percentual de tecido não contrátil do quadríceps e isquiotibiais no terço distal da coxa. Figura representativa da RMN no grupo controle [A] e hemiparético [B]. Volume percentual de tecido não contrátil do terço distal dos músculos VM, VL, VI, SS e BF [C]. * $p < 0,05$: parético versus controle. † $p < 0,05$: parético versus não parético. É possível observar um aumento no volume percentual de tecido não contrátil no músculo VL do membro parético comparado ao não parético, e do SS do membro parético comparado ao controle. 29

Figura 4. Pico de torque passivo dos extensores durante a flexão de joelho. Em A, B e C são apresentadas as diferenças intra-grupo (entre intervalos de ADM) do pico de torque passivo relativo ao membro controle, não parético e parético, respectivamente. A porção D da figura 4, representa o pico do torque passivo de todos os membros, evidenciando as diferenças inter-grupo. ^c $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 50-60°; ^d $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 60-70°; ^e $p < 0,05$: comparado a todos os outros intervalos de ADM. Observe que houve um aumento no pico de torque com o aumento ADM nos membros parético, não parético e controle, mas não foram encontradas diferenças entre os membros. 30

Figura 5. Resistência passiva dos extensores durante a flexão de joelho. Em A, B e C são apresentadas as diferenças intra-grupo (entre intervalos de ADM) da resistência passiva (*stiffness*) dos membros controle, não parético e parético, respectivamente. A porção D da figura 5, representa a resistência passiva de todos os membros, evidenciando as diferenças inter-grupo. ^a $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 30-40°; ^d $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 60-70°; ^e $p < 0,05$: comparado a todos os outros intervalos de ADM. Observe que há um aumento da resistência ao alongamento passivo durante toda a ADM, sendo acentuado no final da ADM. 31

Figura 6. Pico de torque passivo dos flexores durante a extensão de joelho. Em A, B e C são apresentadas as diferenças intra-grupo (entre intervalos de ADM) do pico de torque passivo relativo ao membro controle, não parético e parético, respectivamente. A porção D da figura 6, representa o pico do torque passivo de todos os membros, evidenciando as diferenças inter-grupo. ^e $p < 0,05$: comparado a todos os outros intervalos de ADM. * $p < 0,05$: parético versus não parético. [†] $p < 0,05$: não parético versus controle. Note uma diminuição do pico de torque nas ADMs iniciais do membro não parético comparado ao parético e controle. 32

Figura 7. Resistência passiva dos flexores durante a extensão de joelho. Em A, B e C são apresentadas as diferenças intra-grupo (entre intervalos de ADM) da resistência passiva (*stiffness*) dos membros controle, não parético e parético, respectivamente. A porção D da figura 7, representa a resistência passiva de todos os membros, evidenciando as diferenças inter-grupo. ^a $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 70-60°; ^b $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 60-50°; ^c $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 50-40°; ^d $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 40-30°; * $p < 0,05$: membro parético comparado ao membro controle. Observe uma maior resistência ao alongamento passivo do membro parético comparado ao controle no intervalo de 50-40°. 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variáveis demográficas apresentadas como média \pm DP.

27

LISTA DE ABREVIATURAS

ADM = Amplitude de Movimento

AVC = Acidente Vascular Cerebral

BF = bíceps femoral

ELISA = *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*

EMG = Eletromiografia

MRI = *Magnetic Resonance Imaging* (Imagem por Ressonância Magnética)

N.m = Newton x metro

RF = retofemoral

RMS = *Root mean square* (Raiz Quadrada Média)

ROI = *Regions of interest* (Regiões de Interesse)

SNC = Sistema Nervoso Central

SS = semitendíneo e semimembranoso

ST = semitendíneo

TGF- β 1 = *Transforming Growth Factor-beta1* (Fator de Crescimento Transformante-beta 1).

VI = vasto intermédio

VL = vasto lateral

VM = vastomedial

RESUMO

Contextualização: Alterações na musculatura do membro parético em decorrência do Acidente Vascular Cerebral (AVC) podem resultar em mudanças nas propriedades mecânicas da musculatura, como fraqueza muscular e aumento da resistência ao alongamento. Estudos que caracterizem os componentes do músculo, como o tecido não contrátil, e biomarcadores relacionados à proliferação de tecido conjuntivo (como TGF- β 1 e miostatina) são necessários e clinicamente relevantes para o entendimento da resistência ao alongamento de músculos paréticos. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a concentração sérica de TGF- β 1 e miostatina, o volume percentual de tecido não contrátil e o pico de torque passivo e resistência ao alongamento (“*stiffness*”) dos músculos extensores e flexores do joelho de hemiparéticos crônicos. **Materiais e Métodos:** Estudo transversal. Quatorze sujeitos com hemiparesia crônica pós-AVC e quatorze sujeitos saudáveis pareados participaram deste estudo. Os membros parético, não parético e controle, foram avaliados. Imagens por ressonância magnética foram obtidas em todos os sujeitos e o volume percentual de tecido não contrátil dos músculos do quadríceps e dos isquiotibiais foi mensurado. As concentrações séricas de TGF- β 1 e miostatina foram quantificadas pelo método ELISA. O pico de torque passivo e a resistência ao alongamento passivo (“*stiffness*”) dos músculos extensores e flexores do joelho foram obtidos a 60°/s em dinamômetro isocinético e avaliados ao longo de intervalos de ADM. **Resultados:** Foi observado um aumento no volume percentual de tecido não contrátil nos músculos vasto medial (VM) e vasto lateral (VL) do membro parético comparado ao não parético ($p < 0,05$). Ainda, houve um aumento no volume percentual de tecido não contrátil nos músculos semitendinoso e semimembranoso (SS) do membro parético comparado ao membro controle ($p < 0,05$). Não foram observadas diferenças nas concentrações séricas de TGF- β 1 e miostatina entre os grupos ($p > 0,05$). Houve um aumento no pico de torque e na resistência ao alongamento passivo extensor com o aumento da amplitude de movimento (ADM) nos membros parético, não parético e controle, sem diferenças entre os membros ($p > 0,05$). Em relação aos flexores, também houve um aumento no pico de torque ao longo da ADM nos membros parético, não parético e controle. No entanto, o membro não parético apresenta valores de pico de torque menores que o parético e controle em amplitudes menores ($p < 0,05$). O membro parético aumenta a resistência de forma mais acentuada em ADM intermediária (50-40°) comparado ao controle ($p = 0,02$). Houve correlação moderada entre a concentração sérica de TGF- β 1 e o pico de torque flexor do membro parético, considerando-se a ADM completa ($p = 0,01$; $r = 0,736$). **Conclusão:** Músculos paréticos, extensores e flexores do joelho, apesar de possuírem aumento de tecido não contrátil, apresentam resistência ao alongamento semelhante a músculos de indivíduos saudáveis. Músculos flexores do joelho dos membros não parético apresentam menor resistência passiva ao alongamento comparado a indivíduos saudáveis, sem alterações no conteúdo não contrátil. Além disso, indivíduos hemiparéticos crônicos não apresentam alterações nas concentrações séricas de TGF- β 1 e miostatina comparados a indivíduos saudáveis.

Palavras-chave: AVC, músculo esquelético, tecido não contrátil, biomarcadores séricos, torque passivo, reabilitação.

ABSTRACT

Background: Muscle changes of paretic limb resulting from stroke lead to changes in the mechanical properties of muscles, such as muscle weakness and increased resistance to stretching. Studies that characterize the components of the muscle tissue, as the non-contractile, and biomarkers related to proliferation of connective tissue (such as TGF- β 1 and myostatin) are clinically relevant and necessary for understanding of the resistance to stretching of paretic muscles. Therefore, the aim of this study was to evaluate the serum concentration of TGF- β 1 and myostatin, the percentage volume of non-contractile tissue and passive peak torque and resistance to stretching (stiffness) of the extensor and flexor muscles of the knee in chronic hemiparesis. **Methods:** Cross-sectional study. Fourteen subjects with chronic hemiparesis post stroke and fourteen healthy paired-subjects participated in this study. Paretic, non-paretic and control limbs were evaluated. MRI images were obtained in all subjects and the percentage volume of non-contractile tissue of the quadriceps and hamstrings was measured. Serum TGF- β 1 and myostatin concentrations were quantified by ELISA method. Passive torque peak and resistance during stretching (stiffness) of extensors and flexors muscles of knee were assessed at 60°/s using isokinetic dynamometer. **Results:** An increase in the percentage volume of non-contractile tissue in VM and VL of paretic limb compared to non-paretic limb was observed ($p < 0,05$). Also, an increase was observed in the percentage volume of non-contractile tissue in SS in paretic limb compared to control limb ($p < 0,05$). No differences were observed in serum TGF- β 1 and myostatin concentrations in hemiparetic group compared to the control group ($p > 0,05$). Regarding passive torque, there was an increase in peak torque and resistance during passive stretching of extensor muscles with increasing ROM of paretic, non-paretic and control limbs ($p < 0,05$), but no differences were found among limbs ($p > 0,05$). In relation to flexor muscles, there was also an increase in peak torque along the ROM of the three limbs ($p < 0,05$). However, non-paretic limb has lower values of peak torque than control and paretic limbs in lower ROM ($p < 0,05$). Paretic limb increases resistance in a more accentuated pattern at intermediate ROM (50-40°) compared to control ($p = 0,02$). A moderate correlation was observed between TGF- β 1 serum concentration and flexor peak torque of paretic limb, considering complete ROM ($p = 0,01$; $r = 0,736$). **Conclusion:** Paretic muscles, extensors and knee flexors, although they have increased non-contractile tissue, exhibit similar resistance to stretching the muscles of healthy subjects. Knee flexor muscles of the non-paretic limbs have less passive stretch resistance compared to healthy subjects without changes in non-contractile content. Furthermore, no changes in serum concentrations of TGF- β 1 and myostatin in chronic hemiparetic compared to healthy subjects were observed.

Keywords: stroke, skeletal muscle, non-contractile tissue, serum biomarkers, passive torque, rehabilitation.

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO.....	12
2. CONTEXTUALIZAÇÃO.....	13
3. MANUSCRITO	15
3.1. INTRODUÇÃO	17
3.2. MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.2.1. ASPECTOS ÉTICOS, DESENHO EXPERIMENTAL E PARTICIPANTES	20
3.2.2. PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO DO VOLUME PERCENTUAL DE TECIDO NÃO CONTRÁTIL PRESENTE NOS MÚSCULOS POR MEIO DE IMAGENS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.....	21
3.2.3. ANÁLISE DOS NÍVEIS SÉRICOS DE TGF-B1 E MIOSTATINA	22
5.2.3.1. COLETA DE SANGUE	22
5.2.3.2. MENSURAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE BIOMARCADORES.....	23
3.2.4. PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO EM DINAMÔMETRO ISOCINÉTICO	23
5.3.1. EQUIPAMENTO E POSICIONAMENTO DOS SUJEITOS	23
5.3.2. AVALIAÇÃO DO TORQUE PASSIVO	24
3.2.5. ANÁLISE DOS RESULTADOS	25
3.2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
4.3. RESULTADOS	27
4.3.1. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	27
4.3.2. PERCENTUAL DE TECIDO NÃO CONTRÁTIL	27
5.6.2.1. PROXIMAL	27
5.6.2.2. DISTAL.....	28
4.3.3. CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE TGF-B1 E MIOSTATINA	29
4.3.4. ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA	29
4.3.5. TORQUE PASSIVO EXTENSOR	30
4.3.6. TORQUE PASSIVO FLEXOR	31
4.3.7. CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS	33
5.4. DISCUSSÃO	34
5.4.1. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E DESDOBRAMENTOS FUTUROS	37
5.5. CONCLUSÃO	39
5.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
5.7. MATERIAL SUPLEMENTAR	42
6. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO PERÍODO.....	43
7. APÊNDICES.....	45

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação foi organizada segundo as normas do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da UFSCar. Uma contextualização será apresentada inicialmente, com detalhamento da linha de pesquisa na qual o estudo está inserido. Em seguida, o manuscrito originado a partir deste estudo é apresentado na formatação exigida pela revista na qual foi submetido: “*Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*”, classificada como Qualis A1 pela CAPES. E, por fim, serão descritas as atividades desenvolvidas no período.

CONTEXTUALIZAÇÃO

O presente estudo faz parte de uma linha de pesquisa desenvolvida no Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Neurológica (LaFiN) em colaboração com o Laboratório de Plasticidade Muscular, ambos do Departamento de Fisioterapia da UFSCar. Esta linha de pesquisa abrange projetos que vão desde a caracterização de adaptações neuromusculares em indivíduos hemiparéticos pós-Acidente Vascular Cerebral (AVC), a intervenções como o treino de fortalecimento dos membros inferiores.

Dois grandes projetos deram origem a presente dissertação de mestrado, um primeiro, sob coordenação do Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo, para a caracterização da origem multifatorial da fraqueza muscular em indivíduos hemiparéticos crônicos intitulado “*Correlação entre os níveis séricos de IGF-1 e IGFBP-3 com o desempenho e o volume muscular em indivíduos hemiparéticos crônicos*” (Projeto FAPESP regular no. 2011/02703-3 e CNPq (edital Universal 2011, processo: 470892/2011-0); e um segundo, que objetiva investigar os efeitos do fortalecimento muscular nestes indivíduos, chamado “*Efeitos do fortalecimento excêntrico no volume muscular e no desempenho de flexores e extensores do joelho de hemiparéticos crônicos*”, desenvolvido pela pós-doutoranda Christiane L. Prado-Medeiros e sob coordenação da Profa. Dra. Tania de Fátima Salvini, que recebeu apoio financeiro da FAPESP (projeto regular, processo: 2011/11228-7).

Neste primeiro projeto, foram encontradas reduções do pico de torque, trabalho e potência dos músculos extensores e flexores do joelho no membro parético, em relação aos membros não parético e controle, durante contrações concêntricas e excêntricas. Além disso, foi observada uma atrofia muscular seletiva de músculos do quadríceps e isquiotibiais do membro parético comparado ao controle e uma diminuição na concentração sérica de IGF-1 e IGFBP-3 nos indivíduos hemiparéticos comparados aos indivíduos saudáveis.

Estes resultados provem uma linha de base de investigação que foca ferramentas cinesiológicas e moleculares para o esclarecimento das alterações neuromusculares que afetam a força em decorrência do AVC. No entanto, algumas questões remanescentes destes estudos não foram respondidas, como a caracterização da composição destes músculos, em especial do tecido não contrátil intramuscular, possíveis vias de sinalização molecular e a resistência ao alongamento passivo da musculatura extensora e flexora de joelho em indivíduos hemiparéticos crônicos.

Estudos neste âmbito são relevantes, pois integram análises moleculares, de imagem e cinesiológicas, possibilitando o entendimento sobre as adaptações musculares pós-AVC de

forma abrangente. Além disso, estes estudos vão de encontro com políticas públicas atuais que vêm sendo desenvolvidas no Brasil e no mundo focando da prevenção à reabilitação do AVC. Por ser uma afecção que gera altos índices de incapacidade na população adulta em geral, estratégias que foquem esta temática são relevantes para a sociedade.

MANUSCRITO

Artigo Original

Título: Aumento seletivo de tecido não contrátil e manutenção do torque passivo estão presentes nos músculos paréticos da coxa de indivíduos pós-AVC crônico.

Título em inglês: Selective increase in non-contractile tissue and maintenance of passive torque are present in the paretic thigh muscles of chronic post-stroke subjects.

Carolina Carmona Alcântara¹, Fernando Fernandes Paiva MS e PhD², Ana Beatriz Oliveira PhD³, Marcela Abreu Silva-Couto MS¹, Amanda Marcondes Oliveira¹, Christiane Lanatovitz Prado-Medeiros PhD⁴, Tatiana Oliveira Sato MS e PhD⁵, Tania Fátima Salvini PhD⁴, Thiago Luiz Russo PhD¹.

¹Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Neurológica (LaFiN). Departamento de Fisioterapia (DFisio). Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brasil.

²Centro de Imagens e Espectroscopia In Vivo por Ressonância Magnética (CIERMag). Instituto de Física de São Carlos, Departamento de Física e Informática. Universidade de São Paulo (USP). São Carlos, SP, Brasil.

³Laboratório de Cinesiologia Clínica Ocupacional (LACO). DFisio. UFSCar, São Carlos, SP, Brasil.

⁴Laboratório de Plasticidade Muscular. DFisio. UFSCar, São Carlos, SP, Brasil.

⁵Laboratório de Fisioterapia Preventiva - Ergonomia. DFisio. UFSCar, São Carlos, SP, Brasil.

Título curto: muscle stiffness and chronic hemiparesis (rigidez muscular e hemiparesia crônica)

Apoio financeiro: Este projeto recebeu apoio financeiro da FAPESP (Número do processo: 2011/02703-3 e 2011/11228-7) e CNPq (Número do processo: 470892/2011-0). CC Alcântara, MA Silva-Couto (mestres) e CL Prado-Medeiros (de pós-doutorado) receberam bolsas do CNPq.

Autor para Correspondência: Thiago Luiz de Russo, Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Neurológica. Departamento de Fisioterapia. Universidade Federal de São Carlos – UFSCar. São Carlos, SP, Brazil. Rodovia Washington Luís, Km 235. CEP: 13565-905. Telefone: [+551633519578](tel:+551633519578). E-mail: thiagoluizrusso@gmail.com

INTRODUÇÃO

O Acidente Vascular Cerebral (AVC) é atualmente a doença que mais leva a incapacidade em adultos no mundo, segundo a Organização Mundial de Saúde (2011). Inúmeras políticas públicas vêm sendo desenvolvidas focando da prevenção à reabilitação do AVC. Por ser uma afecção que gera alto impacto na qualidade de vida destes indivíduos, estratégias que foquem esta temática são relevantes para a sociedade. Além de possíveis distúrbios cognitivos, emocionais e comportamentais, geralmente estão associados déficits sensoriais e motores que resultam em dificuldades na execução de determinadas tarefas de vida diária, tais como deambular, realizar transferências e subir degraus¹, as quais exigem um controle adequado dos movimentos de extensão e flexão do joelho.

Dentre as alterações decorrentes da lesão central, está a fraqueza muscular, reconhecida clinicamente como um dos principais fatores limitantes da funcionalidade durante a fase crônica². A literatura destaca que alterações neurais e musculares sejam as principais responsáveis pela paresia decorrente do AVC. Por exemplo, em relação aos componentes neurais da paresia pós-AVC foram descritas que alterações no número e tipo de unidades motoras recrutadas e na taxa da frequência de disparo dos motoneurônios geram distúrbios da contração muscular. Estas alterações geralmente estão atreladas à espasticidade³.

Em relação aos fatores musculares, são escassos na literatura estudos sobre a caracterização do músculo com paresia e como estes fatores poderiam interferir na geração de força muscular⁴. Os trabalhos em seres humanos que utilizaram biópsias de músculos espásticos, decorrentes de AVC são ainda inconclusivos (para Revisão ver Gray et al., 2012). Alguns poucos trabalhos que investigaram as modificações musculares estruturais decorrentes de alterações do SNC, como na paralisia cerebral, mostraram que tanto modificações no conteúdo contrátil como não contrátil muscular podem, em parte, explicar a fraqueza e rigidez musculares. Heterogeneidade no tamanho das fibras, com atrofia e conversão de fibras do tipo I para II (mais fadigáveis - para revisão ver Lieber, 2004) e sarcômeros extremamente alongados foram observados em músculos paréticos espásticos. Além disso, proliferação do tecido conjuntivo e aumento no conteúdo de colágeno do tipo I no endomísio e perimísio destes músculos podem comprometer a transmissão de forças mecânicas e alterar o seu comprimento, prejudicando a amplitude de movimento⁵.

Em um recente estudo⁶ com indivíduos hemiparéticos crônicos (>9 meses pós- AVC), foi encontrado um aumento na quantidade de tecido não contrátil em diversos músculos do membro inferior parético, entre eles o retofemoral, bíceps femoral, vasto lateral e intermédio

comparado ao membro não parético. A falta de um grupo controle limita a interpretação destes resultados, pois se sabe que o membro não parético também apresenta alterações em decorrência da lesão do SNC, além de ser submetido à sobrecarga⁷.

Como implicações clínicas diretas tem-se que estas alterações intrínsecas da musculatura, incluindo componentes contráteis e não contráteis, resultam em mudanças nas propriedades mecânicas da musculatura, como o aumento da resistência ao alongamento e uma capacidade global reduzida de gerar força^{6, 8}. Diversos estudos avaliaram a resistência ao alongamento passivo do membro parético, como uma forma de mensurar a contribuição dos componentes neurais e musculares para a resistência ao movimento⁹⁻¹¹. A maioria deles foca-se no estudo do tornozelo^{9, 11, 12} e do cotovelo¹⁰. Pouca informação está disponível a respeito da resistência ao alongamento passivo dos músculos extensores e flexores do joelho, os quais são relevantes para a marcha¹³.

Nuyens e cols (2002)¹⁴ investigaram o efeito de uma série de alongamentos repetitivos sobre as características viscoelásticas de músculos paréticos espásticos. Foi observada uma menor resistência ao alongamento no membro parético ao longo das repetições, comparado às adaptações de um grupo controle. Tais alterações foram mantidas quando a atividade eletromiográfica foi incluída como covariável na análise estatística da resistência ao alongamento na velocidade de 60 °/s, demonstrando que a ativação muscular não seria o fator responsável pelas alterações observadas no comportamento de resistência frente ao alongamento passivo repetitivo, mas sim por modificações da musculatura em si. Contudo, em velocidades mais altas (180°/s e 300°/s), a influência da ativação muscular ocorreu de forma mais acentuada.

É necessário destacar que os autores focam-se nas respostas musculares adaptativas dos músculos frente ao estímulo de alongamentos repetitivos¹⁴. Comparações descritivas entre músculos dos membros paréticos, não paréticos e controle não foram focadas pelos autores, sendo ainda necessário o esclarecimento destas lacunas remanescentes. Estudos que avaliem fatores que possam causar aumento da resistência muscular e que integrem de forma complementar as análises da resistência ao alongamento, do conteúdo de tecido não contrátil intramuscular e de biomarcadores que possam estar relacionados a estas alterações são necessários para um melhor entendimento das adaptações musculares decorrentes do AVC.

Dentre os importantes biomarcadores relacionados ao trofismo muscular e a proliferação do tecido conjuntivo estão o TGF- β 1 e a miostatina, membros da superfamília de fatores de crescimento TGF- β (*Transforming Growth Factor* - beta). No tecido muscular, a

expressão aumentada destes fatores pode estar relacionada à deposição de tecido não contrátil em seu interior. Uma revisão recente da literatura¹⁵ mostra que situações em que há o aumento constante do estresse oxidativo, como durante a imobilização, ocorre uma inibição, por parte do TGF- β 1 e miostatina, da ativação e diferenciação das células satélites em mioblastos/miócitos, e uma transformação de mioblastos em miofibroblastos, contribuindo para a formação de fibrose no músculo. Assim, é possível hipotetizar que a musculatura parética pós-AVC crônico passaria por transformações associadas a estes fatores, devido à diminuição no nível de atividade destes sujeitos.

Em resumo, tais alterações musculares decorrentes do AVC, incluindo a deposição de tecido não contrátil intramuscular e aumento da resistência ao alongamento, podem gerar encurtamentos, contraturas musculares, além de prejudicar a capacidade de gerar força⁸. Trata-se de um problema clínico que afeta a funcionalidade destes indivíduos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi descrever a concentração de biomarcadores séricos relacionados a deposição de tecido conjuntivo, o volume percentual de tecido não contrátil intramuscular e a resistência ao alongamento passivo da musculatura extensora e flexora do joelho em indivíduos hemiparéticos crônicos. Foi hipotetizado que seria observado um aumento nas concentrações séricas de TGF- β 1 e miostatina no grupo hemiparético, associado ao aumento no volume percentual de tecido não contrátil e na resistência ao alongamento passivo no membro parético comparado a indivíduos saudáveis.

MATERIAIS E MÉTODOS

Aspectos éticos, desenho experimental e participantes

O estudo foi realizado de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras das Pesquisas Envolvendo Humanos (Resolução 196/1996, do Conselho Nacional de Saúde), e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UFSCar (parecer nº 344.633). Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram recrutados 14 sujeitos, de ambos os sexos, com hemiparesia crônica (> 6 meses) decorrente de AVC unilateral, de origem isquêmica ou hemorrágica, de quaisquer hemisférios. Outros 14 sujeitos saudáveis¹⁶, com idade e sexo pareados com o grupo hemiparético fizeram parte do grupo controle. O tamanho amostral foi calculado inicialmente no software GPower (versão 3.1), para um poder > 0,80 + 15% do valor considerando possíveis perdas amostrais. Tal cálculo foi realizado com base nos dados da variável isocinética - pico de torque excêntrico - de um estudo prévio do nosso grupo¹⁷. Os sujeitos hemiparéticos e controles foram recrutados da Unidade Saúde Escola (USE/UFSCar) e comunidade local por meio de divulgações realizadas em veículos de comunicação local como cartazes e panfletos.

Para o grupo hemiparético foram considerados os seguintes critérios de inclusão: faixa etária de 40 a 70 anos; ocorrência do último episódio de AVC há mais de 6 meses (AVCs recorrentes poderiam ser incluídos no estudo desde que envolvessem o mesmo hemisfério cerebral); alta da fisioterapia; nível de espasticidade inferior a 3 na Escala de Ashworth Modificada¹⁸ para membros inferiores, permitindo aos indivíduos realizar o teste passivo em dinamômetro isocinético; capacidade de locomoção classificada nos níveis 3, 4 ou 5 de acordo com a *Functional Ambulation Category (FAC)*¹⁹.

Os sujeitos foram incluídos no grupo controle se: saudáveis¹⁶; idade, sexo e IMC pareados com o grupo hemiparético; e valor superior a oito na pontuação total (valor absoluto) do Questionário de Baecke^{20, 21}, sendo classificados como ativos. Ou seja, indivíduos sedentários não foram incluídos neste estudo²², já que a inatividade acarreta em alterações musculares deletérias, como atrofia²³ e fadiga acentuada²⁴, que poderiam comprometer a comparação entre os grupos.

Foram excluídos do estudo quaisquer sujeitos (hemiparéticos e controle) que apresentassem: doenças cardiovasculares graves (insuficiência cardíaca, arritmias ou angina pectoris); outras doenças ortopédicas ou neurológicas que comprometessem a coleta de dados;

deficiências cognitivas que impossibilitem a realização dos procedimentos, sendo considerada uma pontuação mínima no Mini Exame do Estado Mental de acordo com a pontuação de corte recomendada por Brucki (2003)²⁵; antecedentes de lesões articulares ou musculares nos membros inferiores; dor durante os procedimentos de avaliação.

O fluxograma amostral é apresentado na Figura 1.

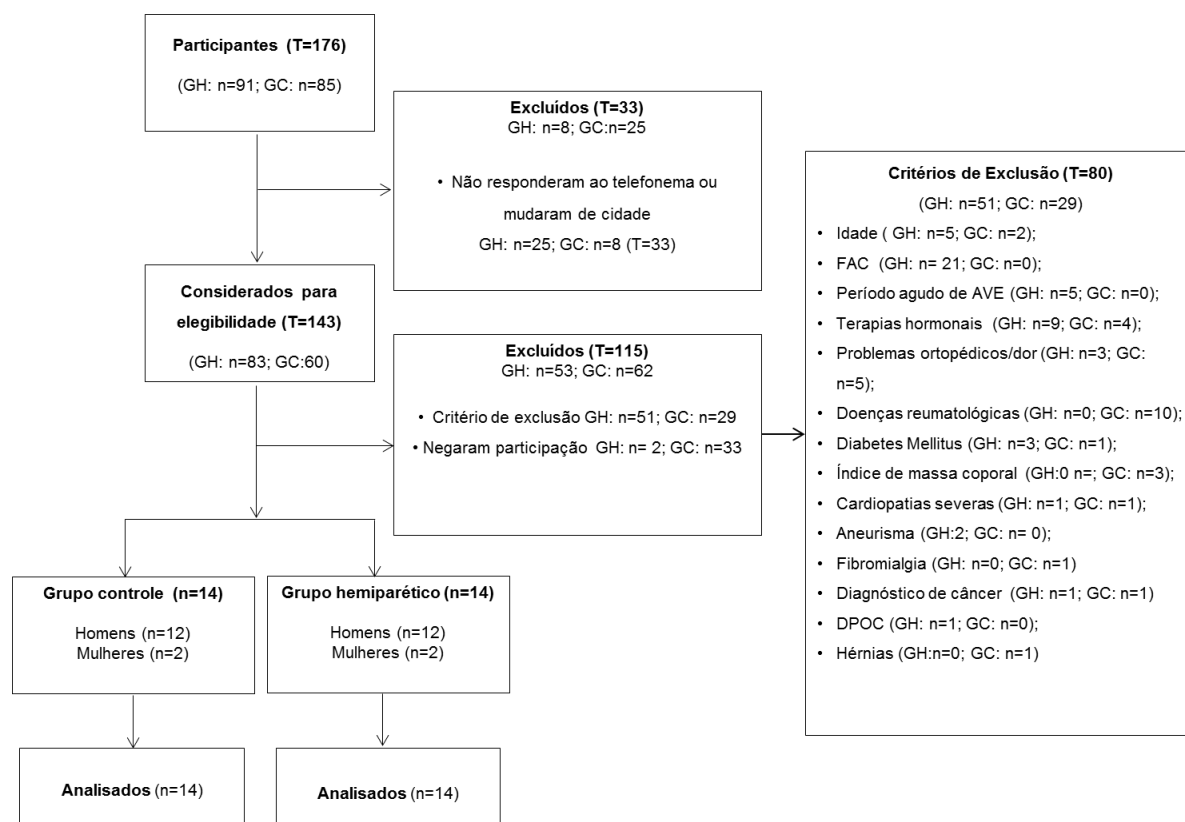


Figura 1. Fluxograma amostral do estudo. GH: Grupo Hemiparético; GC: Grupo Controle; FAC: *Functional Ambulatory Category*; DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica.

Protocolo de avaliação do volume percentual de tecido não contrátil presente nos músculos por meio de Imagens por Ressonância Magnética

Os exames de imagens por ressonância magnética (MRI, do inglês *Magnetic Resonance Imaging*) foram realizados no Centro Integrado de Diagnóstico por Imagem (CIDI), localizado na Santa Casa de Misericórdia de São Carlos, SP. Imagens axiais dos músculos quadríceps e isquiotibiais foram obtidas, bilateralmente usando um equipamento Magnetom C! de 0.35 Tesla (Siemens Healthcare, Erlangen, Alemanha). Todas as imagens foram adquiridas com uma bobina corpo de múltiplos canais padrão do equipamento. Devido a extensão da área de interesse, as imagens foram obtidas em duas aquisições subsequentes, sendo uma do terço distal (a partir do côndilo femoral em direção à porção proximal) e outra

do terço proximal (a partir da cabeça do fêmur em direção à porção distal). Estas referências anatômicas foram consideradas para efeito de padronização da porção muscular a ser avaliada. Ambas as aquisições foram feitas utilizando uma sequência Spin Eco 2D com os seguintes parâmetros: TE / TR = 16 / 790 ms, ângulo de flip = 90°, *field of view* = 400 x 400 e uma matriz de 256 x 256, resultando em uma resolução no plano de aproximadamente 1.5 x 1.5 mm². Cortes com espessura de 9 mm e intervalo de 1 mm entre os mesmos foram obtidos com 2 médias cada. Durante o exame, cuja duração ficou abaixo de 40 minutos, os sujeitos permaneceram em decúbito dorsal e foram orientados a se manterem imóveis de forma mais relaxada possível.

A análise das imagens foi feita utilizando rotinas implementadas localmente em Matlab (Mathworks, Natick, MA). Inicialmente, as imagens foram convertidas para o formato Analyze 7.5 e regiões de interesse (ROI, do inglês *Region of Interest*) foram definidas utilizando o software MRIcro (www.mricro.com) a partir do delineamento das bordas externas de cada músculo que compõe o quadríceps (retofemoral - RF, vasto medial - VM, vasto lateral - VL e vasto intermédio - VI) e os isquiotibiais (semitendinoso/semimembranoso - SS e bíceps femoral - BF). Devido à extensão anatômica dos músculos analisados e do conjunto de aquisições, o BF, na aquisição proximal, e o RF, na aquisição distal, não foram detectados. Além disso, para garantir que o volume analisado fosse igual em todos os voluntários independente da variabilidade intrínseca da extensão muscular entre os sujeitos, as medidas foram feitas apenas no terço proximal e distal de cada um dos sujeitos. A gordura intermuscular foi excluída nos contornos. As ROIs foram delineadas por um único examinador a fim de garantir a confiabilidade das medidas. O tecido não contrátil dentro de cada uma das ROIs foi, então, determinado utilizando o método de segmentação de Otsu²⁶ e calculado para cada músculo separadamente. Como o volume muscular entre os sujeitos, inclusive dentro de um mesmo grupo, é diferente, o volume de tecido não contrátil pode não ser representativo de eventuais alterações e, portanto, os dados são apresentados em porcentagem do volume total de cada músculo.

Análise dos níveis séricos de TGF-β1 e Miostatina

Coleta de sangue

As coletas foram realizadas trinta minutos antes do teste em dinamômetro isocinético. O sangue foi coletado da veia antecubital do membro superior não acometido em uma

quantidade de 10 ml, reservados em frascos Vacutainer estéreis. As amostras foram expostas por trinta minutos em temperatura ambiente para o processo de coagulação em um tubo separador. Em seguida as amostras foram centrifugadas em 1000x g por 15 minutos e armazenadas em temperatura menor que -20° C, seguindo as recomendações do fabricante. Todas as amostras foram processadas posteriormente em um único imunoenensaio.

Mensuração dos níveis séricos de biomarcadores

As concentrações séricas de TGF- β 1 e miostatina foram mensuradas por meio do método ELISA (*Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*), usando kits de alta sensibilidade (Quantikine®HS, R&D Systems, Mineapolis, USA) segundo as recomendações do fabricante. As medidas séricas foram realizadas em duplicatas. As amostras foram diluídas e aplicadas a uma curva de dosagens. As leituras das amostras foram feitas por um leitor de microplacas ajustado para 450nm e correção do comprimento de onda a 540nm ou 570nm.

Protocolo de avaliação em dinamômetro isocinético

O protocolo de avaliação isocinética foi realizado no Laboratório de Dinamometria Isocinética do Departamento de Fisioterapia da UFSCar e foi realizado um dia após o exame de MRI.

Equipamento e posicionamento dos sujeitos

Para a avaliação da resistência ao alongamento passivo, foi utilizado um dinamômetro isocinético Biodex System III. Os testes foram realizados bilateralmente e o primeiro membro a ser testado foi aleatorizado para evitar possíveis efeitos de dominância nos indivíduos saudáveis. Para o grupo hemiparético, por sua vez, o primeiro membro a ser testado foi o não-parético. Durante a avaliação, os indivíduos permaneceram sentados em uma cadeira reclinada em 5° , com cintos cruzados estabilizando o tronco. Da mesma forma, o quadril e a coxa foram firmemente fixados à cadeira do dinamômetro de acordo com a descrição do manual do equipamento, que foi calibrado antes de cada avaliação conforme solicitado pelo fabricante. O eixo de rotação do braço de alavanca do dinamômetro foi alinhado com o côndilo femoral lateral e a perna foi fixada ao braço de alavanca do dinamômetro acima do maléolo lateral. Para corrigir o efeito do torque produzido pela gravidade, o membro era pesado antes de cada teste e os valores obtidos eram automaticamente corrigidos pelo próprio software do equipamento.

Avaliação do torque passivo

O torque passivo flexor e extensor do joelho foi avaliado para determinar o quanto os componentes contráteis e não contráteis musculares resistem ao alongamento passivo nesta população. Durante a realização do teste, os sujeitos foram orientados a permanecerem com o membro totalmente relaxado enquanto o dinamômetro movia passivamente o membro, em uma série de 10 repetições, nos movimentos de flexão e extensão, sendo considerados os dados obtidos na 5ª repetição para análise. Considerando 0° a extensão total do joelho, os testes foram realizados em um arco de movimento de 20° a 90°, no entanto foram considerados para análise os dados obtidos na ADM de 30° a 70°, na qual a velocidade angular permaneceu constante. A velocidade imposta foi de 60°/s, escolhida com base no estudo de Nuyens (2002).

As variáveis do teste passivo consideradas para análise foram: pico de torque passivo e resistência ao alongamento passivo (“*stiffness*”), obtida a partir da inclinação (“*slope*”) da curva torque/ângulo (N.m/graus). Todas as variáveis foram analisadas considerando a ADM intervalada (30-40°, 40-50°, 50-60° e 60-70°). Optou-se por apresentar o quanto o músculo resiste ao alongamento passivo através do pico de torque e da resistência ao alongamento passivo (“*stiffness*”), ao longo de intervalos de ADM já que, de forma conjunta, estas análises possibilitaram a quantificação da magnitude da resistência ao alongamento e permitiram o entendimento de como o padrão de alteração da resistência ocorre com o aumento da ADM.

Como uma forma de controle da atividade elétrica muscular durante a avaliação do torque passivo, eletrodos foram posicionados nos músculos reto femoral, vastos medial e lateral, bíceps femoral e semitendinoso de acordo com as recomendações da SENIAM. Foi utilizado 1 eletrodo de superfície adesivo descartável de Ag/AgCl com pré-amplificador, de 1 cm de diâmetro em cada polo, com 20 mm de separação entre eles (Miotec, Porto Alegre, RS, Brasil). O eletrodo de referência (auto-adesivo descartável de silicone e gel, 5x5cm; VALUTRODE®) foi fixado na protuberância radial.

Foi usado um sistema de 8 canais (800C, EMG System do Brasil, São José dos Campos, SP), com frequência de amostragem de 1000 Hz e filtrado (20 to 400 Hz) de acordo com DeLuca (1997). Foi quantificado pela RMS com um janelamento correspondente a 20 ms com sobreposição temporal de 50%. A média da RMS intervalada foi utilizada para o intervalo de ADM referente, considerando-se a atividade do BF e SS durante o movimento de extensão, e RF, VM e VL durante o movimento de flexão.

Análise dos resultados

Os resultados foram analisados nos seguintes aspectos:

- I. Comparação inter-grupos (parético versus não-parético; parético versus controle; não-parético versus controle). Variáveis analisadas: volume percentual de tecido não contrátil, pico de torque passivo e resistência ao alongamento passivo nos diferentes intervalos de ADM (30-40°, 40-50°, 50-60° e 60-70°) durante a flexão e a extensão do joelho; e concentração sérica de TGF- β 1 e miostatina (grupo hemiparético *versus* grupo controle).
- II. Comparação intra-grupos (parético, não-parético e controle). Variáveis analisadas: pico de torque passivo e resistência ao alongamento passivo entre os diferentes intervalos de ADM (30-40°, 40-50°, 50-60° e 60-70°), durante a flexão e a extensão do joelho, para cada membro.
- III. Correlação entre as variáveis: volume percentual de tecido não contrátil, pico de torque passivo e resistência ao alongamento passivo durante a flexão e a extensão do joelho; e concentração sérica de TGF- β 1 e miostatina.

Análise Estatística

Foram aplicados os testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Levene). Tendo em vista que o teste T-pareado não detectou diferenças entre os membros dominante e não dominante do grupo controle para todas as variáveis, um conjunto destes dados foi considerado para posteriores análises como um grupo (controle).

As comparações inter-grupos foram analisadas pela ANCOVA para identificar diferenças entre os membros (parético, não parético e controle) para as variáveis pico de torque passivo, nos 4 intervalos de ADM (extensores e flexores), e resistência ao alongamento, nos 4 intervalos para extensores e 3 primeiros intervalos para flexores. A EMG foi considerada como covariável. Foi considerado um $\alpha = 0,05$. A comparação entre membros para o quarto intervalo flexor foi realizada pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis.

Para a comparação intra-grupo, ou seja, entre intervalos de ADM, foi aplicada uma ANOVA de medidas repetidas para dados paramétricos e com ϵ (Epsilo) superior a 0,75, com post hoc de Tukey. Para dados paramétricos, no entanto com ϵ inferior a 0,75, foi aplicado o teste T-pareado, com ajuste de Bonferroni ($\alpha = 0,008$). Dados não paramétricos foram

analisados pelo Friedman, seguido de post-hoc de Wilcoxon, também considerando o ajuste de Bonferroni ($\alpha = 0,017$).

Para identificar diferenças de volume percentual de tecido não contrátil entre membros, foi realizada uma ANOVA one-way para dados paramétricos, e o Kruskal Wallis seguido de Mann-Whitney para detectar diferenças entre dados não paramétricos, considerando $\alpha = 0,017$ devido ao ajuste de Bonferroni.

A comparação entre os grupos hemiparético e controle em relação à concentração sérica de TGF- β 1 e miostatina foi realizada pelo teste T-independente, considerando $\alpha = 0,05$.

O teste de Pearson foi utilizado para verificar as correlações entre variáveis paramétricas e o teste de Spearman foi aplicado nos casos não paramétricos.

Todas as análises foram realizadas no programa SPSS (versão 17.0).

RESULTADOS

Caracterização da amostra

Foram incluídos no estudo 14 sujeitos em cada grupo, sendo 12 homens e 2 mulheres por grupo, com AVC prévio unilateral isquêmico (n=6) ou hemorrágico (n=8). O tempo médio pós-AVC foi de 7,31 anos (DP=6). Ainda, sujeitos do grupo controle foram pareados por sexo, idade (± 3 anos) e índice de massa corporal - IMC (± 4 Kg/m²) com o grupo hemiparético, conforme descrito na Tabela 1. A pontuação obtida na Escala de Ashworth Modificada para extensores de joelho no grupo hemiparético foi de 0 (n=6), 1 (n=5), 1+ (n=2), 2 (n=1). O Índice de Barthel da amostra apresentou uma média de $18,8 \pm 1,03$, indicando alto grau de independência funcional. A pontuação na FAC foi de 4 (n=7) e 5 (n=7) e a velocidade da marcha foi em média $0,80 \pm 0,50$ m/s durante a realização do teste de caminhada de 10 metros neste grupo.

Tabela 1. Variáveis demográficas apresentadas como média \pm DP.

VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS	Controle	Hemiparético	<i>P valor</i>
Idade (anos)	$61,6 \pm 7,8$	61 ± 8	<i>0,818</i>
Peso corporal (Kg)	$73,1 \pm 13,9$	$70,34 \pm 8,84$	<i>0,963</i>
Altura (m)	$1,66 \pm 0,05$	$1,65 \pm 0,08$	<i>0,835</i>
IMC	$26,31 \pm 3,95$	$25,86 \pm 3,23$	<i>0,679</i>

Percentual de tecido não contrátil

Proximal

A Figura 2 representa as medidas de volume percentual de tecido não contrátil no terço proximal da musculatura flexora e extensora do joelho. Foi observado um aumento apenas no VM do membro parético quando comparado ao membro não parético ($p=0,03$; Fig. 2B).

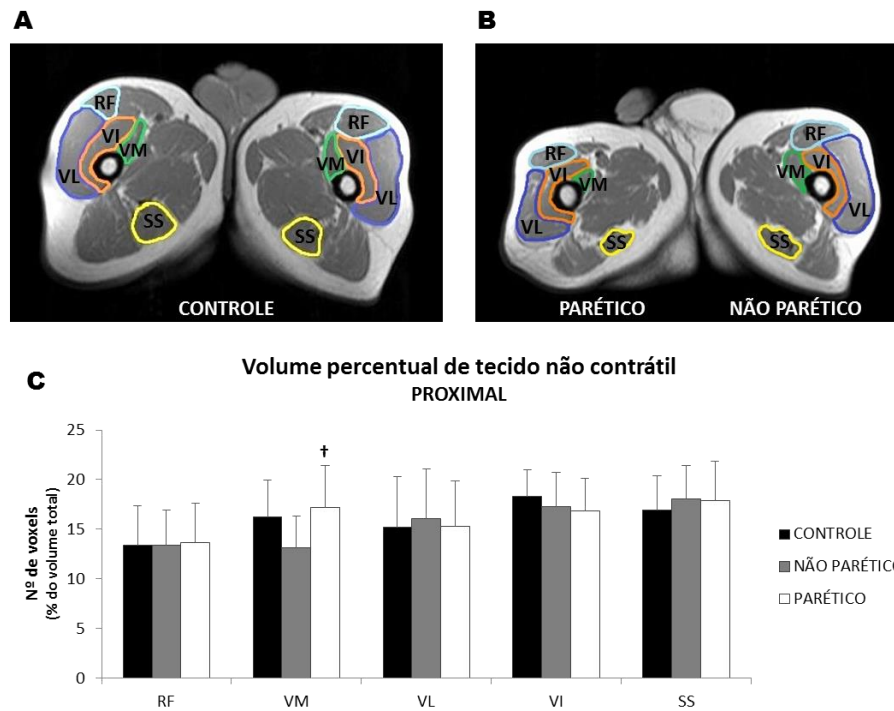


Figura 2. Volume percentual de tecido não contrátil do quadríceps e isquiotibiais no terço proximal da coxa. Figura representativa da RMN no grupo controle [A] e hemiparético [B]. Volume percentual de tecido não contrátil do terço proximal dos músculos RF, VM, VL, VI e SS [C]. † $p < 0,05$: parético versus não parético. Note que houve um aumento no volume percentual de tecido não contrátil no apenas no músculo VM do membro parético comparado ao membro não parético.

Distal

Em relação ao volume percentual de tecido não contrátil no terço distal da musculatura extensora e flexora do joelho (Figura 3), foi encontrado um aumento no VL do membro parético comparado ao membro não parético ($p=0,007$), assim como no SS do membro parético comparado ao membro controle ($p=0,027$; Fig. 3B).

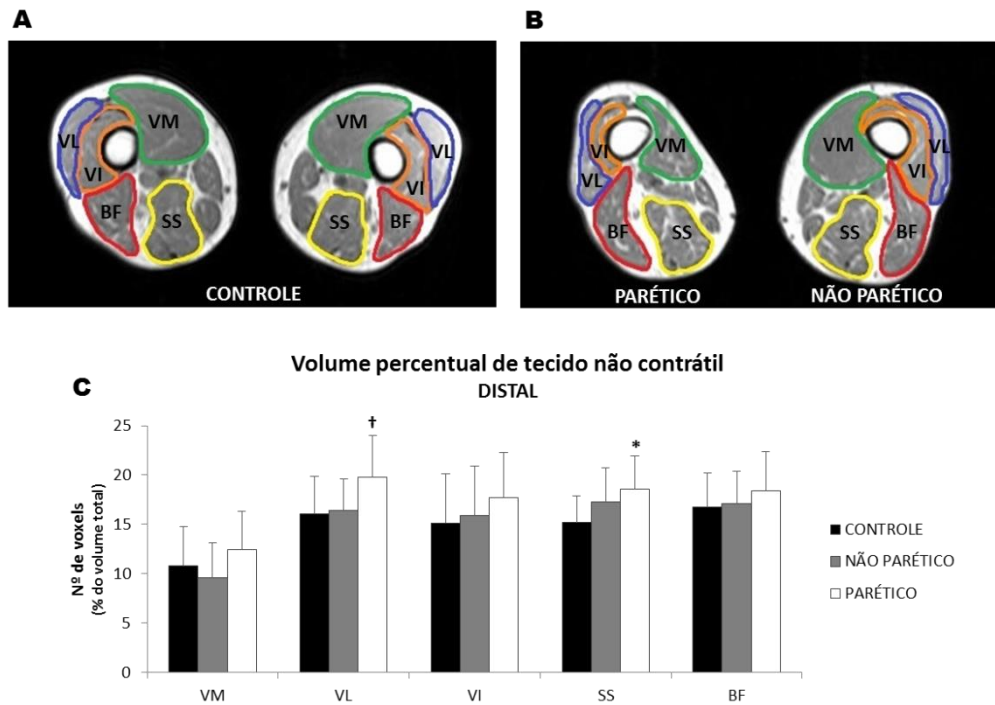


Figura 3. Volume percentual de tecido não contrátil do quadríceps e isquiotibiais no terço distal da coxa. Figura representativa da RMN no grupo controle [A] e hemiparético [B]. Volume percentual de tecido não contrátil do terço distal dos músculos VM, VL, VI, SS e BF [C]. * $p < 0,05$: parético versus controle. † $p < 0,05$: parético versus não parético. É possível observar um aumento no volume percentual de tecido não contrátil no músculo VL do membro parético comparado ao não parético, e do SS do membro parético comparado ao controle.

Concentração sérica de TGF- β 1 e miostatina

Não foram observadas diferenças nas concentrações séricas de TGF- β 1 e miostatina no grupo hemiparético comparado ao grupo controle ($p > 0,05$).

Atividade eletromiográfica

Na Tabela 1 do material suplementar estão indicadas as comparações do pico de torque e resistência ao alongamento passivo dos extensores e flexores de joelho entre os membros parético, não parético e controle, considerando a EMG como covariável. Os valores de p das covariáveis atividade muscular do BF e ST no intervalo de 30-40° e da covariável atividade muscular do ST no intervalo de 40-50° foram significativos para o pico de torque

flexor, sendo que a diferença entre membros é mantida. Em relação a torque extensor, os valores de p da covariável atividade muscular do VM no intervalo de 40-50° e das covariáveis atividade muscular do VM e VL no intervalo de 50-60° foram significativos para o pico de torque extensor. Além disso, o valor de p da covariável atividade muscular do VM no intervalo de 60-50° foi significativo para a resistência passiva extensora.

Torque passivo extensor

A Figura 4 representa as diferenças intra- e inter-grupos do pico de torque passivo dos extensores de joelho. Na comparação intra-grupo, foi observada diferença significativa no pico de torque extensor entre todos os intervalos de ADM nos membros controle e parético ($p=0,00$; Fig. 4A e C), sendo que o pico de torque aumenta ao longo da ADM. No membro não parético, não foi observada diferença apenas entre o intervalo de 30-40° e 40-50° ($p>0,05$; Fig. 4B). Entre todos os demais intervalos foi observada diferença no pico de torque extensor deste membro ($p=0,00$). Na comparação inter-grupos, isto é, entre os membros, não foi observada diferença, em todos os intervalos de ADM ($p>0,05$; Fig. 4D).

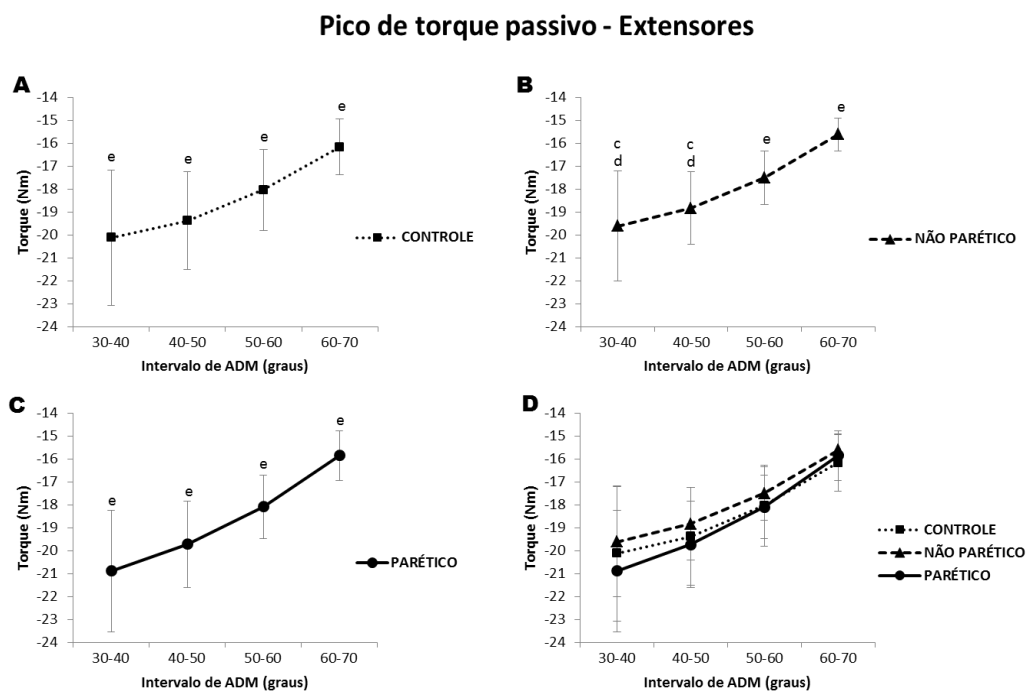


Figura 4. Pico de torque passivo dos extensores durante a flexão de joelho. Em A, B e C são apresentadas as diferenças intra-grupo (entre intervalos de ADM) do pico de torque passivo relativos ao membro controle, não parético e parético, respectivamente. A porção D da figura 4, representa o pico do torque passivo de todos os membros, evidenciando as diferenças inter-grupo. ^c $p<0,05$: comparado ao intervalo de 50-60°; ^d $p<0,05$: comparado ao intervalo de 60-70°; ^e $p<0,05$: comparado a todos os outros intervalos de ADM. Observe que houve um aumento no pico de torque com o aumento ADM nos membros parético, não parético e controle, mas não foram encontradas diferenças entre os membros.

Como é possível observar na Figura 5, embora não tenham sido encontradas diferenças entre os membros (inter-grupo) na resistência ao alongamento passivo dos extensores ($p>0,05$; Fig. 5D), na comparação intra-grupo foi possível observar que não houve diferença apenas entre os intervalos de 40-50° e 50-60° ($p>0,05$; Fig. 5A-C). Entre todos os demais intervalos foram observadas diferenças na resistência ao alongamento dos extensores, para todos os membros ($p=0,00$).

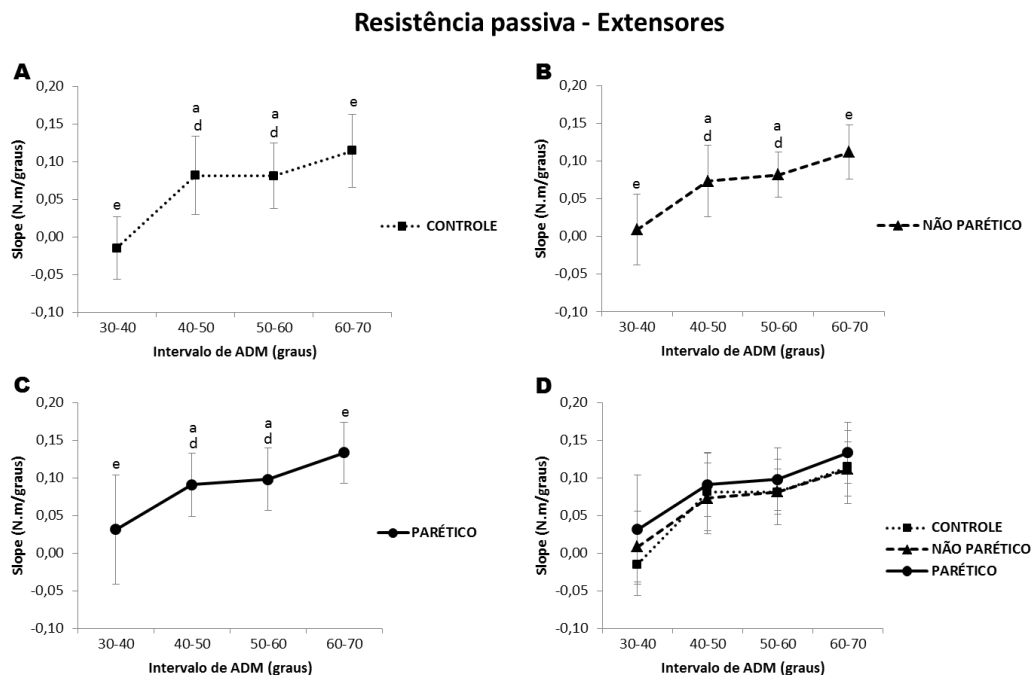


Figura 5. Resistência passiva dos extensores durante a flexão de joelho. Em A, B e C são apresentadas as diferenças intra-grupo (entre intervalos de ADM) da resistência passiva (*stiffness*) dos membros controle, não parético e parético, respectivamente. A porção D da figura 5, representa a resistência passiva de todos os membros, evidenciando as diferenças inter-grupo. ^a $p<0,05$: comparado ao intervalo de 30-40°; ^d $p<0,05$: comparado ao intervalo de 60-70°; ^e $p<0,05$: comparado a todos os outros intervalos de ADM. Observe que há um aumento da resistência ao alongamento passivo durante toda a ADM, sendo acentuado no final da ADM.

Torque passivo flexor

Em relação ao pico de torque passivo dos flexores, foram observadas diferenças intra- e inter-grupos, como demonstra a Figura 6. Todas as comparações intra-grupo, isto é, entre os intervalos de ADM, apresentaram diferenças significativas no membro parético, não parético

e controle ($p=0,00$; Fig. 6A-C), sendo que o pico de torque tende a aumentar ao longo da ADM. Na comparação inter-grupos, foi observado um pico de torque passivo reduzido no membro não parético comparado ao membro parético nos intervalos de ADM de $70-60^\circ$, $60-50^\circ$ e $50-40^\circ$ ($p=0,00$) e comparado ao controle nos intervalos de $70-60^\circ$, $60-50^\circ$ ($p=0,01$ e $p=0,03$, respectivamente; Fig. 6D).

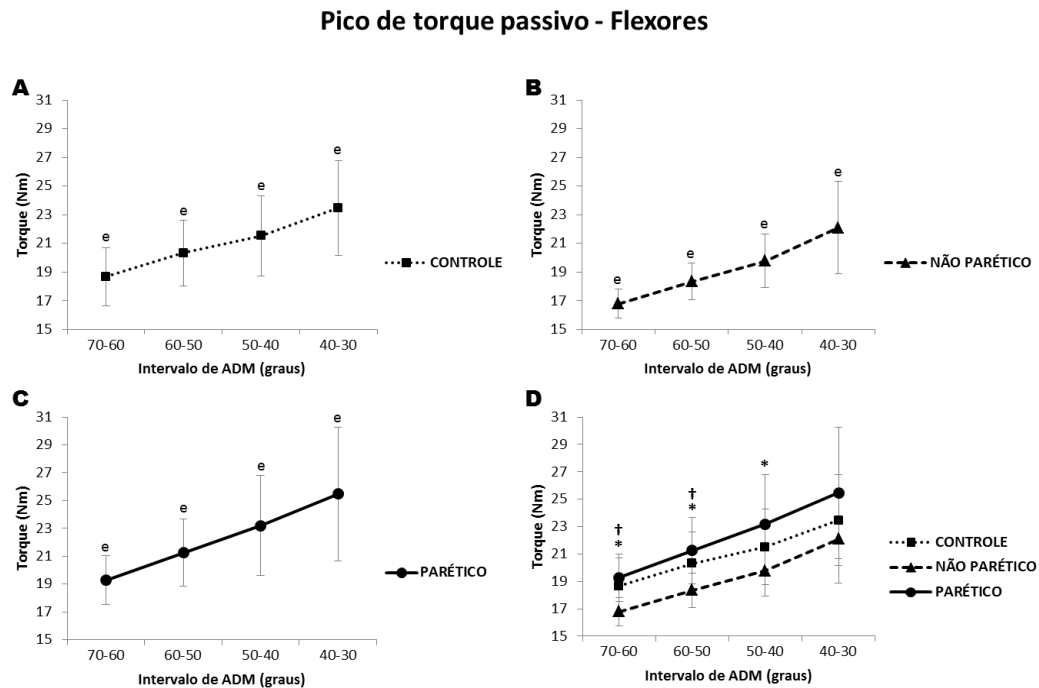


Figura 6. Pico de torque passivo dos flexores durante a extensão de joelho. Em A, B e C são apresentadas as diferenças intra-grupo (entre intervalos de ADM) do pico de torque passivo relativos ao membro controle, não parético e parético, respectivamente. A porção D da figura 6, representa o pico do torque passivo de todos os membros, evidenciando as diferenças inter-grupo. ^e $p < 0,05$: comparado a todos os outros intervalos de ADM. * $p < 0,05$: parético versus não parético. † $p < 0,05$: não parético versus controle. Note uma diminuição do pico de torque nas ADM iniciais do membro não parético comparado ao parético e controle.

A Figura 7 representa as comparações intra- e inter-grupos para a resistência ao alongamento passivo dos flexores do joelho. Nas comparações intra-grupos, isto é, entre os intervalos de ADM para cada membro, embora a resistência continue aumentando ao longo de toda a ADM no membro controle, este aumento é atenuado no intervalo de $50-40^\circ$ comparado a todos os outros intervalos ($p=0,00$). Este padrão não é seguido pelos membros parético e não parético, que mantêm um aumento da resistência neste intervalo semelhante ao intervalo

anterior (60-50°) e seguinte (40-30°). Por outro lado, seguindo o padrão do membro controle, apresentam um maior aumento da resistência na ADM inicial ($p < 0,05$; Fig. 7A-C). Na comparação inter-grupos, é possível observar uma maior resistência ao alongamento no membro parético comparado ao membro controle no intervalo de 50-40° ($p = 0,02$; Fig. 7D).

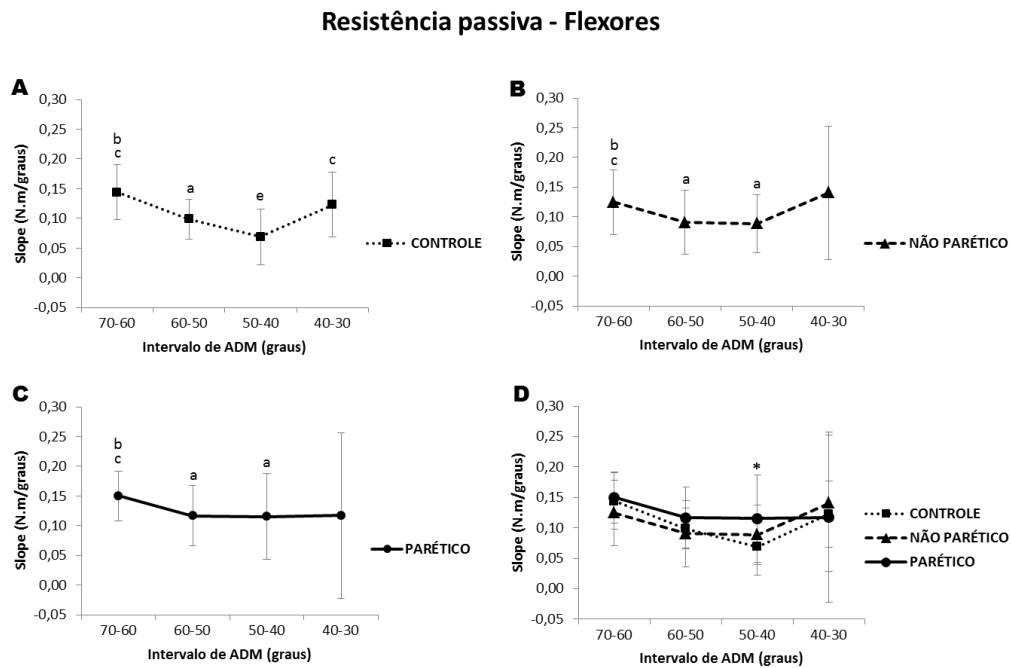


Figura 7. Resistência passiva dos flexores durante a extensão de joelho. Em A, B e C são apresentadas as diferenças intra-grupo (entre intervalos de ADM) da resistência passiva (*stiffness*) dos membros controle, não parético e parético, respectivamente. A porção D da figura 7, representa a resistência passiva de todos os membros, evidenciando as diferenças inter-grupo. ^a $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 70-60°; ^b $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 60-50°; ^c $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 50-40°; ^d $p < 0,05$: comparado ao intervalo de 40-30°; * $p < 0,05$: membro parético comparado ao membro controle. Observe uma maior resistência ao alongamento passivo do membro parético comparado ao controle no intervalo de 50-40°.

Correlação entre as variáveis

Houve correlação moderada apenas entre a concentração sérica de TGF- β 1 e o pico de torque flexor do membro parético, considerando-se a ADM completa ($p = 0,01$; $r = 0,736$).

DISCUSSÃO

Este foi o primeiro trabalho que investigou de forma conjunta a concentração sérica de biomarcadores relacionados à proliferação do tecido conjuntivo, o conteúdo de tecido não contrátil e a resistência do tecido muscular ao alongamento de músculos da coxa de sujeitos hemiparéticos crônicos. Além disso, apresentou cuidados metodológicos relevantes para a compreensão e esclarecimento sobre as respostas de músculos paréticos em decorrência de um AVC. Destacam-se, por exemplo, a inclusão de um grupo controle pareado; o uso de técnicas de imagem, como a MRI; e a inclusão da análise da atividade eletromiográfica como uma covariável no processamento dos dados de torque passivo e resistência, permitindo a interpretação da influência dos fatores intrínsecos da musculatura. Esta interpretação é possível pois as diferenças observadas entre os membros já consideram a interferência da ativação muscular, que é removida pelo modelo estatístico, como recomendado por Nuyens e colaboradores (2002)¹⁴.

Um estudo anterior realizado pelo nosso grupo, com os mesmos sujeitos desta pesquisa, avaliou fatores relacionados à fraqueza muscular pós-AVC¹⁷. Foram encontradas reduções do pico de torque, trabalho e potência dos músculos extensores e flexores do joelho no membro parético, em relação aos membros não parético e controle, durante contrações isocinéticas concêntricas e excêntricas. Além disso, foi observada uma atrofia muscular seletiva dos músculos VM e VI do quadríceps e dos músculos BF e SS no membro parético, comparado ao controle¹⁷. Assim, a interpretação dos achados do presente estudo deve ser feita de forma contextualizada considerando os resultados obtidos previamente.

Estudos sobre as alterações nas propriedades mecânicas da musculatura flexora e extensora de joelho de hemiparéticos crônicos são escassos^{14, 27}. Outros agrupam na amostra etiologias diversas, tais como AVC e paralisia cerebral, apresentando resultados que não podem ser generalizados²⁸. Portanto, estudos que abordam esta temática são necessários para o entendimento das propriedades mecânicas de músculos paréticos. No presente estudo, foi visto que músculos paréticos, extensores ou flexores do joelho, possuem um pico de torque passivo semelhante ao grupo controle, ao longo da ADM. Contudo, a forma com que este torque se altera ao longo da ADM é diferente entre músculos paréticos e controle durante a extensão do joelho. No intervalo entre 50-40° há uma manutenção da resistência passiva dos flexores em comparação ao grupo controle. Esta alteração pode ser interpretada como uma manutenção da linearidade do aumento da resistência muscular ao longo da ADM.

Estas alterações sutis na resistência ao alongamento passivo, com ausência de alterações no pico de torque passivo no membro parético comparado ao controle, refutam a hipótese inicial do estudo no que tange as variáveis do torque passivo. No entanto, é necessário ressaltar que a população investigada no presente estudo, de forma geral, apresenta um bom nível de funcionalidade e pouca espasticidade, devendo ser considerada para a interpretação dos resultados. Um estudo recente avaliou a amplitude de movimento e resistência ao alongamento de músculos biarticulares do membro inferior, como o RF, de sujeitos hemiparéticos deambuladores comunitários²⁹. Foi visto que a ADM e a resistência passiva do membro parético apresentavam um padrão semelhante ao membro não parético e controle. Segundo os autores, ainda não está claro o motivo pelo qual a ADM nesta subpopulação é mantida, mas sugere que deve estar relacionada ao nível de atividade física, exposição ao exercício e a programas de reabilitação que podem levar a alterações nas propriedades intrínsecas musculares.

Um aspecto interessante do presente estudo é que, embora os níveis séricos de TGF- β 1 e miostatina não estejam elevados nesta população de indivíduos hemiparéticos crônicos, foram observadas alterações do tecido não contrátil nos músculos VM, VL e SS dos membros paréticos. Tais achados atendem à hipótese inicial do estudo no que se refere às modificações no conteúdo de tecido não contrátil no membro parético. Considerando que tais músculos apresentaram atrofia¹⁷ e que o pico de torque passivo e a resistência ao alongamento dos membros paréticos são semelhantes ao controle, é possível hipotetizar que o aumento do tecido não contrátil em músculos paréticos parece ser uma estratégia adaptativa importante para a manutenção do torque em níveis normais.

Smith e colaboradores (2011)⁵ mostraram que músculos paréticos espásticos possuem aumento de colágeno do tipo I no endomísio e no perimísio, aumentando a tensão gerada pelo feixe muscular durante o alongamento em crianças com paralisia cerebral. De forma semelhante, estudos futuros sobre a caracterização deste tecido não contrátil em indivíduos pós-AVC, por exemplo, com biópsias musculares, seriam necessários para a descrição dos componentes da matriz extracelular e sua contribuição para a resistência tecidual ao alongamento.

Além disso, a quantificação das concentrações locais, ou seja, no próprio tecido muscular, de biomarcadores relacionados a proliferação de tecido conjuntivo se faz necessária para melhor entendimento de possíveis vias que estariam levando às alterações observadas. Por exemplo, um estudo recente³⁰ mostrou um aumento de 40% na expressão gênica de

miostatina no membro parético comparado ao não parético, avaliada localmente por meio de biópsia do músculo vasto lateral, também em indivíduos hemiparéticos crônicos. Dessa forma, é possível hipotetizar que as alterações no volume percentual de tecido não contrátil observadas na população estudada podem não estar associadas a modificações nos níveis séricos dos biomarcadores avaliados, mas apenas localmente (no músculo), embora mais estudos sejam necessários para comprovar esta hipótese.

Ainda, estudos que avaliem os níveis locais e sistêmicos destes biomarcadores em indivíduos hemiparéticos com diferentes níveis de funcionalidade, fases pós-AVC e grau de espasticidade trariam subsídios para o esclarecimento do papel destes fatores nos processos de adaptação muscular pós-AVC. Estudos neste âmbito trariam embasamento também para as lacunas remanescentes nas relações de causa e efeito envolvendo biomarcadores séricos, conteúdo de tecido não contrátil e resistência ao alongamento passivo. A correlação moderada observada entre a concentração sérica de TGF- β 1 e o pico de torque flexor do membro parético, reforçam que, embora nesta população não existam diferenças entre o membro parético e controle para estas variáveis, não se pode excluir a existência de relação entre fatores sistêmicos e alterações na composição da musculatura parética. A ausência de outras correlações ressalta a ideia de que os resultados obtidos no presente estudo não permitem a realização de inferências de causa-efeito, mas, por outro lado, trazem subsídios relevantes para a caracterização do tecido muscular e da resistência ao alongamento passivo em indivíduos hemiparéticos crônicos.

Outro aspecto importante deste estudo refere-se ao pico de torque passivo observado durante o alongamento dos músculos flexores do joelho no membro não parético. De forma geral, a magnitude de torque apresentou-se reduzida no membro não parético comparado ao parético e controle. Esta alteração pode estar relacionada à sobrecarga que este membro passa a ter para compensar o déficit do membro parético. Por exemplo, o membro não parético apresenta uma maior duração da fase de apoio na marcha, o que requer uma reorganização dos padrões de coordenação muscular para promover a estabilidade³¹. Assim, é possível hipotetizar que estas estratégias compensatórias estejam contribuindo para as modificações musculares a nível molecular, como alterações no tipo de colágeno, na isoforma de titina, organização do colágeno, entre outras.

Os achados do presente estudo possuem implicações clínicas diretas. Músculos paréticos extensores e flexores do joelho, considerando as características da população investigada, não apresentam maior resistência ao alongamento que indivíduos saudáveis,

indicando que talvez este não seja um problema clínico relevante para indivíduos com hemiparesia crônica. Assim, recomendações para programas de reabilitação do membro parético deveriam contemplar intervenções voltadas para a melhora dos déficits neuromusculares²⁹, como treinos de força, equilíbrio e coordenação, dentro de contextos tarefa-específica, ao invés de se priorizar somente o alongamento. Indivíduos hemiparéticos crônicos com bons níveis de funcionalidade e baixos de espasticidade podem ser os mais beneficiados com estas recomendações. Contudo, estudos controlados e randomizados verificando o efeito do alongamento muscular, em diferentes fases pós-AVC e com distintos níveis de espasticidade, precisam ser realizados para confirmar estas hipóteses.

Limitações do estudo e desdobramentos futuros

O presente estudo possui algumas limitações. A realização do teste passivo em posição sentada pode interferir na resistência ao alongamento dos extensores do joelho. Outra limitação refere-se à avaliação de apenas uma velocidade imposta durante a realização do teste passivo, já que a análise da resistência ao alongamento realizado em outras velocidades poderiam trazer mais informações a respeito das adaptações musculares velocidade-dependentes.

Ainda, a população investigada neste estudo apresentou baixos níveis de espasticidade e alto grau de funcionalidade. Portanto, os resultados obtidos não devem ser generalizados para populações com características distintas. Além disso, a alta variabilidade no tempo pós-AVC observado na amostra, embora todos os indivíduos já estivessem em fase crônica, pode ter influenciado na ausência de diferenças nas concentrações séricas dos biomarcadores avaliados nestes indivíduos quando comparado a indivíduos saudáveis.

No que se refere ao exame realizado de MRI, existem limitações em relação à distinção de diferentes tecidos não contráteis, como gordura e tecido conjuntivo. Parte desta limitação pode ser minimizada com a combinação de técnicas de MRI que permitem a separação, por exemplo, do sinal proveniente da gordura. Isso, entretanto, demanda aquisições mais longas e, particularmente, em baixo campo, se apresenta como uma restrição. Outra característica importante que pode ser listada como limitação está associada a resolução espacial das imagens obtidas. Para garantir uma boa relação sinal ruído considerando um tempo de exame compatível com os pacientes do projeto, as imagens utilizadas na análise foram adquiridas com uma resolução espacial de aproximadamente $1.5 \times 1.5 \times 9.0 \text{ mm}^3$. Esse tipo de limitação pode ser minimizado com a utilização de equipamentos de mais alto campo,

nos quais a relação sinal ruído por unidade de tempo é intrinsecamente maior e pode ser utilizada em favor de uma maior resolução espacial.

Futuros estudos deveriam investigar a resistência ao alongamento passivo e volume percentual de tecido não contrátil em outras populações, com diferentes níveis de funcionalidade e espasticidade em diferentes fases pós-AVC. Além disso, outras estruturas que também podem interferir na resistência passiva, como o tendão, a cápsula articular e a pele também deveriam ser consideradas. Pesquisadores deveriam considerar o uso de biópsias musculares para a descrição da composição molecular e a tensão dos componentes musculares.

CONCLUSÃO

Em conclusão, indivíduos hemiparéticos crônicos não apresentam alterações nas concentrações séricas de TGF- β 1 e miostatina comparados a indivíduos saudáveis. Além disso, músculos paréticos, extensores e flexores do joelho, apesar de possuírem aumento de tecido não contrátil, resistem ao alongamento passivo de forma semelhante a músculos de indivíduos saudáveis. Músculos flexores do joelho do membro não parético apresentam menor resistência passiva ao alongamento comparado a indivíduos saudáveis, sem alterações no conteúdo não contrátil. Tais achados trazem embasamento para o delineamento de programas de reabilitação na população de hemiparéticos crônicos com bons níveis de funcionalidade e baixos níveis de espasticidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gerrits KH, Beltman MJ, Koppe PA, Konijnenbelt H, Elich PD, de Haan A, et al. Isometric muscle function of knee extensors and the relation with functional performance in patients with stroke. *Arch Phys Med Rehabil* 2009;90:480-7.
2. Neckel N, Pelliccio M, Nichols D, Hidler J. Quantification of functional weakness and abnormal synergy patterns in the lower limb of individuals with chronic stroke. *J Neuroeng Rehabil* 2006;3:17.
3. Gracies JM. Pathophysiology of spastic paresis. I: Paresis and soft tissue changes. *Muscle Nerve* 2005;31:535-51.
4. Lieber RL, Steinman S, Barash IA, Chambers H. Structural and functional changes in spastic skeletal muscle. *Muscle Nerve* 2004;29:615-27.
5. Smith LR, Lee KS, Ward SR, Chambers HG, Lieber RL. Hamstring contractures in children with spastic cerebral palsy result from a stiffer extracellular matrix and increased in vivo sarcomere length. *J Physiol* 2011;589:2625-39.
6. Ramsay JW, Barrance PJ, Buchanan TS, Higginson JS. Paretic muscle atrophy and non-contractile tissue content in individual muscles of the post-stroke lower extremity. *J Biomech* 2011;44:2741-6.
7. Singer B, Dunne J, Singer KP, Allison G. Evaluation of triceps surae muscle length and resistance to passive lengthening in patients with acquired brain injury. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2002;17:152-61.
8. Gray V, Rice CL, Garland SJ. Factors that influence muscle weakness following stroke and their clinical implications: A critical review. *Physiother Can* 2012;64:415-26.
9. Chung SG, Van Rey E, Bai Z, Roth EJ, Zhang LQ. Biomechanic changes in passive properties of hemiplegic ankles with spastic hypertonia. *Arch Phys Med Rehabil* 2004;85:1638-46.
10. Ploutz-Snyder LL, Clark BC, Logan L, Turk M. Evaluation of spastic muscle in stroke survivors using magnetic resonance imaging and resistance to passive motion. *Arch Phys Med Rehabil* 2006;87:1636-42.
11. Gao F, Grant TH, Roth EJ, Zhang LQ. Changes in passive mechanical properties of the gastrocnemius muscle at the muscle fascicle and joint levels in stroke survivors. *Arch Phys Med Rehabil* 2009;90:819-26.
12. Kwah LK, Herbert RD, Harvey LA, Diong J, Clarke JL, Martin JH, et al. Passive mechanical properties of gastrocnemius muscles of people with ankle contracture after stroke. *Arch Phys Med Rehabil* 2012;93:1185-90.
13. Whittington B, Silder A, Heiderscheit B, Thelen DG. The contribution of passive-elastic mechanisms to lower extremity joint kinetics during human walking. *Gait Posture* 2008;27:628-34.
14. Nuyens GE, De Weerd WJ, Spaepen AJ, Jr., Kiekens C, Feys HM. Reduction of spastic hypertonia during repeated passive knee movements in stroke patients. *Arch Phys Med Rehabil* 2002;83:930-5.
15. Burks TN, Cohn RD. Role of tgf-beta signaling in inherited and acquired myopathies. *Skelet Muscle* 2011;1:19.
16. Booth FW, Lees SJ. Physically active subjects should be the control group. *Medicine Science Sports and Exercises* 2006:405-06.
17. Silva-Couto MA. Concentrações séricas diminuídas de IGF-I e IGFBP-3, atrofia muscular e alterações no desempenho neuromuscular contribuem para a fraqueza muscular em indivíduos hemiparéticos crônicos. Dissertação (Mestrado), Departamento de Fisioterapia. 2013:60 f.

18. Bohannon RW, Smith MB. Interrater reliability of a modified ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther* 1987;67:206-7.
19. Wade DT. *Measurement in neurological rehabilitation*. 1992.
20. Florindo AA, Latorre MRDO. Validation and reliability of the baecke questionnaire for evaluation of habitual physical activity in adult men. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 2003;9:129-35.
21. Baecke JA, Burema J, Frijters JE. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *Am J Clin Nutr* 1982;36:936-42.
22. Castello V, Simoes RP, Bassi D, Catai AM, Arena R, Borghi-Silva A. Impact of aerobic exercise training on heart rate variability and functional capacity in obese women after gastric bypass surgery. *Obes Surg* 2011;21:1739-49.
23. Freiburger E, Sieber C, Pfeifer K. Physical activity, exercise, and sarcopenia - future challenges. *Wien Med Wochenschr* 2011;161:416-25.
24. Bogdanis GC. Effects of physical activity and inactivity on muscle fatigue. *Front Physiol* 2012;3:142.
25. Brucki SM, Nitrini R, Caramelli P, Bertolucci PH, Okamoto IH. Suggestions for utilization of the mini-mental state examination in brazil. *Arq Neuropsiquiatr* 2003;61:777-81.
26. Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics* 1979;9:62-66.
27. Davies JM, Mayston MJ, Newham DJ. Electrical and mechanical output of the knee muscles during isometric and isokinetic activity in stroke and healthy adults. *Disabil Rehabil* 1996;18:83-90.
28. Lebedowska MK, Fisk JR. Knee resistance during passive stretch in patients with hypertonia. *J Neurosci Methods* 2009;179:323-30.
29. Schindler-Ivens S, Desimone D, Grubich S, Kelley C, Sanghvi N, Brown DA. Lower extremity passive range of motion in community-ambulating stroke survivors. *J Neurol Phys Ther* 2008;32:21-31.
30. Ryan AS, Ivey FM, Prior S, Li G, Hafer-Macko C. Skeletal muscle hypertrophy and muscle myostatin reduction after resistive training in stroke survivors. *Stroke* 2011;42:416-20.
31. Higginson JS, Zajac FE, Neptune RR, Kautz SA, Delp SL. Muscle contributions to support during gait in an individual with post-stroke hemiparesis. *J Biomech* 2006;39:1769-77.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1. Comparação do pico de torque e resistência ao alongamento passivo dos extensores e flexores de joelho entre os membros parético, não parético e controle, considerando EMG como covariável. † $p < 0,05$: covariável interfere na comparação entre membros; * $p < 0,05$: diferença entre grupos.

	TORQUE FLEXOR				TORQUE EXTENSOR			
	ADM (graus)	EMG BF (P valor)	EMG ST (P valor)	Diferença Entre Membros (P valor)	EMG RF (P valor)	EMG VM (P valor)	EMG VL (P valor)	Diferença Entre Membros (P valor)
PICO DE TORQUE (Nm)	30-40	0,011 †	0,016 †	0,001 *	0,231	0,138	0,658	0,371
	40-50	0,055	0,015 †	0,001 *	0,063	0,016 †	0,467	0,453
	50-60	0,220	0,116	0,006 *	0,328	0,021 †	0,002 †	0,425
	60-70	0,723	0,814	0,560	0,100	0,227	0,599	0,387
RESISTÊNCIA PASSIVA (N.m/graus)	70-60	0,399	0,094	0,457	0,188	0,387	0,706	0,062
	60-50	0,952	0,384	0,195	0,250	0,006 †	0,074	0,623
	50-40	0,575	0,399	0,024 *	0,053	0,338	0,303	0,669
	40-30	0,555	0,607	0,672	0,120	0,884	0,704	0,603

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO PERÍODO

Em outubro de 2012, participei do Congresso Internacional de AVC (8º World Stroke Congress – Brasília). Os resultados parciais do estudo do nosso grupo de pesquisa deram origem a dois resumos apresentados neste congresso como pôster: “*Evaluation of tonus, density of connective tissue and passive torque peak of extensors and flexors of knee in chronic hemiparetics*” (Alcântara, C.C.; Silva-Couto, M.A; Takahashi, C.; Maeda, C.; Prado-Medeiros, C.L.; Salvini, T.F.; Russo, T.L.) e “*Correlation between isokinetics performance of knee extensors and flexors muscles with functionality in chronic hemiparetics subjects*” (Silva-Couto, M.A; Alcântara, C.C.; Prado-Medeiros, C.L.; Rezende, M.A.; Takahashi, C.; Guimarães, A.; Mattioli, R.; Salvini, T.F.; Russo, T.L.).

No início de 2013 foram publicados dois artigos: (1) “*Effect of the tibiotarasic joint inflammation on gene expression and cross-sectional area in soleus rat muscle*”, na Revista Brasileira de Fisioterapia, v.17, n.3, p.244-54, 2013 (Carolina Ramirez, Thiago L. Russo, Gabriel Delfino, Sabrina M. Peviani, **Carolina C. Alcântara** e Tania F. Salvini) (Apêndice III); (2) “*Effect of low-level laser therapy (LLLT) on acute neural recovery and inflammation-related gene expression after crush injury in rat sciatic nerve*”, na Laser in Surgery and Medicine, v.45, n.4, p.246-52, 2013 (**Carolina C. Alcântara**; Davilene Gigo-Benato, Tania F. Salvini, Alexandre R.L. Oliveira, Juanita J. Anders, Thiago L. Russo) (Apêndice IV). Ambos resultaram de projetos desenvolvidos em iniciações científicas realizadas nos anos anteriores no Laboratório de Plasticidade Muscular, Departamento de Fisioterapia, UFSCar.

No decorrer do mestrado, participei como co-orientadora do trabalho de graduação e iniciação científica das alunas: Amanda Marcondes de Oliveira (Título: “*Correlação entre o conteúdo de tecido não contrátil e os níveis séricos de TGF- β e a resistência ao alongamento de músculos hemiparéticos crônicos*”) e Thaianne Silva da Mata (Título: “*Correlação entre o conteúdo de tecido não contrátil, as concentrações séricas de miostatina e a funcionalidade de hemiparéticos crônicos*”).

Além disso, simultaneamente a realização do meu projeto de mestrado, participei de outros projetos desenvolvidos por nosso grupo de pesquisa, vinculados a esta linha de pesquisa, intitulados: “*Efeitos do fortalecimento excêntrico no volume muscular e no desempenho de flexores e extensores do joelho de hemiparéticos crônicos*”, desenvolvido pela pós-doutoranda Christiane L. Prado-Medeiros, e “*Correlação entre os níveis séricos de IGF-1 e IGFBP-3 com o desempenho e o volume muscular em indivíduos hemiparéticos crônicos*”, desenvolvido pela mestrandia Marcela A. Silva-Couto. Este último projeto, deu origem a um

manuscrito, atualmente em revisão na revista *Physical Therapy*, em que sou coautora. Este artigo foi intitulado “*Muscle atrophy, voluntary activation disturbances and low concentrations of IGF-1 and IGFBP-3 are associated with weakness in chronic, post-stroke subjects*”.

Participo também como colaboradora voluntária de um projeto de extensão (PROEXT) aprovado em 2012, intitulado: “*Cuidado aos usuários com afecções neurológicas no município de São Carlos: uma perspectiva de linha de cuidado vinculada ao SUS*”, UFSCar.

APÊNDICE I



Universidade Federal de São Carlos
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS
Departamento de Fisioterapia

TERMO DE CONSETIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1. Você está sendo convidado para participar da pesquisa: “EFEITOS DO TREINAMENTO DE FORTALECIMENTO SOBRE A ADAPTAÇÃO NEUROMUSCULAR EM INDIVÍDUOS HEMIPARÉTICOS CRÔNICOS: UMA PERSPECTIVA SOBRE BIOMARCADORES MOLECULARES”
2. Você foi selecionado por meio da lista de inscrição da Unidade Saúde Escola da Universidade Federal de São Carlos ou da comunidade local e sua participação não é obrigatória.
3. O objetivo deste estudo é avaliar o efeito do fortalecimento muscular de flexores e extensores de joelho de indivíduos hemiparéticos crônicos e saudáveis (controle) sobre os níveis séricos de biomarcadores do controle da massa muscular, bem como a funcionalidade e volume, composição e força musculares.
4. Sua participação nesta pesquisa consistirá em: 1) Avaliação por meio de uma ficha aplicada por um fisioterapeuta capacitado; 2) Avaliação da função do seu membro inferior por meio de escalas de funcionalidade; 3) Realização de dois exames de Ressonância Nuclear Magnética para medir a massa muscular da coxa antes e após o tratamento; 4) Realização de testes de força em Dinamômetro Isocinético para os movimentos do joelho; 5) Realização de 4 coletas de sangue (pré e pós treinamento, e 2 intermediárias – após 4 e 8 semana de treinamento) de 10 ml que correspondem a um tubinho pequeno; 6) Participar de um programa de fortalecimento dos músculos da coxa, em dinamômetro isocinético, durante 12 semanas.
5. Este estudo está firmado nas condições de que oferece baixo risco à saúde do participante. Durante a realização do exame de Ressonância Nuclear Magnética é possível que se sinta desconfortável por ter que permanecer imóvel durante a aquisição das imagens da coxa. Após a realização dos testes de força é possível que sinta desconforto pelo esforço. Durante o período de tratamento (programa de fortalecimento muscular) é possível que venha a apresentar alguma dor muscular decorrente da adaptação ao exercício. As complicações da coleta de sangue são raras e de pequeno porte, e envolvem pequena perda de sangue da veia local da punção caracterizada por pequeno desconforto e região levemente vermelha ou roxa que desaparece em poucos dias. Vale destacar que a equipe envolvida no estudo prestará qualquer apoio necessário e que os profissionais envolvidos nas avaliações são capacitados para tais. Além disso, as avaliações somente serão realizadas mediante a condição física e psicossocial avaliada por profissional da área de saúde e comprovado por meio de resultados de exames médicos.
6. Por outro lado, o presente estudo traz benefícios: sua contribuição para a comunidade científica, auxiliando na reabilitação de sujeitos após um acidente vascular encefálico

(derrame) e os ganhos de força e massa muscular da coxa, que serão adquiridos com o tratamento, e que ajudam na melhora da capacidade em realizar as atividades de vida diária (caminhar, subir e descer escadas, sentar e levantar, equilíbrio) podendo também prevenir quedas. Além disso, este estudo possibilita o acesso à avaliação minuciosa e de alto custo e tecnologia. Será oferecido material educativo com objetivo de promover alterações na qualidade de vida através de incentivo à prevenção do AVE. Serão oferecidas orientações realizadas referentes ao cuidado do paciente neurológico.

7. O exame de Ressonância Nuclear Magnética não poderá ser realizado se: fizer uso de marca-passo cardíaco, tendo em vista a interferência do campo magnético no funcionamento do mesmo; apresentar algum tipo de peça ou implantes metálicos no corpo, podendo estes, virem a se deformar ou a se deslocar de seu local de origem, e; em sendo mulher, se grávida ou amamentando. O teste de força e o programa de fortalecimento não poderão ser realizados se: a) apresentar quadro de hipertensão arterial ("pressão alta") não controlado e sendo mulher, estando grávida ou amamentando.
8. Você será cuidadosamente monitorado quanto à frequência cardíaca e a pressão arterial. Caso algum procedimento promova dor ou desestabilização dos sinais vitais (hipertensão arterial e batimentos cardíacos) será interrompido. Se necessário será encaminhado para uma unidade de saúde mais próxima.
9. Não há métodos alternativos envolvidos nesse estudo.
10. A pesquisa será realizada por fisioterapeutas formados, experientes e capacitados. Quaisquer dúvidas que você tenha, você poderá acessar os dados da pesquisa e dos pesquisadores com os próprios pesquisadores, cujos contatos estão ao final deste documento e também no comitê de ética em pesquisa em seres humanos desta instituição.
11. Você será esclarecido sobre todos os procedimentos envolvidos na sua participação no estudo, antes e durante o curso da pesquisa. Você receberá explicações e instruções para a execução dos testes de função do membro inferior, dos testes de força e sobre os procedimentos para aquisição da Ressonância e coleta de sangue. Você também será esclarecido quanto a sua participação no grupo de sujeitos que tiveram "derrame" ou no grupo controle (para os que não tiveram "derrame").
12. Você tem a liberdade em se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.
 - a. "A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento."
 - b. "Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição."
13. Garantimos o sigilo que assegure a sua privacidade quanto aos dados envolvidos na pesquisa. Todos os dados da pesquisa serão acessíveis apenas para os pesquisadores colaboradores do estudo. A divulgação na comunidade científica será realizada de forma que não seja divulgada a identidade dos participantes.
 - a. "As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação."
 - b. "Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação."
14. Não haverá quaisquer gastos dos sujeitos do estudo com esta pesquisa.

15. O transporte dos sujeitos da pesquisa até o local de coleta e treinamento poderá ser realizado pelos membros deste grupo de pesquisa, sem custo adicional, caso o sujeito relate necessidade e/ou interesse.
16. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Carolina Carmona de Alcântara
Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Neurológica (LaFiN)
Departamento de Fisioterapia
Universidade Federal de São Carlos
Rodovia Washington Luís, km 235, Monjolinho, São Carlos, SP, CP:13.565-905
Telefones para contato: 16 33518345 (LaFiN) / 16 88058440 (Celular)
Pesquisadores responsáveis: Prof.: Thiago Luiz Russo e Carolina Carmona de Alcântara

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

O pesquisador me informou que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UFSCar que funciona na Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos, localizada na Rodovia Washington Luiz, Km. 235 - Caixa Postal 676 - CEP 13.565-905 - São Carlos - SP – Brasil. Fone (16) 3351-8028. Endereço eletrônico: cephumanos@power.ufscar.br

São Carlos, _____ de _____ de 20____.

Nome e assinatura do sujeito da pesquisa

APÊNDICE II

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: EFEITOS DO TREINAMENTO DE FORTALECIMENTO SOBRE A ADAPTAÇÃO NEUROMUSCULAR EM INDIVÍDUOS HEMIPARÉTICOS CRÔNICOS: UMA PERSPECTIVA SOBRE BIOMARCADORES MOLECULARES

Pesquisador: Carolina Carmona de Alcântara

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 13885613.8.0000.5504

Instituição Proponente: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 344.633

Data da Relatoria: 13/08/2013

Apresentação do Projeto:

O Acidente Vascular Encefálico (AVE) é a causa mais comum de incapacidade física crônica em adultos. Um dos principais sintomas relacionados com a diminuição da funcionalidade é a fraqueza muscular (paresia). Compreender os mecanismos moleculares que atuam sobre o ganho de força em indivíduos pós-AVE são relevantes para a recomendação de exercícios de força durante o programa de reabilitação. O objetivo do presente projeto será avaliar o efeito do fortalecimento muscular de flexores e extensores de joelho sobre a concentração de biomarcadores séricos relacionados à hipertrofia (IGF-1, IGFBP-3), proliferação de tecido conjuntivo (TGF- β) e aprendizagem (BDNF), bem como sobre as modificações neuromusculares (volume, conteúdo de tecido não contrátil e força musculares) e funcionais em indivíduos hemiparéticos crônicos. Vinte e oito sujeitos (14 hemiparéticos e 14 saudáveis) participarão do estudo. O treinamento excêntrico será realizado bilateralmente em dinamômetro isocinético, 3 vezes por semana, durante 12 semanas para a indução do ganho de força. Para análise do volume muscular e densidade de tecido

não contrátil, será utilizada Ressonância Nuclear Magnética (RNM). A força muscular será avaliada pelo pico de torque isocinético (concêntrico e excêntrico) e isométrico. Já as concentrações séricas dos biomarcadores serão analisados pelo método de ELISA. A funcionalidade será avaliada pela

Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235

Bairro: JARDIM GUANABARA

UF: SP

Município: SÃO CARLOS

Telefone: (16)3351-9683

CEP: 13.565-905

E-mail: cephumanos@ufscar.br

Continuação do Parecer: 344.633

escala de Berg, o teste de caminhada de 10 metros e o Timed Up and Go (TUG). As avaliações serão realizadas nos músculos extensores e flexores do joelho em quatro momentos: Avaliação Inicial (pré-treinamento); e Avaliações 2, 3 e 4 após 4, 8 e 12 semanas de treinamento, respectivamente. Para a análise estatística, serão aplicados os testes de normalidade (teste de Shapiro Wilk) e homogeneidade (teste de Levene). Se as variáveis tiverem uma distribuição considerada normal e homogênea, serão aplicados os testes paramétricos para avaliação dos resultados (Anova two way). Caso contrário, será aplicada a estatística não-paramétrica (Kruskal-Wallis). Será considerado um nível de significância de 0,05 para todos os testes estatísticos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito do treinamento excêntrico da musculatura flexora e extensora de joelho de indivíduos hemiparéticos crônicos e saudáveis sobre: -Níveis séricos de BDNF, IGF-1, IGFBP-3 e TGF- β ; - Volume muscular e densidade do tecido não contrátil da musculatura extensora e flexora do joelho; - Picos de torque isométrico, isocinético concêntrico e excêntrico dos músculos extensores e flexores do joelho; e - A velocidade da marcha, mobilidade e equilíbrio.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O pesquisador faz uma análise adequada dos riscos e benefícios e os apresenta aos sujeitos da pesquisa por meio do TCLE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de pesquisa relevante para a área em questão.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Vide conclusões.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto considerado aprovado. Ressalta-se que a coleta de dados só poderá ser iniciada após o parecer de aprovação deste CEP, inclusive o teste piloto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235

Bairro: JARDIM GUANABARA

UF: SP

Município: SAO CARLOS

Telefone: (16)3351-9683

CEP: 13.565-905

E-mail: cephumanos@ufscar.br

Continuação do Parecer: 344.633

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SAO CARLOS, 30 de Julho de 2013

**Assinador por: Maria
Isabel Ruiz Beretta
(Coordenador)**

Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235

Bairro: JARDIM GUANABARA

UF: SP

Município: SAO CARLOS

CEP: 13.565-905

APÊNDICE III

Effect of Low-Level Laser Therapy (LLLT) on Acute Neural Recovery and Inflammation-Related Gene Expression After Crush Injury in Rat Sciatic Nerve

Carolina C. Alcântara, MD,¹ Davilene Gigo-Benato, PhD,^{1,2} Tania F. Salvini, PhD,² Alexandre L. R. Oliveira, PhD,³ Juanita J. Anders, PhD,⁴ and Thiago L. Russo, PhD¹

¹Laboratory of Neurological Physiotherapy Research, Physical Therapy Department, Federal University of São Carlos (UFSCar), São Carlos 13565-905, SP, Brazil

²Skeletal Muscle Plasticity Unit, Physical Therapy Department, Federal University of São Carlos (UFSCar), São Carlos 13565-905, SP, Brazil

³Department of Anatomy, Cell Biology, Physiology and Biophysics-Institute of Biology, University of Campinas (UNICAMP), Campinas 13083-865, SP, Brazil

⁴Department of Anatomy, Physiology and Genetics, Uniformed Services University of the Health Sciences, Bethesda, Maryland 20814

Background and Objectives: Peripheral nerve function can be debilitated by different kinds of injury. Low-level laser therapy (LLLT) has been used successfully during rehabilitation to stimulate recovery. The aim of this study was to evaluate the effects of LLLT (660 nm, 60 J/cm², 40 mW/cm²) on acute sciatic nerve injury.

Materials and Methods: Thirty Wistar male rats were divided into three groups: (1) Normal, intact nerves; (2) I3d, crushed nerves evaluated on Day-3 post-injury; (3) I þ L3d, crushed nerves submitted to two sessions of LLLT and investigated at 3 days post-injury. Sciatic nerves were removed and processed for gene expression analysis (real-time PCR) of the pro-inflammatory factors TWEAK, Fn14 and TNF- α and extracellular matrix remodeling and axonal growth markers, such as TIMP-1, MMP-2, and MMP-9. Zymography was used to determine levels of MMP-2 and MMP-9 activity and Western blotting was used to evaluate TNF- α protein content. Shapiro-Wilk and Levene's tests were applied to evaluate data normality and homogeneity, respectively. One-way ANOVA followed by Tukey test was used for statistical analysis with a significance level set at 5%.

Results: An increase in TNF- α protein level was found in I þ L3 compared to Normal and I3d ($P < 0.05$). Zymography showed an increase in proMMP-9 activity, in both I3d and I þ L3d groups ($P < 0.05$). The increase was more evident in I þ L3d ($P \approx 0.02$ compared to I3d). Active-MMP-9 isoform activity was increased in I þ L3d compared to Normal and I3d groups ($P < 0.05$). Furthermore, the activity of active-MMP-2 isoform was increased in I3d and I þ L3 ($P < 0.05$). An increase in TIMP-1 expression was observed in both I3d and I þ L3d groups ($P < 0.05$).

Conclusions: The current study showed that LLLT increased MMPs activity, mainly MMP-9, and TNF- α protein level during the acute phase of nerve injury, modulating inflammation. Based on these results, it is recommended that LLLT should be started as soon as possible after peripheral nerve injury. *Lasers Surg. Med.* 45:246–252, 2013. © 2013 Wiley Periodicals, Inc.

Key words: matrix metalloproteinase; peripheral nerve injury; physiotherapy; rehabilitation

INTRODUCTION

A number of types of injury can affect the peripheral nervous system (PNS) [1] leading to impaired nerve conduction and motor and sensory function as well as altered skeletal muscle [2,3]. The re-establishment of neuromuscular function after peripheral nerve injury (PNI) occurs through an orchestrated balance between degradation and synthesis of extracellular matrix (ECM) [4]. In this context, the matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and -9 (MMP-9) are important members of a proteolytic zinc-dependent enzyme family involved in the axonal degeneration and regeneration after PNI [4–7].

These MMPs are selectively regulated by TIMP-1 (Tissue Inhibitor of MMP). Concomitant increases of MMPs and TIMP-1 activities were observed after PNI suggesting that, during nerve repair, TIMP-1 controls MMPs' activity, therefore protecting basal membrane

Abbreviations used: ECM, extracellular matrix; Fn14, fibroblast growth factor inducible 14; LLLT, low level laser therapy; MMP-2, matrix metalloproteinase-2; MMP-9, matrix metalloproteinase-9; PNI, peripheral nerve injury; TIMP-1, tissue inhibitor of metalloproteinases-1; TNF- α , tumor necrosis factor alpha; TWEAK, tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis.

Conflict of Interest Disclosures: All authors have completed and submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest and none were reported.

Contract grant sponsor: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP); Contract grant number: 2010/11795-6; Contract grant sponsor: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

*Corresponding to: Prof. Thiago L. Russo, PhD, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Rodovia Washington Luís km 235, C.P. 676–CEP, 13565-905 São Carlos, SP, Brazil. E-mail: thiagoluizrusso@gmail.com

Accepted 4 March 2013

Published online in Wiley Online Library

(wileyonlinelibrary.com).

DOI 10.1002/lsm.22129

APÉNDICE IV

Effect of tibiotarsal joint inflammation on gene expression and cross-sectional area in rat soleus muscle

Carolina Ramírez^{1,2}, Thiago L. Russo¹, Gabriel Delfino¹,
Sabrina M. Peviani¹, Carolina Alcântara¹, Tania F. Salvini¹

ABSTRACT | Background: Joint inflammation is a common clinical problem in patients treated by physical therapists. The hypothesis of this study is that joint inflammation induces molecular and structural changes in the soleus muscle, which is composed mainly of slow-twitch muscle fibers. **Objective:** To study the effect of tibiotarsal joint inflammation on muscle fiber cross-sectional area (CSA), gene expression levels (atrogin-1, MuRF1, MyoD, myostatin, p38MAPK, NFκB, TNF-alpha), and TNF-alpha protein in the soleus muscle. **Method:** Wistar rats were randomly divided into 3 periods (2, 7 and 15 days) and assigned to 4 groups (control, sham, inflammation, and immobilization). **Results:** In the inflammation group at 2 days, MuRF1 and p38MAPK expression had increased, and NFκB mRNA levels had decreased. At 7 days, myostatin expression had decreased. At 7 and 15 days, this group had muscle fiber CSA reduction. At 2 days, the immobilization group showed increased atrogin-1, MuRF1, NFκB, MyoD, and p38MAPK expressions and reduced muscle fiber CSA. At 7 and 15 days, myostatin mRNA levels had increased, and the CSA had decreased. The sham group showed increased p38MAPK and myostatin expressions at 2 and 7 days, respectively. No changes occurred in TNF-alpha gene or protein expression. **Conclusion:** Acute joint inflammation induces gene expression related to the proteolytic pathway without reduction in muscle fiber CSA. Chronic joint inflammation induced muscle atrophy without up-regulation of important genes belonging to the proteolytic pathway. Thus, muscle adaptation may differ according to the stage of joint inflammation, which suggests that the therapeutic modalities used by physical therapists at each stage should also be different.

Keywords: skeletal muscle; joint disease; gene expression; muscle plasticity; physical therapy; rehabilitation.

HOW TO CITE THIS ARTICLE

Ramírez C, Russo TL, Delfino G, Peviani SM, Alcântara C, Salvini TF. Effect of tibiotarsal joint inflammation on gene expression and cross-sectional area in rat soleus muscle. *Braz J Phys Ther*. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-35552012005000084>

Introduction

Joint inflammation is a musculoskeletal impairment commonly observed in patients treated by physical therapists, and it can have a significant effect on the patients' quality of life. Inflammation is an innate system of cellular and humoral responses following injuries, in which the body removes the injurious stimuli and initiates the healing process^{1,2}. In the musculoskeletal system, inflammation plays an active role in the pathophysiology of disparate joint conditions and chronic diseases treated by physical therapists including traumatic joint injuries, such as sprains, fractures, ligament injuries, and contusions²⁻⁴.

To better understand the acute and chronic inflammatory process, animal models have been used, such as intra-articular injection of carrageenan in rats. Carrageenan is an agent derived from red seaweed that causes inflammation and hyperalgesia

when injected into tissues but not when ingested or applied topically⁵⁻⁷. Previous studies have shown that an intra-articular injection of carrageenan triggers an acute inflammatory response within the first few days. This response is converted to macrophage-dominated chronic inflammation by the first week, and it lasts through the 8th week⁶.

Studies using carrageenan have focused mainly on the characterization of the inflammatory response in the joint^{5,6}, and little attention has been given to the possible effect that the joint inflammation could have on tissues functionally related to the inflamed joint, such as the skeletal muscle. A recent study conducted in our laboratory found that chronic inflammation of the tibiotarsal joint induced changes in the inflammatory molecular pathways related to regulation of mass leading to atrophy in the tibialis

¹Physical Therapy Department, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brazil

²School of Physical Therapy, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Santander, Colombia

Received: 06/02/2012 Revised: 09/04/2012 Accepted: 10/23/2012