

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO
COMPORTAMENTO

JOSÉ ANTONIO DOS SANTOS

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO DE RESISTÊNCIA
SOBRE A MORFOLOGIA DE FIBRAS MUSCULARES E
SOBRE A EXPRESSÃO DE GENES PARA FATORES
NEUROTRÓFICOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM
RATOS

Recife, 2012

JOSÉ ANTONIO DOS SANTOS

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO DE RESISTÊNCIA
SOBRE A MORFOLOGIA DE FIBRAS MUSCULARES E
SOBRE A EXPRESSÃO DE GENES PARA FATORES
NEUROTRÓFICOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM
RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Neurociências.

Orientadores:

Dr. Raul Manhães de Castro

Dra. Carol Virgínia Góis Leandro

Recife, 2012

Santos, José Antônio dos

Efeitos do treinamento físico de resistência sobre a morfologia de fibras musculares e sobre a expressão de genes para fatores neurotróficos no sistema nervoso central em ratos / José Antônio dos Santos. – Recife: O Autor, 2012.

78 folhas: il., fig. ; 30 cm

Orientador: Raul Manhães de Castro

Tese (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, 2012.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Treinamento de resistência. 2. Fibra muscular. 3. Fatores neurotróficos. 4. Cerebelo. 5. Medula espinhal. I. Castro, Raul Manhães de. II. Título.

616.8 CDD (20.ed.) UFPE
CCS2012-024

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria
e Ciências do Comportamento

123ª DEFESA

**RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO
DO MESTRANDO JOSÉ ANTONIO DOS SANTOS**

No dia 14 de fevereiro de 2012, às 14h, no Auditório do 2º andar do Programa de Pós Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco os Professores: Rhowena Jane Barbosa de Matos, Doutora Professora do Núcleo de Educação Física do Centro Acadêmico de Vitória/UFPE, Ary Gomes Filho, Doutor Professor do Núcleo de Educação Física do Centro Acadêmico de Vitória/UFPE e Ana Elisa Toscano, Doutora Professora do Departamento de Neuropsiquiatria da Universidade Federal de Pernambuco, componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, argüiram o Mestrando JOSÉ ANTONIO DOS SANTOS, sobre a sua Dissertação intitulada “EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO DE RESISTÊNCIA SOBRE A MORFOLOGIA DE FIBRAS MUSCULARES E SOBRE A EXPRESSÃO DE GENES PARA FATORES NEUOTRÓFICOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM RATOS”, orientado pelo professor Raul Manhães de Castro. Ao final da argüição de cada membro da Banca Examinadora e resposta do Mestrando as seguintes menções foram publicamente fornecidas:

Profª. Drª. Rhowena Jane Barbosa de Matos

APROVADO

Prof. Dr. Ary Gomes Filho

APROVADO

Profª. Drª. Ana Elisa Toscano

APROVADO

“Live as if you were to die tomorrow .

Learn as if you were to live forever.”

(Mahatma)

A Lista

Compositor: Oswaldo Montenegro

“Faça uma lista de grandes amigos
Quem você mais via há dez anos atrás
 Quantos você ainda vê todo dia
Quantos você já não encontra mais...
Faça uma lista dos sonhos que tinha
 Quantos você desistiu de sonhar!
Quantos amores jurados pra sempre
Quantos você conseguiu preservar...
 Onde você ainda se reconhece
Na foto passada ou no espelho de agora?
 Hoje é do jeito que achou que seria
 Quantos amigos você jogou fora?
Quantos mistérios que você sondava
 Quantos você conseguiu entender?
Quantos segredos que você guardava
Hoje são bobos, ninguém quer saber?
 Quantas mentiras você condenava?
 Quantas você teve que cometer?
Quantos defeitos sanados com o tempo
 Eram o melhor que havia em você?
Quantas canções que você não cantava
 Hoje assobia pra sobreviver?
 Quantas pessoas que você amava
 Hoje acredita que amam você?”

**“Dedico esta dissertação a todos
que passaram pela minha vida”**

Agradecimentos

A **Deus**, não só por me dar forças para me dedicar as 17520 horas correspondentes a este mestrado, mas por ter me guiado pelos caminhos certos! Obrigado senhor! E rumo ao objetivo que traçastes para minha vida. Estou quase lá!

Aos meus pais **Ivanice Maria e José Manoel** pela plena dedicação aos filhos. Tenho orgulho das minhas raízes, são meus exemplos de luta e dedicação.

Aos meus irmãos **Cristiane, Ronaldo, Romário e Betânia** pelo apoio sempre.

A minha tia **Nice** e meus primos **Fábio e Fabíola**, por sempre me receberem quando precisava me isolar do mundo e estudar.

Aos meus amigos que, mesmo por vezes distantes, estavam presentes neste mestrado. Tentei escrever o nome de cada um de vocês, mas não coube aqui, então guardei seus nomes em meu coração. Espero estar ao lado de vocês sempre.

Aos meus “estagiários” e amigos **Taciana, Diórginis, Gizelle e Rafael** parte dessa dissertação pertence a vocês. Acho que aprendi mais com vocês do que ensinei. Agradeço pela dedicação e companheirismo sempre.

A professora **Ana Elisa** por dedicar um tempo precioso e estar comigo no laboratório para os experimentos de músculo.

A professora **Rhowena Jane** pela ajuda nos experimentos de expressão de genes. Obrigado por me ajudar a dar os primeiros passos na área de neurociências (o sistema nervoso é fascinante). Um dia serei um bom neurocientista!

Aos meus orientadores **Carol Leandro e Raul Manhães** por acreditarem em mim. Agradeço por me fazerem compreender que não somos uma máquina, somos seres humanos e nascemos não só para agir, mas também para pensar. Obrigado por me ensinarem que “o mais importante na vida é ser feliz!”

Um agradecimento especial a **Viviane Nogueira** por me mostrar, todos os dias, que a **FELICIDADE** está guardada nas coisas mais simples da vida. **Amo você meu anjo!** Deus te enviou ao meu encontro na hora certa. **Tudo ao tempo de Deus! :P :D.**

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do treinamento de resistência sobre a morfologia dos músculos sóleo e extensor digital longo (EDL) e sobre a expressão gênica de BDNF e IGF-1 na medula espinal, córtex motor e cerebelo em ratos. Foram utilizados 31 ratos machos Wistar (267.3 ± 36.7 gramas; 65 ± 5 dias de idade). Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Não-Treinado (NT, $n=13$) e treinado (T, $n=18$). Animais do grupo T foram submetidos a um protocolo de treinamento físico de resistência diário, 5 dias por semana, durante 8 semanas, com 80% da sobrecarga máxima acessada semanalmente. O sacrifício foi realizado 48 horas após a última sessão de treinamento e os tecidos removidos e congelados imediatamente. Foi avaliada a histologia dos músculos sóleo e EDL ($n=6$ por grupo) através da técnica da ATPase miofibrilar. Para análise da expressão gênica ($n=5$ por grupo) de BDNF e IGF-1 no córtex motor, medula espinal e cerebelo foi utilizada a técnica do PCR em tempo real. O percentual de aumento de sobrecarga máxima dos animais treinados foi maior que o grupo Não-Treinado (NT: $101,1 \pm 13,6$; T: $232,1 \pm 14,3$). Com relação ao peso corporal não houve diferença entre os grupos ao longo das semanas. No músculo sóleo, o treinamento de resistência diário não alterou a proporção de fibras tipo I (NT: $85,5 \pm 2,7\%$; T: $84,7 \pm 2,2\%$) e tipo II (NT: $14,5 \pm 2,7\%$; T: $15,2 \pm 2,1\%$). O mesmo foi observado no músculo EDL: fibras tipo I (NT: $3,4 \pm 0,47\%$; T: $5,4 \pm 0,82\%$) e tipo II (NT: $96,6 \pm 0,47\%$; T: $94,6 \pm 0,82\%$). O treinamento físico de resistência não afetou a proporção dos subtipos de fibras no músculo sóleo: tipo I (NT: $84,9 \pm 2,06$; T: $83,6 \pm 2,68$); tipo IIa (NT: $10,9 \pm 1,32\%$; T: $13,4 \pm 2,53\%$); tipo IIb (NT: $4,1 \pm 0,82\%$; T: $2,9 \pm 0,47\%$). No músculo EDL, embora não haja diferença na proporção de fibras tipo I, o treinamento de resistência aumentou a proporção de fibras tipo IIb (NT: $19,8 \pm 2,14\%$; T: $35,7 \pm 2,1\%$) e diminuiu a proporção de fibras tipo IIa (NT: $77,5 \pm 2,4\%$; T: $59,6 \pm 2,2\%$). No córtex motor, o treinamento de resistência não alterou a expressão gênica relativa de BDNF (NT: $1,08 \pm 0,21$; T: $1,10 \pm 0,12$) e de IGF-1 (NT: $1,03 \pm 0,13$; T: $0,98 \pm 0,12$). O mesmo foi observado com relação à medula espinal (BDNF: NT: $1,02 \pm 0,09$; T: $0,92 \pm 0,15$; IGF-1: NT: $1,14 \pm 0,24$). No cerebelo não houve diferença na expressão gênica de BDNF (NT: $1,05 \pm 0,17$; T: $0,88 \pm 0,07$). Entretanto, a expressão gênica de IGF-1 no cerebelo foi diminuída (NT: $1,02 \pm 0,12$; T: $0,57 \pm 0,11$). O treinamento de resistência diário aumenta a força em ratos, mas não altera seu peso corporal. Nossos dados sugerem que treinamento de resistência, mesmo alterando a proporção de fibras musculares, exerce pouca influência, de forma crônica, sobre a expressão de genes para fatores neurotróficos no sistema nervoso central.

Palavras-chave: Treinamento de resistência; fibra muscular; fatores neurotróficos; cerebelo; medula espinal; córtex motor.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of resistance training on the morphology of the soleus and extensor digital longus (EDL) and the expression of genes for neurotrophic factors in central nervous system in rats. We used 31 male Wistar rats (267.32 ± 36.74 g, 65 ± 5 days old) animals were randomly divided into two groups: untrained (NT, $n = 13$) and trained (T, $n = 18$). Animals of group T underwent a protocol of daily resistance training, 5 days per week for 8 weeks, with 80% of maximum overload accessed weekly. The animals were sacrificed 48 hours after the last training session and the tissue removed, frozen immediately and kept at -80°C freezer for later analysis. We assessed the histology of soleus and EDL ($n = 6$ per group) through the technique of myofibrillar ATPase. For analysis of mRNA expression ($n = 5$ per group) for BDNF and IGF-1 in the motor cortex, cerebellum and spinal cord was used the technique of real-time PCR. The amount of increase in maximum overload of trained animals was greater than the untrained group (NT: 101.1 ± 13.6 , T: 232.1 ± 14.3). With respect to body weight did not differ between groups throughout the week. In soleus muscle, endurance training did not alter the daily proportion of type I fibers (NT: $85.5 \pm 2.7\%$, T: $84.7 \pm 2.2\%$) and type II (NT: $14.5 \pm 2.7\%$, T: $15.2 \pm 2.1\%$). The same was observed in EDL muscle: type I fibers (NT: $3.4 \pm 0.47\%$, T: $5.4 \pm 0.82\%$) and type II (NT: $96.6 \pm 0.47\%$, T: $94.6 \pm 0.82\%$). The resistance exercise training did not affect the proportion of subtypes in the soleus muscle fibers: Type I (NT: 84.9 ± 2.06 , T: 83.6 ± 2.68), type IIa (NT: $10.9 \pm 1.32\%$, T: $13.4 \pm 2.53\%$), type IIb (NT: $4.1 \pm 0.82\%$, T: $2.9 \pm 0.47\%$). In EDL muscle, although there is no difference in the proportion of type I fibers, the resistance training increased the proportion of type IIb fibers (NT: $19.8 \pm 2.14\%$, T: $35.7 \pm 2.1\%$) and decreased the proportion of type IIa fibers (NT: $77.5 \pm 2.4\%$, T: $59.6 \pm 2.2\%$). In the motor cortex, endurance training did not alter the relative expression of mRNA for BDNF (NT: 1.08 ± 0.21 , T: 1.10 ± 0.12) and IGF-1 (NT: 1.03 ± 0.13 , T: 0.98 ± 0.12). The same was observed with respect to the spinal cord (BDNF: NT: 1.02 ± 0.09 , T: 0.92 ± 0.15 , IGF-1: NT: 1.14 ± 0.24). In the cerebellum there was no difference in the expression of BDNF mRNA (NT: 1.05 ± 0.17 , T: 0.88 ± 0.07). However, the expression of mRNA for IGF-1 was decreased in the cerebellum (NT: 1.02 ± 0.12 , T: 0.57 ± 0.11). The daily resistance training increases strength in rats but does not change your body weight. Our data suggest that resistance training, even changing the proportion of muscle fibers, little influence of the chronic form, on the expression of genes for neurotrophic factors in central nervous system.

Keywords: Resistance training, muscle fiber, neurotrophic factors, cerebellum, spinal cord, motor cortex.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Mecanismos envolvidos na transição de tipo de fibras e na síntese e liberação de fatores neurotróficos.	26
Figure 2A. Visão lateral do aparato de treinamento.	41
Figure 2B. Visão frontal do aparato de treinamento, descrição dos pontos onde o rato era colocado.	41
Figure 2C. O suporte para fixação de carga consistiu de uma fita para fixação.	41
Figure 2D. Rato subindo a escada com sobrecarga fixa em sua cauda.	41
Figura 3. Desenho experimental do protocolo de treinamento de resistência.	43
Figura 4A. Gráfico da sobrecarga máxima ao longo das 8 semanas de treinamento.	57
Figura 4B. Gráfico do peso corporal.	57
Figura 4C. Gráfico do % de aumento de sobrecarga máxima.	57
Figura 4D. Gráfico do % de aumento de peso corporal.	57
Figura 5. Imagens dos cortes transversais dos músculos sóleo (A) e EDL (B) pré-incubados a um pH de 4,3 e gráfico indicando a proporção entre fibras tipo I e tipo II.	58
Figura 6. Imagens dos cortes transversais dos músculos sóleo (A) e EDL (B) pré-incubados a um pH de 4,55 e gráfico indicando a proporção entre fibras tipo I, IIa e tipo IIb.	59
Figura 7. Expressão relativa de mRNA para BDNF e IGF-1 no córtex motor (A e B) no cerebelo (C e D) e na medula espinal (E e F).	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Seqüências de primers usados para o PCR real time

45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

VO_{2max}	Consumo Máximo de Oxigênio
RM	Repetição máxima
EDL	Músculo extensor digital longo
FHL	Músculo flexor longo do hálux
MHC	Cadeia Pesada de Miosina
CaMK	Proteína quinase dependente de Cálcio/Calmodulina
MAPK	proteína-quinases ativadas por mitógenos
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina
GH	Hormônio do crescimento
mRNA	Ácido ribonucléico mensageiro
cAMP	Monofosfato de adenosina cíclico
CREB	Proteína de ligação responsivo a cAMP
NT	Não-Treinado
T	Treinado
ATPase	Enzima catalizadora do trifosfato de adenosina
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
CT	Threshold cycle: número mínimo de ciclos para amplificação
EPM	Erro padrão da média

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA (Artigo de Revisão)	16
Introdução	19
Metodologia	20
Treinamento de resistência: hipertrofia e aumento de força muscular	20
Treinamento de resistência e adaptações no fenótipo de fibras musculares	22
Adaptações neurais ao treinamento de resistência	24
Considerações Finais	27
3. OBJETIVOS	35
3.1. Objetivo Geral	36
3.2. Objetivos Específicos	36
4. HIPÓTESES	37
5. MATERIAIS E MÉTODOS	39
5.1. Animais	40
5.2. Aparato de treinamento	40
5.3. Protocolo de Treinamento físico	41
5.4. Análise histológica dos músculos	44
5.5. Análise da expressão de genes através de PCR - Real time	45
5.6. Análise estatística	46
6. RESULTADOS (Artigo original)	47
Introdução	50
Materiais e métodos	52
Resultados	56
Discussão	60
Conclusões	64
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
8. REFERÊNCIAS	69
9. ANEXOS	74
Parecer do comitê de ética	75
Normas da Revista Brasileira de Medicina do Esporte	76
Comprovante de submissão do artigo	78

1. APRESENTAÇÃO

1. Apresentação

A neurobiologia do exercício é um campo de conhecimento que tem recebido bastante interesse da comunidade científica. Neste campo tem sido proposto que o treinamento físico pode levar tanto a adaptações musculares quanto a adaptações neurais. O treinamento de resistência (também denominado treinamento de força ou musculação) tem sido utilizado devido ao menor tempo de execução em cada sessão e aos melhores resultados sobre o ganho de força e hipertrofia muscular.

Diferentemente dos modelos de treinamento de resistência em humanos, em modelos de treinamento de resistência em ratos, são utilizados vários grupos musculares ao mesmo tempo por sessão de treinamento, o que repercute em diferentes números de repetições (movimentos realizados para subir a escada), séries (número de subidas), intervalos, número de sessões por semana e na sobrecarga utilizada. Embora haja diferenças entre treinamento de resistência em humanos e em ratos, protocolos de treinamento de resistência para ratos existentes simulam os protocolos de treinamento de resistência em humanos. Dessa forma, o primeiro objetivo deste estudo foi elaborar um protocolo de treinamento de resistência diário para ratos e avaliar o papel deste treinamento de resistência sobre o ganho de força muscular. O ganho de força muscular está relacionado a um aumento na área transversa do músculo e na proporção de fibras musculares tipo II (glicolíticas). Diante disso, avaliamos o papel do treinamento de resistência sobre a proporção de fibras musculares em ratos.

Os estudos que utilizam treinamento de resistência geralmente avaliam apenas o componente muscular do ganho de força. Entretanto pouco se sabe sobre quais adaptações neurais acompanham o treinamento de resistência e quais estruturas motoras podem sofrer tais adaptações. Tem sido proposto que, devido à similaridade entre as rotas moleculares de plasticidade, alterações que possam acontecer no músculo com o aumento da atividade possam também induzir adaptações neurais. Além disso, alterações morfofuncionais no sistema neuromuscular parecem estar relacionadas com a síntese e liberação de fatores neurotróficos. Os principais fatores neurotróficos estudados com o treinamento físico são o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). Assim, neste estudo, também avaliamos a expressão de genes para BDNF e IGF-1 na medula espinal, córtex motor e cerebelo em ratos.

O presente estudo foi realizado no laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, orientado

pelos professores Raul Manhães de Castro e Carol Virgínia Góis Leandro. A revisão de literatura é apresentada no formato de artigo de revisão intitulado: *Plasticidade musculoesquelética e neural: papel do treinamento de resistência*. Submetido a Revista Brasileira de Medicina do Esporte

Os resultados compõem o artigo original: *Efeitos crônicos do treinamento de resistência na morfologia musculoesquelética e expressão de fatores neurotróficos na medula espinal, córtex motor e cerebelo de ratos*.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Título: Plasticidade musculoesquelética e neural: papel do treinamento de resistência.

Short-title: Neuromuscular adaptations and resistance training

Autores: ¹ José Antônio dos Santos, ² Raul Manhães de Castro, ³ Carol Góis Leandro

Afiliação dos autores: ^{1,2}Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento - UFPE; ³ Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte – Centro Acadêmico de Vitória - UFPE

Endereço para correspondência: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Educação Física e Ciências do Esporte, Centro Acadêmico de Vitória - CAV/UFPE. Rua Alto do Reservatório, S/N – Bela Vista. CEP: 55608-680. Vitória de Santo Antão - PE, Brasil. Email: carolleandro22@gmail.com

Resumo

O treinamento de resistência tem sido utilizado como um modelo de hipertrofia musculoesquelética e ganho de força. O aumento na força observado com o treinamento de resistência possui relação com o aumento de massa muscular, com possíveis transições de tipo de fibras musculares e com adaptações neurais. As adaptações morfofuncionais no sistema neuromuscular podem estar relacionadas com a síntese e liberação de fatores neurotróficos. Dessa forma, o objetivo desta revisão é discutir os principais mecanismos envolvidos na plasticidade muscular e neural induzidas pelo treinamento de resistência e apresentar o papel dos fatores neurotróficos. Foram utilizadas as bases de dados Pubmed/Medline, Scielo e Science Direct com publicações entre 2000 e 2012. Os termos de indexação

utilizados foram: physical training; physical exercise; strength training; resistance training; nervous system, muscle e neurotrophic factor. Em conclusão, treinamento de resistência pode induzir hipertrofia e transição de tipo de fibra muscular, entretanto pouco se sabe sobre quais adaptações neurais crônicas acompanham o treinamento de resistência e quais estruturas motoras estão envolvidas.

Palavras-chave: Treinamento de resistência; músculo; sistema nervoso; fatores neurotróficos.

Abstract

Resistance training has been used as a model of muscle hypertrophy and gain of force. The observed increase in strength with resistance training has relation with the increase of muscle mass, with transitions in muscle fiber types and with possible neural adaptations. The morphofunctional adaptations in the neuromuscular system may be related to the synthesis and release of neurotrophic factors. Thus, the objective of this review is to discuss the main mechanisms involved in muscle and neural plasticity induced by resistance training and to present the role of neurotrophic factors. We used the databases PubMed/Medline, Science Direct and SciELO and publications between 2000 and 2012. The indexing terms used were: physical training, physical exercise, strength training, resistance training, nervous system, muscle and neurotrophic factor. In conclusion, resistance training can induce hypertrophy and transition of muscle fiber type, however little is known about the chronic neural adaptations accompany resistance training and what motor structures are involved.

Keywords: Resistance training; muscle fiber; nervous system; neurotrophic factors.

Introdução

Os termos plasticidade muscular e plasticidade neural se referem à habilidade que tanto o sistema muscular quanto o sistema nervoso possuem em se adaptar a diferentes estímulos ambientais alterando sua estrutura e função ⁽¹⁻⁴⁾. Um dos estímulos que pode induzir adaptações musculares e neurais é o treinamento físico ^(5, 6). Em ratos submetidos a uma lesão na medula espinal, um aumento na atividade muscular provocado pelo treinamento físico reverte os efeitos da lesão sobre a atrofia muscular e sobre marcadores de plasticidade sináptica tais como sinaptofisina PSD-95 ⁽³⁾. Em outro estudo, Ilha et al ⁽⁵⁾ demonstraram que o treinamento físico aumenta a mielinização no sistema nervoso periférico. Em humanos, Aagaard et al ⁽⁷⁾ observaram um aumento na excitabilidade periférica induzidos pelo treinamento físico. Um dos mecanismos propostos para as alterações morfofuncionais induzidas pelo treinamento físico no sistema neuromuscular é a síntese e a liberação de fatores neurotróficos ⁽²⁾.

A liberação de fatores neurotróficos e a transição do tipo de fibras musculares, estimuladas pelo treinamento físico, envolvem rotas similares dependentes da sinalização do Ca^{2+} intracelular ⁽⁸⁻¹⁰⁾. Entretanto, as adaptações neuromusculares dependem do tipo, intensidade e frequência do treinamento físico ^(7, 11). Diversos modelos de treinamento têm sido utilizados para induzir alterações no sistema muscular ⁽¹¹⁻¹³⁾. Dentre estes, o modelo de treinamento de resistência pode ser utilizado como um modelo de hipertrofia muscular e transição do tipo de fibras ^(6, 11). Muito tem sido estudado sobre as alterações musculares ao treinamento de resistência ^(6, 11, 13). Entretanto, pouco se sabe sobre quais adaptações neurais crônicas acompanham o treinamento de resistência e quais estruturas motoras estão envolvidas. Dessa forma, o objetivo da presente revisão é discutir os principais

mecanismos envolvidos na plasticidade muscular e neural induzidas pelo treinamento de resistência e apresentar o papel dos fatores neurotróficos sobre estes mecanismos.

Metodologia

Para realização desta revisão, foram utilizadas as bases de dados Pubmed/Medline, Scielo e Science Direct. Os termos de indexação utilizados foram: physical training; physical exercise; strength training; resistance training; nervous system, muscle e neurotrophic factor. Foram priorizados os artigos publicados entre os anos de 2000 e 2012. Quando pertinente, foram selecionados estudos contidos na referência bibliográfica dos artigos selecionados para critério de discussão.

Treinamento de resistência: hipertrofia e aumento de força muscular

Atividade física, exercício físico e treinamento físico são termos que compreendem conceitos diferentes na área das ciências do esporte ^(14, 15). Atividade física refere a qualquer movimento corporal que demande um gasto energético acima do valor basal ⁽¹⁴⁾. O exercício físico é uma forma de atividade física que leva em consideração alguns parâmetros como: frequência, intensidade, duração e o tipo do exercício ⁽¹⁵⁾. O tipo de exercício físico está associado às variáveis de aptidão física relacionadas à saúde e ao rendimento esportivo. Assim, o exercício físico pode ser classificado como: 1) aeróbio ou anaeróbio [leva em consideração variáveis fisiológicas como: frequência cardíaca máxima, níveis sanguíneos de lactato e o consumo máximo de oxigênio (VO₂max)]; 2) flexibilidade, agilidade, velocidade e força (leva em consideração a aplicação de testes máximos de desempenho físico). Os exercícios de força são também chamados de resistência.

O exercício de resistência é caracterizado pela aplicação de uma sobrecarga progressiva sobre o corpo ^(16, 17). Os ajustes de intensidade no exercício de resistência podem ser dados na velocidade de execução, nos intervalos entre as séries e sessões por semana e na sobrecarga máxima utilizada ^(17, 18). A sobrecarga máxima pode ser determinada em testes de uma repetição máxima (1RM, carga máxima levantada em uma repetição) para ajustes na sobrecarga da sessão de exercício. Exercícios de resistência com sobrecargas entre 15 % e 60 % de 1RM têm sido referenciados como leve ^(11, 17) enquanto exercícios de resistência com sobrecarga acima de 70% 1RM têm sido referenciados como intensos ^(6, 16, 17). Se o exercício físico for realizado regularmente é denominado treinamento físico e também pode ser classificado como leve, moderado ou intenso ⁽¹⁵⁾.

No treinamento de resistência diversas variações de sobrecarga têm sido utilizadas para diferentes objetivos ^(11, 19). Em ratos, com o objetivo de causar hipertrofia e aumentar a força muscular, Hornberger e Farrar ⁽⁶⁾ e Lee et al ⁽²⁰⁾ utilizaram sobrecarga de alta intensidade e menor número de repetições (8 repetições). Em humanos, Campos et al ⁽¹¹⁾ utilizaram sobrecargas de intensidade leve e alto número de repetições (28 repetições) e observaram aumento na resistência muscular. Os ajustes de sobrecarga durante o treinamento de resistência podem ser feitos em cada sessão de treinamento ou semanalmente e variam de acordo com o objetivo e modelo de treinamento utilizado ^(11, 18, 21, 22).

Diversos modelos de treinamento de resistência em humanos e em animais têm sido utilizados e produzem resultados similares sobre a hipertrofia muscular e sobre o ganho de força muscular ^(11, 23). Em humanos, treinamento de resistência (levantamento de peso, 9 a 11 repetições com 60% de 1RM, 3 vezes por semana durante 8 semanas) aumentou a área transversal do músculo vasto lateral e a

sobrecarga máxima que é um indicador de aumento de força muscular ⁽¹¹⁾. Em ratos, um modelo de treinamento de resistência de levantamento de peso (10 repetições a 75% de 1RM, 3 vezes por semana por 12 semanas) aumentou a sobrecarga máxima e não alterou a massa muscular da pata posterior ⁽²³⁾. Duncan et al ⁽¹⁹⁾ submeteram ratos a 26 semanas de subida em escada (com aumento progressivo de sobrecarga presa na cauda) e observaram aumento na sobrecarga e aumento na massa dos músculos sóleo e extensor digital longo (EDL). Utilizando um protocolo de treinamento de resistência similar (subida em escada, 3 vezes por semana com 50%, 75%, 90% e 100% da sobrecarga máxima), Hornberger e Farrar ⁽⁶⁾ observaram que apenas 8 semanas de treinamento foi suficiente para aumentar a força e causar hipertrofia no músculo flexor longo do hálux (FHL). O aumento na força observado com o treinamento de resistência pode estar relacionado com o aumento de massa muscular ⁽⁶⁾, com possíveis transições nos tipos de fibra muscular ⁽¹¹⁾ e com adaptações neurais ⁽⁷⁾.

Treinamento de resistência e adaptações no tipo de fibras musculares

Além de estar relacionada com a área transversa do músculo, a força também tem correlação com o tipo de fibra muscular ⁽²⁴⁻²⁶⁾. A produção de força é maior em fibras musculares tipo IIb e IIa que em fibras tipo I ⁽²⁷⁾. Fibras musculares tipo I (oxidativas) são mais resistentes para a produção de movimentos que exigem menor produção de força, mas com longa duração, que são necessárias para a manutenção do controle da postura ^(27, 28). Fibras musculares tipo IIb (glicolíticas) e IIa (oxidativas-glicolíticas) são recrutadas para a produção de movimentos rápidos e fortes necessários no treinamento de resistência ^(25, 26).

O treinamento de resistência pode levar a adaptações no tipo de fibra muscular a depender da intensidade do estímulo ^(6, 11, 22). Em humanos, treinamento de resistência (9 a 11 repetições com 60% de 1RM, 3 vezes por semana durante 8 semanas) aumentou a proporção de fibras tipo IIa e diminuiu a proporção de fibras tipo IIb ⁽¹¹⁾. Roy et al ⁽²⁹⁾ submeteram ratos a um protocolo de treinamento de resistência (levantamento de peso, 3 sessões por semana, durante 8 semanas) e não observaram alterações na proporção entre fibras tipo I e II no músculo adutor longo. Hornberger e Farrar ⁽⁶⁾ analisaram a composição da cadeia pesada de miosina (MHC) do músculo FHL de animais submetidos a um treinamento de resistência em escada e não observaram alterações na proporção dos tipos de fibras. Por outro lado, Lee et al ⁽²²⁾ utilizando o mesmo protocolo de treinamento e o mesmo músculo, observaram um aumento na proporção de MHCIIa. Embora os resultados sejam controversos, parece haver uma maior facilidade das fibras tipo IIa e IIb em alterarem seu fenótipo ^(11, 22).

Um dos mecanismos propostos para a transição do tipo de fibra muscular é a rota ativada pelo Ca^{2+} intracelular que é aumentada pela atividade muscular e parece ser mais sensível em fibras tipo IIa (figura 1) ^(30, 31). Estimulação elétrica crônica do músculo esquelético resulta em contínua elevação da concentração de Ca^{2+} intracelular livre em concentração suficiente para ativar as enzimas reguladas por este, tais como a proteína quinase dependente de Ca^{2+} /Calmodulina (CaMK) e a calcineurina ^(32, 33). Prolongada atividade contrátil, caracterizada pela baixa amplitude e contínua elevação na concentração de Ca^{2+} (predominante nas fibras de contração lenta) leva a um aumento na atividade da calcineurina ⁽³⁰⁾, uma proteína fosfatase ativada pelo Ca^{2+} envolvida no desenvolvimento muscular (figura 1) ⁽³⁴⁾.

A CaMK age sinergicamente com a calcineurina ativando a expressão de genes específicos das fibras lentas oxidativas (figura 1) ⁽³⁵⁾. Em humanos, Rose et al ⁽⁸⁾ observaram um aumento na expressão de CaMK após uma sessão de exercício físico em ciclo ergômetro (90 minutos a 85% do VO₂max). Em ratos, exercício físico (natação, 3 sessões de 17 minutos, com sobrecarga de 5% do peso corporal) aumentou a fosforilação da CaMK ⁽³⁶⁾. Tais alterações na concentração de Ca²⁺ e em suas rotas efetoras dependem tanto das características intrínsecas da fibra muscular, tais como velocidade de contração e produção de força, quanto da frequência de potencial de ação produzida pelo neurônio motor ^(31, 37).

Adaptações neurais ao treinamento de resistência

Adaptações musculares e neurais parecem ser interdependentes e são influenciadas pelo treinamento físico ^(3, 5, 6, 38). Em ratos que foram submetidos a uma lesão na coluna, o treinamento físico (corrida em esteira, 6-12 m/min, 5 dias/semana) foi capaz de reverter os efeitos da lesão sobre a atrofia muscular e sobre marcadores de plasticidade sináptica ⁽³⁾. Em humanos, treinamento de resistência (3 vezes por semana, durante 14 semanas, com aumento progressivo da sobrecarga) aumentou a excitabilidade neural periférica ⁽⁷⁾. Este aumento na excitabilidade neural pode estar relacionado a alterações na bainha de mielina induzidas pelo treinamento físico ⁽⁵⁾. De fato, o treinamento físico (corrida em esteira 5 dias/semana, 20 a 60 min/dia, 30% a 55% da velocidade máxima, durante 5 semanas) também pode aumentar a mielinização em ratos submetidos a uma lesão no nervo ciático ⁽⁵⁾. Um dos mecanismos propostos para as alterações morfofuncionais no sistema nervoso é a liberação de fatores neurotróficos tais como

o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) ⁽²⁾.

O IGF-1 é um fator de crescimento de diversos tecidos inclusive do tecido neuronal ⁽³⁹⁾. Em cultura de células, Brooker et al ⁽³⁹⁾ demonstraram que concentrações crescentes de IGF-1 aumenta a proliferação neuronal. O IGF-1 é produzido principalmente no fígado pela ação do hormônio do crescimento (GH), entretanto pode ser produzido por outras células tais como neurônios e células da glia ^(40, 41). Rotwein et al ⁽⁴²⁾ observaram que, embora a concentração de mRNA para IGF-1 seja maior no fígado, estruturas como a medula espinal e o cerebelo apresentam elevada expressão deste gene principalmente pelas células da glia. O BDNF é o principal membro da família das neurotrofinas que exerce influência na sobrevivência, diferenciação e na plasticidade neuronal ^(43, 44). O BDNF, além de atuar na potenciação sináptica, sua liberação é regulada pela própria atividade neuronal ⁽¹⁰⁾. Tanto a liberação de BDNF quanto de IGF-1 pode ser estimulada pela atividade física ⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾.

A prática de atividade física pode aumentar a liberação de fatores neurotróficos no sistema nervoso ⁽⁴⁷⁾. Em um estudo com ratos, Neeper et al ⁽⁴⁷⁾ observaram que a atividade física (corrida voluntária em ciclo-ergômetro durante 7 dias) pode aumentar a concentração de RNAm para BDNF no hipocampo imediatamente após a atividade física. Carro et al ⁽⁴⁵⁾ avaliaram o efeito agudo de uma sessão de exercício físico e observaram aumento na concentração de IGF-1 no encéfalo. Em um estudo com humanos, Seifert et al ⁽⁴⁶⁾ observaram que o treinamento físico (corrida em bicicleta 60min/dia a 65% do VO₂max) aumenta a liberação de BDNF no encéfalo logo após a última sessão de treinamento. Embora muito tenha sido estudado a respeito do papel do treinamento físico sobre a

expressão de fatores neurotróficos, pouco se sabe sobre quais estruturas motoras ocorrem às adaptações neurais induzidas pelo treinamento físico.

Os mecanismos envolvidos no aumento da liberação de fatores neurotróficos induzidos pelo treinamento físico ainda são pouco entendidos. Entretanto, assim como nos mecanismos de plasticidade muscular, rotas envolvendo o influxo de Ca^{2+} estimulados pela atividade neural parecem estar associados tanto com a regulação da expressão de genes da proteína de ligação responsivo a cAMP (CREB), quanto com a liberação do próprio fator neurotrófico pelo neurônio (figura 1) ^(9, 10). Um aumento da atividade neural, induzida pelo treinamento físico, pode resultar em um aumento no influxo de Ca^{2+} intracelular e conseqüentemente no aumento da expressão de genes CREB no neurônio ⁽¹⁰⁾. Uma particularidade com relação ao BDNF é que este pode agir modulando tanto a transcrição de seu gene como sua própria síntese em um loop de auto-regulação que pode permanecer mesmo depois do efeito agudo do exercício físico ⁽¹⁰⁾ (figura 1).

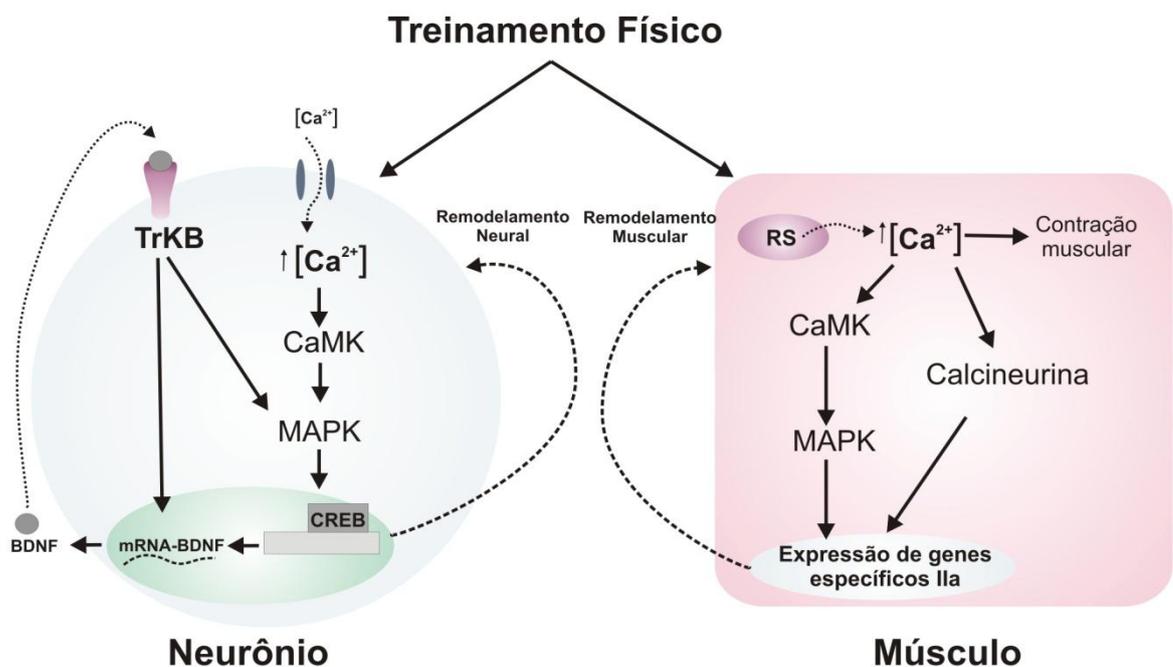


Figura 1. Mecanismos envolvidos na transição de tipo de fibras e na síntese e liberação de fatores neurotróficos (o BDNF usado como exemplo central). No sistema nervoso, o treinamento físico pode aumentar a entrada de Ca^{2+} . O aumento na concentração de Ca^{2+} intracelular estimula rotas ativadas pela proteína quinase dependente de Ca^{2+} /Calmodulina (CaMK) e cascata de sinalização via das Proteína-quinases ativadas por mitógenos (MAPK). Esta cascata de sinalização regula a expressão de genes da proteína de ligação responsivo a cAMP (CREB) e aumenta a expressão de mRNA para o BDNF. Este sinaliza a célula via receptor tirosina-quinase B (TrKB) estimulando a transcrição de seu gene e o remodelamento neural. No músculo, o Ca^{2+} liberado do retículo sarcoplasmático (RS), é utilizado na contração muscular e estimula a CaMK que age sinergicamente com a calcineurina ativando a expressão de genes específicos das fibras lentas oxidativas

Considerações finais

Muito tem sido estudado a respeito do papel do treinamento de resistência sobre o músculo, entretanto as adaptações neurais ao treinamento de resistência ainda são inconclusivos. Além disso, mesmo existindo a influência mútua entre o músculo e o sistema nervoso, os estudos que apresentam tanto as adaptações musculares quanto as adaptações neurais induzidas pelo treinamento físico são escassos na literatura. Dessa forma, os estudos ou apresentam as adaptações neurais ou apresentam as adaptações musculares. Além disso, são poucos os estudos que trazem a estrutura do sistema nervoso onde pode haver adaptação. Quando isto acontece, as avaliações parecem ser feitas logo após a última sessão de treinamento e os efeitos crônicos do treinamento físico parecem se confundir com os efeitos agudos da sessão de treinamento.

Os estudos têm focado no hipocampo como principal sítio neurogênico influenciado pelo treinamento físico. Pouco tem sido estudado sobre quais adaptações podem ocorrer em estruturas envolvidas com o controle motor do movimento. Por exemplo, o cerebelo é uma importante estrutura de controle

involuntário do movimento, é um importante sítio neurogênico pós-natal, porém muito pouco estudado na área de neurobiologia do exercício.

A síntese e liberação de fatores neurotróficos são apresentadas como os principais moduladores das adaptações morfofuncionais induzidas pelo treinamento físico. Interessantemente, tanto a síntese de fatores neurotróficos quanto a transição do tipo de fibra muscular envolvem mecanismos similares influenciados pelo treinamento físico. Diante disso, sugerimos que o treinamento físico de resistência, além de aumentar a proporção de fibras musculares de força (fibras tipo II) pode aumentar a expressão de fatores neurotróficos em estruturas motoras, tais como medula espinal, córtex motor e cerebelo.

Referências

1. Knaepen K, Goekint M, Heyman EM, Meeusen aR. Neuroplasticity – Exercise-Induced Response of Peripheral Brain-Derived Neurotrophic Factor. *Sports Med* 2010. 2010;40(9):765-801.
2. Harridge SD. Plasticity of human skeletal muscle: gene expression to in vivo function. *Exp Physiol*. 2007;92(5):783-97. Epub 2007/07/17.
3. Goldshmit Y, Lythgo N, Galea MP, Turnley AM. Treadmill training after spinal cord hemisection in mice promotes axonal sprouting and synapse formation and improves motor recovery. *J Neurotrauma*. 2008;25(5):449-65. Epub 2008/03/21.
4. Deschenes MR, Judelson DA, Kraemer WJ, Meskaitis VJ, Volek JS, Nindl BC, et al. Effects of resistance training on neuromuscular junction morphology. *Muscle Nerve*. 2000;23(10):1576-81. Epub 2000/09/26.
5. Ilha J, Araujo RT, Malysz T, Hermel EE, Rigon P, Xavier LL, et al. Endurance and resistance exercise training programs elicit specific effects on sciatic nerve

- regeneration after experimental traumatic lesion in rats. *Neurorehabil Neural Repair*. 2008;22(4):355-66. Epub 2008/03/11.
6. Hornberger TA, Jr., Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol*. 2004;29(1):16-31. Epub 2004/03/06.
 7. AAGAARD P, SIMONSEN EB, ANDERSEN JL, MAGNUSSON P, DYHRE-POULSEN P. Neural adaptation to resistance training: changes in evoked V-wave and H-reflex responses. *J Appl Physiol*. 2002;92:2309-18.
 8. Rose AJ, Kiens B, Richter EA. Ca²⁺-calmodulin-dependent protein kinase expression and signalling in skeletal muscle during exercise. *J Physiol*. 2006;574(Pt 3):889-903. Epub 2006/05/13.
 9. Tsuda M. Cascade of gene expression induced by Ca²⁺ signals in neurons. *Neurochem Int*. 1996;29(5):443-51. Epub 1996/11/01.
 10. Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Interplay between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. *Neuroscience*. 2003;122(3):647-57. Epub 2003/11/19.
 11. Campos GE, Luecke TJ, Wendeln HK, Toma K, Hagerman FC, Murray TF, et al. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. *Eur J Appl Physiol*. 2002;88(1-2):50-60. Epub 2002/11/19.
 12. Leandro CG, da Silva Ribeiro W, Dos Santos JA, Bento-Santos A, Lima-Coelho CH, Falcao-Tebas F, et al. Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. *Eur J Nutr*. 2011. Epub 2011/11/01.

13. Goto K, Nagasawa M, Yanagisawa O, Kizuka T, Ishii N, Takamatsu K. Muscular adaptations to combinations of high- and low-intensity resistance exercises. *J Strength Cond Res.* 2004;18(4):730-7. Epub 2004/12/03.
14. Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep.* 1985;100(2):126-31. Epub 1985/03/01.
15. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhaes-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res.* 2007;21(3):751-6. Epub 2007/08/10.
16. Kraemer WJ, Hatfield DL, Spiering BA, Vingren JL, Fragala MS, Ho JY, et al. Effects of a multi-nutrient supplement on exercise performance and hormonal responses to resistance exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2007;101(5):637-46. Epub 2007/08/19.
17. Holm L, Reitelseder S, Pedersen TG, Doessing S, Petersen SG, Flyvbjerg A, et al. Changes in muscle size and MHC composition in response to resistance exercise with heavy and light loading intensity. *J Appl Physiol.* 2008;105(5):1454-61. Epub 2008/09/13.
18. Kraemer WJ, Adams K, Cafarelli E, Dudley GA, Dooly C, Feigenbaum MS, et al. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34(2):364-80. Epub 2002/02/06.
19. Duncan ND, Williams DA, Lynch GS. Adaptations in rat skeletal muscle following long-term resistance exercise training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1998;77(4):372-8. Epub 1998/04/30.

20. Lee KH, Calikoglu AS, Ye P, D'Ercole AJ. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) ameliorates and IGF binding protein-1 (IGFBP-1) exacerbates the effects of undernutrition on brain growth during early postnatal life: studies in IGF-I and IGFBP-1 transgenic mice. *Pediatr Res.* 1999;45(3):331-6. Epub 1999/03/24.
21. Godfrey JK, Kayser BD, Gomez GV, Bennett J, Jaque SV, Sumida KD. Interrupted resistance training and BMD in growing rats. *Int J Sports Med.* 2009;30(8):579-84. Epub 2009/04/22.
22. Lee S, Barton ER, Sweeney HL, Farrar RP. Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. *J Appl Physiol.* 2004;96(3):1097-104. Epub 2004/02/10.
23. Krisan AD, Collins DE, Crain AM, Kwong CC, Singh MK, Bernard JR, et al. Resistance training enhances components of the insulin signaling cascade in normal and high-fat-fed rodent skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2004;96(5):1691-700. Epub 2004/01/07.
24. Finer JT, Simmons RM, Spudich JA. Single myosin molecule mechanics: piconewton forces and nanometre steps. *Nature.* 1994;368(6467):113-9. Epub 1994/03/10.
25. Griffin L, Cafarelli E. Resistance training: cortical, spinal, and motor unit adaptations. *Can J Appl Physiol.* 2005;30(3):328-40. Epub 2005/09/01.
26. Trappe S, Gallagher P, Harber M, Carrithers J, Fluckey J, Trappe T. Single muscle fibre contractile properties in young and old men and women. *J Physiol.* 2003;552(Pt 1):47-58. Epub 2003/07/03.
27. Bottinelli R, Canepari M, Pellegrino MA, Reggiani C. Force-velocity properties of human skeletal muscle fibres: myosin heavy chain isoform and temperature dependence. *J Physiol.* 1996;495 (Pt 2):573-86. Epub 1996/09/01.

28. Kernell D. Principles of force gradation in skeletal muscles. *Neural Plast.* 2003;10(1-2):69-76. Epub 2003/12/03.
29. Roy RR, Wilson R, Edgerton VR. Architectural and mechanical properties of the rat adductor longus: response to weight-lifting training. *Anat Rec.* 1997;247(2):170-8. Epub 1997/02/01.
30. Banzet S, Koulmann N, Simler N, Birot O, Sanchez H, Chapot R, et al. Fibre-type specificity of interleukin-6 gene transcription during muscle contraction in rat: association with calcineurin activity. *J Physiol.* 2005;566(Pt 3):839-47. Epub 2005/05/21.

Spangenburg EE, Booth FW. Molecular regulation of individual skeletal muscle fibre types. *Acta Physiol Scand.* 2003;178(4):413-24. Epub 2003/07/17.
31. Chin ER, Olson EN, Richardson JA, Yang Q, Humphries C, Shelton JM, et al. A calcineurin-dependent transcriptional pathway controls skeletal muscle fiber type. *Genes Dev.* 1998;12(16):2499-509. Epub 1998/08/26.
32. Alevizopoulos A, Dusserre Y, Ruegg U, Mermod N. Regulation of the transforming growth factor beta-responsive transcription factor CTF-1 by calcineurin and calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV. *J Biol Chem.* 1997;272(38):23597-605. Epub 1997/09/20.
33. Bassel-Duby R, Olson EN. Role of calcineurin in striated muscle: development, adaptation, and disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;311(4):1133-41. Epub 2003/11/19.
34. Wu H, Kanatous SB, Thurmond FA, Gallardo T, Isotani E, Bassel-Duby R, et al. Regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by CaMK. *Science.* 2002;296(5566):349-52. Epub 2002/04/16.

35. Smith JA, Kohn TA, Chetty AK, Ojuka EO. CaMK activation during exercise is required for histone hyperacetylation and MEF2A binding at the MEF2 site on the Glut4 gene. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008;295(3):E698-704. Epub 2008/07/24.
36. Toigo M, Boutellier U. New fundamental resistance exercise determinants of molecular and cellular muscle adaptations. *Eur J Appl Physiol.* 2006;97(6):643-63. Epub 2006/07/18.
37. Funakoshi H, Belluardo N, Arenas E, Yamamoto Y, Casabona A, Persson H, et al. Muscle-derived neurotrophin-4 as an activity-dependent trophic signal for adult motor neurons. *Science.* 1995;268(5216):1495-9. Epub 1995/06/09.
38. Brooker GJ, Kalloniatis M, Russo VC, Murphy M, Werther GA, Bartlett PF. Endogenous IGF-1 regulates the neuronal differentiation of adult stem cells. *J Neurosci Res.* 2000;59(3):332-41. Epub 2000/02/19.
39. Daftary SS, Gore AC. IGF-1 in the brain as a regulator of reproductive neuroendocrine function. *Exp Biol Med (Maywood).* 2005;230(5):292-306. Epub 2005/04/28.
40. O'Sullivan DC, Szestak TA, Pell JM. Regulation of IGF-I mRNA by GH: putative functions for class 1 and 2 message. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;283(2):E251-8. Epub 2002/07/12.
41. Rotwein P, Burgess SK, Milbrandt JD, Krause JE. Differential expression of insulin-like growth factor genes in rat central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988;85(1):265-9. Epub 1988/01/01.
42. Gorski JA, Zeiler SR, Tamowski S, Jones KR. Brain-derived neurotrophic factor is required for the maintenance of cortical dendrites. *J Neurosci.* 2003;23(17):6856-65. Epub 2003/08/02.

43. Caldeira MV, Melo CV, Pereira DB, Carvalho RF, Carvalho AL, Duarte CB. BDNF regulates the expression and traffic of NMDA receptors in cultured hippocampal neurons. *Mol Cell Neurosci*. 2007;35(2):208-19. Epub 2007/04/13.
44. Carro E, Nunez A, Busiguina S, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain. *J Neurosci*. 2000;20(8):2926-33. Epub 2001/02/07.
45. Seifert T, Brassard P, Wissenberg M, Rasmussen P, Nordby P, Stallknecht B, et al. Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010;298:R372–R7.
46. Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res*. 1996;726(1-2):49-56. Epub 1996/07/08.

3. OBJETIVOS

3. Objetivos

3.1. Geral

Avaliar os efeitos do treinamento físico de resistência sobre a morfologia de fibras musculares e sobre a expressão gênica de fatores neurotróficos no sistema nervoso central.

3.2. Específicos:

- Montar um protocolo de treinamento físico de resistência em escada para ratos Wistar;
- Avaliar os efeitos do treinamento físico de resistência:
- Sobre a proporção de fibras musculares (tipo I, IIa e IIb) nos músculos sóleo e EDL;
 - Sobre a expressão de BDNF no córtex motor, medula e cerebelo.
 - Sobre a expressão de genes para IGF-1 no córtex motor, medula e cerebelo.

4. HIPÓTESES

4. Hipóteses

O treinamento físico de resistência diário em ratos:

- Aumenta a proporção de fibras musculares tipo II;
- Aumenta a proporção de fibras musculares do subtipo IIa;
- Aumenta a expressão de genes para BDNF no córtex motor, na medula espinal e no cerebelo;
- Aumenta a expressão de genes para IGF-1 no córtex motor, na medula espinal e no cerebelo;

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Animais

Foram utilizados 31 ratos machos Wistar (peso corporal 267.32 ± 36.74 g, idade 65 ± 5 dias) do Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais foram mantidos em biotério de ciclo claro escuro invertido de 12 h/12 h (luz ligada às 18hs) com temperatura controlada de $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Todas as manipulações foram realizadas durante o ciclo escuro. Alimentação e água foram providas *ad libitum*. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Não-Treinado (NT, n=13) e treinado (T, n=18). Animais do grupo T foram submetidos a um protocolo de treinamento físico de resistência diário, 5 dias por semana, durante 8 semanas. O peso corporal de todos os ratos foi acompanhado diariamente (balança digital Marte[®], modelo S-4000, com sensibilidade de 0,1g). Aos 123 ± 5 dias, 48 horas após a última sessão de treinamento, os animais foram sacrificados. Todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética em experimentação animal da Universidade Federal de Pernambuco (Protocolo: 23076.005155/2009-09) e seguiu as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) para uso e cuidado de animais de laboratório.

5.2. Aparato de treinamento

Hornberger e Farrar (2004) utilizaram um aparato para realizar treinamento de resistência em ratos machos Sprague-Dawley. No presente estudo foram feitas algumas adaptações no aparato de treinamento descrito por Hornberger e Farrar (2004). O **aparato de treinamento** consistiu de uma escada, com 132 cm e 87 degraus metálicos. A angulação do aparato é regulável e foi mantida em 70° entre a base da escada e o solo (Figura 1A). Os animais deveriam percorrer a extensão da escada com uma sobrecarga progressiva em sua cauda. O suporte para fixar a carga na cauda do rato consistiu em uma fita para fixação (formada por uma fita semi-elástica com uma presilha na ponta) e um recipiente cilíndrico onde as cargas eram colocadas (Figura 1B). A fita para fixação foi cuidadosamente fixada na porção proximal da cauda com esparadrapo. Foi considerado um número máximo de 10 subidas devido ao tempo médio para efetuar a 10^a subida ser 3 vezes maior ($15,2 \pm 1,68$ segundos) que o tempo necessário para efetuar a primeira subida ($5,2 \pm 0,54$ segundos).

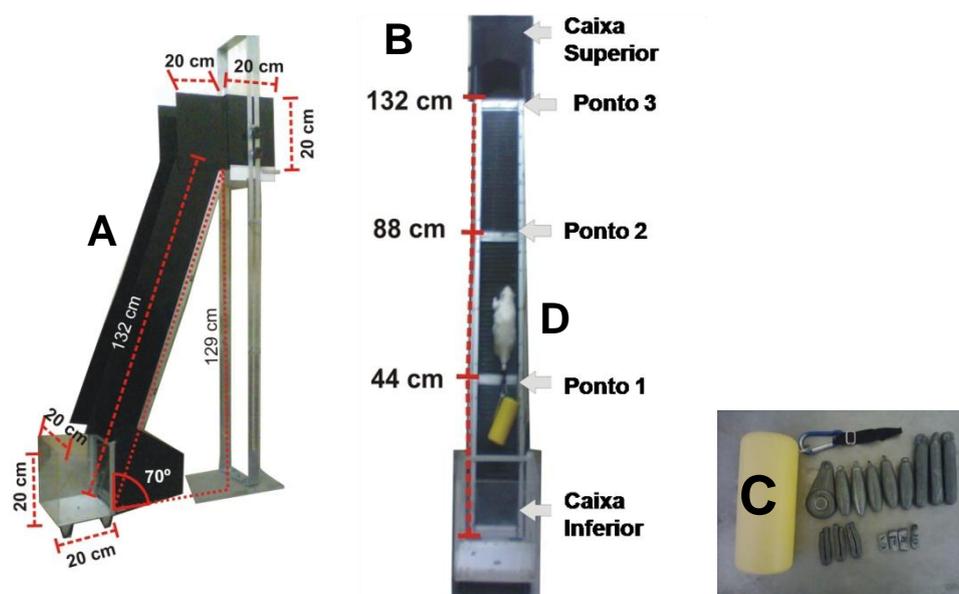


Figure 2. (A) Visão lateral do aparato de treinamento (uma escada com altura: 129cm; largura: 20cm; comprimento: 132cm; com 87 degraus e 1 cm entre os degraus). (B) Visão frontal do aparato de treinamento, descrição dos pontos onde o rato era colocado (caixa inferior transparente, ponto 1 a 44 cm da base, ponto 2 a 88 cm da base, ponto 3 a 132cm da base e caixa superior escura). (C) O suporte para fixação de carga consistiu de uma fita para fixação (formada por uma fita semi-elástica com uma presilha na ponta) e um recipiente onde as cargas eram colocadas. A fita era cuidadosamente fixada na porção proximal da cauda dos ratos com esparadrapo. (D) Rato subindo a escada com sobrecarga fixa em sua cauda.

5.3. Protocolo de Treinamento físico

Antes da divisão dos grupos C e T, todos os animais foram submetidos à **adaptação ao aparato de treinamento** durante 5 dias (figura 2). O estímulo usado para os ratos subirem a escada foi um leve toque com a ponta dos dedos na região dorsal do animal entre as patas posteriores. A **adaptação ao aparato de treinamento** foi feito durante 5 dias. No primeiro dia o animal foi inicialmente colocado na caixa inferior, em seguida colocado no ponto 1 (44 cm da base) durante 30 segundos. A seguir, colocado no ponto 2 (88 cm da base), colocado no ponto 3 localizado no topo do aparato e nas demais subidas o animal foi colocado no ponto 1. Nos dias 2 e 3, os animais foram colocados para realizar as 10 subidas a partir do ponto 1. No 4º dia de adaptação, os animais eram colocados no ponto 1 e realizaram 10 subidas com o recipiente de carga vazio fixado na parte proximal da cauda. No último dia de adaptação os animais subiram 10 vezes, a partir do ponto 1, com uma sobrecarga de 10% do peso corporal no recipiente de carga.

Quarenta e oito horas após o período de adaptação, todos os animais de ambos os grupos foram submetidos a um **teste de capacidade de carregamento máximo**, para estimar

a sobrecarga máxima e acompanhar o ganho de força ao longo das semanas de treinamento. No primeiro teste de capacidade de carregamento máximo, os ratos subiram inicialmente com uma sobrecarga de 75% do seu peso corporal (HORNBERGER e FARRAR, 2004). Foi considerada uma subida com sucesso, a realizada em um período inferior a 40 segundos e sem que o animal soltasse a escada. Caso contrário foi considerado uma tentativa falha. Após cada subida de sucesso foi adicionado 30 gramas na sobrecarga até o animal realizar uma tentativa falha. Após 3 falhas consecutivas, a última sobrecarga com a qual o animal conseguiu subir, foi registrada e considerada como máxima. Na determinação da capacidade de carregamento máxima das semanas subseqüentes, as primeiras subidas foram feitas com 80% e 100% da sobrecarga máxima da semana anterior e em seguida adicionados 30 gramas seguindo as indicações anteriormente referidas. Os intervalos entre as subidas, em todos os testes de capacidade de carregamento máximo, foram mantidos em 120 segundos.

De acordo com a sobrecarga máxima individual, os ratos do grupo treinado foram submetidos a um protocolo de **treinamento físico de força**, 7 a 10 subidas por dia, 5 dias por semana, durante 8 semanas com aumento progressivo de sobrecarga (figura 2). O comprimento da escada permite em torno de 10 a 16 movimentos alternados por subida. Cada sessão de treinamento iniciou com uma carga correspondente a 30%, 50% e subidas subseqüentes a 80% da capacidade de carregamento máxima individual (totalizando 10 subidas). O tempo de descanso entre as subidas foi mantido em 90 segundos. As sessões de treinamento e os testes de capacidade de carregamento máximo iniciaram 2 horas após o início do ciclo escuro.

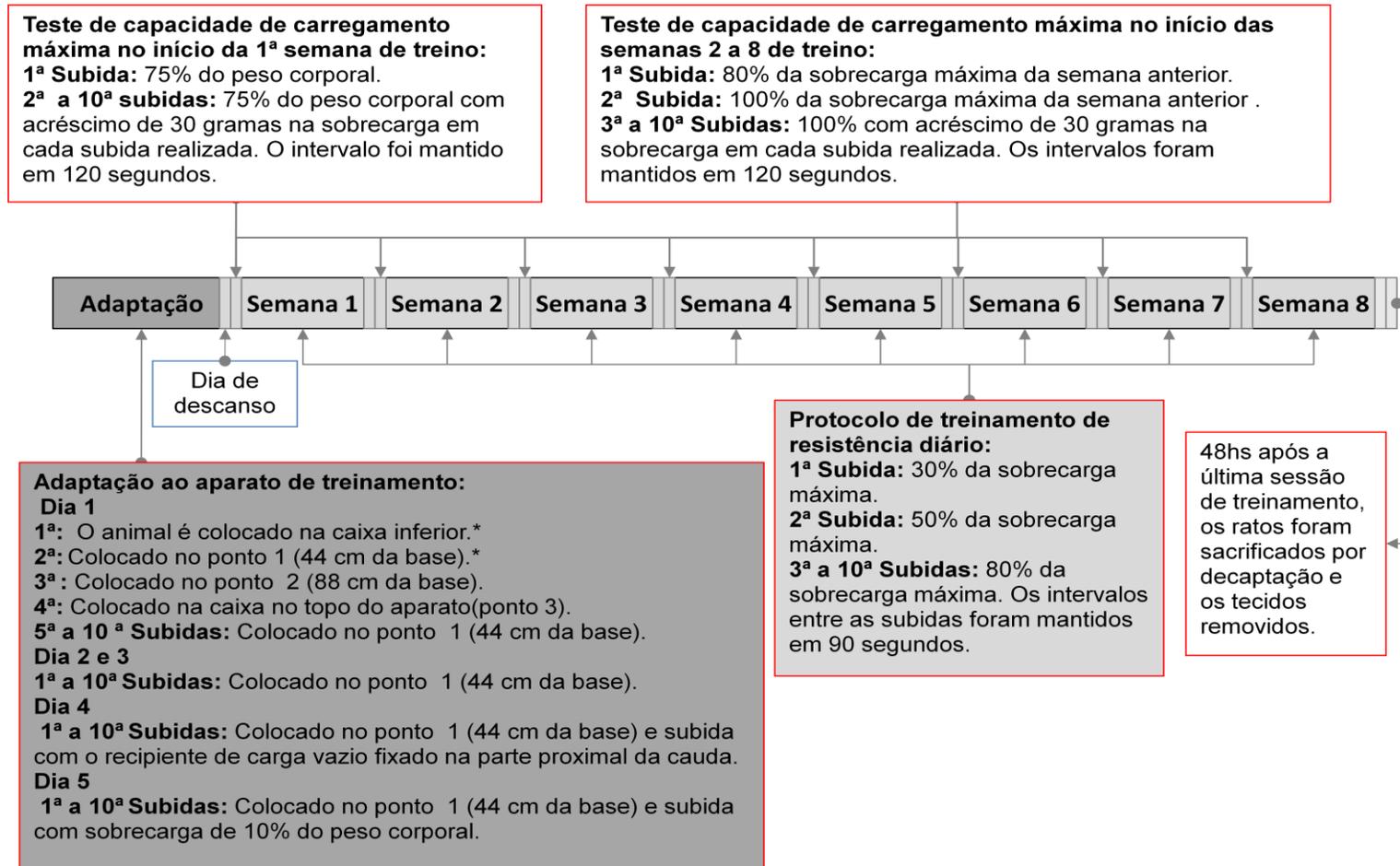


Figura 3. Desenho experimental do protocolo de treinamento de resistência. Todos os ratos foram submetidos a adaptação ao aparato de treinamento na semana inicial. No dia 1 de cada semana foi feita a determinação da capacidade de carregamento máxima individual para a montagem do protocolo de treinamento físico de força. 48 horas após a última sessão de treinamento os ratos foram sacrificados e seus tecidos coletados para análises *A descrição do aparato de treinamento está apresentado na Figura 1.

5.4. Análise histológica dos músculos

Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento físico os ratos foram decapitados para retirada dos tecidos. Para análises histológicas foram utilizados os músculos sóleo (n=6) e extensor digital longo (EDL, n=6). Após incisão na face lateral das patas posteriores, os músculos sóleo e EDL foram dissecados e seccionados nos tendões para análises histológicas. Para uso histológico os músculos foram imersos em N-Hexano (C₆H₁₄) a baixa temperatura e congelado a -80°C até serem analisados.

Para obtenção de coloração característica da atividade ATPase da miosina foi utilizado o método proposto por Brooke e Kaiser (1970). Os músculos foram mantidos em suporte com a utilização do *TissueTek® O.C.T Compound* (Sakura Finetek USA, Inc., Torrance, CA 9050 U.S.A.), que é utilizado após a fixação do tecido e antes da criosecção e foram mantidos a -15±2°C. Para as secções transversais dos músculos (10µm), foi utilizado um criostato (LEICA modelo CM1100, Nussloch - Alemanha). Os cortes foram fixados em lâminas e ao atingirem a temperatura ambiente foi iniciada a coloração (BROOKE e KAISER, 1970b).

Os cortes transversais dos músculos foram pré-incubados em temperatura ambiente por 10 minutos em 400 mL de solução contendo 280 mL de ácido acético a 0,2M (12,7 mL de ácido acético e 1000 mL de água destilada) e 120 mL de acetato de sódio a 0,2M (27,2g acetato de sódio) cujo pH era ajustado para 4,3 ou 4,55. Em seguida, as lâminas eram lavadas em água destilada e incubadas a 37°C em uma solução com pH 9,4 (contendo ATP) durante 40 minutos. Após o período de incubação, as lâminas foram lavadas em água destilada e mergulhadas em solução de cloreto de cobalto a 2% durante 5 minutos e reveladas em solução de sulfeto de amônio a 5%. Após a revelação os fragmentos de músculos foram desidratados em uma bateria crescente de alcoóis (70% a 100%), em seguida imersos duas vezes em tolueno. Após a secagem as lâminas foram montadas utilizando New Entellan® Merck (BROOKE e KAISER, 1970b).

As fibras musculares foram classificadas de acordo com a intensidade de reação da ATPase após a pré-incubação em meio ácido (pH 4,3 e 4,55), nos três tipos principais: I (fibras lentas oxidativas, escuras), IIa (fibras rápidas oxidativas-glicolíticas, clara) e IIb (fibras rápidas glicolíticas, coloração intermediária) (BROOKE e KAISER, 1970b). Todas as fibras foram contadas em cada corte histológico e os valores referentes aos diferentes tipos de fibras foram expressos em percentual do número total. As contagens foram feitas por duas pessoas e o valor considerado foi a média das duas contagens para cada músculo. Os campos

microscópicos foram obtidos através de microscópio óptico OLYMPUS modelo U-CMAD-2 (objetiva 4X) acoplado a um programa para captação de imagens (TV TUNER APPLICATION – TelSignal Company Limited, Taiwan). Para contagem das células foi utilizado o software MENSURIN PRO versão 3.2 (Jean-François Madre-Amiens, França).

5.5. Análise da expressão de genes através de PCR - Real time

A quantificação de genes para BDNF e IGF-1 foi realizada através de experimentos com PCR - Real time. Os experimentos com PCR foram conduzidos nos RNAs extraídos da medula espinal, córtex motor e do cerebelo. O RNA total foi extraído usando TRIzol reagente (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) e tratado com DNase (RNase free) de acordo com instruções do fabricante e quantificado por NanoDrop (Thermo Scientific NanoDrop 2000c, North Carolina, USA). Após, retirou-se do tubo 1µg de RNA purificado o qual foi convertido em cDNA usando QuantiTect® Reverse Transcription Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA). Em seguida, as amostras de cDNA foram usadas como template para o PCR real time em RotorGene Q (Qiagen, Valencia, CA, USA) e amplificado usando QuantiTect® SYBR® Green PCR Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) de acordo com instruções do fabricante do kit. Foram utilizados primers para BDNF e IGF-1 (tabela 1). Primers específicos para β-actina foram usados como controle endógeno (tabela 1). Os níveis relativos de expressão de mRNAs em diferentes amostras foi calculado usando o método comparativo ΔCT . De forma geral o *threshold cycle* (CT), foi determinado automaticamente para todos os genes em todas as amostras. A expressão relativa dos diferentes genes foi normalizada pela expressão do controle endógeno e do grupo controle pelo método $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ onde $\Delta\Delta\text{CT} = (\text{CTB1}-\text{CTB2})-(\text{CTA1}-\text{CTA2})$ (LIVAK e SCHMITTGEN, 2001).

Tabela 1. Sequências de primers usados para o PCR real time.

Gene	Primer	%GC	Temperatura de melting °C	
BDNF	<i>Forward</i>	TTGCTGGTCTTGGGCTTCTGG	57,1	60,1
	<i>Reverse</i>	GGAACCTAACAGCATTGACCCAGA	50	60,5
IGF-1	<i>Forward</i>	GCCGCTTCCTTACAGAATCTAATAATC	42,9	60,9
	<i>Reverse</i>	CGAAAGCAATAGCAACTGGGTGG	52,2	60,2
β-actina	<i>Forward</i>	ACTATCGGCAATGAGCGGTTC	54,5	60,5
	<i>Reverse</i>	CGTAAAGACCTCTATGCCAACACAG	48	59,7

5.6. Análise estatística

Os valores são expressos em média e erro padrão da média. Para comparação entre os grupos foi utilizado o *t-test student* de medidas independentes. Para análise do peso corporal e da sobrecarga máxima ao longo das oito semanas de treinamento, foi utilizado o teste ANOVA two-way seguido do pós-teste de Bonferroni. Para comparação entre os grupos quanto ao percentual dos tipos de fibras, foi utilizado o teste ANOVA one-way seguido do teste de Tukey. O nível de significância foi mantido em 5% em todos os casos. Toda análise estatística foi realizada utilizando o programa GraphPad Prism 5 para Windows (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

6. RESULTADOS

Título: Efeitos crônicos do treinamento de resistência na morfologia musculoesquelética e expressão de fatores neurotróficos na medula espinal, córtex motor e cerebelo de ratos.

Title: Chronic effects of resistance training in the skeletal muscle morphology and expression of neurotrophic factors the spinal cord, motor cortex and cerebellum in rats.

Short-title: Treinamento de resistência em ratos: morfologia musculoesquelética e fatores neurotróficos

Short-Title: Resistance training in rats: skeletal muscle morphology and neurotrophic factors.

Autores: ¹José Antonio SANTOS; ²Rhowena Jane Barbosa MATOS; ²Ana Elisa TOSCANO; ¹Diórginis José Soares FERREIRA; ²Gizelle Lúcia Gomes COSTA; ¹Adriano Bento SANTOS; ³Filippe Tebas Oliveira FALCÃO; ¹Raul MANHÃES-DE-CASTRO; ²Carol Góis LEANDRO.

Afiliação dos autores: ¹Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento - UFPE; ²Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte – Centro Acadêmico de Vitória – UFPE; ³Programa de Pós-Graduação em Nutrição - UFPE;

Endereço para correspondência: Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Educação Física e Ciências do Esporte, Centro Acadêmico de Vitória - CAV/UFPE. Rua Alto do Reservatório, S/N – Bela Vista. CEP: 55608-680. Vitória de Santo Antão - PE, Brasil. Email: carolleandro22@gmail.com

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do treinamento de resistência sobre a morfologia dos músculos sóleo e extensor digital longo (EDL) e sobre a expressão de genes para fatores neurotróficos no sistema nervoso central em ratos. Foram utilizados 31 ratos machos Wistar (267.32 ± 36.74 gramas; 65 ± 5 dias de idade) Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Não-Treinado (NT, n=13) e treinado (T, n=18). Animais do grupo T foram submetidos a um protocolo de treinamento físico de resistência diário, 5 dias por semana, durante 8 semanas, com 80% da sobrecarga máxima acessada semanalmente. O sacrifício foi realizado 48 horas após a última sessão de treinamento e os tecidos removidos, congelados imediatamente e mantidos em freezer -80°C para posterior análise. Foi avaliado a histologia dos músculos sóleo e EDL (n=6 por grupo) através da técnica da ATPase miofibrilar. Para análise da expressão de mRNA (n=5 por grupo) para BDNF e IGF-1 no córtex motor, medula espinal e cerebelo foi utilizada a técnica do PCR-real time. O percentual de aumento de sobrecarga máxima dos animais treinados foi maior que o grupo Não-Treinado

(NT: $101,1 \pm 13,6$; T: $232,1 \pm 14,3$). Com relação ao peso corporal não houve diferença entre os grupos ao longo das semanas. No músculo sóleo, o treinamento de resistência diário não alterou a proporção de fibras tipo I (NT: $85,5 \pm 2,7\%$; T: $84,7 \pm 2,2\%$) e tipo II (NT: $14,5 \pm 2,7\%$; T: $15,2 \pm 2,1\%$). O mesmo foi observado no músculo EDL: fibras tipo I (NT: $3,4 \pm 0,47\%$; T: $5,4 \pm 0,82\%$) e tipo II (NT: $96,6 \pm 0,47\%$; T: $94,6 \pm 0,82\%$). O treinamento físico de resistência não afetou a proporção dos subtipos de fibras no músculo sóleo: tipo I (NT: $84,9 \pm 2,06$; T: $83,6 \pm 2,68$); tipo IIa (NT: $10,9 \pm 1,32\%$; T: $13,4 \pm 2,53\%$); tipo IIb (NT: $4,1 \pm 0,82\%$; T: $2,9 \pm 0,47\%$). No músculo EDL, embora não tenha ocorrido diferença na proporção de fibras tipo I, o treinamento de resistência aumentou a proporção de fibras tipo IIb (NT: $19,8 \pm 2,14\%$; T: $35,7 \pm 2,1\%$) e diminuiu a proporção de fibras tipo IIa (NT: $77,5 \pm 2,4\%$; T: $59,6 \pm 2,2\%$). No córtex motor, o treinamento de resistência não alterou a expressão relativa de mRNA para BDNF (NT: $1,08 \pm 0,21$; T: $1,10 \pm 0,12$) e para IGF-1 (NT: $1,03 \pm 0,13$; T: $0,98 \pm 0,12$). O mesmo foi observado com relação à medula espinal (BDNF: NT: $1,02 \pm 0,09$; T: $0,92 \pm 0,15$; IGF-1: NT: $1,14 \pm 0,24$). No cerebelo não houve diferença na expressão de mRNA para BDNF (NT: $1,05 \pm 0,17$; T: $0,88 \pm 0,07$). Entretanto, a expressão de mRNA para IGF-1 no cerebelo foi diminuída (NT: $1,02 \pm 0,12$; T: $0,57 \pm 0,11$). O protocolo de treinamento de resistência foi eficiente em aumentar a força em ratos, pois a sobrecarga carregada no final do protocolo foi maior. O ganho de força parece estar relacionado com um aumento na proporção de fibras musculares de força (fibras IIb), embora músculos oxidativos e glicolíticos respondam de formas diferentes ao treinamento. Nossos dados sugerem que treinamento de resistência, mesmo alterando a proporção de fibras musculares, exerce pouca influência, de forma crônica, sobre a expressão de genes para fatores neurotróficos no sistema nervoso central.

Palavras-chave: Treinamento de resistência; fibra muscular; fatores neurotróficos; cerebelo; medula espinal; córtex motor.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of a protocol of resistance training on the morphology of the soleus and extensor digitorum longus (EDL) and the expression of genes for neurotrophic factors in central nervous system in rats. Thirty-one male Wistar rats (267.32 ± 36.74 g, 65 ± 5 days old) animals were randomly divided in two groups: untrained (NT, $n = 13$) and trained (T, $n = 18$). Animals of T group were submitted to a protocol of daily resistance training, 5 days per week for 8 weeks, 80% of maximum overload accessed weekly. The animals were killed 48 hours after the last training session and tissues were removed and frozen. We assessed the histology of soleus and EDL ($n = 6$ per group) through the technique of myofibrillar ATPase. For analysis of mRNA expression ($n = 5$ per group) for BDNF and IGF-1 in the motor cortex, cerebellum and spinal cord it was used the technique of real-time PCR. The increase in maximum overload of trained animals was greater than the untrained group (NT: 101.1 ± 13.6 , T: 232.1 ± 14.3). Body weight did not differ between groups throughout the weeks. In soleus muscle, daily resistance training did not alter the proportion of type I fibers (NT: $85.5 \pm 2.7\%$, T: $84.7 \pm 2.2\%$) and type II (NT: $14.5 \pm 2.7\%$, T: $15.2 \pm 2.1\%$). The same was observed in EDL muscle: type I fibers (NT: $3.4 \pm 0.47\%$, T: $5.4 \pm 0.82\%$) and type II (NT: $96.6 \pm 0.47\%$, T: $94.6 \pm 0.82\%$). The resistance training did not affect the proportion of subtypes in the soleus muscle fibers: type I (NT: 84.9 ± 2.06 , T: 83.6 ± 2.68), type IIa (NT: $10.9 \pm 1.32\%$, T: $13.4 \pm 2.53\%$), type IIb (NT: $4.1 \pm 0.82\%$, T: $2.9 \pm 0.47\%$). In EDL muscle, although there was no difference in the proportion of type I fibers, the resistance training increased the proportion of type IIb fibers (NT: $19.8 \pm 2.14\%$, T: $35.7 \pm 2.1\%$) and decreased the proportion of type IIa fibers (NT: $77.5 \pm 2.4\%$, T: $59.6 \pm 2.2\%$). In

the motor cortex, there not alteration in relative expression of mRNA for BDNF (NT: 1.08 ± 0.21 , T: 1.10 ± 0.12) and IGF-1 (NT: 1.03 ± 0.13 , T: 0.98 ± 0.12). The same was observed with respect to the spinal cord (BDNF: NT: 1.02 ± 0.09 , T: 0.92 ± 0.15 , IGF-1: NT: 1.14 ± 0.24). In the cerebellum, there was no difference in the expression of BDNF mRNA (NT: 1.05 ± 0.17 , T: 0.88 ± 0.07). However, the expression of mRNA for IGF-1 was decreased in the cerebellum (NT: 1.02 ± 0.12 , T: 0.57 ± 0.11). The protocol of daily resistance training was efficient in increase the strength in rats, because the overload charged in the end of the protocol was higher. The gain in strength appears to be related to an increase in the proportion of muscle fibers of strength (fibers IIb) although the oxidative and glicolitic muscles response of different forms to resistance training. Our data suggest that resistance training, although changing the proportion of muscle fibers, little influence of the chronic form, on the expression of genes for neurotrophic factors in central nervous system.

Keywords: Resistance training, muscle fiber, neurotrophic factors, cerebellum, spinal cord, motor cortex.

INTRODUÇÃO

Treinamento de resistência, caracterizado pela aplicação de uma sobrecarga progressiva sobre o corpo, tem sido utilizado com o objetivo de causar hipertrofia e aumentar a força muscular (HORNBERGER e FARRAR, 2004; LEE, BARTON *et al.*, 2004). Diversos modelos de treinamento de resistência em ratos têm sido utilizados e produzem resultados similares sobre a hipertrofia músculo-esquelética e sobre o ganho de força muscular (KRISAN, COLLINS *et al.*, 2004). Um modelo de treinamento de resistência de levantamento de peso (10 repetições a 75% de 1RM, 3 vezes por semana por 12 semanas) aumentou a sobrecarga máxima e não alterou a massa muscular (KRISAN, COLLINS *et al.*, 2004). Hornberger e Farrar (HORNBERGER e FARRAR, 2004) utilizaram um protocolo de treinamento de resistência em escada (10 subidas, 3 vezes por semana durante 8 semanas com 50%, 75%, 90% e 100% da sobrecarga máxima). Após o treinamento, foi observada hipertrofia no músculo flexor longo do hálux (FHL) e aumento de força muscular. Além de estar relacionado com aumento de massa muscular, o aumento na força observado com o treinamento de resistência tem relação com possíveis transições nos tipos de fibras musculoesqueléticas (LEE, BARTON *et al.*, 2004) e com adaptações neurais (AAGAARD, SIMONSEN *et al.*, 2002).

Em humanos, treinamento de resistência (levantamento de peso, 9 a 11 repetições, 3 vezes por semana durante 8 semanas) aumentou a proporção de fibras musculares tipo IIa, diminuiu a proporção de fibras tipo IIb e aumentou a força muscular (CAMPOS, LUECKE *et al.*, 2002). Em ratos submetidos a um treinamento de resistência em escada (10 subidas, 3

vezes por semana), Lee et al (2004) observaram aumento de força e aumento na proporção de fibras musculares IIa (LEE, BARTON *et al.*, 2004). Estas alterações na proporção de fibras dependem tanto das características intrínsecas da fibra muscular recrutada, tais como velocidade de contração e produção de força, quanto da frequência de descarga produzida pelo neurônio motor, sugerindo que adaptações neuronais também são necessárias no treinamento físico (AAGAARD, SIMONSEN *et al.*, 2002; TOIGO e BOUTELLIER, 2006).

Adaptações musculares e neuronais parecem ser interdependentes e são influenciadas pelo treinamento físico (HORNBERGER e FARRAR, 2004; LEE, BARTON *et al.*, 2004; GOLDSHMIT, LYTHGO *et al.*, 2008). Por exemplo, lesão na coluna pode levar a atrofia muscular, entretanto treinamento físico (corrida em esteira, 6-12 m/min, 5 dias/semana) é capaz de reverter os efeitos da lesão, além de aumentar a expressão de marcadores de plasticidade sináptica, tais como sinaptofisina e PSD-95, em ratos (GOLDSHMIT, LYTHGO *et al.*, 2008). Um dos mecanismos propostos para as alterações morfofuncionais no sistema nervoso é a liberação de fatores neurotróficos tais como o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (SEIFERT, BRASSARD *et al.*, 2010). Tem sido demonstrado que treinamento físico aeróbio (corrida em bicicleta 60min/dia a 65% do VO_{2max}) pode aumentar a liberação de BDNF no encéfalo (SEIFERT, BRASSARD *et al.*, 2010), entretanto os estudos que avaliam os efeitos do treinamento de resistência sobre a síntese e liberação de fatores neurotróficos ainda são escassos. Além disso, pouco se sabe sobre quais estruturas motoras pode ocorrer alteração na expressão de fatores neurotróficos induzido pelo treinamento físico.

Tanto a síntese e liberação fatores neurotróficos quanto a transição do tipo de fibra induzida pelo treinamento físico envolvem rotas moleculares dependentes de Ca^{2+} intracelular e parecem depender do modelo de treinamento utilizado (VAYNMAN, YING *et al.*, 2003; SEIFERT, BRASSARD *et al.*, 2010). Em modelos de treinamento de resistência em ratos, diferentemente dos modelos em humanos, são utilizados vários grupamentos musculares ao mesmo tempo por sessão de treinamento o que repercute em diferentes números de repetições, séries, intervalos, sessões por semana e sobrecarga utilizada (DUNCAN, WILLIAMS *et al.*, 1998; CAMPOS, LUECKE *et al.*, 2002). Contudo, os protocolos existentes para ratos simulam os protocolos de treinamento de resistência para humanos (HORNBERGER e FARRAR, 2004). Assim, o objetivo do presente estudo foi montar um protocolo de treinamento de resistência diário e avaliar de forma crônica o efeito

deste protocolo sobre a morfologia dos músculos sóleo e extensor digital longo e sobre a expressão gênica de BDNF e IGF-1 na medula espinal, córtex motor e cerebelo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 31 ratos machos Wistar (peso corporal 267.32 ± 36.74 g, idade 65 ± 5 dias) do Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais foram mantidos em biotério de ciclo claro escuro invertido de 12 h/12 h (luz ligada às 18hs) com temperatura controlada de $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Alimentação e água foram providas *ad libitum*. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Não-Treinado (NT, n=13) e treinado (T, n=18). Animais do grupo T foram submetidos a um protocolo de treinamento de resistência diário em escada, 5 dias por semana, durante 8 semanas, com 80% da sobrecarga máxima. O peso corporal de todos os ratos foi acompanhado diariamente (balança digital Marte[®], modelo S-4000, com sensibilidade de 0,1g). Aos 123 ± 5 dias, 48 horas após a última sessão de treinamento, os animais foram sacrificados. Todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética em experimentação animal da Universidade Federal de Pernambuco (Protocolo: 23076.005155/2009-09) e seguiu as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) para uso e cuidado de animais de laboratório.

Aparato de treinamento

Hornberger e Farrar (2004) utilizaram um aparato para realizar treinamento de resistência em ratos machos Sprague-Dawley. No presente estudo foram feitas algumas adaptações no aparato de treinamento descrito por Hornberger e Farrar (2004). O aparato de treinamento consistiu de uma escada, com 132 cm e 87 degraus metálicos. A angulação do aparato é regulável e foi mantida em 70° entre a base da escada e o solo (Figura 1A). Os animais deveriam percorrer a extensão da escada com uma sobrecarga progressiva em sua cauda (Figura 1D). Foi considerado um número máximo de 10 subidas devido ao tempo médio para efetuar a 10^a subida ser 3 vezes maior ($15,2 \pm 1,68$) que o tempo necessário para efetuar a primeira subida ($5,2 \pm 0,54$).

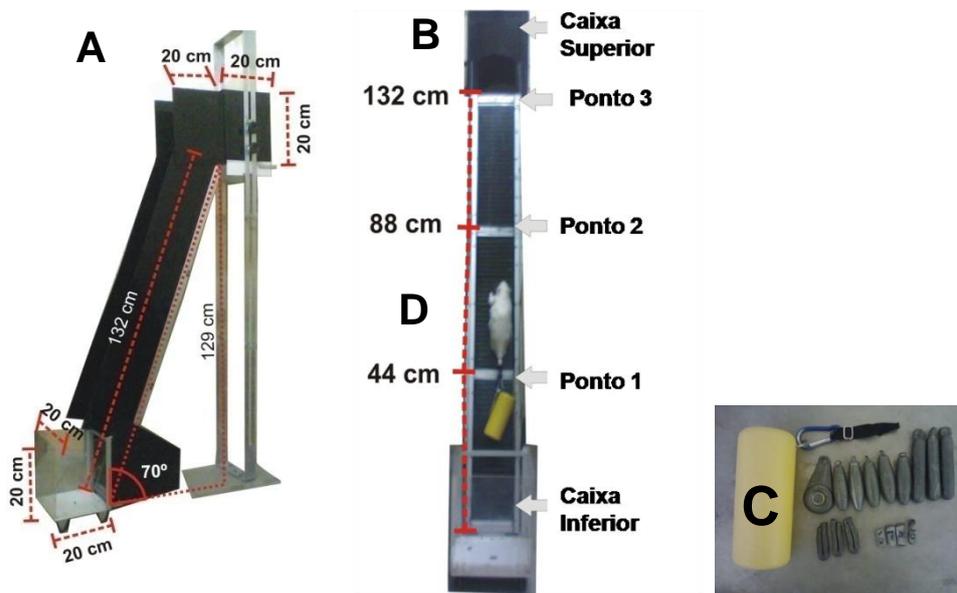


Figure 2. (A) Visão lateral do aparato de treinamento (uma escada com altura: 129cm; largura: 20cm; comprimento: 132cm; com 87 degraus e 1 cm entre os degraus). (B) Visão frontal do aparato de treinamento, descrição dos pontos onde o rato era colocado (caixa inferior transparente, ponto 1 a 44 cm da base, ponto 2 a 88 cm da base, ponto 3 a 132cm da base e caixa superior escura). (C) O suporte para fixação de carga consistiu de uma fita para fixação (formada por uma fita semi-elástica com uma presilha na ponta) e um recipiente onde as cargas eram colocadas. A fita era cuidadosamente fixada na porção proximal da cauda dos ratos com esparadrapo. (D) Rato subindo a escada com sobrecarga fixa em sua cauda.

Protocolo de Treinamento físico

Antes da divisão dos grupos C e T, todos os animais foram submetidos à adaptação ao aparato de treinamento durante 5 dias. O estímulo usado para os ratos subirem a escada foi um leve toque na região dorsal do animal entre as patas posteriores. A adaptação ao aparato de treinamento foi feita durante 5 dias. No primeiro dia o animal foi inicialmente colocado na caixa inferior, em seguida colocado no ponto 1 (44 cm da base) durante 30 segundos. A seguir, colocado no ponto 2 (88 cm da base), colocado no ponto 3 localizado no topo do aparato e nas demais subidas o animal foi colocado no ponto 1. Nos dias 2 e 3, os animais foram colocados para realizar as 10 subidas a partir do ponto 1. No 4º dia de adaptação, os animais eram colocados no ponto 1 e realizaram 10 subidas com o recipiente de carga vazio fixado com esparadrapo na parte proximal da cauda. No último dia de adaptação os animais subiram 10 vezes, a partir do ponto 1, com uma sobrecarga de 10% do peso corporal no recipiente de carga.

Quarenta e oito horas após o período de adaptação, todos os animais de ambos os grupos foram submetidos a um teste de capacidade de carregamento máximo, para estimar a

sobrecarga máxima e acompanhar o ganho de força ao longo das semanas de treinamento. No primeiro teste de capacidade de carregamento máximo, os ratos subiram inicialmente com uma sobrecarga de 75% do seu peso corporal (HORNBERGER e FARRAR, 2004). Foi considerada uma subida com sucesso, a realizada em um período inferior a 40 segundos e sem que o animal soltasse a escada. Caso contrário foi considerado uma tentativa falha. Após cada subida de sucesso foi adicionado 30 gramas na sobrecarga até o animal realizar uma tentativa falha. Após 3 falhas consecutivas, a última sobrecarga com a qual o animal conseguiu subir, foi registrada e considerada como máxima. Na determinação da capacidade de carregamento máxima das semanas subseqüentes, as primeiras subidas foram feitas com 80% e 100% da sobrecarga máxima da semana anterior e em seguida adicionados 30 gramas seguindo as indicações anteriormente referidas. Os intervalos entre as subidas, em todos os testes de capacidade de carregamento máximo, foram mantidos em 120 segundos.

De acordo com a sobrecarga máxima individual, os ratos do grupo treinado foram submetidos a um protocolo de treinamento de resistência, 7 a 10 subidas por dia, 5 dias por semana, durante 8 semanas com aumento progressivo de sobrecarga. O comprimento da escada permite em torno de 10 a 16 movimentos alternados por subida. Cada sessão de treinamento iniciou com uma carga correspondente a 30%, 50% e subidas subseqüentes a 80% da capacidade de carregamento máxima individual (totalizando 10 subidas). O tempo de descanso entre as subidas foi mantido em 90 segundos. As sessões de treinamento e os testes de capacidade de carregamento máximo iniciaram 2 horas após o início do ciclo escuro.

Análise histológica dos músculos

Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento físico os ratos foram decapitados para retirada dos tecidos. Para análises histológicas foram utilizados os músculos sóleo (n=6) e extensor digital longo (EDL, n=6). Após incisão na face lateral das patas posteriores, os músculos sóleo e EDL foram dissecados e seccionados nos tendões para análises histológicas. Para uso histológico os músculos foram imersos em N-Hexano (C6H14) a baixa temperatura e congelado a -80°C até serem analisados.

Secções em série (10 µm) foram feitas em criostato (Jung Frigocut 2800E-Leica; Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany) mantidos a -20°C e corados pela técnica da ATPase miofibrilar (BROOKE e KAISER, 1970a). As fibras musculares foram classificadas em dois maiores tipos (tipo I, oxidativas e tipo II, glicolítica) de acordo com a intensidade da coloração para ATPase miofibrilar após pré-incubação em pH 4.3 e classificadas nos subtipos

(tipo I, tipo IIa e tipo IIb) após pré-incubação em pH 4.55 (TOSCANO, MANHAES-DE-CASTRO *et al.*, 2008). Análise histoquímica foi realizada usando o programa Mesurim pro. A composição das fibras musculares foi determinada através da contagem de todas as fibras de cada corte histológico. As contagens foram feitas por duas pessoas e o valor considerado foi a média das duas contagem para cada músculo.

Análise da expressão de genes através de PCR - Real time

A quantificação de genes para BDNF e IGF-1 foi realizada através de experimentos com PCR - Real time. Os experimentos com PCR foram conduzidos nos RNAs extraídos da medula espinal, córtex motor e do cerebelo. O mRNA total foi extraído usando TRIzol reagente (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA), tratado com DNase (RNase free) de acordo com instruções do fabricante e quantificado por NanoDrop (Thermo Scientific NanoDrop 2000c, North Carolina, USA). Após, 1µg de RNA purificado foi convertido em cDNA usando QuantiTect[®] Reverse Transcription Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA). Em seguida, as amostras de cDNA foram utilizadas para o PCR real time em RotorGene Q (Qiagen, Valencia, CA, USA) e amplificado usando QuantiTect SYBR[®] Green PCR Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) de acordo com instruções do fabricante do kit. Foram utilizados primers para BDNF e IGF-1 (tabela 1). Primers específicos para β-actina foram usados como controle endógeno (tabela 1). As análises foram feitas em duplicata para cada gene em cada estrutura e o valor considerado foi a média das duas análises. Os níveis relativos de expressão de mRNAs em diferentes amostras foi calculado usando o método comparativo ΔCT. De forma geral o *threshold cycle* (CT), foi determinado automaticamente para todos os genes em todas as amostras. A expressão relativa dos diferentes genes foi normalizada pela expressão do controle endógeno e do grupo controle pelo método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (LIVAK e SCHMITTGEN, 2001).

Tabela 1. Sequências de primers utilizados para o PCR real time.

Gene	Primer	%GC	Temperatura de <i>melting</i> °C
BDNF	<i>Forward</i> TTGCTGGTCTTGGGCTTCTGG	57,1	60,1
	<i>Reverse</i> GGAACCTAACAGCATTGACCCAGA	50	60,5
IGF-1	<i>Forward</i> GCCGCTTCCTTACAGAATCTAATAATC	42,9	60,9
	<i>Reverse</i> CGAAAGCAATAGCAACTGGGTGG	52,2	60,2
β-actina	<i>Forward</i> ACTATCGGCAATGAGCGGTTC	54,5	60,5
	<i>Reverse</i> CGTAAAGACCTCTATGCCAACACAG	48	59,7

Análise estatística

Os valores são expressos em média e erro padrão da média. Para comparação entre os grupos foi utilizado o *t-test student* não pareado. Para análise do peso corporal e da sobrecarga máxima ao longo das oito semanas de treinamento, foi utilizado o teste ANOVA two-way seguido do pós-teste de Bonferroni. Para comparação entre os grupos quanto ao percentual dos tipos de fibras, foi utilizado o teste ANOVA one-way seguido do teste de Tukey. O nível de significância foi mantido em 5% em todos os casos. Toda análise estatística foi realizada utilizando o programa GraphPad Prism 5 para Windows (GraphPad Software[®], Inc., La Jolla, CA, USA).

RESULTADOS

Teste de capacidade de carregamento máximo e análise do peso corporal

Antes do início das 8 semanas de treinamento de resistência de força, os animais de ambos os grupos conseguiram subir a escada com uma mesma sobrecarga máxima. Ambos os grupos apresentam um aumento de sobrecarga máxima na segunda e terceira semana de treinamento, comparada com a sobrecarga máxima da semana anterior. Por outro lado, diferente dos animais do grupo NT, os animais do grupo T permanecem aumentando a sobrecarga máxima ao longo das 8 semanas de treinamento.

Os ratos do grupo T apresentam maior sobrecarga máxima, comparados com o grupo Não-Treinado, a partir da terceira semana. O percentual de aumento de sobrecarga máxima dos animais treinados foi maior que o grupo Não-Treinado (NT: $101,1 \pm 13,6$; T: $232,1 \pm 14,3$). Com relação ao peso corporal não houve diferença entre os grupos ao longo das semanas.

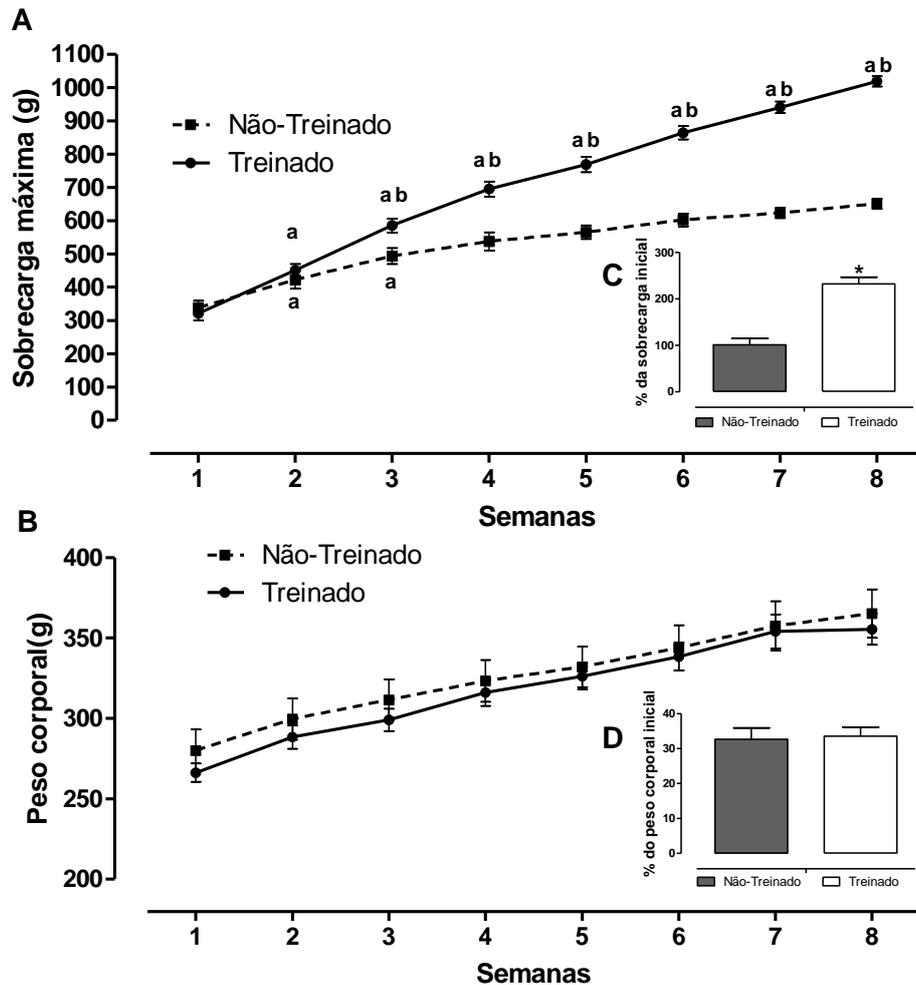


Figura 4. (A) sobrecarga máxima ao longo das 8 semanas de treinamento; (B) peso corporal; (C) % de aumento de sobrecarga máxima (D) % de aumento de peso corporal em relação aos valores iniciais de animais submetidos a um protocolo de treinamento de resistência durante 8 semanas (Treinado, n=18) ou submetido apenas aos testes de capacidade de carregamento máximo (Não-Treinado, n=13). Os dados estão apresentados em média±EPM. ^a p<0,05 vs semana anterior usando ANOVA para medidas repetidas. ^b p<0,05 vs grupo Não-Treinado usando ANOVA two-way. *p<0,05 vs Não-Treinado usando t-teste não pareado.

Análise histológica dos músculos

No músculo sóleo, o treinamento de resistência diário não alterou a proporção de fibras tipo I (NT: 85,5± 2,7; T: 84,7± 2,2) e tipo II (NT: 14,5±2,7; T: 15,2± 2,1) (figura 4). O mesmo foi observado no músculo EDL: fibras tipo I (NT: 3,4± 0,47; T: 5,4± 0,82) e tipo II (NT: 96,6± 0,47; T: 94,6± 0,82) (figura 4).

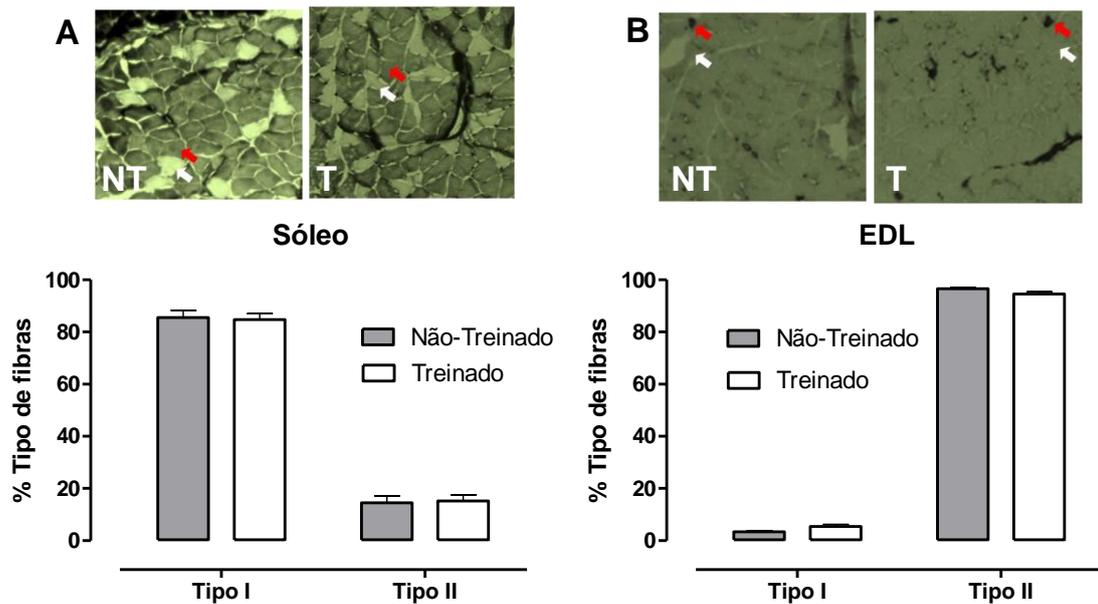


Figura 5. Imagens dos cortes transversais (objetiva 4x) dos músculos sóleo (A) e EDL (B) pré-incubados a um pH de 4,3. Setas vermelhas indicam fibras tipo I e setas brancas indicam fibras tipo II. Os gráficos indicam a proporção de fibras tipo I e tipo II de animais submetidos a um protocolo de treinamento de resistência durante 8 semanas (Treinado: T, n=6) ou submetido apenas aos testes de capacidade de carregamento máximo (Não-Treinado: NT, n=6). As medidas foram realizadas 48 horas após a última sessão de treinamento. Os dados estão apresentados em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs Não-Treinado usando two-way ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni.

Com a pré-incubação em pH 4.55 foi possível avaliar os subtipos de fibras (puramente oxidativa, tipo I; puramente glicolítica tipo Iib e oxidativa-glicolítica tipo Iia) dos músculos sóleo e EDL. O treinamento físico de resistência não afetou a proporção dos subtipos de fibras no músculo sóleo: tipo I (NT: $84,9 \pm 2,06$; T: $83,6 \pm 2,68$); tipo Iia (NT: $10,9 \pm 1,32$; T: $13,4 \pm 2,53$); tipo Iib (NT: $4,1 \pm 0,82$; T: $2,9 \pm 0,47$) (figura 5). No músculo EDL, embora não haja diferença na proporção de fibras tipo I, o treinamento de resistência aumentou a proporção de fibras tipo Iib (NT: $19,8 \pm 2,14$; T: $35,7 \pm 2,1$) e diminuiu a proporção de fibras tipo Iia (NT: $77,5 \pm 2,4$; T: $59,6 \pm 2,2$) (figura 5).

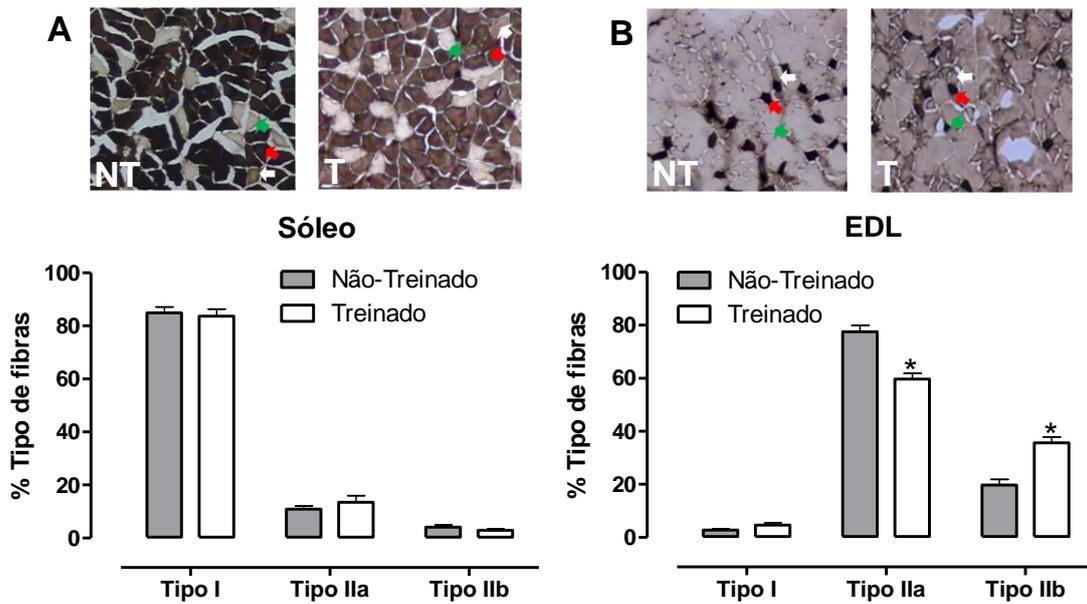


Figura 6. Imagens dos cortes transversais (objetiva 4x) dos músculos sóleo (A) e EDL (B) pré-incubados a um pH de 4,55. Setas vermelhas indicam fibras tipo I setas verdes indicam fibras tipo IIa e setas brancas indicam fibras tipo IIb. Os gráficos indicam a proporção de fibras musculares tipo I, IIa e tipo IIb de animais submetidos a um protocolo de treinamento de resistência durante 8 semanas (Treinado: T, n=6) ou submetido apenas aos testes de capacidade de carregamento máximo (Não-Treinado: NT, n=6). As medidas foram realizadas 48 horas após a última sessão de treinamento. Os dados estão apresentados em média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs Não-Treinado usando two-way ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni.

Análise da expressão gênica de BDNF e IGF-1 na medula espinal, córtex motor e cerebelo.

Na medula espinal, o treinamento de resistência não alterou a expressão gênica de BDNF (NT: $1,02 \pm 0,09$; T: $0,92 \pm 0,15$) e IGF-1 (NT: $1,14 \pm 0,24$) (Figura 6). O mesmo foi observado com relação ao córtex motor (BDNF: NT: $1,08 \pm 0,21$; T: $1,10 \pm 0,12$; IGF-1: NT: $1,03 \pm 0,13$; T: $0,98 \pm 0,12$) (Figura 6).. No cerebelo não houve diferença na expressão gênica de BDNF (NT: $1,05 \pm 0,17$; T: $0,88 \pm 0,07$) (Figura 6). Entretanto, a expressão gênica de IGF-1 foi diminuída (NT: $1,025 \pm 0,12$; T: $0,57 \pm 0,11$) (Figura 6).

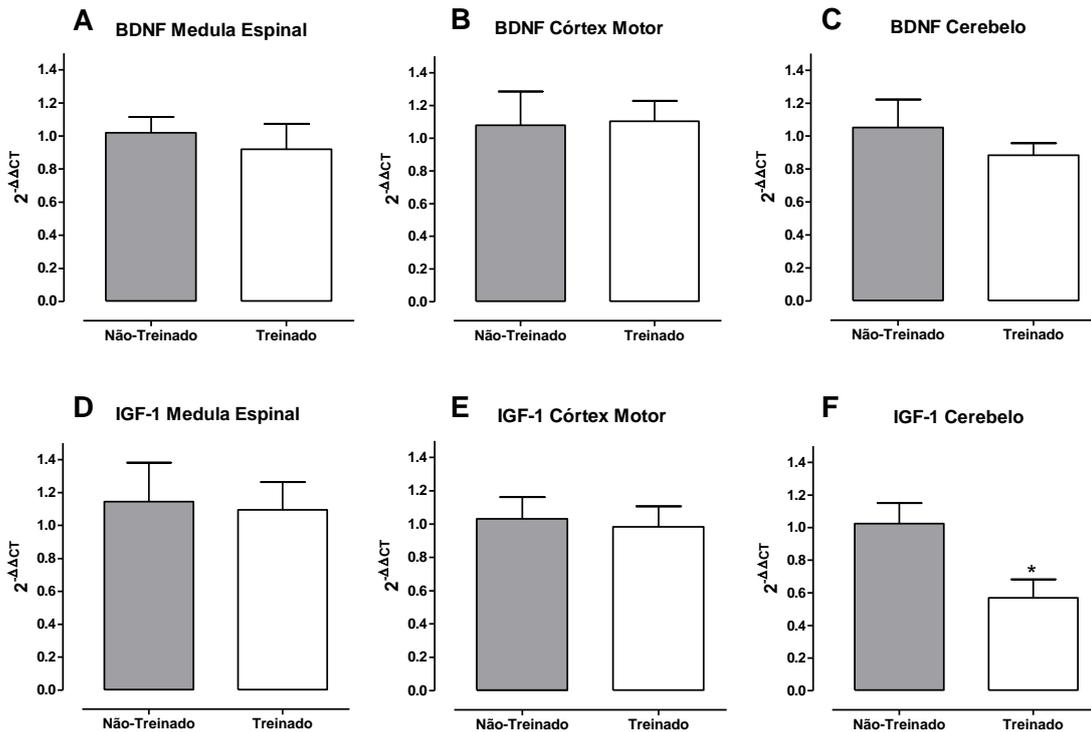


Figura 7. Expressão relativa de mRNA para BDNF na medula espinal (A) no córtex motor (B) e no cerebelo (C) e expressão relativa de mRNA para IGF-1 na medula espinal (D) no córtex motor (E) e no cerebelo (F) de animais submetidos a um protocolo de treinamento de resistência durante 8 semanas (Treinado, n=5) ou submetido apenas aos testes de capacidade de carregamento máximo (Não-Treinado, n=5). Os valores estão expressos em média±EPM. O nível de expressão foi obtido por PCR real time e os resultados normalizados pelo grupo Não-Treinado ($2^{-\Delta\Delta CT}$ onde $\Delta\Delta CT = (CT_{B1}-CT_{B2})-(CT_{A1}-CT_{A2})$). * $p < 0,05$ vs Não-Treinado utilizando o t-teste não pareado.

DISCUSSÃO

No presente estudo foi utilizado um protocolo de treinamento de resistência em escada (5 dias/semana, durante 8 semanas) com 80% da sobrecarga máxima acessada semanalmente. Diferentemente dos modelos de treinamento de resistência em humanos, para este tipo de treinamento em ratos, são utilizados vários grupos musculares ao mesmo tempo por sessão de treinamento. Isto repercute em diferentes números de repetições (movimentos realizados para subir a escada), séries (número de subidas), intervalos, número de sessões por semana, sobrecarga e tipo de estímulo utilizado (DUNCAN, WILLIAMS *et al.*, 1998; HORNBERGER e FARRAR, 2004).

Foram feitos ajustes no protocolo de treinamento de resistência de forma que houvesse um período de adaptação ao aparato de treinamento com estímulos não aversivos para o rato

subir. De fato, uma forma de evitar o estresse adicional do choque elétrico (utilizado em alguns estudos), é utilizar um estímulo não invasivo para motivar a subida através de um leve toque no dorso do animal (Duncan et al 1998). Para adaptação dos animais ao aparato de treinamento, foram utilizados 3 dias como descrito em protocolos anteriores (LEE, BARTON *et al.*, 2004; MATHENY, MERRITT *et al.*, 2009) e acrescentado mais 2 dias de adaptação à sobrecarga presa na cauda antes do primeiro teste de capacidade de carregamento máximo.

No treinamento de resistência é necessário acompanhar sistematicamente a aplicação de sobrecarga máxima para os ajustes necessários na sobrecarga aplicada nas sessões de treinamento. Isso já foi mostrado por Hornberger e Farrar (2004) e Matheny et al (2009) que avaliaram a capacidade de carregamento máxima no final de cada sessão para ajuste da sobrecarga de treinamento da sessão seguinte. Devido ao maior número de sessões do presente estudo, os testes de capacidade de carregamento máximo para os ajustes na sobrecarga de treinamento foram realizados semanalmente e em ambos os grupos para minimizar o efeito da idade no ganho de sobrecarga máxima. De fato, ambos os grupos aumentam a sobrecarga máxima comparada com a sobrecarga máxima inicial. Para a sobrecarga inicial e para a montagem do protocolo de treinamento, o peso corporal pode ser tomado como referência, tendo em vista que este não se altera com o treinamento como demonstrado em estudos anteriores (HORNBERGER e FARRAR, 2004; LEE, BARTON *et al.*, 2004; GODFREY, KAYSER *et al.*, 2009; MATHENY, MERRITT *et al.*, 2009). Entretanto, neste estudo, a sobrecarga máxima não apresentou correlação com o peso corporal no final das 8 semanas de treinamento em ambos os grupos (NT: $r = 0,43$; T: $r = 0,39$) e foi utilizada apenas como ponto de partida para a sobrecarga inicial como descrito por Hornberger e Farrar (2004).

Diferentes intervalos entre as sessões parecem induzir adaptações similares na sobrecarga máxima. Duncan et al (1998) submeteram ratos a um treinamento em escada 4 dias por semana, com intervalo de 24 a 48 horas entre as sessões, durante 26 semanas e observaram aumento de sobrecarga máxima (140% do peso corporal). Hornberger e Farrar (2004) realizaram treinamento 3 vezes por semana, com intervalo de 48 horas entre as sessões, durante 8 semanas e também observaram aumento na sobrecarga máxima ($258 \pm 26\%$ do peso corporal). No presente estudo, foi utilizado um intervalo de 24 horas entre as sessões e a sobrecarga máxima foi similar a encontrada em estudos anteriores ($289 \pm 7,6\%$ do peso corporal) (HORNBERGER e FARRAR, 2004). Tais aumentos na capacidade máxima de carregamento podem ter relação com adaptações morfológicas no músculo esquelético

induzidas pelo treinamento de resistência (DUNCAN, WILLIAMS *et al.*, 1998; CAMPOS, LUECKE *et al.*, 2002; HORNBERGER e FARRAR, 2004).

O músculo tem a habilidade intrínseca para se adaptar a diferentes tipos de trabalho pela mudança tanto de sua massa quanto dos tipos de fibras (CAMPOS, LUECKE *et al.*, 2002). Neste estudo, não foi observado alteração na proporção de fibras tipo I e II em ambos os músculos. Entretanto, o treinamento de resistência diário levou a uma diminuição no subtipo IIa e aumento na proporção do subtipo IIb apenas no músculo EDL, cuja predominância é de fibras glicolíticas. Em ratos, os estudos com treinamento de resistência são controversos em demonstrar alterações nos tipos de fibras musculares (HORNBERGER e FARRAR, 2004; LEE, BARTON *et al.*, 2004). Roy *et al.* (1997) submeteram ratos a um protocolo de treinamento de resistência (levantamento de peso, 3 sessões por semana, durante 8 semanas) e não observaram alterações na proporção entre fibras tipo I e II no músculo adutor longo (de predominância glicolítica) (ROY, WILSON *et al.*, 1997). Lee *et al.* (2004) analisaram a composição da cadeia pesada de miosina (MHC) do músculo flexor longo do hálux (FHL, predominância glicolítica) de animais submetidos a um treinamento de resistência em escada (3 sessões por semana, durante 8 semanas com 50, 75,90 e 100% da sobrecarga máxima) e observaram um aumento na proporção de MHCIIa. Por outro lado, Hornberger e Farrar (2004) utilizaram o mesmo protocolo de treinamento e o mesmo músculo e não observaram alterações. O processo de transição do tipo de fibra muscular em direção ao tipo IIb ainda não está totalmente esclarecido mas o Ca^{2+} /calcineurina parece exercer influência (SPANGENBURG e BOOTH, 2003; TOIGO e BOUTELLIER, 2006). Alguns genes, expressos apenas em fibras rápidas, possuem um elemento regulatório conhecido como elemento regulatório intrônico rápido (FIRE), que contém elementos que são necessários para a expressão de genes de fibras rápidas (NAKAYAMA, STAUFFER *et al.*, 1996). Sabe-se que, não só Ca^{2+} /calcineurina, mas também miogenina e MyoD agem sinergicamente ativando os elementos FIRE nos tipos de fibras tipo IIb (SPANGENBURG e BOOTH, 2003). A duração do aumento na concentração de Ca^{2+} no músculo esquelético varia em função da frequência de descarga na unidade motora (SPANGENBURG e BOOTH, 2003; TOIGO e BOUTELLIER, 2006). Interessantemente, a frequência de descarga na unidade motora é maior no recrutamento de fibras musculares tipo II que em fibras tipo I (ROSS, LEVERITT *et al.*, 2001; KERNELL, 2003).

Adaptações neuromusculares induzidas pelo treinamento físico podem estar relacionadas a um aumento na expressão de fatores neurotróficos (FUNAKOSHI,

BELLUARDO *et al.*, 1995). Neste estudo foi avaliado o papel do treinamento de resistência sobre a expressão de genes para fatores neurotróficos no córtex motor, no cerebelo e na medula espinal. O treinamento físico não alterou a expressão de genes para BDNF em nenhuma das estruturas analisadas. Estudos mostram que atividade física voluntária (corrida em ciclo-ergômetro durante 7 dias) pode aumentar a expressão de genes para BDNF no hipocampo e no cerebelo (NEEPER, GOMEZ-PINILLA *et al.*, 1996; VAYNMAN, YING *et al.*, 2003). Em humanos, Seifert *et al.* (2010) demonstraram que treinamento físico moderado (ciclismo diário, 60 min/dia a 65% do VO_{2max}) aumentou a concentração sérica de BDNF. Treinamento de resistência (3 vezes por semana, durante 5 semanas a 75% de 1 RM) aumentou a concentração de BDNF (YARROW, WHITE *et al.*, 2010). Por outro lado, Goekint *et al.* (2010) não observaram alteração na concentração sérica de BDNF após 30 sessões de treinamento de resistência a 80% de 1RM. Vários estudos que analisam o efeito do treinamento físico sobre a concentração de fatores neurotróficos, avaliam tais efeitos imediatamente após a sessão de treinamento (WANG e ZOGHBI, 2001; YARROW, WHITE *et al.*, 2010). Para minimizar qualquer efeito residual da última sessão de treinamento os animais foram sacrificados 48 horas após a última sessão de treinamento como descrito por Godfrey *et al.* (2009). Além disso, estes resultados podem significar uma adaptação crônica ao treinamento, o qual pode não mais repercutir em alteração na expressão dos genes analisados. Com relação à expressão de genes para IGF-1, ao contrário do que era esperado, foi observado apenas uma diminuição na expressão deste gene no cerebelo. O cerebelo é responsável pelo controle involuntário do movimento e é um importante sítio neurogênico pós-natal, porém ainda é muito pouco estudado (WANG e ZOGHBI, 2001). Os mecanismos de regulação da expressão de IGF-1 de origem central parecem seguir uma rota de regulação similar a periférica através do eixo GH-IGF-1 circulante (YAN, MITSCHELEN *et al.*, 2011). Em estudos anteriores foi demonstrado que o exercício físico pode levar a um aumento na liberação de IGF-1 circulante e aumentar a concentração de IGF-1 no encéfalo, principalmente devido ao IGF-1 de origem periférica (CARRO, NUNEZ *et al.*, 2000; CARRO, TREJO *et al.*, 2001). O aumento na concentração de IGF-1 circulante parece inibir a liberação de IGF-1 central como um mecanismo de *feedback* (YAN, MITSCHELEN *et al.*, 2011), entretanto este mecanismo de inibição ainda é pouco estudado.

CONCLUSÕES

O treinamento físico de resistência diário leva a um aumento de força e não afeta o peso corporal em ratos. O aumento de força observado está relacionado a uma maior proporção de fibras musculares puramente glicolíticas, entretanto músculos glicolíticos e oxidativos respondem de forma diferente ao treinamento de resistência. O modelo de treinamento físico utilizado neste estudo não afeta de forma crônica a expressão gênica de BDNF, mas afeta a expressão gênica de IGF-1. Ainda não sabemos se as adaptações neurais ao treinamento de resistência acontecem apenas no início do treinamento físico e as adaptações musculares cumprem a demanda do treinamento físico ou se continuam acontecendo durante todo o período de treinamento. No primeiro caso, pode ocorrer aumento na expressão gênica dos fatores neurotróficos para manter a demanda do treinamento. No segundo caso, a expressão de genes aumentaria no início do treinamento e depois se estabilizaria devido às adaptações neurais já serem suficientes para atender a demanda do treinamento. Estudos posteriores com imunohistoquímica e western blotting podem ser realizados, em diferentes períodos do treinamento, para avaliar se há adaptações na expressão do fator neurotrófico e na densidade neuronal causadas pelo treinamento de resistência nas estruturas motoras avaliadas neste estudo.

REFERÊNCIAS

- AAGAARD, P. *et al.* Neural adaptation to resistance training: changes in evoked V-wave and H-reflex responses. *J Appl Physiol*, v. 92, p. 2309-2318, 2002.
- BROOKE, M. H.; KAISER, K. K. Muscle fiber types: how many and what kind? *Arch Neurol*, v. 23, n. 4, p. 369-79, Oct 1970.
- CAMPOS, G. E. *et al.* Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. *Eur J Appl Physiol*, v. 88, n. 1-2, p. 50-60, Nov 2002.
- CARRO, E. *et al.* Circulating insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain. *J Neurosci*, v. 20, n. 8, p. 2926-33, Apr 15 2000.
- _____. Circulating insulin-like growth factor I mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy. *J Neurosci*, v. 21, n. 15, p. 5678-84, Aug 1 2001.
- DUNCAN, N. D. *et al.* Adaptations in rat skeletal muscle following long-term resistance exercise training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, v. 77, n. 4, p. 372-8, Mar 1998.

FUNAKOSHI, H. *et al.* Muscle-derived neurotrophin-4 as an activity-dependent trophic signal for adult motor neurons. *Science*, v. 268, n. 5216, p. 1495-9, Jun 9 1995.

GODFREY, J. K. *et al.* Interrupted resistance training and BMD in growing rats. *Int J Sports Med*, v. 30, n. 8, p. 579-84, Aug 2009.

GOLDSHMIT, Y. *et al.* Treadmill training after spinal cord hemisection in mice promotes axonal sprouting and synapse formation and improves motor recovery. *J Neurotrauma*, v. 25, n. 5, p. 449-65, May 2008.

HARRIDGE, S. D. Plasticity of human skeletal muscle: gene expression to in vivo function. *Exp Physiol*, v. 92, n. 5, p. 783-97, Sep 2007.

HOLM, L. *et al.* Changes in muscle size and MHC composition in response to resistance exercise with heavy and light loading intensity. *J Appl Physiol*, v. 105, n. 5, p. 1454-61, Nov 2008.

HORNBERGER, T. A., JR.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol*, v. 29, n. 1, p. 16-31, Feb 2004.

ILHA, J. *et al.* Endurance and resistance exercise training programs elicit specific effects on sciatic nerve regeneration after experimental traumatic lesion in rats. *Neurorehabil Neural Repair*, v. 22, n. 4, p. 355-66, Jul-Aug 2008.

KERNELL, D. Principles of force gradation in skeletal muscles. *Neural Plast*, v. 10, n. 1-2, p. 69-76, 2003.

KRAEMER, W. J. *et al.* Effects of a multi-nutrient supplement on exercise performance and hormonal responses to resistance exercise. *Eur J Appl Physiol*, v. 101, n. 5, p. 637-46, Nov 2007.

LEE, S. *et al.* Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. *J Appl Physiol*, v. 96, n. 3, p. 1097-104, Mar 2004.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, v. 25, n. 4, p. 402-8, Dec 2001.

MATHENY, R. W. *et al.* Serum IGF-I-deficiency does not prevent compensatory skeletal muscle hypertrophy in resistance exercise. *Exp Biol Med (Maywood)*, v. 234, n. 2, p. 164-70, Feb 2009.

NAKAYAMA, M. *et al.* Common core sequences are found in skeletal muscle slow- and fast-fiber-type-specific regulatory elements. *Mol Cell Biol*, v. 16, n. 5, p. 2408-17, May 1996.

NEEPER, S. A. *et al.* Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res*, v. 726, n. 1-2, p. 49-56, Jul 8 1996.

ROSS, A. *et al.* Neural influences on sprint running: training adaptations and acute responses. *Sports Med*, v. 31, n. 6, p. 409-25, 2001.

ROY, R. R. *et al.* Architectural and mechanical properties of the rat adductor longus: response to weight-lifting training. *Anat Rec*, v. 247, n. 2, p. 170-8, Feb 1997.

SEIFERT, T. *et al.* Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 298, p. R372–R377, 2010.

SPANGENBURG, E. E.; BOOTH, F. W. Molecular regulation of individual skeletal muscle fibre types. *Acta Physiol Scand*, v. 178, n. 4, p. 413-24, Aug 2003.

TOIGO, M.; BOUTELLIER, U. New fundamental resistance exercise determinants of molecular and cellular muscle adaptations. *Eur J Appl Physiol*, v. 97, n. 6, p. 643-63, Aug 2006.

TOSCANO, A. E. *et al.* Effect of a low-protein diet during pregnancy on skeletal muscle mechanical properties of offspring rats. *Nutrition*, v. 24, n. 3, p. 270-8, Mar 2008.

VAYNMAN, S. *et al.* Interplay between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. *Neuroscience*, v. 122, n. 3, p. 647-57, 2003.

WANG, V. Y.; ZOGHBI, H. Y. Genetic regulation of cerebellar development. *Nat Rev Neurosci*, v. 2, n. 7, p. 484-91, Jul 2001.

WILUSZ, C. J.; WILUSZ, J. Bringing the role of mRNA decay in the control of gene expression into focus. *Trends Genet*, v. 20, n. 10, p. 491-7, Oct 2004.

YAN, H. *et al.* Circulating IGF1 regulates hippocampal IGF1 levels and brain gene expression during adolescence. *J Endocrinol*, v. 211, n. 1, p. 27-37, Oct 2011.

YARROW, J. F. *et al.* Training augments resistance exercise induced elevation of circulating brain derived neurotrophic factor (BDNF). *Neurosci Lett*, v. 479, n. 2, p. 161-5, Jul 26 2010.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O treinamento físico de resistência diário leva a um aumento de força e afeta minimamente o peso corporal em ratos. O aumento de força observado está relacionado a uma maior proporção de fibras musculares puramente glicolíticas, entretanto músculos glicolíticos e oxidativos respondem de forma diferente ao treinamento de resistência. O modelo de treinamento físico utilizado neste estudo não afeta de forma crônica a expressão de genes para fatores neurotróficos. Ainda não sabemos se as adaptações neurais ao treinamento de resistência acontecem apenas no início do treinamento físico e as adaptações musculares cumprem a demanda do treinamento físico ou se continuam acontecendo durante todo o período de treinamento. No primeiro caso, seria necessário um constante aumento na expressão de genes para fatores neurotróficos para manter a demanda do treinamento. No segundo caso, a expressão de genes aumentaria no início do treinamento e depois se estabilizaria devido às adaptações neurais já serem suficientes para atender a demanda do treinamento. Estudos posteriores com imunohistoquímica e eletrofisiologia podem ser realizados, em diferentes períodos do treinamento, para avaliar se há adaptações na densidade neuronal e na transmissão sináptica causadas pelo treinamento de resistência nas estruturas motoras avaliadas neste estudo.

9. REFERÊNCIAS

9. REFERÊNCIAS

AAGAARD, P. *et al.* Neural adaptation to resistance training: changes in evoked V-wave and H-reflex responses. *J Appl Physiol*, v. 92, p. 2309-2318, 2002.

ALEVIZOPOULOS, A. *et al.* Regulation of the transforming growth factor beta-responsive transcription factor CTF-1 by calcineurin and calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV. *J Biol Chem*, v. 272, n. 38, p. 23597-605, Sep 19 1997.

BANZET, S. *et al.* Fibre-type specificity of interleukin-6 gene transcription during muscle contraction in rat: association with calcineurin activity. *J Physiol*, v. 566, n. Pt 3, p. 839-47, Aug 1 2005.

BASSEL-DUBY, R.; OLSON, E. N. Role of calcineurin in striated muscle: development, adaptation, and disease. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 311, n. 4, p. 1133-41, Nov 28 2003.

BOTTINELLI, R. *et al.* Force-velocity properties of human skeletal muscle fibres: myosin heavy chain isoform and temperature dependence. *J Physiol*, v. 495 (Pt 2), p. 573-86, Sep 1 1996.

BROOKE, M. H.; KAISER, K. K. Muscle fiber types: how many and what kind? *Arch Neurol*, v. 23, n. 4, p. 369-79, Oct 1970a.

_____. Three human myosin ATPase systems and their importance in muscle pathology. *Neurology*, v. 20, n. 4, p. 404-5, Apr 1970b.

BROOKER, G. J. *et al.* Endogenous IGF-1 regulates the neuronal differentiation of adult stem cells. *J Neurosci Res*, v. 59, n. 3, p. 332-41, Feb 1 2000.

CALDEIRA, M. V. *et al.* BDNF regulates the expression and traffic of NMDA receptors in cultured hippocampal neurons. *Mol Cell Neurosci*, v. 35, n. 2, p. 208-19, Jun 2007.

CAMPOS, G. E. *et al.* Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. *Eur J Appl Physiol*, v. 88, n. 1-2, p. 50-60, Nov 2002.

CARRO, E. *et al.* Circulating insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain. *J Neurosci*, v. 20, n. 8, p. 2926-33, Apr 15 2000.

_____. Circulating insulin-like growth factor I mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy. *J Neurosci*, v. 21, n. 15, p. 5678-84, Aug 1 2001.

CASPERSEN, C. J. *et al.* Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep*, v. 100, n. 2, p. 126-31, Mar-Apr 1985.

- CHIN, E. R. *et al.* A calcineurin-dependent transcriptional pathway controls skeletal muscle fiber type. *Genes Dev*, v. 12, n. 16, p. 2499-509, Aug 15 1998.
- DAFTARY, S. S.; GORE, A. C. IGF-1 in the brain as a regulator of reproductive neuroendocrine function. *Exp Biol Med (Maywood)*, v. 230, n. 5, p. 292-306, May 2005.
- DESCHENES, M. R. *et al.* Effects of resistance training on neuromuscular junction morphology. *Muscle Nerve*, v. 23, n. 10, p. 1576-81, Oct 2000.
- DUNCAN, N. D. *et al.* Adaptations in rat skeletal muscle following long-term resistance exercise training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, v. 77, n. 4, p. 372-8, Mar 1998.
- FINER, J. T. *et al.* Single myosin molecule mechanics: piconewton forces and nanometre steps. *Nature*, v. 368, n. 6467, p. 113-9, Mar 10 1994.
- FUNAKOSHI, H. *et al.* Muscle-derived neurotrophin-4 as an activity-dependent trophic signal for adult motor neurons. *Science*, v. 268, n. 5216, p. 1495-9, Jun 9 1995.
- GODFREY, J. K. *et al.* Interrupted resistance training and BMD in growing rats. *Int J Sports Med*, v. 30, n. 8, p. 579-84, Aug 2009.
- GOLDSHMIT, Y. *et al.* Treadmill training after spinal cord hemisection in mice promotes axonal sprouting and synapse formation and improves motor recovery. *J Neurotrauma*, v. 25, n. 5, p. 449-65, May 2008.
- GORSKI, J. A. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor is required for the maintenance of cortical dendrites. *J Neurosci*, v. 23, n. 17, p. 6856-65, Jul 30 2003.
- GOTO, K. *et al.* Muscular adaptations to combinations of high- and low-intensity resistance exercises. *J Strength Cond Res*, v. 18, n. 4, p. 730-7, Nov 2004.
- GRIFFIN, L.; CAFARELLI, E. Resistance training: cortical, spinal, and motor unit adaptations. *Can J Appl Physiol*, v. 30, n. 3, p. 328-40, Jun 2005.
- HARRIDGE, S. D. Plasticity of human skeletal muscle: gene expression to in vivo function. *Exp Physiol*, v. 92, n. 5, p. 783-97, Sep 2007.
- HOLM, L. *et al.* Changes in muscle size and MHC composition in response to resistance exercise with heavy and light loading intensity. *J Appl Physiol*, v. 105, n. 5, p. 1454-61, Nov 2008.
- HORNBERGER, T. A., JR.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol*, v. 29, n. 1, p. 16-31, Feb 2004.
- ILHA, J. *et al.* Endurance and resistance exercise training programs elicit specific effects on sciatic nerve regeneration after experimental traumatic lesion in rats. *Neurorehabil Neural Repair*, v. 22, n. 4, p. 355-66, Jul-Aug 2008.

KERNELL, D. Principles of force gradation in skeletal muscles. *Neural Plast*, v. 10, n. 1-2, p. 69-76, 2003.

KNAEPEN, K. *et al.* Neuroplasticity – Exercise-Induced Response of Peripheral Brain-Derived Neurotrophic Factor. *Sports Med 2010*, v. 40, n. 9, p. 765-801, 2010.

KRAEMER, W. J. *et al.* American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc*, v. 34, n. 2, p. 364-80, Feb 2002.

_____. Effects of a multi-nutrient supplement on exercise performance and hormonal responses to resistance exercise. *Eur J Appl Physiol*, v. 101, n. 5, p. 637-46, Nov 2007.

KRISAN, A. D. *et al.* Resistance training enhances components of the insulin signaling cascade in normal and high-fat-fed rodent skeletal muscle. *J Appl Physiol*, v. 96, n. 5, p. 1691-700, May 2004.

LEANDRO, C. G. *et al.* Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. *Eur J Nutr*, Oct 29 2011.

_____. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res*, v. 21, n. 3, p. 751-6, Aug 2007.

LEE, K. H. *et al.* Insulin-like growth factor-I (IGF-I) ameliorates and IGF binding protein-1 (IGFBP-1) exacerbates the effects of undernutrition on brain growth during early postnatal life: studies in IGF-I and IGFBP-1 transgenic mice. *Pediatr Res*, v. 45, n. 3, p. 331-6, Mar 1999.

LEE, S. *et al.* Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. *J Appl Physiol*, v. 96, n. 3, p. 1097-104, Mar 2004.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, v. 25, n. 4, p. 402-8, Dec 2001.

MATHENY, R. W. *et al.* Serum IGF-I-deficiency does not prevent compensatory skeletal muscle hypertrophy in resistance exercise. *Exp Biol Med (Maywood)*, v. 234, n. 2, p. 164-70, Feb 2009.

NAKAYAMA, M. *et al.* Common core sequences are found in skeletal muscle slow- and fast-fiber-type-specific regulatory elements. *Mol Cell Biol*, v. 16, n. 5, p. 2408-17, May 1996.

NEEPER, S. A. *et al.* Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res*, v. 726, n. 1-2, p. 49-56, Jul 8 1996.

O'SULLIVAN, D. C. *et al.* Regulation of IGF-I mRNA by GH: putative functions for class 1 and 2 message. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v. 283, n. 2, p. E251-8, Aug 2002.

- ROSE, A. J. *et al.* Ca²⁺-calmodulin-dependent protein kinase expression and signalling in skeletal muscle during exercise. *J Physiol*, v. 574, n. Pt 3, p. 889-903, Aug 1 2006.
- ROSS, A. *et al.* Neural influences on sprint running: training adaptations and acute responses. *Sports Med*, v. 31, n. 6, p. 409-25, 2001.
- ROTWEIN, P. *et al.* Differential expression of insulin-like growth factor genes in rat central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 85, n. 1, p. 265-9, Jan 1988.
- ROY, R. R. *et al.* Architectural and mechanical properties of the rat adductor longus: response to weight-lifting training. *Anat Rec*, v. 247, n. 2, p. 170-8, Feb 1997.
- SEIFERT, T. *et al.* Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 298, p. R372–R377, 2010.
- SMITH, J. A. *et al.* CaMK activation during exercise is required for histone hyperacetylation and MEF2A binding at the MEF2 site on the Glut4 gene. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v. 295, n. 3, p. E698-704, Sep 2008.
- SPANGENBURG, E. E.; BOOTH, F. W. Molecular regulation of individual skeletal muscle fibre types. *Acta Physiol Scand*, v. 178, n. 4, p. 413-24, Aug 2003.
- TOIGO, M.; BOUTELLIER, U. New fundamental resistance exercise determinants of molecular and cellular muscle adaptations. *Eur J Appl Physiol*, v. 97, n. 6, p. 643-63, Aug 2006.
- TOSCANO, A. E. *et al.* Effect of a low-protein diet during pregnancy on skeletal muscle mechanical properties of offspring rats. *Nutrition*, v. 24, n. 3, p. 270-8, Mar 2008.
- TRAPPE, S. *et al.* Single muscle fibre contractile properties in young and old men and women. *J Physiol*, v. 552, n. Pt 1, p. 47-58, Oct 1 2003.
- TSUDA, M. Cascade of gene expression induced by Ca²⁺ signals in neurons. *Neurochem Int*, v. 29, n. 5, p. 443-51, Nov 1996.
- VAYNMAN, S. *et al.* Interplay between brain-derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic-plasticity. *Neuroscience*, v. 122, n. 3, p. 647-57, 2003.
- WANG, V. Y.; ZOGHBI, H. Y. Genetic regulation of cerebellar development. *Nat Rev Neurosci*, v. 2, n. 7, p. 484-91, Jul 2001.
- WU, H. *et al.* Regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by CaMK. *Science*, v. 296, n. 5566, p. 349-52, Apr 12 2002.
- YAN, H. *et al.* Circulating IGF1 regulates hippocampal IGF1 levels and brain gene expression during adolescence. *J Endocrinol*, v. 211, n. 1, p. 27-37, Oct 2011.
- YARROW, J. F. *et al.* Training augments resistance exercise induced elevation of circulating brain derived neurotrophic factor (BDNF). *Neurosci Lett*, v. 479, n. 2, p. 161-5, Jul 26 2010.

9. ANEXOS

**Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas**

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Recife, 12 de maio de 2009

Ofício nº 145/09

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para: **Profª. Carol Virginia Góis Leandro**
Núcleo de Nutrição do Centro Acadêmico de Vitória
Processo nº 23076.005155 / 2009 – 09

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado *“Efeitos do treinamento de resistência de força sobre a morfologia de fibras musculares e parâmetros bioquímicos de ratos adultos submetidos à desnutrição protéica durante a gestação e lactação”*.

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,

Maria Tereza Jansen

 Prora. Maria Tereza Jansen
Presidente do CEEA

Observação:

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição; Animal; Ratos Wistar; Machos e Fêmeas; Idade: Adultos e filhotes do 1º ao 21º dia; Número de animais previsto no protocolo: 42 animais.

RECEBIDO EM / /
NOME:
ASSINATURA:



ISSN 1517-8692 *printed version*

ISSN 1806-9940 *versão on-line*

Manuscript outlining and preparation

The submitted article should be typed in double space, Arial 12 font, paper size A4 or letter, with sides of 2.5 cm, no numbered lines or paragraphs, and numbered pages on the right upper side. Figures and tables should be presented at the end of the article on separate pages, as well as the subtitles of the figures. Figures should be included in individual files. In the text body, the places for insertion of charts, tables and figures should be mentioned. The manuscripts which are not in accordance to the following instructions concerning style and format will be returned with no review by the Publishing Committee.

FILES FORMAT

- Concerning the text, the editor program used should be Microsoft Word for Windows or equivalent
- Do not send files in PDF format
- The figures should be in jpg or tif formats. They should be included in the Word file, but should be also sent separately (attached during the article's submission as supplementary document).

TABLES

The tables should be devised in space 1.5, and be planned to have width of one (8.7cm) or two columns (18cm). Each table should have a brief title; explanatory items should be at the foot. The table should contain means and dispersion measurements (SD, MSE, etc.), with no irrelevant decimal notations. The abbreviations should be in accordance to the ones used in the text and figures. The identification codes of the table items should be listed in order of appearance and horizontally and should be identified by the standard symbols.

FIGURES

Black & White photos or figures will be accepted. Colored figures can be published when they are essential to the scientific content of the article. In these cases, they will be on the authors' expenses. For details on colored illustrations, we ask to directly contact Atha Publishing House (atharbme@uol.com.br). Colored figures can be included in the electronic version of the article with no additional cost for the authors. The drawings of the figures should be consistent and as simple as possible. Do not use shades of grey. All lines should be solid. For charts with bars for instance, use white, black bars, with diagonal lines in the two directions, checked lines, horizontal and vertical lines. The RBME strongly discourages the use of photographs of equipments and animals. The figures should be printed with good contrast and width of one column (8.7cm) in total. Use fonts of at least 10 points for letters, numbers and symbols, with suitable spacing and alignment. When the figure represents an X-ray or photography, we suggest the inclusion of a size scale whenever relevant.

ARTICLES REVIEW

The articles review is habitually hired by the Editor from authors with recognized experience in the field. Review articles should approach specific topics with the aim to update information on the topics or specific issues in Medicine and Exercise and Sports Sciences for the less familiarized audience. The Publishing Committee will assess the quality of the article, the relevance of the chosen topic and the proved recognition of the authors in the specific approached field. Any inadequate items from the ones mentioned above will lead to refusal of the article by the editors, and it will not be sent for the review process by the pairs. The review article should have a maximum of thirty (30) pages and 100 (one hundred) references.

SYSTEMATIC REVIEW

The RBME encourages the authors to submit systematic review articles of the literature in the Medicine and Exercise and Sports Sciences fields. The Publishing Committee will evaluate the quality of the article, the relevance of the chosen topic, the search procedures and their inclusion criteria. In case any of the items mentioned above is inadequate, it will lead to refusal of the articles from the editors' side, and they

Comprovante de submissão do artigo a Revista Brasileira de Medicina do Esporte

#RBME-1182 Plasticidade musculoesquelética e neural: papel do treinamento de resistência

RESUMO	AVALIAÇÃO	EDIÇÃO
Submissão		
Autores	José Antonio dos Santos, Raul Manhães-de-Castro, Carol Virginia Gois Leandro	
Título	Plasticidade musculoesquelética e neural: papel do treinamento de resistência	
Documento original	RBME-1182-80807-408638-4-SM.DOC 2012-02-01	
Docs. sup.	RBME-1182-80807-408669-1-SP.JPG 2012- INCLUIR DOCUMENTO SUPLEMENTAR 02-01 RBME-1182-80807-411093-1-SP.JPG 2012- 02-07 RBME-1182-80807-411098-1-SP.JPG 2012- 02-07	
Submetido por	Dr. José Antonio dos Santos 	
Data de submissão	fevereiro 7, 2012 - 02:47	
Seção	Treinamento Físico - Artigo de Revisão	
Editor	Nenhum(a) designado(a)	
Situação		
Situação	Aguardando designação	
Iniciado	2012-02-07	
Última alteração	2012-02-07	