



Artigo Original

Análise dos níveis séricos do biomarcador CTX-II em atletas profissionais de futebol de salão durante uma temporada[☆]



Rodrigo Miziara Severino*, Pedro Baches Jorge, Mauro Olivo Martinelli, Marcos Vaz de Lima, Nilson Roberto Severino e Aires Duarte Junior

Faculdade de Ciências Médicas, Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 22 de fevereiro de 2014

Aceito em 30 de junho de 2014

On-line em 18 de setembro de 2014

Palavras-chave:

Osteoartrite

Cartilagem articular

Biomarcadores farmacológicos

R E S U M O

Objetivo: Analisar os níveis séricos sanguíneos de CTX-II em atletas profissionais de futebol de salão, em três momentos distintos durante uma temporada: no início da pré-temporada, quatro meses após (período que marca o meio da temporada) e no fim da temporada.

Métodos: Foram incluídos 14 atletas do gênero masculino e média de idade de 19 anos. Foram coletados 3 mL de sangue de cada indivíduo. As amostras foram analisadas pelo teste do tipo Elisa.

Resultados: Houve aumento significativo dos níveis séricos de CTX-II nos atletas de futebol de salão, comparando-se o início e o fim de uma temporada ($p < 0,01$).

Conclusão: Esses dados sugerem a ocorrência de degradação articular nos atletas, ao término desse período. Fica evidente a necessidade de futuros estudos, com rigor metodológico, que possam contribuir efetivamente para a elucidação precisa da etiologia da OA e sua relação com os biomarcadores como instrumento de diagnóstico precoce.

© 2014 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Analysis on the serum levels of the biomarker CTX-II in professional indoor soccer players over the course of one season

A B S T R A C T

Objective: The aim of this study was to analyze the blood serum levels of CTX-II in professional indoor soccer players, at three different times during one season: at the start of the pre-season, four months later (a time that marks the middle of the season) and at the end of the season.

Methods: Fourteen male soccer players of mean age 19 years were included. Blood samples of 3 ml were collected from each individual. The samples were analyzed by means of Elisa tests.

Keywords:

Osteoarthritis

Joint cartilage

Pharmacological biomarkers

[☆] Trabalho desenvolvido no Departamento de Ortopedia e Traumatologia, Santa Casa de São Paulo, SP, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: pj1980@hotmail.com (R.M. Severino).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbo.2014.06.004>

0102-3616/© 2014 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Results: There was a significant increase in the serum level of CTX-II in the indoor soccer players, from the beginning to the end of the season ($p < 0.01$).

Conclusion: These data suggest that joint degradation had occurred in these soccer players, by the end of this period. It is evident that further studies are needed, with methodological rigor, so as to make an effective contribution towards precise elucidation of the etiology of this osteoarthritis and its relationship with the biomarkers, as a tool for early diagnosis.

© 2014 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introdução

A osteoartrite primária (OA) é uma doença multifatorial, caracterizada pela degeneração articular irreversível com formação de osteófitos e redução do espaço articular, que apresenta como principais sintomas: aumento progressivo da dor, perda da função, limitações de atividades diárias e a restrição à prática esportiva.¹⁻⁷

Algumas teorias correlacionam a prática contínua e intensa de atividade física ao desenvolvimento da OA primária em atletas de elite por causa da sobrecarga articular. Além disso, há especulações a respeito de como a cartilagem articular responde a essa sobrecarga. Entretanto, a relação entre o dano da cartilagem articular e a atividade física intensa parece ainda controversa na literatura.^{8,9}

Alguns estudos demonstram que atletas que praticam esportes que incluem aceleração rápida com desaceleração momentânea, treinos contínuos de alto impacto nas articulações ou que competem em nível de elite por um período prolongado de tempo apresentam maior probabilidade de desenvolver OA. No entanto, o tipo e a intensidade dos exercícios que são prejudiciais para a cartilagem articular ainda não são conhecidos.⁸⁻¹¹

A OA apresenta uma fase inicial assintomática, que pode ser influenciada pelo nível de sobrecarga ao qual a articulação é exposta em uma atividade física. No entanto, a identificação desse dano articular é difícil considerando-se a limitação dos instrumentos de avaliação disponíveis. Diante desse fato, estudos recentes têm demonstrado que os biomarcadores bioquímicos são uma opção em potencial para se detectar precocemente a OA assintomática.^{9,12,13}

Em condições fisiológicas, o metabolismo do colágeno tipo II é lento, as suas fibrilas têm meia-vida de anos. Nos estágios iniciais da degeneração da cartilagem, é observada a degradação dessas fibrilas de colágeno. Enzimas denominadas metaloproteinases são liberadas e contribuem para essa degradação, especialmente as colagenases e agreganases. As colagenases são responsáveis pela clivagem do colágeno tipo II e produzem fragmentos desse colágeno. Anticorpos específicos para esses fragmentos podem ser detectados no líquido sinovial, no sangue ou na urina e são estudados como potencial biomarcador para início da degradação articular.^{2,5,7}

Quando um componente articular é degradado e lançado para fora de seu tecido de origem, sua mensuração no fluido da articulação seria a mais precisa. Um biomarcador de degradação articular é o C-Telopeptídeo do colágeno tipo II, o CTX-II. O uso do CTX-II como marcador de progressão da

lesão cartilaginosa e sua relação direta com graus radiológicos e escores clínicos da OA são comprovados na literatura. Portanto, a dosagem do CTX-II parece caracterizar-se como maneira eficaz de verificação do *turn over* do colágeno tipo II.¹⁴⁻²¹

Descritos como um instrumento para medir o progresso da doença ou o efeito de um tratamento na progressão da doença, os biomarcadores podem servir como uma ferramenta para elucidar os efeitos do exercício na cartilagem articular e eventual desenvolvimento de OA primária.^{12,13} Sendo assim, o objetivo deste estudo foi analisar e comparar as dosagens dos níveis séricos sanguíneos do biomarcador CTX-II em atletas profissionais de futebol de salão, em três momentos distintos durante uma temporada.

Métodos

Trata-se de um estudo longitudinal prospectivo, aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, SP.

Foram incluídos 14 atletas de uma equipe profissional de futebol de salão (categoria sub 21), do gênero masculino, com média de idade de 19 anos, todos de uma mesma equipe, submetidos à mesma carga de treinos e jogos.

Foram excluídos deste estudo jogadores com cirurgias prévias no joelho (dois atletas) ou que estavam em uso de medicações condroprotetoras (três atletas).

Além desses, quatro atletas em tratamento de sobrecarga fêmoro-patelar por desequilíbrio muscular na cintura pélvica, em tratamento com fisioterapia, foram excluídos, pois tinham dor de origem patelar e limitante para a prática do esporte no início da temporada.

As dosagens do CTX-II foram feitas em três momentos: A – no início da pré-temporada; B – quatro meses após (período que marca o meio da temporada); e C – no fim da temporada.

Foram coletados de cada indivíduo 3 mL de sangue por punção simples no membro superior não dominante, por meio do kit de coleta a vácuo. A amostra de sangue foi centrifugada e armazenada a uma temperatura de 80 graus negativos, até que todas as amostras estivessem prontas para ser testadas.

Cada amostra foi analisada por meio do teste do tipo Elisa para detecção de CTX-II humano (Kit Hu CTX-II da Cusabio Biotech Catalog número CSB – E09323 h lote S20045731, produzido nos Estados Unidos da América). Especificidade 100% apenas para CTX-II humano, sem reação cruzada, com a dose mínima detectada inferior a 0,3 ng/mL. Teste esse feito

Tabela 1 – Dados individuais e as dosagens de CTX-II (em ng/mL) observadas para cada atleta em cada momento da temporada

	Idade	Intensidade de Dor	Início da temporada	Meio da temporada	Fim da temporada
Atleta 1	19	Sem dor	0,321	0,328	0,328
Atleta 2	18	Sem dor	0,201	0,278	0,401
Atleta 3	19	Ocasional não limitante	0,182	0,331	0,551
Atleta 4	20	Sem dor	0,825	1,121	2,537
Atleta 5	20	Ocasional não limitante	0,312	0,298	0,399
Atleta 6	19	Ocasional não limitante	0,311	0,315	0,324
Atleta 7	19	Dor limitante	0,299	0,311	0,324
Atleta 8	20	Ocasional não limitante	0,282	0,301	0,309
Atleta 9	20	Sem dor	0,311	0,315	0,497
Atleta 10	20	Ocasional não limitante	0,892	2,012	2,349
Atleta 11	17	Sem dor	0,312	0,299	0,395
Atleta 12	19	Sem dor	0,287	0,277	0,268
Atleta 13	17	Ocasional não limitante	0,347	0,521	0,577
Atleta 14	19	Sem dor	0,247	0,317	0,378
Média (DP)	19		0,366 ± 0,214	0,5 ± 0,485	0,685 ± 0,751

em laboratório privado, na cidade de São Paulo, com custos de inteira responsabilidade dos pesquisadores.

Para comparar o nível de dosagem entre os três momentos de avaliação, foram aplicados o teste estatístico não paramétrico de Wilcoxon pareado e a correção de Bonferroni para múltiplas comparações (intervalo de confiança de 95% e valor de $p < 0,05$). O teste não paramétrico foi a melhor opção por causa da incapacidade de assumir a normalidade de distribuição da amostra.

Resultados

A [tabela 1](#) apresenta os dados individuais e as dosagens observadas para cada atleta em cada momento da temporada. Foi possível observar a presença de dados discrepantes para dois atletas (4 e 10), os quais apresentaram dosagens muito superiores aos demais atletas avaliados no estudo, em todas as avaliações. Contudo, esses participantes não relataram queda no desempenho físico, nem a presença de sintomas como dor, edema ou falseio.

Os indivíduos 3, 5 e 10 tinham dor na origem do tendão patelar de um dos joelhos, que piorava no fim da prática esportiva, melhorava com fisioterapia e não limitava a participação nos treinos e jogos. O indivíduo 13 tinha quadro de dor sobre inserção da pata anserina não limitante. Além desses, os atletas 6 e 8 queixavam-se de dor lateral nos joelhos, sobre epicôndilos laterais, durante a prática esportiva, também não limitante.

Por causa da origem tendinosa da dor nos indivíduos incluídos no estudo (tendinopatia patelar, tendinopatia anserina e atrito do trato íleo-tibial), optou-se por não incluí-los separadamente nas comparações estatísticas quanto à degradação do colágeno tipo II, exclusivo do tecido cartilaginoso.

Comparação do nível de dosagem do CTX-II entre os diferentes momentos da temporada

Por causa do tamanho limitado da amostra, selecionada de modo não randomizado por tratar-se de uma equipe fechada de futebol de salão, não pode ser considerada normal a

distribuição dos indivíduos/resultados na amostra. Quando isso ocorre há a necessidade do uso de testes estatísticos não paramétricos. Na distribuição gráfica de dados dois indivíduos tiveram valores muito diferentes do restante da equipe e foram considerados outliers.

Para evitar o risco de erro estatístico, foram feitas duas análises separadas: 1 – Comparação com os dados completos e 2 – Comparação com os dados reduzidos (sem a informação dos atletas 4 e 10) ([tabela 2](#)).

Ao comparar os valores das duas primeiras análises, início da temporada versus meio da temporada, não foi possível observar diferenças estatisticamente significativas entre as amostras, para ambas as comparações (1 e 2).

Na análise entre o meio e o fim da temporada, houve diferença significativa da dosagem média para a comparação entre os 14 participantes ($p < 0,02$). Entretanto, quando retirados das análises os atletas 4 e 10, não foi possível observar a diferença significativa (análise com dados reduzidos).

Para as comparações entre o início e o fim da temporada, as duas análises (comparações 1 e 2) indicaram aumento estatisticamente significativo do biomarcador CTX-II ($p < 0,003$ e $p < 0,01$, respectivamente). Ou seja, entre o início e o fim da temporada houve aumento significativo do biomarcador de

Tabela 2 – Comparação da dosagem observada do biomarcador CTX-II (em ng/mL) entre os diferentes momentos da temporada. Dados completos (14 atletas) e dados reduzidos (12 atletas, foram desconsiderados os atletas 4 e 10)

Comparação	Diferença média	p
<i>Dados completos</i>		
Início × meio	0,134	0,06
Meio × fim	0,186	0,02
Início × fim	0,320	0,003
<i>Dados reduzidos</i>		
Início × meio	0,041	0,19
Meio × fim	0,069	0,06
Início × Fim	0,109	0,01

degradação articular CTX-II, considerando-se ou não os resultados extremos.

Discussão

Este trabalho teve como objetivo analisar e comparar as dosagens dos níveis séricos sanguíneos do biomarcador CTX-II em atletas profissionais de futebol de salão, em três momentos distintos durante uma temporada. De acordo com resultados observados, foi possível verificar um aumento estatisticamente significativo do CTX-II entre o início e o fim da temporada. É bem estabelecido na literatura que o aumento do biomarcador CTX-II é um fator preditivo da degradação articular. Sendo assim, acredita-se que identificação precoce dos níveis de CTX-II seja um instrumento útil para o diagnóstico igualmente precoce e preventivo de osteoartrite primária (OA).^{22,23}

Corroborando os achados do presente estudo, O'Kane et al.²² avaliaram diferentes categorias esportivas e demonstraram, por meio da análise do exame de urina, que as amostras dos maratonistas apresentavam níveis superiores de CTX-II quando comparadas aos praticantes de natação e remo. De acordo com os autores, os corredores expõem as articulações dos membros inferiores a sobrecargas axiais repetitivas e podem causar dano na cartilagem articular precocemente.

O aumento puro e simples do CTX-II nos atletas estudados não significa necessariamente que esses sofrem ou sofrerão de osteoartrose. Sabe-se que pacientes com artrose têm níveis elevados desse biomarcador sérico e seu aumento é diretamente relacionado à pioria radiográfica, de acordo com a classificação de Kelgreen-Laurence.¹⁶ A certeza que podemos ter a partir desses dados é que, ao menos durante a competição, está havendo aumento da degradação condral nos pacientes estudados, pois o biomarcador CTX-II provém da destruição do colágeno tipo II, exclusivo da cartilagem articular.

Talvez mudanças no treinamento, intensificação dos exercícios anaeróbios com fortalecimento muscular, acompanhamento fisioterápico obrigatório e até uso de medicações condroprotetoras sejam soluções viáveis que visem à proteção articular. Para proteger a saúde articular de seus atletas, equipes podem começar a pensar nesse tipo de estratégia preventiva.

Afinal, hoje em dia devemos visar à prevenção antes do tratamento. Evitar lesões praticando a medicina preventiva deve ser o foco da medicina do exercício e do esporte, pois carreiras certamente serão assim prolongadas.

As possíveis limitações deste estudo são o pequeno número da amostra (n=14) e a ausência de um grupo controle para a comparação entre achados. O tamanho da amostra se explica pelo estudo de uma única equipe da modalidade, submetida à mesma carga de treino e competição. Optou-se por não usar o grupo controle, pois visamos apenas a estudar se havia aumento da degradação do colágeno articular com o passar de uma temporada de treinamento e competição. Ou seja, o indivíduo torna-se controle dele mesmo.

Outros estudos em andamento no Grupo do Trauma Esportivo da Santa Casa de São Paulo comparam modalidades e grupo controle, incluindo o futebol de salão. E estudos

preliminares indicam grande diferença quanto à degradação do colágeno do tipo II.

As discrepâncias encontradas nas amostras de dois dos indivíduos analisados são explicadas por diversas teorias, incluindo o fato de que os marcadores podem ter sido influenciados pelo estado hormonal, pela dieta alimentar e por fatores genéticos,²² uma vez que ambos os indivíduos não relataram redução do desempenho físico, nem sintomas como dor, edema e falseio. De acordo com Dam et al.,²⁴ a degradação da cartilagem estimada pelo biomarcador CTX-II está relacionada com a presença de dor.

Conclusão

Houve aumento significativo dos níveis séricos de CTX-II nos atletas de futebol de salão, comparando-se o início e o fim de uma temporada. Esses dados sugerem a ocorrência de aumento da degradação do colágeno tipo II articular, ao término desse período. Fica evidente a necessidade de futuros estudos, com rigor metodológico adequado, que possam contribuir efetivamente para a elucidação precisa da etiologia da OA e sua relação com os biomarcadores como instrumento de diagnóstico precoce.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Andersson ML, Thorstensson CA, Roos EM, Petersson IF, Heinegård D, Saxne T. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) increase temporarily after physical exercise in patients with knee osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2006;7:98.
2. Bruyere O, Collette JH, Ethgen O, Rovati LC, Giacobelli G, Henrotin YE, et al. Biochemical markers of bone and cartilage remodeling in prediction of longterm progression of knee osteoarthritis. *J Rheumatol*. 2003;30(5):1043-50.
3. DiCesare P, Hauser N, Lehman D, Pasumarti S, Paulsson M. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) is an abundant component of tendon. *FEBS Lett*. 1994;354(2):237-40.
4. Fernandes FA, Pucinelli ML, da Silva NP, Feldman D. Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) levels in knee osteoarthritis in a Brazilian population: clinical and radiological correlation. *Scand J Rheumatol*. 2007;36(3):211-5.
5. Garnero P, Delmas PD. Biomarkers in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2003;15(5):641-6.
6. Tseng S, Reddi AH, Di Cesare PE. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP): a biomarker of arthritis. *Biomark Insights*. 2009;4:33-44.
7. Vilím V, Vytásek R, Olejárová M, Macháček S, Gatterová J, Procházka B, et al. Serum cartilage oligomeric matrix protein reflects the presence of clinically diagnosed synovitis in patients with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2001;9(7):612-8.
8. Buckwalter JA, Lane NE. Athletics and osteoarthritis. *Am J Sports Med*. 1997;25(6):873-81.
9. Kujala UM, Kaprio J, Sarna S. Osteoarthritis of weight bearing joints of lower limbs in former elite male athletes. *BMJ*. 1994;308(6923):231-4.

10. Patra D, Sandell LJ. Recent advances in biomarkers in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2011;23(5):465-70.
11. Saxon L, Finch C, Bass S. Sports participation, sports injuries and osteoarthritis: implications for prevention. *Sports Med*. 1999;28(2):123-35.
12. Mobasheri A, Cassidy JP. Biomarkers in veterinary medicine: towards targeted, individualised therapies for companion animals. *Vet J*. 2010;185(1):1-3.
13. Neidhart M, Müller-Ladner U, Frey W, Bosserhoff AK, Colombani PC, Frey-Rindova P, et al. Increased serum levels of non-collagenous matrix proteins (cartilage oligomeric matrix protein and melanoma inhibitory activity) in marathon runners. *Osteoarthritis Cartilage*. 2000;8(3):222-9.
14. Huebner JL, Kraus VB. Assessment of the utility of biomarkers of osteoarthritis in the guinea pig. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006;14(9):923-30.
15. Mazières B, Garnero P, Guéguen A, Abbal M, Berdah L, Lequesne M, et al. Molecular markers of cartilage breakdown and synovitis at baseline as predictors of structural progression of hip osteoarthritis. *The ECHODIAH Cohort Ann Rheum Dis*. 2006;65(3):354-9.
16. Bruyere O, Collette J, Kothari M, Zaim S, White D, Genant H, et al. Osteoarthritis, magnetic resonance imaging, and biochemical markers: a one year prospective study. *Ann Rheum Dis*. 2006;65(8):1050-4.
17. Dam EB, Loog M, Christiansen C, Byrjalsen I, Folkesson J, Nielsen M, et al. Identification of progressors in osteoarthritis by combining biochemical and MRI-based markers. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(4):R115.
18. Felson DT, Lohmander LS. Whither osteoarthritis biomarkers? *Osteoarthritis Cartilage*. 2009;17(4):419-22.
19. Sowers MF, Karvonen-Gutierrez CA, Yosef M, Jannausch M, Jiang Y, Garnero P, et al. Longitudinal changes of serum COMP and urinary CTX-II predict X-ray defined knee osteoarthritis severity and stiffness in women. *Osteoarthritis Cartilage*. 2009;17(12):1609-14.
20. Karsdal MA, Byrjalsen I, Bay-Jensen AC, Henriksen K, Riis BJ, Christiansen C. Biochemical markers identify influences on bone and cartilage degradation in osteoarthritis—the effect of sex Kellgren-Lawrence (KL) score, body mass index (BMI), oral salmon calcitonin (sCT) treatment and diurnal variation. *BMC Musculoskelet Disord*. 2010;11:125.
21. Ishijima M, Watari T, Naito K, Kaneko H, Futami I, Yoshimura-Ishida K, et al. Relationships between biomarkers of cartilage, bone, synovial metabolism and knee pain provide insights into the origins of pain in early knee osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(1):R22.
22. O’Kane JW, Hutchinson E, Atley LM, Eyre DR. Sport-related differences in biomarkers of bone resorption and cartilage degradation in endurance athletes. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006;14(1):71-6.
23. Attur M, Krasnokutsky-Samuels S, Samuels J, Abramson SB. Prognostic biomarkers in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2013;25(1):136-44.
24. Dam EB, Byrjalsen I, Arendt-Nielsen L, Christiansen C, Karsdal MA. Relationships between knee pain and osteoarthritis biomarkers based on systemic fluids and magnetic resonance imaging. *J Musculoskelet Pain*. 2011;19(3):144-53.