



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA-UnB  
FACULDADE DE CEILÂNDIA-FCE  
CURSO DE FISIOTERAPIA

AMANDA LIMA RUIVO

EFEITO DO ENVELHECIMENTO E DO  
TREINAMENTO DE FORÇA SOBRE A ATIVIDADE  
DA MMP-2 NO TECIDO ÓSSEO DE RATOS.

AMANDA LIMA RUIVO

EFEITO DO ENVELHECIMENTO E DO  
TREINAMENTO DE FORÇA SOBRE A ATIVIDADE  
DA MMP-2 NO TECIDO ÓSSEO DE RATOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Universidade de Brasília – UnB – Faculdade  
de Ceilândia como requisito parcial para  
obtenção do título de bacharel em Fisioterapia.  
Orientador (a): Dr. Rita de Cássia Marqueti  
Durigan  
Coorientador (a): Me. Ivo Vieira de Sousa  
Neto

BRASÍLIA  
2019

AMANDA LIMA RUIVO

EFEITO DO ENVELHECIMENTO E DO  
TREINAMENTO DE FORÇA SOBRE A ATIVIDADE  
DA MMP-2 NO TECIDO ÓSSEO DE RATOS

Brasília, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rita de Cássia Marqueti Durigan  
Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília-UnB  
Orientadora

---

Prof. Me. Fabrício Reichert Barin  
Universidade Paulista de Brasília - UNIP

---

Prof.Dr. Leonardo Petrus Paz  
Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília-UnB

## ***Dedicatória***

*Este trabalho é dedicado a aqueles que sempre sonharam meus sonhos comigo e tornaram eles possíveis: pais, amigos e professores.*

## **AGRADECIMENTOS**

*Os sonhos só fazem sentido quando são sonhados junto a alguém. A vitória é prazerosa quando se comemora com quem se ama.*

*Agradeço primeiramente a Deus, que permitiu cada conquista até aqui. Ele, que olhou por mim e por aqueles que eu amo;*

*Agradeço a minha família, pelo apoio e amor imensurável. Obrigada pai por sempre acreditar em mim. Obrigada ao meu irmão, que do jeito dele, sempre falou que eu ia conseguir. Obrigada mãe, por ser minha luz. Por me erguer tantas vezes, lutar minhas lutas, secar minhas lágrimas e me roubar sorrisos. Mãe, cada letra desse trabalho é dedicada a você que ouviu tantas vezes o que está aqui escrito, e mesmo sem entender, falava “está ótimo”! Eu te amo, mãe;*

*Agradeço também ao meu cachorro, doguinho. Pode parecer meio bobo, mas ele foi o melhor remédio que já encontrei para todo estresse, tristeza ou ansiedade. Obrigada, meu cãopanheiro!*

*Agradeço as minhas amigas da vida: Talita Magali, Caroline Lima e Isabelle Gomes, nosso grupo “Pra toda vida” não é por acaso. Obrigada por simplesmente serem vocês. Agradeço aos demais amigos: Letícia Reis, Kaio Andrade e entre outros, por permanecerem presentes após tantos anos e fases da vida;*

*Agradeço aos meus amigos de faculdade que fizeram a vida mais alegre nesses últimos 5 anos: Matheus Ferreira, Ayumi Kanashiro, Amanda Martins e Klaus Porto, sinto em lhes dizer que espero que vocês tenham que me aturar por mais uns aninhos, viu!? Agradeço aos amigos Hellora Fonseca, Cinthia Vieira, Luís Henrique, Vitor Gomes e demais;*

*Agradeço ao meu amigo de início de graduação, que me mostrou que podíamos ser mais do que isso, por toda paciência. Por sempre falar “não se abala com isso” e “vai dar tudo certo, amor”. Obrigada por me trazer calma, ou pelo menos tentar, em meio ao meu desespero.*

*Obrigada por ser meu ponto de paz. Obrigada, meu amor, André Bispo;*

*Agradeço a minha orientadora, Rita de Cássia, por me acolher no meu quarto semestre de graduação e caminhar comigo até aqui. Obrigada, Rita, por ser essa professora, pesquisadora e mulher incrível e semear em mim esse amor pela pesquisa. Minha graduação não seria a mesma sem você;*

*Agradeço ao grupo de pesquisa GPLAST por todas as oportunidades e todo conhecimento compartilhado, em especial ao integrante Ivo Sousa Neto, meu coorientador, que dividiu muitas horas de laboratório comigo e tanto me ensinou, e ao Fabrício, que me acolheu na minha primeira iniciação científica e me apresentou ao mundo do laboratório;*

*Agradeço aos demais professores que tornaram toda essa jornada possível e enriquecedora; Por fim, agradeço as agências de fomento FUB, CNPq, FAPDF pelo apoio financeiro como bolsas de Iniciação Científica e tutoria, além de auxílio para eventos científicos durante os anos de graduação.*

*Obrigada Universidade de Brasília, por me presentear com anos repletos de muita luta, aprendizados, responsabilidades e, principalmente, de muitas alegrias!*

## Epígrafe

*“Ninguém sabe a verdade, mas nunca será tarde,  
enquanto um problema for uma oportunidade (BRAZA).”*

## RESUMO

As metaloproteinases de matriz (MMPs) são endopeptidases de potencial regulatório da matriz extracelular. Durante o envelhecimento o osso sofre modificações tornando-o frágil, em contrapartida, o treinamento de força (TF) pode ser uma alternativa para reduzir tais efeitos do envelhecimento. **Objetivo:** Verificar o efeito do envelhecimento e do treinamento de força na atividade da MMP-2 em vértebras e fêmures de ratos. **Materiais e Métodos:** 20 ratos Wistar Novergicus Albinos, de 3 e 20 meses foram divididos em quatro grupos: Jovem Sedentário (JS), Velho Sedentário (VS), Jovem Treinado (JT) e Velho Treinado (VT). Os animais dos grupos treinados realizaram protocolo de TF. A atividade da MMP-2 das vértebras e fêmures foi avaliada por zimografia. **Resultados:** Com relação as vértebras, a MMP-2 pró apresentou maior atividade no grupo VT quando comparado com os demais grupos ( $p=0,001$ ). Ainda nas vértebras, a MMP-2 intermediária foi maior no grupo JT do que nos grupos VS ( $p=0,01$ ) e VT ( $p=0,01$ ), e a MMP-2 ativa foi maior em JS quando comparado em VS ( $p=0,01$ ) e VT ( $p=0,01$ ). Em relação ao fêmur, não houve diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre os grupos. A atividade da MMP-2 foi maior nas vértebras do que nos fêmures ( $p=0,001$ ). **Conclusão:** O envelhecimento parece ser um regulador negativo para a atividade da MMP-2 nas vértebras, não ocorrendo o mesmo com os fêmures. O TF não foi capaz de aumentar a atividade da MMP-2 nos ossos analisados. (Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de São Carlos (processo nº: 056/2010)).

**PALAVRAS CHAVES:** Osso e Ossos, Envelhecimento, Exercício, Metaloproteinase 2 de Matriz

## ABSTRACT

The matrix metalloproteinases (MMPs) are endopeptidases with regulatory potential at the extracellular matrix. During aging bones undergoes modifications making it fragile, in contrast, strength training (ST) could be an alternative to reduce the effects of aging. **Objective:** To verify the effect of aging and strength training on MMP-2 activity in vertebrae and femurs of rats. **Materials and Methods:** Twenty Albino Wistar rats (*Rattus Norvegicus*), aged 3 and 20 months, were divided into four groups: Sedentary Youth (SY), Sedentary Older (SO), Young Trained (YT) and Old Trained (OT). The animals of the trained groups performed the TF protocol. The MMP-2 activity of the vertebrae and femurs was analyzed by zymography. **Results:** Regarding the vertebrae, MMP-2 pro presented greater activity in the OT group when compared with other groups ( $p=0,001$ ). In the vertebrae, intermediate MMP-2 was higher in the YT group than in the SO ( $p=0,01$ ) and OT ( $p=0,01$ ) groups, and the active MMP-2 was higher in SY when compared in SO ( $p=0,01$ ) and OT ( $p=0,01$ ). Regarding the femur, there was no significant difference ( $p<0,05$ ) between the groups. The activity of MMP-2 was higher in the vertebrae than in the femurs ( $p=0,001$ ). **Conclusion:** Aging seems to be a negative regulator for MMP-2 activity in the vertebrae, not the same with femurs. ST was not able to increase MMP-2 activity in the analyzed bones. (Approved by the Animal Research Ethics Committee of the Federal University of São Carlos (case n°: 056/2010)).

**KEYWORDS:** Bone and Bones, Aging, Exercise, Matrix Metalloproteinase 2

## **LISTA DE TABELAS E FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> Efeitos do treinamento de força e envelhecimento sobre a intensidade das bandas Pro (latente), intermédias e ativas de MMP-2 na vértebra.....	<b>16</b>
<b>Figura 2.</b> Efeitos do treinamento de força e envelhecimento sobre a intensidade das bandas Pro (latente), intermédias e ativas de MMP-2 no fêmur.....	<b>17</b>
<b>Figura 3.</b> Comparação das intensidade das bandas pró (latente) e ativas de MMP-2 entre vértebras e fêmures .....	<b>18</b>

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**DMO:** Densidade Mineral óssea

**IGF-1:** Insulina-1

**MEC:** Matriz extracelular

**MMPs:** Metaloproteinases

**MMP-2:** Metaloproteinase 2

**MMP-2 ativa:** Isoforma ativa da metaloproteinase 2

**MMP-2 intermediária:** Isoforma intermediária da metaloproteinase 2

**MMP-2 pró:** Isoforma latente da metaloproteinase 2

**MMP-9:** Metaloproteinase 9

**TGF- $\beta$ :** Fator de crescimento transformador  $\beta$

**TF:** Treinamento de Força

**TIMP-2:** Inibidor tecidual da metaloproteinase 2

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	11
2. OBJETIVOS .....	12
2.1. Objetivo geral .....	12
2.2. Objetivos específicos .....	12
3. METODOLOGIA .....	13
3.1. Animais e Grupos experimentais.....	13
3.2. Treinamento de Força (TF).....	13
3.3. Euthanasia.....	14
3.4. Determinação da atividade das MMPs por zimografia.....	14
3.5. Análise estatística.....	14
4. RESULTADOS .....	15
5. DISCUSSÃO .....	18
6. CONCLUSÃO .....	21
REFERÊNCIAS .....	22
ANEXOS .....	26
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética.....	26
ANEXO B – Normas da Revista Científica .....	27



## 1. INTRODUÇÃO

A formação do tecido ósseo ocorre ao longo da vida por meio de processos de modelamento (formação óssea) e remodelamento (substituição do osso anterior), sendo o primeiro mais presente na infância, e o segundo mais predominante durante a vida adulta <sup>1-3</sup>. Os osteoblastos, responsáveis pela formação óssea, e os osteoclastos, que absorvem o tecido ósseo danificado, devem atuar em equilíbrio para que se mantenha a homeostase óssea <sup>4</sup>. O desequilíbrio entre os processos de absorção e formação óssea afetam a qualidade do osso e podem gerar enfermidades <sup>3,5</sup>.

A partir da quarta década de vida, ocorre o aumento da porosidade cortical óssea, afinamento das trabéculas e perda da conectividade trabecular <sup>6</sup>. Tais alterações ocorrem possivelmente devido a alterações celulares, como a redução dos precursores celulares de osteoblastos e o aumento da apoptose pelos osteócitos<sup>7</sup>. Com o avançar da idade o colágeno tipo I, o mais abundante no osso, <sup>8</sup> sofre o processo de mineralização, e essas estruturas precisam ser degradadas pela atividade das metaloproteinases (MMPs)<sup>9</sup>. As MMPs são endopeptidases dependentes de cálcio ou zinco, com a capacidade de modelar a matriz extracelular (MEC). Quando ativas, as MMPs podem se ligar a muitos alvos proteolíticos na MEC, incluindo; colágeno, fibronectina, laminina e proteoglicanos <sup>10-12</sup>, bem como, podem se ligar à moléculas da superfície celular e proteínas pericelulares não relacionadas a MEC <sup>3</sup>. Atualmente são conhecidas 23 endopeptidases em humanos, consideradas importantes componentes para a regulação da homeostase tecidual <sup>13</sup>.

A atividade das gelatinases, que compreendem a MMP-2 e a MMP-9, é estudada no tecido muscular <sup>11,12</sup>, tendíneo <sup>9</sup> e ósseo <sup>8,14</sup>. No osso, as MMPs estão envolvidas com a reabsorção osteoclástica <sup>15</sup>. Também conhecidas como gelatinases A e B, as MMP-2 e as MMP-9, respectivamente, são responsáveis pela degradação de vários tipos de colágenos <sup>12,16</sup>, um processo necessário para o crescimento tecidual, enquanto a declínio da atividade da MMP-2, por exemplo, está relacionada com a destruição óssea, favorecendo muitas condições patológicas como a osteoporose e a osteoartrite <sup>14</sup>.

A atividade da MMP-2 provavelmente está associada a mineralização óssea, aumentando a resistência desse tecido <sup>17</sup>. Estudos com ratos nulos à síntese da MMP-2 demonstraram aumento da porosidade óssea e, conseqüentemente, maior suscetibilidade a fratura<sup>17</sup>. As MMPs podem influenciar o turnover e o remodelamento ósseo atuando em processos de proteínas não colagênicas, como fatores de crescimento e citocinas, regulando,

por exemplo, a biodisponibilidade e a bioatividade do fator de crescimento transformador do tipo  $\beta$  (TGF- $\beta$ )<sup>17</sup>.

O TF é capaz de aumentar a atividade da gelatinase MMP-2. Shiguemoto e colaboradores<sup>8</sup> relataram que o TF aumentou a atividade da MMP-2 em tíbias de ratas ovarioetomizadas e intactas. Não obstante, Souza et al<sup>14</sup> demonstraram resultados semelhantes ao observar o mesmo desfecho em tíbias de ratas que realizaram TF e foram expostas ou não a reposição hormonal. O aumento da atividade da MMP-2, no estudo de Shiguemoto e colaboradores<sup>8</sup>, foi acompanhado por mudanças significativas e positivas nas propriedades físicas, biomecânicas e biométricas, demonstrando o fator protetivo do TF em relação a atividade da MMP-2 no osso.

Considerando que os ossos possuem classificações e composições diferentes, e são modelados constantemente ao longo da vida, como forma de adaptação as forças biomecânicas sofridas que subsistem sob estresses mecânicos com maior ou menor intensidade<sup>18</sup>, são essenciais estudos que avaliem a atividade da MMP-2 nos diferentes ossos em resposta ao TF. Esta informação é relevante para elucidar os mecanismos regulatórios promovidos pelo TF e esclarecer como diferentes ossos podem ser beneficiados pelo exercício físico controlado. Ademais, as alterações na atividade da MMP-2 pode ser um fator protetivo para o tecido ósseo durante o processo de envelhecimento.

O objetivo desse trabalho foi verificar o efeito do envelhecimento e do TF sobre atividade da MMP-2 em vértebras e fêmures de ratos. Nossa hipótese inicial é que o envelhecimento provoque alterações, diminuindo a atividade da MMP-2, decorrente das modificações das propriedades da MEC com o avançar da idade. Por outro lado, espera-se que o TF promova o aumento dessa endopeptidase, contrapondo os efeitos negativos do envelhecimento na atividade da MMP-2 no osso.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

O objetivo geral desse estudo foi verificar o efeito do envelhecimento e do TF sobre a atividade da MMP-2 nos fêmures e vértebras, de ratos.

### **2.2 Objetivo Específico**

Verificar o efeito do envelhecimento e do TF sobre a atividade da MMP-2 nas isoformas pró, intermediária e ativa da MMP-2.

Comparar a atividade das isoformas da MMP-2 entre vértebras e fêmures nos

diferentes grupos.

### 3. MÉTODOS

#### 3.1 *Animais e Grupos Experimentais:*

A amostra foi composta por 20 ratos, *Wistar novergicus albinos* de 3 (jovens, n = 10) e 20 meses (velhos, n = 10), provenientes do Biotério do Laboratório de Fisiologia do Exercício da UNESP, onde os animais foram mantidos com água e comida controladas. Todo o experimento seguiu as normas internacionais de ética na experimentação animal (National Research Council, 1996). A classificação entre “jovens” e “velhos” se deu de acordo com o estudo de Quinn <sup>19</sup>, que determinou que o envelhecimento no rato se inicia após o período de senescência, com cerca de 20 meses, e estende-se até a morte.

Os ratos foram randomizados e distribuídos em quatro grupos experimentais: Jovem Sedentário (JS), Velho Sedentário (VS), Jovem Treinado (JT) e Velho Treinados (VT), onde cada grupo foi composto por 5 animais.

Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com os princípios e procedimentos de cuidado com o uso de animais laboratoriais dos Estados Unidos da América (National Research Council's, 1996) e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de São Carlos (processo nº: 056/2010).

#### 3.2 *Treinamento de Força (TF):*

Os animais dos grupos sedentários foram mantidos sem TF, enquanto os grupos treinados realizaram um protocolo adaptado do treinamento já proposto por Hornberger & Farrar, 2004 <sup>20</sup>.

O treinamento de força de 12 semanas foi realizado uma vez a cada dois dias. Inicialmente, os ratos foram adaptados ao protocolo de treinamento de força onde os animais escalaram uma escada vertical (1,1 x 0,18 m, degrau de 2-cm, inclinação de 80°) com pesos presos as suas caudas. O tamanho da escada fez com que os animais realizassem 8-12 movimentos por escalada. O aparato de carga foi preso na porção proximal da cauda com uma fita auto-adesiva. Com o aparato fixado à cauda, os ratos foram colocados na parte inferior da escada e familiarizados com a mesma. Caso necessário, um estímulo com pinça foi aplicado na cauda do animal para iniciar o movimento. No topo da escada os ratos chegaram a uma casinha (20 x 20 x 20 cm) onde descansaram durante 2 minutos. Este procedimento foi repetido até que os animais conseguissem voluntariamente escalar a escada, três vezes consecutivas, sem estímulo. Três dias após esta familiarização, a primeira sessão de

treinamento consistiu de 4-8 escaladas na escada com cargas progressivamente mais pesadas. A escalada inicial consistiu em carregar uma carga de 75% do peso corporal do animal. Em seguida, foi adicionado um peso de 30g até uma carga com a qual o animal não conseguisse escalar toda a escada. A falha em escalar foi determinada quando o rato não conseguisse progredir na subida da escada após três estímulos sucessivos na cauda. A maior carga carregada por toda a escalada foi considerada como a capacidade máxima de carregamento do rato para aquela sessão de treinamento. As sessões de treinamento consistiram de quatro escaladas na escada, com 65%, 85%, 95% e 100% da capacidade máxima de carregamento do animal, determinada na sessão anterior. Durante as escaladas subsequentes foram adicionados 30g até que uma nova capacidade máxima de carregamento fosse determinada. O protocolo de treinamento de força apresentou metodologia similar aos usados em humanos e foi adaptada de Hornerberg e Farrar (2004) <sup>20</sup>.

### ***3.3 Euthanasia:***

Após 48 h do término do período experimental, todos os procedimentos experimentais foram realizados com os animais anestesiados, utilizando-se injeção intraperitoneal de solução de xilazina (12 mg/Kg/peso corporal) e quetamina (95 mg/Kg/peso corporal). Após, os animais foram posicionados em uma mesa cirúrgica em decúbito dorsal, com as patas presas e mantidas em extensão, para assim efetuar a retirada do fêmur direito e da sexta vértebra lombar (L6). As amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e estocadas em freezer a -80 °C até a realização das análises.

### ***3.4 Determinação da atividade das MMPs por zimografia:***

A determinação das MMPs foi realizada por um protocolo de zimografia adaptado de Marqueti et. al. (2008). A zimografia ocorreu por eletroforese em gel de acrilamida, SDS 10% e gelatina (1mg/ml). Após a corrida, os géis foram lavados em tampão de lavagem (2,5% de Triton X-100) 2 vezes para remoção do SDS. Os géis foram incubados por 20 horas em estufa a 37°C mergulhados em tampão de substrato (Tris-HCl 50mM pH 8,0, CaCl<sub>2</sub> 2.5mM; Na<sub>3</sub>N 0,02% e ZnCl<sub>2</sub> 10 mM). Após este tempo, os géis foram corados com Coomassie Blue Brilliant R-250 (Bio-Rad) e descorados com ácido acético: metanol: água (1:4:5) para visualização das áreas de atividade. O equipamento ImageMaster 2D Platinum v7.0 (GeneBio) foi utilizado para scanear, visualizar a atividade proteolítica e realizar a análise densitométrica das bandas encontradas em cada gel.

### ***3.5 Análise estatística:***

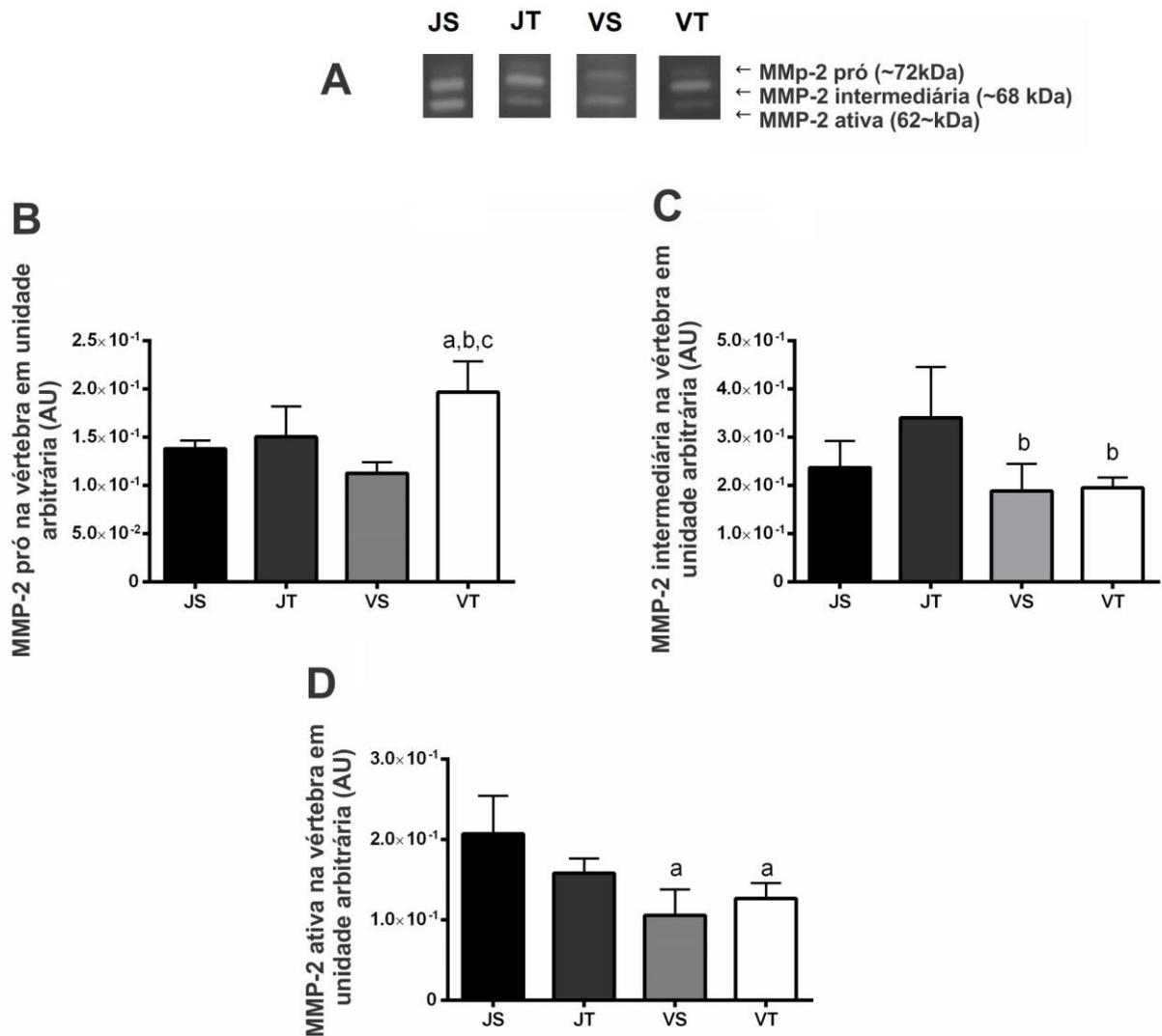
Os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão (SD). A normalidade dos dados foi determinada pelo teste de Shapiro-Wilk e teste de Levene foi utilizado para analisar

a homogeneidade da variância. Todas as variáveis apresentaram distribuição normal e homogeneidade. Uma ANOVA de dois fatores (treinamento versus idade) foi usada para comparação entre grupos da atividade da MMP-2. Quando uma diferença significativa foi detectada, um teste post hoc de Tukey foi aplicado para identificar as diferenças. Um teste t independente foi aplicado para determinar diferenças da atividade pró MMP-2 e ativa MMP-2 entre os tecidos. Um nível alfa de  $p \leq 0,05$  foi considerado significativo. Foi utilizado o software GraphPad Prism 6.0 (Sandiego, California) para as análises estatísticas e elaboração dos gráficos.

#### 4. RESULTADOS

Com relação a MMP-2 nas vértebras, o grupo VT apresentou maior atividade da MMP-2 pró quando comparado com os grupos JS ( $p=0,001$ ) JT ( $p=0,001$ ) e VS ( $p=0,001$ ). Porém essa maior atividade da MMP-2 do grupo VT com os demais grupos não foi observada quando analisada nas isoformas intermediária e ativa da MMP-2. O grupo JT apresentou maior atividade da MMP-2 intermediária quando comparado com os grupos VS ( $p=0,01$ ) e VT ( $p=0,01$ ) O grupo JS também demonstrou maior atividade da MMP-2 ativa quando comparado com os grupos VS ( $p=0,01$ ) e VT ( $p=0,01$ ). A figura 1 mostra a atividade da MMP-2 em suas isoformas pró, intermediária e ativa nas vértebras.

**Figura 1.** Efeitos do treinamento de força e envelhecimento sobre a intensidade das bandas pró (latente), intermédia e ativa de MMP-2 nas vértebras (L6).

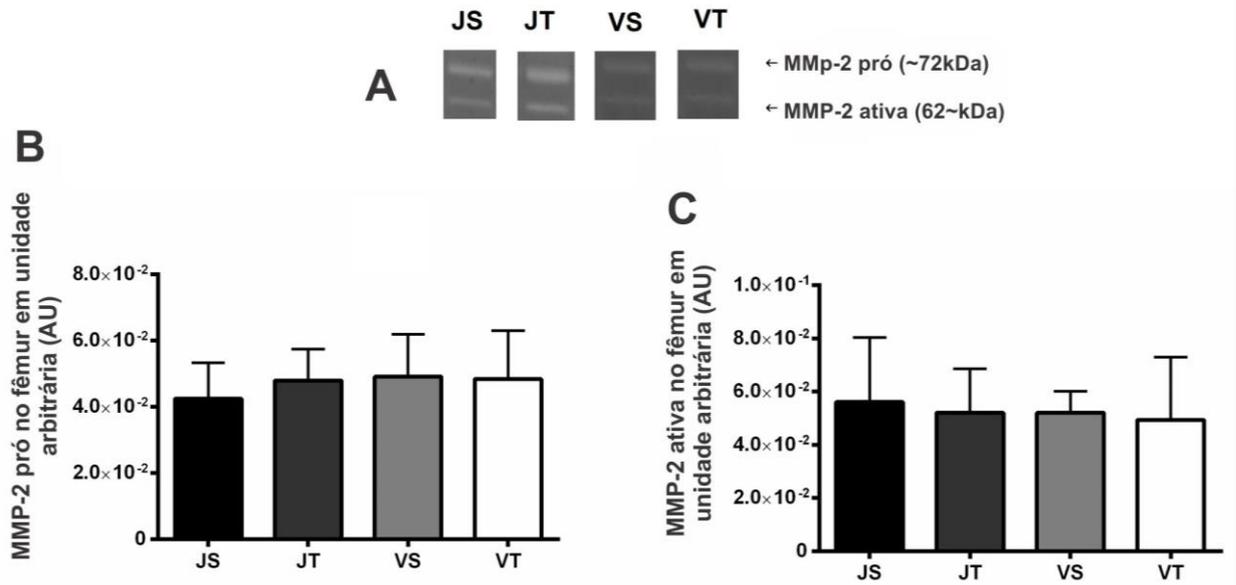


**Figura 1.** Densitometria das isoformas da MMP-2 na vertebra em unidades arbitrárias (UA).

**A)** Géis demonstrando as bandas representativas de zimografia nos diferentes grupos experimentais. **B)** Representação gráfica da atividade Pro (~72 kDa), **C)** intermediária (~68 kDa), **D)** MMP-2 ativa (~62 kDa). Os valores são apresentados como médias ± DP;  $p < 0,05$  ( $n = 5$  por grupo). JS= Jovem Sedentário; JT= Jovem Treinado; VS= Velho Treinado; VT= Velho Treinado. Diferenças significativas comparadas com: <sup>a</sup> JS, <sup>b</sup> JT, <sup>c</sup> VS.

Com relação ao fêmur, a isoforma intermediária da MMP-2 não teve atividade aparente, não sendo possível a sua análise. Em relação as isoformas pró e ativa da MMP-2 no fêmur, não foram encontradas diferenças os grupos analisados (figura 2).

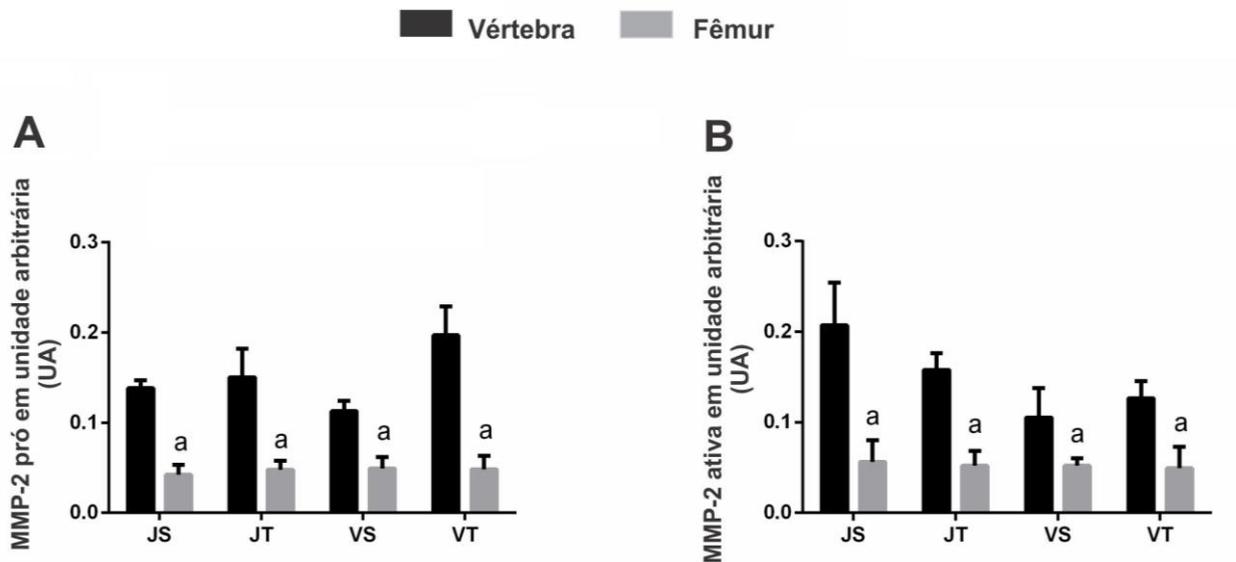
**Figura 2.** Efeitos do treinamento de força e do envelhecimento sobre a intensidade das bandas pró (latente), intermédia e ativa de MMP-2 no fêmur.



**Figura 2.** Densitometria das isoformas da MMP-2 no fêmur em unidades arbitrárias. **A)** Géis demonstrando as bandas representativas de zimografia nos diferentes grupos experimentais. **B)** Representação gráfica da atividade Pro (~72 kDa), **C)** MMP-2 ativa (~62 kDa). Os valores são apresentados como médias  $\pm$  DP;  $p < 0,05$  ( $n = 5$  por grupo). JS= Jovem Sedentário; JT= Jovem Treinado; VS= Velho Treinado; VT= Velho Treinado.

Considerando a atividade proteolítica entre os dois ossos avaliados, a vértebra apresentou maior atividade da MMP-2, nas isoformas pró e intermediária, quando comparada ao fêmur (figura 3). A comparação entre vértebra e fêmur mostrou diferença significativa em todas as análises intergrupos, JS x JS, VS x VS, JT x JT e VT x VT ( $p = 0,001$ ). A análise comparativa da isoforma intermediária MMP-2 entre vértebras e fêmur não foi realizada pela ausência dessa isoforma no fêmur.

**Figura 3.** Comparação das intensidade das bandas pró (latente) e ativas da MMP-2 entre vértebras e fêmures



**Figura 3.** A) Representação gráfica da atividade Pro (~72 kDa) em fêmures e vertebras em unidades arbitrárias, B) MMP-2 ativa (~62 kDa) em fêmures e vertebras em unidades arbitrárias. Os valores são apresentados como médias  $\pm$  DP;  $p < 0,05$  ( $n = 5$  por grupo). JS= Jovem Sedentário; JT= Jovem Treinado; VS= Velho Treinado; VT= Velho Treinado. Diferenças significativas comparadas com: <sup>a</sup> Vértebra.

## 5. DISCUSSÃO

Esse estudo investigou o efeito do TF em ratos velhos sobre a atividade da MMP-2 em vértebras e fêmures de ratos. Os resultados mostraram que o envelhecimento diminuiu a atividade da MMP-2 em suas isoformas intermediária e ativa nas vértebras, enquanto nos fêmures, não houve diferença em nenhuma das isoformas. Ao contrário das isoformas intermediária e ativa na vértebra, a MMP-2 pró mostrou-se maior no grupo VT quando comparado com os demais grupos, JS, JT e VS, demonstrando que o TF foi capaz de aumentar a atividade da pró MMP-2 no grupo velho, fato que não ocorreu em nenhum outro grupo. Outro resultado significativo é a alta atividade da MMP-2 na vértebra comparada com o fêmur, independente do grupo analisado, a atividade da MMP-2, minimamente 100% maior nas vértebras do que nos fêmures.

Apesar de alguns estudos demonstrarem o aumento da atividade da MMP-2 durante o envelhecimento em tenócitos <sup>21</sup>, na aorta <sup>22</sup>, na MEC renal <sup>23</sup>, e no gastrocnêmio, <sup>24</sup>

no nosso trabalho, o envelhecimento mostrou-se como regulador negativo da atividade da intermediária e ativa MMP-2 nas vértebras, considerando que a MMP-2 ativa é a isoforma mais importante para a preservação da massa óssea<sup>8</sup>. A degradação do colágeno pode ser limitada pela baixa atividade da MMP-2, ocasionando o aumento das ligações cruzadas do colágeno que diminuem as propriedades biofísicas e mecânicas do osso<sup>8</sup>. A diminuição da atividade da MMP-2 favorece a destruição óssea provocando uma condição clínica semelhante à da osteopenia e da osteoporose, e em casos mais graves, a osteogênese imperfeita<sup>8</sup>.

O avançar da idade acarreta alterações fisiológicas no tecido ósseo, sendo a diminuição da densidade mineral óssea (DMO) comumente encontrada na população idosa, aumentando o risco de fraturas<sup>25</sup>. Um estudo comparando a DMO da tíbia de ratos jovens (5 meses) e ratos velhos (23 meses), apontou uma menor DMO no osso dos ratos envelhecidos, além de uma menor fração de volume ósseo e número de trabéculas<sup>7</sup>. Nesse contexto, o processo de mineralização óssea parece estar associado ao papel da MMP-2 e da MMP-9. Essas gelatinases são capazes de formar espaços na MEC permitindo a troca de íons, fosforilação extracelular das proteínas e recrutamento de osteoblastos para formação de uma rede canicular eficiente<sup>15,17</sup>. O estudo de Nyman et al<sup>17</sup>, demonstrou que ratos com deficiência de MMP-2 apresentaram menor DMO, quando comparado com ratos intactos. Essa diminuição da atividade da MMP-2 no tecido ósseo poderia explicar a perda da DMO em idosos, resultando na maior susceptibilidade de fratura e doenças ósseas. Outro fato que pode levar a fragilidade óssea pela redução da atividade da MMP-2, é que essa peptidase está envolvida no processamento do colágeno tipo I e seus derivados, que são componentes responsáveis pela capacidade do osso em dissipar energia à medida da falha, ou seja, resistir ao estresse<sup>17</sup>.

Assim como a diminuição da DMO está relacionada com doenças, como a osteoporose, o grau elevado de mineralização, aumenta a rigidez óssea, deixa-o mais frágil<sup>7</sup>. Esse fato demonstra a importância do equilíbrio da atividade das MMPs, uma vez que essas atuam como sintetizadoras de componentes da MEC<sup>10-12</sup>.

Alguns estudos relatam que o exercício aumenta a qualidade óssea, incluindo o aumento da DMO por meio do efeito piezelétrico. As ações mecânicas geram uma diferença de energia no osso, estimulando a atividade celular e deposição de minerais<sup>26</sup>, mediada pela liberação de fator de crescimento semelhante a IGF-1 (insulina-1) pelos osteoblastos<sup>14</sup>. Porém, o processo fisiológico pelo qual isso ocorre e seu impacto no osso não é totalmente esclarecido<sup>26,27</sup>. Os nossos achados acerca dos efeitos do TF sobre a atividade da MMP-2 são

opostos aos achados de Shiguemoto e colaboradores <sup>8</sup> que utilizaram o mesmo protocolo de intervenção e concluíram que o TF é capaz de aumentar a atividade da MMP-2 na tíbia de ratas ovariectomizadas. Resultado similar foi encontrado por Souza, et al <sup>14</sup> quando analisado o efeito do TF de 12 semanas na atividade da MMP-2 na tíbia em ratas ovariectomizadas que realizaram reposição hormonal. Porém, nenhum estudo observou como o TF pode afetar a atividade da MMP-2 em vértebras ou fêmures.

A reposição hormonal favorece a ativação de biomarcadores de formação óssea, aumentando o número de osteoclastos e a reabsorção do osso. O aumento do remodelamento ósseo, em função da reposição hormonal, contribui com a atividade da MMP-2, esse fato poderia influenciar o aumento da atividade da MMP-2 na tíbia das ratas após o TF no estudo de Souza et al <sup>14</sup>. Outro fator que difere o estudo de Shiguemoto et al <sup>8</sup> e Souza et al <sup>14</sup> do nosso estudo é o envelhecimento, que diminui a capacidade de remodelamento ósseo em resposta ao exercício, tornando a adaptabilidade do osso insuficiente <sup>28</sup>.

As regiões ósseas mais próximas do solo, caracterizadas como regiões distais, são sobrecarregadas diretamente, sofrendo maior resposta anabólica ao exercício, assim como, possuem maior resposta catabólica com o desuso <sup>29</sup>. Possivelmente o estresse mecânico sofrido pela tíbia pelo TF, não tenha impacto similar na vértebra ou no fêmur.

Outro achado relevante no nosso estudo foi a diferença entre a atividade da MMP-2 na vértebra e no fêmur. O tecido ósseo exibe heterogeneidade substancial entre os locais anatômicos <sup>30</sup>. O fêmur e a vértebra apresentam classificações e composições diferentes, o primeiro classifica-se como osso longo, enquanto a vértebra é classificada como osso irregular e composição distinta. Os corpos vertebrais lombares são predominantemente constituídos de osso trabecular e cortical, sendo essa proporção de 3:1. Quando avaliada a proporção de osso trabecular e cortical na cabeça do fêmur, essa relação mostra-se 1:1, ou seja, a cabeça do fêmur é formada igualmente por osso trabecular e cortical. Os ossos trabeculares apresentam uma rede que se assemelha a um favo de mel, enquanto os ossos corticais são densos e sólidos <sup>18</sup>.

Essa diferença na composição óssea entre vértebras e fêmures poderia explicar a maior atividade da MMP-2 em vértebras, uma vez que o osso trabecular é mais ativo metabolicamente que o osso cortical <sup>26,18</sup>. A taxa de turnover trabecular também se mostra maior para que ocorra uma melhor manutenção da força mecânica <sup>18</sup>. Por serem mais ativos, os ossos que compõem as vértebras apresentam melhor resposta ao exercício, isso explicaria o aumento da MMP-2 pró no grupo VT comparado com o grupo VS.

Uma das limitações do nosso estudo foi não investigar a atividade dos inibidores teciduais da MMP-2 (TIMP-2), uma vez que o balanço entre a MMP-2 e o TIMP-2 tem papel fundamental na manutenção da MEC <sup>31</sup>, e uma inibição em larga escala provavelmente acarretaria alterações na arquitetura, estrutura e composição óssea. Também não foram avaliadas as alterações morfológicas dos ossos em nosso estudo o que ajudaria a verificar a condição estrutural desse tecido.

## **6. CONCLUSÃO**

O envelhecimento mostrou-se como regulador negativo para atividade da MMP-2 nas vértebras de ratos, o que poderia ser mais um fator associado a fragilidade óssea na velhice. Apesar dos estudos demonstrarem que os benefícios do exercício, em nosso estudo o TF não foi capaz de atenuar os efeitos deletérios do envelhecimento, ou seja, atenuar diminuição da atividade da MMP-2. Também não ocorreu o aumento da atividade da MMP-2 no grupo jovem, em nenhum dos ossos analisados, após o TF. Os ossos analisados nesse estudo, parecem não responder ao estímulo provocado pelo modelo de TF utilizado. Foi possível concluir que a atividade da MMP-2 nas vértebras é expressivamente maior do que no fêmur, tanto em ratos jovens quanto em ratos velhos submetidos ou não a um TF.

## REFERÊNCIAS

1. Cawston TE, Young DA. Proteinases involved in matrix turnover during cartilage and bone breakdown. *Cell Tissue Res.* 2010; 339(1): 221.
2. Katsimbri, P. The biology of normal bone remodelling. *Eur J Cancer Care.* 2017; 26(6): 12740.
3. Paiva KB, Granjeiro JM. Bone tissue remodeling and development: focus on matrix metalloproteinase functions. *Arch Biochem Biophys.* 2014; 561: 74-87.
4. Prideaux M, Findlay DM, Atkins GJ. Osteocytes: the master cells in bone remodelling. *Curr Opin Pharmacol.* 2016; 28: 24-30.
5. Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *BioMed Res Int.* 2015; 2015.
6. Demontiero O, Vidal C, Duque G. Envelhecimento e perda óssea: novos insights para o clínico. *Ther Adv Musculoskelet Dis .* 2012; 4 (2): 61–76.
7. Boskey AL, Coleman R. Aging and Bone. *J Dent Res.* 2010; 89(12): 1333–1348.
8. Shiguemoto GE, Prestes J, Leite RD, Pereira GB, Pontes CLS, D'avila FV, et al. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. *J Med Sci Spor.* 2010; 22(5): 607-617.
9. Yu TY, Pang JHS, Wu KPH, Chen MJ, Chen CH, Tsai WC. Aging is associated with increased activities of matrix metalloproteinase-2 and-9 in tenocytes. *Bmc Musculoskel Dis.* 2013; 14(1); 2.
10. Deus APL, Bassi D, Simoes RP, Oliveira CR, Baldissera V, Marqueti RC, et al. MMP- 2 expression in skeletal muscle after strength training. *Inter J Sports Med.* 2012; 33(02): 137-141.

11. Presti RL, Hopps E, Caimi G. Gelatinases and physical exercise: a systematic review of evidence from human studies. *Medicine*. 2017; 96(37).
12. de Sousa Neto IV, Tibana RA, da Cunha Nascimento D, Vieira DCL, Durigan JLQ, Pereira GB, et al. Effects of resistance training volume on MMPs in circulation, muscle and adipose tissue. *Int J Sport Med*. 2017; 38(04): 307-313.
13. Bauvois B. New facets of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 as cell surface transducers: outside-in signaling and relationship to tumor progression. *Biochimica et Biophys Acta (BBA)-Rev Cancer*. 2012; 1825(1); 29-36.
14. Souza MV, Lino A, Ruffoni LG, Domingos MM, Barbosa MR, Rodrigues MFC, et al. Resistance training and hormone replacement increase MMP-2 activity, quality and quantity of bone in ovariectomized rats. *Motriz: Rev Educ Fís*. 2017; 23(4).
15. Inoue K, Mikuni-Takagaki Y, Oikawa K, Itoh T, Inada M, Noguchi T, et al. A crucial role for matrix metalloproteinase 2 in osteocytic canalicular formation and bone metabolism. *J Biol Chem*. 2006; 281(44): 33814-24.
16. Nissinen L, Kähäri VM. Matrix metalloproteinases in inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014; 1840 (8): 2571-2580.
17. Nyman JS, Lynch CC, Perrien DS, Thiolloy S, O'Quinn EC, Patil CA, et al. Differential effects between the loss of MMP-2 and MMP-9 on structural and tissue-level properties of bone. *J Bone Miner Res*. 2011; 26(6): 1252-1260.
18. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin. J. Am Soc Nephro*. 2008; 3(3): 131-9.
19. Quinn R. Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years?. *Nutrition*. 2005; 21(6): 775.

20. Hornberger JR, Troy A, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Canadian journal of applied physiology*. 2004; 29(1): 16-31.
21. Yu TY, Pang JHS, Wu KPH, Chen MJ, Chen CH, Tsai WC. Aging is associated with increased activities of matrix metalloproteinase-2 and-9 in tenocytes. *Bmc Musculoskel Dis*. 2013; 14(1): 2.
22. McNulty M, Spiers P, McGovern E, Feely J. Aging is associated with increased matrix metalloproteinase-2 activity in the human aorta. *Am J Hypertens* 2005; 18(4): 504-9.
23. Kim KM, Chung KW, Jeong HO, Lee B, Kim DH, Park JW, et al. MMP2-A2M interaction increases ECM accumulation in aged rat kidney and its modulation by calorie restriction. *Oncotarget*. 2018; 9(5): 5588.
24. de Sousa Neto IV, Durigan JL, Guzzoni V, Tibana RA, Prestes J, de Araujo HSS, Marqueti RDC. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase activity in skeletal muscles and blood circulation during aging. *Front Physiol*. 2018; 9: 190
25. Grzibovskis M, Pilmane M, Urtane I. Today's understanding about bone aging. *Stomatologija*. 2010; 12(4): 99-104.
26. Cadore EL, Brentano MA, Kruel LMF. Effects of the physical activity on the bone mineral density and bone remodeling. *Rev Bras Med Esporte*. 2005; 11(6): 373-9
27. Renno ACM, Faganello FR, De Moura FM, Dos Santos NSA, Tirico RP, Bossini PS, et al. Os efeitos de um programa de atividade física de carga progressiva nas propriedades físicas e na força óssea de ratas osteopênicas. *Acta Ortop Bras*. 2007; 276-9.
28. Suominen TH, Korhonen MT, Alén M, Heinonen A, Mero A, Törmäkangas T. Effects of a 20-week high-intensity strength and sprint training program on tibial bone structure and strength in middle-aged and older male sprint athletes: a randomized controlled trial. *Osteoporosis International*. 2017; 28(9): 2663-73.

29. Robling AG, Castillo AB, Turner CH. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annu Rev Biomed Eng.* 2006; 8:455-98.
30. Donnelly E, Meredith DS, Nguyen JT, Boskey AL. Bone tissue composition varies across anatomic sites in the proximal femur and the iliac crest. *J Orthop Res.* 2012; 30(5): 700-6.
31. Bourboulia D, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion. *Semin Cancer Biol.* Junho de 2010; 20(3): 161-8

**ANEXOS OBRIGATÓRIOS:****ANEXO A:****PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA****UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA-UFSCar

Via Washington Luiz, Km. 235 - Caixa Postal 676

CEP 13.565-905 - São Carlos - SP - Brasil

+55 16 3351-9883

ceua@ufscar.br

Ofício CEUA nº 002/2015

São Carlos, 11 de Setembro de 2015

À Ilma. Sra.

Profa. Dra. Rita de Cássia Marqueti Durigan

IlmaSra.

Informamos que o projeto “MATRIZ EXTRACELULAR NO ENVELHECIMENTO E SUAS ADAPTAÇÕES AO TREINAMENTO DE FORÇA NO TENDÃO CALCÂNEO DE RATOS: ABORDAGEM MOLECULAR, CELULAR E BIOMECÂNICA” aprovado por pela CEUA-UFSCar através do parecer 056/2010 de 01/03/2011 trata-se do mesmo projeto, cuja mudança de nome nos foi comunicada, “MATRIZ EXTRACELULAR E O SISTEMA MUSCULOESQUELÉTICO: ADAPTAÇÕES AO TREINAMENTO RESISTIDO E ENVELHECIMENTO BIOLÓGICO”.

Cordialmente,

Prof. Dr. Luiz Fernando Takase

Presidente do Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA  
UFSCar

**ANEXO B:****NORMAS DA REVISTA ESCOLHIDA POR ESTUDANTE E ORIENTADOR(A).****INSTRUÇÕES AOS AUTORES****Revista Brasileira de Fisioterapia - Brazilian Journal of Therapy Physical)****Escopo e política**

A **Revista Brasileira de Fisioterapia/Brazilian Journal of Physical Therapy (RBF/BJPT)** publica artigos originais de pesquisa cujo objeto básico de estudo refere-se ao campo de atuação profissional da Fisioterapia e Reabilitação, veiculando estudos clínicos, básicos ou aplicados sobre avaliação, prevenção e tratamento das disfunções de movimento. O conselho editorial da **RBF/BJPT** se compromete a publicar investigação científica de excelência, de diferentes áreas do conhecimento.

A **RBF/BJPT** publica os seguintes tipos de estudo, cujo conteúdo deve manter vinculação direta com o escopo e com as áreas descritas pela revista:

a) Estudos experimentais: estudos que investigam efeito(s) de uma ou mais intervenções em desfechos diretamente vinculados ao escopo e áreas da RBF/BJPT. Estudos experimentais incluem estudos do tipo experimental de caso único, quasi-experimental e ensaio clínico.

A Organização Mundial de Saúde define ensaio clínico como "qualquer estudo que aloca prospectivamente participantes ou grupos de seres humanos em uma ou mais intervenções relacionadas à saúde para avaliar efeito(s) em desfecho(s) em saúde". Estudos do tipo ensaio clínico deverão obrigatoriamente seguir as recomendações do CONSORT, que estão disponíveis em: <http://www.consort-statement.org/consort-statement/overview0/>.

Neste site, o autor deve acessar o CONSORT 2010 *checklist*, o qual deve ser preenchido e encaminhado juntamente com o manuscrito. Todo manuscrito ainda deverá obrigatoriamente conter o *CONSORT Statement 2010 Flow Diagram* no item "Materiais e métodos". Todo processo de submissão de estudos experimentais deverá atender a essa recomendação.

b) **Estudos observacionais:** estudos que investigam relação(ões) entre variáveis de

interesse relacionadas ao escopo e áreas da RBF/BJPT, sem manipulação direta (ex: intervenção). Estudos observacionais incluem estudos transversais, de coorte e caso-controlado.

c) **Estudos qualitativos:** estudos cujo foco refere-se à compreensão das necessidades, motivações e comportamentos humanos. O objeto de um estudo qualitativo é pautado pela análise aprofundada de uma unidade ou temática, que inclui opiniões, atitudes, motivações e padrões de comportamento sem quantificação. Estudos qualitativos incluem pesquisa documental e estudo etnográfico.

d) **Estudos de revisão de literatura:** estudos que realizam análise e/ou síntese da literatura de tema relacionado ao escopo e áreas da RBF/BJPT. **Estudos de revisão crítica ou passiva só serão considerados quando solicitados a convite dos editores.** Manuscritos de revisão sistemática que incluem metanálise terão prioridade em relação aos demais estudos de revisão sistemática. Aqueles que apresentam quantidade insuficiente de artigos selecionados e/ou artigos de baixa qualidade e que não apresentam conclusão assertiva e válida sobre o tema não serão considerados para a análise de revisão por pares.

e) **Estudos metodológicos:** estudos centrados no desenvolvimento e/ou avaliação das propriedades psicométricas e características clinimétricas de instrumentos de avaliação. Incluem também estudos que objetivam a tradução e/ou adaptação transcultural de questionários estrangeiros para o português do Brasil.

No endereço <http://www.equator-network.org/resource-centre/library-of-health-research-reporting>, pode ser encontrada a lista completa dos *guidelines* disponíveis para cada tipo de estudo, por exemplo, o STROBE para estudos observacionais, o COREQ para estudos qualitativos, o PRISMA para revisões sistemáticas e metanálises e o GRRAS para estudos de confiabilidade. Sugerimos que os autores verifiquem esses *guidelines* e atendam ao *checklist* correspondente antes de submeterem seus manuscritos.

Estudos que relatam resultados eletromiográficos devem seguir o *Standards for Reporting EMG Data*, recomendados pela ISEK ([http://www.isek-online.org/standards\\_emg.html](http://www.isek-online.org/standards_emg.html).)

Não serão consideradas as submissões de estudo-piloto, estudo de caso, estudo preliminar e diretrizes de prática. O conselho editorial poderá publicar trabalhos de modalidade não descrita acima, quando julgar pertinente.

### **Aspectos éticos e legais**

A submissão do manuscrito à **RBF/BJPT** implica que o trabalho na íntegra ou parte(s) dele não tenha sido publicado em outra fonte ou veículo de comunicação e que não esteja sob consideração para publicação em outro periódico.

uso de iniciais, nomes ou números de registros hospitalares dos pacientes deve ser evitado. Um paciente não poderá ser identificado por fotografias, exceto com consentimento expresso, por escrito, acompanhando o trabalho original no momento da

submissão.

Estudos realizados em humanos devem estar de acordo com os padrões éticos e com o devido consentimento livre e esclarecido dos participantes conforme Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (Brasil), que trata do Código de Ética para Pesquisa em Seres Humanos e, para autores fora do Brasil, devem estar de acordo com *Committee on Publication Ethics (COPE)*.

Para os experimentos em animais, considerar as diretrizes internacionais (por exemplo, a do *Committee for Research and Ethical Issues of the International Association for the Study of Pain*, publicada em PAIN, 16:109-110, 1983).

Para as pesquisas em humanos e em animais, deve-se incluir, no manuscrito, o número do parecer de aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa. O estudo deve ser devidamente registrado no Conselho Nacional de Saúde do Hospital ou Universidade ou no mais próximo de sua região.

Reserva-se à **RBF/BJPT** o direito de não publicar trabalhos que não obedeçam às normas legais e éticas para pesquisas em seres humanos e para os experimentos em animais.

Para os ensaios clínicos, serão aceitos qualquer registro que satisfaça o Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas, ex. <http://www.actr.org.au>, (para autores não-brasileiros). No Brasil, os autores devem acessar o Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos-REBEC no endereço <http://www.ensaiosclinicos.gov.br/>. Os autores devem fornecer o nome e o endereço do site do cadastro e o número de registro final.

A **RBF/BJPT** aceitará temporariamente o número do protocolo do registro na submissão do manuscrito, mas apenas ensaios clínicos com o registro finalizado serão publicados.

### **Critérios de autoria**

A **RBF/BJPT** recebe, para submissão, manuscritos com até seis (6) autores. A política de autoria da **RBF/BJPT** pauta-se nas diretrizes para a autoria do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas exigidos para Manuscritos Submetidos a Periódicos Biomédicos ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)), as quais afirmam que "a autoria deve ser baseada em 1) contribuições substanciais para a concepção e desenho, ou aquisição de dados, ou análise e interpretação dos dados; 2) redação do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual e 3) aprovação final da versão a ser publicada." As condições 1, 2 e 3 deverão ser todas contempladas. Aquisição de financiamento, coleta de dados e/ou análise de dados ou supervisão geral do grupo de pesquisa, por si só, não justificam autoria e deverão ser reconhecidas nos agradecimentos. Os conceitos contidos nos manuscritos são de responsabilidade exclusiva dos autores. Todo material publicado torna-se propriedade da RBF/BJPT, que passa a reservar os direitos autorais. Portanto, nenhum material publicado na **RBF/BJPT** poderá ser reproduzido sem a permissão, por escrito, dos editores. Todos os autores de artigos submetidos deverão assinar um termo de transferência de direitos autorais, que entrará em vigor a partir da data de aceite do trabalho.

## Forma e apresentação do manuscrito

A **RBF/BJPT** considera a submissão de manuscritos com até 3.500 palavras (excluindo-se página de título, resumo, referências, tabelas, figuras ou legendas). Informações contidas em anexo(s) serão computadas no número de palavras permitidas.

O manuscrito deve ser escrito preferencialmente em inglês. Quando a qualidade da redação em inglês comprometer a análise e avaliação do conteúdo do manuscrito, os autores serão informados.

Recomenda-se que os manuscritos submetidos em inglês venham acompanhados de certificação de revisão por serviço profissional de *editing and proofreading*. Tal certificação deverá ser anexada à submissão. Sugerimos os seguintes serviços abaixo, não excluindo outros:

- *American Journal Experts* ([www.journalexperts.com](http://www.journalexperts.com))
- *Scribendi* ([www.scribendi.com](http://www.scribendi.com))
- *Elsevier* ([www.elsevier.com/wps/find/authors/languagepolishing](http://www.elsevier.com/wps/find/authors/languagepolishing))
- *Nature Publishing Groups Language Editing* ([languageediting.nature.com/editing.services](http://languageediting.nature.com/editing.services))

O manuscrito deve incluir uma página de título e identificação, resumo/*abstract* e palavras-chave, corpo do texto, referências, tabelas e figuras.

## Título e página de identificação

O título do manuscrito não deve ultrapassar 25 palavras e deve apresentar o máximo de informações sobre o trabalho. Preferencialmente, os termos utilizados no título não devem constar na lista de palavras-chave. A página de identificação deve conter ainda os seguintes dados: Título do manuscrito em português e em inglês, em letras maiúsculas; Autores: nome e sobrenome de cada autor em letras maiúsculas, sem titulação, seguidos por número sobrescrito (expoente), identificando a afiliação institucional/vínculo (unidade/instituição/cidade/estado/país). Para mais de um autor, separar por vírgula. Autor de correspondência: indicar o nome, endereço completo, e-mail e telefone do autor de correspondência, o qual está autorizado a aprovar as revisões editoriais e complementar demais informações necessárias ao processo. Palavras-chaves: termos de indexação ou palavras-chave (máximo seis) em português e em inglês.

## *Abstract/Resumo*

Uma exposição concisa, que não exceda 250 palavras em um único parágrafo, em português (*Resumo*) e em inglês (*Abstract*), deve ser escrita e colocada logo após a página de título. Referências, notas de rodapé e abreviações não definidas não devem ser usadas no *Resumo/Abstract*. O *Resumo* e o *Abstract* devem ser apresentados em formato estruturado, incluindo os seguintes itens, separadamente: Contextualização, Objetivos, Métodos, Resultados, Conclusão e o

Número do Registro de Ensaio Clínico, quando apropriado (ver recomendações para Ensaio Clínico em Escopo e Política e Aspectos Éticos e Legais).

### **Introdução**

Deve-se informar sobre o objeto investigado devidamente problematizado, explicitar as relações com outros estudos da área e apresentar justificativa que sustente a necessidade do desenvolvimento do estudo, além de especificar o(s) objetivo(s) do estudo e hipótese(s), caso se aplique.

### **Método**

Descrição clara e detalhada dos participantes do estudo, dos procedimentos de coleta, transformação/redução e análise dos dados de forma a possibilitar reprodutibilidade do estudo. O processo de seleção e alocação dos participantes do estudo deverá estar organizado em fluxograma, contendo o número de participantes em cada etapa, bem como as características principais (ver modelo fluxograma CONSORT).

Quando pertinente ao tipo de estudo, deve-se apresentar cálculo que justifique adequadamente o tamanho do grupo amostral utilizado no estudo para investigação do(s) efeito(s). Todas as informações necessárias para estimativa e justificativa do tamanho amostral utilizado no estudo devem constar no texto de forma clara.

### **Resultados**

Devem ser apresentados de forma breve e concisa. Resultados pertinentes devem ser reportados utilizando texto e/ou tabelas e/ou figuras. Não se devem duplicar os dados constantes em tabelas e figuras no texto do manuscrito.

### **Discussão**

O objetivo da discussão é interpretar os resultados e relacioná-los aos conhecimentos já existentes e disponíveis na literatura, principalmente àqueles que foram indicados na Introdução. Novas descobertas devem ser enfatizadas com a devida cautela. Os dados apresentados nos métodos e/ou nos resultados não devem ser repetidos. Limitações do estudo, implicações e aplicação clínica para as áreas de Fisioterapia e Ciências da Reabilitação deverão ser explicitadas.

### **Referências**

O número recomendado é de 30 referências, exceto para estudos de revisão da literatura. Deve-se evitar que sejam utilizadas referências que não sejam acessíveis internacionalmente, como teses e monografias, resultados e trabalhos não publicados e comunicação pessoal. As referências devem ser organizadas em sequência numérica de acordo com a ordem em que forem mencionadas pela primeira vez no texto, seguindo os Requisitos Uniformizados para Manuscritos Submetidos a Jornais Biomédicos, elaborados pelo Comitê Internacional de

### Editores de Revistas Médicas – ICMJE.

Os títulos de periódicos devem ser escritos de forma abreviada, de acordo com a *List of Journals do Index Medicus*. As citações das referências devem ser mencionadas no texto em números sobrescritos (expoente), sem datas. A exatidão das informações das referências constantes no manuscrito e sua correta citação no texto são de responsabilidade do(s) autor(es).

Exemplos: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

### **Tabelas, Figuras e Anexos**

As tabelas e figuras são limitadas a cinco (5) no total. Os anexos serão computados no número de palavras permitidas no manuscrito. Em caso de tabelas, figuras e anexos já publicados, os autores deverão apresentar documento de permissão assinado pelo autor ou editores no momento da submissão.

Para artigos submetidos em língua portuguesa, a(s) versão(ões) em inglês da(s) tabela(s), figura(s) e anexo(s) e suas respectivas legendas deverão ser anexados no sistema como documento suplementar.

-Tabelas: devem incluir apenas os dados imprescindíveis, evitando-se tabelas muito longas (máximo permitido: uma página, tamanho A4, em espaçamento duplo), devem ser numeradas, consecutivamente, com algarismos arábicos e apresentadas no final do texto. Não se recomendam tabelas pequenas que possam ser descritas no texto. Alguns resultados simples são mais bem apresentados em uma frase e não em uma tabela.

-Figuras: devem ser citadas e numeradas, consecutivamente, em arábico, na ordem em que aparecem no texto. Informações constantes nas figuras não devem repetir dados descritos em tabela(s) ou no texto do manuscrito. O título e a(s) legenda(s) devem tornar as tabelas e figuras compreensíveis, sem necessidade de consulta ao texto. Todas as legendas devem ser digitadas em espaço duplo, e todos os símbolos e abreviações devem ser explicados. Letras em caixa-alta (A, B, C, etc.) devem ser usadas para identificar as partes individuais de figuras múltiplas.

Se possível, todos os símbolos devem aparecer nas legendas; entretanto, símbolos para identificação de curvas em um gráfico podem ser incluídos no corpo de uma figura, desde que não dificulte a análise dos dados. As figuras coloridas serão publicadas apenas na versão online. Em relação à arte final, todas as figuras devem estar em alta resolução (300 DPI). Figuras de baixa qualidade podem resultar em atrasos no processo de revisão e publicação.

-Agradecimentos: devem incluir declarações de contribuições importantes, espe sua natureza. Os autores são responsáveis pela obtenção da autorização das pessoas/instituições nomeadas nos agradecimentos.

### **Áreas do conhecimento**

1. Fisiologia, Cinesiologia e Biomecânica; 2. Cinesioterapia/recursos terapêuticos; 3. Desenvolvimento, aprendizagem, controle e comportamento motor; 4. Ensino, Ética, Deontologia e História da Fisioterapia; 5. Avaliação, prevenção e tratamento das disfunções cardiovasculares e respiratórias; 6. Avaliação, prevenção e tratamento das disfunções do envelhecimento; 7. Avaliação, prevenção e tratamento das disfunções musculoesqueléticas; 8. Avaliação, prevenção e tratamento das disfunções neurológicas; 9. Avaliação, prevenção e tratamento nas condições da saúde da mulher; 10. Avaliação e mensuração em Fisioterapia; 11. Ergonomia/Saúde no trabalho.