MANOEL TAVARES NEVES JUNIOR

**Suplementação de creatina associada ao
treinamento físico em mulheres com osteoartrite
de joelho: estudo clínico aleatorizado, duplo-
cego, controlado por placebo**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Programa de: Ciências Médicas

Área de concentração: Processos Imunes e Infeciosos

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Eloísa Dutra de Oliveira Bonfá

São Paulo

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Neves Junior, Manoel Tavares

Suplementação de creatina associada ao treinamento físico em mulheres com osteoartrite de joelho : estudo clínico aleatorizado, duplo cego, controlado por placebo / Manoel Tavares Neves Junior. -- São Paulo, 2011.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências Médicas. Área de concentração: Processos Imunes e Infeciosos.

Orientadora: Eloísa Dutra de Oliveira Bonfã.

Descritores: 1.Osteoartrite do joelho 2.Creatina 3.Terapia por exercício
4.Mulheres 5.Pós-menopausa 6.Ensaio clínico controlado aleatório

USP/FM/DBD-08911

Aos meus pais, **Manoel** e **Iris**, pelo amor incondicional que nutrem pelos filhos e por seus exemplos diários de dedicação, humildade e honestidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) pelo enorme aprendizado e pelas inúmeras oportunidades de crescimento profissional. Sou particularmente grato à Dr.^a **Fernanda Lima**, grande responsável por minha vinda à USP e que se fez presente em cada momento desta tese, e à Prof.^a **Eloísa Bonfá**, exemplo maior de dedicação, competência e integridade a ser seguido.

Aos amigos da Escola de Educação Física e Esporte da USP, em especial aos Profs. **Antônio Lancha Junior** e **Carlos Ugrinowitsch**, por terem sempre acreditado e investido em nossos projetos, e aos Profs. **Bruno Gualano** e **Hamilton Roschel** pela amizade e ajuda inestimáveis.

Muito obrigado à Dr.^a **Ana Lúcia de Sá Pinto** e aos médicos e colaboradores que ajudaram a concretizar este trabalho: **Ricardo Fuller**, **Rosa Maria Pereira**, **Marcelo Tatit**, **Antônio Carlos Seguro**, **M.^a Heloíza Shimizu**, **Fabiana Benatti**, **Guilherme Artioli**, **Marina Solis**, **Mariane Takesian**, **Vilma Trindade**, **Elaine Pires**, **Cleonice de Castro** e estagiários do Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia (LACRE).

À Assessoria de Imprensa do Hospital das Clínicas, mais especificamente a **Bete Subires**, pela ajuda com a captação de voluntárias através da divulgação do estudo na mídia impressa.

Aos colegas do Fleury Medicina e Saúde, sobretudo às Dr.^{as} **Simone Lotufo**, **M^a Beatriz Hadler**, **Carolina Lázari**, **Bárbara Silva**, **Ana Beatriz Garcia**, **Milene Sanda**, e ao grupo de médicos do atendimento pelo apoio durante todo o período da pós-graduação.

Ao Professor **Roger Harris**, pela incrível oportunidade que tive na Inglaterra, e a **Leslie Boobis**, **Paul Greenhalf**, **Marimuthu Kanagaraj**, **Mike Rennie** e **Viny Kumar**, pelas inesquecíveis lições na Universidade de Nottingham.

Ao mestre Dr. **Paulo Meireles**, grande expoente da clínica médica que me apresentou ao fascinante mundo da reumatologia.

À minha família, por tudo o que sou. Em especial, aos meus **irmãos**, a **Ada**, aos primos-irmãos **Raissa**, **Leandro** e **Luiz Neto**, aos tios **Luiz** e **Ione Carvalho** e à minha noiva **Elise**, pelo carinho e apoio constantes.

Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo #2010/15450-3.

Omnia mea mecum porto.

(Tudo o que tenho carrego comigo.)

Bias de Priene, século VI a.C.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese foi escrita de acordo com as novas regras ortográficas da língua portuguesa, válidas desde janeiro de 2009, e está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de “International Committee of Medical Journals Editors” (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos: “List of Journals Indexed in Index Medicus.”

Descrição clínica: de acordo com “Consolidated Standards of Reporting Trials” (CONSORT)

Schulz KF, Altman DG, Moher D. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ*. 2010;340:c332.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	xi
Lista de figuras	xii
Lista de tabelas	xiii
Resumo	xiv
Summary	xvi
 1 INTRODUÇÃO	 1
1.1 A importância do exercício físico no tratamento da osteoartrite de joelho ..	2
1.2 A proposta da suplementação de creatina como adjuvante do exercício físico no tratamento da osteoartrite de joelho	3
1.3 A questão da segurança renal na suplementação de creatina	4
 2 OBJETIVOS	 6
 3 MÉTODOS	 8
3.1 Desenho experimental	9
3.2 Aprovação por comissão de ética	10
3.3 Recrutamento e seleção de pacientes	10
3.4 Suplementação de creatina e vendamento	11
3.5 Programa de treinamento físico	12
3.6 Avaliação do consumo alimentar	13
3.7 Avaliação da capacidade física funcional	14
3.8 Avaliação da dor e da qualidade de vida	14
3.9 Avaliação da força muscular	15
3.10 Avaliação da composição corporal	16
3.11 Avaliação da função renal	17
3.12 Cálculo da amostra e análise estatística	18

4 RESULTADOS	19
4.1 Participantes	20
4.2 Eficácia do vendamento	21
4.3 Aderência ao treinamento físico	22
4.4 Consumo alimentar	22
4.5 Capacidade física funcional	23
4.6 Dor e qualidade de vida	23
4.7 Força muscular	25
4.8 Composição corporal	25
4.9 Função renal	27
5 DISCUSSÃO	29
6 CONCLUSÕES	35
7 ANEXOS	37
Anexo A Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	38
Anexo B WOMAC	43
Anexo C Índice algofuncional de Lequesne	45
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

APÊNDICE 1	Artigo "Beneficial effect of creatine supplementation in knee osteoarthritis", aceito para publicação na revista "Medicine & Science in Sports & Exercise" em janeiro de 2011
APÊNDICE 2	Artigo "Effect of Creatine Supplementation on Measured Glomerular Filtration Rate in Postmenopausal Women", aceito para publicação na revista "Applied Physiology Nutrition and Metabolism" em dezembro de 2010
APÊNDICE 3	Artigo "Familiarization to lower limb strength testing in middle-aged women with knee osteoarthritis", aceito para publicação na revista "Physiotherapy" em fevereiro de 2011

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS *

1RM	1 repetição máxima
⁵¹ Cr-EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético ligado ao cromo ⁵¹
CR	Creatina
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
OA	Osteoartrite
PCR	Fosfocreatina
PL	Placebo
TF	Treinamento de força
TFG	Taxa de filtração glomerular
WOMAC	Do inglês, "Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index"

* Não foram listadas as internacionalmente aceitas e convencionadas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação gráfica do desenho experimental	9
Figura 2	Escala visual numérica de dor (modificada de Ritter et al., 2006)	14
Figura 3	Fluxograma de participantes	20
Figura 4	Teste de levantar e sentar em 30 segundos nos grupos creatina e placebo antes e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico	23
Figura 5	Força muscular dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico	25
Figura 6	Depuração de ^{51}Cr -EDTA dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características basais dos grupos	21
Tabela 2	Consumo alimentar dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico	22
Tabela 3	Dor e qualidade de vida dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico	24
Tabela 4	Composição corporal dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico	26
Tabela 5	Função renal dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico	28

RESUMO

Neves Jr MT. *Suplementação de creatina associada ao treinamento físico em mulheres com osteoartrite de joelho: estudo clínico aleatorizado, duplo-cego, controlado por placebo* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.

INTRODUÇÃO: O fortalecimento do quadríceps em pacientes com osteoartrite (OA) de joelho está associado à redução da dor, independência para caminhar e melhora funcional, salientando o papel dos exercícios físicos no tratamento dessa doença. Portanto, procedimentos capazes de aumentar os efeitos do exercício sobre força e função muscular podem ser potencialmente terapêuticos nesses pacientes.

OBJETIVOS: Demonstrar a eficácia da suplementação de creatina associada ao treinamento de força (TF) no tratamento da OA de joelho. **MÉTODOS:** Mulheres entre 50 e 65 anos de idade com OA de joelho foram suplementadas com CR (20 g/d por 7 dias e depois 5 g/d até o fim do estudo) ou placebo (PL) e submetidas a um programa de TF por 12 semanas. Antes e após esse período, foram realizadas avaliações de capacidade física funcional (desfecho primário), dor, qualidade de vida, força muscular, composição corporal e função renal. **RESULTADOS:** Houve significativa melhora da capacidade física funcional aferida pelo teste de levantar e sentar em 30 segundos (desfecho primário) apenas no grupo CR ($P = 0,006$). Além disso, foi observado efeito de interação entre grupos (CR PRÉ: $15,7 \pm 1,4$, CR PÓS:

18,1 $\pm$ 1,8; PL PRÉ: 15,0 $\pm$ 1,8, PL PÓS: 15,2 $\pm$ 1,2; P = 0,004). O grupo CR também apresentou melhora nos domínios de capacidade física funcional (P = 0,005) e de rigidez (P = 0,024) do “Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index” (WOMAC), no índice algofuncional de Lequesne (P = 0,01) e na massa magra de membros inferiores mensurada pela densitometria de dupla emissão com fonte de raios X (P = 0,04). Em ambos os grupos houve redução da dor, tanto pela escala visual numérica quanto pelo domínio de dor do WOMAC (P < 0,05). De forma similar, houve aumento da força muscular pelo teste de 1 repetição máxima (P = 0,005), sem diferença entre grupos (P = 0,81). Não houve alteração na depuração de ^{51}Cr -EDTA (CR PRÉ: 86,16 $\pm$ 14,36, PÓS: 87,25 $\pm$ 17,60 mL/min/1,73 m²; PL PRÉ: 85,15 $\pm$ 8,54, PÓS: 87,18 $\pm$ 9,64 mL/min/1,73 m²; P = 0,81), bem como em qualquer outro parâmetro de função renal avaliado (dosagem sérica de creatinina e ureia, depuração estimada de creatinina, dosagem de creatinina, ureia, albumina e proteína na urina de 24 horas e cálculo da razão albumina/creatinina na urina de 24 horas). CONCLUSÃO: A suplementação de CR melhora capacidade física funcional, qualidade de vida e massa magra de membros inferiores em mulheres com OA de joelho submetidas ao treinamento de força sem afetar a função renal.

DESCRIPTORIOS: osteoartrite do joelho, creatina, terapia por exercício, mulheres, pós-menopausa, ensaio clínico controlado aleatório

SUMMARY

Neves Jr, MT. *Creatine supplementation associated with resistance training in women with knee osteoarthritis: randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2011.

INTRODUCTION: Strengthening of the quadriceps muscle in patients with knee osteoarthritis (OA) is related to walking self-efficacy, reduced pain, and improved function, stressing the role of strengthening exercises in the treatment of this disease. Therefore, procedures capable of enhancing the exercise effects on muscle strength and function may be potentially therapeutic for knee OA patients. OBJECTIVES: To demonstrate the efficacy of creatine (CR) supplementation associated with strengthening exercises in knee OA. METHODS: Women aged 50 to 65 years with knee OA were allocated to receive either CR (20 g/d for one week and 5 g/d thereafter) or placebo (PL) and were enrolled in a lower limb resistance training program. They were assessed at baseline (PRE) and after 12 weeks (POST). The primary outcome was the physical function as measured by the timed-stands test. Secondary outcomes included pain, quality of life, muscle strength, body composition and renal function. RESULTS: Physical function was significantly improved only in the CR group ($P = 0.006$). Additionally, a significant between-group difference was observed (CR PRE: 15.7 ± 1.4 , POST: 18.1 ± 1.8 ; PL PRE: 15.0

± 1.8 , POST: 15.2 ± 1.2 ; $P = 0.004$). The CR group also presented improvements in the subscales of physical function ($P = 0.005$) and stiffness ($P = 0.024$) of the Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC). Additionally, only the CR group presented a significant improvement in quality of life assessed by the Lequesne Index ($P = 0.01$) and in lower limb lean mass measured by dual X-ray absorptiometry ($P = 0.04$). Both CR and PL groups demonstrated significant reductions in pain assessed by the visual numeric scale and by the WOMAC subscale of pain ($P < 0.05$). Similarly, a main effect for time revealed an increase in muscle strength by the leg press 1 repetition maximum ($P = 0.005$) with no significant differences between groups ($P = 0.81$). Renal function measured by ^{51}Cr -EDTA clearance was not different between groups (CR PRE: 86.16 ± 14.36 , POST: 87.25 ± 17.60 mL/min/1.73 m²; PL PRE: 85.15 ± 8.54 , POST: 87.18 ± 9.64 mL/min/1.73 m²; $P = 0.81$). Other kidney function parameters (serum creatinine and urea, estimated creatinine clearance and 24h-urinary creatinine, urea, albumine, protein and albumin:creatinine ratio) were also unchanged.

CONCLUSION: CR supplementation improves physical function, quality of life, and lower limb lean mass in postmenopausal women with knee OA undergoing strengthening exercises and this supplementation does not affect renal function.

DESCRIPTORS: knee osteoarthritis, creatine, exercise therapy, women, postmenopause, randomized controlled trial

1 INTRODUÇÃO

1.1 A importância do exercício físico no tratamento da osteoartrite de joelho

A osteoartrite (OA) é a mais comum das artrites (Lawrence et al., 2008) e constitui a principal causa de incapacidade locomotora nos idosos (Michaud et al., 2006). O grande reflexo socioeconômico representa, portanto, um grave problema de saúde pública (Bitton, 2009).

Uma vez que os membros inferiores são estruturas que sustentam carga, pode-se esperar que fatores biomecânicos desempenhem um papel crucial na instalação e até mesmo na progressão da doença. Nesse sentido, já é conhecida a associação entre OA de joelho e fraqueza do quadríceps (Slemenda et al., 1997), músculo responsável por absorver carga e manter a estabilidade dinâmica dessa articulação. De fato, essa fraqueza está correlacionada com disfunção na OA e associada a um risco aumentado de redução do espaço articular em mulheres (Segal et al., 2010). De forma contrária, o fortalecimento desse músculo pode prevenir a progressão de uma OA já existente (Mikesky et al., 2006). Além disso, têm sido descritas associações positivas entre treinamento de força (TF), independência funcional e redução de dor, enfatizando o papel dos exercícios no tratamento da OA de joelho (Lange et al., 2008).

Portanto, estratégias capazes de potencializar os efeitos do TF sobre força e função muscular nesses pacientes têm enorme potencial terapêutico. Nesse contexto, a suplementação de creatina (CR) tem surgido como um promissor adjuvante (Tarnopolsky, 2000).

1.2 A proposta da suplementação de creatina como adjuvante do exercício físico no tratamento da osteoartrite de joelho

A CR é um composto orgânico derivado de aminoácidos. Cerca de 95% de seu conteúdo localiza-se no músculo esquelético, sendo o restante distribuído entre cérebro, intestino, músculo liso e testículos. É sintetizada no fígado, rins e pâncreas, podendo ainda ser obtida pela alimentação, especialmente através do consumo de carne vermelha e peixes (Wyss e Kaddurah-Daouk, 2000). O principal mecanismo de ação da CR é o de servir como um repositório energético rápido durante a contração muscular. Uma vez dentro das células, a CR é convertida durante o repouso em fosfocreatina (PCR) pela enzima creatinaquinase. Dessa forma, uma grande reserva de PCR fica disponível para a regeneração imediata de ATP hidrolisado durante curtos períodos de atividade intensa. Além disso, a PCR pode funcionar como um tampão energético ao lançar fosfatos de alta energia entre a mitocôndria e outros locais de utilização de ATP dentro da célula (Wyss e Wallimann, 1994).

A utilização de CR por via oral é capaz de elevar os conteúdos de CR e de PCR dentro do músculo, desse modo aumentando o fornecimento de energia e, conseqüentemente, a força e a função muscular (Wyss e Kaddurah-Daouk, 2000). Pode ainda aumentar a massa magra por meio do aumento do volume de treino (Terjung et al., 2000), bem como pela ativação de células satélites (Olsen et al., 2006) e de determinados fatores de crescimento muscular (Deldicque et al., 2005). Os efeitos benéficos dessa suplementação sobre o desempenho em atividades

cotidianas já foram comprovados em adultos e idosos saudáveis (Terjung et al., 2000) e possivelmente decorrem da acentuação da força máxima, potência e volume do treino, podendo levar ao aumento da capacidade funcional.

Tomando por base os achados acima descritos, pode-se especular que a suplementação de CR beneficie também pacientes com OA de joelho, que frequentemente apresentam fraqueza muscular e comprometimento da capacidade física funcional.

1.3 A questão da segurança renal na suplementação de creatina

Nas últimas duas décadas, alguns trabalhos têm sugerido que o uso de CR pode comprometer a função renal (Pritchard e Kalra, 1998; Thorsteinsdottir et al., 2006). Entretanto, o desenho retrospectivo e a ausência de uma descrição detalhada de antecedentes clínicos relevantes limitam a interpretação desses artigos. Apesar de estudos prospectivos em humanos já terem demonstrado que a suplementação de CR não afeta a taxa de filtração glomerular (TFG) em indivíduos saudáveis, eles também apresentam algumas limitações metodológicas, particularmente a falta de um método padrão-ouro para a aferição precisa da TFG (Poortmans et al., 1997; Poortmans e Francaux, 1999; Kreider et al., 2003; Gualano et al., 2008).

Na prática clínica, a função renal é mais comumente avaliada pela dosagem da creatinina sérica ou através da TFG estimada pela creatinina sérica. Entretanto, além desses métodos não serem capazes de mensurar a TFG de forma tão fidedigna quanto outros atualmente disponíveis (Godfrey et al., 2001), a conversão

espontânea da CR em creatinina (Wyss e Kaddurah-Daouk, 2000) pode falsamente sugerir comprometimento renal. Portanto, métodos padrão-ouro para a mensuração da TFG como a depuração plasmática do ácido etilenodiaminotetracético ligado ao cromo⁵¹ (⁵¹Cr-EDTA) certamente constituem melhores alternativas para determinar acuradamente a função renal em indivíduos suplementados com CR (Godfrey et al., 2001).

2 OBJETIVOS

Demonstrar a eficácia da suplementação de creatina associada ao treinamento de força sobre capacidade física funcional, dor, qualidade de vida, força muscular, composição corporal e função renal em mulheres com osteoartrite de joelho.

3 MÉTODOS

3.1 Desenho experimental

Este ensaio clínico aleatorizado, duplo-cego e controlado por placebo (PL) foi conduzido entre julho de 2009 e julho de 2010. Conforme solicitado pelos jornais científicos de alto impacto na área da saúde, foi inscrito no banco de ensaios aleatorizados “ClinicalTrial” (<http://clinicaltrial.gov>), tendo recebido o número de identificação NCT00992043.

As participantes foram aleatoriamente alocadas para suplementação de CR ou PL e submetidas a um programa de treinamento físico por 12 semanas. No período basal e após as 12 semanas foram realizadas avaliações laboratoriais e clínicas (Figura 1), bem como foi analisado o consumo alimentar a fim de verificar possíveis interferências da dieta sobre o estudo.

Figura 1. Representação gráfica do desenho experimental

3.2 Aprovação por comissão de ética

Este estudo foi cadastrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde e aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), sob o número 0849/07.

3.3 Recrutamento e seleção de pacientes

Através da Assessoria de Imprensa do Hospital das Clínicas da FMUSP (HC-FMUSP), entre maio e junho de 2009 foram divulgados em mídia impressa anúncios convidando mulheres sedentárias com OA de joelho a participar de uma seleção para o estudo. Realizou-se uma pré-triagem por telefone e as selecionadas foram então avaliadas no HC-FMUSP com o intuito de verificar os critérios de elegibilidade.

As mulheres deviam ter idade entre 50 e 65 anos e diagnóstico de OA de joelho segundo os critérios do Colégio Americano de Reumatologia (Altman et al., 1987). Foram excluídas aquelas com índice radiográfico de Kellgren e Lawrence (1957) menor que dois ou maior que três, escala visual numérica de dor menor que dois ou maior que oito, doenças cardíacas ou musculoesqueléticas que impedissem a realização do TF, participação em programa de treinamento físico no último ano, dieta vegetariana, uso prévio de CR, TFG menor que 30 mL/min/1,73 m², uso de anti-inflamatórios não esteroidais há menos de 3 semanas, infiltração articular com

ácido hialurônico há menos de 6 meses ou com corticosteroides há menos de 3 meses da intervenção.

Uma vez que o uso de anti-inflamatórios constituía critério de exclusão, foi permitido usar até 3 g de paracetamol por dia em caso de dor importante.

Todas as voluntárias que se adequaram ao perfil supracitado foram convocadas para se informarem sobre os detalhes do projeto e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A).

3.4 Suplementação de creatina e vendamento

Os suplementos foram providenciados conforme o modelo duplo-cego. A aleatorização foi realizada através de sequências geradas por computador em blocos de quatro à medida que as pacientes eram aprovadas na seleção. Apenas um pesquisador sem contato com qualquer tipo de avaliação ou análise dos dados foi responsável pelo ingresso e alocação das pacientes no estudo. Os grupos foram revelados apenas ao término da análise estatística.

Os suplementos foram fornecidos dentro de envelopes contendo 5 g de PL (dextrose) ou de monohidrato de CR (ambos da Ethika, São Paulo, Brasil) em forma de pó. Para verificar a pureza da CR uma amostra foi analisada por meio de cromatografia líquida de alta performance, com grau de pureza estabelecido em 99.9%.

Nos primeiros 7 dias (fase de carregamento), as pacientes fizeram uso diário de 20 g de suplemento divididas em quatro tomadas (café da manhã, almoço, jantar e às 22 horas). Após essa fase, foi utilizada uma dose diária de 5 g durante o almoço até o final do estudo (fase de manutenção). As pacientes foram orientadas a dissolver os suplementos em suco, de forma a mascarar tanto a solubilidade quanto o gosto da dextrose. Os envelopes foram codificados de forma que nem os pesquisadores nem as participantes reconhecessem o suplemento utilizado até o final das análises.

Com o propósito de confirmar a aderência à suplementação, ao final do estudo foi perguntado a cada participante que suplemento ela acreditava que havia sido ingerido. A porcentagem de acerto foi comparada entre os grupos para verificar a eficácia do vendamento.

3.5 Programa de treinamento físico

O programa de treinamento físico foi iniciado no mesmo dia do começo da suplementação. As sessões de treino ocorreram três vezes por semana no Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia do HC-FMUSP, sempre sob a supervisão de profissionais de educação física.

Cada sessão de treino durava cerca de 20 minutos. Iniciava-se com breve aquecimento em esteira e em seguida eram realizados exercícios de força para os grandes grupamentos musculares dos membros inferiores: “leg press”, extensão de joelho e agachamento. Durante a primeira semana, os exercícios foram executados

em duas séries de 15 a 20 repetições. A partir da segunda semana, houve uma progressão para quatro séries de oito a 12 repetições, com aumento na carga ao se ultrapassar o total de 12 repetições em determinado exercício. Ao final de cada sessão era realizado um breve treino de flexibilidade.

Para verificar a aderência ao programa, as pacientes assinaram uma lista de presença ao final de cada sessão de treino. A média de sessões realizadas por cada grupo (CR ou PL) foi analisada ao final do estudo.

3.6 Avaliação do consumo alimentar

No período basal e após as 12 semanas de intervenção foram conduzidas avaliações nutricionais por meio de recordatórios alimentares realizados em três dias diferentes, sendo um deles em final de semana para que a variação da ingestão que habitualmente ocorre nesse período constasse na avaliação. A fim de auxiliar a quantificação das porções alimentares durante o recordatório, foram utilizados desenhos de uma cartilha de alimentos desenvolvida e validada por nosso grupo (Polacow et al., 2003) e um livro contendo fotos de 100 porções alimentares. Os recordatórios foram aplicados por uma nutricionista treinada e tabulados com o auxílio do programa de computador “Virtual Nutri for Windows”, versão 1.0 (Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil) para avaliação da ingestão de macronutrientes e de energia.

3.7 Avaliação da capacidade física funcional

Considerado o desfecho primário deste estudo, o teste de levantar e sentar em 30 segundos corresponde ao número de vezes que se consegue erguer de uma cadeira padrão de 45 centímetros, sem braços, durante o período de 30 segundos (Jones et al., 1999).

3.8 Avaliação da dor e da qualidade de vida

A escala visual numérica de dor (Ritter et al., 2006) corresponde a uma escala de 11 pontos (de zero a 10), em que a extrema esquerda (zero) significa ausência completa de dor e o lado oposto (nota 10) indica a maior dor possível (Figura 2).

Figura 2. Escala visual numérica de dor (modificada de Ritter et al., 2006)

O WOMAC (“Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index”) é um instrumento específico para avaliação de pacientes com OA (Anexo B), sendo composto por questões distribuídas em três domínios: dor, rigidez articular e capacidade física funcional (Fernandes, 2002). Constitui uma medida válida, confiável e reprodutível da função do joelho ou quadril, sendo amplamente usado em estudos clínicos.

O índice algofuncional de Lequesne (Anexo C) possui versões distintas para quadril e joelho. É composto por 11 questões sobre dor, desconforto e capacidade funcional (Marx et al., 2006) . Assim como no WOMAC, pontuações mais altas indicam maior disfunção.

3.9 Avaliação da força muscular

Foi utilizado o teste de uma repetição máxima (1RM) seguindo-se as recomendações da Sociedade Americana de Fisiologistas do Exercício (Brown e Weir, 2001) em máquina de “leg press” horizontal (Kiko’s, São Paulo, Brasil). Cada sessão era antecedida por um período de aquecimento, inicialmente em esteira (Queens, São Paulo, Brasil) por 10 minutos a 5 km/h e depois na própria máquina de “leg press” com oito repetições a 50% da 1RM estimada seguidas de mais três repetições a 70% da 1RM estimada. Havia descansos de 2 minutos entre cada parte do aquecimento (esteira, 50% 1RM e 70% 1RM) e de mais 3 minutos antes do teste propriamente dito. Eram realizadas até cinco tentativas para se atingir 1RM, sempre com estímulos verbais para se atingir a carga máxima, com intervalo de 3 minutos

entre as tentativas. Todas as avaliações foram conduzidas por profissionais de educação física familiarizados com o procedimento.

É importante notar que uma única sessão de teste de força pode promover adaptações neurais, levando a ganhos de força (Enoka, 1988) e consequentemente superestimando os efeitos de uma dada intervenção. A fim de evitar tal viés, tem-se recomendado utilizar sessões de familiarização (Ploutz-Snyder e Giamis, 2001). O número de sessões necessárias para reduzir esse erro de medida varia de acordo com a população estudada. Uma vez que não havia nenhum estudo padronizando tal técnica em pacientes com OA de joelhos, as avaliações foram repetidas em sessões com intervalos de 72 a 96 horas, tantas vezes fossem necessárias até atingir uma variação menor que 5% do valor alcançado na sessão prévia (Bazzucchi et al., 2004), e os dados foram publicados em separado (Apêndice 3).

3.10 Avaliação da composição corporal

A massa magra de membros inferiores e de corpo total e a gordura corporal foram determinadas pela densitometria de dupla emissão com fonte de raios X (Hologic, Massachusetts, EUA) do Laboratório de Metabolismo Ósseo da FMUSP.

O peso foi aferido em balança digital (Filizola, São Paulo, Brasil) e a altura determinada na posição em pé com auxílio de estadiômetro. Essas medidas foram utilizadas no cálculo do índice de massa corpórea (Mattila et al., 1986).

3.11 Avaliação da função renal

Foram realizadas análises séricas (ureia e creatinina), urinárias de 24 horas (creatinina, ureia, albumina e proteínas totais) e ainda a depuração de ^{51}Cr -EDTA. A amostra sanguínea foi obtida através da coleta de 15 mL de sangue da veia antecubital após jejum de 12 horas. Para a coleta da urina de 24 horas, a primeira micção do dia era desprezada e prosseguia-se então o armazenamento de toda a diurese em um frasco previamente fornecido, até o mesmo horário do dia seguinte. As concentrações de creatinina foram determinadas pelo método cinético de Jaffé e a depuração de creatinina estimada através da equação de Cockcroft e Gault (1976). As concentrações de ureia, tanto séricas quanto urinárias, foram mensuradas por método cinético em ultravioleta através da ação da urease, com medida da absorbância em 340 nm. Dosou-se a albuminúria por nefelometria e a proteinúria através de método cinético por cloreto de benzetônio. A razão albumina/creatinina foi calculada a partir dos valores obtidos na análise da urina de 24 horas. Todas as dosagens foram realizadas pelo Laboratório Central do HC-FMUSP através de “kits” comerciais (Roche Laboratory Systems, Mannheim, Alemanha).

A depuração de ^{51}Cr -EDTA foi realizada após 24 horas de dieta restrita em proteína e jejum de 12 horas noturnas. Uma dose de 100 μCi do ^{51}Cr -EDTA em um volume de 1 mL foi administrada em veia periférica do braço direito e amostras de 10 mL de sangue foram coletadas no braço contralateral após 240 e 360 minutos e então centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos para separação do plasma. Em um contador de poço calibrado para a energia do cromo⁵¹ (320 keV), 3 mL de plasma

e 3 mL de uma solução padrão obtida pela diluição da mesma atividade (100 μ Ci) em 500 mL de água foram analisados por 5 minutos. A taxa de depuração plasmática foi calculada pelo intercepto da curva plasmática em modelo de compartimento único, com correção por 1,73 m² de superfície corpórea pelo método de Brøchner-Mortensen modificado (Blake e Grewal, 2005). As análises foram realizadas no Instituto de Radiologia do HC-FMUSP.

3.12 Cálculo da amostra e análise estatística

Utilizando a capacidade física funcional como referência (desfecho primário do estudo), determinou-se que 18 pacientes teriam um poder de 80% com 5% de significância e tamanho estimado de efeito de 0,3.

Cada comparação foi analisada por intenção-de-tratar (“intention-to-treat”), independente da aderência ao uso do suplemento. Dados paramétricos foram testados segundo o modelo misto para análise de medidas repetidas. Análise “post-hoc” por teste de Tukey foi utilizada para comparações múltiplas. Dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Wilcoxon e medidas não repetidas pelo “t” de Student ou teste de Fisher. Para o cálculo do P foi utilizado o programa “SAS System for Windows”, versão 9.0 (SAS Institute, Carolina do Norte, EUA). A significância foi previamente estabelecida como $P < 0,05$. Os dados foram apresentados como média e desvio padrão.

4 RESULTADOS

4.1 Participantes

Trezentas e quarenta e cinco mulheres se candidataram para o estudo, porém apenas 26 atingiram os critérios de inclusão e foram aleatoriamente alocadas em um dos dois grupos do estudo. Duas pacientes do grupo PL foram excluídas por motivos pessoais antes do início da intervenção, tendo sido analisadas 13 pacientes do grupo CR e 11 do PL (Figura 3).

Figura 3. Fluxograma de participantes

As características de base dos grupos são apresentadas na Tabela 1. Não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas ($P > 0,05$).

Tabela 1 – Características basais dos grupos

CARACTERÍSTICA	CREATINA (n = 13)	PLACEBO (n = 11)
Idade (anos)	58 ± 3	56 ± 3
Índice de massa corpórea (Kg/m ²)	28,5 ± 3,8	29,7 ± 3,2
Duração da doença (anos desde o diagnóstico)	5 ± 3	5 ± 4
Índice radiográfico de Kellgren-Lawrence (n (%))		
Grau II	2 (15,4)	2 (18,2)
Grau III	11 (84,6)	9 (81,1)
Medicamentos para osteoartrite em uso (n (%))		
Glucosamina	4 (30,8)	4 (36,4)
Condroitina	3 (23,1)	3 (27,3)
Diacereína	0 (0,0)	1 (9,1)

NOTA: Dados apresentados como média ± desvio padrão ou número de pacientes (% da amostra). Não foram observadas diferenças significantes entre os grupos ($P > 0,05$).

4.2 Eficácia do vendamento

Apenas seis pacientes do grupo CR (46,1%) e cinco do PL (45,5%) conseguiram identificar corretamente o suplemento utilizado ($P = 0,81$), sem diferença significativa para a taxa de acerto entre os grupos ($P > 0,05$).

4.3 Aderência ao treinamento físico

As pacientes frequentaram cerca de 79 treinos no grupo CR ($78,6 \pm 5,8$) e de 82 treinos no grupo PL ($82,3 \pm 3,9\%$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($P = 0,52$).

4.4 Consumo alimentar

Os dados de consumo alimentar são mostrados na Tabela 2. Não foram verificadas diferenças estatisticamente significantes para nenhuma das variáveis analisadas ($P > 0,05$).

Tabela 2 – Consumo alimentar dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico

VARIÁVEL	CREATINA (n = 13)		PLACEBO (n = 11)	
	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS
Proteína (g/d)	77 ± 18	83 ± 24	81 ± 18	79 ± 24
Carboidrato (g/d)	232 ± 52	237 ± 60	269 ± 56	267 ± 55
Lipídios (g/d)	64 ± 15	74 ± 22	75 ± 19	66 ± 14
Energia total (Kcal/d) ..	$1\,817 \pm 326$	$1\,948 \pm 417$	$2\,090 \pm 376$	$1\,977 \pm 349$
Proteína/peso (g/Kg/d)	$1,3 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,4$	$1,4 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,4$

NOTA: Dados apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Não foram observadas diferenças significantes entre os grupos ($P > 0,05$).

4.5 Capacidade física funcional

Foi observada melhora significativa ($P = 0,006$) no teste de levantar e sentar em 30 segundos apenas no grupo CR (Figura 4). Além disso, foi observado efeito de interação entre os grupos (CR PRÉ: $15,7 \pm 1,4$, CR PÓS: $18,1 \pm 1,8$; PL PRÉ: $15,0 \pm 1,8$, PL PÓS: $15,2 \pm 1,2$; $P = 0,004$).

Figura 4. Teste de levantar e sentar em 30 segundos nos grupos creatina e placebo antes e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico. * Efeito simples de tempo ($P = 0,006$). # Efeito de interação ($P = 0,004$)

4.6 Dor e qualidade de vida

A dor foi significativamente reduzida em ambos os grupos, tanto quando mensurada pela escala visual numérica de dor quanto pelo domínio de dor do

WOMAC (Tabela 3). Entretanto, apenas o grupo CR apresentou melhora significativa na qualidade de vida mensurada pelo Lequesne ($P = 0,010$) e pelos domínios de rigidez ($P = 0,024$) e de capacidade física funcional ($P = 0,005$) do WOMAC.

Tabela 3 – Dor e qualidade de vida dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico

VARIÁVEL	PRÉ	PÓS	P (PRÉ x PÓS)
Escala visual numérica de dor			
Creatina	$5,2 \pm 1,8$	$2,5 \pm 2,3$	0,004
Placebo	$5,3 \pm 1,7$	$2,6 \pm 2,2$	0,003
WOMAC: dor			
Creatina	$5,8 \pm 4,9$	$3,2 \pm 2,0$	0,012
Placebo	$8,0 \pm 2,9$	$5,3 \pm 3,2$	0,049
WOMAC: rigidez			
Creatina	$2,7 \pm 1,7$	$1,3 \pm 1,1$	0,024
Placebo	$3,2 \pm 1,3$	$2,7 \pm 1,2$	0,254
WOMAC: capacidade física funcional			
Creatina	$15,1 \pm 13,9$	$9,0 \pm 7,1$	0,005
Placebo	$23,3 \pm 10,8$	$15,9 \pm 9,8$	0,097
Índice algofuncional de Lequesne			
Creatina	$6,3 \pm 4,1$	$4,7 \pm 2,6$	0,010
Placebo	$8,9 \pm 3,8$	$6,8 \pm 2,6$	0,138

NOTA: Dados apresentados como média $\pm$ desvio padrão e nível de significância (P) entre os períodos basal e pós-intervenção. WOMAC: “Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index”.

4.7 Força muscular

Houve aumento da força muscular para ambos os grupos (Figura 5), com efeito principal de tempo (CR PRÉ: $90,0 \pm 18,5$ kg, CR PÓS: $99,7 \pm 14,9$ kg, PL PRÉ: $89,6 \pm 12,9$ kg, PL PÓS: $100,5 \pm 18,6$ kg; $P = 0,005$), sem diferenças significantes entre grupos ($P = 0,81$).

Figura 5. Força muscular dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico. * Efeito principal de tempo ($P = 0,005$)

4.8 Composição corporal

Nos dois grupos houve aumento significativo da massa magra total e redução do percentual de gordura corporal, com efeito principal de tempo ($P = 0,02$ e $P =$

0,008, respectivamente), sem diferenças entre grupos. Por outro lado, apenas o grupo CR apresentou aumento de massa magra dos membros inferiores ($P = 0,04$). Não houve variação no peso corporal nem no índice de massa corpórea ($P > 0,05$). A Tabela 4 mostra os dados da composição corporal.

Tabela 4 – Composição corporal dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico

VARIÁVEL	CREATINA (n = 13)		PLACEBO (n = 11)		P (CR x PL)
	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	
Peso (kg)	71,5 ± 11,4	73,0 ± 10,3	76,6 ± 8,8	77,6 ± 9,8	0,75
Índice de massa corpórea (kg/m ²)	28,5 ± 3,8	29,2 ± 3,7	29,7 ± 3,2	30,1 ± 3,5	0,63
Massa magra (kg) ⁽¹⁾	42,6 ± 6,5	43,7 ± 5,7	45,3 ± 4,5	46,1 ± 4,9	0,65
Gordura (kg)	27,2 ± 5,5	26,7 ± 5,4	30,0 ± 5,0	29,9 ± 5,8	0,57
Gordura (%) ⁽²⁾	37,8 ± 3,4	36,8 ± 2,9	38,6 ± 3,5	38,1 ± 4,1	0,37
Massa magra de membros inferiores (kg)	13,3 ± 2,3	13,8 ± 2,0 ⁽³⁾	14,6 ± 2,1	15,1 ± 2,1	0,09

NOTA: Dados apresentados como média ± desvio padrão e nível de significância (P) entre os grupos. Não foram observadas diferenças entre grupos.

⁽¹⁾ Efeito principal de tempo (PRÉ x PÓS); $P = 0,02$.

⁽²⁾ Efeito principal de tempo (PRÉ x PÓS); $P = 0,008$.

⁽³⁾ Efeito simples de tempo (PRÉ x PÓS); $P = 0,04$.

4.9 Função renal

Não foram observadas diferenças significantes na depuração de ^{51}Cr -EDTA (CR PRÉ: $86,16 \pm 14,36$, PÓS: $87,25 \pm 17,60$ mL/min/1,73 m²; PL PRÉ: $85,15 \pm 8,54$, PÓS: $87,18 \pm 9,64$ mL/min/1,73 m²; $P = 0,81$; Figura 6), bem como em qualquer outro parâmetro de avaliação renal (Tabela 5) após as 12 semanas de suplementação de CR ou PL.

Figura 6. Depuração de ^{51}Cr -EDTA dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico. Não foram observadas diferenças significantes entre os grupos ($P > 0,05$)

Tabela 5 – Função renal dos grupos creatina e placebo no período basal e após 12 semanas de suplementação associada ao treinamento físico

VARIÁVEL	CREATINA (n = 13)		PLACEBO (n = 11)		P (CR x PL)
	PRÉ	PÓS	PRÉ	PÓS	
Creatinina sérica (mg/dL)	0,77 (0,12)	0,78 (0,10)	0,76 (0,13)	0,78 (0,09)	0,89
Creatinina urinária (g/24h)	1,05 (0,16)	1,05 (0,26)	0,98 (0,20)	1,14 (0,18)	0,12
Ureia sérica (mg/dL)	39,46 (9,08)	36,83 (8,09)	36,64 (8,71)	36,27 (8,03)	0,55
Ureia urinária (g/24h)	21,81 (5,21)	18,94 (6,36)	19,64 (4,67)	19,45 (4,41)	0,27
Albuminúria (mg/24h) ...	3,85 (2,36)	5,13 (2,12)	0,76 (0,13)	6,23 (4,06)	0,38
Proteinúria (g/24h)	0,11 (0,05)	0,09 (0,06)	0,11 (0,06)	0,10 (0,05)	0,56
Razão albumina/ creatinina (mg/g/24h)	6,26 (3,37)	6,63 (2,65)	5,31 (2,26)	6,59 (4,57)	0,57
Depuração estimada de creatinina (mL/min/1,73 m ²)	106,68 (23,73)	107,71 (24,36)	119,00 (21,23)	117,23 (20,69)	0,72

NOTA: Dados apresentados como média $\pm$ desvio padrão e nível de significância (P) entre os grupos. Não foram observadas diferenças significantes em nenhum parâmetro analisado.

5 DISCUSSÃO

Este estudo demonstra que a suplementação de CR melhora capacidade física funcional, qualidade de vida e massa magra de membros inferiores em mulheres com OA de joelho submetidas a um programa de TF, sem alterar a função renal. Conjuntamente, esses achados apontam para uma nova aplicação terapêutica da suplementação de CR: potencializar os já conhecidos benefícios do TF para o tratamento da OA de joelho.

Evidências da literatura científica demonstram melhora nos sintomas da OA para pacientes submetidos a programas de treinamento físico (Lange et al., 2008). Apesar de o TF ser recomendado como tratamento de primeira escolha na OA de joelho (Zhang et al., 2007), pouco se conhece sobre a prescrição ideal para atingir os maiores benefícios. Até o momento, apenas um estudo comparou diretamente os efeitos do TF de alta intensidade contra o de baixa intensidade em pacientes com OA de joelho. Os autores verificaram que o TF de alta intensidade levou a um consistente, apesar de não significativo, aumento do desempenho funcional, além de maior redução da dor nesses indivíduos (Jan et al., 2008). Com base nesse achado, pode-se sugerir que estratégias capazes de aumentar a intensidade do treino favoreçam pacientes com OA de joelho. Nesse cenário, a suplementação de CR parece ser promissora.

Como esperado, a suplementação de CR associada a um programa de TF para membros inferiores conduziu a uma melhora significativa da capacidade física funcional quando comparada ao TF exclusivo. Esse achado está em concordância com estudos prévios que mostraram a utilidade da suplementação de CR na reabilitação de pacientes com comprometimento muscular (Hespel et al., 2001;

Louis et al., 2003). Nesse sentido, Hespel et al. (2001) demonstraram um efeito positivo dessa suplementação na recuperação de massa muscular após um período de imobilização do membro inferior em sujeitos saudáveis. Além disso, Kley et al. (2008) publicaram uma interessante meta-análise reportando melhora da força muscular e da massa magra em pacientes com miodistrofias.

Mais recentemente, foi sugerido que a suplementação de CR pode potencializar os efeitos do treinamento físico sobre a função muscular em pacientes com miopatias inflamatórias idiopáticas (Chung et al., 2007). Portanto, os achados atuais apontam para uma aplicação terapêutica da suplementação de CR em condições caracterizadas por fraqueza e consumo muscular, noção que pode ser estendida à OA de joelho. De fato, a melhora da força muscular e da massa magra de membros inferiores tem relevância para essa população, considerando-se que a fraqueza muscular é frequentemente observada na OA de joelho (Valderrabano e Steiger, 2011).

É interessante notar que os achados do presente estudo são discordantes dos encontrados por Roy et al. (2005), que não obtiveram melhora na recuperação funcional após 40 dias de suplementação de CR em pacientes com OA submetidos à artroplastia total do joelho. No entanto, os pacientes estudados por Roy et al. eram mais graves, o período de suplementação de CR foi menor e eles também não foram submetidos a um programa de TF, fatores que podem ter contribuído para os resultados discrepantes.

Atualmente, o mecanismo mais conhecido para explicar a eficácia da suplementação de CR sobre a função muscular é a potencialização do sistema PCR de energia, permitindo-se manter uma maior intensidade de força por maiores períodos de tempo (Terjung et al., 2000). No entanto, acredita-se que a suplementação de CR pode afetar o fornecimento de energia da cartilagem articular. Embasando esta ideia, a enzima creatinaquinase está presente não apenas nos tecidos excitáveis como músculo, coração e cérebro (Wallimann et al., 1992), mas também naqueles pouco ativos metabolicamente, como ossos e cartilagem (Granström, 1986; Funanage et al., 1992). De fato, diferentes isoformas dessa enzima têm sido encontradas durante os estágios de desenvolvimento do osso e da cartilagem, sugerindo um importante papel da creatinaquinase e da PCR para o desenvolvimento, diferenciação e função desses tecidos (Katoh et al., 1991; Wallimann e Hemmer, 1994; Gerber et al., 2005). Um interessante estudo demonstrou que a CR apresenta efeito estimulatório sobre a atividade metabólica, diferenciação e mineralização das células osteoblasto-símiles (Gerber et al., 2005). Infelizmente, a falta de marcadores não invasivos precisos do metabolismo da cartilagem tem dificultado a investigação do papel direto da CR sobre a reparação cartilaginosa em humanos. Seria ainda improvável que a reparação cartilaginosa induzida pela CR ocorresse dentro de 3 meses.

Além disso, especulamos que a CR possa aumentar a capacidade física funcional através do aumento da força máxima, potência e volume de treino. Como neste estudo a suplementação de CR não afetou a força máxima, resta-nos a hipótese de ter aumentado a potência muscular ou a qualidade do treino.

Infelizmente, por questões técnicas não foi possível avaliar tais parâmetros no presente estudo.

Em relação à função renal, os achados deste estudo constituem forte evidência de que a suplementação de CR não afeta a TFG nessa população. Apesar de alguns autores já terem obtido resultados semelhantes em outras populações (Poortmans et al., 1997; Poortmans e Francaux 1999; Kreider et al., 2003; Gualano et al., 2008), a TFG foi aferida utilizando métodos menos acurados. Além disso, alguns desses exames, como a creatinina sérica e a depuração de creatinina, podem ser influenciados pela suplementação de CR. Nesse sentido, a depuração de ^{51}Cr -EDTA fornece uma medida objetiva e acurada da TFG em indivíduos suplementados com CR.

Através do uso de ^{51}Cr -EDTA, nosso grupo demonstrou previamente que a suplementação de CR não deteriora a TFG em um atleta jovem com rim único (Gualano et al., 2010d) e em adultos com diabetes tipo 2 (Gualano et al., 2010c). No presente estudo, essa noção é expandida a mulheres pós-menopausadas. Esse achado é de grande importância ao se considerar o crescente acúmulo de evidências mostrando diversas aplicações terapêuticas para a suplementação de CR em indivíduos idosos, incluindo melhora em fadiga, força muscular, composição corporal, densidade mineral óssea, controle glicêmico e cognição (Gualano et al., 2010a; Gualano et al., 2010b).

Este estudo apresentou algumas limitações. Primeiramente, não foram avaliados pacientes com OA grave. Portanto, os presentes achados não podem ser

extrapolados para pacientes com doença mais debilitante. Além disso, estes dados não podem ser generalizados para homens com OA de joelho, uma vez que a nossa população foi formada estritamente por mulheres. Em terceiro lugar, o período de acompanhamento foi relativamente curto, fazendo-se necessárias investigações adicionais sobre eficácia e segurança a longo prazo. Também não foi possível determinar os mecanismos biológicos responsáveis pelas respostas obtidas neste estudo, portanto o papel da CR sobre a cartilagem articular bem como sobre a capacidade física funcional precisam ainda ser esclarecidos. Finalmente, nossa população não apresentava comprometimento da TFG, portanto a segurança da suplementação de CR sobre a função renal pode não se aplicar a pessoas com comprometimento renal.

6 CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou, pela primeira vez na literatura, que a suplementação de CR é capaz de melhorar capacidade física funcional, dor, qualidade de vida e massa magra de membros inferiores em mulheres com OA de joelho submetidas a um programa de treinamento físico, além de não afetar a TFG nessa população.

7 ANEXOS

Anexo A. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (HC-FMUSP)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1 NOME DO PACIENTE:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: _____ SEXO: M F

DATA NASCIMENTO: _____

ENDEREÇO: _____ Nº _____ APTO: _____

BAIRRO: _____ CIDADE: _____

CEP: _____ TELEFONE: DDD () _____

2 RESPONSÁVEL LEGAL:

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc) _____

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: _____ SEXO: M F

DATA NASCIMENTO: _____

ENDEREÇO: _____ Nº _____ APTO: _____

BAIRRO: _____ CIDADE: _____

CEP: _____ TELEFONE: DDD () _____

DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA ASSOCIADA AO TREINAMENTO FÍSICO EM PACIENTES COM OSTEOARTRITE DE JOELHO**

PESQUISADOR: **Profª Drª Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá**

CARGO/FUNÇÃO: **Professora Titular** INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº **42708**

UNIDADE DO HCFMUSP: **Disciplina de Reumatologia**

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

☒ **RISCO MÍNIMO**

☐ RISCO MÉDIO

☐ RISCO BAIXO

☐ RISCO MAIOR

3. DURAÇÃO DA PESQUISA : 2 ANOS.

1. DESENHO DO ESTUDO E OBJETIVOS:

Estas informações estão sendo fornecidas para a sua participação voluntária neste estudo, que tem como objetivo avaliar se tomar creatina – uma substância natural que pode ser encontrada, por exemplo, na carne e no peixe – junto com o treinamento físico melhora a condição física e diminui a dor no joelho de pessoas que têm osteoartrite de joelho.

Iremos selecionar pacientes com osteoartrite de joelho para fazer treinamento físico. A osteoartrite de joelhos pode prejudicar a força da sua coxa e o treinamento físico pode corrigir (ou melhorar) essa fraqueza. Além disso, uma parte dos pacientes irá tomar “creatina”, uma substância natural que pode ser encontrada, por exemplo, na carne e no peixe. É provável que tomar creatina junto com o treinamento físico melhore a sua condição física, a dor dos seus joelhos e possa talvez até evitar a piora da sua doença.

Você está sendo convidado a participar desta pesquisa. Lembre-se que participar deste estudo é uma decisão é inteiramente sua.

2. PROCEDIMENTOS QUE SERÃO REALIZADOS, COM SEUS PROPÓSITOS E IDENTIFICAÇÃO DOS QUE FOREM EXPERIMENTAIS E NÃO ROTINEIROS:

Iremos ler a sua ficha médica para conhecer as suas doenças e os remédios que você usa, além de outras informações médicas que possam ser úteis.

O seu treinamento físico será realizado no Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia (LACRE), que fica no quarto andar do Hospital das Clínicas (HC-FMUSP). Você praticará exercícios físicos sob supervisão e acompanhamento de uma equipe especializada (médico, nutricionista e professor de educação física) três (03) vezes por semana durante doze (12) semanas. Antes do início do estudo e logo após as doze semanas de treinamento, você passará por avaliações que incluirão questionários, testes físicos, coleta de sangue e de urina, exames de imagem e biópsia muscular.

Você receberá envelopes contendo um pó para tomar misturado a um suco. Este pó poderá conter creatina ou outra substância chamada “dextrose”. Metade dos pacientes deste estudo irá tomar creatina e a outra metade irá tomar dextrose. Você poderá ser sorteado, ao acaso, para entrar em qualquer um dos dois grupos. A dextrose é uma substância que será usada como “placebo”, ou seja, não tem nenhum efeito medicamentoso sobre os sintomas da doença mas também não oferece risco para a sua saúde. Nem você nem o médico saberão que substância (creatina ou dextrose) você está tomando. Essa informação apenas poderá ser revelada no final do estudo.

Apesar da creatina já ser usada de rotina em pessoas que fazem treinamento físico e querem ganhar massa muscular, bem como em atletas que desejam obter um melhor desempenho, o seu uso em pacientes com osteoartrite de joelho ainda é experimental.

3. RELAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS ROTINEIROS E COMO SÃO REALIZADOS

COLETA DE SANGUE: você deverá comparecer em jejum noturno de doze (12) horas. Será coletado 15 mL de sangue da veia do antebraço.

COLETA DE URINA: você deverá desprezar a primeira urina do dia e marcar o horário. A partir daí, deverá armazenar toda a sua urina no recipiente fornecido durante vinte e quatro (24) horas, até o horário da primeira coleta.

RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DA COXA: você será posicionado na posição deitada no aparelho de ressonância, com as pernas estendidas. Será usada uma bandagem para evitar a movimentação das suas pernas durante o exame, que irá durar cerca de seis (06) minutos.

EXAME DE FUNÇÃO RENAL (MEDICINA NUCLEAR): você deverá não ingerir proteínas (carne, leite etc) na noite anterior ao exame e deverá comparecer em jejum. Será injetada uma substância (o radiofármaco “EDTA”) na veia de um braço e serão coletadas amostras de 10 mL de sangue no outro braço, 240 e 360 minutos após a injeção. A duração do teste será de 6 horas. Este exame serve para verificar como está a função do seu rim.

BIÓPSIA MUSCULAR POR AGULHA: após a limpeza do local, você receberá uma anestesia local e será feita uma incisão de cinco (05) milímetros na sua coxa usando-se um bisturi. A agulha é então inserida e uma pequena amostra (do tamanho de uma ervilha) será retirada do músculo da coxa. O pequeno corte será então fechado com um “ponto falso” (sem sutura) e uma bandagem. A sua perna será enfaixada para prevenir inchaço no local. Você deverá manter a bandagem por vinte e quatro (24) horas e manter a incisão limpa e seca por setenta e duas (72) horas.

4. DESCONFORTOS E RISCOS ESPERADOS NOS PROCEDIMENTOS:

INGESTÃO DE CREATINA: o único efeito colateral conhecido é o ganho de peso devido à retenção de líquidos (“inchaço”) no corpo. Entretanto, já foram relatados outros efeitos, como náuseas, azia, diarreia, desidratação, câimbras e tontura. O excesso de creatina poderá exigir um trabalho aumentado dos rins e do fígado; por isso, você fará exames de sangue e urina e será acompanhado por médicos e nutricionistas para monitorar as funções do seu organismo.

TREINAMENTO FÍSICO: você poderá sentir cansaço físico na primeira semana, o que provavelmente não acontecerá nas semanas seguintes. Pacientes que não se alimentarem antes do treino poderão apresentar tontura e mal-estar. É possível que a sua pressão arterial aumente durante os exercícios, por isso você será devidamente acompanhado por profissionais da área da saúde durante o treinamento. Entretanto, sabemos que o treinamento físico pode ajudar a melhorar a sua pressão arterial a longo prazo.

EXAME DE SANGUE: nas pessoas emotivas, desnutridas ou com glicose baixa, a coleta de sangue poderá causar desconforto. A coleta poderá ainda causar um hematoma quando o local da punção não for comprimido na hora. Em alguns casos, pode ocorrer trombose da veia. Nos pacientes com alguma doença de coagulação do sangue, o sangramento pode continuar por um longo período, mesmo que seja feita compressão no local.

BIÓPSIA MUSCULAR: alguns indivíduos poderão sentir dor no local da biópsia por alguns dias, mas essa sensação não deverá ser maior do que a de um exercício físico intenso. A biópsia deixará uma pequena cicatriz (mais ou menos 0,5 cm) na sua perna. É possível que ocorra inchaço no local da biópsia e até mesmo sangramento (tanto através da pele como dentro do músculo) com formação de hematoma, que podem ser tratados com compressas de gelo e elevação da perna. Apesar de infreqüentes, ainda podem ocorrer infecção no local da biópsia e diminuição da sensibilidade local (sensação de “pele anestesiada”). Entretanto, utilizaremos um método bastante simples, rápido (dura cerca de 5 a 10 minutos) e seguro de biópsia por agulha. Além disso, o médico que irá fazer a sua biópsia foi treinado no exterior pelo grupo mais experiente do mundo nessa técnica. Em 40 anos de trabalho desse grupo, nunca houve complicações graves.

5. BENEFÍCIOS PARA O PARTICIPANTE:

Iremos desenvolver um programa de exercícios adequado à sua condição clínica e física. Participando desse programa com regularidade você poderá melhorar o seu condicionamento, o que irá permitir fazer as atividades diárias com mais disposição. Caso você sinta dores nos joelhos, é possível que elas aliviem ou até mesmo desapareçam.

É possível que as pessoas que tomarem creatina ganhem ainda mais massa muscular e tenham uma melhora ainda maior das dores nos joelhos, entretanto somente ao final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício relacionado a esta substância.

Ao final do estudo, você receberá uma orientação nutricional e um programa personalizado de exercícios físicos para que você possa seguir um estilo de vida mais saudável.

Qualquer sintoma que você sinta durante a prática dos exercícios físicos, você deverá procurar o Ambulatório de Reumatologia (quinto andar, bloco 4A) do Prédio dos Ambulatórios do Hospital das Clínicas (HC-FMUSP).

6. RELAÇÃO DE PROCEDIMENTOS ALTERNATIVOS QUE POSSAM SER VANTAJOSOS, PELOS QUAIS O PACIENTE POSSA OPTAR:

Você pode optar por fazer exercícios com a fisioterapia, procedimento que já é adotado de rotina para pacientes com osteoartrite de joelhos.

7. ESCLARECIMENTOS SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para o esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Professora Dra Eloísa Silva Dutra de Oliveira Bonfá, que pode ser encontrada no setor de Reumatologia do prédio da Faculdade de Medicina (Av. Dr. Arnaldo de Carvalho, 455, 3º andar) e no telefone (11) 3061-7490.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar – Tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20 – FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnnet.usp.br

Você terá total liberdade para retirar o seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição. Caso ocorra algum dano à saúde decorrente da pesquisa, será assegurado o seu direito de receber assistência médica no Hospital das Clínicas (HC-FMUSP).

Os pesquisadores têm o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Caso deseje, você poderá tomar conhecimento dos resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores durante o estudo. Ao final do estudo, você poderá ter acesso a todos os resultados e dados que sejam referentes a você.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas, bem como não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li - ou que foram lidas para mim - descrevendo o estudo “EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA ASSOCIADA AO TREINAMENTO FÍSICO EM PACIENTES COM OSTEOARTRITE DE JOELHO”.

Eu discuti com a Dra. Eloísa Silva Dutra de Oliveira Bonfá sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente ou do seu representante legal

Data / /

Assinatura da testemunha

Data / /

(para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data / /

Anexo B. Questionário WOMAC

ÍNDICE WOMAC PARA OSTEOARTRITE

SEÇÃO A

As perguntas a seguir se referem à intensidade da **DOR** que você está atualmente sentindo devido à artrite do seu joelho. Para cada situação, marque com um "X" a opção que indica a intensidade da dor que sentiu **NAS ÚLTIMAS 72 HORAS**:

Pergunta-se: **QUAL A INTENSIDADE DA SUA DOR:**

1. Caminhando em um lugar plano?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

2. Subindo ou descendo escadas?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

3. À noite deitado na cama?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

4. Sentando-se ou deitando-se?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

5. Ficando em pé?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

SEÇÃO B

As perguntas a seguir se referem à intensidade da **RIGIDEZ NAS JUNTAS (NÃO É DOR!)** que você está atualmente sentindo devido à artrite do seu joelho **NAS ÚLTIMAS 72 HORAS**. Rigidez é uma sensação de restrição ou dificuldade para movimentar suas juntas.

1. Qual é a intensidade da sua RIGIDEZ logo após acordar de manhã?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

2. Qual é a intensidade da sua RIGIDEZ após sentar-se, deitar-se ou repousar no decorrer do dia?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

SEÇÃO C

As perguntas a seguir se referem à sua **ATIVIDADE FÍSICA**. Nós chamamos de atividade física a sua capacidade de se movimentar e cuidar de você mesmo(a). Para cada uma das atividades a seguir, indique o grau de dificuldade que você apresenta devido à artrite do seu joelho **NAS ÚLTIMAS 72 HORAS**. Por favor marque suas respostas com um "X".

Pergunta-se: **QUAL O GRAU DE DIFICULDADE QUE VOCÊ TEM PARA:**

1. Descer escadas?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

2. Subir escadas?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

3. Levantar-se estando sentada?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

4. Ficar em pé?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

5. Abaixar-se para pegar algo?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

6. Andar no plano?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

7. Entrar e sair do carro?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

8. Ir fazer compras?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

9. Colocar meias?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

10. Levantar-se da cama?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

11. Tirar as meias?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

12. Ficar deitado na cama?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

13. Entrar e sair do banho?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

14. Sentar-se?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

15. Sentar e levantar do vaso sanitário?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

16. Fazer tarefas domésticas pesadas?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

17. Fazer tarefas domésticas leves?

Nenhuma () Pouca () Moderada () Intensa () Muito intensa ()

Anexo C. Índice algofuncional de Lequesne

DOR OU DESCONFORTO:	
• Durante o descanso noturno:	
– Nenhum ou insignificante	0
– Somente em movimento ou em certas posições	1
– Mesmo sem movimento	2
• Rigidez matinal ou dor que diminui após se levantar:	
– 1 minuto ou menos	0
– Mais de 1 minuto porém menos de 15 minutos	1
– Mais de 15 minutos	2
• Depois de andar por 30 minutos?	0 - 1
• Enquanto anda:	
– Nenhuma	0
– Somente depois de andar alguma distância	1
– Logo depois de começar a andar e aumenta se continuar a andar	2
– Depois de começar a andar, não aumentando	1
• Enquanto se levanta da cadeira, sem ajuda dos braços?	0 – 1
MÁXIMA DISTÂNCIA CAMINHADA (pode caminhar com dor):	
• Sem limite	0
• Mais de 1 km, porém com alguma dificuldade	1
• Aproximadamente 1 km (em aprox. 15 minutos)	2
• De 500 a 900 metros (aprox. 8 a 15 minutos)	3
• De 300 a 500 metros	4
• De 100 a 300 metros	5
• Menos de 100 metros	6
• Com uma bengala ou muleta	1
• Com 2 muletas ou 2 bengalas	2
ATIVIDADES DO DIA-A-DIA:	
• Consegue subir um andar de escadas	0 - 0,5 - 1 - 1,5 - 2*
• Consegue descer um andar de escadas	0 - 0,5 - 1 - 1,5 - 2*
• Agachar-se ou ajoelhar-se	0 - 0,5 - 1 - 1,5 - 2*
• Consegue andar em chão irregular/esburacado	0 - 0,5 - 1 - 1,5 - 2*
SOMA DA PONTUAÇÃO:	
✓ ≥ 14 pontos = Extremamente grave	*Sem dificuldade: 0
✓ 11-13 pontos = Muito grave	Pouca dificuldade: 0,5
✓ 8 a 10 pontos = Grave	Com dificuldade: 1
✓ 5 a 7 pontos = Moderada	Muita dificuldade: 1,5
✓ 1 a 4 pontos = Pouco acometimento	Incapaz: 2

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altman RD, Bloch DA, Bole GG, Jr., Brandt KD, Cooke DV, Greenwald RA, Hochberg MC, Howell DS, Kaplan D, Koopman WJ. Development of clinical criteria for osteoarthritis. *J Rheumatol*. 1987;14:3-6.
- Bazzucchi I, Felici F, Macaluso A, De Vito G. Differences between young and older women in maximal force, force fluctuations, and surface EMG during isometric knee extension and elbow flexion. *Muscle Nerve*. 2004;30:626-35.
- Bitton R. The economic burden of osteoarthritis. *Am J Manag Care*. 2009;15(Suppl 8):230-5.
- Blake GM, Grewal GS. An evaluation of the body surface area correction for ^{51}Cr -EDTA measurements of glomerular filtration rate. *Nucl Med Commun*. 2005;26(5):447-51.
- Brown LE, Weir JP. ASEP Procedures recommendation I: accurate assessment of muscular strength and power. *JEP Online*. 2001;4(3):1-21.
- Chung YL, Alexanderson H, Pipitone N, Morrison C, Dastmalchi M, Stahl-Hallengren C, Richards S, Thomas EL, Hamilton G, Bell JD, Lundberg IE, Scott DL. Creatine supplements in patients with idiopathic inflammatory myopathies who are clinically weak after conventional pharmacologic treatment: six-month, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum*. 2007;57(4):694-702.
- Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976;16(1):31-41.

Deldicque L, Louis M, Theisen D, Nielens H, Dehoux M, Thissen JP, Rennie MJ, Francaux M. Increased IGF mRNA in human skeletal muscle after creatine supplementation. *Med Sci Sports Exerc.* 2005;37(5):731-6.

Enoka RM. Muscle strength and its development: new perspectives. *Sports Med.* 1988;6(3):146-68.

Fernandes MI. *Tradução e validação do questionário de qualidade de vida específico para osteoartrose WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities) para a língua portuguesa* [dissertação]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 2002.

Funanage VL, Carango P, Shapiro IM, Tokuoka T, Tuan RS. Creatine kinase activity is required for mineral deposition and matrix synthesis in endochondral growth cartilage. *Bone Miner.* 1992;17(2):228-36.

Gerber I, ap Gwynn I, Alini M, Wallimann T. Stimulatory effects of creatine on metabolic activity, differentiation and mineralization of primary osteoblast-like cells in monolayer and micromass cell cultures. *Eur Cell Mater.* 2005;10:8-22.

Godfrey T, Cuadrado MJ, Fofi C, Abbs I, Khamashta MA, Nunan T, Hughes GR. Chromium-51 ethylenediamine tetraacetic acid glomerular filtration rate: a better predictor than glomerular filtration rate calculated by the Cockcroft-Gault formula for renal involvement in systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford).* 2001;40(3):324-8.

Granström G. Isoenzyme changes during rat facial development. *Scand J Dent Res.* 1986;94(1):1-14.

Gualano B, Artioli GG, Poortmans JR, Lancha Jr AH. Exploring the therapeutic role of creatine supplementation. *Amino Acids*. 2010a;38(1):31-44.

Gualano B, De Salles Painnelli V, Roschel H, Artioli GG, Junior MN, Lúcia de Sá Pinto A, Rossi da Silva ME, Cunha MR, Otaduy MC, da Costa Leite C, Ferreira JC, Pereira RM, Brum PC, Bonfá E, Lancha AH. Creatine in type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Med Sci Sports Exerc*. In Press 2010b.

Gualano B, De Salles Painelli V, Roschel H, Lugaresi R, Dorea E, Artioli GG, Lima FR, da Silva ME, Cunha MR, Seguro AC, Shimizu MH, Otaduy MC, Sapienza MT, da Costa Leite C, Bonfá E, Lancha Junior AH. Creatine supplementation does not impair kidney function in type 2 diabetic patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Eur J Appl Physiol*. In Press 2010c.

Gualano B, Ferreira DC, Sapienza MT, Seguro AC, Lancha Jr AH. Effect of short-term high-dose creatine supplementation on measured GFR in a young man with a single kidney. *Am J Kidney Dis*. 2010d;55(3):e7-9.

Gualano B, Ugrinowitsch C, Novaes RB, Artioli GG, Shimizu MH, Seguro AC, Harris RC, Lancha AH. Effects of creatine supplementation on renal function: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Eur J Appl Physiol*. 2008;103(1):33-40.

Hespel P, Op't Eijnde B, Van Leemputte M, Urso B, Greenhaff PL, Labarque V, Dymarkowski S, Van Hecke P, Richter EA. Oral creatine supplementation

- facilitates the rehabilitation of disuse atrophy and alters the expression of muscle myogenic factors in humans. *J Physiol (Lond)*. 2001;536(Pt 2):625-33.
- Jan MH, Lin JJ, Liao JJ, Lin YF, Lin DH. Investigation of clinical effects of high- and low-resistance training for patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Phys Ther*. 2008;88(4):427-36.
- Jones CJ, Rikli RE, Beam WC. A 30-s chair-stand test as a measure of lower body strength in community-residing older adults. *Res Q Exerc Sport*. 1999;70(2):113-9.
- Kato R, Iyoda K, Oohira A, Kato K, Nogami H. Zonal and age-related difference in the amounts of creatine kinase subunits in cartilage. *Clin Orthop Relat Res*. 1991;271:283-7.
- Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1957;16(4):494-502.
- Kley RA, Tarnopolsky MA, Vorgerd M. Creatine treatment in muscle disorders: a meta-analysis of randomised controlled trials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79(4):366-7.
- Kreider RB, Melton C, Rasmussen CJ, Greenwood M, Lancaster S, Cantler EC, Milnor P, Almada AL. Long-term creatine supplementation does not significantly affect clinical markers of health in athletes. *Mol Cell Biochem*. 2003;244(1-2):95-104.
- Lange AK, Vanwanseele B, Fiatarone Singh MA. Strength training for treatment of osteoarthritis of the knee: a systematic review. *Arthritis Rheum*. 2008;59(10):1488-94.

- Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, Arnold LM, Choi H, Deyo RA, Gabriel S, Hirsch R, Hochberg MC, Hunder GG, Jordan JM, Katz JN, Kremers HM, Wolfe F. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum.* 2008;58(1):26-35.
- Louis M, Lebacqz J, Poortmans JR, Belpaire-Dethiou MC, Devogelaer JP, Van Hecke P, Goubel F, Francaux M. Beneficial effects of creatine supplementation in dystrophic patients. *Muscle Nerve.* 2003;27(5):604-10.
- Marx F, Oliveira L, Bellini C, Ribeiro M. Translation and cultural validation of the Lequesne's algofunctional questionnaire for osteoarthritis of knee and hip for portuguese language. *Rev Bras Reumatol.* 2006;46:253-60.
- Mattila K, Haavisto M, Rajala S. Body mass index and mortality in the elderly. *Br Med J.* 1986;292(6524):867-8.
- Michaud C, McKenna MT, Begg S, Tomijima N, Majmudar M, Bulzacchelli M, Ebrahim S, Ezzati M, Salomon J, Kreiser JG, Hogan M, Murray CJ. The burden of disease and injury in the United States 1996. *Popul Health Metrics.* 2006;4:11.
- Mikesky AE, Mazzuca SA, Brandt KD, Perkins SM, Damush T, Lane KA. Effects of strength training on the incidence and progression of knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;55(5):690-9.
- Olsen S, Aagaard P, Kadi F, Tufekovic G, Verney J, Olesen JL, Suetta C, Kjaer M. Creatine supplementation augments the increase in satellite cell and myonuclei number in human skeletal muscle induced by strength training. *J Physiol (Lond).* 2006;573(2):525-34.

- Ploutz-Snyder LL, Giamis EL. Orientation and familiarization to 1RM strength testing in old and young women. *J Strength Cond Res*. 2001;15(4):519-23.
- Polacow VO, Scagliusi FB, Lancha Jr AH. Validation of a portion-size measurement aid in a Brazilian sample. Program and Abstracts. 2003;D1.7. (Presented at The Fifth International Conference on Dietary Assessment Methods; 2003 January 26-29; Chiang Rai, Thailand. Abstracts).
- Poortmans JR, Francaux M. Long-term oral creatine supplementation does not impair renal function in healthy athletes. *Med Sci Sports Exerc*. 1999;31(8):1108-10.
- Poortmans JR, Auquier H, Renaut V, Durussel A, Saugy M, Brisson GR. Effect of short-term creatine supplementation on renal responses in men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1997;76(6):566-7.
- Pritchard NR, Kalra PA. Renal dysfunction accompanying oral creatine supplements. *Lancet*. 1998;351(9111):1252-3.
- Ritter PL, Gonzalez VM, Laurent DD, Lorig KR. Measurement of pain using the visual numeric scale. *J Rheumatol*. 2006;33(3):574-80.
- Roy BD, de Beer J, Harvey D, Tarnopolsky MA. Creatine monohydrate supplementation does not improve functional recovery after total knee arthroplasty. *Arch Phys Med Rehabil*. 2005;86(7):1293-8.
- Segal NA, Glass NA, Torner J, Yang M, Felson DT, Sharma L, Nevitt M, Lewis CE. Quadriceps weakness predicts risk for knee joint space narrowing in women in the MOST cohort. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(6):769-75.

- Slemenda C, Brandt KD, Heilman DK, Mazzuca S, Braunstein EM, Katz BP, Wolinsky FD. Quadriceps weakness and osteoarthritis of the knee. *Ann Intern Med.* 1997;127(2):97-104.
- Tarnopolsky. Potential benefits of creatine monohydrate supplementation in the elderly. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2000;3(6):497-502.
- Terjung RL, Clarkson P, Eichner ER, Greenhaff PL, Hespel PJ, Israel RG, Kraemer WJ, Meyer RA, Spriet LL, Tarnopolsky MA, Wagenmakers AJ, Williams MH. American College of Sports Medicine roundtable. The physiological and health effects of oral creatine supplementation. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(3):706-17.
- Thorsteinsdottir B, Grande JP, Garovic VD. Acute renal failure in a young weight lifter taking multiple food supplements, including creatine monohydrate. *J Ren Nutr.* 2006;16(4):341-5.
- Valderrabano V, Steiger C. Treatment and prevention of osteoarthritis through exercise and sports. *J Aging Res.* 2011;2011:374653.
- Wallimann T, Hemmer W. Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. *Mol Cell Biochem.* 1994;133-134:193-220.
- Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem J.* 1992;281:21-40.
- Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev.* 2000;80(3):1107-213.

Wyss M, Wallimann T. Creatine metabolism and the consequences of creatine depletion in muscle. *Mol Cell Biochem.* 1994;133-134:51-66.

Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, Abramson S, Altman RD, Arden N, Bierma-Zeinstra S, Brandt KD, Croft P, Doherty M, Dougados M, Hochberg M, Hunter DJ, Kwoh K, Lohmander LS, Tugwell P. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, part I: critical appraisal of existing treatment guidelines and systematic review of current research evidence. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007;15(9):981-1000.

APÊNDICE 1

Artigo "Beneficial effect of creatine supplementation in knee osteoarthritis", aceito para publicação na revista "**Medicine & Science in Sports & Exercise**" em janeiro de 2011.

BENEFICIAL EFFECT OF CREATINE SUPPLEMENTATION IN KNEE OSTEOARTHRITIS

Manoel Neves-Jr¹, Bruno Gualano^{1,2}, Hamilton Roschel^{1,2}, Ricardo Fuller¹, Fabiana Braga Benatti², Ana Lucia de Sa Pinto¹, Fernanda Rodrigues Lima¹, Rosa Maria Pereira¹, Antonio Herbert Lancha-Jr², Eloisa Bonfa¹

¹University of Sao Paulo, School of Medicine, Division of Rheumatology, Brazil

²University of Sao Paulo, School of Physical Education and Sport, Department of Byodinamics, Brazil

Short title: Creatine and osteoarthritis

Corresponding author:

Prof. Eloisa Bonfa, M.D., Ph.D.

Faculdade de Medicina, Universidade de Sao Paulo, 3º andar, sala 3131

Divisao de Reumatologia

Av. Dr. Arnaldo, 455, Cerqueira Cesar

Sao Paulo-SP, Brazil

Postal code: 01246-903

Phone: + 55 11 30617490 / 30617492

Fax: +55 11 30617490

E-mail: ebonfa@lim17.fm.usp.br

Disclosure of funding received for this work: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) to MN-Jr, RMP and EB, Federico Foundation to RMP and EB, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Sao Paulo (FAPESP) to BG, HR and FBB.

ABSTRACT

Introduction: The aim of this study was to investigate the efficacy of creatine (CR) supplementation combined with strengthening exercises in knee osteoarthritis (OA). **Methods:** A randomized, double-blind, placebo-controlled trial was performed. Postmenopausal women with knee OA were allocated to receive either CR (20 g/d for one week and 5 g/d thereafter) or placebo (PL) and were enrolled in a lower limb resistance training program. They were assessed at baseline (PRE) and after 12 weeks (POST). The primary outcome was the physical function as measured by the timed-stands test. Secondary outcomes included lean mass, quality of life, pain, stiffness, and muscle strength. **Results:** Physical function was significantly improved only in the CR group ($p=0.006$). Additionally, a significant between-group difference was observed (CR-PRE: 15.7 ± 1.4 , POST: 18.1 ± 1.8 ; PL-PRE: 15.0 ± 1.8 , POST: 15.2 ± 1.2 ; $p=0.004$). The CR group also presented improvements in physical function and stiffness subscales as evaluated by the Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) ($p=0.005$ and $p=0.024$, respectively), whereas the PL group did not show any significant changes in these parameters ($p>0.05$). Additionally, only the CR group presented a significant improvement in lower limb lean mass ($p=0.04$) as well as in quality of life ($p=0.01$). Both CR and PL groups demonstrated significant reductions in pain ($p<0.05$). Similarly, a main effect for time revealed an increase in leg-press 1-RM ($p=0.005$) with no significant differences between groups ($p=0.81$). **Conclusion:** CR supplementation improves physical function, lower limb lean mass and quality of life in postmenopausal women with knee OA undergoing strengthening exercises. Clinicaltrials.gov number: NCT00992043.

KEYWORDS: arthritis, exercise training, nutrition, physical function, lean mass

INTRODUCTION

Osteoarthritis (OA) is the most common form of arthritis, affecting mostly women (20). Patients with OA present pain that typically worsens with weight bearing and improves with rest, as well as morning stiffness and gelling of the involved joint after periods of inactivity (1).

Quadriceps weakness has been previously associated with functional impairment in OA (1). Evidence also suggests that muscle strength may prevent the progression of existing OA (29). Accordingly, in women but not in men, quadriceps weakness was recently associated with increased risk for tibiofemoral and whole knee-joint-space narrowing (28). In fact, positive associations have been found between increased quadriceps strength and walking self-efficacy, reduced pain, and improved function (19), stressing the role of strengthening exercises in knee OA treatment (2). Therefore, procedures capable of enhancing the exercise effects on muscle strength and function may be potentially therapeutic for knee OA patients. In this context, creatine (CR) supplementation has emerged as a promising alternative for treating this disease (11).

CR is a natural amine mostly found in fish, and red and white meat. It is also synthesized endogenously by a two-step mechanism involving L-arginine and S-adenosyl-L-methionine in the liver, kidneys and pancreas. CR plays an important role in rapid energy provision during muscle contraction involving the transfer of N-phosphoryl group from phosphorylcreatine (PCR) to ADP to regenerate ATP through a reversible reaction catalyzed by phosphorylcreatine kinase (CK). In addition to its function as a temporal energy buffer, PCR also acts a special energy buffer to shuttle high-energy phosphates between mitochondria and cellular ATP utilization sites (35). CR supplementation can increase intramuscular CR and PCR content, thereby enhancing energy provision and consequently muscle strength and function. Furthermore, CR supplementation can also augment lean mass by increasing training volume (31) as well as by activating satellite cells (24) and selected muscle growth factors (e.g., IGF-1, 4EBP-1) (9). Importantly, several studies have found beneficial effects of creatine supplementation on performance of activities of daily living in healthy older adults, possibly by enhancing maximal strength, power and training volume, which may in turn lead to increased functional capacity (7, 12-13). Based on the aforementioned findings, it is possible to speculate that CR supplementation may also benefit knee OA patients, who frequently present muscle weakness and poor physical function (29).

Thus, the aim of this study was to evaluate the efficacy of CR supplementation along with a lower limb resistance training program in knee OA women.

MATERIALS AND METHODS

Experimental Design

A 12-week, double-blind, randomized, parallel-group, placebo controlled trial was conducted between July 2009 and July 2010 in Sao Paulo (Brazil), according to the guidelines of The CONSORT Statement.

The patients were randomly assigned (1:1) to receive either creatine (CR) or placebo (PL) in a double-blind fashion. We assigned patients to treatment sequence by using a computer-generated randomization code with a block of four. All of the patients undertook a program of lower limb strengthening exercises for 3 months. The patients were assessed at baseline (PRE) and after 12 weeks (POST). The primary outcome was the physical function as measured by the timed-stands test. Secondary outcomes included lean mass, muscle strength, and quality of life, pain, and stiffness, as assessed by questionnaires. Estimated creatinine clearance was calculated through Cockcroft-Gault formula. Possible differences in dietary intake were assessed by means of three 24-h dietary recalls. This trial was registered at clinicaltrials.gov as NCT00992043.

Subjects

Women aged 50 to 65 years with the diagnosis of knee OA according to the American College of Rheumatology criteria (3) were selected to participate in the study. The exclusion criteria were: participation in physical exercise training over the past year, body mass index higher than 35, cardiovascular diseases and/or musculoskeletal disturbances which precluded exercise participation, vegetarian diet, previous use of CR supplements, glomerular filtration rate $< 30 \text{ mL/min/1.73m}^2$, Kellgren-Lawrence radiographic grade of 1 and 4, pain numeric visual scale (PNVS) less than 2 or greater than 8, use of nonsteroidal anti inflammatory drugs over the past three weeks, use of intra-articular infiltration with hyaluronic acid over the past six months, and corticosteroids infiltration over the past three months. Once the use nonsteroidal anti inflammatory drugs was not allowed during the

trial, patients were permitted to use up to 3 g of paracetamol per day if necessary. The study was approved by the Local Ethical Committee and all of the subjects signed the informed consent.

Creatine supplementation protocol and blinding procedure

The patients received 20 g/d of CR monohydrate (Ethika[®], Sao Paulo, Brazil) for seven days divided into four equal doses, followed by single daily doses of 5 g for the next 11 weeks. The PL group was given the same dose of dextrose. During the loading phase, supplements were presented in four packages and patients were instructed to ingest the supplement packages at breakfast, lunch, dinner and at 10 pm. During the maintenance phase, patients consumed the supplement as a single dose during their lunch. They were asked to dissolve the supplements preferably in juice, in order to mask both the low solubility of creatine and the taste of dextrose. The supplement packages were coded so that neither the investigators nor the participants were aware of the contents until completion of the analyses. The compliance with creatine supplementation was monitored weekly by personal communication. All of the patients reported 100% compliance with the supplementation protocol. In order to verify the purity of the creatine used, a sample was analyzed by high-performance liquid chromatography and purity was established as 99.9%.

Exercise training program

The exercise program consisted of 12 weeks of supervised resistance training. Exercise sessions occurred three times a week and were monitored by a fitness professional. The exercise program was performed in an intrahospital gymnasium (Laboratory of Assessment and Conditioning in Rheumatology, School of Medicine, University of Sao Paulo). Resistance training program was comprised of leg press, leg extension, and half-squat exercises. Patients were required to perform four sets of 8-12 repetitions maximum (RM), except during the first week, when a reduced volume of two sets of 15-20 RM for each exercise was performed. From the second week on, progression in the absolute exercise load was implemented when the subject could perform more than 12 repetitions on a given exercise set.

Food intake assessment

Food intake was assessed by means of three 24-h dietary recalls undertaken on separate days (two week days and one weekend day) using a visual aid photo album of real foods. Energy and macronutrient intake were analyzed by the Brazilian software Virtual Nutri®.

Physical function assessments

The primary outcome was physical function as measured by the timed-stands test, adapted from Newcomer et al. (23). This test evaluates the maximum number of stand-ups that a subject can perform from a standard height (i.e., 45 cm) armless chair for 30 seconds.

Self-reported quality of life assessment

The self-reported physical function, stiffness and pain were measured by the Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) (4). This instrument is validated and recommended by the Osteoarthritis Research Society as the measure of choice when assessing health status in older adults with knee OA (4). The rating scale ranges from 0 (none) to 4 (extreme), with higher total scores indicating greater dysfunction. Additionally, pain was assessed by means of the pain visual PVNS, which combines strong visual cues with an 11-point numeric rating scale (26), with higher scores indicating higher level of pain.

The quality of life was also assessed through the Lequesne Index (21), which has an interview format including 10 questions about pain, stiffness and function. The scores range from 0 (no pain or disability) to 24 (maximum pain, stiffness and disability).

Muscle strength assessments

The patients underwent four familiarization sessions for strength tests, separated for at least 72 h. Prior to the 1-RM test, two light warm-up sets interspaced for two minutes were performed. Then, the patients had up to five attempts to achieve the 1-RM load, with a three-minute interval between attempts. 1-RM tests were conducted for the leg press exercise.

Body composition

Body composition was measured by dual X-ray absorptiometry (DXA), using Hologic densitometry equipment (Hologic Inc. Bedford, MA, USA, Discovery model). We assessed whole body lean and fat mass and lower limb lean mass.

Sample size

We determined that 18 patients would be needed to provide 80% power (5% significance; estimated effect size of 0.3) for muscle function, which is the primary outcome of this clinical trial. In order to account for midtrial withdrawals, we enlarged our study population to 26 participants.

Statistical analysis

Each comparison was by intention to treat, irrespective of compliance with supplement intake. Parametric data were tested by Mixed Model with repeated measures. A post hoc test adjusted by Tukey was used for multicomparison purposes. Non-parametric data were tested by Wilcoxon test. Non-repeated measures were compared using Student's *t* test or Fisher's exact test. Significance level was previously set at $p < 0.05$. Data are presented as mean $\pm$ standard deviation.

RESULTS

Patients

The fluxogram of participants is shown in Figure 1. Of the 345 subjects who responded to the initial request for volunteers, 128 were screened and 26 met the inclusion criteria. These patients were randomly assigned to either the CR ($n = 13$) or PL ($n = 13$) groups. Two patients withdrew due to personal reasons (PL group). Thus, 24 patients were analyzed (CR = 13; PL = 11). Patients' characteristics are expressed in Table 1.

Figure 1. Fluxogram of patients

Table 1. Patients' characteristics.

	Creatine (n = 13)	Placebo (n = 11)
Age, years	58 ± 3	56 ± 3
BMI, Kg/m ²	28.5 ± 3.8	29.7 ± 3.2
Disease duration, years since diagnosis	5 ± 3	5 ± 4
<i>Kellgren-Lawrence Radiographic, n (%)</i>		
Grade II	2 (15.4)	2 (18.2)
Grade III	11 (84.6)	9 (81.8)
<i>Drugs, n (%)</i>		
Glucosamine	4 (30.8)	4 (36.4)
Chondroitin	3 (23.1)	3 (27.3)
Diacerein	0 (0.0)	1 (9.1)

Abbreviation: BMI = body mass index. Data expressed as mean ± standard deviation or number of patients (percentage of the sample). No significant differences were observed between groups at baseline.

Assessment of blinding, adherence to the exercise program and food intake

Six (46.2%) of the patients correctly identified the supplement in the CR group whereas five (45.5%) patients were able to identify the correct supplement in the PL group ($p=0.81$). The adherence to the exercise program was 78.6 ± 5.8 and $82.3 \pm 3.9\%$ for CR and PL groups, respectively ($p = 0.52$). Food intake did not significantly differ within or between groups (Table 2).

Table 2. Food intake.

<i>Variable</i>	Creatine (n = 13)		Placebo (n = 11)	
	<i>PRE</i>	<i>POST</i>	<i>PRE</i>	<i>POST</i>
Protein, g	77 ± 18	83 ± 24	81 ± 18	79 ± 24
Carbohydrate, g	232 ± 52	237 ± 60	269 ± 56	267 ± 55
Lipids, g	64 ± 15	74 ± 22	75 ± 19	66 ± 14
Total energy, Kcal	1817 ± 326	1948 ± 417	2090 ± 376	1977 ± 349
Protein/Weight, g/Kg	1.3 ± 0.3	1.4 ± 0.4	1.4 ± 0.2	1.4 ± 0.4

Data expressed as mean $\pm$ standard deviation. No significant differences were noted within (i.e., time effects) or between groups (i.e., main effect for treatment).

Physical function

Physical function, as assessed through the timed-stands test, was significantly improved only in the CR group ($p=0.006$). Additionally, a significant between-group difference was observed after the intervention (CR PRE: 15.7 ± 1.4 , POST: 18.1 ± 1.8 ; PL PRE: 15.0 ± 1.8 , POST: 15.2 ± 1.2 ; $p=0.004$) (Figure 2).

Figure 2. Effects of CR supplementation combined with resistance training on physical function (as assessed by the timed-stands test) in knee OA patients. *Time effect (PRE vs POST); $p=0.006$; #Interaction effect (CR vs PL); $p=0.004$.

Self reported quality of life assessment

Table 3 presents the self reported quality of life measurements. Both CR and PL groups demonstrated significant reductions in pain according to PVNS ($p=0.004$ and $p=0.003$, respectively) and WOMAC ($p=0.012$ and $p=0.049$, respectively) assessments. The CR group presented improvements in stiffness and physical function as evaluated by WOMAC ($p=0.024$ and $p=0.005$, respectively), whereas the PL group did not show any significant changes in these parameters ($p>0.05$). Additionally, only the CR group presented improved quality of life as assessed by the Lequesne Index ($p=0.010$).

Table 3. Effects of CR supplementation combined with resistance training on quality of life and pain in knee OA patients.			
	PRE	POST	p (PRE vs POST)
Lequesne			
<i>Creatine</i>	6.3 ± 4.1	4.7 ± 2.6	0.010
<i>Placebo</i>	8.9 ± 3.8	6.8 ± 2.6	0.138
WOMAC pain			
<i>Creatine</i>	5.8 ± 4.9	3.2 ± 2.0	0.012
<i>Placebo</i>	8.0 ± 2.9	5.3 ± 3.2	0.049
WOMAC stiffness			
<i>Creatine</i>	2.7 ± 1.7	1.3 ± 1.1	0.024
<i>Placebo</i>	3.2 ± 1.3	2.7 ± 1.2	0.254
WOMAC physical function			
<i>Creatine</i>	15.1 ± 13.9	9.0 ± 7.1	0.005
<i>Placebo</i>	23.3 ± 10.8	15.9 ± 9.8	0.097
PVNS			
<i>Creatine</i>	5.2 ± 1.8	2.5 ± 2.3	0.004
<i>Placebo</i>	5.3 ± 1.7	2.6 ± 2.2	0.003
Abbreviations: WOMAC = Western Ontario and McMaster Universities index of osteoarthritis; PVNS = pain visual numeric scale. Data expressed as mean ± standard deviation and level of significance (p).			

Muscle Strength

A main effect for time was observed for the leg-press 1-RM (CR PRE: 90.0 ± 18.5 kg and CR POST: 99.7 ± 14.9 kg; PL PRE: 89.6 ± 12.9 kg and PL POST: 100.5 ± 18.6 kg; $p=0.005$). No significant differences between groups were detected ($p=0.81$).

Body composition

Table 4 shows the body composition data. There was a main effect for time pointing out an increase in whole body lean mass ($p=0.02$). No differences between groups were observed for this parameter. In contrast, the CR group presented a significant increase in lower limb lean mass ($p=0.04$) whereas no differences were noted in the PL group ($p=0.09$). A main effect for time ($p=0.008$) indicated a significant reduction in body fat (%) over the trial. Weight and BMI did not differ between or within groups throughout the study ($p>0.05$).

Table 4. Effects of CR supplementation combined with resistance training on body composition in knee OA patients.

<i>Variable</i>	Creatine (n = 13)		Placebo (n = 11)		<i>p (CR vs PL)</i>
	<i>PRE</i>	<i>POST</i>	<i>PRE</i>	<i>POST</i>	
Weight (Kg)	71.5 ± 11.4	73.0 ± 10.3	76.6 ± 8.8	77.6 ± 9.8	0.75
BMI (Kg/m ²)	28.5 ± 3.8	29.2 ± 3.7	29.7 ± 3.2	30.1 ± 3.5	0.63
WBLM (Kg) #	42.6 ± 6.5	43.7 ± 5.7	45.3 ± 4.5	46.1 ± 4.9	0.65
Body Fat (Kg)	27.2 ± 5.5	26.7 ± 5.4	30.0 ± 5.0	29.9 ± 5.8	0.57
Body Fat (%) £	37.8 ± 3.4	36.8 ± 2.9	38.6 ± 3.5	38.1 ± 4.1	0.37
LLLM (Kg)	13.3 ± 2.3	$13.8 \pm 2.0^*$	14.6 ± 2.1	15.1 ± 2.1	0.93

Abbreviations: BMI = body mass index; WBLM = whole body lean mass; LLLB = lower limb lean mass.

Data expressed as mean $\pm$ standard deviation and level of significance (p) between CR *vs* PL. * Time effect (PRE vs POST); $p=0.04$. # Main effect of time; $p=0.02$. £ Main effect of time; $p=0.008$. No significant differences between groups were observed.

Creatinine clearance

Estimated creatinine clearance was not different between groups (CR PRE: 106.7 ± 23.7 and CR POST: 107.7 ± 24.3 ml/min/1.73m²; PL PRE: 119.0 ± 21.2 and PL POST: 117.2 ± 20.7 ml/min/1.73m²; $p=0.72$).

DISCUSSION

The main finding of this study was the positive effect of CR supplementation on physical function in women with knee OA undergoing a resistance training program. Interestingly, there was evidence that CR supplementation also improved quality of life and lower limb lean mass. Collectively, these findings reveal a novel therapeutic application of CR supplementation in enhancing several well-known benefits of strengthening exercises for knee OA patients.

Literature shows clear improvement of OA symptoms in patients undertaking strength training programs (19). Although strengthening exercises have been recommended as first choice treatment in knee OA (36), little is known about the ideal prescription to elicit the greatest benefits. To our knowledge, only one small-sample study compared the efficacy of high- vs light-resistance training in knee OA patients. The authors verified that high-resistance training led to consistent (though non-significant) higher functional performance and greater reduction of pain (16). Based on this finding, one may suggest that strategies capable of enhancing training intensity would favor knee OA patients. In this scenario, CR supplementation seemed to be promising.

As expected, CR supplementation along with a lower limb resistance training program led to significant improvements in physical function when compared with resistance training alone. This finding is in accordance with previous reports showing that CR supplementation can be useful in rehabilitation of debilitated subjects (6, 15, 22, 30). In this regard, Hespel et al. (15) demonstrated a positive effect of CR supplementation on muscle-mass regain after immobilization in healthy subjects. Furthermore, Kley et al. (18) published an interesting meta-analysis reporting clinically relevant findings in dystrophinopathies (e.g., Duchenne' disease) and myotonic dystrophy type 2. More recently, Chung et al (8) investigated whether CR supplementation could enhance the effects of exercise training on muscle function in patients with inflammatory myopathy (i.e., dermatomyositis

and polymyositis). The authors reported that patients supplemented with CR experienced greater muscle function when compared with their non-supplemented counterparts. Therefore, the current findings further support the therapeutic application of CR supplementation in conditions characterized by muscle wasting/weakness, extending this notion to knee OA. In fact, improving muscle strength and lower limb lean mass is of relevance for this population, as muscular weakness and in some cases even muscular atrophy, either preceding or accompanying the knee OA disease, is frequently observed (32).

However, it is important to note that our findings are in apparent dissonance with those by Roy et al. (27), who did not observe improvements in functional recovery after 40 days of CR supplementation in OA patients submitted to total knee arthroplasty. The lack of exercise training as well as the shorter supplementation period are the most likely explanations for the negative results observed by Roy et al. (27). Furthermore, it is also possible that the difference in the severity of the disease may have contributed to the discrepant results.

Currently, the most well-known mechanism to explain the efficacy of creatine supplementation in muscle function is the enhancement of the PCR energy system, allowing users to maintain greater work intensity for longer durations of time (31). However, one may argue that CR supplementation may also affect the energy provision in the cartilage. Supporting this idea, CK is not only present in excitable tissues (e.g., muscle, heart and brain) (34) but also in less metabolically active tissues (e.g., bone and cartilage) (10, 14). In fact, different CK isoforms have been identified during the developmental stages of the bone and cartilage, suggesting an important role of CK and PCR in these tissues for development, differentiation and function (11, 17, 33). Despite the paucity of evidence supporting this hypothesis with respect to cartilage, an interesting study have demonstrated that CR does have a stimulatory effect on metabolic activity, differentiation and mineralization of osteoblast-like cells (11). Unfortunately, the lack of non-invasive accurate markers of cartilage metabolism has hampered the investigation of the direct role of CR in the cartilage repair in humans. Moreover, CR-induced cartilage repair would be unlikely to occur within three months. Apart from this hypothesis, we then speculated that CR would increase physical function mainly by enhancing maximal strength, power and training volume. Nonetheless, CR did not affect maximal strength, leaving the hypothesis that CR could have improved either muscle power or quality of training.

Unfortunately, we were unable to assess such parameters in the current study to confirm this possibility.

This study presented some limitations. First, we had no patients with severe OA; hence this finding cannot be extrapolated to patients with a more debilitating disease (e.g., patients undergoing arthroplasty). Also, this data cannot be generalized to men, as our sample was composed strictly by women. Third, the follow-up was rather short warranting additional investigations regarding the efficacy of long-term CR supplementation. Finally, we did not aim to determine the mechanism(s) underlying the responses seen in the current study, thus the role of CR intake on cartilage as well as in physical function needs to be further clarified.

In summary, we showed for the first time that CR supplementation is capable of improving physical function, lower limb lean mass and quality of life in postmenopausal women with knee OA undergoing a resistance training program. Additionally, CR does not impair renal function. These findings further support the growing body of evidence favoring the therapeutic application of CR supplementation, particularly when combined with exercise training.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors inform that the results of the present study do not constitute endorsement by ACSM. Manoel Neves-Jr, Rosa Maria Rodrigues Pereira and Eloisa Bonfa receive support from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Bruno Gualano, Hamilton Roschel (2010/51428-2) and Fabiana B Benatti are supported by Fundação do Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). We would like to thank Ethika[®] for providing the nutritional supplements.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they do not have conflict of interests.

AUTHORSHIP INFORMATION

Significant manuscript writer – Manoel Neves-Jr, Bruno Gualano, Hamilton Roschel

Significant manuscript reviewer/reviser – Ricardo Fuller, Fabiana Braga Benatti, Ana Lucia de Sa-Pinto, Fernanda Rodrigues Lima, Rosa Maria Pereira, Antonio Herbert Lancha-Jr, Eloisa Bonfa

Concept and design – Manoel Neves-Jr, Bruno Gualano, Eloisa Bonfa, Antonio Lancha Junior

Data acquisition – Manoel Neves-Jr, Hamilton Roschel, Bruno Gualano, Fabiana Braga Benatti

Data analysis and interpretation – Manoel Neves-Jr, Hamilton Roschel, Bruno Gualano, Ricardo Fuller, Fabiana Braga Benatti, Ana Lucia de Sa Pinto, Fernanda Rodrigues Lima, Rosa Maria Pereira

Statistical expertise – Hamilton Roschel, Bruno Gualano

REFERENCES

1. ACR. Recommendations for the medical management of osteoarthritis of the hip and knee: 2000 update. American College of Rheumatology Subcommittee on Osteoarthritis Guidelines. *Arthritis Rheum.* 2000, 43 (9):1905-15.
2. Altman RD. Early management of osteoarthritis. *Am J Manag Care.* 2010, 16 Suppl Management:S41-7.
3. Altman RD, Bloch DA, Bole GG, Jr., Brandt KD, Cooke DV, Greenwald RA, Hochberg MC, Howell DS, Kaplan D, Koopman WJ, et al. Development of clinical criteria for osteoarthritis. *J Rheumatol.* 1987, 14 Spec No:3-6.
4. Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stitt LW. Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. *J Rheumatol.* 1988, 15 (12):1833-40.
5. Bender A, Samtleben W, Elstner M, Klopstock T. Long-term creatine supplementation is safe in aged patients with Parkinson disease. *Nutr Res.* 2008, 28 (3):172-8.
6. Brose A, Parise G, Tarnopolsky MA. Creatine supplementation enhances isometric strength and body composition improvements following strength exercise training in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2003, 58 (1):11-9.

7. Canete S, San Juan AF, Perez M, Gomez-Gallego F, Lopez-Mojares LM, Earnest CP, Fleck SJ, Lucia A. Does creatine supplementation improve functional capacity in elderly women? *J Strength Cond Res*. 2006, 20 (1):22-8.
8. Chung YL, Alexanderson H, Pipitone N, Morrison C, Dastmalchi M, Stahl-Hallengren C, Richards S, Thomas EL, Hamilton G, Bell JD, Lundberg IE, Scott DL. Creatine supplements in patients with idiopathic inflammatory myopathies who are clinically weak after conventional pharmacologic treatment: Six-month, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum*. 2007, 57 (4):694-702.
9. Deldicque L, Louis M, Theisen D, Nielens H, Dehoux M, Thissen JP, Rennie MJ, Francaux M. Increased IGF mRNA in human skeletal muscle after creatine supplementation. *Med Sci Sports Exerc*. 2005, 37 (5):731-6.
10. Funanage VL, Carango P, Shapiro IM, Tokuoka T, Tuan RS. Creatine kinase activity is required for mineral deposition and matrix synthesis in endochondral growth cartilage. *Bone Miner*. 1992, 17 (2):228-36.
11. Gerber I, ap Gwynn I, Alini M, Wallimann T. Stimulatory effects of creatine on metabolic activity, differentiation and mineralization of primary osteoblast-like cells in monolayer and micromass cell cultures. *Eur Cell Mater*. 2005, 10:8-22.
12. Gotshalk LA, Kraemer WJ, Mendonca MA, Vingren JL, Kenny AM, Spiering BA, Hatfield DL, Fragala MS, Volek JS. Creatine supplementation improves muscular performance in older women. *Eur J Appl Physiol*. 2008, 102 (2):223-31.
13. Gotshalk LA, Volek JS, Staron RS, Denegar CR, Hagerman FC, Kraemer WJ. Creatine supplementation improves muscular performance in older men. *Med Sci Sports Exerc*. 2002, 34 (3):537-43.
14. Granstrom G. Isoenzyme changes during rat facial development. *Scand J Dent Res*. 1986, 94 (1):1-14.
15. Hespel P, Op't Eijnde B, Van Leemputte M, Urso B, Greenhaff PL, Labarque V, Dymarkowski S, Van Hecke P, Richter EA. Oral creatine supplementation facilitates the rehabilitation of disuse atrophy and alters the expression of muscle myogenic factors in humans. *J Physiol*. 2001, 536 (Pt 2):625-33.

16. Jan MH, Lin JJ, Liau JJ, Lin YF, Lin DH. Investigation of clinical effects of high- and low-resistance training for patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Phys Ther.* 2008, 88 (4):427-36.
17. Katoh R, Iyoda K, Oohira A, Kato K, Nogami H. Zonal and age-related difference in the amounts of creatine kinase subunits in cartilage. *Clin Orthop Relat Res.* 1991, (271):283-7.
18. Kley RA, Tarnopolsky MA, Vorgerd M. Creatine treatment in muscle disorders: a meta-analysis of randomised controlled trials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008, 79 (4):366-7.
19. Lange AK, Vanwanseele B, Fiatarone Singh MA. Strength training for treatment of osteoarthritis of the knee: a systematic review. *Arthritis Rheum.* 2008, 59 (10):1488-94.
20. Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, Arnold LM, Choi H, Deyo RA, Gabriel S, Hirsch R, Hochberg MC, Hunder GG, Jordan JM, Katz JN, Kremers HM, Wolfe F. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum.* 2008, 58 (1):26-35.
21. Lequesne MG. The algofunctional indices for hip and knee osteoarthritis. *J Rheumatol.* 1997, 24 (4):779-81.
22. Louis M, Lebacqz J, Poortmans JR, Belpaire-Dethiou MC, Devogelaer JP, Van Hecke P, Goubel F, Francaux M. Beneficial effects of creatine supplementation in dystrophic patients. *Muscle Nerve.* 2003, 27 (5):604-10.
23. Newcomer KL, Krug HE, Mahowald ML. Validity and reliability of the timed-stands test for patients with rheumatoid arthritis and other chronic diseases. *J Rheumatol.* 1993, 20 (1):21-7.
24. Olsen S, Aagaard P, Kadi F, Tufekovic G, Verney J, Olesen JL, Suetta C, Kjaer M. Creatine supplementation augments the increase in satellite cell and myonuclei number in human skeletal muscle induced by strength training. *J Physiol.* 2006, 573 (Pt 2):525-34.
25. Persky AM, Rawson ES. Safety of creatine supplementation. *Subcell Biochem.* 2007, 46:275-89.
26. Ritter PL, Gonzalez VM, Laurent DD, Lorig KR. Measurement of pain using the visual numeric scale. *J Rheumatol.* 2006, 33 (3):574-80.
27. Roy BD, de Beer J, Harvey D, Tarnopolsky MA. Creatine monohydrate supplementation does not improve functional recovery after total knee arthroplasty. *Arch Phys Med Rehabil.* 2005, 86 (7):1293-8.

28. Segal NA, Glass NA, Torner J, Yang M, Felson DT, Sharma L, Nevitt M, Lewis CE. Quadriceps weakness predicts risk for knee joint space narrowing in women in the MOST cohort. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010, 18 (6):769-75.
29. Slemenda C, Brandt KD, Heilman DK, Mazzuca S, Braunstein EM, Katz BP, Wolinsky FD. Quadriceps weakness and osteoarthritis of the knee. *Ann Intern Med*. 1997, 127 (2):97-104.
30. Tarnopolsky M, Martin J. Creatine monohydrate increases strength in patients with neuromuscular disease. *Neurology*. 1999, 52 (4):854-7.
31. Terjung RL, Clarkson P, Eichner ER, Greenhaff PL, Hespel PJ, Israel RG, Kraemer WJ, Meyer RA, Spriet LL, Tarnopolsky MA, Wagenmakers AJ, Williams MH. American College of Sports Medicine roundtable. The physiological and health effects of oral creatine supplementation. *Med Sci Sports Exerc*. 2000, 32 (3):706-17.
32. Valderrabano V, Steiger C. Treatment and Prevention of Osteoarthritis through Exercise and Sports. *J Aging Res*. 2011, 2011:374653.
33. Wallimann T, Hemmer W. Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. *Mol Cell Biochem*. 1994, 133-134:193-220.
34. Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem J*. 1992, 281 (Pt 1):21-40.
35. Wyss M, Wallimann T. Creatine metabolism and the consequences of creatine depletion in muscle. *Mol Cell Biochem*. 1994, 133-134:51-66.
36. Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, Abramson S, Altman RD, Arden N, Bierma-Zeinstra S, Brandt KD, Croft P, Doherty M, Dougados M, Hochberg M, Hunter DJ, Kwoh K, Lohmander LS, Tugwell P. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, part I: critical appraisal of existing treatment guidelines and systematic review of current research evidence. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007, 15 (9):981-1000.

APÊNDICE 2

Artigo "Effect of Creatine Supplementation on Measured Glomerular Filtration Rate in Postmenopausal Women", aceito para publicação na revista "**Applied Physiology Nutrition and Metabolism**" em dezembro de 2010.

EFFECT OF CREATINE SUPPLEMENTATION ON MEASURED GLOMERULAR FILTRATION RATE IN POSTMENOPAUSAL WOMEN

Manoel Neves-Jr, M.D. ¹, Bruno Gualano, Ph.D. ^{1,2}, Hamilton Roschel, Ph.D. ^{1,2}, Fernanda Rodrigues Lima, M.D., Ph.D. ¹, Ana Lucia de Sa-Pinto, M.D., Ph.D. ¹, Antonio Carlos Seguro, M.D./Ph.D. ³, Maria Heloisa Shimizu, Ph.D. ³, Marcelo Tatit Sapienza, M.D./Ph.D. ⁴, Ricardo Fuller, M.D., Ph.D. ¹, Antonio Herbert Lancha-Jr, Ph.D. ², Eloisa Bonfa, M.D., Ph.D. ¹

¹ University of Sao Paulo, School of Medicine, Division of Rheumatology, Brazil

² University of Sao Paulo, School of Physical Education and Sport, Brazil

³ University of Sao Paulo, School of Medicine, Division of Nephrology, Brazil

⁴ University of Sao Paulo, School of Medicine, Division of Nuclear Medicine, Brazil

Corresponding author:

Eloisa Bonfa

Faculdade de Medicina, Universidade de Sao Paulo, 3º andar, sala 3131

Divisao de Reumatologia

Av. Dr. Arnaldo, 455, Cerqueira Cesar

Sao Paulo-SP, Brazil

01246-903

Phone: + 55 11 3061.7490

e-mail: ebonfa@lim17.fm.usp.br

ABSTRACT

We aimed to investigate whether creatine supplementation affects measured glomerular filtration rate (GFR) in postmenopausal women. Subjects were randomly assigned to receive either creatine or placebo in a double-blind fashion. Kidney function was assessed at baseline and after 12 weeks. ^{51}Cr -EDTA clearance was not different between groups (CR-PRE: 86.16 ± 14.36 , POST: $87.25 \pm 17.60 \text{ mL/min/1.73m}^2$; PL-PRE: 85.15 ± 8.54 , POST: $87.18 \pm 9.64 \text{ mL/min/1.73m}^2$; $p=0.81$). Other kidney function parameters were also unchanged. Thus, creatine supplementation does not affect measured GFR in postmenopausal women.

Keywords: kidney function, safety, ^{51}Cr -EDTA clearance, creatinine

INTRODUCTION

Over the past two decades a few case reports have suggested that creatine (CR) supplementation may impair kidney function. However, these reports have been criticized due to their severe limitations, such as their retrospective design and the lack of the subjects' clinical background (Kuehl et al. 1998; Pritchard and Kalra 1998; Thorsteinsdottir et al. 2006; Koshy et al. 1999). Even though prospective human studies have consistently demonstrated that CR supplementation does not affect estimated glomerular filtration rate (GFR) in healthy subjects (Gualano et al. 2010b; Gualano et al. 2008; Kreider et al. 2003; Poortmans et al. 1997; Poortmans and Francaux 1999, 2000; Poortmans et al. 2005), they also present some limitations, particularly the lack of a gold-standard marker for directly measuring GFR.

In the clinical setting, kidney function has been most commonly assessed by the serum creatinine concentration or an estimate of GFR based on serum creatinine. However, the ability of these methods to accurately estimate changes in GFR is highly controversial (Levey et al. 2003). Moreover, the spontaneous conversion of CR into creatinine (Wyss and Kaddurah-Daouk 2000) may hamper the interpretation of serum creatinine as a reliable marker of GFR during CR supplementation, since the possible increase in creatinine production may falsely suggest kidney function deterioration (Gualano et al. 2010b; Gualano et al. 2008). Therefore, gold-standard methods for measuring GFR,

such as the ^{51}Cr -ethylenediamine tetraacetic acid (^{51}Cr -EDTA) clearance, are certainly the best alternatives to accurately determine kidney function in individuals supplemented with CR.

Recently, numerous studies have suggested that CR supplementation may have therapeutic effects in older subjects by improving muscle mass, strength, glycemic control, bone mass density and cognition (for a comprehensive review, see Gualano et al. (2010a)). Therefore, studies evaluating the safety of CR supplementation on kidney function in this population are imperative.

The aim of this study was to examine the effects of CR supplementation on measured GFR in postmenopausal women.

METHODS

Subjects

This study is part of a larger randomized controlled trial which aimed to investigate the possible therapeutic role of CR supplementation combined with exercise training in knee osteoarthritis patients. Twenty-six postmenopausal women previously diagnosed with knee osteoarthritis were selected to participate in the study. The exclusion criteria were: participation in physical exercise training programs in the past one year, cardiovascular diseases and/or muscle skeletal disturbances that precluded exercise participation, use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the past three weeks, vegetarian diet, previous use of CR supplements, and $\text{GFR} < 30 \text{ mL/min/1.73m}^2$. Patients' characteristics are presented in Table 1. The study was approved by the Local Ethical Committee and the subjects signed the informed consent.

Table 1. Patients' characteristics.

	Creatine (n = 13)	Placebo (n = 11)	<i>P (CR vs PL)</i>
Disease duration (years since diagnosis)	5 (3)	5 (4)	0.88
Age (years)	59 (3)	57 (3)	0.91
BMI (Kg/m ²)	28.5 (3.8)	29.7 (3.2)	0.66
<i>Drugs (n (%))</i>			
Glucosamine	4 (30,8%)	4 (36.4%)	0.82
Chondroitin	3 (23.0%)	3 (27.3%)	0.84
Diacerein	0 (0%)	1 (9%)	0.46

BMI = body mass index. Data expressed as mean (standard deviation) or number of patients (percentage of the sample). No significant differences were observed between groups.

Experimental protocol

The patients were randomly assigned to receive either creatine (CR) or placebo (PL) in a double-blind fashion. All of the patients undertook a supervised program comprised of lower-limb strengthening exercises for three months, three times a week.

The patients were assessed at baseline (PRE) and after 12 weeks (POST). Blood samples and twenty-four-hour urine collection were obtained following a 12-h overnight fasting for kidney function assessments. Additionally, we performed ⁵¹Cr-EDTA clearance. Possible differences in dietary intake were assessed by means of three 24-h dietary recalls undertaken on separate days (two weekdays and one weekend day).

Creatine supplementation and blinding procedures

The CR group received 5g/d of CR monohydrate throughout the trial. The PL group was given the same dose of dextrose in place of CR. The supplement packages were coded so that neither the investigators nor the participants were aware of the contents until completion of the analyses. The compliance with supplementation was monitored weekly by asking the patients personally. In order to

verify the purity of the CR used, a sample was analyzed by HPLC. This established 99.9% of purity, with no other peaks detected (creatinine, dicyandiamide and cyclocreatine < 0.01%).

⁵¹Cr-EDTA clearance

After a 24h-protein-restricted diet and a 12-h overnight fasting, the subjects were admitted to our clinical research center. They rested supine with an indwelling polyethylene catheter inserted into a cubital vein in both arms. A single dose of 3.7MBq (100 µCi) of the ⁵¹Cr-EDTA tracer, in a volume of 1 ml was injected intravenously in the right arm. Blood samples (10 mL) were drawn into a heparinized tube from the opposite arm at 4 and 6 h after the injection. To measure the radioisotope activity, the samples were centrifuged at 1500 g for 10 min and 3 ml of plasma measured in a well-counter calibrated for the energy of chromium-51 (320 keV). Each sample, including a 3 ml standard, taken as an aliquot from 3.7MBq (100 µCi) ⁵¹Cr-EDTA diluted to 500 mL in saline, was counted for 5 min. The plasma clearance rate was calculated by the slope-intercept method with a single-compartment model, which assumes that the tracer spreads out immediately after injection in its volume of distribution. The Brochner–Mortensen method was used for correcting systematic errors of the slope-intercept technique according to the equation:

$$Cl_c = 0.9908 \times Cl_{nc} - 0.001218 \times Cl_{nc}^2,$$

where Cl_c is the clearance corrected for the first exponential and Cl_{nc} is the non-corrected clearance. ⁵¹Cr-EDTA clearance was also corrected for 1.73 m² body surface. The coefficient of variation for ⁵¹Cr-EDTA clearance was 9.7%.

Other kidney function measurements

Creatinine was determined using Jaffe's kinetic method. Urea was assessed by an UV-kinetic method. Albuminuria was determined by means of nephelometry and proteinuria was measured through the benzethonium chloride method.

Statistical analysis

Data were tested by a two-way ANOVA with repeated measures (Mixed Model) using the SAS software. A post hoc test adjusted by Tukey was used for multicomparison purposes. Baseline characteristics between groups were compared using Student's *t* test or Fisher's exact test. Significance level was previously set at $p < 0.05$. Data are presented as mean $\pm$ standard deviation.

We determined that we would need 24 patients to provide 80% power (5% significance, two-tailed) to detect a 20% reduction in ^{51}Cr -EDTA clearance. In order to account for midtrial withdrawals, we enlarged our study population by approximately 10%.

RESULTS

Two patients withdrew from the study due to personal reasons, thus 24 patients were analyzed (CR = 13; PL = 11).

Food consumption was similar between groups for total energy intake ($p=0.69$), carbohydrate ($p=0.53$), protein ($p=0.36$) and lipid ($p=0.79$). Protein per kg BW was also comparable between groups (CR PRE: 1.32 ± 0.33 , POST: $1.41 \pm 0.41\text{g}$; PL PRE: 1.43 ± 0.28 , POST: $1.38 \pm 0.39\text{g}$; $p=0.41$).

^{51}Cr -EDTA clearance was not different between groups (CR PRE: 86.16 ± 14.36 , POST: 87.25 ± 17.60 ; PL PRE: 85.15 ± 8.54 , POST: $87.18 \pm 9.64\text{ mL/min/1.73m}^2$; $p=0.8$; Figure 1). Additionally, no significant differences were observed for other kidney function parameters (Table 2).

Figure 1. Effects of creatine supplementation on ^{51}Cr -EDTA clearance in postmenopausal women. No significant differences were observed ($p = 0.58$; CR = 13 and PL = 12). *Note:* Conversion factors for units: glomerular filtration rate in mL/min/1.73 m^2 to mL/s/1.73 m^2 , $\times 0.01667$.

Table 2. Effects of creatine supplementation on kidney function in postmenopausal women

<i>Variable</i>	Creatine (n = 13)		Placebo (n = 11)		<i>P (CR vs PL)</i>
	<i>Pre</i>	<i>Post</i>	<i>Pre</i>	<i>Post</i>	
Albuminuria (mg/24h)	3.85 (2.36)	5.13 (2.12)	0.76 (0.13)	6.23 (4.06)	0.38
Proteinuria (g/24h)	0.11 (0.05)	0.09 (0.06)	0.11 (0.06)	0.10 (0.05)	0.56
Urinary creatinine (g/24h)	1.05 (0.16)	1.05 (0.26)	0.98 (0.20)	1.14 (0.18)	0.12
Serum creatinine (mg/dL)	0.77 (0.12)	0.78 (0.10)	0.76 (0.13)	0.78 (0.09)	0.89
Urinary urea (g/24h)	21.81 (5.21)	18.94 (6.36)	19.64 (4.67)	19.45 (4.41)	0.27
Serum urea (mg/dL)	39.46 (9.08)	36.83 (8.09)	36.64 (8.71)	36.27 (8.03)	0.55
Alb:crn ratio (mg/g/24h)	6.26 (3.37)	6.63 (2.65)	5.31 (2.26)	6.59 (4.57)	0.57
Estimated creatinine clearance (mL/min/1.73 m ²)	106.68 (23.73)	107.71 (24.36)	119.00 (21.23)	117.23 (20.69)	0.72

Alb = albuminuria; crn = creatinine. Data expressed as mean (standard deviation), estimated differences between means (confidence interval of 95%) and level of significance (P) between CR vs PL. There were no significant differences between groups at baseline. No significant differences were noted within (i.e., time effects) or between groups (i.e., main effect for treatment). *Note:* Conversion factors for units: serum creatinine in mg/dL to mol/L, $\times 88.4$; serum urea in mg/dL to mmol/L, $\times 0.166$; glomerular filtration rate in mL/min/1.73 m² to mL/s/1.73 m², $\times 0.01667$.

DISCUSSION

The findings of the present study provide strong evidence that CR supplementation does not affect measured GFR in postmenopausal women.

Even though it has been suggested that CR supplementation does not impair kidney function (Gualano et al. 2010b; Gualano et al. 2008; Kreider et al. 2003; Poortmans et al. 1997; Poortmans and Francaux 1999, 2000; Poortmans et al. 2005), GFR has only been estimated in the longitudinal studies by using less accurate measurements. Furthermore, some of these methods (e.g. serum creatinine and

creatinine clearance) may be influenced by CR supplementation. In this regard, the ^{51}Cr -EDTA clearance provides an accurate and objective measurement of GFR in individuals supplemented with CR.

By using the ^{51}Cr -EDTA clearance, our group demonstrated that CR supplementation does not deteriorate GFR in a young athlete with a single kidney (Gualano et al. 2010b) and in adults with type 2 diabetes (Gualano et al. 2010 in press-b). In the present study, we extend this notion to older postmenopausal women. This finding is of paramount importance considering the cumulative evidence pointing out several therapeutic applications for CR supplementation in older individuals, including improvements in resistance to fatigue, strength, body composition, bone mass density, glycemic control, and cognition (Gualano et al. 2010a; Gualano et al. 2010 in press-a).

The current study presents two main limitations. First, the follow-up was rather short warranting further investigations regarding the safety of long-term CR supplementation. Second, our subjects had no previous decreased GFR, hence we cannot extrapolate these findings to people with or at risk of chronic kidney disease.

In conclusion, we showed that CR supplementation does not affect measured GFR in postmenopausal women. These findings further encourage novel therapeutic studies in older subjects.

ACKNOWLEDGMENTS

Manoel Neves-Junior was supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal em Nível Superior. The authors declare that they have no conflict of interests.

REFERENCES

- Gualano, B., Artioli, G.G., Poortmans, J.R., and Lancha Junior, A.H. 2010a. Exploring the therapeutic role of creatine supplementation. *Amino Acids* **38**(1): 31-44.
- Gualano, B., Ferreira, D.C., Sapienza, M.T., Seguro, A.C., and Lancha, A.H., Jr. 2010b. Effect of short-term high-dose creatine supplementation on measured GFR in a young man with a single kidney. *Am J Kidney Dis* **55**(3): e7-9.
- Gualano, B., Paineli, V., Roschel, H., Artioli, G., Neves-Jr, M., Sa-Pinto, A., et al. 2010 in press-a. Creatine in type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial *Med Sci Sports Exerc*.
- Gualano, B., Paineli, V., Roschel, H., Lugaesi, R., Dorea, E., Artioli, G., et al. 2010 in press-b. Creatine supplementation does not impair kidney function in type 2 diabetic patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Eur J Appl Physiol*.
- Gualano, B., Ugrinowitsch, C., Novaes, R.B., Artioli, G.G., Shimizu, M.H., Seguro, A.C., et al. 2008. Effects of creatine supplementation on renal function: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Eur J Appl Physiol* **103**(1): 33-40.
- Koshy, K.M., Griswold, E., and Schneeberger, E.E. 1999. Interstitial nephritis in a patient taking creatine. *N Engl J Med* **340**(10): 814-815.
- Kreider, R.B., Melton, C., Rasmussen, C.J., Greenwood, M., Lancaster, S., Cantler, E.C., et al. 2003. Long-term creatine supplementation does not significantly affect clinical markers of health in athletes. *Mol Cell Biochem* **244**(1-2): 95-104.
- Kuehl, K., Goldberg, L., and Elliot, D. 1998. Renal insufficiency after creatine supplementation in a college football athlete (abstract). *Medicine and Science in Sports and Exercise* **30**(S235).
- Levey, A.S., Coresh, J., Balk, E., Kausz, A.T., Levin, A., Steffes, M.W., et al. 2003. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med* **139**(2): 137-147.
- Poortmans, J.R., Auquier, H., Renaut, V., Durussel, A., Saugy, M., and Brisson, G.R. 1997. Effect of short-term creatine supplementation on renal responses in men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **76**(6): 566-567.

- Poortmans, J.R., and Francaux, M. 1999. Long-term oral creatine supplementation does not impair renal function in healthy athletes. *Med Sci Sports Exerc* **31**(8): 1108-1110.
- Poortmans, J.R., and Francaux, M. 2000. Adverse effects of creatine supplementation: fact or fiction? *Sports Med* **30**(3): 155-170.
- Poortmans, J.R., Kumps, A., Duez, P., Fofonka, A., Carpentier, A., and Francaux, M. 2005. Effect of oral creatine supplementation on urinary methylamine, formaldehyde, and formate. *Med Sci Sports Exerc* **37**(10): 1717-1720.
- Pritchard, N.R., and Kalra, P.A. 1998. Renal dysfunction accompanying oral creatine supplements. *Lancet* **351**(9111): 1252-1253.
- Thorsteinsdottir, B., Grande, J.P., and Garovic, V.D. 2006. Acute renal failure in a young weight lifter taking multiple food supplements, including creatine monohydrate. *J Ren Nutr* **16**(4): 341-345.
- Wyss, M., and Kaddurah-Daouk, R. 2000. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev* **80**(3): 1107-1213.

APÊNDICE 3

Artigo "Familiarization to lower limb strength testing in middle-aged women with knee osteoarthritis", aceito para publicação na revista "**Physiotherapy**" em fevereiro de 2011.

FAMILIARIZATION TO LOWER LIMB STRENGTH TESTING IN MIDDLE-AGED WOMEN WITH KNEE OSTEOARTHRITIS

Hamilton Roschel^{1,2*}(✉), Manoel Neves Junior^{1*}, Bruno Gualano^{1,2}, Renato Barroso², Christiano Robles^{1,2}, Ana Lucia de Sa Pinto¹, Ricardo Fuller¹, Fernanda Rodrigues Lima¹

* Both authors contributed equally to the manuscript.

¹ University of Sao Paulo, School of Medicine, Division of Rheumatology
Av. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar, 155
Sao Paulo-SP, Brazil
05403-000

² University of Sao Paulo, School of Physical Education and Sport, Brazil
Av. Prof. Mello Moraes, 65
Sao Paulo-SP, Brazil
05508-900

Short title: Strength testing in knee osteoarthritis

Address for correspondence (✉):

Hamilton Roschel, PhD
Av. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar, 155
Sao Paulo-SP, Brazil
Postal code: 05403-000
Phone: +55 11 30698022
Fax: +55 11 38135921
E-mail: hars@usp.br

ABSTRACT

Objective: Considering that quadriceps weakness is a salient risk factor for knee osteoarthritis (OA), accurate measurements of lower-limb muscle strength in OA patients have been understood to be essential in both research and clinical practice. Therefore, we aimed to determine the number of familiarization sessions needed to stabilize lower-limb maximal dynamic strength in knee OA patients. **Participants:** Twenty-eight women (age: 57 ± 3 years, height: 158 ± 7 cm; weight: 72.6 ± 9.2 kg) with knee OA, according to the ACR criteria, took part in the study. **Design:** The participants were tested for their lower-limb one-repetition maximum (1-RM) leg-press. Testing measurement was considered stable when the variation between two subsequent sessions was less than 5%. **Results:** The patients required 3.8 ± 0.8 familiarization sessions to achieve stability in the test. The 1-RM leg press on the first and the last testing session were 72.3 ± 13.9 kg and 86.1 ± 15.3 kg, respectively. There was a significant ($p < 0.001$) average improvement of 20.7% between the first and the last testing sessions. **Conclusions:** We demonstrated that, in average, 4 familiarization sessions are necessary for accurately assessing lower-limb maximum dynamic strength in middle-aged women with knee OA.

Keywords: strength testing; muscle weakness; rheumatic disease

INTRODUCTION

Quadriceps weakness is an important risk factor for knee osteoarthritis (OA) (Mikesky et al., 2006). Importantly, it is known that increases in quadriceps strength can improve function, ameliorate symptoms (e.g. pain) and slow the progression of knee OA (Bennell & Hinman, 2005). In this context, the accurate measurement of muscle strength in OA patients has become imperative to preventing misinterpretation in both research and clinical practice.

It is important to note that a single strength testing session promotes neural facilitation and motor-learning adaptations (i.e. learning effect), which may lead to strength gains (Enoka, 1988), thereby overestimating the effects of a given intervention. To avoid this bias, familiarization sessions have been recommended, which minimize the differences between the true and the observed scores (i.e. measurement error) (Phillips, Batterham, Valenzuela, & Burkett, 2004; Ploutz-Snyder & Giamis,

2001). However, the number of familiarization sessions necessary to reduce the measurement error has been vastly divergent across populations. For instance, Ploutz-Snyder and Giamis (Ploutz-Snyder & Giamis, 2001) reported that healthy older women need significantly more familiarization sessions to stabilize their maximal dynamic strength (i.e. one repetition-maximum [1-RM]) when compared to younger women (8-9 vs 3-4 familiarization sessions, respectively). To the best of our knowledge, no study has addressed this issue in patients with physical disabilities.

Therefore, the aim of this study was to determine the number of familiarization sessions needed to stabilize lower limb 1-RM in knee OA patients.

METHODS

Participants

Women between 50 and 65 years of age with knee OA, according to the American College of Rheumatology criteria, were eligible to participate in the study. The exclusion criteria included: cardiovascular or muscle skeletal disturbances that precluded the participation; treatment with intra-articular hyaluronic acid six months prior to the study; fibromyalgia and tendinopathy. Twenty eight patients completed the study (age: 57 ± 3 years, height: 158 ± 7 cm; weight: 72.6 ± 9.2 kg; visual analogue scale: 6 ± 1). Based on the Kellgren and Lawrence (Kellgren & Lawrence, 1957) classification, 5 (17.8%) patients had grade 2 OA, 21 (75%) had grade 3 OA, and 2 (7%) had grade 4 OA.

Procedures

Participants were tested for their lower limb 1-RM (i.e. maximum amount of weight that can be lifted in one repetition), using a horizontal leg-press machine (Kiko's, Sao Paulo, Brazil). Testing sessions were separated for 72-96h. Testing measurement was considered stable when the variation between two subsequent sessions was less than 5% (considered the normal inter-day variation in strength assessments) (Bazzucchi, Felici, Macaluso, & De Vito, 2004). During the leg-press exercise, participants were seated with their back fully supported. The leg-press machine was adjusted to allow

a 90° range of motion during the exercise. The starting position was assumed with the participant's knee fully extended followed by a 90° knee flexion and then returning to the starting position.

The 1-RM procedures followed the ASEP guidelines (Brown & Weir, 2001). In short, participants started with a general warm-up consisting of light walking on a treadmill for 10 minutes at 5km/h. Then, a specific warm-up routine of 8 repetitions at 50% of the estimated 1-RM followed by a set of 3 repetitions at 70% of the estimated 1-RM was performed. Warm-up sets were separated by a 2-minute interval. After the completion of the second set, participants rested for 3 minutes and then had up to five attempts to achieve their 1-RM. A 3-min interval was allowed between attempts. Tests were conducted by an experienced researcher and strong verbal encouragement was provided during the attempts.

The study was approved by the Local Ethical Committee and all of the subjects signed a written informed consent

Statistical analyses

Results are expressed as mean $\pm$ sd. Leg-press 1-RM values from the first and the last sessions and from the last two testing sessions were compared by paired t-tests with Bonferroni adjustment. Significance level was set at $p \leq 0.05$.

RESULTS

Participants required 3.8 ± 0.8 familiarization sessions (range: 3-5) to achieve stability in the test. The 1-RM leg press on the first and the last testing session were 72.3 ± 13.9 kg and 86.1 ± 15.3 kg, respectively. There was a significant ($p < 0.001$) average improvement of 20.7% between the first and the last testing sessions. In addition, strength was comparable between the last two testing sessions ($p = 0.87$).

DISCUSSION

The objective of this study was to assess the number of familiarization sessions necessary to stabilize leg-press 1-RM measurements in women with knee OA. We found that OA patients needed, in average, 4 familiarization sessions to achieve stability in lower limb maximal strength test. In addition, there was a significant increase in 1-RM values (20.7%) throughout the familiarization sessions. The present findings stress the relevance of familiarization sessions to avoid overestimating strength gains as a result of any intervention (either at the clinical or research environment) involving knee OA patients.

Nonetheless, the importance of familiarization has been largely underestimated. It is worth noting that a reduced number of clinical trials which aimed at examining strength in OA patients has presented a comprehensive description of the familiarization procedure. Among them, only a minor part has mentioned the application of 3 or more familiarization sessions. Thus, in order to eliminate this bias, we recommend that a proper familiarization procedure (i.e. at least 3 sessions) be performed in further knee OA studies involving strength assessment.

As compared to healthy subjects, one might expect that knee OA patients could require more familiarization sessions to stabilize strength measurements due to several factors, such as the chronic pain, whose intensity and site may vary throughout testing sessions, and the disability, which may affect the motor-control and learning adaptations. However, the number of familiarization sessions required for OA patients to stabilize lower limb 1-RM strength is similar to that previously observed (Ploutz-Snyder & Giamis, 2001) in healthy young women (3-4 sessions). Additionally, the strength improvement observed in the present study is similar to that previously noticed in healthy older women (22%) (Ploutz-Snyder & Giamis, 2001). Altogether, these findings allow us to speculate that the learning effect involved in lower limb dynamic strength testing is comparable between healthy and knee OA patients. However, caution should be exercised in extrapolating these results to either older or male patients, with more severe OA, or under different pharmacological treatment.

In summary, we showed that 4 familiarization sessions are necessary for accurately assessing lower limb maximum dynamic strength in middle-aged women with knee OA.

REFERENCES

- Bazzucchi, I., Felici, F., Macaluso, A., & De Vito, G. (2004). Differences between young and older women in maximal force, force fluctuations, and surface EMG during isometric knee extension and elbow flexion. *Muscle Nerve*, 30, 626-635.
- Bennell, K., & Hinman, R. (2005). Exercise as a treatment for osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*, 17, 634-640.
- Brown, L. E., & Weir, J. P. (2001). ASEP procedures recommendation I: accurate assessment of muscular strength and power. *J Exerc Physiol (online)*, 4, 1-21.
- Enoka, R. M. (1988). Muscle strength and its development: new perspectives. *Sports Med*, 6, 146-168.
- Kellgren, J. H., & Lawrence, J. S. (1957). Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis*, 16, 494-502.
- Mikesky, A. E., Mazzuca, S. A., Brandt, K. D., Perkins, S. M., Damush, T., & Lane, K. A. (2006). Effects of strength training on the incidence and progression of knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 55, 690-699.
- Phillips, W. T., Batterham, A. M., Valenzuela, J. E., & Burkett, L. N. (2004). Reliability of maximal strength testing in older adults. *Arch Phys Med Rehabil*, 85, 329-334.
- Ploutz-Snyder, L. L., & Giamis, E. L. (2001). Orientation and familiarization to 1RM strength testing in old and young women. *J Strength Cond Res*, 15, 519-523.