

Ministério da Saúde
SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE TRAUMATOLOGIA E ORTOPEDIA JAMIL HADDAD

Mestrado em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético

ANÁLISE DO PERFIL METABÓLICO DO LÍQUIDO SINOVIAL E DE
ASPECTOS CLÍNICOS EM PACIENTES COM OSTEOARTRITE DO JOELHO

Mario Corrêa Netto Pacheco Junior

Rio de Janeiro
2020

MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE TRAUMATOLOGIA E ORTOPEDIA JAMIL HADDAD

Mestrado em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético

ANÁLISE DO PERFIL METABÓLICO DO LÍQUIDO SINOVIAL E DE
ASPECTOS CLÍNICOS EM PACIENTES COM OSTEOARTRITE DO JOELHO

Mario Corrêa Netto Pacheco Junior

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético do Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências

Orientador (es): Prof. Dr. Eduardo Branco de Sousa
Prof. Dr. Gílson Costa dos Santos Junior

Rio de Janeiro
Março
2020

CATALOGAÇÃO NA FONTE
INTO/BIBLIOTECA SÉRGIO EDUARDO VIANNA

P116a Pacheco Junior, Mario Corrêa Netto.

Análise do perfil metabólico do líquido sinovial e de aspectos clínicos em pacientes com osteoartrite do joelho. / Mario Corrêa Netto Pacheco Junior. — 2020.
73 f.

Orientadores: Eduardo Branco de Sousa e Gilson Costa dos Santos Junior.

Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético). — Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad, Rio de Janeiro, 2020.

1. Líquido Sinovial. 2. Metabolômica. 3. Osteoartrite. 4. Síndrome Metabólica. 5. Ortopedia. I. Sousa, Eduardo Branco de; Santos Junior, Gilson Costa dos, orient. II. Título.

NLM WE 870

MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE TRAUMATOLOGIA E ORTOPEDIA JAMIL HADDAD

Mestrado em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético

ANÁLISE DO PERFIL METABÓLICO DO LÍQUIDO SINOVIAL E DE
ASPECTOS CLÍNICOS EM PACIENTES COM OSTEOARTRITE DO JOELHO

Mario Corrêa Netto Pacheco Junior

Banca examinadora:

Dra. Ana Carolina Leal de Oliveira (INTO)

Dra. Aline Cordeiro Fernandes Ladeira (INTO)

Dra. Juliana de Mattos Coelho Aguiar (UFRJ)

Dr. Diego Pinheiro Aguiar (INTO)

Dra. Vanessa Sandim Siqueira (UFRJ)

Rio de Janeiro
Março
2020

À minha família, com amor.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, o agradecimento é voltado para Deus. Sem ELE, nada seria possível. Desde o início da vida, pude sentir a condução do meu caminho feita por ELE. Com esforço e dedicação, pude atingir a Graduação em Medicina pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro e concluir a Residência Médica em Ortopedia e Traumatologia (INTO) e a especialização em Cirurgia do Joelho pelo referido Instituto. A Deus, a minha eterna gratidão pela saúde, pela família e por todas as outras conquistas na minha vida.

Agradeço enormemente o auxílio do Dr. Eduardo Branco de Sousa, importante na minha formação durante a Residência Médica e que não mediu esforços para permitir que esse trabalho chegasse ao fim.

Ao Dr. Gilson dos Santos Junior, cumprimento efusivamente pelos esclarecimentos e suporte na execução dessa tese de Mestrado.

À Dra. Aline Cordeiro, pela gentileza de analisar e revisar minuciosamente essa tese.

A todos os funcionários do INTO, sem exceção e, em especial à equipe médica do Centro de Cirurgia do Joelho, o meu reconhecimento ao papel importantíssimo de cada um, que me proporcionou as conquistas da especialização em Ortopedia e a conclusão desse Mestrado.

A todos os membros do curso de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético do INTO pela possibilidade de participar e concluir esse Mestrado.

A meus sogros, Maria Ignês e José Fernando Santos e à minha cunhada Danielle Santos, por terem aberto as portas de sua casa para tão bem me receber em um momento difícil.

À minha irmã, Camila Pacheco, pelo suporte e carinho incondicionais.

A meus pais, Sônia e Mario Pacheco, agradeço pelo dom da vida, pelo amor ofertado, por todos os sacrifícios e apoio na minha trajetória, que me fizeram um homem íntegro e honesto.

À minha esposa, Vanessa Pacheco, minha alma gêmea, que me ensinou a amar e a dividir a vida em plena harmonia e por ter me concedido a honra de ser pai de duas pequenas joias valiosíssimas: João Guilherme e Maria Fernanda, frutos de tudo de mais belo que a vida pode oferecer.

Por vocês e para vocês, essa vitória é nossa.

“Eu não desejava a vitória, mas a luta”.
Johan August Strindberg.

RESUMO

PACHECO JUNIOR. M.C.N. Análise do perfil metabólico do líquido sinovial e de aspectos clínicos em pacientes com osteoartrite do joelho. Rio de Janeiro, 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético) - Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad, Ministério da Saúde, 2020.

A osteoartrite do joelho (OAJ) é uma doença inflamatória prevalente e que, em estágios avançados, gera uma grande limitação aos indivíduos afetados. Há uma associação crescente entre OAJ e síndrome metabólica, devido, provavelmente, às alterações celulares inflamatórias, induzidas pela hipertensão arterial, dislipidemia, diabetes *mellitus* e obesidade. A compreensão dos mecanismos fisiopatológicos é fundamental para o controle evolutivo e detecção precoce da doença. A metabolômica surge como uma opção promissora para esses fins. O objetivo deste estudo foi correlacionar o perfil metabólico do líquido sinovial de pacientes com e sem OAJ com fatores clínicos relacionados ao desenvolvimento da síndrome metabólica a partir da reavaliação de um banco de dados. Os pacientes foram divididos em dois grupos para avaliação: sem OAJ, composto por pacientes submetidos à artroscopia do joelho para tratamento de lesão meniscal ou reconstrução do ligamento cruzado anterior (n=8; Grau 0, segundo a classificação de *Kellgren e Lawrence*) e com OAJ, constituído por indivíduos com osteoartrite, que foram submetidos à cirurgia de artroplastia total do joelho (n=26, Graus 3 e 4 segundo classificação de *Kellgren e Lawrence*). A partir de um banco de dados de análise metabolômica, por espectroscopia por ressonância magnética nuclear, de amostras de líquido sinovial de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico no INTO, foram coletados nos registros médicos os dados referentes à idade, sexo, peso, altura e glicemia de jejum. Assim, foi realizada análise multivariada para verificar a possibilidade de distinguir diferentes subgrupos de pacientes a partir de fatores potencialmente associados com a osteoartrite e à síndrome metabólica, como a idade, a glicemia e o índice de massa corporal. A análise metabólica foi capaz de diferenciar os pacientes sem OAJ e com OAJ de acordo com o perfil metabólico, sendo o glicerol o metabólito aumentado no grupo de pacientes com OAJ. Além disso, nessa mesma população, a metabolômica evidenciou uma leve separação dos indivíduos em subgrupos, de acordo com as associações de idade e faixas de glicemia; e, idade e IMC.

Palavras-chave: Líquido sinovial, metabolômica, osteoartrite, síndrome metabólica.

ABSTRACT

PACHECO JUNIOR. M.C.N. Synovial fluid metabolomic profile and clinical aspects in patients with knee osteoarthritis. Rio de Janeiro, 2020. Master Thesis. (Master's Degree in Applied Sciences to the Musculoskeletal System) - National Institute of Traumatology and Orthopedics Jamil Haddad, Ministry of Health, 2020.

Knee osteoarthritis (KOA) is a prevalent inflammatory disease and, in advanced stages, promotes progressive disability. There are increasing evidences of the association between KOA with metabolic syndrome, probably, due to inflammatory cell changes, induced by arterial hypertension, dyslipidemia, diabetes mellitus and obesity. The comprehension of the pathophysiological mechanisms is essential for the control and early detection of the disease. Metabolomics emerges as a promising tool for these purposes. The goal of this study was to correlate the metabolic profile of synovial fluid in patients with and without knee osteoarthritis with clinical factors related to the development of the disease based on the reanalysis of a patient's database. Patients were divided in two groups: patients without KOA, who underwent knee arthroscopy to treatment meniscal injuries or reconstruct the anterior cruciate ligament (n = 8; Grade 0, according to the Kellgren and Lawrence classification) and patients with KOA, consisting of individuals with osteoarthritis, who underwent total knee arthroplasty surgery (n = 26, Grade 3 and 4 according to the Kellgren and Lawrence classification). From the database of synovial fluid metabolomic analysis by nuclear magnetic resonance spectroscopy, clinical data were collected from medical records, including, age, sex, height and weight, and fasting blood glucose levels. Then, multivariate analysis was performed to identify the possibility of distinguishing different subgroups of patients based on clinical factors potentially associated with osteoarthritis and metabolic syndrome, such as age, blood glucose and body mass index. Metabolic analysis was able to differentiate patients from the group without osteoarthritis those in the group with osteoarthritis, according to the metabolic profile, with glycerol being the increased metabolite in the group of patients with osteoarthritis. Furthermore, in this same population, metabolomics showed a slight separation of the individuals in subgroups, according the associations between age and blood glucose; and between age and BMI.

Key words: Metabolomics, metabolic syndrome, osteoarthritis, and synovial fluid.

SUMÁRIO

RESUMO.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	XI
LISTA DE FIGURAS.....	XII
LISTA DE QUADROS E TABELAS	XIII
1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Osteoartrite do joelho	14
1.1.1 Distribuição epidemiológica	15
1.1.2 Aspectos mecânicos da osteoartrite	15
1.1.3 Aspectos inflamatórios e celulares da osteoartrite.....	17
1.1.4 Aspectos metabólicos da osteoartrite	19
1.1.5 Diagnóstico da osteoartrite do joelho	22
1.1.6 Tratamento da osteoartrite do joelho	23
1.2 Metabolômica por ressonância magnética nuclear	23
2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE	28
3 OBJETIVOS	29
3.1 Objetivo principal	29
3.2 Objetivos específicos.....	29
4 MÉTODOS.....	30
4.1 Desenho do estudo	30
4.2 Coleta dos dados clínicos e laboratoriais dos pacientes.....	31
4.2.1 Glicemia	31
4.2.2 Índice de Massa Corporal	32
4.2.3 Faixa etária	33
4.3 Metabolômica por ressonância magnética nuclear	33
4.4 Análise estatística	33
5 RESULTADOS	35

5.1	Perfil dos pacientes.....	35
5.2	Perfil metabólico do líquido sinovial	37
5.2.1	Análise pelo diagnóstico de osteoartrite	38
5.2.2	Comparação por faixas etárias	39
5.2.3	Avaliação pelas faixas de índice de massa corporal	39
5.2.4	Análise pelas faixas de glicemia	40
5.2.5	Análises agrupadas.....	41
6	DISCUSSÃO	44
6.1	Osteoartrite	44
6.2	Líquido sinovial e análise metabólica	45
6.3	Gravidade da osteoartrite e perfil metabólico	46
6.4	Idade e perfil metabólico na osteoartrite.....	48
6.5	Síndrome metabólica e perfil metabólico na osteoartrite.....	49
6.6	Considerações finais.....	52
7	CONCLUSÃO.....	53
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
	ANEXO A. PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	61
	ANEXO B. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	68
	APÊNDICE A: PROTOCOLO DE ANÁLISE METABOLÔMICA POR RMN	69
	Coleta do líquido sinovial.....	69
	Preparo da amostra e aquisição dos espectros	69
	APÊNDICE B: DADOS COLETADOS NOS PRONTUÁRIOS DOS PACIENTES...	71

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AACR	Aminoácidos de Cadeia Ramificada
ATJ	Artroplastia Total do Joelho
CENABIO	Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bi imagem
CTC	Centro de Tecnologia Celular
BMP	<i>Bone Morphogenetic Protein</i> (Proteína Morfogenética Óssea)
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
FC	Fosfatidilcolina
FDR	<i>False Discovery Rate</i> (Taxa de Descoberta Falsa)
FGF-2	<i>Fibroblast Growth Factor 2</i> (Fator de Crescimento de Fibroblastos 2)
GAG	Glicosaminoglicanas
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
IGF-1	<i>Insulin-like Growth Factor 1</i> (Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1)
IL	Interleucina
IMAPN	Indivíduos Metabolicamente Anormais com Peso Normal
IMC	Índice de Massa Corporal
INTO	Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia
IOMS	Indivíduos Obesos Metabolicamente Saudáveis
K-L	Classificação de Kellgren e Lawrence
LCA	Ligamento Cruzado Anterior
LCM	Ligamento Colateral Medial
LFC	Lisofosfatidilcolina
MEC	Matriz Extracelular
MetS	<i>Metabolic Syndrome</i> (Síndrome Metabólica)
MMP	<i>Matrix metalloproteinase</i> (Metaloproteinase de matriz)
mTOR	Complexo Mamífero Alvo da Rapamicina 1
OAJ	Osteoartrite do Joelho
OPLS-DA	<i>Orthogonal Partial Least Square-Discriminant Analysis</i> (Análise Ortogonal Parcial Mínima Quadrada-Discriminante)
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> (Análise do Componente Principal)
PCR	Proteína C Reativa
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SIPOA	Sociedade Internacional de Pesquisa em Osteoartrite
TGF	<i>Transforming Growth Factor</i> (Fator de Crescimento Transformante)
TNF	<i>Tumoral Necrosis Factor</i> (Fator de Necrose Tumoral)
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Representação esquemática do joelho saudável e do joelho com osteoartrite.....	14
Figura 2 Aspectos celulares e inflamatórios na fisiopatologia da osteoartrite.....	18
Figura 3 Classificação da evolução da osteoartrite por Kellgren & Lawrence.....	23
Figura 4 Desenho esquemático das ciências relacionadas às ‘ômicas’	24
Figura 5 Estratificação dos pacientes incluídos por faixa de IMC.....	36
Figura 6 Estratificação dos pacientes incluídos por faixa de glicemia de jejum.....	36
Figura 7 Discriminação dos pacientes sem OA e com OA pelo perfil metabólico	38
Figura 8 Discriminação dos pacientes de acordo com a idade	39
Figura 9 Discriminação dos pacientes de acordo com a faixa de IMC pelo perfil metabólico	40
Figura 10 Discriminação dos pacientes de acordo com a faixa de glicemia de jejum pelo perfil metabólico.....	41
Figura 11 Discriminação dos pacientes com osteoartrite, de acordo com a associação idade e IMC, pelo perfil metabólico.	42
Figura 12 Discriminação dos pacientes com osteoartrite, de acordo com a associação idade e glicemia de jejum, pelo perfil metabólico.	43

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1 Classificação de Kellgren & Lawrence de Osteoartrite do Joelho	22
Tabela 2 Demonstrativo de moléculas e das principais vias metabólicas envolvidas na fisiopatologia da osteoartrite em diferentes amostras de humanos.	26
Tabela 3 Classificação dos valores de glicemia – Consenso Brasileiro de Diabetes - 2017/18.	32
Tabela 4 Classificação dos valores de IMC - Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2016.	32
Tabela 5 Perfil clínico dos pacientes participantes no estudo.	35
Tabela 6 Metabólitos assinalados através da análise por RMN e a caracterização na separação entre os grupos de pacientes sem OAJ e com OAJ.	70
Tabela 7 Dados clínicos coletados nos prontuários dos pacientes com e sem OAJ	71

1 INTRODUÇÃO

1.1 Osteoartrite do joelho

A osteoartrite do joelho (OAJ) é uma doença caracterizada pela inflamação da sinóvia, destruição da cartilagem articular hialina e espessamento do osso subcondral (GOLDRING e GOLDRING, 2007), atingindo toda a articulação (Figura 1). De acordo com a Sociedade Internacional de Pesquisa em Osteoartrite (SIPOA), a doença é caracterizada pela ativação da cascata inflamatória, provocada por micro- e macro-injúrias à articulação, que culminam em dano celular e degradação da matriz extracelular (MEC) (BERENBAUM, 2019).

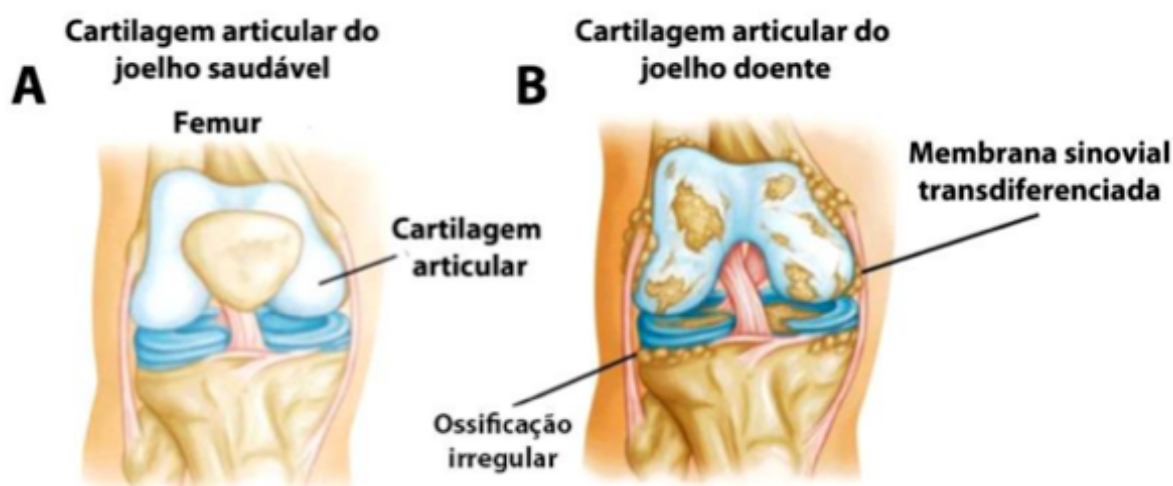


Figura 1 Representação esquemática do joelho saudável e do joelho com osteoartrite. (A) Joelho saudável com integridade preservada da cartilagem articular, membrana sinovial e cápsula articular. (B) Joelho com aspectos clássicos da osteoartrite, como erosão da cartilagem articular, ossificação irregular e alterações na membrana sinovial, compatíveis com aspectos inflamatórios. Patela removida para melhor exposição dos danos articulares. (Adaptada do site da American Academy of Orthopaedic Surgeons – AAOS.org)

Como consequência clínica, o indivíduo acometido apresenta dor, redução da amplitude de movimento, prejuízo funcional e, eventualmente, desvio angular do membro inferior (LOESER et al., 2012 e ZHU et al., 2013).

1.1.1 Distribuição epidemiológica

A OAJ é a doença articular mais prevalente e a causa principal de limitação das atividades diárias. Estimativas americanas apontam a prevalência de 19% da população daquele país com idade superior a 45 anos (WALLACE et al., 2017). No Brasil, estudos epidemiológicos apontam uma prevalência entre 6 a 12% da população, com cerca de um terço dos idosos acometidos pela doença (FELLET et al., 2007).

A OAJ afeta cerca de 250 milhões de pessoas em todo o mundo, acometendo aproximadamente 27 milhões de americanos e 39 milhões de cidadãos da União Europeia, estando presente em cerca de 35% dos indivíduos com idade superior a 65 anos (HUANG et al., 2017).

Nos Estados Unidos, a demanda pela artroplastia total do joelho (ATJ) – tratamento cirúrgico final da OAJ – projetada por dados estatísticos, deve aumentar em torno de sete vezes (673%) e atingir cerca de 3,48 milhões de cirurgias até 2030. As revisões de ATJ devem crescer cerca de seis vezes (601%) (KURTZ et al., 2007).

O aumento da expectativa de vida, adquirido com mudanças do estilo de vida no século XX, está associado à progressão do desgaste da articulação, seja na cartilagem articular ou nos meniscos. Em paralelo, o sedentarismo aliado aos hábitos alimentares inadequados está relacionado ao aumento da obesidade. Presume-se que esta co-morbidade gere sobrecarga mecânica, bem como estimula a produção de substâncias inflamatórias pelo tecido adiposo (WALLACE et al., 2017).

1.1.2 Aspectos mecânicos da osteoartrite

Alterações mecânicas na articulação do joelho estão envolvidas diretamente com o surgimento da OAJ.

Os meniscos funcionam como amortecedores de impacto e como agentes que aumentam a estabilidade e a congruência articulares, tanto que, quando preservados o estresse focal é mantido em baixos níveis. Quando lesados ou removidos cirurgicamente, provocam danos substanciais à cartilagem articular das áreas acometidas, sobretudo no compartimento lateral. Se combinadas à lesão do ligamento cruzado anterior (LCA), observa-se um aumento significativo das taxas de progressão para OAJ, especialmente no compartimento medial da articulação, uma vez que o LCA auxilia o ligamento colateral medial (LCM) na estabilização desta porção do joelho (FELSON, 2013).

Os membros inferiores que apresentam um desarranjo no alinhamento mecânico para a articulação. Desvios em varo (aproximação da linha média) e em valgo (afastamento da mesma) geram sobrecargas nos compartimentos medial e lateral, respectivamente. Desta forma há uma elevação significativa da pressão nos compartimentos, proporcionando um estresse de cisalhamento na cartilagem articular, osso subcondral e meniscos (GOMOLL et al., 2016).

O mau alinhamento articular e danos meniscais ou ligamentares promovem o surgimento de um ciclo vicioso. O aumento da pressão no compartimento acometido provoca dano ao tecido cartilaginoso e libera *debris* celulares, que são absorvidos pelo tecido sinovial. Este fator gera inflamação crucial da sinóvia, que responde com a produção de um volume maior de líquido sinovial. Em paralelo, o osso subcondral sofre remodelamento e dano celular, bem como a camada cortical, propiciando uma piora progressiva do alinhamento. O menisco correspondente ao compartimento acometido sofre degradação e, não infreqüentemente, se torna extruso, por lesão na raiz. Desta forma, o ciclo se fecha e gera um aumento maior na pressão e agravamento do dano articular (FELSON, 2013).

Wu e colaboradores demonstraram em coelhos que o mau alinhamento em varo provoca um aumento do estresse ao tecido cartilaginoso e degeneração subsequente.

Adicionalmente, há uma taxa maior de progressão para OAJ radiográfica e sintomática tardiamente (WU et al., 1990).

1.1.3 Aspectos inflamatórios e celulares da osteoartrite

A patogênese da OAJ permanece desconhecida e envolve fatores genéticos e ambientais (ZHENG et al., 2017). A hipótese mais aceita na atualidade envolve uma cascata inflamatória, que se retroalimenta positivamente, iniciada pela degradação da cartilagem articular. Ativa-se a produção de citocinas e outros mediadores químicos, que promovem a inflamação da membrana sinovial. Com isso, há a ativação dos condrócitos da camada superficial da cartilagem articular, a síntese de metaloproteinases da matriz (MMP), provocando maior dano cartilaginoso e perpetuando a cadeia de desgaste articular (BERENBAUM, 2013).

A senescência celular secretória promove um aumento nos níveis de interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e de proteína C reativa (PCR), que são citocinas associadas a um estímulo inflamatório, diretamente relacionado não somente à progressão da OAJ, como também à capacidade funcional do indivíduo e a dor provocada pela doença. (GREENE e LOESER, 2015).

Em contraste, há uma redução na produção de fatores protetores e de crescimento, como o fator de crescimento transformante β (TGF- β) e a proteína morfogenética do osso 7 (BMP-7), cujo efeito é a diminuição na capacidade de reparo e produção da MEC pelos condrócitos (LOESER, 2009).

A presença destes mediadores inflamatórios aumenta o estresse oxidativo celular, justificando o desgaste e o envelhecimento celular, especialmente para os condrócitos (Figura 2) (BERENBAUM, 2013) (SELLAM e BERENBAUM, 2010).

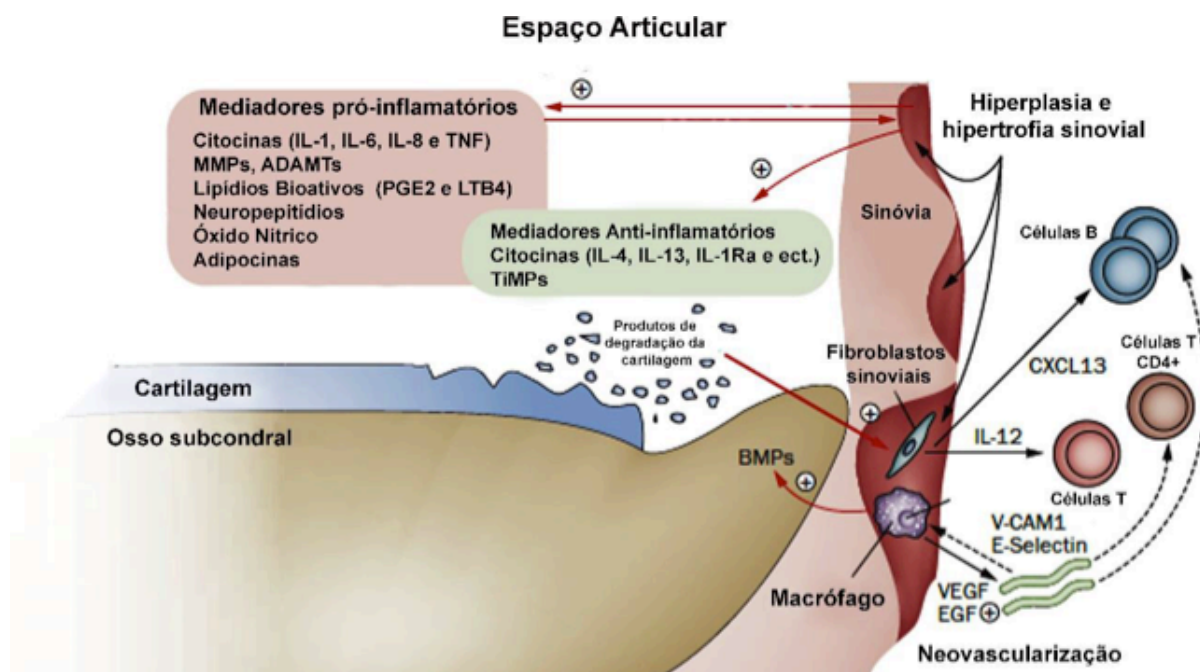


Figura 2 Aspectos celulares e inflamatórios na fisiopatologia da osteoartrite. Os produtos de degradação da cartilagem são liberados no líquido sinovial e fagocitados pelas células sinoviais, amplificando a inflamação. (Adaptado de Sellam e Berenbaum., 2010).

As células senescentes apresentam duas possíveis alterações funcionais nas capacidades de replicação ou secreção. A primeira modificação reduz o potencial proliferativo celular, de forma progressiva. A modificação secretória atinge os condrócitos, de modo a reduzir a produção de mediadores solúveis inflamatórios e pró-degradativos, estimulados pelo estresse oxidativo. Os condrócitos produzem especialmente a MMP-13 estimulados pela presença da IL-1 β , provocando o desgaste tecidual (BERENBAUM, 2013).

Uma das alterações primárias no tecido cartilaginoso, numa fase anterior ao desenvolvimento da OAJ, é o aumento da porosidade da MEC, provocada pela perda de glicosaminoglicanas (GAG). Desta forma há um edema da MEC. O processo se inicia na superfície articular e toma a direção das camadas mais profundas, levando a um agravamento da OAJ. (CALVO et al., 2004).

A ruptura da rede de colágeno da cartilagem articular acontece pela atividade das MMP, assim como por produtos de reações de glicação, culmina em ataque à MEC do tecido cartilaginoso (GOLDRING e GOLDRING, 2016).

Observam-se, inicialmente, fibrilações na superfície da cartilagem articular no aspecto macroscópico. Em uma fase mais avançada, podem ser encontradas fragmentações e fissuras, alcançando a zona calcificada e o osso subcondral (ZHOU et al., 2016).

Em paralelo, há um estímulo para a formação de neovascularização, através da síntese do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), cujos elementos vasculares migram através das fissuras na cartilagem na junção osteocondral. Terminações nervosas sensitivas e simpáticas acompanham esse processo e, provavelmente, justificam a dor articular nas fases avançadas da OAJ (GOLDRING e GOLDRING, 2016).

O osso subcondral é igualmente afetado pelo processo degenerativo progressivo da OAJ. Há um rearranjo da arquitetura das trabéculas ósseas e um aumento da espessura da placa cortical, cujas alterações promovem uma diminuição na capacidade de deformação óssea. Em fases mais tardias da OAJ são encontrados cistos ósseos e osteófitos nas margens articulares, com modificação da conformação articular e promovendo atrito ósseo (REICHENBACH et al., 2008).

1.1.4 Aspectos metabólicos da osteoartrite

A síndrome metabólica (MetS) é caracterizada pela presença conjunta de três ou mais achados clínicos característicos de obesidade (aumento da circunferência abdominal), dislipidemia, intolerância à glicose e hipertensão arterial (HAS) (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE/ABESO, 2016). Está associada a um risco aumentado para doença cardiovascular e, por conseguinte, para mortalidade.

No tocante às doenças musculoesqueléticas, a obesidade é sabidamente um fator de risco para o desenvolvimento da OAJ, em virtude do aspecto mecânico relacionado ao aumento do peso corporal e, conseqüentemente, do índice de massa corporal (IMC). Concomitantemente, observa-se nos obesos um ambiente inflamatório, além de modificações da microvasculatura do osso subcondral e por provocar prejuízo neuromuscular (NIU et al., 2017).

A HAS está relacionada à OAJ por provocar alterações isquêmicas, que podem comprometer a cartilagem articular e o osso subcondral. A principal hipótese de associação diz respeito ao aumento da formação de placas de ateroma, que podem comprometer a saúde do osso subcondral (WALTER et al., 2020).

A HAS aparenta ter um papel independente na gênese da OAJ, frente aos demais componentes da MetS, de maneira que mesmo controlada, tem papel-chave no desenvolvimento deste quadro (CHAN e WEN, 2018).

Já a dislipidemia promove deposição de lipídeos na cartilagem articular e parece causar dano à esta estrutura (WALTER et al., 2020).

A resistência insulínica ou a ausência deste hormônio dificultam a captação da glicose pelas células, provocando um aumento da concentração plasmática da mesma. Com isso, os condrócitos apresentam uma redução na capacidade de manter e reparar danos da MEC. Há ainda um acúmulo de produtos finais glicosados, que promovem um aumento da rigidez da cartilagem articular (ZHAI, 2019).

Estudos populacionais relacionaram a diabetes *mellitus* (DM) ao desenvolvimento de OAJ, através do aumento da necessidade de realização de ATJ, especialmente nos casos de DM tipo 2 e em indivíduos metabolicamente anormais com peso normal (IMAPN) (DUBEY et al., 2018).

Os indivíduos podem ser separados em categorias de acordo com o IMC e o padrão metabólico. Existem os indivíduos obesos metabolicamente saudáveis (IOMS), Dois importantes fenótipos da relação entre o IMC e fatores de risco metabólicos são os indivíduos obesos metabolicamente saudáveis (IOMS) e os indivíduos metabolicamente normais com peso normal (IMAPN). Os IOMS apresentam padrão corporal de obesidade, de acordo com o IMC. No entanto, não há coexistência de fatores de risco metabólicos como HAS, resistência insulínica ou DM ou ainda dislipidemia. Esta fração de indivíduos compreende cerca de 20-30% dos obesos e 5% da população total. Os IMAPN apresentam fatores de risco cardiovasculares e acúmulo de gordura central, mesmo sem alteração do nível de IMC. Mesmo com peso normal, os IMAPN têm uma associação maior de casos com o surgimento da OAJ. Conhecer estes padrões diferenciados pode auxiliar decisivamente na implementação de medidas de controle e terapêuticas (LEE et al., 2015).

Reconhece-se a capacidade do tecido adiposo como um importante órgão endócrino, na síntese de adipocinas e citocinas relacionadas ao estímulo inflamatório em baixo grau (THIJSEN et al., 2014).

Por outro lado, observou-se em estudo recente que os componentes da MetS, exceto a obesidade estão relacionados a quadros clínicos dolorosos de maior intensidade na OAJ (PAN et al., 2020).

A perda ponderal está relacionada ao alívio dos sintomas álgicos e melhorar a capacidade funcional dos portadores de OAJ, uma vez que demonstrou-se a redução significativa de marcadores inflamatórios. O uso de metformina para tratamento da DM também surge como uma alternativa para reduzir a perda de cartilagem articular, quando administrada por um período superior a 4 anos (DICKSON et al., 2019).

1.1.5 Diagnóstico da osteoartrite do joelho

O diagnóstico das alterações articulares na OAJ é obtido utilizando os critérios clínicos e radiográficos de acordo com as diretrizes do Colégio Americano de Reumatologia (ALTMAN et al., 1986; ALETAHA et al., 2010).

A classificação de Kellgren e Lawrence (K-L) foi criada em 1957 e se baseia nos achados radiográficos para determinar a gravidade da OAJ dos pacientes investigados (Tabela 1).

Tabela 1 Classificação de Kellgren & Lawrence de Osteoartrite do Joelho

Graus	Classificação da Evolução da Osteoartrite
(KELLGREN & LAWRENCE, 1957)	
0	NORMAL: Saudável
1	DUVIDOSO: Pequenos osteófitos
2	MÍNIMO: Osteófito circunscrito, espaço não-diminuído
3	MODERADO: Diminuição moderada do espaço articular
4	GRAVE: Esclerose óssea subcondral com desaparecimento do espaço articular

A graduação varia entre os graus de 0 a 4 (Figura 3). No grau 0, não há evidências de OA. No grau 1 há um estreitamento duvidoso do espaço articular, com uma possível formação de osteófito. No grau 2 existe um possível estreitamento articular com formação definida de osteófito. No grau 3, observa-se uma redução definida do espaço articular, formação moderada de osteófitos, alguma esclerose e uma possível deformidade das extremidades ósseas. Por fim, no grau 4, há grande formação de osteófitos, com grave redução do espaço articular e esclerose acentuada, além de deformidade definida das extremidades ósseas (KELLGREN e LAWRENCE, 1957).

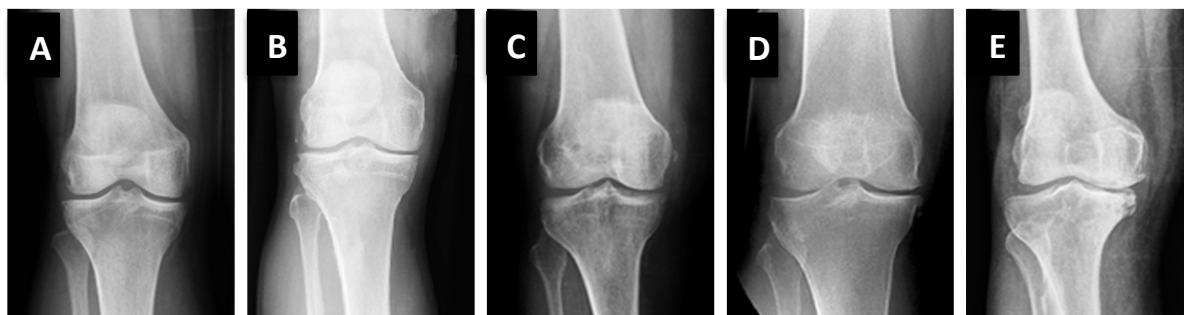


Figura 3 Classificação da evolução da osteoartrite por Kellgren & Lawrence, 1957. Alterações morfológicas observadas nas imagens de radiografias ilustrativas da progressão de osteoartrite: (C) grau 2, (D) grau 3 e (E) grau 4 em contraste às imagens de radiografias de casos sem características de osteoartrite: (A) grau 0 e (B) grau 1 (Kellgren & Lawrence, 1957). Fotos: Acervo pessoal do autor.

1.1.6 Tratamento da osteoartrite do joelho

A OAJ pode ser conduzida em sua terapêutica através de medidas conservadoras (não cirúrgicas), através de fisioterapia, uso de medicamentos condroprotetores e fortalecimento muscular. Em casos refratários a este tipo de tratamento, em graus mais elevados de OAJ, indica-se o tratamento cirúrgico, como a ATJ.

A dificuldade de acompanhamento clínico da evolução da doença sinaliza a necessidade de obtenção de outros métodos com este propósito. Assim, a identificação dos metabólitos que se alteram durante a progressão da doença, especialmente nas fases mais tardias da OAJ, pode ser de grande relevância para compreender o mecanismo fisiopatológico de evolução da doença.

1.2 Metabolômica por ressonância magnética nuclear

A metabolômica é uma análise dos metabólitos em larga escala. Os metabólitos, por definição são considerados quaisquer moléculas pequenas, menores que 15KD. Esta análise ômica busca caracterizar o perfil metabólico, visando auxiliar a compreensão das cascatas biológicas e das ações de proteínas e enzimas no contexto de consumo energético e metabólico (Figura 4) Comumente são utilizadas a espectroscopia por ressonância magnética

nuclear (RMN) e a espectrometria de massa (EM) por cromatografia (FITZPATRICK e YOUNG, 2013).

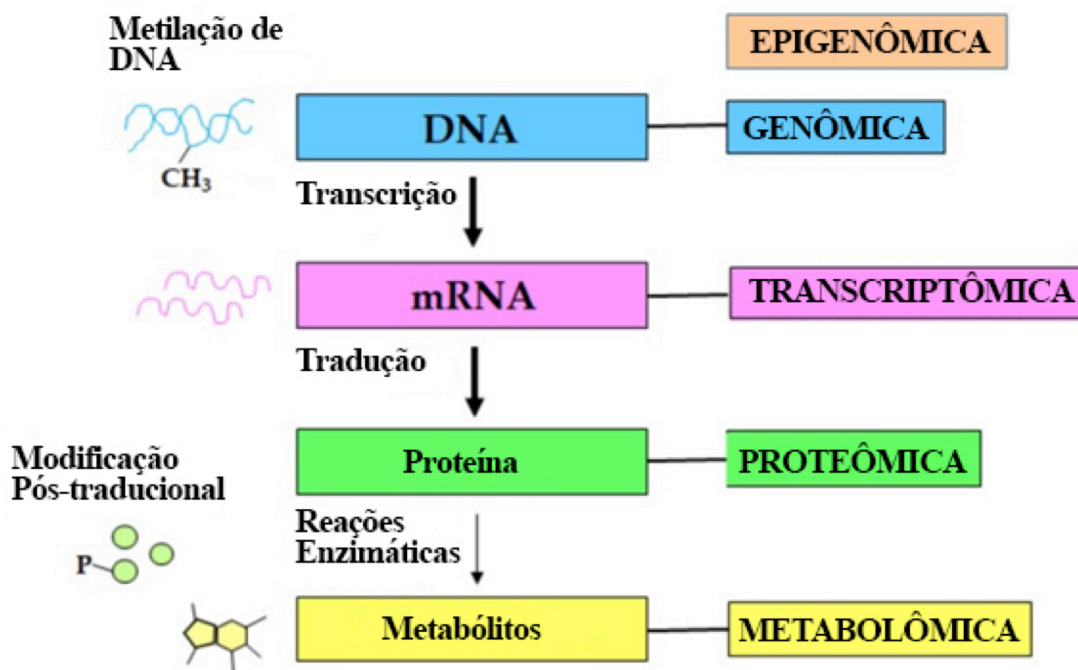


Figura 4 Desenho esquemático das ciências relacionadas às ‘ômicas’

Para ambas as técnicas, não há exigência de uma grande quantidade de amostra, sendo cerca de 1mL e 1mg para líquidos e sólidos, respectivamente. São obtidas imagens espectroscópicas ou espectrométricas que traduzem a presenças de inúmeros metabólitos e, portanto, um perfil metabólico. Como vantagens da RMN frente à EM, destacam-se a alta taxa de reprodutibilidade do método, a independência de qualquer tipo de preparo prévio ao teste e, finalmente, a indestrutibilidade da amostra. Desta forma, é possível analisar o material inúmeras vezes, sem comprometimento dos resultados. Em contrapartida, a EM é capaz de detectar os metabólitos com maior sensibilidade. Contudo, há a obrigatoriedade de um pré-preparo das amostras com as técnicas de cromatografias líquida e gasosa, aumentando os custos da análise e reduzindo a reprodutibilidade do método (PRIORI et al., 2013).

Os metabólitos dos fluidos corporais são influenciados não apenas pela carga genética, mas também pelo estilo de vida, como o tipo de dieta, carga de exercícios, consumo de drogas, microbiota intestinal, homeostase hormonal e idade. Lipídeos, aminoácidos e carboidratos são os principais metabólitos encontrados nos fluidos corporais (GUMA et al., 2016). Os metabólitos constituem um grupo diverso de estruturas de baixo peso molecular, que inclui lipídios, peptídeos, ácidos nucleicos, aminoácidos, vitaminas, carboidratos, tióis e ácidos orgânicos. Desempenham, então, um papel importante nos sistemas biológicos, permitindo compreender os fenótipos de algumas doenças (ZHANG et al., 2014).

Nas pesquisas envolvendo OAJ, os biofluidos mais comumente investigados são a urina, o plasma sanguíneo, o soro e o líquido sinovial, os quais podem ser obtidos através de técnicas minimamente invasivas ao paciente (SMOLINSKA et al., 2012).

Quando comparados dois fluidos distintos dos pacientes com OAJ, não se encontrou uma relação estabelecida de concentração dos metabólitos do plasma e do líquido sinovial. Contudo, foi detectada correlação entre as razões dos mesmos. Os autores inferiram que há uma representação fidedigna da atividade enzimática relacionada ao processo inflamatório da OAJ (ZHANG et al., 2015).

A identificação de biomarcadores como preditores de alterações precoces, assim como fatores para a progressão da OAJ tem sido foco de inúmeros estudos. No entanto, ainda não existem marcadores estabelecidos para a prática clínica. A crença na complexidade dos sistemas biológicos vivos, na qual um metabólito pode participar de diversas vias metabólicas e que alterações na concentração deste em um estado patológico permite que possa ser rastreado como um biomarcador de uma doença (PRIORI et al., 2013).

Diversas vias metabólicas destacam-se como promissoras para a identificação de marcadores. A Tabela 2 aponta os metabólitos encontrados em diferentes amostras e as vias metabólicas que estes participam, bem como seus respectivos estudos científicos.

Tabela 2 Demonstrativo de moléculas e das principais vias metabólicas envolvidas na fisiopatologia da osteoartrite em diferentes amostras de humanos.

METABÓLITO	VIA ENVOLVIDA	TECIDO HUMANO	REFERÊNCIA
Ácido acotínico, ácido isocítrico, ácido cítrico, glutamina	Ácido tricarboxílico	Urina	Li <i>et al.</i> , 2010.
Glicina, alanina, lactato, colina	Metabolismo dos AACR	Cartilagem	Shet <i>et al.</i> , 2012
Pró-hidroxiprolina	Colágeno		
Acetilcarnitina, succinato, glutamina	Ácido tricarboxílico		
Mio-inositol	Metabolismo do mio-inositol		
Ureia, N-acetilornitina	Ciclo da ureia	Sinóvia	Adams <i>et al.</i> , 2012.
N-acetilornitina, glutamina, ureia, 5-oxoprolina, fenilacetilglicina	Metabolismo de peptídeos		
Gama-glutamil-leucina 5-oxoprolina	Metabolismo da glutathione		
Pró-hidroxiprolina	Colágeno		
Acetilcarnitina, succinato, glutamina	Ácido tricarboxílico	Sinóvia	Priori <i>et al.</i> , 2013
Ureia, N-acetilornitina	Ciclo da ureia		
Mio-inositol	Metabolismo do mio-inositol		
4-metil-2-oxopentanoato	Metabolismo do AACR		
O-acetilcarnitina, hexanolcarnitina, N-fenilacetilglicina e etanolamina	Metabolismo dos ácidos graxos e lipídeos	Líquido sinovial	Mickiewicz <i>et al.</i> , 2015
Glicolato, hipurato e trigolina	-----	Urina	Loeser <i>et al.</i> , 2016
Malato, citrato, succinato e fumarato	Ácido tricarboxílico	Líquido sinovial	Kim <i>et al.</i> , 2017
Glicerol, glicerato, glicerol 3-fosfato			

Sigla : AACR - Aminoácidos de cadeia ramificada

A via dos aminoácidos de cadeia ramificada (AACR) envolve a valina, a leucina e a isoleucina. Usualmente, estes AACR são convertidos em acetil-coenzima A (acetil-CoA) e succinil-coenzima A (succinil-CoA). Estes são metabólitos importantes para a produção de energia no ciclo do ácido tricarboxílico, mas também parecem estar envolvidos na geração de um processo inflamatório capaz de levar ao dano do tecido cartilaginoso (ROCKEL e KAPOOR, 2018).

A via da arginina também apresenta importância. Este aminoácido está envolvido no metabolismo de síntese de óxido nítrico e ureia, respectivamente derivadas das conversões de

arginina em citrulina e em ornitina. No que diz respeito ao óxido nítrico, este é um derivado da transformação da arginina em citrulina pela ação da enzima óxido nítrico sintase. O óxido nítrico está envolvido com a vasodilatação e apresenta fator protetor para a cartilagem articular. A redução do nível de arginina está relacionada com progressão da OAJ. Por outro lado, a ornitina forma o precursor metabólico da prolina, aminoácido frequentemente presente nas moléculas de colágeno. Na OAJ há uma redução na atividade deste metabolismo, o que provoca uma redução da capacidade de reparo do tecido cartilaginoso à medida que a doença degenerativa progride (ZHAI et al., 2018).

Um estudo recente sinalizou, de forma semelhante, a presença de cerca de 50 metabólitos nos líquidos sinoviais de pacientes portadores de OAJ. Estes metabólitos estão relacionados às vias de síntese de aminoácidos, glicólise e do ácido tricarboxílico, como a glicose, a manose, o piruvato e o citrato. Foram encontrados níveis mais elevados de citrato e glutamina na OAJ, o que pode apontar uma relação entre o aumento da glicólise para gerar uma produção aumentada de MEC pelos condrócitos em face à degradação provocada pelas MMP. Adicionalmente, o mesmo estudo sinalizou a presença de níveis elevados de taurina no líquido sinovial de portadores de OAJ. A taurina contribui para a patogênese da esclerose do osso subcondral (ANDERSON et al., 2018).

Assim, o uso da metabolômica para o estudo do líquido sinovial com OAJ torna-se imprescindível para desenvolver um painel de marcadores a serem usados tanto no diagnóstico quanto no acompanhamento da progressão da doença, bem como para avaliação da resposta aos tratamentos farmacológicos que os pacientes são submetidos (ADAMS et al., 2013).

2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

A OAJ é uma doença com aumento prevalente na nossa população, seja pela maior expectativa de vida, seja pela exposição aos fatores predisponentes à doença como os traumas articulares e à obesidade, ou mesmo por predisposição genética. Recentemente, o conceito de OAJ passou por uma mudança de paradigma, deixando de ser considerada apenas uma doença decorrente do desgaste mecânico da articulação, sendo incluídos os processos inflamatórios e as alterações metabólicas do organismo na fisiopatologia da doença, que são marcadamente afetadas pela HAS, obesidade e DM. Assim, passou então a ser sugerida por alguns autores como um quinto componente da MetS.

O Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad (INTO) é o órgão de referência do Ministério da Saúde no tratamento cirúrgico de média e alta complexidade, sendo também responsável pela estimulação à criação de políticas públicas de saúde na área ortopédica. Um grande número de pacientes é acompanhado no INTO anualmente para tratamento da OAJ, sendo alguns deles acometidos por componentes da MetS, o que pode influenciar no diagnóstico e na opção de tratamento. Surge então uma demanda quanto à melhor forma de rastrear esses pacientes.

Deste modo, a análise dos metabólitos presentes no líquido sinovial dos pacientes submetidos à artroscopia e artroplastia total de joelho no INTO forneceria indícios de alterações do metabolismo presentes na articulação com OAJ e que futuramente poderão ser usados tanto para rastreamento quanto para auxiliar na descoberta de novas propostas terapêuticas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo principal

Correlacionar o perfil metabólico do LS dos pacientes com e sem OAJ com fatores clínicos relacionados à síndrome metabólica, a partir da reanálise de um banco de dados.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a distribuição de frequência dos subgrupos das variáveis IMC e glicemia nos pacientes com e sem OAJ;
- Avaliar a diferença do perfil metabólico do LS de pacientes sem OAJ (submetidos à artroscopia do joelho para reconstrução do LCA e/ou reparo de lesão meniscal) e com OAJ (submetidos à ATJ) pelo perfil metabólico.
- Comparar o perfil metabólico do LS de pacientes com e sem OAJ em relação a idade, faixas de IMC, e de glicemia de jejum.
- Verificar a possibilidade de classificar os pacientes com OAJ de acordo com a associação entre idade e fatores relacionados à MetS (glicemia e IMC) pelo perfil metabólico.

4.1 Desenho do estudo

A partir do banco de dados de pacientes participantes do projeto de pesquisa “*Avaliação da manutenção da atividade condrocítica pelos sinoviócitos: modelo in vitro do estudo da osteoartrite em humanos*”, aprovado pelo CEP/INTO em 31/10/2012, CAAE 08663912.3.0000.5273 (Anexo A), foi realizada uma análise retrospectiva de subgrupos de dados clínicos relacionados à fisiopatologia da OAJ.

A população do banco de dados foi composta de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico pelo Centro de Cirurgia do Joelho do INTO. Participaram do estudo pacientes de ambos os sexos submetidos à artroscopia para tratamento de lesões meniscais e/ou reconstrução do LCA (sem OAJ) ou artroplastia total do joelho (com OAJ) e que foram divididos em dois grupos de acordo com os critérios do Colégio Americano de Reumatologia (ALTMAN et al., 1986) para o diagnóstico de OAJ:

- Pacientes sem OAJ: composto por pacientes submetidos à artroscopia, sem sinais clínicos e radiográficos de OAJ, correspondendo ao grau 0 da Classificação de Kellgren-Lawrence no joelho operado (KELLGREN e LAWRENCE, 1957) (KOHN et al., 2016).
- Pacientes com OAJ: composto por pacientes com sinais radiográficos de OAJ com sinais clínicos de OA e radiografias classificadas como graus 3 ou 4 da Classificação de Kellgren-Lawrence no joelho operado (KELLGREN e LAWRENCE, 1957) (KOHN et al., 2016).

Não foram incluídos no estudo pacientes com artrite gotosa, pseudogota, artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico, psoríase, hemocromatose e com doenças inflamatórias crônicas. Também igualmente não selecionados no estudo foram os pacientes-

doadores com infecção ativa no membro operado, pacientes submetidos à cirurgia prévia no mesmo joelho, pacientes com doenças autoimunes, síndromes genéticas, teste sorológico positivo para hepatite B, C e/ou HIV, neoplasias malignas, pacientes em uso de imunossupressores ou de quimioterápicos antineoplásicos e em uso contínuo de glicocorticoides. Todos os pacientes-doadores assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B).

4.2 Coleta dos dados clínicos e laboratoriais dos pacientes

Para a realização da análise de subgrupos, procedeu-se à análise dos prontuários dos pacientes incluídos no banco de dados, de modo a coletar os dados clínicos de interesse, e que fazem parte da avaliação pré-operatória padrão do INTO, para permitir a classificação desses pacientes de acordo com os consensos vigentes na área de saúde pública. Foram então coletados os registros referentes à idade (em anos), à glicemia (em mg/dL) e às medidas de peso (kg) e altura (m) para cálculo do IMC (kg/m^2). Além disso, as radiografias de todos os pacientes incluídos no estudo foram reavaliadas e classificadas. Os exames foram realizados em aparelho de radiografia digital e avaliados no programa mDicom Viewer 3.0.0 (Microdata).

Os dados clínicos foram então estratificados conforme abaixo.

4.2.1 Glicemia

A dosagem da glicemia de jejum mede a taxa de glicose na circulação sanguínea. Segundo o protocolo vigente no INTO, o exame é realizado após um jejum de 8 a 12 horas de duração, sem o consumo de qualquer alimento ou bebida, exceto água. Segundo o Consenso Brasileiro de Diabetes (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2018), a análise da

glicemia de jejum é utilizada para o diagnóstico do DM, sendo estratificada nas faixas normal, pré-diabetes ou diabetes, conforme os valores de referência apresentados na Tabela 3. Utilizamos nesse estudo essas mesmas faixas para a classificação dos pacientes nos subgrupos.

Tabela 3 Classificação dos valores de glicemia – Consenso Brasileiro de Diabetes - 2017/18.

Classe	Glicemia (mg/dL)
Normal	<100
Pré-diabetes	100 a 125
Diabetes	≥126

4.2.2 Índice de Massa Corporal

O índice de massa corporal, IMC, é calculado através da divisão do peso, em kg, pela altura em metros elevada ao quadrado, kg/m². É o cálculo mais usado para avaliação da adiposidade corporal. Segundo as Diretrizes Brasileiras de Obesidade publicadas em 2016 (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE/ABESO, 2016), os pacientes podem ser classificados por faixa de IMC, em magro, peso normal, sobrepeso e obesidade. Para esse estudo, utilizamos a divisão em classes conforme apresentado na Tabela 4. Em que pese a existência de classificação de obesidade pelo IMC própria para idosos, optamos por escolher o mesmo critério de classificação para ambos os grupos.

Tabela 4 Classificação dos valores de IMC - Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2016.

Classe	IMC (kg/m²)
Normal	18,5 a 24,9
Sobrepeso	25 a 29,9
Obesidade	≥ 30

IMC: Índice de massa corporal

4.2.3 Faixa etária

Em relação à faixa etária, para este estudo os pacientes foram estratificados em dois grupos com idades inferior ou igual a 70 anos e maior que 70 anos.

4.3 Metabolômica por ressonância magnética nuclear

No intuito de elucidar os diferentes perfis clínicos relacionados ao desenvolvimento da OAJ, comparamos os dados clínicos com os resultados da análise metabolômica por RMN do banco de dados do estudo realizado por SOUSA et al. (2019). A metodologia da coleta do líquido sinovial, realizada no centro cirúrgico do INTO, do preparo das amostras, realizado no Centro de Tecnologia Celular do INTO, e da análise por RMN, realizada no Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem da Universidade Federal do Rio de Janeiro (CENABIO/UFRJ), se encontram descritas no Apêndice A.

4.4 Análise estatística

Os dados coletados dos prontuários foram tabulados em planilha Microsoft Excel® (Apêndice B). Para a análise estatística foi utilizando o software GraphPad Prism for Windows 5.0. Os dados foram apresentados em média e desvio padrão.

Para a comparação dos valores de idade, peso, altura, índice de massa corporal e glicemia foi utilizado teste-*t* não pareado unicaudal.

Para a comparação da proporção de pacientes sem OA e com OA de acordo com os subgrupos (IMC e glicemia) foi utilizado o teste do Qui-quadrado.

A matriz com os dados da análise de RMN, *bucket-table*, foi realizada através no programa AMIX 3.0 (Bruker Corporation, Alemanha), e a matriz foi exportada para a

plataforma Metaboanalyst 4.0 (www.metaboanalyst.ca), onde foram realizadas as normalizações pelo somatório das intensidades dos picos e *pareto-scaling*, e a análise multivariada PCA (Análise do Componente Principal).

Posteriormente os dados de metabolômica, armazenados no banco de dados, foram submetidos à análise multivariada de acordo com os dados clínicos dos pacientes obtidos na análise dos prontuários.

A análise inicialmente envolveu as comparações envolvendo presença/ausência de OAJ (entre os grupos com e sem OAJ), idade (inferior ou igual a 70 anos e maior que 70 anos), glicemia (normal, pré-diabetes e diabetes) e IMC (normal, sobrepeso e obeso).

Posteriormente, foi realizada análise multivariada apenas no grupo de pacientes com OAJ visando encontrar associações de dados clínicos que pudessem discriminar os subgrupos de pacientes de acordo com a associação entre idade e fatores clínicos relacionados ao diagnóstico de MetS. Para tanto, a análise envolveu pacientes com OAJ e que apresentavam idade superior a 70 anos e IMC igual ou superior a 30, em comparação a pacientes com OAJ que apresentavam idade igual ou inferior a 70 anos e IMC inferior a 30. Da mesma forma, foi realizada análise multivariada envolvendo pacientes com OAJ e que apresentavam idade superior a 70 anos e glicemia de jejum igual ou superior a 100, em comparação a pacientes com OAJ que apresentavam idade igual ou inferior a 70 anos e glicemia inferior a 100.

O *p* valor foi considerado significativo quando menor que 0,05.

5 RESULTADOS

5.1 Perfil dos pacientes

Foi realizada a análise do perfil clínico dos pacientes, evidenciando que o grupo de pacientes com OAJ (n=26) era composto de indivíduos com maior média de idade, IMC e glicemia de jejum do que os pacientes do grupo sem OAJ (n=8). (Tabela 5).

Tabela 5 Perfil clínico dos pacientes participantes no estudo.

	Com OAJ (n=26)	Sem OAJ (n=8)	<i>p</i> valor	IC 95%
Classificação OA	Grau 3: 4	Grau 0: 8	N/A	N/A
Idade	Grau 4: 22 67,35 ± 0,97	26,75 ± 2,4	<i>p</i> <0,0001*	36,10 – 45,09
Sexo	Masculino:4 Feminino: 22	Masculino: 8 Feminino:0	N/A	N/A
IMC	32,75 ± 1,1	27,26 ± 1,07	<i>p</i> =0,0028**	1,20 – 9,76
Glicemia de jejum	107,6 ± 4,09	85,63 ± 3,38	<i>p</i> =0,0401**	6,35 - 37,63

OAJ: osteoartrite do joelho; IC: intervalo de confiança; IMC: índice de massa corporal; N/A: não se aplica;

* teste t não pareado unicaudal; ** teste t não pareado bicaudal.

Em seguida, os pacientes das classes sem OAJ e com OAJ foram estratificados entre os subgrupos das variáveis IMC (normal, sobrepeso e obesidade) e glicemia de jejum (normal, pré-diabetes e diabetes).

Verificamos uma associação significativa entre a obesidade e OA (*p*=0,0061, Figura 5). É válido ressaltar que 7,7% do grupo OA não apresentaram alteração do IMC.

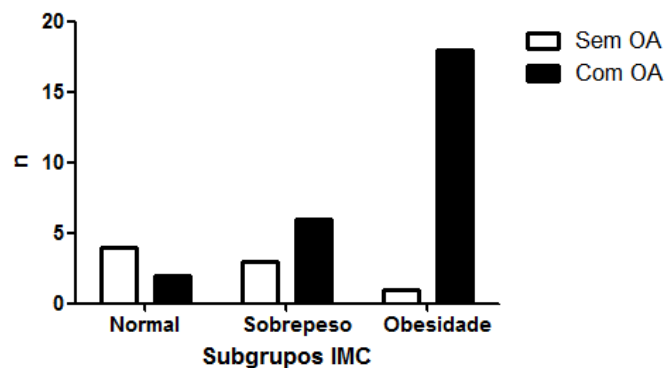


Figura 5 Estratificação dos pacientes incluídos por faixa de IMC. Distribuição de frequência dos indivíduos pelo IMC (normal, sobrepeso e obesidade), de acordo com os grupos sem OA e com OA. Abreviações: IMC: índice de massa corporal; OA: osteoartrite; n: número de indivíduos. *p*-valor calculado pelo Teste Qui-quadrado, **p*=0,0061).

Não verificamos uma associação significativa entre a glicemia de jejum e OA (*p*=0,23; Figura 6). É válido ressaltar que 42,3% dos pacientes do grupo OA não apresentaram alteração na glicemia de jejum.

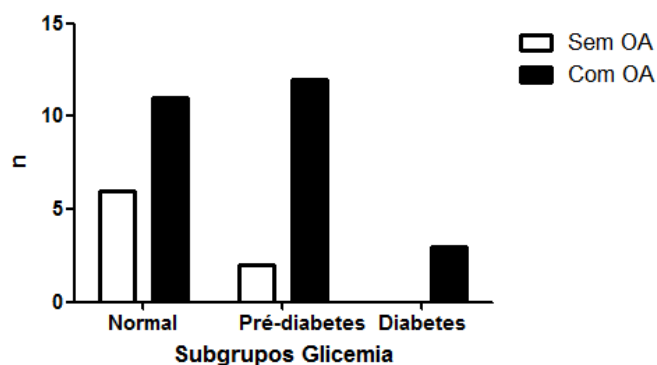


Figura 6 Estratificação dos pacientes incluídos por faixa de glicemia de jejum. Distribuição de frequência dos indivíduos pela glicemia (normal, pré-diabetes e diabetes), de acordo com os grupos sem OA e com OA. Abreviações: OA: osteoartrite; n: número de indivíduos. *p*-valor calculado pelo Teste Qui-quadrado, *p*=0,23.

5.2 Perfil metabólico do líquido sinovial

No intuito de verificar se o perfil metabólico do líquido sinovial estava associado aos índices de IMC, glicemia e classificação de OAJ, foram reavaliados os registros do banco de dados de estudo anterior (SOUSA et al., 2019) pela análise do componente principal (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), que não leva em consideração a separação entre os grupos e é, portanto, uma análise indiscriminada, e livre de “overfitting”.

A PCA utiliza um conjunto de dados representado por uma matriz de n registros por p atributos, que podem estar correlacionados, e sumariza esse conjunto por eixos não correlacionados (denominados Componentes Principais, por exemplo PC1, PC2 e etc. do inglês *Principal Component*) que são uma combinação linear das p variáveis originais.

O objetivo da PCA é rotacionar os eixos desse espaço p -dimensional para nova posições (Componentes Principais – PC1, PC2 e etc.) de forma que o componente principal 1 (PC1) tenha a maior variância, o componente principal 2 (PC2) tenha a segunda maior variância, e assim sucessivamente. Assim, o PC1 vai mostrar sempre a maior porcentagem da variância total em relação ao PC2, e assim sucessivamente para os outros componentes principais. Vale a pena ressaltar que a covariância entre cada par de componentes principais é zero, ou seja, os PC1 e PC2, por exemplo, não são correlacionados.

A análise do componente principal permite a geração de um gráfico de pontuação (do inglês *Score Plot*), e outro gráfico com o fator de carga (do inglês *Loading Plot*), e assim permite uma redução do tamanho da complexidade dos dados e uma representação mais compacta.

O *Score Plot* mostra a separação entre as classes dos pacientes em virtude do perfil metabólico, portanto quanto mais distantes forem os pontos nos gráficos, mais discrepantes são os perfis metabólicos. A elipse que envolve as classes é chamada de elipse de *Hotelling*, que mostra o intervalo de confiança, onde se encontra 95% das observações.

O *Loading Plot* mostra quais foram os metabólitos (por valor de deslocamento químico na escala de ppm) que influenciaram mais na separação das classes do *Score Plot*. Portanto, quanto maior for a distância dos pontos, maior será o grau de importância para a separação das classes, e assim são possíveis metabólitos marcadores da classificação biológica estudada, o que neste trabalho configura as subclassificações de IMC, idade, glicemia, e grau de OAJ.

5.2.1 Análise pelo diagnóstico de osteoartrite

Classificamos os indivíduos em dois subgrupos distintos, sem OAJ e com OAJ, de acordo com o perfil metabólico (Figura 7). A análise original do banco de dados havia identificado que o metabólito “glicose + glicerol” – deslocamento químico 3,56ppm (Figura 7B) foi o principal responsável por permitir uma separação entre os grupos, o que foi confirmado nessa reanálise.

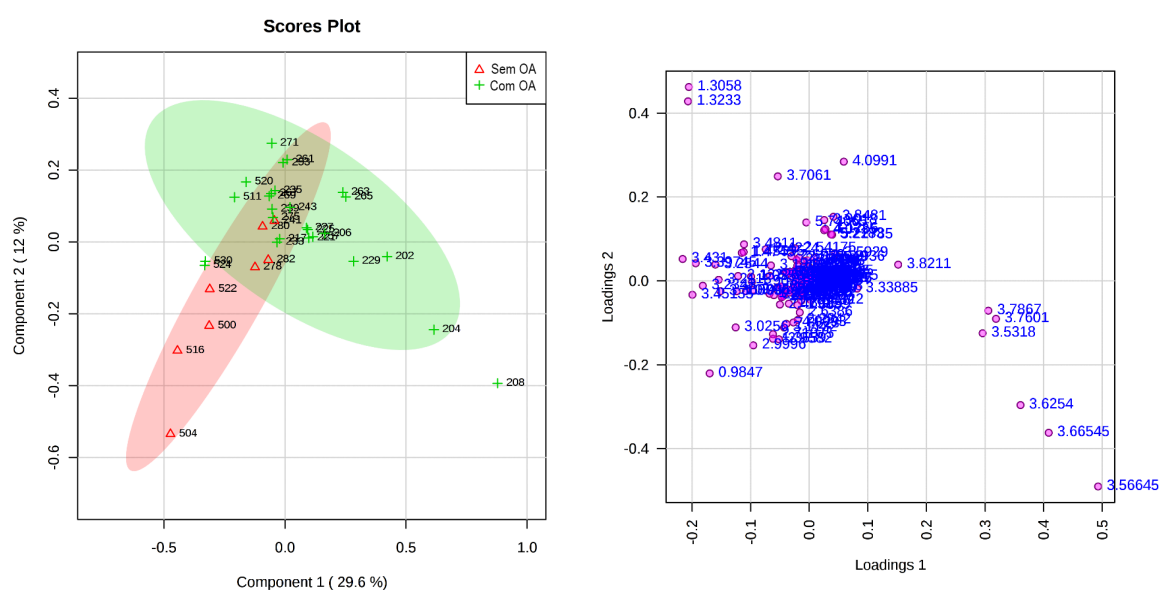


Figura 7 Discriminação dos pacientes sem OA e com OA pelo perfil metabólico. A análise pelo Principal Component Analysis mostra que é possível distinguir os grupos de pacientes com OA (diagrama verde) e sem OA (diagrama vermelho) através do perfil metabólico. (A) Score-Plot, de PC 2 versus PC 1, onde cada ponto corresponde a um paciente. A porcentagem entre parênteses significa que o PC1 consegue “explicar” 29,6% das variáveis, e o PC2 somente 12%. As elipses representam o intervalo de confiança de 95% ; e (B) Loading-Plot (fator de carga), onde cada ponto rosa corresponde a um metabólito.

5.2.2 Comparação por faixas etárias

A análise por PCA não foi capaz de classificar os indivíduos em subgrupos por idade, inferior ou igual a 70 anos e maior do que 70 anos, de acordo com o perfil metabólico (Figura 8), pois houve uma nítida intersecção dos perfis metabólicos no *Score Plot*.

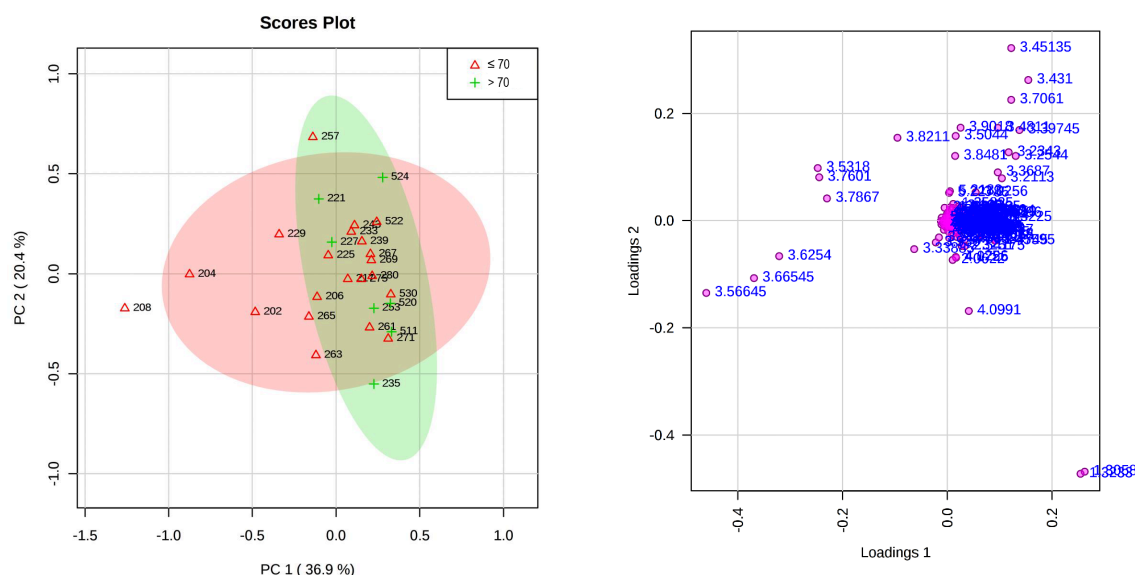


Figura 8 Discriminação dos pacientes de acordo com a idade. A análise pelo Principal Component Analysis mostra que não é possível distinguir o grupo de pacientes de acordo com as faixas etárias abaixo (diagrama vermelho) e acima de 70 anos (diagrama verde). (A) Score-Plot, de PC 2 versus PC 1, onde cada ponto corresponde a um paciente. A porcentagem entre parênteses significa que o PC1 consegue “explicar” 36,9% das variáveis, e o PC2 somente 20,4%. As elipses representam o intervalo de confiança de 95% e (B) Loading-Plot (fator de carga), onde cada ponto corresponde a um metabólito.

5.2.3 Avaliação pelas faixas de índice de massa corporal

A análise por PCA mostrou que os indivíduos sem obesidade possuem um perfil metabólico levemente distinto do líquido sinovial do que os pacientes obesos e com sobrepeso (Figura 9).

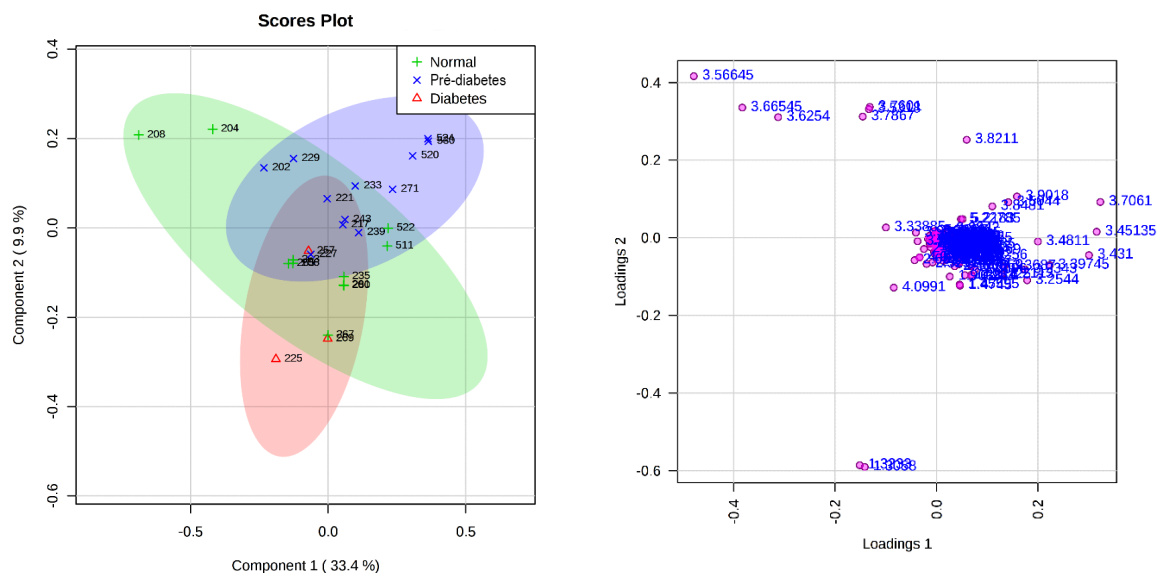


Figura 10 Discriminação dos pacientes de acordo com a faixa de glicemia de jejum pelo perfil metabólico. A análise pelo Principal Component Analysis mostra que não é possível distinguir o grupo de pacientes com glicemia de jejum normal (diagrama verde), com pré-diabetes (diagrama azul) e com diabetes (diagrama verde) através do perfil metabólico. (A) Score-Plot, de PC 2 versus PC 1, onde cada ponto corresponde a um paciente; A porcentagem entre parênteses significa que o PC1 consegue “explicar” 33,4% das variáveis, e o PC2 somente 9,9%. As elipses representam o intervalo de confiança de 95%; e (B) Loading-Plot (fator de carga), onde cada ponto corresponde a um metabólito.

5.2.5 Análises agrupadas

Os pacientes portadores de OA foram combinados para a verificação de possível associação entre as variáveis idade, IMC e glicemia, que possuem identificação com os diferentes fenótipos da OA.

5.2.5.1 Associação entre osteoartrite, idade e IMC

A análise por PCA identificou que os indivíduos do subgrupo identificado como A ($IMC < 30 \text{ kg/m}^2$ e idade ≤ 70 anos) possuem um perfil metabólico levemente distinto do líquido sinovial do que os pacientes do subgrupo identificado como B ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ e idade > 70 anos) no *Score Plot*, conforme a Figura 11.

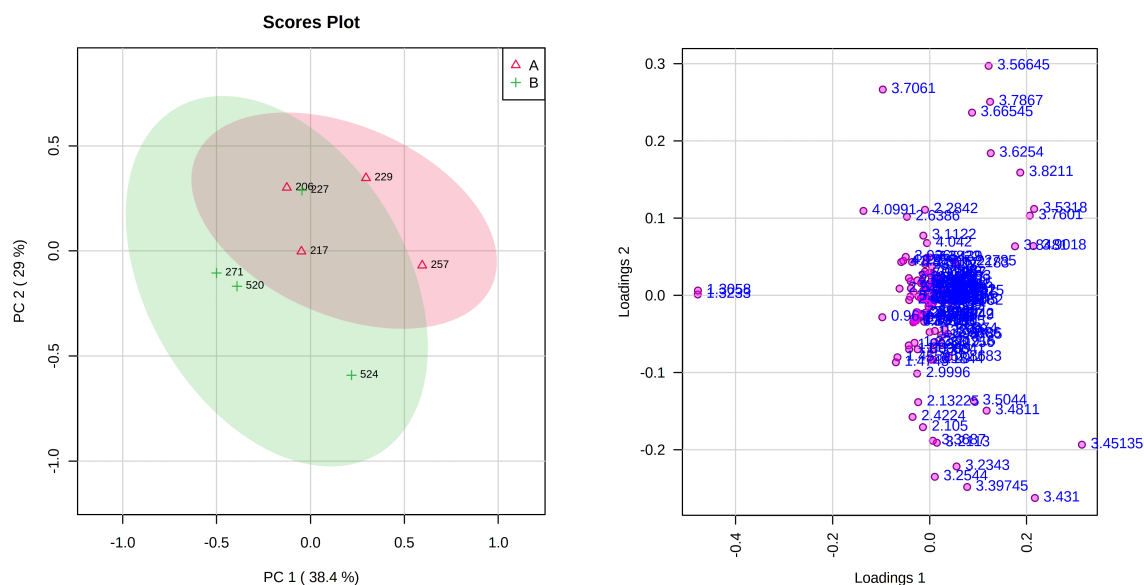


Figura 11 Discriminação dos pacientes com osteoartrite, de acordo com a associação idade e IMC, pelo perfil metabólico. Principal Component Analysis. (A) Score-Plot, de PC 2 versus PC 1, onde cada ponto corresponde a um paciente, sendo estes divididos quanto a idade e IMC. A porcentagem entre parênteses significa que o PC1 consegue “explicar” 38,4% das variáveis, e o PC2 somente 29%. Δ Pacientes do grupo A: IMC $<30 \text{ kg/m}^2$ e idade ≤ 70 anos (diagrama vermelho); + Pacientes do grupo B: IMC $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ e idade >70 anos (diagrama verde). As elipses representam o intervalo de confiança de 95%; e (B) Loading-Plot (fator de carga), onde cada ponto corresponde a um metabólito.

5.2.5.2 Associação entre osteoartrite, idade e glicemia de jejum

De forma similar ao resultado encontrado na combinação anterior, a análise por PCA identificou que os indivíduos do subgrupo identificado como C (glicemia $<100 \text{ mg/dL}$ e idade ≤ 70 anos) possuem um perfil metabólico levemente distinto do líquido sinovial do que os pacientes do subgrupo identificado como D (glicemia $\geq 100 \text{ mg/dL}$ e idade >70 anos) no *Score Plot*, conforme a Figura 12.

6.1 Osteoartrite

A OAJ é uma doença crônica complexa, frequentemente acompanhada de multimorbidade e com potencial para provocar grandes limitações aos indivíduos por ela acometidos (MUNJAL et al., 2019). A doença manifesta-se primeiramente como um desarranjo do metabolismo celular da articulação, seguida por alterações anatômicas e/ou fisiológicas, caracterizadas por degradação da cartilagem, remodelação óssea, formação de osteófitos, inflamação articular, culminando em perda da função articular (BERENBAUM et al., 2019).

A OAJ possui relação com a saúde geral do indivíduo, podendo tanto contribuir, quanto resultar de problemas sistêmicos. Diversos fatores podem influenciar no perfil metabólico da OAJ, incluindo idade, sexo, IMC e comorbidades com a hipertensão arterial, o diabetes e a depressão (ROCKEL e KAPOOR, 2018).

Em grande parte dos casos, existe uma correlação direta entre as características clínicas e o grau de desgaste da OAJ nas radiografias com apoio bipodal, de modo que, quanto mais intensas forem a dor e a limitação funcional, maior será a gravidade da OAJ. No entanto, existem situações onde há dissociação entre os achados clínicos (dor, rigidez articular e limitação funcional) e o grau de OAJ. Nos últimos anos tem havido um interesse crescente na literatura em apontar diferentes fenótipos para diferenciar os perfis de pacientes com OAJ, permitindo assim um tratamento direcionado (DEVEZA et al., 2017; COURTIES et al., 2019; CARLSON et al., 2019; BERENBAUM, 2019; DEVEZA et al., 2019).

6.2 Líquido sinovial e análise metabólica

O líquido sinovial é um ultrafiltrado do plasma, contendo moléculas adicionais produzidas pelas células no espaço articular e que refletem processos biológicos que acontecem na articulação. Além disso, está em contato direto com tecidos acometidos pela OAJ, de modo que o líquido sinovial pode representar alterações nos tecidos articulares mais precisamente do que medidas realizadas no sangue ou na urina (CARLSON et al., 2019; WATT et al., 2020).

A análise metabólica do líquido sinovial dos pacientes com OAJ, permitindo a identificação de metabólitos associados com perfis distintos, pode auxiliar na identificação desses diferentes perfis fenotípicos, apontando para um novo paradigma diagnóstico. Por isso, tem crescido o interesse em estudos utilizando esse método (GUMA et al., 2016; JAGGARD et al., 2019; AKHBARI et al., 2019; RATNESWARAN et al., 2019).

O líquido sinovial de 35 participantes (25 com OAJ e 10 controles) foi estudado por espectroscopia de massa, sendo identificado que seis diferentes metabólitos (glutamina, 1,5 anidroglucitol, lactona glucônica, tiamina, treonina e ácido 8-aminocaprílico) estavam fortemente associados com a OAJ na metabolômica global (ZHENG et al., 2017).

Também já foi sugerido que há diferenças na composição do líquido sinovial das articulações do quadril e do joelho na OAJ, de modo que o último apresenta maiores concentrações de moléculas N-acetiladas, glicosaminoglicanas, citrato e glutamina (AKHBARI et al., 2019).

No presente estudo, foi investigado, a partir de um banco de dados utilizado anteriormente para a investigação da modulação do líquido sinovial sobre a atividade das células do líquido sinovial em cultura (SOUSA et al., 2019), a possibilidade de distinguir

diferentes subgrupos de pacientes a partir de fatores potencialmente associados com a OAJ, como a idade, a glicemia e o IMC. Não foram considerados os dados dos registros dos parâmetros de diagnóstico hipertensão arterial/ diabetes, por serem de natureza auto declaratória pelos pacientes no momento da entrevista pré anestésica, e de circunferência abdominal por não existirem tais registros nos prontuários.

Optamos por realizar nesse estudo a análise utilizando o PCA (*Principal Component Analysis*). Esse método torna a avaliação mais simples, pois estávamos reavaliando dados, estratificados em classes, o que não havia sido realizado na análise do projeto original. Além disso, esse tipo de análise é menos suscetível ao *overfitting* dos dados, permitindo a visualização sem a necessidade de análises estatísticas complexas.

Pacientes com OAJ tiveram um perfil marcado pelo aumento de metabólitos relacionados às alterações inflamatórias e catabólicas. As variantes clínicas como a glicemia e a obesidade, assim como a idade, não se mostraram capazes de distinguir perfis de grupos de indivíduos, através da análise pelo PCA, pelo fato de ser uma análise não supervisionada, e possivelmente pela grande variabilidade encontrada nas amostras, que pode ser explicada pela dieta, genótipo e ancestralidade dos pacientes analisados. Idade, sexo, IMC e comorbidades já haviam sido relatados como possíveis fatores de confusão na análise metabólica do líquido sinovial de pacientes com OAJ. Entretanto, em estudo realizado anteriormente não foi encontrado perfil metabólico associado a esses fatores (ZHANG et al., 2014).

6.3 Gravidade da osteoartrite e perfil metabólico

A alteração do metabolismo celular pode ser um fator contribuinte decisivo para a patogênese da OAJ. A presença de inúmeros metabólitos pode apontar para a variedade de fenótipos distintos de OAJ. Seguindo por esse caminho, observa-se que a identificação de

inúmeros biomarcadores seja mais apropriada para evitarem-se falsos positivos, assim como para determinar a gravidade da patologia de forma acurada (SHOWIHEEN et al., 2019).

No presente estudo, confirmou-se, após reanálise do banco de dados, que ocorria um aumento nos níveis de concentração do glicerol no líquido sinovial de pacientes com OAJ, conforme já descrito anteriormente (SOUSA et al., 2019). Este fato sugere que há hipóxia nos tecidos degenerados pela doença e que o metabolismo lipídico é acionado como fonte energética. Conforme dados encontrados em estudos prévios com cães (DAMYANOVICH et al., 1999) e cavalos (LACITIGNOLA et al., 2008), tal ativação é maior quanto mais avançada for a doença. O resultado das análises com abundância de glicerol e de ácidos graxos nas amostras de pacientes com OAJ indica que este mecanismo foi ativado nesse perfil de pacientes com OAJ moderada a grave, nos quais a gravidade da doença é mais marcante. Já foram identificados anteriormente perfis metabólicos globais distintos entre indivíduos saudáveis, com OAJ precoce e OAJ tardia, sendo identificado que os fenótipos metabólicos do líquido sinovial exibiam grande inflamação na OAJ precoce, maior estresse oxidativo na OAJ tardia e deterioração estrutural em ambos (CARLSON et al., 2019). Nossos dados reforçam tais achados, pois também encontramos níveis elevados de glicerol em uma população de pacientes com OAJ tardia (moderada a grave), correspondendo aos graus 3 e 4 de K-L.

Em uma revisão sistemática envolvendo 27 estudos de pequenas moléculas na OAJ usando RMN e espectroscopia de massa verificou-se um desvio no sentido do metabolismo anaeróbico e de ácidos graxos na OAJ, embora não tenha ficado claro se essas alterações representariam o estado inflamatório encontrado na articulação (JAGGARD et al., 2019). De forma semelhante, foi sugerido que a razão entre as concentrações de AACR e histidina séricos estaria significativamente associada com a OAJ (ZHAI et al., 2018). Posteriormente,

foi demonstrado através do estudo do perfil metabólico do plasma humano, que seis novos metabólitos estariam associados com a OAJ, sendo a arginina o mais significativo (ZHANG et al., 2017a). Finalmente, identificaram-se quais três vias metabólicas seriam de especial importância na patogênese da OAJ. Enquanto o aumento na concentração dos AACR poderia ser um marcador diagnóstico, a concentração de arginina pode ser usada para monitorar o processo e progressão da OAJ. Já a via da FC para LFC desempenharia um papel na mediação dos sintomas, em especial a dor articular (ZHAI et al., 2018). Finalmente, foi sugerido que alterações nos aminoácidos decorrentes de perturbações em vias como a do ciclo do ácido tricarboxílico estariam presentes em indivíduos com OAJ, de tal forma que alanina, GABA e hidroxiprolina foram identificados como potenciais biomarcadores para diferenciar pacientes com OAJ dos controles (CHEN et al., 2018). Não encontramos em nosso estudo nenhuma alteração nesses metabólitos capaz de classificar os indivíduos em diferentes subgrupos (fenótipos).

Por fim, verificou-se que os metabólitos do ciclo do ácido tricarboxílico, como malato, fumarato, citrato e succinato, estariam relacionados com a atividade anaeróbica em resposta à falência mitocondrial de geração de energia celular (GOLDRING e OTERO, 2011).

6.4 Idade e perfil metabólico na osteoartrite

Escolhemos como ponto de corte para idade o valor de 70 anos, devido ao perfil da nossa amostra envolver pacientes com OAJ submetidos ao tratamento cirúrgico com ATJ e, logo, possuir todos os pacientes com idade superior a 55 anos. Como a incidência e a gravidade da OAJ aumentam com a idade (MUNJAL et al., 2019), imaginamos que a idade de 70 anos seria capaz de identificar pacientes com perfil metabólico compatível com estágios mais avançados da doença. Rockel e colaboradores utilizaram a idade de 50 anos como ponto

de corte numa tentativa de criar um modelo preditivo de assinaturas de metabólitos para o diagnóstico da OAJ, sugerindo que a FC e a LFC seriam os indicadores dominantes da OAJ em homens mais velhos (ROCKEL et al., 2018). No nosso estudo, não possuíamos pacientes com idade inferior a 50 anos no grupo com OA, de forma que não foi possível estratificação semelhante. Tampouco encontramos alterações na concentração de FC na análise metabólica.

6.5 Síndrome metabólica e perfil metabólico na osteoartrite

A síndrome metabólica, caracterizada por hipertensão, dislipidemia, hiperglicemia e obesidade parece aumentar a gravidade da OAJ, notavelmente relacionando-se à piora das manifestações clínicas e do prognóstico, por uma influência cumulativa das desordens metabólicas (ZHUO et al., 2012; BERENBAUM et al., 2019; DICKSON et al., 2019). Recentemente foi sugerido que alterações no metabolismo dos aminoácidos parece ter um papel central na MetS (ROBERTS et al., 2020). Entretanto, apesar da relevância da síndrome para a saúde pública, uma revisão sistemática publicada recentemente evidenciou que poucos trabalhos foram publicados em relação à investigação de biomarcadores da MetS através da metabolômica (MONNERIE et al., 2020). Da mesma forma, a associação direta entre OA e MetS permanece não comprovada e deve ser alvo de estudos (JAGGARD et al., 2019).

Devido à limitação dos dados disponíveis no prontuário, a obesidade, classificada pelo IMC de acordo com os critérios das Diretrizes Brasileiras de Obesidade (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE/ABESO, 2016) e a glicemia de jejum de acordo Consenso Brasileiro de Diabetes (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2018) foram escolhidas como parâmetros clínicos para estratificação dos subgrupos.

A análise estratificada pelo IMC evidenciou que pacientes com o IMC normal apresentaram um perfil metabólico ligeiramente diferente daqueles com sobrepeso e

obesidade, porém sem significância estatística. Já foi relatado que outros estudos tentaram estratificar pacientes de acordo com o IMC, em normais e obesos, pelo perfil metabólico, utilizando análises como o PCA. Entretanto, a presença de fatores de confusão como dieta, estado sócio econômico, atividade física, tabagismo e sexo, dentre outros, torna essa análise difícil (RAUSCHERT et al., 2017).

As relações entre OAJ e obesidade foram investigadas através de análise metabolômica não direcionada do soro, verificando que a OAJ relacionada à obesidade apresenta maior estresse oxidativo e meio mais ácido. Além disso, o estresse oxidativo baseado em espécies reativas de nitrogênio e problemas acidóticos têm se tornado maiores em pacientes com OAJ relacionada à obesidade em relação à não relacionada (SENOL et al., 2019).

Já foram identificados perfis de metabólitos que poderiam distinguir adultos com sobrepeso e obesos apresentando sinais de progressão radiográfica de OAJ daqueles sem progressão, sugerindo um papel de fatores metabólicos na evolução da doença (LOESER et al., 2012). Por sua vez, também foi revelado que o perfil metabólico de pacientes com OAJ se altera robustamente ao longo do estadiamento radiográfico da doença, sendo encontrada uma maior concentração de malato e uma tendência a aumento na concentração de citrato, fumarato e succinato nos estágios tardios da doença. Tais achados sugerem que o metabolismo nos estágios mais avançados da OAJ converge para preservar energia (KIM et al., 2017).

Em relação ao diabetes, há evidências de que a glicose, a frutose, os aminoácidos e lipídios estariam alterados tanto em pacientes com diabetes tipo 1 quanto tipo 2 (ARNETH et al., 2019). De modo semelhante, estudo recente utilizando espectroscopia de massa identificou 12 metabólitos no plasma de pacientes sem histórico de diabetes com média de

idade de 63,3 anos (48,1% homens), que poderiam estar associados a diferentes níveis de metabolismo da glicose e sensibilidade à insulina em comparação à população (BOS et al., 2020). No presente estudo, a estratificação de acordo com a glicemia de jejum indicou convergência dos subgrupos normal, pré-diabetes e diabetes mellitus pela análise do perfil metabólico, prejudicando sua diferenciação. Acreditamos que um dos fatores que pode explicar tal diferença é o fato de nossa análise ter sido realizada no líquido sinovial e não no plasma.

Estudos apontam a relação do diabetes do tipo 2 com a progressão de OAJ em qualquer articulação e, especialmente, com uma chance duas vezes maior de associação com ATJ do que na população normal (COURTIES et al., 2019). Outro trabalho demonstrou que a homeostase da glicose pode predizer indivíduos em risco para o desenvolvimento da OAJ típica, porém não foi capaz de distinguir os casos de OAJ acelerada (DRIBAN et al., 2017). Os dados de nosso estudo corroboram esses achados, pois na nossa população de pacientes com OAJ, a análise metabólica não foi capaz de identificar perfis distintos de pacientes de acordo com as faixas de glicemia de jejum, utilizada como critério para o diagnóstico de diabetes *mellitus*.

O metabolismo lipídico é indicado como fator potencial no entendimento e tratamento da OA, dada sua influência no fenótipo inflamatório da OA (JAGGARD et al., 2019). Entretanto, não havia lipidograma disponível nos registros médicos dos pacientes incluídos no estudo, de modo que tal dado não pode ser utilizado na estratificação de subgrupos para análise, apesar de a dislipidemia ser um dos componentes da síndrome metabólica.

Por fim, buscamos verificar no grupo de pacientes de OAJ, se a associação das variáveis clínicas permitiria a identificação de subgrupos de pacientes de acordo com o perfil metabólico. Ao dividirmos o grupo de pacientes com OAJ para análise dos subgrupos com

IMC inferior a 30kg/m² e idade inferior ou igual a 70 anos em comparação ao subgrupo com IMC superior a 30kg/m² e idade superior a 70 anos encontramos uma leve separação entre os indivíduos pelo perfil metabólico do líquido sinovial. Entretanto, para as análises comparando os subgrupos de pacientes com OAJ e glicemia inferior a 100 mg/dL e idade inferior ou igual a 70 anos em comparação àqueles com glicemia superior ou igual a 100 mg/dL e idade superior a 70 anos, houve convergência dos subgrupos, não permitindo identificar separação entre eles. Tais achados sugerem que apesar das diferentes faixas de idade, glicemia e IMC, a presença ou ausência de OA parece ser o fator principal na discriminação dos grupos de pacientes pelo perfil metabólico. Já havia sido demonstrado previamente que a concentração de diversos metabólicos é afetada pela raça, sexo ou idade, sendo essa última de alterações preponderantes, de modo que tais fatores podem ser fatores de confusão quando diferentes grupos são comparados em estudos clínicos (LAWTON et al., 2008)

6.6 Considerações finais

Existem algumas limitações relevantes no estudo como a pequena amostra de pacientes, além do registro incompleto dos dados de prontuário, o que dificulta a representação de todas as possibilidades de perfis metabólicos. No entanto, conseguimos pacientes sem OAJ e com OAJ, diferentemente de outros estudos que só analisaram amostras de líquido sinovial doente. Outra vantagem é que nosso estudo utilizou líquido sinovial de pacientes vivos, ao contrário de outros estudos analisando amostras de doadores cadáveres e que podem ter a análise metabólica prejudicada pelo estado *post mortem*. Pretendemos dar continuidade ao estudo de modo a aumentar a amostra de modo a conter pacientes em todos os graus de OAJ.

7 CONCLUSÃO

A análise metabólica foi capaz de diferenciar os pacientes sem OAJ e com OAJ de acordo com o perfil metabólico, sendo o glicerol o metabólito aumentado no grupo de pacientes com OAJ. Além disso, nessa mesma população, a metabolômica evidenciou uma leve separação dos indivíduos em subgrupos, de acordo com as associações de idade e faixas de glicemia; e, idade e IMC.

ADAMS, S. B.; SETTON, L. A.; NETTLES, D. L. The Role of Metabolomics in Osteoarthritis Research. **Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**, v. 21, n. 1, p. 63-64, 2013.

AKHBARI, P.; JAGGARD, M.K.; BOULANGÉ, C.L.; VAGHELA, U.; GRAÇA, G.; BHATTACHARYA, R.; LINDON, J.C.; WILLIAMS, H.R.T.; GUPTA, C.M. Differences in the composition of hip and knee synovial fluid in osteoarthritis: a nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy study of metabolic profiles. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 27, n. 12, p. 1768-77, 2019.

ALETAHA, D.; NEOGI, T.; SILMAN, A. J.; FUNOVITS, J.; FELSON, D. T.; BINGHAM, C. O.; BIRNBAUM, N. S.; BURMESTER, G. R.; BYKERK, V. P.; COHEN, M. D.; COMBE, B.; COSTENBADER, K. H.; DOUGADOS, M.; EMERY, P.; FERRACCIOLI, G.; HAZES, J. M. W.; HOBBS, K.; HUIZINGA, T. W. J.; KAVANAUGH, A.; KAY, J.; KVIEN, T. K.; LAING, T.; MEASE, P.; MÉNARD, H. A.; MORELAND, L. W.; NADEN, R. L.; PINCUS, T.; SMOLEN, J. S.; STANISLAWSKA-BIERNAT, E.; SYMMONS, D.; TAK, P. P.; UPCHURCH, K. S.; VENCOSKÝ, J.; WOLFE, F.; HAWKER, G. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. **Arthritis and Rheumatism**, v. 62, n. 9, p. 2569–2581, 2010.

ALTMAN, R.; ASCH, E.; BLOCH, D.; BOLE, G.; BORENSTEIN, D.; BRANDT, K.; CHRISTY, W.; COOKE, T. D.; GREENWALD, R.; HOCHBERG, M.; HOWELL, D.; KAPLAN, D.; KOOPMAN, W.; LONGLEY, S.; MANKIN, H.; MCSHANE, D. J.; MEDSGER, T.; MEENAN, R.; MIKKELSEN, W.; MOSKOWITZ, R.; MURPHY, W.; ROTHCHILD, B.; SEGAL, M.; SOKOLOFF, L.; WOLFE, F. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: Classification of osteoarthritis of the knee. **Arthritis & Rheumatism**, v. 29, n. 8, p. 1039–1049, 1986.

ANDERSON, J. R.; CHOKESUWATTANASKUL, S.; PHELAN, M. P.; WELTING, T. J. M.; LIAN, L.-Y.; PEFERS, M. J.; WRIGHT, H. L. ¹H NMR Metabolomics identifies underlying inflammatory pathology in osteoarthritis and rheumatoid arthritis synovial joints. **Journal of Proteome Research**, v. 17, n. 11, p.3780-90, 2018.

ARNETH, B.; ARNETH, R.; SHAMS, M. Metabolomics of type 1 and type 2 diabetes. **International Journal of Molecular Science**, v. 20, n. 10, p. 2467-80, 2019.

BAO, J. P.; CHEN, W. P.; FENG, J.; HU, P. F.; SHI, Z. L.; WU, L. D. Leptin plays a catabolic role on articular cartilage. **Molecular Biology Reports**, v. 37, n. 7, p. 3265-72, 2010.

BAS, S.; FINCKH, A.; PUSKAS, G. J.; SUVA, D.; HOFFMEYER, P.; GABAY, C.; LÜBBEKE, A. Adipokines correlate with pain in lower limb osteoarthritis: Different associations in hip and knee. **International Orthopaedics**, v. 38, n. 12, p. 2577-83, 2014.

BERENBAUM, F. Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!) **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 21, n. 1, p.16-21, 2013.

BERENBAUM, F. Deep phenotyping of osteoarthritis: A step forward. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 78, n. 1, p.3-5, 2019.

BOS, M. M.; NOORDAM, R.; BENNETT, K.; BEEKMAN, M.; MOOK-KANAMORI, D. O.; VAN DIJK, K. W.; SLAGBOOM, P. J.; LUNDSTEDT, T.; SUROWIEC, I.; VAN HEEMST, D. Metabolomics analyses in non-diabetic middle-aged individuals reveal metabolites impacting early glucose disturbances and insulin sensitivity. **Metabolomics**, v. 16, n. 3, p. 35-44, 2020.

CALVO, E.; PALACIOS, I.; DELGADO, E.; SANCHEZ-PERNAUTE, O.; LARGO, R.; EGIDO, J.; HERRERO-BEAUMONT, G. Histopathological correlation of cartilage swelling detected by magnetic resonance imaging in early experimental osteoarthritis. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 12, n. 11, p. 878-86, 2004.

CARLSON, A. K.; RAWLE, R. A.; WALLACE, C. W.; BROOKS, E. G.; ADAMS, E.; GREENWOOD, M. C.; OLMER, M.; LOTZ, M. K.; BOTHNER, B.; JUNE, R. K. Characterization of synovial fluid metabolomic phenotypes of cartilage morphological changes associated with osteoarthritis. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 27, n. 8, p.1174-84, 2019.

CHAN, P. B.; WEN, C. Spontaneous hypertensive rat exhibits bone and meniscus phenotypes of osteoarthritis: Is it an appropriate control for MetS-associated OA? **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 77, n. 5, e25, 2018.

CHIGNOLA, F.; MARI, S.; STEVENS, T. J.; FOGH, R. H.; MANNELLA, V.; BOUCHER, W.; MUSCO, G. The CCPN Metabolomics Project: a fast protocol for metabolite identification by 2D-NMR. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 27, n. 6, p. 885–6, 2011.

COURTIES, A.; BERENBAUM, F.; SELAM, J. The Phenotypic Approach to Osteoarthritis: A Look at Metabolic Syndrome-Associated Osteoarthritis. **Joint Bone Spine**, v. 86, n.6, p. 725-30, 2019.

DAMYANOVICH, A. Z.; STYAPLES, J. R.; MARSHALL, K. W. ¹H NMR investigation of changes in the metabolic profile of synovial fluid in bilateral canine osteoarthritis with unilateral joint denervation. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 7, n. 2, p. 165-72, 1999.

DEVEZA, L. A.; MELO, L.; YAMATO, T. P.; MILLS, K.; RAVI, V.; HUNTER, D. J. Knee osteoarthritis phenotypes and their relevance for outcomes: a systematic review. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 25, n. 12, p. 1926-41, 2017.

DEVEZA, L. A.; NELSON, A. E.; LOESER, R. F. Phenotypes of osteoarthritis: current state and future implications. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 37, Suppl. 120 (5), p.64-72, 2019.

DICKSON, B.M.; ROELOFS, A. J.; ROCHFORD, J.J; WILSON, H.M.; DE BARI, C. The burden of metabolic syndrome on osteoarthritic joints. **Arthritis Research Therapy**, v. 21, n. 1, p. 289-300, 2019.

DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE/ABESO. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2016/ABESO**. [s.l: s.n.]

DRIBAN, J.B.; EATON, C. B.; AMIN, M.; STOUT, A. C.; PRICE, L. L.; LU, B.; LO, G. H.; McALINDON, T. E.; BARBE, M. F. Glucose homeostasis influences the risk of incidente knee osteoarthritis: Data from the osteoarthritis initiative. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 35, n, 10, p. 2282-87, 2017.

DUBEY, N. K.; NINGRUM, D. N. A.; DUBEY, R.; DENG, Y. H.; LI, Y. C.; WANG, P. D.; WANG, J. R.; SYED-ABDUL, S.; DENG, W. P. Correlation between diabetes mellitus and knee osteoarthritis: A dry-to-wet lab approach. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 10, pii E3021, 2018.

DUMOND, H.; PRESLE, N.; TERLAIN, B.; MAINARD, D.; LOEUILLE, D.; NETTER, P.; POTTIE, P. Evidence for a Key Role of Leptin in Osteoarthritis. **Arthritis and Rheumatism**, v. 48, n. 11, p. 3118-29, 2003.

FELSON, D. T. Osteoarthritis as a disease of mechanics. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 21, n. 1, p. 10-15, 2013.

FITZPATRICK, M.; YOUNG, S. P. Metabolomics – a novel window into inflammatory disease. **Swiss Medical Weekly**, v. 143, p. w13743, 2013.

GOLDRING, M. B.; GOLDRING, S. R. Osteoarthritis. **Journal of Cellular Physiology**, v. 213, n. 3, p. 626-34, 2007.

GOLDRING, M. B.; OTERO, M. Inflammation in osteoarthritis. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 23, n. 5, p. 471-78, 2011.

GOLDRING, S. R.; GOLDRING, M. B. Changes in the osteochondral unit during osteoarthritis: Structure, function and cartilage bone crosstalk. **Nature Reviews Rheumatology**, v.12, n. 11, p. 632-44, 2016.

GOMOLL, A. H.; ANGELE, P.; CONDELLO, V.; MADONNA, V.; MADRY, H.; RANDELLI, P.; SHABSHIN, N.; VERDONK, P.; VERDONK, R. Load distribution in early osteoarthritis. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 24, n.6, p. 1815-25, 2016.

GREENE, M. A.; LOESER, R. F. Aging-related inflammation in osteoarthritis. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 23, n. 11, p. 1966-71, 2015.

GUMA, M.; TIZIANI, S.; FIRESTEIN, G. S. Metabolomics in rheumatic diseases: Desperately seeking biomarkers. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 12, n. 5, p. 269–281, 2016.

HUANG, P.-H.; WANG, C.-J.; CHOU, W.-Y.; WANG, J.-W.; KO, J.-Y. Short-Term Clinical Results of Intra-Articular PRP Injections for Early Osteoarthritis of the Knee. **International Journal of Surgery (London, England)**, v. 42, p. 117–122, jun. 2017.

JAGGARD M. K.; BOULANGÉ, C.L.; AKHBARI, P.; VAGHELA, U.; BHATTACHARYA, R.; WILLIAMS, H.R.T.; LINDON, J.C.; GUPTE, C.M. A systematic review of the small molecule studies of osteoarthritis using nuclear magnetic resonance and mass spectroscopy. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 27, n. 4, p. 560-70, 2019.

KELLGREN, J. H.; LAWRENCE, J. S. Radiological Assessment of Osteo-Arthrosis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 16, n. 4, p. 494-502, 1957.

KIM, S.; HWANG, J.; KIM, J.; AHN, J. K.; CHA, H. S.; KIM, K. H. Metabolite profiles of synovial fluid change with the radiographic severity of knee osteoarthritis. **Joint Bone Spine**, v. 84, n. 5, p. 605-10, 2017.

KOHN, M. D.; SASSOON, A. A.; FERNANDO, N. D. Classifications in Brief: Kellgren-Lawrence Classification of Osteoarthritis. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 474, n. 8, p. 1886-93, 2016.

KURTZ, S.; ONG, K.; LAU, E.; MOWAT, F.; HALPERN, M. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. **Journal of Bone and Joint Surgery - Series A**, v. 89, n. 4, p. 780-85, 2007.

LAWTON, K.; BERGER, A.; MITCHELL, M.; MILGRAM, K. E.; EVANS, A. M.; GUO, L.; HANSON, R. W.; KALHAN, S. C.; RYALS, J. A.; MILBURN, M. V. Analysis of the adult plasma metabolome. **Pharmacogenomics**, v. 9, n. 4, p. 383-97, 2008.

LACITIGNOLA, L.; FANIZZI, F. P.; FRANCIOSO, E.; CROVACE, A. ¹H NMR investigation of normal and osteoarthritic synovial fluid in the horse. **Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology**, v. 21, n. 1, p. 85-88, 2008.

LEE, S.; KIM, T. N.; KIM, S. H.; KIM, Y. G.; LEE, C. K.; MOON, H. B.; KOH, E. M.; YOO, B. Obesity, metabolic abnormality, and knee osteoarthritis: A cross-sectional study in Korean women. **Modern Rheumatology**, v. 25, n. 2, p. 292-97, 2015.

LOESER, R. F. Aging and osteoarthritis: the role of chondrocyte senescence and aging changes in the cartilage matrix. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 17, n. 8, p. 971-79, 2009.

LOESER, R. F.; GOLDRING, S. R.; SCANZELLO, C. R.; GOLDRING, M. B. Osteoarthritis: A disease of the joint as an organ. **Arthritis and Rheumatism**, v. 64, n. 6, p. 1697-1707, 2012.

MICKIEWICKZ, B.; KELLY, J. L.; WEJLIE, A. M.; WILEY, J. P. SCHMIDT, T. A. VOGEL, H. J. Metabolic analysis of knee synovial fluid as potential diagnostic approach for osteoarthritis. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 33, n. 11, p. 1631-38, 2015.

MONNERIE, S.; COMTE, B.; ZIEGLER, D.; MORAIS, J. A.; PUJOS-GUILLOT, E.; GAUDREAU, E. Metabolomic and lipidomic signatures of metabolic syndrome and its physiological components in adults: a systematic review. **Scientific Reports**, v. 10, p. 669-81, 2020.

MUNJAL, A.; BAPAT, S.; HUBBARD, D.; HUNTER, M.; KOHLE, R.; FULZELE, S. Advances in molecular biomarker for early diagnosis in osteoarthritis. **Biomolecular Concepts**, v. 10, n. 1, p. 111-119, 2019.

NIU, J.; CLANCY, M.; ALIABADI, P.; VASAN, R.; FELSON, D. T. Metabolic Syndrome, Its Components, and Knee Osteoarthritis: The Framingham Osteoarthritis Study. **Arthritis and Rheumatology**, v. 69, n. 6, p. 1194-1203, 2017.

PAN, F.; TIAN, J.; CICUTTINI, F.; JONES, G. Metabolic syndrome and trajectory of knee pain in older adults. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.28, n. 1, p. 45-52, 2020.

PRIORI, R.; SCRIVO, R.; BRANDT, J.; VALERIO, M.; CASADEI, L.; VALESINI, G.; MANETTI, C. Metabolomics in rheumatic diseases: the potential of an emerging methodology for improved patient diagnosis, prognosis, and treatment efficacy. **Autoimmun Rev**, v. 12, n. 10, p. 1022–1030, 2013.

RAUSCHERT, S.; KIRCHBERG, F. F.; MARCHIORO, L.; KOLETZKO, B.; HELLMUTH, C.; UHL, O. Early programming of obesity throughout the life course: a metabolomics perspective. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 70, n. 3, p. 201-09, 2017.

RATNESWARAN, A.; ROCKEL J. S.; KAPOOR, M. Understanding osteoarthritis pathogenesis: a multiomics system-based approach. **Current Opin Rheumatology**, v. 32, n. 1, p. 80-91, 2020.

REICHENBACH, S.; GUERMAZI, A.; NIU, J.; NEOGI, T.; HUNTER, D. J.; ROEMER, F. W.; MCLENNAN, C. E.; HERNANDEZ-MOLINA, G.; FELSON, D. T. Prevalence of bone attrition on knee radiographs and MRI in a community-based cohort. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.16, n. 9, p. 1005-10, 2008.

ROBERTS, J. A.; VARMA, V. R.; HUANG, C. W.; AN, Y.; OOMMEN, A.; TANAKA, T.; FERRUCCI, L.; ELANGO, P.; TAKEBAYASHI, T.; HARADA, S.; IIDA, M.; THAMBISSETY, M. Blood metabolite signature of metabolic syndrome implicates alterations in amino acid metabolism: findings from the Baltimore Longitudinal Study of Aging (BLSA) and the Tsuruoka Metabolomics Cohort Study (TMCS). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4, p.1249-68, 2020.

ROCKEL, J. S.; KAPOOR, M. The metabolome and osteoarthritis: Possible contributions to symptoms and pathology. **Metabolites**, v. 13, n. 8, pii: E92, 2018.

SELLAM, J.; BERENBAUM, F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. **Nature Review Rheumatology**, v. 6, p. 625-35, 2010.

SENL, O.; GUNDOGDU, G.; GUNDOGDU, K.; MILOGLU, F. D. Investigation of the relationships between knee osteoarthritis and obesity via untargeted metabolomics analysis. **Clinical Rheumatology**, v. 38, n. 5, p. 1351-60, 2019.

SHOWIHEEN, S. A. A.; SUN, A. R. J.; WU, X.; CRAWFORD, R.; XIAO, Y.; WELLARD, R. M.; PRASADAM, I. Application of Metabolomics to Osteoarthritis: from Basic Science to the Clinical Approach. **Current Rheumatology Reports**, v. 21, n. 6, p. 26, 2019.

SMOLINSKA, A.; BLANCHET, L.; BUYDENS, L. M. C.; WIJMENGA, S. S. NMR and pattern recognition methods in metabolomics: From data acquisition to biomarker discovery: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 750, p. 82-97, 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Consenso Brasileiro de Diabetes, **Sociedade Brasileira de Diabetes Diretrizes 2017-2018**. [s.l: s.n.]

SOUSA E. B.; DOS SANTOS JUNIOR, G. C.; AGUIAR R. P.; DA COSTA SARTORE R.; DE OLIVEIRA A. C. L.; ALMEIDA F. C. L.; NETO V. M.; AGUIAR D. P. Osteoarthritic synovial fluid modulates cell phenotype and metabolic behavior *in vitro*. **Stem Cells International**, p. 1-14, 2019.

THIJSEN, E.; VAN CAAM, A.; VAN DER KRAAN, P. M. Obesity and osteoarthritis, more than just wear and tear: Pivotal roles for inflamed adipose tissue and dyslipidaemia in obesity-induced osteoarthritis. **Rheumatology (United Kingdom)**, v. 54, n. 4, p. 588-600, 2014.

WALLACE, I. J.; WORTHINGTON, S.; FELSON, D. T.; JURMAIN, R. D.; WREN, K. T.; MAIJANEN, H.; WOODS, R. J.; LIEBERMAN, D. E. Knee osteoarthritis has doubled in prevalence since the mid-20th century. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 35, p. 9332-36, 2017.

WALTER S. S.; WINTERMEYER, E.; KLINGER, C.; LORBEER, R.; RATHMANN, W.; PETERS, A.; SCHLETT, C. L.; THORAND, B.; GATIDIS, S.; NIKOLAOU, K.; BAMBERG, F.; NOTOHAMIPRODJO, M. Association between metabolic syndrome and hip osteoarthritis in middle-aged men and women from the general population. **PLOS One**, v. 15, n. 3, e0230185, 2020.

WATT, F. E.; HAMID, B.; GARRIGA, C.; JUDGE, A.; HRUSECKA, R.; CUSTERS, R.J.H.; JANSEN, M.P.; LAFEVER, F.P.; MASTBERGEN, S.C., VINCENT, T.L. The molecular profile of synovial fluid changes upon joint distraction and is associated with clinical response in knee osteoarthritis. **Osteoarthritis and Cartilage**, pii: S1063-4584 (19) 31301-9, 2020.

WU, D. D.; BURR, D. B.; BOYD, R. D.; RADIN, E. L. Bone and cartilage changes following experimental varus or valgus tibial angulation. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 8, n. 4, p. 572-85, 1990.

XIA, J.; SINELNIKOV, I. V.; HAN, B.; WISHART, D. S. MetaboAnalyst 3.0-making metabolomics more meaningful. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. W1, p. W251–W257, 2015.

ZHAI, G. Alteration of Metabolic Pathways in Osteoarthritis. **Metabolites**, v. 9, n. 1, pii: E11, 2019.

ZHAI, G.; RANDELL, E. W.; RAHMAN, P. Metabolomics of osteoarthritis: Emerging novel markers and their potential clinical utility. **Rheumatology (United Kingdom)**, v. 57, n.12, p. 2087-95, 2018.

ZHANG, W.; LIKHODII, S.; AREF-ESHGHI, E.; ZHANG, Y.; HARPER, P. E.; RANDELL, E.; GREEN, R.; MARTIN, G.; FUREY, A.; SUN, G.; RAHMAN, P.; ZHAI, G. Relationship between blood plasma and synovial fluid metabolite concentrations in patients with osteoarthritis. **The Journal of Rheumatology**, v. 42, n. 5, p. 859-65, 2015.

ZHANG, W.; LIKHODII, S.; ZHANG, Y.; AREF-ESHGHI, E.; HARPER, P. E.; RANDELL, E.; GREEN, R.; MARTIN, G.; FUREY, A.; SUN, G.; RAHMAN, P.; ZHAI, G. Classification of osteoarthritis phenotypes by metabolomics analysis. **BMJ Open**, v. 4, n. 11, 2014.

ZHENG, K.; SHEN, N.; CHEN, H.; NI, S.; ZHANG, T.; HU, M.; WANG, J.; SUN, L.; YANG, X. Global and targeted metabolomics of synovial fluid discovers special osteoarthritis metabolites. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 35, n. 9, p. 1973–1981, 2017a.

ZHOU, S.; THORNHILL, T. S.; MENG, F.; XIE, L.; WRIGHT, J.; GLOWACKI, J. Influence of osteoarthritis grade on molecular signature of human cartilage. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 34, n. 3, p. 454-62, 2016.

ZHU, Y.; YUAN, M.; MENG, H. Y.; WANG, A. Y.; GUO, Q. Y.; WANG, Y.; PENG, J. Basic science and clinical application of platelet-rich plasma for cartilage defects and osteoarthritis: a review. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 21, n. 11, p. 1627–1637, 2013.

ZHUO, Q.; YANG, W. CHEN, J.; WANG, Y. Metabolic syndrome meets osteoarthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 8, n. 12, p. 729-37, 2012.

ANEXO A. PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

INSTITUTO NACIONAL DE
TRAUMATO - ORTOPEDIA /
INTO / SAS/ MS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA MANUTENÇÃO DA ATIVIDADE CELULAR CONDROCÍTICA PELOS SINOVIÓCITOS: MODELO IN VITRO DO ESTUDO PARA OSTEOATRITE EM HUMANOS.

Pesquisador: Diego Aguiar

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 08663912.3.0000.5273

Instituição Proponente: Instituto Nacional de Traumatismo - Ortopedia / INTO / SAS/ MS - RJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 146.596

Data da Relatoria: 31/10/2012

Apresentação do Projeto:

Adequado.

Objetivo da Pesquisa:

Estabelecimento de metodologia para cultivo de células sinoviais e genes envolvidos na doença articular.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sem riscos. Com benefícios sobre o entendimento da doença articular.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto muito bem elaborado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequado.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto Aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Avenida Brasil, nº 500

Bairro: São Cristóvão

CEP: 20.940-070

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2134-5000

Fax: (21)2134-5228

E-mail: cep.into@into.saude.gov.br

INSTITUTO NACIONAL DE
TRAUMATO - ORTOPEDIA /
INTO / SAS/ MS



Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

RIO DE JANEIRO, 14 de Novembro de 2012

Assinador por:
Marisa Peter Silva
(Coordenador)

INSTITUTO NACIONAL DE
TRAUMATO - ORTOPEDIA /
INTO / SAS/ MS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA MANUTENÇÃO DA ATIVIDADE CELULAR CONDRÓCITA PELOS SINOVIÓCITOS: MODELO IN VITRO DO ESTUDO PARA OSTEOARTRITE EM HUMANOS.

Pesquisador: Diego Aguiar

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 08663912.3.0000.5273

Instituição Proponente: Instituto Nacional de Traumatismo - Ortopedia / INTO / SAS/ MS - RJ

Patrocinador Principal: Instituto Nacional de Traumatismo - Ortopedia / INTO / SAS/ MS - RJ

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Outros

Detalhe: Adendo

Justificativa: Para melhor analisarmos os mecanismos moleculares da artrose é necessário a

Data do Envio: 10/03/2014

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 573.269

Data da Relatoria: 26/03/2014

Apresentação da Notificação:

Adequado.

Objetivo da Notificação:

Adendo bem formulado em relação ao estudo original.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não proporciona riscos.

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Pertinente e relevante.

Endereço: Avenida Brasil, nº 500

Bairro: São Cristóvão

CEP: 20.940-070

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2134-5000

Fax: (21)2134-5228

E-mail: cep.into@into.saude.gov.br

INSTITUTO NACIONAL DE
TRAUMATO - ORTOPEDIA /
INTO / SAS/ MS



Continuação do Parecer: 573.269

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequado.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem inadequações

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

RIO DE JANEIRO, 28 de Março de 2014

Assinador por:
Marisa Peter Silva
(Coordenador)

INSTITUTO NACIONAL DE
TRAUMATO - ORTOPEDIA /
INTO / SAS/ MS



Continuação do Parecer: 573.269

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequado.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem inadequações

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

RIO DE JANEIRO, 28 de Março de 2014

Assinador por:
Marisa Peter Silva
(Coordenador)



INSTITUTO NACIONAL DE
TRAUMATOLOGIA E
ORTOPEDIA JAMIL HADDAD -



Continuação do Parecer: 2.767.533

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Vide acima.

Considerações Finais a critério do CEP:

Senhor pesquisador, de acordo com o constante da Resolução CNS nº 466 de 2012, faz-se necessário apresentar ao CEP/INTO, através da Plataforma Brasil, a cada 06 (seis) meses o relatório de acompanhamento de sua pesquisa. Além disso, após a conclusão da pesquisa, deverá ser submetido na Plataforma Brasil, através da Notificação, o Relatório Final e a pesquisa concluída para apreciação do CEP/INTO.

Informamos que qualquer alteração realizada no protocolo de pesquisa aprovado deverá ser submetida à apreciação do CEP/INTO através do envio de uma emenda utilizando a Plataforma Brasil.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_1159593_E1.pdf	25/06/2018 16:05:21		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ADENDO_CEP_25_06_18.doc	25/06/2018 16:02:15	Diego Aguiar	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	folhaDeRosto.pdf	25/06/2018 13:22:39	Diego Aguiar	Aceito
Outros	ADENDO - AVALIAÇÃO DA MANUTENÇÃO DA ATIVIDADE CELULAR CONDROCÍTICA PELOS SINOVIÓCITOS MODELO IN VITRO DO ESTUDO PARA OSTEOATRITE EM HUMANOS..doc	10/03/2014 15:43:04		Aceito
Folha de Rosto	Folha do Rosto -INTO - Diego Aguiar.pdf	03/10/2012 15:06:33		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	02/10/2012 18:16:33		Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto de Pesquisa básico-clínico ; Diego Aguiar & Eduardo Branco.doc	02/10/2012 18:13:23		Aceito

Endereço: Avenida Brasil, nº 500
Bairro: São Cristóvão CEP: 20.940-070
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2134-5000 Fax: (21)2134-5228 E-mail: cep.int@into.saude.gov.br



INSTITUTO NACIONAL DE
TRAUMATOLOGIA E
ORTOPEDIA JAMIL HADDAD -



Continuação do Parecer: 2.767.533

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 12 de Julho de 2018

Assinado por:
Marisa Peter Silva
(Coordenador)

Endereço: Avenida Brasil, nº 500

Bairro: São Cristóvão

CEP: 20.940-070

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2134-5000

Fax: (21)2134-5228

E-mail: cep.int@into.saude.gov.br

Página 03 de 03

ANEXO B. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado para participar da pesquisa **“AVALIAÇÃO DA MANUTENÇÃO DA ATIVIDADE CELULAR CONDROCÍTICA PELOS SINOVIÓCITOS: MODELO *IN VITRO* DO ESTUDO DA OSTEOATRITE EM HUMANOS”**, que ajudará na compreensão da artrose do joelho, com o objetivo de melhorar o diagnóstico e tratamento. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em relação à sua cirurgia e ao seu tratamento no hospital.

Durante seu procedimento cirúrgico, será retirada uma parte de seu fêmur ou do seu joelho, e implantada uma prótese nesse local. A porção retirada (denominada fragmento ósseo do joelho ou tecido sinovial do joelho) não poderá mais ser aproveitada por você ou por nenhum outro paciente, mas poderá ser utilizada para fins de pesquisa. Assim, pedimos sua autorização para utilizar a porção retirada na sua cirurgia em nossa pesquisa.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação nessa pesquisa.

Você receberá uma via deste Termo onde constam o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Rio de Janeiro, ____ de _____ de 2014.

NOME DO PACIENTE/VOLUNTÁRIO: _____

PRONTUÁRIO: _____

ASSINATURA:

PESQUISADORES RESPONSÁVEIS: Diego Aguiar e Eduardo Branco de Sousa
ENDEREÇO: Av. Brasil, 500 – Anexo IV - CTCEL
TELEFONE: 2134 5057

APÊNDICE A: PROTOCOLO DE ANÁLISE METABOLÔMICA POR RMN

Coleta do líquido sinovial

Para a realização da análise metabolômica do estudo base, foi coletado o líquido sinovial dos pacientes sem OAJ e com OAJ para análise de metabolômica por RMN.

O LS dos pacientes sem OAJ foi coletado durante procedimento de artroscopia para reparo de lesão meniscal ou reconstrução do LCA. No momento da confecção dos portais artroscópicos para o procedimento, foi inserida uma agulha 18G acoplada a uma seringa de 20 mL e o líquido sinovial aspirado.

Já nos pacientes com OAJ, submetidos à ATJ, a coleta de material ocorreu após abertura da cápsula articular, sendo o líquido sinovial coletado com uma seringa de 20mL diretamente da articulação.

As amostras de líquido sinovial foram transportadas em bolsa térmica com gelo a 4° C para o Centro de Tecnologia Celular (CTC) do INTO e armazenadas a -80° C até o momento e de serem analisadas.

Preparo da amostra e aquisição dos espectros

As análises do líquido sinovial por RMN foram realizadas através da aquisição de espectros para o núcleo de hidrogênio (^1H) no espectrômetro Bruker DRX 400 MHz. Para isso, as amostras provenientes do líquido sinovial, foram descongeladas em temperatura ambiente, centrifugadas a 8000 rpm por 20 minutos, e 500 μL do sobrenadante foi misturado com 1500 μL do tampão fosfato à 50 mM em pH 7.4 com 10% de D_2O (óxido de deutério) e 0,1mM do composto referência DSS (2,2-dimetil-silapentano-2-5-sulfonato).

Para eliminar a interferência de moléculas grandes, as misturas de líquido sinovial com tampão fosfato foram filtradas em membranas Amicon Ultra-2 (MERK-Millipore®) com malha de 3 KD (#UFC200324), centrifugadas à 6000 rpm por 20 minutos, e 600 μL da mistura

filtrada foram transferidas para tubos de RMN de 5mm de diâmetro (CHIGNOLA et al., 2011).

O perfil metabólico das amostras foi analisado através da aquisição de espectros unidimensionais de ^1H , utilizando as sequências pulso com supressão de água, *excitation esculpting* (zgesgp), número de pontos de 64K, número de acumulações de 1K, largura espectral de 20 ppm, D1=1,40s, O1P= 4,7 ppm. Para o assinalamento foram adquiridos espectros bidimensionais TOCSY H-H, utilizando a sequência *mlevesgp*. Os espectros foram processados no programa TopSpin 2.1, onde foi ajustada a fase e a linha base de cada um.

A Tabela 6 mostra os metabólitos assinalados com os valores da análise univariada, múltiplo teste t com o valor de q (abordagem com o “*False Discovery Rate – FDR*”), e da análise multivariada, *Orthogonal Partial Least Square-Discriminant Analysis* (OPLS-DA), fator de carga (importância para a separação entre os grupos), e fator de carga ortogonal.

Tabela 6 Metabólitos assinalados através da análise por RMN e a caracterização na separação entre os grupos de pacientes sem OAJ e com OAJ.

Metabólito Assinalado	^1H Deslocamento químico (ppm)	Valor de q*	Diferença (Doente-Controle)	Fator de Carga (t1)	Fator de carga ortogonal (to1)
Glicose + Glicerol	3.56	0.0100	-0.0102	1.94	0.14
Valina	0.98	0.0895	0.0074	-2.92	-0.42
Lactato	1.31	>0.9999	-0.0041	1.36	0.10
Valina	0.96	>0.9999	0.0032	-1.82	-0.34
Creatina	3.00	>0.9999	0.0026	-1.93	-0.49
Glutamina	2.46	>0.9999	0.0021	-1.37	-0.31
Ureia	5.74	>0.9999	-0.0015	1.47	0.43
Acetato	1.90	>0.9999	0.0010	-0.95	-0.30
Acetamida	2.06	>0.9999	0.0007	-0.34	-0.05
Alanina	1.47	>0.9999	0.0006	-0.50	-0.12
4-Ácido Aminobenzoico	7.04	>0.9999	0.0002	0.07	0.05

APÊNDICE B: DADOS COLETADOS NOS PRONTUÁRIOS DOS PACIENTES

A seguir, estão apresentados os dados demográficos e clínicos dos pacientes do presente estudo (tabela 7). São descritos idade, peso, altura, IMC (kg/m^2), presença ou não de DM e HAS, valor de glicemia de jejum e classificação de K-L.

Tabela 7 Dados clínicos coletados nos prontuários dos pacientes com e sem OAJ

COM OSTEOARTRITE								
Espectro	IDADE	PESO	ALT	IMC	DM	HAS	GLICEMIA	K-L
204	59	98	1,68	34,72	N	S	86	3
520	72	99	1,58	39,75	S	S	111	4
239	65	90	1,65	33,06	N	S	110	4
253	76	56	1,60	21,88	N	S	70	4
265	69	78	1,48	35,61	N	S	92	4
206	63	75	1,64	27,88	N	S	99	4
243	64	93,5	1,50	41,56	S	S	119	4
267	65	68	1,44	32,79	S	S	94	3
235	78	74,2	1,59	29,40	N	S	99	4
229	65	78	1,73	26,06	N	S	112	4
271	70	75	1,51	32,89	N	S	124	4
261	64	79	1,54	33,31	N	S	90	4
524	72	86	1,56	35,34	S	N	104	3
275	64	87	1,52	37,66	N	S	78	4
217	66	89	1,76	28,73	S	S	108	4
225	59	88	1,58	35,25	N	S	129	4
269	69	96	1,47	44,43	S	S	170	4
221	72	65	1,60	25,39	N	S	110	4
233	62	70,3	1,48	32,09	N	S	115	4
208	64	83	1,60	32,42	N	S	99	3
227	72	70,5	1,47	32,62	N	S	110	4
202	68	90	1,58	36,05	N	S	105	4
257	69	57	1,60	22,27	S	N	153	4
530	66	88,6	1,50	39,38	S	S	115	4
511	75	55	1,46	25,80	N	N	99	4
263	63	92	1,62	35,11	N	S	97	4

SEM OSTEOARTRITE								
Espectro	IDADE	PESO	ALT	IMC	DM	HAS	GLICEMIA	K-L
526	33	70	1,72	23,66	N	N	84	0
241	28	83	1,70	28,72	N	N	100	0
278	34	96	1,81	29,30	N	N	78	0
282	16	72	1,74	23,78	N	N	78	0
280	20	100	1,78	31,56	N	N	87	0
500	21	89	1,77	28,41	N	N	76	0
504	33	88	1,75	28,73	N	N	100	0
516	29	72,3	1,74	23,94	N	N	82	0

ALT: altura; IMC: índice de massa corporal; DM: diabetes mellitus; HAS: hipertensão arterial sistêmica; K-L: classificação de Kellgren-Lawrence.