



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

Maria Patrícia Pereira Melo

EXERCÍCIO FÍSICO E L-ARGININA:
ESTUDO MORFOMÉTRICO DO DISCO EPIFISÁRIO E
MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS JOVENS

RECIFE

2012

Maria Patrícia Pereira Melo

**EXERCÍCIO FÍSICO E L-ARGININA:
ESTUDO MORFOMÉTRICO DO DISCO EPIFISÁRIO E
MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS JOVENS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Patologia do centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientadora: Prof^a. Dra. Liriane Baratella Evêncio

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Luciana Maria Silva de Seixas Maia

RECIFE

2012

Catálogo na fonte
Bibliotecária Giseani Bezerra, CRB4-1738

T528e Melo, Maria Patrícia Pereira.
Exercício físico e L-Arginina: estudo morfométrico do disco epifisário e músculo esquelético de ratos jovens / Maria Patrícia Pereira Melo. Recife: O autor, 2012.
116 folhas : il. ; 30 cm.

Orientador: Liriane Baratella Evêncio.
Dissertação (mestrado) ã Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2012.
Inclui bibliografia e anexos.

1. Músculo esquelético. 2. Lâmina de crescimento. 3. Arginina. 4. Exercício. I. Evêncio, Liriane Baratella (Orientador). II. Título.

616.07 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2012-105)

Maria Patrícia Pereira Melo

**EXERCÍCIO FÍSICO E L-ARGININA:
ESTUDO MORFOMÉTRICO DO DISCO EPIFISÁRIO E
MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS JOVENS**

Dissertação aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora:

**Prof. Dr. Mário Ribeiro de Melo-Junior – Departamento de
Patologia - UFPE**

**Prof.Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho – Departamento de
Patologia - UFPE**

**Profa. Dra. Ângela Amâncio dos Santos – Departamento de
Fisiologia e Farmacologia - UFPE**

RECIFE

2012

Aos meus pais, Neide e Melo, pelo amor incondicional e pelo incentivo constante. Aos meus irmãos, Sâmya e Jean, pelo companheirismo e apoio em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, nosso criador, que me fortaleceu nos momentos de tristeza, me deu fé nos momentos de incerteza e me confortou nos momentos de inquietude.

Aos meus pais, pelo incentivo, compreensão, carinho e amor. Obrigada por estarem sempre ao meu lado me dando força para realizar meus sonhos. Amo vocês!

Aos meus irmãos, Jean e Sâmia Melo, pelo companheirismo, pelo carinho e pelas lindas palavras de otimismo sempre. Amo vocês incondicionalmente!

A toda a minha família, que mesmo distante se fez presente.

A minha amiga Mariana Dantas, pelo incentivo inicial. Essa vitória não seria possível sem você.

A minha amiga, Patrícia Pereira, por compartilhar dos meus momentos de angústia durante esses anos de mestrado e torná-los mais suportáveis. Agradeço não só por sua amizade verdadeira e incondicional, mas por sua contribuição científica neste trabalho.

As minhas amigas, Isabella, Débora, Natália, Maria Fernanda e Simone, pelo companheirismo, amizade, apoio e, acima de tudo, por compreenderem meus momentos de ausência. A amiga Geórgia, pelo ombro amigo e pelos conselhos acadêmicos.

As estagiárias, Talita Castro e Ana Vasconcelos, pelo comprometimento, responsabilidade e disponibilidade sempre.

À Heloisa Mirelle e Prof. Ângela pela gentileza e confiança em compartilhar os bens mais preciosos da sua pesquisa.

A minha “mãe científica”, Luciana Maia, ter acreditado em mim quando nem eu mesma acreditava. Agradeço infinitamente toda a confiança e amizade.

A minha orientadora, Liriane Baratella, pela calma, paciência e por todos os ensinamentos.

Ao prof. Nicodemos, pela sua disponibilidade em compartilhar conhecimentos sempre. Minha sincera admiração a este grande pesquisador, não só pelo seu vasto conhecimento científico, mas por sua humildade, simplicidade e doçura.

Ao prof. Mário Ribeiro, pela contribuição científica e pela atenção.

Às Prof^{as}. Eliete e Paloma, por disponibilizarem o seu laboratório e tornarem possível essa pesquisa.

Aos técnicos do laboratório de histotecnologia da Pós-graduação, Sidcley e Silvana, pelo auxílio na confecção do material histológico.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a concretização deste sonho. Muito obrigada!

RESUMO

Introdução: O exercício físico pode promover inúmeros benefícios à saúde do indivíduo, assim como, adaptações na musculatura estriada esquelética e no disco epifisário. A ingestão do aminoácido L-Arginina associada ao exercício físico tem sido bastante utilizada por atletas com o intuito de melhorar o desempenho físico e aumentar a massa muscular. **Objetivo:** Investigar os efeitos da L-Arginina e do exercício físico sobre o peso corporal, o músculo estriado esquelético e o disco epifisário do osso em ratos jovens. **Métodos:** Para a realização dessa pesquisa, foram utilizados 24 ratos machos da linhagem Wistar que foram separados em 4 grupos de acordo com a administração de L-Arginina e a realização de exercício físico. Sendo assim distribuídos: L-Arginina-Exercício (ArE, n=6), L-Arginina-NãoExercitado (ArN, n=6), Água-Exercício (AgE, n=6) and Água-NãoExercitado (AgN, n=6). O aminoácido L-Arginina foi administrado por via orogástrica na dose de 300mg/kg diariamente do 7º ao 35º dia de vida do animal. Já o exercício foi realizado em esteira motorizada por 30 minutos/ dia em 5 sessões semanais, do 15º ao 35º dia de vida do animal. Os animais eram pesados nos 7º, 14º, 21º, 28º, 35º dia de vida para acompanhamento da evolução ponderal. Ao atingirem a idade de 35-45 dias de vida, os animais, após pesados, foram sacrificados para a retirada do músculo gastrocnêmio e do osso femoral. O músculo gastrocnêmio foi medido, pesado e processado para análise histológica e morfométrica. O fêmur foi pesado, descalcificado (ácido fórmico a 8% e ácido clorídrico a 8%) e processado para análise histológica. As imagens do músculo esquelético foram capturadas (magnificação 1000x) para cálculo do diâmetro médio da fibra muscular. As imagens do fêmur foram capturadas (magnificação 400x) para contagem do número de condrócitos das zonas proliferativa e hipertrófica do disco epifisário. Os dados foram expressos na forma de média±desvio padrão da média, analisados através do programa SPSS. Foram utilizados os testes Shapiro-Wilk, Anova one-way e teste de Tukey ($p<0,05$). **Resultados:** Não houve diferença significativa no peso corporal dos animais em nenhum dos grupos experimentais, assim como nos pesos absoluto e relativo do músculo gastrocnêmio e do fêmur. O diâmetro médio da fibra muscular do grupo ArN mostrou-se significativamente maior quando comparado ao AgN ($p=0,0003$) e ArE ($0,0137$). O número de condrócitos da zona proliferativa foi maior no grupo ArE quando comparado com AgN ($p=0,0245$) e AgE ($p=0,0009$). **Conclusão:** A ingestão do aminoácido L-Arginina na dose de 300mg/kg, sem interferência do exercício físico, foi capaz de promover hipertrofia da musculatura estriada esquelética. A L-Arginina quando associada ao exercício físico promoveu um aumento do número de condrócitos na zona de cartilagem proliferativa, o que sugere interferência sobre crescimento ósseo.

Descritores: músculo esquelético, placa de crescimento, arginina, exercício físico, morfometria.

ABSTRACT

Introduction: Exercise can promote numerous health benefits for individuals as well as adaptations in skeletal muscle and growth plate. Besides, Arginine associated with exercise has been widely used by athletes in order to improve physical performance and increase muscle mass. **Objective:** To investigate the effects of Arginine and exercise on body weight, skeletal muscle and growth plate of bone in young rats. **Methods:** To carry out our research, we used 24 male Wistar rats which were divided into 4 groups according to the administration of Arginine and physical exercise. They were distributed as follows: Arginine-Exercise (AE, n = 6), Arginine-NotExercised (A, n = 6), Water-Exercise (WE, n = 6) and Water-NotExercised (W, n = 6). The amino acid L-Arginine was administered via orogastric, at dose of 300mg/kg, daily from the 7th to 35th days of birth of the animal. The exercise was performed on motorized treadmill for 30 minutes / day 5 times a week, from 15th to 35th days of birth of the animal. The animals were weighed at 7, 14, 21, 28, 35 days days of birth for monitoring body weight. At the age of 35-45 days, the animals were weighed and sacrificed to collect the gastrocnemius muscle and the femoral bone. The gastrocnemius muscle was measured, weighed and processed for histological analysis. The femur was weighed, decalcified (formic acid 8% and hydrochloric acid 8%) and processed for histological analysis. The images were captured in muscle (1000x) in order to calculate the mean diameter of muscle fiber. The images were captured in the femur (400x) in order to count the number of chondrocyte proliferation and hypertrophic zones of the growth plate. Data were expressed as mean $\pm$ standard deviation and analyzed using SPSS. It was used the Shapiro-Wilk tests, one-way ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$). **Results:** No significant difference was found in body weight of animals in any experimental groups, neither on absolute and relative weights of the gastrocnemius muscle and the femur. The mean diameter of muscle fiber of A group showed significantly higher when compared to W ($p = 0.0003$), WE ($p = 0.0456$) and ArE (0.0137). The number of proliferative zone chondrocytes was higher in AE when comparing it to W ($p = 0.0245$) and WE ($p = 0.0009$). **Conclusion:** The orogastric administration Arginine at a dose of 300mg/kg, without interference from the exercise, was able to promote skeletal muscle hypertrophy. Arginine in association with exercise promoted an increase in the number of chondrocytes in the proliferative zone of cartilage. This reflects the interference of Arginine in bone growth.

Keywords: skeletal muscle, growth plate, arginine, physical exercise, morphometry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

MÉTODOS

Figura 1. Esteira Motorizada Insight EP-131.....	35
Figura 2. Representação esquemática dos grupos experimentais e o número (n) de animais por grupo.....	36
Figura 3. Foto ilustrativa da extração do músculo gastrocnêmio.....	37
Figura 4. Medida do comprimento do músculo gastrocnêmio com linha de algodão e régua milimetrada.....	37
Figura 5. Pesagem do fêmur em balança analítica.....	38
Figura 6. Interface gráfica do software Image J ilustrando fotomicrografia do músculo esquelético e mensuração do diâmetro da fibra muscular.....	39
Figura 7. Interface gráfica do software Mesurin ilustrando a fotomicrografia de condrócitos da zona proliferativa (vermelho) e da zona hipertrófica (verde).....	40

ARTIGO ORIGINAL 1

Gráfico 1. Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-Arginina durante o desenvolvimento sobre o peso corporal (g) de ratos Wistar jovens no dia do sacrifício. Encontram-se representados os quatro grupos experimentais: AgN (n=6), AgE (n=6), ArN (n=6) e ArE (n=6). Dados apresentados em forma de média±erro padrão (Anova one way, $p<0,05$).....	50
Gráfico 2. Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-Arginina durante desenvolvimento sobre o peso (g) absoluto e relativo do músculo gastrocnêmio de ratos Wistar jovens. Dados apresentados em forma de média±erro padrão (Anova one way, $p<0,05$) dos grupos experimentais: AgN (n=6), AgE (n=6), ArN (n=6) e ArE (n=6).....	51
Gráfico 3. Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-Arginina durante o desenvolvimento sobre o comprimento do músculo gastrocnêmio de ratos Wistar jovens. Dados apresentados em forma de média±erro padrão (Anova one way, $p<0,05$) dos grupos experimentais: AgN (n=6), AgE (n=6), ArN (n=6) e ArE (n=6).....	52

Gráfico 4. Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-Arginina sobre o diâmetro médio (μm) de fibras musculares de ratos Wistar jovens no dia do sacrifício. Encontram-se representados os quatro grupos experimentais: AgN (n=6), AgE (n=6), ArN (n=6) e ArE (n=6). Dados apresentados em forma de média+erro padrão (Anova one way, pos hoc Tukey; $p<0,05$). O símbolo * expressa que o grupo ArN teve um maior diâmetro médio da fibra muscular quando comparado aos demais grupos.....53

ARTIGO ORIGINAL 2

Gráfico 1. Body weight of animals at 7, 14, 21, 28 and 35 days of birth of all experimental groups (n=6 per group): Water (W), Water-Exercised (WE), Arginine (A) and Arginine-Exercised (AE). The animals were submitted to orogastric administration of L-Arginine (300 mg/kg/day of) during postnatal days 7–35 and/or physical exercise on treadmill from the days 15–35. The results are expressed as mean $\pm$ standard error, showing no significant difference (Anova one-way).....69

Gráfico 2. Absolut and relative weight of femur at the day of sacrifice (35-45 days) of all experimental groups (n=6 per group): Water (W), Water-Exercised (WE), Arginine (A) and Arginine-Exercised (AE). The animals were submitted to orogastric administration of L-Arginine 300 mg/kg/day (A and AE groups) or equivalent volume of distilled water (W and WE) from 7 to 35 days of birth. The animals (15-35 days of birth) were submitted to physical exercise on a motor treadmill for sessions of 30 minutes/day, five times weekly (WE and AE) or were put on a treadmill switched off (W and A groups). The results absolut and relative weight of femur were expressed as mean $\pm$ standard error, with no significant difference (Anova one-way, $p<0.005$).....70

Gráfico 3. Numbers of chondrocytes growth plate in zone of proliferating cartilage and zone of hypertrophic cartilage of all experimental groups (n=6 per group): Water (W), Water-Exercised (WE), Arginine (A) and Arginine-Exercised (AE). The animals were submitted to orogastric administration of Arginine 300 mg/kg/day (A and AE groups) or equivalent volume of distilled water (W and WE) from 7 to 35 days of birth. The animals (15-35 days of birth) were submitted to physical exercise on a motor treadmill for sessions of 30 minutes/day, five times weekly (WE and AE) or were put on a treadmill switched off (W and A groups). The results were expressed as mean $\pm$ error standard, with no significant difference in hypertrophic zone. * means significant difference between group W and AE concerning to proliferating zone. # means significant difference between group WE and AE concerning to proliferating zone (Anova one-way, $p<0.005$, Tukey pos-hoc).....71

LISTA DE TABELA

ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA

Tabela. Studies that evaluated bone morphometry due to physical exercise on animal.....	33
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A:	Arginine (grupo experimental Arginina-NãoExercitado)
AE:	Arginine-Exercised (grupo experimental Arginina-Exercitado)
AgE:	Grupo experimental Água-Exercitado
AgN:	Grupo experimental Água-NãoExercitado
ArE	Grupo experimental Arginina-Exercitado
ArN:	Grupo experimental Arginina-NãoExercitado
DM	Diâmetro médio
Dma:	Diâmetro máximo
Dmi:	Diâmetro mínimo
ecNOS:	Isoforma endotelial da enzima óxido nítrico sintetase
GH:	Hormônio do Crescimento
iNOS:	Isoforma induzida da enzima óxido nítrico sintetase
LAFINNT:	Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio
n:	número de animais
NADPH:	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
nNOS:	Isoforma neuronal da enzima óxido nítrico sintetase
NO:	Óxido Nítrico
PA:	Peso Absoluto
PC:	Peso Corporal
PR:	Peso Relativo
SPSS:	Statistical Package for the Social Sciences
UFPE:	Universidade Federal de Pernambuco

VEGF:	Fator de crescimento vascular endotelial
VO ₂ max:	Consumo máximo de oxigênio
W:	Water (grupo experimental Água-NãoExercitado)
WE:	Water-Exercised (grupo experimental Água-Exercitado)

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO.....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Nutrição e Exercício Físico.....	17
2.2 L-Arginina e Exercício Físico.....	18
2.3 Morfologia e Morfometria.....	20
2.4 Tecido Muscular Estriado Esquelético.....	22
2.5 Disco Epifisário.....	23
2.6 Artigo de Revisão Sistemática.....	25
3 METODOLOGIA.....	34
3.1 Área.....	34
3.2 Modelo Experimental.....	34
3.3 Tratamento com L-Arginina.....	34
3.4 Exercício físico em esteira.....	35
3.5 Divisão dos grupos experimentais.....	36
3.6 Evolução ponderal.....	36
3.7 Coleta do material.....	36
3.8 Comprimento do músculo gastrocnêmio e do fêmur.....	37
3.9 Peso absoluto e relativo do músculo e do osso.....	38
3.10 Processamento histológico do material.....	38
3.11 Análise Morfométrica.....	39
11.1 Mensuração do diâmetro médio das fibras musculares.....	39
3.11.2 Contagem de condrócitos da zona de cartilagem seriada e hipertrófica....	40
3.12 Análise Estatística.....	41
4 RESULTADOS.....	42
4.1 Artigo Original 1.....	42
4.2 Artigo Original 2.....	63
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	80
REFERÊNCIAS.....	81
ANEXOS.....	88

1. APRESENTAÇÃO

Aminoácidos, sob a forma de suplementação alimentar, têm sido bastante utilizados pelos atletas e adolescentes, com a finalidade de melhorar seu desempenho físico (ALVES; LIMA, 2009). Um dos aminoácidos capaz de atingir tal efeito é a L-Arginina (SALES *et al.*, 2005), sendo, por isso bastante utilizado atualmente.

A L-Arginina vem sendo amplamente estudada e faz parte da composição de vários suplementos alimentares (NICASTRO; DATTILO; ROGERO, 2008). É um aminoácido classificado como condicionalmente essencial, visto que não é produzido pelo próprio organismo em algumas fases da vida e sob algumas condições patológicas, sendo necessária sua ingestão através da dieta (BEAUMIER *et al.*, 1996; WEISINGER, 2001; COMAN; YAPLITO-LEE; BONEH, 2008). A bioquímica desse aminoácido é bastante complexa e envolve várias vias metabólicas e sistemas orgânicos (NIEVES-JR; LANGKAMP-HENKEN, 2002; SALES *et al.*, 2005; MAIA *et al.*, 2006).

Dentre as funções da L-Arginina ressalta-se o papel como precursor fisiológico de um importante vasodilatador, o óxido nítrico (NICASTRO; DATTILO; ROGERO, 2008). Sua ação vasodilatadora está diretamente relacionada aos efeitos sobre o exercício físico, como aumento do aporte sanguíneo, nutrientes, oxigênio e glicose para o músculo em atividade (MENEILLY; BATTISTINI; FLORA, 2001; RADEGRAN, 1999). Além disso, a L-Arginina parece promover aumento da síntese protéica intramuscular o que favorece a hipertrofia muscular (FLAKOLL *et al.*, 2004).

Em humanos, a administração oral de L-Arginina tem sido relacionada com a melhora do desempenho físico. Um número cada vez maior de jovens atletas e adeptos da musculação vêm fazendo uso desse aminoácido com intuito de incrementar a massa muscular, encurtar o período de recuperação entre os treinos, aumentar a força e o desempenho no exercício físico (COLOMBANI *et al.*, 1999). Porém pouco se sabe a respeito de seu real efeito a curto prazo na organização histológica dos tecido muscular estriado esquelético e disco epifisário, o que nos motiva a essa investigação testando em animais de laboratório.

Essa dissertação teve como objetivo geral avaliar os possíveis efeitos da interação L-Arginina e exercício físico sobre a evolução ponderal e os parâmetros morfométricos do disco epifisário e do tecido muscular estriado esquelético em ratos jovens tratados precocemente. Como objetivos específicos: investigou-se em ratos jovens (35-45 dias) os efeitos do tratamento sistêmico com L-Arginina e/ou do exercício físico, durante o período de

desenvolvimento do tecido ósseo, sobre: peso absoluto e relativo do fêmur e do músculo gastrocnêmio; assim como seu diâmetro médio e quantidade de condrócitos das zonas proliferativa e hipertrófica do disco epifisário do fêmur.

Para a realização deste trabalho, foram utilizados os animais provenientes do projeto de pesquisa intitulado “INTERAÇÃO L-ARGININA E ATIVIDADE FÍSICA DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO: ANÁLISE DA DEPRESSÃO ALASTRANTE CORTICAL EM RATOS JOVENS E ADULTOS”. O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) e foi aprovado sob o número de protocolo 23076.005924/2008-80.

Este trabalho foi realizado utilizando-se uma parceria dos seguintes laboratórios: Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (LAFINNT) - Departamento de Nutrição; Laboratório de Histopatologia – Pós-graduação de Patologia; Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Histologia. Todos pertencentes à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), tendo como orientadora a Prof^a. Dra. Liriane Baratella Evêncio e como co-orientadora a Prof^a. Dra. Luciana Maria Silva de Seixas Maia.

O desenvolvimento da pesquisa resultou na elaboração de três artigos, sendo um artigo de revisão sistemática e dois artigos originais. O primeiro, intitulado **“Changes in morphometric parameters of bone tissue due to the practice of physical activity: a systematic review”**, enviado ao Journal of Morphological Sciences, estrato B5 na área de Medicina II, e aceito. É resultante do levantamento bibliográfico das bases de dados científicas sobre parâmetros morfométricos do tecido ósseo. Esta investigação ampliou nosso conhecimento sobre o tema estudado fornecendo base teórica para elaboração desta dissertação, sendo, portanto, inserido no capítulo de revisão de literatura.

O segundo artigo intitulado **“Interferência da L-Arginina e do exercício físico sobre a morfologia músculo estriado esquelético em ratos jovens”** enviado à Revista Brasileira de Medicina do Esporte, estrato B3 para medicina II, tendo como objetivo avaliar os possíveis efeitos do aminoácido L-Arginina associado ou não ao exercício físico sobre o peso, comprimento e diâmetro médio da fibra muscular esquelética em ratos jovens.

O terceiro **“Influence of L-Arginine and physical exercise on morphological aspects of the bone and growth plate in young rats”** será submetido como artigo original ao Journal of Bone and Mineral Research, estrato A1 para Medicina II. Investigou os efeitos da

ingestão do aminoácido L-Arginina e/ou do exercício físico sobre a evolução ponderal dos animais, peso do osso e número de condrócitos das zonas hipertróficas e proliferativas do disco epifisário de ratos jovens.

2. REVISAO DE LITERATURA

2.1 Nutrição e Exercício Físico

A nutrição é a soma dos processos de ingestão e conversão de substâncias alimentícias em nutrientes que podem ser utilizados para manter a função orgânica (MCMURRAY; ANDERSON, 2002). A relação entre a alimentação e o bem estar físico dos indivíduos, já é conhecida desde a antiguidade. Sabendo-se que uma alimentação adequada pode beneficiar os indivíduos fisicamente ativos, tanto promovendo qualidade de vida e saúde, quanto melhorando o desempenho esportivo e competitivo (VIEBIG; NACIF, 2006). O suprimento adequado destes nutrientes é necessário para que todo organismo se desenvolva de maneira harmônica. Dessa forma, a restrição ou adição de certos nutrientes a dieta, como alguns tipos de aminoácidos, podem de alguma forma afetar o desenvolvimento orgânico (GUEDES *et al.*, 2007), bem como o desempenho físico do indivíduo (MCMURRAY; ANDERSON, 2002).

Estudos atuais indicam que o termo “atividade física” não é sinônimo de “exercício físico”. Atividade física é definida como qualquer movimento corporal, produzido pelos músculos esqueléticos, que resulta em gasto energético maior do que os níveis de repouso (CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSON, 1985). Exercício físico compreende toda atividade física, planejada, estruturada e repetitiva com objetivo de melhoria e manutenção de um ou mais componentes da aptidão física. O termo aptidão física é definido como sendo a habilidade do corpo de adaptar-se às demandas do esforço físico, sem levar à completa exaustão (ARAÚJO; ARAÚJO, 2000).

Há, atualmente, uma crescente preocupação dos atletas em melhorar seu desempenho físico. Sabe-se que ao realizar exercício físico intenso, o desempenho músculo-esquelético diminui, levando o indivíduo à fadiga muscular (DAHLSTEDT; WESTERBLAD, 2001; HICKS; KENT-BRAUN; DITOR, 2001). Na tentativa de minimizar os efeitos acima relatados, muitos atletas têm feito uso de suplementos nutricionais (VIEBIG; NACIF, 2006).

Suplementos alimentares são definidos como substâncias utilizadas por via oral com o objetivo de complementar uma determinada deficiência dietética. Muitas vezes eles são comercializados como substâncias ergogênicas capazes de melhorar ou aumentar o desempenho físico (HALACK; FABRINI; PELUZIO, 2007). Sua constituição é bastante variável, podendo ser de um único componente ou uma combinação de vários ingredientes.

Os ingredientes que podem compor os suplementos são: vitaminas, minerais, ervas,

metabólitos, extratos ou aminoácidos (APPLEGATE; GRIVETTI, 1997; PORTER, 1995). Seu uso é regulamentado pelo Ministério da Saúde através da portaria n. 222 de 24 de março de 1998 a qual o define como “alimentos especialmente formulados e elaborados para praticantes de atividade física, desde que não apresentem ação terapêutica ou tóxica” (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998). Atualmente, aminoácidos sob a forma de suplementação alimentar, têm sido bastante utilizados pelos atletas e adolescentes, com a finalidade de melhorar seu desempenho físico (ALVES; LIMA, 2009).

Sabe-se que a suplementação pode ser útil para estimular a síntese de proteína muscular se ela contiver uma proporção ideal de aminoácidos (WOLF *et al.*, 1997), sendo estes essenciais ou não essenciais, ou, ainda, exclusivamente essenciais (BIOLO *et al.*, 1997; MAUGHAN, 1998; BORSHEIM *et al.*, 2002). Estudos mostram que durante o esforço aeróbico do exercício ocorre ruptura de proteínas do organismo, havendo então liberação de aminoácidos e amônia após a atividade (PHILIPPI, 2004). Deste modo, os atletas podem necessitar de um aumento na ingestão de proteínas ou de algum aminoácido específico (CASTILLO, 1998).

A infusão de aminoácido após o exercício, segundo alguns autores, aumenta a síntese protéica muscular e impede sua proteólise, ou seja, o fornecimento de aminoácido promove um efeito anabolizante na musculatura (TIPTON *et al.*, 1999). Diante disto, surgiu então a necessidade de estudar os efeitos de aminoácidos de forma isolada sobre a musculatura estriada esquelética (SALES *et al.*; 2005; NOVELLI *et al.*, 2007).

Vários trabalhos demonstram que a administração suplementar de L-Arginina favorece o desempenho físico dos atletas (PENTTINEN *et al.*, 1998; MAXUELL *et al.*, 2001; ANGELI *et al.*, 2007). Estudos mostram que o uso de aminoácidos, dentre os quais podemos citar a L-Arginina, tem conseguido atingir tal efeito (SALES *et al.*, 2005).

2.2 L-Arginina e Exercício Físico

A L-Arginina vem sendo amplamente estudada e faz parte da composição de vários suplementos alimentares (NICASTRO; DATTILO; ROGERO, 2008). O ácido(L)-2-amino-5-guanidinovalérico, conhecido como L-Arginina, é um sólido cristalino e branco, solúvel em água e sensível à luz, praticamente sem odor e possui alto ponto de fusão (WU *et al.*, 2000; NOVAES; LIMA; SOUZA, 2001). Este aminoácido é considerado condicionalmente essencial, visto que, não sendo produzido pelo próprio organismo em algumas fases da vida e

sob algumas condições patológicas, necessita ser adquirido através da dieta (BEAUMIER *et al.*, 1996; WEISINGER, 2001; COMAN; YAPLITO-LEE; BONEH, 2008). Sua ausência ou excesso em períodos nos quais o organismo não seja capaz de produzi-lo pode acarretar danos reversíveis ou não a diversos órgãos (MAHAN; ESCOTT-SUMP, 2005).

A bioquímica desse aminoácido é bastante complexa e envolve várias vias metabólicas e sistemas orgânicos (NIEVES-JR; LANGKAMP-HENKEN, 2002; SALES *et al.*, 2005; MAIA *et al.*, 2006). A L-Arginina apresenta importantes funções na síntese de óxido nítrico, uréia, proteínas, compostos altamente energéticos (creatina e creatina-fosfato), além de estimular a secreção do hormônio do crescimento (GH) (RACKÉ *et al.*, 1998; ABDELHAMED *et al.*, 2003).

Dentre as funções da L-Arginina ressalta-se o papel como precursor fisiológico de um importante vasodilatador, o óxido nítrico (NO). O NO é uma molécula gasosa que consiste na ligação co-valente entre um átomo de nitrogênio e um átomo de oxigênio (NICASTRO; DATTILO; ROGERO, 2008). Sua síntese ocorre, nos seres vivos, através da oxidação do nitrogênio da guanidina presente na arginina, tendo como co-produto a L-citrulina (NICASTRO; DATTILO; ROGERO, 2008; LI *et al.*, 2009). Essa reação ocorre na presença de oxigênio e NADPH (*Nicotinamida-Adenina Dinucleotídeo Fosfato*) (STUEHR, 2004). O processo é catalizado por uma das três isoformas da enzima óxido nítrico sintetase (NOS): a neuronal (nNOS), encontrada no sistema nervoso; a endotelial (ecNOS), no endotélio vascular; e a forma induzida (iNOS), nos macrófagos (QUEIROZ; BATISTA, 1999; LI *et al.*, 2009; ZUCKERBRAUN; GEORGE; GLADWIN, 2011).

O NO tem várias funções no organismo. Atua como vasodilatador, como molécula de transdução de sinal, neurotransmissor e mediador da resposta imune (COMAN; YAPLITO-LEE; BONEH, 2008).

Seu efeito na vasodilatação decorre da sua atuação como fator de relaxamento derivado do endotélio, o que está relacionado ao aumento do desempenho físico (MCCONELL *et al.*, 2006). A vasodilatação beneficia atletas através de mecanismos interdependentes. O aumento da perfusão sanguínea (MENEILLY; BATTISTINI; FLORA, 2001; RADEGRAN; SALTIN, 1999) facilita o aporte de oxigênio e nutrientes aos tecidos. Com a maior oferta de glicose para o músculo esquelético em atividade (MENEILLY; BATTISTINI; FLORA, 2001), aumenta a disponibilidade do substrato energético para a contração muscular; e há a redução da concentração plasmática de amônia e lactato

(SCHAEFER *et al.*, 2002). Isto retarda a fadiga e diminui o desconforto provocado pelo acúmulo desses catabólitos na musculatura. (ANGELI *et al.*, 2007).

Além disto, há estudos que revelam o papel do óxido nítrico como indutor da angiogênese, através da modulação do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), quando associado ao exercício físico (SUZUKI, 2006). No entanto, a L-arginina isoladamente não é capaz de provocar angiogênese em capilares de músculos estriados de ratos, tais como sóleo e plantar (SUZUKI, 2005).

Além dos efeitos da suplementação de L-Arginina relacionados à vasodilatação, há ainda a associação deste aminoácido à melhoria da força contrátil através de uma maior síntese de proteínas musculares (FLAKOLL *et al.*, 2004). Acredita-se que o próprio efeito da perfusão da musculatura esquelética contribua para melhor qualidade do treinamento, resultando em aumento de massa muscular e força contrátil (ANGELI *et al.*, 2007).

A relação entre L-Arginina e exercício físico decorre ainda da participação deste aminoácido no ciclo da uréia, o qual atua estimulando a formação de compostos de alta energia como a creatina e o fosfato de creatina, o que poderia minimizar a proteólise muscular esquelética (MATSUMOTO *et al.*, 2007).

A quantidade ingerida do aminoácido L-Arginina pode estar relacionada ao seu efeito no organismo. Entretanto, há divergência nos trabalhos a respeito da dose específica a depender do objetivo de estudo. A dose de 300 mg/Kg via oral tem sido utilizada para estudar Depressão Alastrante Cortical e morfometria do tecido nervoso (MAIA *et al.*, 2006; FRAZÃO *et al.*, 2008), no entanto não se tem registro de quantidades padronizadas a serem utilizadas para se obter um efeito como suplemento, em especial para o estudo morfológico e morfométrico do aparelho locomotor.

2.3 Morfologia e Morfometria

A análise de imagens é um método utilizado em patologia para se conseguir dados sobre os componentes celulares e teciduais (ANDREA; BLEGGI-TORRES; ALVES, 2008). Desde o século XVII, sendo utilizada com o objetivo de comparar objetos microscópicos (MEIJER, 1997). Essa comparação pode ser feita através da morfologia e morfometria de células e tecidos, bem como de seus componentes estruturais. A morfologia se destina ao estudo da forma, tamanho, posição dos núcleos, coloração das estruturas (FILHO *et al.*, 2006). A morfometria avalia aqueles parâmetros através da mensuração e contagem. Dessa forma, uma

dos principais vantagens da morfometria é a redução da subjetividade e a possibilidade de uma maior reprodutibilidade entre observadores teciduais (ANDREA; BLEGGI-TORRES; ALVES, 2008).

A avaliação morfológica e morfométrica têm importantes implicações diagnósticas e prognósticas (MOTTA *et al.*, 2006; ANDREA; BLEGGI-TORRES; ALVES, 2008), a exemplo do estudo das alterações de tamanho tanto da célula quanto do núcleo de células do osteossarcoma e sua relação com o tratamento quimioterápico (APEL *et al.*, 1985). Soma-se a isso o fato de que alterações morfométricas de tecidos podem ocasionar alterações no funcionamento destes (FILHO *et al.*, 2005).

Diferentes tipos de células e tecidos tem sido objeto de estudo, utilizando-se dessa ferramenta como forma de avaliação. Neoplasias em diversos tecidos (APEL *et al.*, 1985; MOTTA *et al.*, 2006), assim como o efeito de algumas drogas, têm sido investigadas levando em consideração as alterações na morfometria dos tecidos estudados (FILHO *et al.*, 2006; VEIGA *et al.*, 2007; FONTANA *et al.*, 2010).

Atualmente, a morfometria tem sido bastante útil para o estudo de alterações em estruturas do aparelho locomotor decorrentes da prática de exercício físico. Estudos mostram que as respostas do organismo à prática de exercício físico levam a alterações morfométricas, e por consequência, funcionais do músculo estriado esquelético e osso (FILHO *et al.*, 2005; TENÓRIO *et al.*, 2005; FILHO *et al.*, 2006; SOBRAL *et al.*, 2008), assim como de outros tecidos (MOITA *et al.*, 2011).

Ao se estudar o tecido muscular estriado esquelético, os parâmetros mais comumente avaliados são: tamanho da área de secção transversa, razão capilar/fibra, diâmetro médio da fibra, comprimento da fibra e número de sarcômeros (LIMA *et al.*, 2007). No osso, área, perímetro e densidade dos osteócitos são os mais estudados (TENÓRIO *et al.*, 2005). Com o intuito de melhor entender as alterações morfométricas do tecido ósseo, decorrente do exercício físico, uma revisão sistemática foi realizada.

São escassos os trabalhos a respeito dos efeitos do aminoácido L-Arginina na morfometria dos tecidos. Sabe-se que esse aminoácido interfere de alguma forma na morfometria de neurônios do córtex visual (MAIA *et al.*, 2006), no espessamento na camada íntima de artéria (KNOPHOLZ *et al.*, 2006), assim como no crescimento do tumor sólido de Ehrlich (REIS *et al.*, 2009). Embora se conheça as várias alterações no músculo estriado esquelético e osso decorrentes do exercício físico, não se tem registro de estudos que avaliem

a influência da L-Arginina em associação com o exercício sobre a morfometria desses tecidos. Considerou-se, portanto, importante avaliar uma possível interação da L-Arginina e exercício físico sobre parâmetros morfológicos e morfométricos do aparelho locomotor.

2.4 Tecido Muscular Estriado Esquelético

O tecido muscular esquelético origina-se do mesoderma e é caracterizado pela propriedade de contração e distensão de suas células. Esse tecido está inserido ao tecido ósseo formando o sistema locomotor que é responsável pela movimentação corporal (DAVIES; BLAKELEY; KIDD, 2002). O músculo estriado esquelético, responsável pela maior parte da massa muscular voluntária do corpo, é formado por feixes de células cilíndricas muito longas e multinucleadas, que apresentam estriações transversais. Tem contração rápida, vigorosa e sujeita ao controle voluntário (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

As fibras do músculo estriado esquelético são células alongadas que correspondem à unidade fundamental na estrutura do músculo. As fibras musculares estão dispostas paralelamente uma às outras. Possuem vários núcleos e estão situados na periferia das células, sob a membrana celular. Os elementos contráteis ocupam maior parte do volume celular, que tem uma relação muito ordenada e específica entre si, organização essa responsável pelas estriações transversais vista nos cortes longitudinais das fibras musculares esqueléticas e que deram origem à denominação de músculo estriado (ROSS; ROMRELL, 1993).

A irrigação do músculo estriado esquelético é bastante rica. Os vasos sanguíneos penetram no músculo e formam uma rede de capilares entre as fibras musculares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; ROSS; ROMRELL, 1993).

O músculo é um tecido extremamente plástico, pois consegue adaptar-se rapidamente às demandas impostas a ele, alterando suas propriedades morfofuncionais (BARROSO; TRICOLI; UGRINOWITSCH, 2005). Estímulos mecânicos, como os decorrentes da prática de exercício físico, sobre o tecido muscular podem provocar alterações que acarretam aumento da área transversa do músculo e diâmetro médio da fibra muscular, o que reflete hipertrofia (FILHO *et al.*, 2005; BRITO *et al.*, 2006; SECCHI *et al.*, 2008). A hipertrofia está relacionada ao aumento da síntese e/ou degradação de proteína (BARROSO; TRICOLI; UGRINOWITSCH, 2005).

Sabe-se ainda que por ser considerado um reservatório de proteína, o músculo esquelético está sujeito a alterações decorrentes da ingestão de nutrientes proteicos ou relacionados ao seu metabolismo (ALVES; DÂMASO; PAI, 2008). Dentre os nutrientes que fazem parte da formação de proteínas destacamos o aminoácido L-Arginina (NOVAES; 2000). Esse nutriente, por ser parte integrante de proteínas e por suas funções no organismo (FLAKOLL *et al.*, 2004; NOVAES, 2000), pode estar relacionado à hipertrofia muscular, especialmente quando associado ao exercício físico. Dessa forma, muitos atletas têm utilizado esse aminoácido concomitantemente a prática de exercício físico com o objetivo de promover hipertrofia muscular (ANGELI *et al.*, 2007).

Além de o exercício poder modular o tecido esquelético, ele pode também atuar sobre o tecido ósseo, especialmente o disco epifisário, como descrito a seguir.

2.5 Disco Epifisário

O crescimento dos ossos longos é definido por dois processos: o crescimento em espessura (intramembranoso) e crescimento longitudinal (endocondral) (DELLMAN; BROWNE, 1982). A diferença básica entre esses dois tipos de crescimento está na presença de cartilagem (BARON *et al.*, 1994).

O processo de ossificação endocondral é o responsável pelo crescimento longitudinal da maioria dos ossos do esqueleto. Em circunstâncias normais, a calcificação ocorre no disco epifisário pela ação de células conhecidas como condrócitos, que obedecem aos estágios de proliferação, hipertrofia e calcificação (LEACHJ; GRAY, 1987). O processo de ossificação endocondral ocorre a partir de um molde cartilaginoso denominado disco epifisário. O disco epifisário é composto de cartilagem, localizado entre a epífise e a diáfise, podendo ser dividido em várias regiões anatômicas, denominada de zonas ou camadas (PIZAURO; CIANCAGLINI; MACARI, 2002; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

Cada zona do disco epifisário possui uma especificidade conforme sua função e a morfologia dos condrócitos. A cartilagem de repouso contém condrócitos dispersos e inativos. A zona de proliferação é uma região de intensa atividade de multiplicação cujos condrócitos apresentam-se enfileirados com formato de disco. A zona hipertrófica contém condrócitos aumentados (com muitas vesículas) responsáveis pela síntese e secreção da matriz óssea. A última camada é a zona de calcificação onde os condrócitos sofrem degeneração e há o depósito de fosfato de cálcio. (PIZAURO; CIANCAGLINI; MACARI, 2002).

O crescimento longitudinal da epífise está relacionado à produção de condrócitos na camada de proliferação e ao tamanho de condrócitos na camada hipertrófica (BRIGHT, 1982). Esse crescimento é contínuo nos animais jovens, mas à medida que a cartilagem amadurece o disco epifisário vai se reduzindo em espessura, até seu completo fechamento (PRICE; OYAJOBİ; RUSSEL, 1993).

Nos períodos de vida em que ocorre maior crescimento longitudinal ósseo, o disco epifisário encontra-se em maior atividade, sendo, portanto, mais responsivo a influências externas (ROACH *et al.*, 2003). Nos ratos, essa fase corresponde à faixa etária de 21 a 35 dias de vida do animal (HUNKIKER; SCHENCK, 1989). Dessa forma, agentes que possam atuar no disco epifisário nessa fase da vida podem provocar mudanças na sua morfologia e morfometria (HAAPASALO *et al.*, 1994). Manipulação nutricional, assim como estímulos mecânicos decorrentes do exercício físico são agentes que podem estar relacionados a mudanças na estrutura do disco, influenciando assim no crescimento ósseo (OCARINO; SERAKIDES, 2006).

2.6 Artigo de Revisão Sistemática

Changes in morphometric parameters of bone tissue due to physical exercise: a systematic review

Authors:

Maria Patrícia Pereira Melo

Programa de Pós-graduação em Patologia, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE,
Professor Moraes Rego, 1235, CEP 50670-901, Cidade Universitária, Recife, PE, Brazil.
mpatriciapmelo@hotmail.com

Angélica da Silva Tenório

Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE,
Professor Moraes Rego, 1235, CEP 50670-901, Cidade Universitária, Recife, PE, Brazil.
tenorioangelica@yahoo.com.br

Liriane Baratella Evêncio

Departamento de Histologia e Embriologia, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.
Professor Moraes Rego, 1235, CEP 50670-901, Cidade Universitária, Recife, PE, Brazil.
liriane@uol.com.br

Luciana Maria Silva de Seixas Maia

Departamento de Histologia e Embriologia, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.
Professor Moraes Rego, 1235, CEP 50670-901, Cidade Universitária, Recife, PE, Brazil.
lumaiaabr@yahoo.com.br

Bone morphometry and physical exercise

Abstract

Introduction: It is known that physical exercise can influence the morphometry of bone tissue. This influence depends on the intensity, frequency, duration and mode of exercise. However, these aspects are not well described in literature. Furthermore, morphometric parameters for the study of bone tissue are more suitable to investigate this effect. Given these uncertainties, we intend to investigate the effects of exercise in bone morphometry. **Materials and methods:** For this study, we performed a systematic search of articles in PUBMED, MEDLINE, OLD MEDLINE, SciELO and LILACS. We used the keywords: “morphometry”, “physical exercise” and “bone”. Initially we found a total of 39 articles. Articles in which animals were submitted to pharmacological or surgery intervention as well as those where rats had some disease or hormonal alteration were excluded. After selection according to inclusion and exclusion criteria, only three articles remained. **Results:** Newhall *et al.* (1991) investigated the effects of exercise in a non-systematic way, with no definitions of exercise parameters. McDonald *et al.* (1986) suggest that various features of physical exercise, besides intensity, can influence on bone mechanical properties. The results of this research show the need to establish defined standards concerning the mode, intensity, frequency and duration of exercise. **Conclusion:** It was not possible to determine which morphometric parameters are the best to represent these changes. More studies in this area are suggested in order to comprehend the influence of physical exercise on bone tissue.

Keywords: morphometry, bone, physical exercise

1. Introduction:

It is well known that physical exercise promotes several individual health benefits. The benefits most commonly related in the literature are cardiorrespiratory endurance, decrease in the risk for chronic-degenerative diseases and increase in the mineral bone density (ANTUNES *et al.*, 2006). The increased bone density caused by weight-bearing exercises are observed in studies with both human beings (DALSKY *et al.*, 1988) and animals (CHEN *et al.*, 1994; MENDONÇA *et al.*, 2007).

Changes in bone tissue due to physical exercise are related to some characteristics of this tissue. Bone is a highly vascular, living and dynamic tissue, giving it a remarkable capacity for regeneration and adapting its mechanical properties according to mechanical demand (NORDIN and FRANKEL, 2003). For the growth and strengthening of bone mass, there must be minimum mechanical stress placed on it to guarantee proper bone grown and skeletal health (HAMILL and KNUTZEN, 1999).

Both densitometry and bone biopsy can be used as a way to evaluate the effects of exercise on bone tissue, however these techniques were considered inadequate to investigate the skeletal response to physical stimulus. Therefore, it was necessary to study morfometric and histological parameters in order to better understand the beneficial effects of physical exercise on bone tissue (OCARINO and SERAKIDES, 2006).

Although the positive influence of physical exercise on process of maintenance and gain of bone mass has been well defined, there are some questions about this issue. Information about ideal mode, intensity, frequency and duration of physical exercise due to adequate bone stimulus is insufficient (RUSCHEL *et al.*, 2010).

Based on this explanation, the aim of this study is to investigate the effects of different type of exercises on bone morphometric parameters.

2. Material and Methods

The articles that compose this systematic review were obtained from the following databases: SciELO (Scientific Eletronic Library Online), LILACS (Latin American and Caribbean Health Sciences), PUBMED (National Library of Medicine and The National Institute of Health), MEDLINE (U.S. National Library of Medicine – 1997-2010) and MEDLINE OLD (US National Library of Medicine - 1966-1996). This research was carried

out during the period from October, 2010 to November, 2010. The searching strategy involved for exploring all databases was with these search terms: “physical exercise”, “morphometry” and “bone”.

In this Review, original articles involving all rat lineages submitted to all kind of physical exercise were included. Articles in which animals were submitted to pharmacological or surgery intervention as well as those where rats had some disease or hormonal alteration were excluded. Also, articles which were not wholly available on databases were excluded. There were no temporal limits in selecting the articles.

Concerning the cross terms previously described, a total of 39 articles, were found: 22 on PUBMED, 11 on MEDLINE, 6 on MEDLINE OLD and 0 on SciELO. After that, according to inclusion and exclusion criteria, 8 articles were selected. From these, 5 were further excluded: 4 repeated and 1 unavailable, leaving only 3 articles.

3. Results

After applying the inclusion and exclusion criteria, the 3 selected articles were summarized on a table (Table 1). In this table, the following criteria were established: author and year of publication of the article, an experimental model, its model age, type, intensity, duration and frequency of exercise to which the animals were subjected, morphometric parameter evaluated and the result of this assessment.

The results of this survey indicate an incipient interest in studying morphology of bone tissue in the world. The only country where the relation between morphometry and physical exercise, according to criteria established, is studied is in United States of America (USA). In the results table, it can be observed that only three articles investigate this issue. Moreover, the oldest one is from the 1990s (NEWHALL *et al.*, 1991).

At Brazil, there are some studies on bone morphometry whose aims are to analyze various influences on bone tissue, such as implanting bone grafts (YAEDÚ *et al.*; 2004) and process of bone repair (MENDONÇA *et al.*, 2007). However, there are no studies about the influence of physical exercise on bone morphometry without inducing pharmacological, hormonal or surgical changes. This data demonstrates the great need to develop studies in this area.

In Newhall *et al.* (1991), the oldest one found in this review, only two morphometric parameters were evaluated, whereas in the most recent study more parameters were added that demonstrate greater interest in approaching this issue in further detail. A technological progress associated with increased interest in investigating new morphometric parameters (MENEZES and SFORZA, 2010) can be therefore be noticed, in order to produce further studies on the morphometry of the bone.

The results of this research show the need to establish defined standards concerning mode, intensity, frequency and duration of exercise. Newhall *et al.* (1991) investigated the effects of exercise in a non-systematic way, with no definitions of these parameters. By contrast Wheeler *et al.* (1995) suggest that intensity and frequency can influence highly on gaining bone mass, so he proposes a detailed study of physical exercise.

According to Cunha *et al.* (2007), high-impact exercise can lead to a loss of bone mass. Wheeler *et al.* (1995) have observed in their experiments that animals submitted to this intensity of exercise had a significantly less medullary area and in the cross-sectional area of marrow and cortical bone and cortical thickness. McDonald *et al.* (1986) suggest that various features of physical exercise, besides intensity, can influence bone mechanical properties. This reflects complex interactions between bone remodeling and exercise intensity, exercise duration, animal species and skeletal age.

Up until now, there is no registration of an ideal duration of exercise in order to maintaining or increase bone density. Duration exercise had no influence on either of the morphometric parameters evaluated by Wheeler *et al.* (1995). In the other two articles (NEWHALL *et al.*, 1991; WARNER *et al.*, 2006) found in this review, the parameters of exercise were not taken into account which demonstrates the lack of studies and the need for further research into the effect of exercise on bone morphometry.

The experimental models used in all articles were Sprague-Dawley rats. However, in the literature it is not defined what species of animals are more suitable for investigating the effects of physical exercise on bone tissue. Due to this fact, it would be interesting to find a more suitable experimental model for this purpose (HUANG *et al.*, 2003). Comparative studies using different experimental models that represent humans well should be used as a way of finding an appropriate model. These experimental models mimic the human organism as some invasive methods are hard or impossible to study in human subjects (WHEELER *et al.*, 1995).

Regarding the age of experiment models, the articles which compose this review investigate the following animal ages: 40, 90 and 120 days from birth. It is known that bone tissue structure of humans varies with age. In the first two decades of life (childhood until early adulthood), there is a progressive and massive increase of bone mass. But from the second decade there is a progressive and absolute loss of bone mass (ROSSI, 2008). According to bone age, there could be different effects of physical exercise on bone mechanical properties, so it is extremely important to take age into account when studying bone tissue.

The article by Warner *et al.* (2006) brings an innovation when comparing this with the other articles, because it investigates effects of exercise with (running) and without weight bearing (swimming), as well as comparing them. The exercise with weight bearing can lead to bone mechanical alterations (RUEFF-BARROSO *et al.*, 2008). Despite several studies having shown some benefits of swimming to both humans and animals they are still insufficient to prove its effects on bone morphometry.

It can be observed on the results table that depending on the mode of exercise, the bone chosen to be studied is different. When studying the effects of swimming, the bone selected was the femur, but in studying running, the chosen bone was the tibia. According to Warner *et al.* (2006), both mode exercises lead to the same alteration on bone tissue regardless of the bone chosen.

TABLE

4. Conclusions:

Bone morphometric alterations due to physical exercise depend on various factors, such as mode, intensity, frequency and duration of physical exercise, besides bone ages. However, the current studies are insufficient to ensure what parameters are likely to influence properly. It is suggested, therefore, that more studies be done in order to fill in the gaps.

References

- ANTUNES, HKM., SANTOS, RF., CASILHAS, R., SANTOS, RVT., BUENO, OFA. and MELLO, MT. Exercício físico e função cognitiva: uma revisão. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte [online]*, 2006, vol.12, n. 2, p. 108-114.
- CHEN, MM., YEH,JK., ALOIA,JF., TIERNEY, JM. and SPRINTZ, S. Effect of treadmill exercise on tibial cortical bone in aged female rats: A histomorphometry and dual energy X-ray absorptiometry study. *Bone*, 1994, vol. 15, n. 3, p. 313-19.
- CUNHA, CEW., PONTES-JUNIOR, FL., BACURAU, RFP. and NAVARRO, F. Os exercícios resistidos e a osteoporose em idosos. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do exercício*, 2007, vol. 1, n. 1, p. 18-28.
- DALSKY, GP., STOCKE, KS., EHSANI, AA.,SLATOLSKY,E., LEE,WC.and BIRGE, SJJr., Weight-Bearing Exercise Training and Lumbar Bone Mineral Content in Postmenopausal Women. *Annals of Internal Medicine*, 1988, vol. 108, n.6, p. 824-828.
- HAMILL, J. and KNUTZEN, K. *Bases biomecânicas do movimento humano*. São Paulo: Manole, 1999.532 p.
- HUANG, TH., LIN, SC., CHANG, FL., HSIEH, SS., LIU,SH. and YANG, RS. Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone. *Journal of Applied Physiology*, 2003, vol. 95, p.300–07.
- McDONALD, R., HEGENAUER, J. and SALTMAN, P. Age-Related Differences in the Bone Mineralization Pattern of Rats Following Exercise. *Gerontology*, 1986, vol.41, p. 445-452.
- MENDONÇA, R.G., FREITAS, AC., RAMALHO, LP., FARIAS, JG. and RIBEIRO, MMB. Avaliação Histológica do Processo de Reparo Ósseo Após Implantação de BMPs. *Pesquisa Brasileira Odontopediatria e Clínica Integrada*, João Pessoa. 2007, vol. 7, n.3, p.291-296.
- MENEZES, M. and SFORZA, C. Morfometria tridimensional (3D) da face. *Dental Press Journal of Orthodontics*, 2010, vol. 15, n.1, p. 13-15.
- NEWHALL, KM., KENNETH, JR., MARJOLEINE, C. M., CARTER, D.R. and MARCUS, R. Effects of Voluntary Exercise on Bone Mineral Content in Rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, 1991, vol. 6, n.3, p. 289-96.
- NORDIN, M. and FRANKEL, VH. *Biomecânica básica do sistema musculoesquelético*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
- OCARINO, NM. and SERAKIDES, R. Efeito da atividade física no osso normal e na prevenção e tratamento da osteoporose. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte [online]*, 2006, vol. 12, n. 3, p. 164-168.

ROSSI, E. Envelhecimento do Sistema Osteoarticular. *Einstein*, 2008, vol. 6, n.1, p.7-12.

RUEFF-BARROSO, CR., MILAGRES, D., VALLE, J., CASIMIRO-LOPES, G., NOGUEIRA-NETO, JF., ZANIER, JF. and PORTO, LC. Bone healing in rats submitted to weight-bearing and non-weight-bearing exercises. *Medical Science Monitor*, 2008, vol. 14, n. 11, p. 231-236.

RUSCHEL, C., HAUPENTHAL, A. and ROESLER, H. Atividade física e saúde óssea: princípios fundamentais da resposta a estímulos mecânicos. *Motriz*, Rio Claro. 2010, vol. 16, n.2, p. 477-484.

WARNER, S.E., SHEA, JE., MILLER, SC. and SHAW, JM. Adaptations in Cortical and Trabecular Bone in Response to Mechanical Loading with and without Weight Bearing. *Calcified Tissue International*, 2006, vol. 79, p. 395-403.

WHEELER, DL., GRAVES, JE., MILLER, GJ., GRIEND, REV., WRONSKI, TJ., POWDERS, SK. and PARK, HM. Effects of running on the torsional strength, morphometry, and bone mass of the rat skeleton. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1995, p. 520-29.

YAEDÚ, RFY., BRIGHENTTI, FL., CESTARI, TM. and GRANJEIRO, J. M. Heterotopic osteogenesis induced by implantation of allogenic bone matrix graft into mouse muscle perimysium. A morphometric study. *Ciência Odontológica Brasileira*, 2004, vol. 7, n.1, p. 21-30.

TABLE. Studies that evaluated bone morphometry due to physical exercise on animals.

Author/year/ country	Sample	Sample age	Aim	Mode/Intensity/ Duration/Frequency of exercise	Morphometric parameters	Main results
Newhall <i>et al</i> , 1991; EUA	Sprague-Dawley Rats	40 days	To determine if voluntary exercise leads to changes in the geometric properties of bone	Wheel cages, 6 weeks, <i>ad libitum</i> .	Femoral midshaft cross-sectional area.	Femoral midshaft cross-sectional area was greater in exercised animals.
Wheeler <i>et al</i> , 1995; EUA	Sprague-Dawley Rats	90 days	To evaluate the effects of various intensities and durations of treadmill running on bone mass and strength	Treadmill; intensity: Low (55%VO _{2max}), Medium (65%VO _{2max}), High (75%VO _{2max}); Duration: 30, 60, 90min; 10 weeks.	Total bone tissue area; marrow area; cortical bone area; mean cortical thickness of tibia.	Total bone tissue area, cortical bone area and mean cortical thickness were greater in exercised animals; Marrow area had not difference. High intensity > marrow area; Medium intensity > mean cortical thickness.
Warner <i>et al</i> , 2006; EUA	Sprague-Dawley Rats	120 days	To investigate the effects of exercises with (treadmill) and without weight bearing (swimming) on trabecular and cortical bone.	Treadmill or swimming; 12 weeks; 60 minutes -per day, 5 days per week; same frequency.	Cortical area, marrow area, cortical thickness, periosteal perimeter, endocortical perimeter of femur and humerus.	There was no difference in femur morphometry comparing it with humerus, either in swimming or treadmill exercise.

3. METODOLOGIA

3.1 Área

Esta pesquisa foi realizada utilizando-se a parceria dos seguintes laboratórios: Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (LAFINNT) - Departamento de Nutrição, Laboratório de Histopatologia – Programa de Pós-graduação de Patologia, Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Histologia. Todos eles pertencentes à Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

3.2 Modelo Experimental

Neste trabalho foram utilizados os mesmos animais da pesquisa intitulada “INTERAÇÃO L-ARGININA E ATIVIDADE FÍSICA DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO: ANÁLISE DA DEPRESSÃO ALASTRANTE CORTICAL EM RATOS JOVENS E ADULTOS” (processo nº 23076.005924/2008-80).

Para a realização deste estudo, foram adquiridos 24 ratos machos albinos, da linhagem Wistar, provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Esses animais foram mantidos sob condição padrão do biotério, em sala à temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, submetidos a um ciclo artificial claro/escuro de 12/12 horas (o escuro iniciando-se às dezenove horas), água e dieta padrão de laboratório (*Purina*®, Paulínia, SP, Brasil) *ad libitum*.

Para as determinações experimentais, os ratos foram distribuídos aleatoriamente, vinte e quatro horas após o parto (primeiro dia de vida, considerando-se o dia de nascimento como dia zero), em ninhadas de seis filhotes por mãe. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, conforme a administração do aminoácido L-Arginina e a realização do exercício físico.

3.3 Tratamento com L-Arginina

Ao atingirem a idade de 7 dias de vida, os filhotes foram divididos em dois grupos: 1) tratados com uma solução aquosa contendo 300 mg/kg/dia de L-Arginina (grupo Ar; MONTEIRO *et al.*, 2011); 2) tratados com volume equivalente do veículo – água destilada (grupo água – Ag; controle). Antes de administrada aos animais, a L-Arginina (Sigma, St.

Louis, MO) era pesada em balança analítica (Bosch S-200, capacidade de 200g e sensibilidade de 0,1 mg) e diluída em água destilada.

O aminoácido L-Arginina ou a água foi administrado diariamente por gavagem, do 7º ao 35º dias de vida, no horário entre 6 e 8 horas. O volume da água ou da solução de L-Arginina foi de 0,5 mL na 1ª semana (7º ao 14º dia de vida do animal) e 1 mL nas 2ª, 3ª e 4ª semanas (15º ao 35 dia de vida) (MAIA *et al.*, 2006 adaptada por MONTEIRO *et al.*, 2011).

3.4 Exercício físico em esteira

Aos 15 dias de vida, os dois grupos de animais, foram subdivididos em dois outros grupos de acordo com a prática de exercício físico: exercitados (grupo E) e não-exercitados (grupo N). Para a realização do exercício físico, utilizou-se esteira motorizada (Insight EP-131, São Paulo, Brasil; 0º inclinação).

Os animais foram submetidos ao exercício físico sempre no mesmo horário (6:30 às 8:00), em cinco sessões semanais (com duração de 30 minutos) por 3 semanas. A velocidade da esteira variou de 5m/min, 10 m/min e 15 m/min, nas 1ª, 2ª e 3ª semanas de exercício, respectivamente. Os animais do grupo não-exercitados foram submetidos às mesmas condições dos animais exercitados, no entanto a esteira estava desligada (segundo o protocolo de SILVA *et al.*, 2009 adaptado por MONTEIRO *et al.*, 2011).



Figura 1- Esteira Motorizada Insight EP-131 –

Fonte: <http://insightltda.com.br/insight-equipamento-cientifico-269-Esteira-Motorizada-para-Ratos>

3.5 Divisão dos grupos experimentais

De acordo com a administração do aminoácido L-Arginina e a prática do exercício físico, conforme descrito anteriormente, os grupos experimentais se encontram divididos conforme Figura 2.

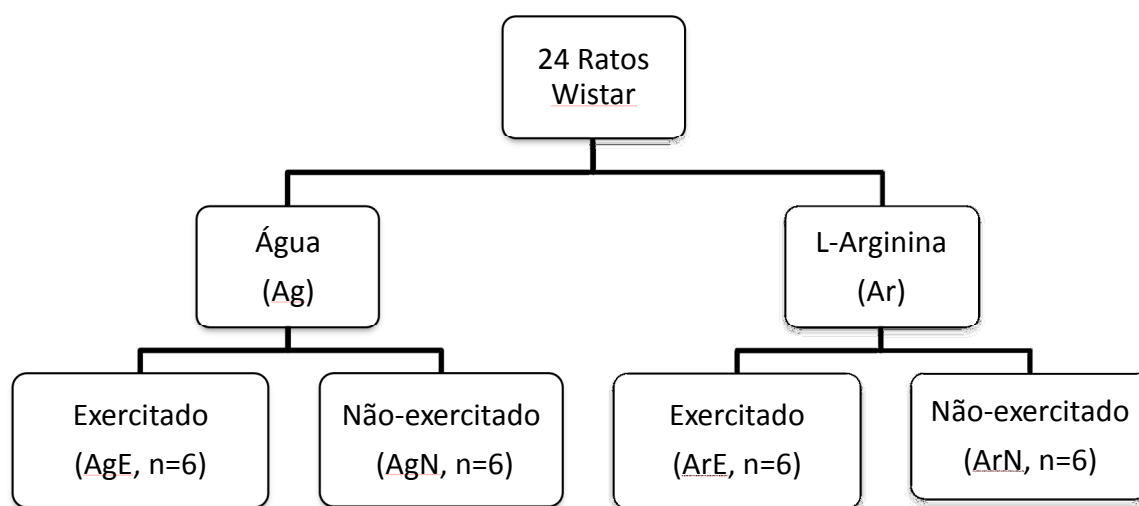


Figura 2. Representação esquemática dos grupos experimentais e o número (n) por cada grupo correspondente.

3.6 Evolução ponderal

Todos os animais foram pesados nos 7º, 14º, 21º, 28º, 35º dia de vida do animal, assim como no dia de seu sacrifício. O peso corporal dos animais foi registrado através da balança (MARTE 1001) com capacidade de 1 kg e sensibilidade de até 0,1g.

3.7 Coleta do material

Os animais, ao atingirem a idade predeterminada (35-45 dias de vida), foram submetidos a eutanásia através de anestesia com uma solução contendo mistura de uretana a 10% + cloralose a 0,4%, à dose de 1000 mg/kg de uretana + 40 mg/kg de cloralose, administrado por via intraperitoneal (10 ml/Kg). Os animais foram posicionados em decúbito dorsal e, em seguida, foi realizada uma incisão dorsal na pata posterior direita para a extração

do músculo gastrocnêmio. A remoção do fêmur foi realizada pela desarticulação da articulação coxo-femoral e tíbio-femoral na pata posterior direita do animal.



Figura 3. Foto ilustrativa da extração do músculo gastrocnêmio.

3.8 Comprimento do músculo gastrocnêmio e do fêmur

Após a obtenção do fêmur e músculo gastrocnêmio, estes foram medidos utilizando-se uma linha de algodão. O osso foi medido desde a cabeça do fêmur até a superfície articular dos côndilos femurais. O músculo gastrocnêmio foi medido desde sua origem até sua inserção tendínea (CARDOSO, 2006). As distâncias foram medidas com uma régua milimetrada com precisão de 0,05 cm.



Figura 4. Medida do comprimento do músculo gastrocnêmio com linha de algodão e régua milimetrada

3.9 Peso absoluto e relativo do músculo e do osso

O fêmur e o gastrocnêmio foram pesados em balança analítica (Bosch, S-2000 com capacidade de 200g e sensibilidade 0,1 mg), obtendo-se o peso absoluto (PA) que foi relacionado com o peso corporal do animal (PC) no dia do sacrifício para obtenção do peso relativo (PR) do órgão ($PR = PA/PC$).



Figura 5. Pesagem do fêmur em balança analítica

3.10 Processamento histológico do material

Após pesados, fêmur e músculo gastrocnêmio foram acondicionados em recipientes contendo solução de formol a 10% por um período mínimo de 48 horas, para fixação, sendo o osso descalcificado em solução contendo ácido fórmico a 8% e ácido clorídrico a 8% (DUARTE *et al.*, 2006). A seguir, foram desidratados, diafanizados e incluídos em parafina. Para a inclusão, foi realizado um corte transversal em sua região média do músculo gastrocnêmio. Para o osso, foi realizado um corte em sentido longitudinal de forma a tornar evidente o disco epifisário.

Destes foram obtidas secções histológicas com aproximadamente 4µm de espessura em micrótomo Leica que foram corados pela hematoxilina-eosina e montados com Entellan (Merck). Os espécimens foram observados e fotomicrografados em microscópio óptico (MOTIC BA 200).

3.11 Análise Morfométrica

3.11.1 Mensuração do diâmetro médio das fibras musculares

As imagens dos cortes histológicos dos músculos (magnificação 1000x) foram selecionadas em microscópio, capturadas e digitalizadas através de uma câmera digital acoplada a um microcomputador. Com a finalidade de avaliar a hipertrofia das fibras musculares foi realizada a mensuração do diâmetro mínimo (Dmi) e máximo (Dma) da fibra muscular em amostras de 50 fibras por animal através do software ImageJ (adaptado de Brito *et al.*, 2006) (Figura 6). Após a obtenção destes dados, foi realizado o cálculo do diâmetro médio (DM) da fibra muscular ($DM = (Dmi + Dma) / 2$).

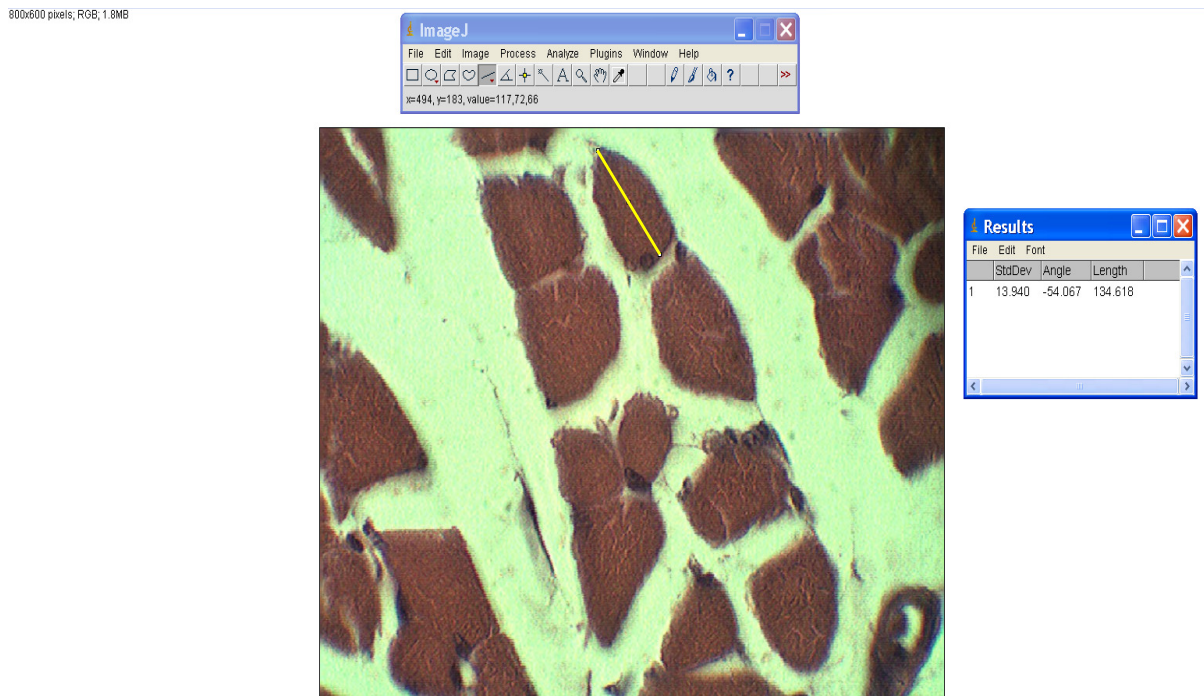


Figura 6. Interface gráfica do software Image J ilustrando fotomicrografia do músculo esquelético ilustrando mensuração do diâmetro da fibra muscular.

3.11.2 Contagem de condrócitos da zona de cartilagem seriada e hipertrófica

Foram selecionadas em microscópio imagens dos cortes longitudinais dos fêmures (magnificação 400x). Sendo, para isto, capturadas e digitalizadas através de uma câmera digital acoplada a um microcomputador. Foi, então, realizada a contagem do número de condrócitos, nas zonas proliferativa e hipertrófica, em 10 colunas por animal, utilizando-se o programa MESURIM (Figura 7).

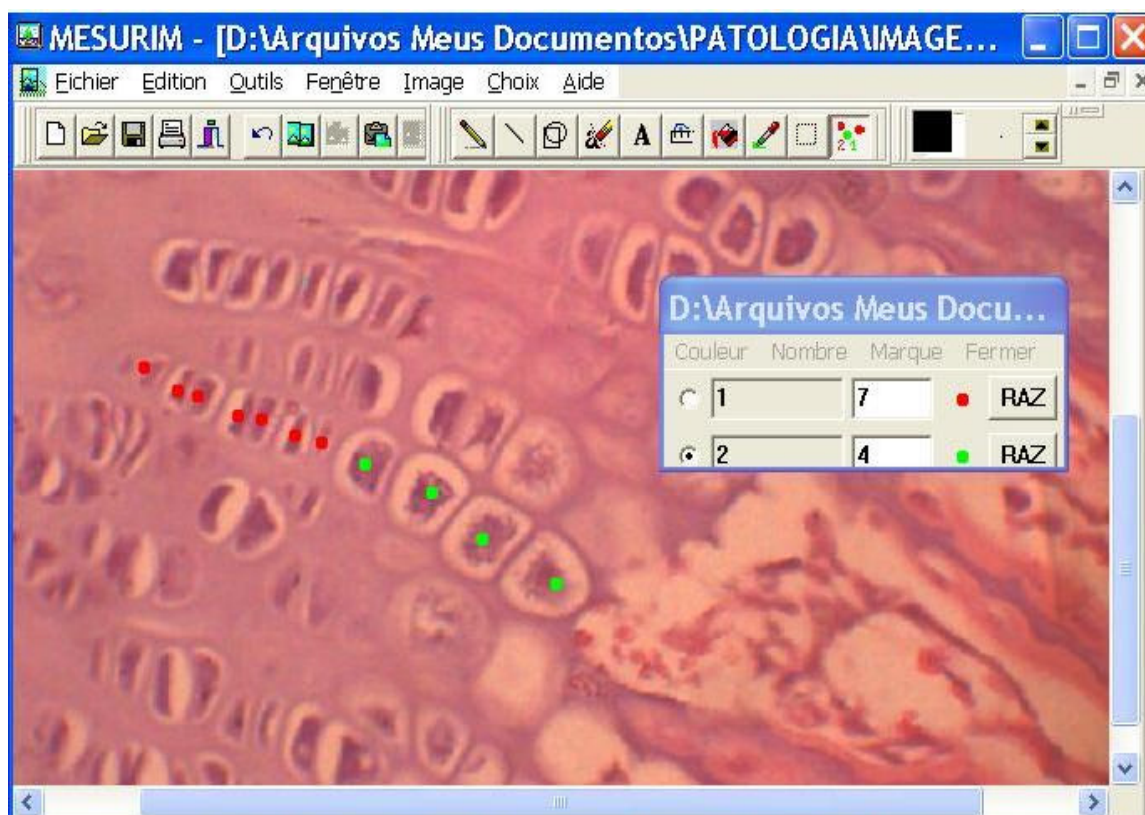


Figura 7. Interface gráfica do software Mesurin ilustrando a fotomicrografia de condrócitos da zona proliferativa (vermelho) e da zona hipertrófica (verde).

3.12 Análise Estatística

As medidas foram apresentadas como média $\pm$ desvio padrão da média. Para a análise estatística utilizou-se inicialmente o teste de Shapiro-Wilk para testar a normalidade da amostra, como os valores apresentaram uma distribuição normal foi utilizada a análise de variância (ANOVA-one way). Nas amostras que apresentaram diferenças significativas foi utilizado o pós-teste de Tukey. O nível de significância foi considerado com $p < 0,05$. Essa análise estatística foi realizada utilizando-se o programa SPSS 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, USA) para o Windows.

4 RESULTADOS

4.1 Artigo Original 1

“Interferência da L-Arginina e do exercício físico sobre a morfologia músculo estriado esquelético em ratos jovens”

Autores:

Maria Patrícia Pereira Melo - Fisioterapeuta, mestranda em Patologia pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE.

Anna Carolina de Sena e Vasconcelos - Graduanda do curso de Terapia Ocupacional da UFPE.

Heloísa Mirelle Costa Monteiro - Nutricionista, mestre em Nutrição pela UFPE.

Patrícia Clara Pereira dos Santos - Fisioterapeuta, mestranda em Fisioterapia pela UFPE.

Ângela Amâncio dos Santos - Professora adjunta do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE.

Luciana Maria Silva de Seixas Maia - Professora adjunta do Departamento de Histologia e Embriologia da UFPE.

Liriane Baratella Evêncio - Professora adjunta do Departamento de Histologia e Embriologia da UFPE.

Endereço para correspondência

Liriane Baratella Evêncio

Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária.
CEP 50670-901 Recife (PE), Brasil
liriane@uol.com.br

RESUMO

O exercício físico pode promover alterações anatomofisiológicas no músculo estriado esquelético. Além do exercício, a ingestão do aminoácido L-Arginina pode influenciar na morfometria da fibra muscular esquelética. Para este trabalho, foram utilizados 24 ratos machos da linhagem Wistar. Aos 7 dias de vida, esses animais foram divididos em dois grupos: tratados com L-Arginina (grupo Ar; 300 mg/kg/dia) e tratados com volume equivalente do veículo – água destilada (grupo Ag; controle). A L-Arginina ou a água foi administrada diariamente por gavagem. Aos 15 dias de idade, os animais dos grupos Ar e Ag foram subdivididos de acordo com a condição de exercício físico a que foram submetidos: exercitados em esteira (grupo E) e não exercitado (grupo N). O exercício foi realizado em esteira (ET 2000 Insight) 5 dias por semana com duração diária de 30 minutos. Os grupos foram assim distribuídos (n=6, por grupo): AgN, AgE, ArN e ArE. Ao atingirem a idade de 35-45 dias de vida, os animais foram pesados e sacrificados para a retirada do músculo gastrocnêmio. Este foi medido, pesado e processado para análise histológica. As imagens do músculo foram capturadas na objetiva de 100x para cálculo do diâmetro médio da fibra muscular. Os dados foram expressos na forma de média±desvio padrão da média, analisados através do programa SPSS. Foram utilizados os testes Shapiro-Wilk, Anova one-way e teste de Tukey ($p<0,05$). Não houve diferença entre os grupos, quanto ao peso corporal do animal e ao peso do músculo gastrocnêmio. No entanto, o grupo ArN apresentou diâmetro médio maior significativamente quando comparado aos dos demais grupos. Isto sugere que a L-Arginina, em animais que não realizaram o exercício físico, promove hipertrofia muscular. Enquanto que o exercício realizado não foi capaz de promover aumento do diâmetro da fibra muscular.

Palavras-chave: arginina, exercício físico, músculo esquelético

ABSTRACT

Exercise can promote anatomical and physiological changes in skeletal muscle. Besides exercise, ingestion of amino acid L-Arginine can lead to morphological changes in skeletal muscle fibers. To carry out our research, it was used 24 male Wistar rats which were divided into 4 groups according to the administration of Arginine and physical exercise. The experimental groups were distributed as follows: Arginine-Exercise (AE, n = 6), Arginine-NotExercised (AN, n = 6), Water-Exercise (WE, n = 6) and Water-NotExercised (WN, n = 6). The amino acid L-Arginine was administered via orogastric, at dose of 300mg/kg, daily from the 7th to 35th days of life of the animal. The exercise was performed on motorized treadmill for 30 minutes / day 5 times a week, from 15th to 35th days of life of the animal. At the age of 35-45 days, the animals were weighed and sacrificed in order to collect the gastrocnemius muscle. The gastrocnemius muscle was measured, weighed and processed for histological analysis. The images captured of muscle were taken in order to calculate the mean diameter of muscle fiber. Data were expressed as mean $\pm$ standard deviation and analyzed using SPSS. It was used the Shapiro-Wilk tests, one-way ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$). Concerning to body weight and gastrocnemius weight, there was no significant difference comparing all experimental groups. However, the AN group had the highest mean diameter when comparing it to the others groups. This suggests that orogastric administration of Arginine, offered to the animals that were not exercised, promotes muscle hypertrophy. On the other hand, exercise by itself did not lead to increase mean diameter of skeletal muscle.

Keywords: arginine, physical Exercise, skeletal muscle.

INTRODUÇÃO

As respostas do organismo ao exercício físico podem levar a alterações anamofisiológicas de vários tecidos do corpo, dentre eles o tecido muscular⁽¹⁾. As alterações do músculo esquelético são decorrentes da sobrecarga funcional durante o exercício promovendo assim o aumento da tensão muscular e produção de energia⁽²⁾. Aliado a isso, o aumento de trabalho muscular durante o exercício físico é capaz de promover reações químicas que são responsáveis pela hipertrofia muscular⁽³⁾.

Estudos mostram que durante o esforço aeróbico do exercício ocorre ruptura de proteínas do organismo, havendo então liberação de aminoácidos⁽⁴⁾. Deste modo, os atletas podem necessitar de um aumento na ingestão de proteínas ou de algum aminoácido específico⁽⁵⁾. A captação de aminoácidos pelo músculo esquelético é um evento precoce para iniciar a hipertrofia⁽³⁾.

A L-Arginina vem sendo amplamente estudada e faz parte da composição de vários suplementos alimentares⁽⁶⁾. Este aminoácido é considerado condicionalmente essencial, visto que, por não ser produzido pelo próprio organismo em algumas fases da vida e sob certas condições patológicas, necessita ser adquirido através da dieta^(7,8).

A administração oral desse aminoácido tem sido relacionada com a melhora do desempenho físico por redução da fadiga muscular. Esse efeito está associado à ação vasodilatadora promovida pelo óxido nítrico que é formado a partir da L-Arginina. A vasodilatação resulta em aumento da perfusão muscular e maior oferta de glicose pelos músculos em atividade⁽⁹⁾. Acredita-se que o próprio efeito da

perfusão da musculatura esquelética contribua para melhor qualidade do treinamento, resultando em aumento de massa muscular e força contrátil⁽¹⁰⁾.

Além dos efeitos da L-Arginina relacionados à vasodilatação, há ainda associação deste aminoácido à melhoria da força contrátil através de uma maior síntese de proteínas musculares⁽¹¹⁾.

Para se estudar os efeitos do exercício físico em animais de laboratório, a esteira motorizada tem sido bastante utilizada, uma vez que este tipo de exercício vem sendo amplamente empregado em programas de reabilitação e treinamento físico⁽¹⁾. Adicionalmente, com o intuito de se investigar alterações na fibra muscular, como hipertrofia, decorrentes da prática do exercício tem-se a mensuração de dimensões geométricas das secções transversais das fibras, como diâmetro⁽²⁾.

Diante do exposto, tem-se como objetivo investigar as possíveis influências da ingestão do aminoácido L-Arginina quando associado à prática do exercício físico sobre peso corporal e músculo esquelético de ratos jovens.

METODOLOGIA

Este estudo experimental foi submetido à apreciação da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE), sendo aprovado sob o protocolo nº 23076.005924/2008-80, seguindo-se as normas recomendadas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram utilizados 24 ratos machos da linhagem Wistar, provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, mantidos em 4 gaiolas coletivas contendo 6 filhotes em cada. Esses animais foram mantidos sob condição padrão do biotério, em sala à temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, submetidos a um ciclo artificial claro/escuro de 12/12 horas (o escuro iniciando-se às dezenove horas), água e dieta Labina (*Purina*®, Paulínia, SP, Brasil) *ad libitum*.

Ao atingirem a idade de 7 dias, os animais foram separados em dois grupos, de acordo com a administração de L-Arginina: animais tratados com L-Arginina (grupo Ar; 300mg/kg/dia) e animais tratados com volume equivalente de água destilada (grupo Ag). A L-Arginina ou a água foram administradas diariamente por gavagem do 7º ao 35º dias de vida, no horário das 6 às 8 horas. O volume total administrado em cada gavagem variou de 0,5 ml/dia (7º ao 14º dia de vida do animal) a 1,0 ml/dia (15º ao 35º dia de vida do animal) ⁽¹²⁾.

Na idade de 15 dias, os animais (Ar e Ag) foram subdivididos em dois outros grupos segundo à prática de exercício físico: Exercitados (AgE e ArE) e Não-exercitados (AgN e ArN). Cada grupo experimental possui seis animais. O exercício físico foi realizado em esteira motorizada (ET 2000, Insight Equipamentos

Científicos, Ribeirão Preto, Brasil) em cinco sessões semanais, com 30 minutos de duração no horário de 06 às 08 horas. O exercício foi realizado do 15º ao 35º dia de vida do animal com velocidade da esteira de 5 m/min, 10 m/min e 15 m/min, nas 1ª, 2ª e 3ª semanas, respectivamente⁽¹²⁾

Todos os animais foram pesados nos 7º, 14º, 21º e 28º dia de vida, assim como no dia do sacrifício (35-45 dias de vida). Para o sacrifício, os animais foram submetidos a uma anestesia com uma solução contendo mistura de uretana a 10% + cloralose a 0,4%, à dose de 1000 mg/kg de uretana + 40 mg/kg de cloralose, via intraperitoneal. Foi então retirado o músculo gastrocnêmio para sua pesagem e medição de seu comprimento utilizando-se uma linha ao longo do músculo desde o seu tendão de origem até o de inserção. Essa distância foi transferida para uma régua milimetrada de medida com precisão 0,05 cm. Após a medição, o músculo foi fixado em formol a 10% por um período mínimo de 48h, desidratado e diafanizado convencionalmente para microscopia de luz e emblocado em parafina. Secções transversais do músculo foram obtidas com aproximadamente 4µm de espessura através do micrótomo (Leica). Todos os cortes obtidos foram corados pela hematoxilina-eosina e montados em Entellan (Merck).

As imagens dos cortes histológicos dos músculos (magnificação 1000x) foram selecionadas em microscópio, capturadas e digitalizadas através de uma câmera digital acoplada a um microcomputador. Com a finalidade de avaliar a hipertrofia das fibras musculares foi realizada a mensuração do diâmetro médio em amostras de 50 fibras por animal através do software ImageJ⁽⁶⁾.

Para a análise estatística utilizou-se inicialmente o teste de Shapiro-Wilk para testar a normalidade da amostra e para a análise de variância (ANOVA- one way).

Nas amostras que apresentaram diferenças significativas foi utilizado o pós-teste de Tukey. O nível de significância foi considerado com $p < 0,05$. Essa análise estatística foi realizada utilizando-se o programa SPSS 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, USA) para o Windows.

RESULTADOS

Quanto ao peso dos animais no dia do sacrifício, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais (0,07525), ao comparar suas médias (gráfico 1). Os resultados foram expressos na forma de média $\pm$ desvio padrão da média. O peso corporal (g) dos animais no dia do sacrifício foi de 139,53 $\pm$ 21,96 para o grupo AgN, 132,41 $\pm$ 15,01 para AgE, 141,11 $\pm$ 22,37 para ArN e 114,05 $\pm$ 13,27 para ArE.

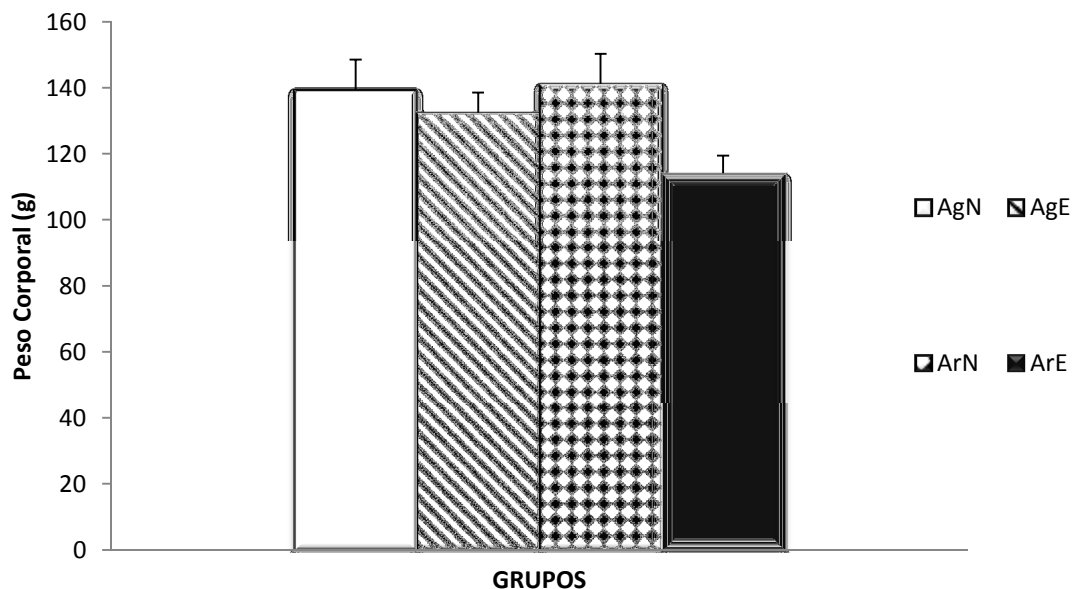


Gráfico 1 – Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-Arginina durante o desenvolvimento sobre o peso corporal (g) de ratos Wistar jovens no dia do sacrifício. Encontram-se representados os quatro grupos experimentais: AgN (n=6), AgE (n=6), ArN (n=6) e ArE (n=6). Dados apresentados em forma de média $\pm$ erro padrão (Anova one way, $p < 0,05$).

Peso absoluto e relativo do músculo gastrocnêmio dos animais na idade pré-determinada, foram, respectivamente: 0,6136 $\pm$ 0,1068 e 0,004416 $\pm$ 0,1068 para o

grupo AgN, $0,60195 \pm 0,13747$ e $0,004466 \pm 0,00024$ para AgE, $0,66488 \pm 0,13873$ e $0,00468 \pm 0,000365$ para ArN, $0,52945 \pm 0,15007$ e $0,004183 \pm 0,000299$ para ArE. Após análise estatística, foi observado que estes dados não apresentaram diferença significativa (gráfico 2).

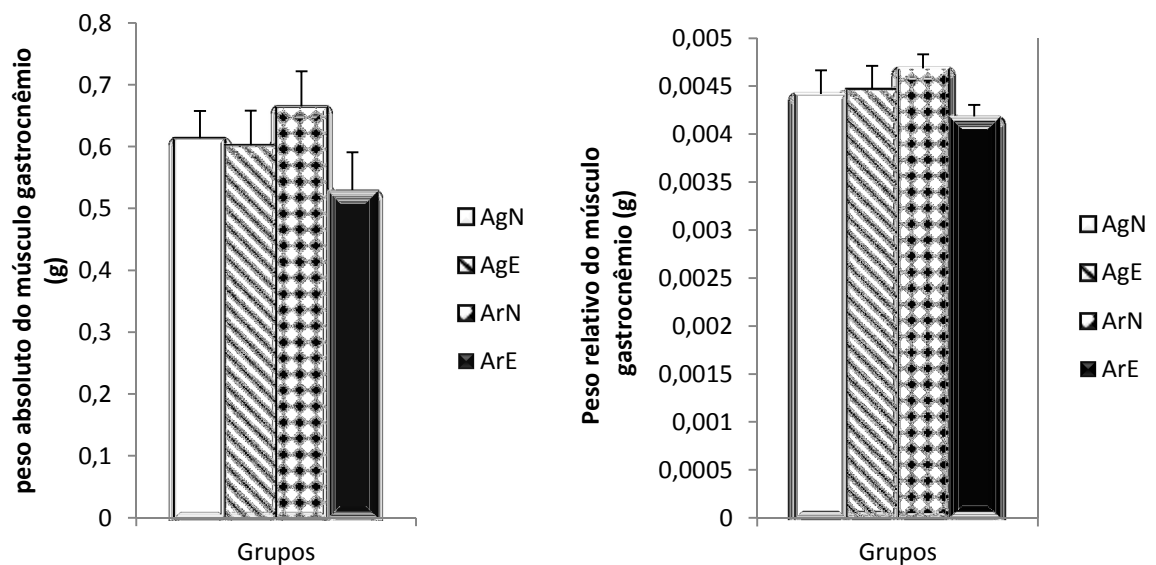


Gráfico 2 – Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-Arginina durante desenvolvimento sobre o peso (g) absoluto e relativo do músculo gastrocnêmio de ratos Wistar jovens. Dados apresentados em forma de média $\pm$ erro padrão (Anova one way, $p < 0,05$) dos grupos experimentais: AgN (n=6), AgE (n=6), ArN (n=6) e ArE (n=6).

O comprimento do músculo gastrocnêmio foi de $2,11 \pm 0,26$ para o grupo AgN, $2,18 \pm 0,26$ para AgE, $2,21 \pm 0,19$ para ArN e $2,08 \pm 0,27$ para ArE (Fig.3). Os grupos apresentaram valores de comprimentos semelhantes, não havendo, portanto, diferença estatística entre eles ($p = 0,164672$).

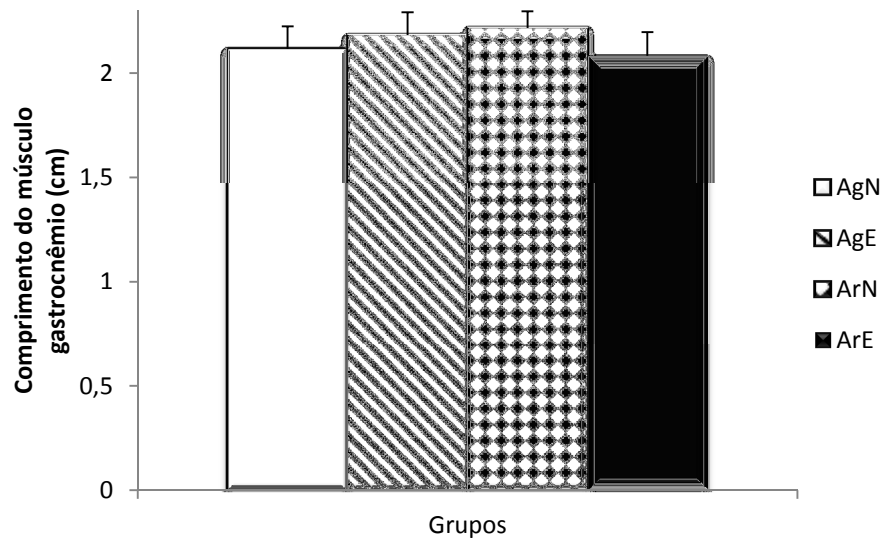


Gráfico 3 - Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-Arginina durante o desenvolvimento sobre comprimento músculo gastrocnêmio de ratos Wistar jovens. Dados apresentados em forma de média $\pm$ erro padrão (Anova one way, $p < 0,05$) dos os quatro grupos experimentais: AgN (n=6), AgE (n=6), ArN (n=6) e ArE (n=6).

O diâmetro médio da fibra muscular (μm) do gastrocnêmio (Fig.4) foi de $30855 \pm 1627,19$ para o grupo AgN, $31671,51 \pm 2657,79$ para AgE, $35784,9 \pm 3037,78$ para ArN e $30857,03 \pm 2483,21$ para ArE. O grupo ArN teve um aumento do diâmetro quando comparado aos grupos AgN ($p = 0,00031$) e ArE ($p = 0,013677$).

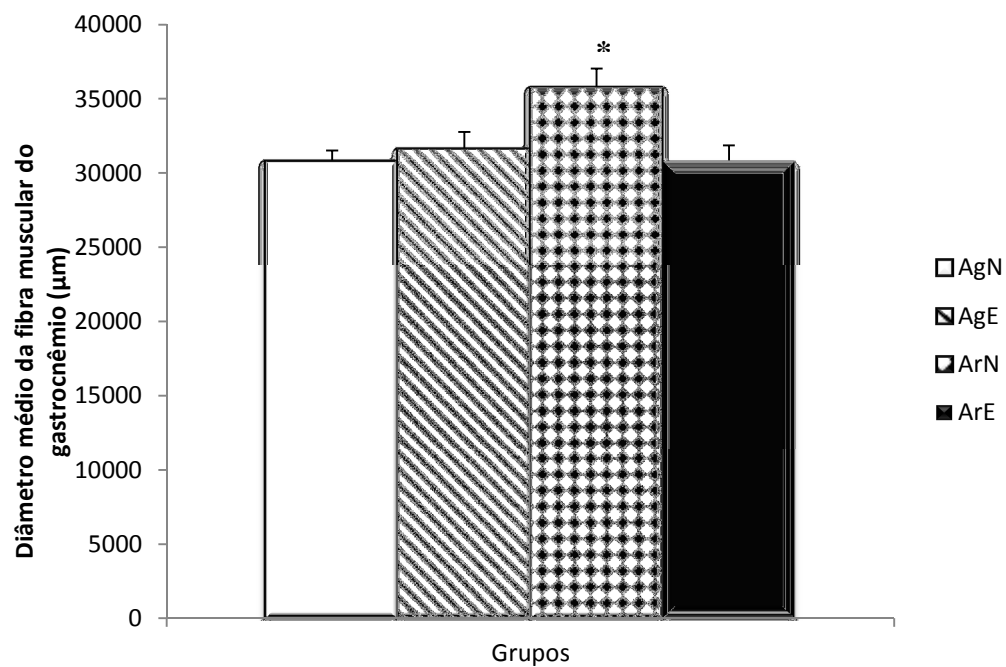


Gráfico 4 – Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-Arginina durante o desenvolvimento sobre o diâmetro médio (μm) de fibras musculares de ratos Wistar jovens no dia do sacrifício. Encontram-se representados os quatro grupos experimentais: AgN ($n=6$), AgE ($n=6$), ArN ($n=6$) e ArE ($n=6$). Dados apresentados em forma de média+erro padrão (Anova one way, pos hoc Tukey; $p<0,05$). O símbolo * expressa que o grupo ArN teve um maior diâmetro médio da fibra muscular quando comparado aos demais grupos.

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que nem o exercício físico, nem a ingestão oral do aminoácido L-Arginina foram capazes de influenciar no peso corporal dos animais estudados. Há relatos na literatura de que o óxido nítrico produzido pela L-Arginina pode reduzir a ingestão alimentar, resultando em uma diminuição de peso corporal de ratos e camundongos^(13,14). Porém nossos resultados contrapõem-se a estes, corroborando com os estudos mais recentes. Lin *et al.* (2005)⁽¹⁵⁾, Suzuki (2006)⁽¹⁶⁾, Huang, Tsai, Lin (2008)⁽¹⁷⁾ analisaram o peso corporal de ratos Wistar com diferentes idades, submetidos a diversos tipos de exercícios físicos e a administração de L-Arginina em quantidades variáveis. Tais trabalhos não comprovaram diferença no peso corporal dos animais estudados. Logo, sugerimos que independente da dose deste aminoácido, não há relação entre sua ingestão e a prática do exercício físico no que diz respeito ao peso dos animais.

Quanto ao comprimento do músculo gastrocnêmio, também não houve diferença significativa entre os grupos estudados. No entanto, não se tem registro na literatura de estudos que avaliem tal parâmetro macroscópico, relacionando-o com o exercício físico e com a ingestão deste aminoácido. Acredita-se que a contração muscular decorrente da prática do exercício físico possa levar a hipertrofia das fibras musculares⁽¹⁰⁾ o que reflete no aumento do comprimento do ventre do músculo esquelético. Acrescenta-se a isso o fato de que a L-Arginina por promover a vasodilatação no músculo esquelético poderia potencializar essa hipertrofia graças a um maior aporte sanguíneo e de nutrientes para este músculo em atividade^(9,10).

Os resultados desse estudo mostram que não houve diferença significativa entre o diâmetro médio das fibras dos animais que realizaram o exercício físico

quando comparados ao grupo sedentário. O diâmetro médio da fibra muscular é um dado que reflete a hipertrofia muscular, sendo, portanto, uma medida bastante utilizada para se estudar os efeitos do exercício físico sobre a musculatura estriada esquelética em ratos^(1,2). A hipertrofia é proveniente da demanda funcional aumentada devido à sobrecarga física e é resultado de mudanças no metabolismo e proliferação celular⁽¹⁸⁾. Estudos mostram um aumento do diâmetro médio em ratos submetidos à prática de exercício físico^(1, 2). Nossos resultados, entretanto, diferem dos já citados, visto que não obtivemos aumento do diâmetro médio das fibras dos animais submetidos à prática do exercício físico. Acreditamos que isso pode ser explicado pelo protocolo de exercício utilizado, sendo, dessa forma, uma sobrecarga insuficiente para estimular a hipertrofia. Ao comparar o protocolo deste trabalho com os de Filho *et al.*(2005)⁽¹⁾ e Brito *et al.* (2006)⁽²⁾, observamos que a duração do exercício foi a mesma, porém a duração do presente estudo é inferior e a velocidade da esteira não foi mencionada por estes autores. Isto nos permite inferir que para que haja uma resposta muscular adequada, deve ser levado em consideração fatores que caracterizam o exercício físico, como: duração, frequência e intensidade. A intensidade do exercício é definida de acordo o consumo máximo de oxigênio (VO₂max) e frequência cardíaca máxima (FCmax) durante a atividade, podendo ser classificada como: leve, moderada e intensa⁽¹⁹⁾. O exercício realizado neste trabalho baseia-se numa modificação do protocolo de Silva *et al.* (2009)⁽²⁰⁾ que o classifica como moderada.

O diâmetro médio do grupo de animais não-exercitados aos quais foi administrada a L-Arginina foi significativamente maior quando comparado aos demais grupos. Em adultos, a L-Arginina associada ao exercício está relacionada ao aumento da massa muscular explicada pelo efeito vasodilatador do óxido nítrico

produzido por este aminoácido⁽¹⁰⁾. A vasodilatação aumenta a perfusão muscular e aumento de nutrientes para o músculo em atividade, o que favorece o aumento da massa muscular. Esse mecanismo explica o aumento do diâmetro em indivíduos que fizeram uso do aminoácido L-Arginina enquanto realizavam exercício físico. Além disso, pesquisas recentes descobriram que o aminoácido L-Arginina estimula a secreção do hormônio do crescimento (GH). O GH promove a hipertrofia muscular, pois facilita o transporte de aminoácidos para o interior das células⁽²¹⁾. A influência do exercício físico sobre o GH mostrou-se contraditória, sendo dependente do tipo e intensidade do exercício realizado^(22,23). Stokes *et al.* (2005)⁽²³⁾. Collier, Casey, e Kanaley (2005)⁽²⁴⁾ observaram que há elevação nos níveis de GH mesmo em repouso em indivíduos suplementados com L-Arginina. Dessa forma, acreditamos que a dose de L-Arginina (300mg/kg) do presente estudo foi capaz provocar hipertrofia da musculatura estriada esquelética, possivelmente através da elevação dos níveis de GH, já o efeito vasodilatador está diretamente associado à ingestão desse aminoácido concomitantemente à prática do exercício físico. Logo, nossos resultados corroboram com Chiyoda *et al.* (2009)⁽²⁵⁾ que mostraram que a administração orogástrica de L-Arginina não teve interação com o exercício físico.

Ao compararmos o diâmetro médio dos grupos de animais exercitados observamos que não houve diferença significativa entre aqueles que ingeriram o aminoácido e os que não ingeriram. A hipertrofia, expressada pelo aumento do diâmetro médio da fibra muscular, é entendida como o balanço positivo entre a síntese e degradação de proteína induzida pelo exercício físico⁽²⁶⁾. Logo, esses efeitos do exercício físico dependem de uma melhor definição do mesmo, como intensidade específica. Além disso, a L-Arginina tem se mostrado eficaz na hipertrofia muscular, visto que eleva a taxa de síntese protéica. Matsumoto *et al.*

(2007)⁽²⁷⁾ observou que a suplementação orogástrica de L-Arginina (2g) associada ao exercício físico de intensidade moderada suprimiu a proteólise muscular durante este exercício, resultando em balanço proteico positivo e consequentemente, em hipertrofia. No entanto, nos nossos estudos, tal efeito não foi observado o que pode ser justificado pela dose de L-Arginina utilizada nesse trabalho.

A ingestão oral do aminoácido L-Arginina tem-se mostrado eficaz em aumentar a angiogênese induzida pelo exercício físico através do aumento da expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)⁽¹⁶⁾. Autores relatam que a elevação nos níveis de VEGF em pacientes resultou em aumento da circulação arterial colateral⁽²⁸⁾. Esse aumento da angiogênese pode estar relacionado com o aumento da hipertrofia muscular. No entanto, em nossos resultados essa provável correlação parece não estar ligada à prática do exercício físico, já que a hipertrofia ocorreu apenas nos animais do grupo Arginina não-exercitado.

Sabe-se que o desuso da musculatura estriada esquelética, devido a falta de estímulo por sobrecarga, leva a destruição das proteínas intramusculares o que resulta em atrofia muscular⁽²⁹⁾. A ingestão de 500mg/kg de L-Arginina foi suficiente para impedir a atrofia por desuso em músculos da pata posterior de ratos Wistar⁽³⁰⁾. Este resultado está em consonância com os nossos, porém deve-se considerar que a dose de 300mg/kg, utilizada neste trabalho, pode apresentar o mesmo resultado.

Em suma, a ingestão do aminoácido L-Arginina na dose de 300mg/kg, sem interferência do exercício físico, foi capaz de promover hipertrofia da musculatura estriada esquelética. No nosso estudo, foi utilizada uma dose capaz de promover um efeito positivo sobre a musculatura estriada esquelética, já que não se tem registro da dose específica deste aminoácido para esta finalidade. No entanto, a relação da

L-Arginina com o exercício físico não está bem estabelecida. Considera-se, então, a necessidade de uma sistematização mais detalhada do protocolo do exercício físico para que este influencie positivamente no diâmetro médio da fibra muscular. Dessa forma, parâmetros como duração, intensidade e frequência do exercício devem ser melhor definidos.

REFERÊNCIAS

1. Filho JCS C, Vanderlei LCM, Camargo RC T, Oliveira DAR, Júnior SAO, Pai VD, Belangero, WD. Análise histológica, histoquímica e morfométrica do músculo sóleo de ratos submetidos a treinamento físico em esteira rolante. *Arquivos de Ciências da Saúde* 2005; 12: 196-9.
2. Brito, MKM, FILHO JCSC, Vanderlei LCM, Tarumoto MH, Pai VD, Giacometti JÁ. Dimensões geométricas das fibras do músculo sóleo de ratos exercitados em esteira rolante: a importância da análise por meio de imagens digitalizadas. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 2006; 12: 103-107.
3. Luciano E, Mello, MAR. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. *Revista paulista de Educação Física* 1998; 12(2): 202-09.
4. Philippi JMS. O uso de suplementos alimentares e hábitos de vida de universitários: o caso da UFSC. 2004. 211 p. Dissertação. Doutorado em Ergonomia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.
5. Castillo VD. La alimentacion del deportista. *Educación Física y Deportes*, año 3, n.9. Buenos Aires, Marzo 1998. Disponível em: <<http://www.efdeportes.com,/efd9/nutric9.htm>>. Acesso em 20 ago 2010.
6. Nicastro H, Dattilo M, Rogero MM. A suplementação de L-arginina promove implicações ergogênicas no exercício físico? Evidências e considerações metabólicas. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento* 2008; 16: 115-22.
7. Weisinger H. Arginine Metabolism and synthesis of the nitric oxide. *Progress in Neurobiology* 2001; 64: 365-91.
8. Coman D, Yaplito-Lee J, Boneh A. New indications and controversies in arginine therapy. *Clinical Nutrition* 2008; 27: 489-96.

9. Meneilly GS, Battistini B, Flora JS. Contrasting effects of L-arginine on insulin-mediated blood flow and glucose disposal in the elderly. *Metabolism*, 2001; 50: 194-9.
10. Angeli G, Barros TL, BarrosDFL, Lima M. Investigação dos efeitos da suplementação oral de arginina no aumento de força e massa muscular. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 2007; 13: 129-32.
11. Schrage WG, Joyner MJ, Dinunno FA. Local inhibition of nitric oxide and prostaglandins independently reduces forearm exercise hyperaemia in humans. *The Journal of Physiology* 2004; 2: 599-611.
12. Monteiro HMC, Silva DL, França JPBD, Maia LMSS, Angelim MKC, Santos AA, Guedes, RCA. Differential effects of physical exercise and L-Arginine on cortical spreading depression in developing rats. *Nutritional Neuroscience* 2011; 14: 112-18.
13. Squadrito F, Alapai G, Cucinotta D, Altavilla D, Zingarelli B, Loculano M, Urna G, Sardella A, Cam G M, Aputi AP. Anorectic activity of NG-nitro-L-arginine, an inhibitor of brain nitric oxide synthase, in obese Zucker rats. *European journal of pharmacology* 1993; 230: 125-8.
14. Hui SC, Chan TY. Mechanisms mediating NG-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypophagia in mice. *European Journal of Pharmacology* 1995; 283: 141-50.
15. Lin WT, Yang SC, Chen CT, Huang CC, Lee NY. Protective effects of L-Arginine on pulmonary oxidative stress and anti-oxidant defenses during exhaustive exercise in rats. *Acta Pharmacologica Sinica* 2005; 26: 992-9.
16. Suzuki J. L-Arginine supplementation causes additional effects on exercise-induced angiogenesis and VEGF expression in the heart and hind-leg muscles of middle-aged rats. *The journal of Physiological Sciences* 2006; 56: 39-44.
17. Huang CC, Tsai SC, Lin WT. Potential ergogenic of L-Arginine against oxidative and inflammatory stress induced by acute exercise in aging rats. *Experimental Gerontology* 2008; 43: 571-7.

18. Paul AC, Rosenthal N. Different modes of hypertrophy in skeletal muscle fibers. *The Journal of Cell Biology* 2002; 156(4):751-60.

19. Rondon MUPB, Forjaz CLM, Nunes N, Amaral, SL, Barreto, ACP, Negrão CE. Comparação entre a Prescrição de Intensidade de Treinamento Físico Baseada na Avaliação Ergométrica Convencional e na Ergoespirométrica. *Arquivos brasileiros de Cardiologia* 1998; 70(3): 159-66.

20. Silva SG, Dona F, Fernandes MJS, Scorza FA, Cavalheiro, EA, Arida, RM. Physical exercise during the adolescent period of life increases hippocampal parvalbumin expression. *Brain & Development* 2009; 1-6.

21. Fayh, AP, Friedman R, Sapata KB, De Oliveira AR. Effect of L-arginine supplementation on secretion of human growth hormone and insulin-like growth factor in adults. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* 2007; 51(4): 587-92.

22. Wideman L, Weltman JY, Hartman ML, Veldhuis JD, Weltman A. Growth hormone release during acute and chronic aerobic and resistance exercise recent findings. *Sports Medicine* 2002; 32(15), 987-1004.

23. Stokes, K. Nevill M, Frystyk J, Lakomy H, Hall G.. Human growth hormone responses to repeated bouts of sprint exercise with different recovery periods between bouts. *Journal of Applied Physiology* 2005; 99: 1254 -61.

24. Collier SR, Casey DP, Kanaley JA. Growth hormone responses to varying doses of oral arginine. *Growth Hormone & IGF Research* 2005; 15(2): 136-9.

25. Chiyoda A, Nakamura PM, Codogno JS, Junior AJS, Leme JAA, Luciano E. Efeito da suplementação oral de arginina sobre a secreção de GH e metabolismo de lipídios em ratos Wistar treinados. *Motricidade* 2009; 5(4): 1-11.

26. Fernandes T, Soci UP, Alves CR, Carmo EC, Barros JG, Oliveira EM. Determinantes moleculares da hipertrofia do músculo esquelético mediados pelo treinamento físico: estudo de vias de sinalização. *Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte* 2008, 7 (1): 169-88.

27. Matsumoto K, Mizuno M, Mizuno T, Dilling-Hansen B, Lahoz A, Bertelsen V, Munster H, Jordening H, Hamada K, Doi T. Branched-chain amino acids and arginine supplementation attenuates skeletal muscle proteolysis induced by moderate exercise in young individuals. *International Journal of Sports Medicine*, 2007, 28: 531-8.
28. Yoshida, WB. Angiogênese, arteriogênese e vasculogênese: tratamento do future par isquemia crítica de membros? *Jornal Vascular Brasileiro* 2005; 4(4): 316-8.
29. Chopard A, Francoise P, Marini JF. Cytoskeletal protein contents before and after hindlimb suspension in a fast and slow rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2001; 280: 323–30.
30. Kartashkina N, Lomonosova Y, Shevchenko TF, Bugrova AE, Turtikova OV, Kalamkarov GR, Nemirovskaya TL. Prevention of muscle fibers atrophy during gravitational unloading: The effect of l-arginine administration. *Acta Astronautica* 2011; 68: 1486-94.

4.2 Artigo Original 2

Influence of L-Arginine and physical exercise on morphological aspects of the bone and growth plate in young rats

Authors:

Maria Patrícia Pereira Melo

Fisioterapeuta, mestranda em Patologia pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE.

Talita Castro de Oliveira

Graduanda do curso de Medicina da UFPE.

Heloísa Mirelle Costa Monteiro

Nutricionista, mestre em Nutrição pela UFPE.

Ângela Amâncio dos Santos

Professora adjunta do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE.

Luciana Maria Silva de Seixas Maia

Professora adjunta do Departamento de Histologia e Embriologia da UFPE.

Liriane Baratella Evêncio

Professora adjunta do Departamento de Histologia e Embriologia da UFPE.

Corresponding author:

Liriane Baratella Evêncio

Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária.
CEP 50670-901 Recife (PE), Brasil
liriane@uol.com.br

ABSTRACT

Physical exercise can promote several changes on bone tissue and it is related to stimuli body and bone plate growth. Besides, the histological studies are important to understand influence of exercise and nutrition on skeleton. Then, exercise and Arginine administration could lead to changes on growth plate. In order to carry out this research, 24 Wistar males rats were separated into four groups according to orogastric administration of L-Arginine (300 mg/kg/dia) and physical exercise: L-Arginine-Exercise (ArE, n=6), L-Arginine-Sedentary (ArS, n=6), Water-Exercise (WE, n=6) and Water-Sedentary (WS, n=6). L-Arginine (300 mg/kg) and water were administrated by gavage (7-35 days of life) and exercise (15-35 days of life) was performed on a treadmill (5 weekly sessions of 30 minutes per 3 weeks). At the age of 35-45 days, the animals were sacrificed in order to collect the femoral bone. The femur was weighed, decalcified (8% formic acid and 8% hydrochloric acid) and processed for histological analysis. The images were captured in the femur in order to count the number of chondrocyte in proliferation and hypertrophic zones of the growth plate. Data were analyzed using SPSS. It was used the Shapiro-Wilk tests, one-way ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$). It was not found significant difference in body weight of animals at 7, 14, 21, 28, 35 days of birth, as there was no difference of absolute and relative weights of the femur. The number of proliferative zone chondrocytes was higher in AE when comparing it to W ($p = 0.0245$) and WE ($p = 0.0009$). Then, the orogastric administration of Arginine at a dose of 300mg/kg in association with exercise promoted an increase in the number of chondrocytes in the proliferative zone of cartilage.

Keywords: Physical Exercise; Arginine; Growth Plate.

INTRODUCTION

It is well established in literature that physical exercise can promote several benefits for human health. Studies have shown that physical activity leads to prevention of several chronic diseases like cardiovascular disease, diabetes, cancer, hypertension, obesity, depression and osteoporosis (1). Besides, physical activity is advocated as one strategy for enhancing peak bone mass during childhood as a way to reduce osteoporosis-related fractures (2). In some periods of life like childhood, available evidence suggests that the skeleton may be most responsive to exercise during growth (3).

A large increase in bone mass occurs during childhood and puberty via endochondral bone formation. Several hormones are important for normal postnatal longitudinal bone growth, but it is generally accepted that Growth Hormone (GH) is the most important hormone in this respect (4). GH affects several types of tissue including liver, muscle, kidney and skeletal tissues.

During the process of longitudinal bone growth, prechondrocytes in the germinal cell layer differentiate and thereafter undergo limited clonal expansion in individual chondrocyte columns in the growth plate. Subsequently, cells in the hypertrophic zone mature and are degenerated and eventually incorporated into bone (5, 6). It has been demonstrated that GH stimulates growth of cartilage and other tissues by increasing the number of cells rather than by increasing cell size (4).

Growth is GH dependent (7, 8). GH has anabolic functions that promote the growth and muscle hypertrophy by facilitating the transport of amino acids into cells (9). Exercise is a potent stimulus for growth hormone secretion (2, 3). Besides, weight-bearing exercise appears to have the greatest effects on bone (1).

As the physical exercise, L-Arginine is a potent stimulator of GH secretion. L-Arginine is an amino acid that stimulates GH secretion by inhibiting somatostatin, which is a hormone that inhibits GH secretion (10). In addition, oral supplementation of arginine can increase GH levels at rest (11).

The morphometrical and histological studies of bones are important to understand the several stimuli of physical exercise and nutrition over the skeleton (7). Then, the aim of this study is to investigate the influence of physical exercise and orogastric administration of L-Arginine on body weight and growth plate of young rats.

MATERIALS AND METHODS:

For this research, were used 24 males Wistar rats from the colony of Universidade Federal de Pernambuco (Departamento de Nutrição). The experiments were approved by the Ethics Committee for Animal Research whose number of protocol is 23076.005924/2008-80. The Wistar rats were suckled in litters formed by six pups and after weaning (21 days from birth) had access to water and rodent laboratory diet *ad libitum* (Purina®, Paulínia, SP, Brasil). These animals were housed in 51 × 35.5 × 18.5 cm polypropylene cages, in a room with a 12/12 hours light–dark cycle (lights on at 6 am) and temperature of 22 ± 2°C.

At the age of 7 days from birth, the animals were divided into 2 groups according to L-Arginine administration: 1- Animals received 300 mg/kg/day L-Arginine (SIGMA, USA) (experimental group A); 2- Animals received equivalent volume of the vehicle, distilled water (experimental group W). The L-Arginine or the distilled water was administrated daily by gavage from the 7 to 35 days of birth, at the same time, 6 to 8 am. The L-Arginine concentration was: 10 mg/ml at first and second week of treatment, 20 mg/ml at second week

and 30 mg/ml at the fourth. The total volume administrated in each gavage was 0.5ml/day to animals from 7-14 days of birth and 1.0 ml/day at the age of 15-35 days (12, 13).

When the rats reached the age of 15 days of life, they were divided into 2 other groups according to practice of physical exercise they were carried out: exercised (AE and WE) and not exercised (A and W). The exercise was conducted on a treadmill (ET 2000, Insight Equipamentos Científicos, Ribeirão Preto, Brazil) at sessions of 30 minutes/day, five times weekly, at the same time (6-8 am). The speed of treadmill was 5m/min at the first week of exercise, 10 m/min at second and 15 at third and last week of exercise (13, 14). Animals of the group not exercised were left on the treadmill switched off for the same duration. All animals were weighed on the days 7, 14, 21, 28, 35 from birth and in the day of their sacrifice (35-45 days). In order to sacrifice they were anesthetized intraperitoneally with a mixture of 1g/kg urethane plus 40 mg/kg chloralose (SIGMA, USA). Afterwards, right femur was removed, measured, weighed and exposed to fixation (aqueous solution containing 10% formaldehyde) at least 48 hours. The bone was decalcified with an aqueous solution containing 8% formic acid and 8% hydrochloric acid (15). Then, they were dehydrated with gradients of ethanol, diaphanized conventionally with xylene and embedded in paraffin. Paraffin 4- μ m sections, obtained using a microtome (Leica), were stained with hematoxylin and eosin and mounted in Entellan resin (Merck, Germany). After the histological processing, the histologic sections were analyzed under microscope (MOTIC BA 200) and photomicrographed by a digital camera (MOTICAM 1000) coupled to a microcomputer. The images were selected in order to analyze the growth plate and captured at 400x magnification. To count the chondrocytes in zone of proliferating cartilage and zone of hypertrophic cartilage it was used the Mesurin software and were selected 10 columns of chondrocytes growth plate.

All results were expressed in order to be analyzed statistically. At first, the normality of the distribution was tested using Shapiro-wilk test. After that, the data were analyzed by one-way repeated analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's honest significant difference (HSD) pos hoc test. Differences were considered significant when $p < 0.05$. Statistical analysis was performed using the SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, USA) software package for Windows.

RESULTS

Body Weight

The Figure 1 shows the body weight (g) of animals of all experimental groups at 7, 14, 21, 28 and 35 days of birth. To Water group (W), the mean±standard deviation of body weights at 7th day was 15.11 ± 1.21 , 29.13 ± 4.22 at 14th, 44.56 ± 5.35 at 21th, 74.06 ± 9.01 at 28th and 113.8 ± 11.27 at 35th. To Water-Exercised group (WE) the mean of the mean±standard deviation of body weights at each day was respectively: 15.91 ± 1.22 , 27.81 ± 5.52 , 42.83 ± 6.66 , 64.07 ± 9.53 , 99.67 ± 12.00 . To Arginine group (A), the mean was 15.01 ± 2.09 , 31.27 ± 2.30 , 48.18 ± 3.95 , 72.98 ± 12.09 , 111.03 ± 16.47 , respectively. To Arginine-Exercised group (AE) the mean of weight body was 15.48 ± 1.81 , 28 ± 1.6 , 42.77 ± 3.21 , 71.55 ± 5.6 , 104.46 ± 7.78 , respectively. After analysis these data, there were no significant difference when comparing intergroup. It is observed a tendency to a higher weight of group water at the age of 28 and 35 days as showed in Figure 1.

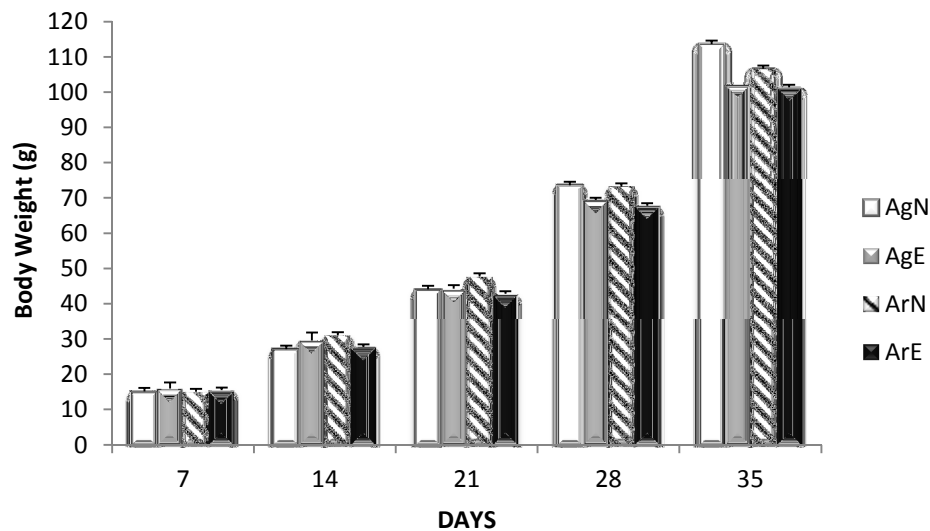


Figure 1 Body weight of animals at 7, 14, 21, 28 and 35 days of birth of all experimental groups (n=6 per group): Water (W), Water-Exercised (WE), Arginine (A) and Arginine-Exercised (AE) . The animals were submitted to orogastric administration of L-arginine (300 mg/kg/day of) during postnatal days 7–35 and/or physical exercise on treadmill from the days 15–35. The results expressed mean±standard error, with no significant difference (Anova one-way).

Absolut and Relative weight of femur

The body weight at the day of sacrifice was used to calculate the relative body weight of femur. The relative weight is the ratio between the absolute weight of femur and the body weight at the day of sacrifice. The mean±standard deviation of absolute and relative weight was, respectively: 0.3408 ± 0.06461 and 0.0026 ± 0.000261 for W group; 0.3449 ± 0.0592 and 0.002783 ± 0.0005 for WE, 0.3381 ± 0.06414 and 0.002433 ± 0.0001751 for A; 0.3409 ± 0.0431 and 0.002733 ± 0.000535 for AE group (Figure 2). After intergroup comparison, there was no significant difference, neither absolute ($p=0.998$) nor relative ($p=0.446$) were influenced by administration of Arginine or physical exercise.

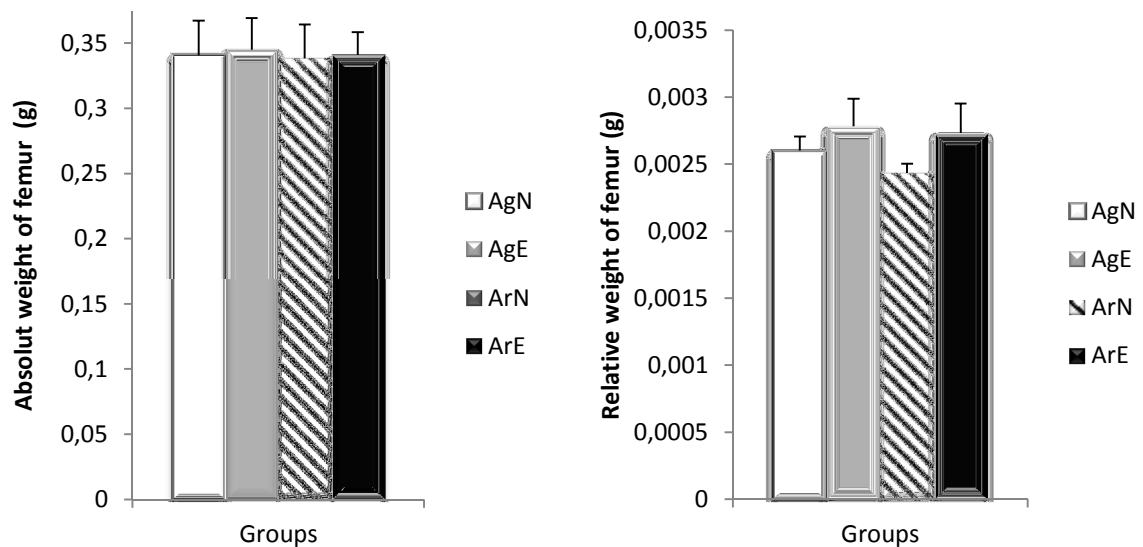


Figure 2 Absolut and relative weight of femur at the day of sacrifice (35-45 days) of all experimental groups (n=6 per group): Water (W), Water-Exercised (WE), Arginine (A) and Arginine-Exercised (AE). The animals were submitted to orogastric administration of Arginine with 300 mg/kg/day (A and AE groups) or equivalent volume of distilled water (W and WE) from 7 to 35 days of birth. The animals were submitted to physical exercise on a motor treadmill for sessions of 30 minutes/day, five times weekly (WE and AE) or were put on a treadmill switched off (W and A groups). The results absolut and relative weight of femur were expressed as mean $\pm$ standard error, with no significant difference (Anova one-way, $p < 0.005$).

Quantitative Analysis

The results of number of chondrocytes growth plate in zone of proliferating cartilage and zone of hypertrophic cartilage are expressed as the mean $\pm$ standard deviation. The numbers of chondrocytes in proliferating and hypertrophic zone were, respectively: 7.17 ± 0.91 and 2.23 ± 0.19 for group W, 6.63 ± 0.45 and 2.07 ± 0.39 for WE, 7.47 ± 0.47 and 2.18 ± 0.17 for A, 8.33 ± 0.63 and 2.27 ± 0.16 for AE. After intergroup comparison, there were no significant difference concerning to hypertrophic zone.

Referring to the number of cells in the zone of proliferating cartilage of growth plate, it was found significant difference. The AE group showed an increase in the number of chondrocytes when comparing it to W ($p = 0.0245$) and to WE ($p = 0.0009$).

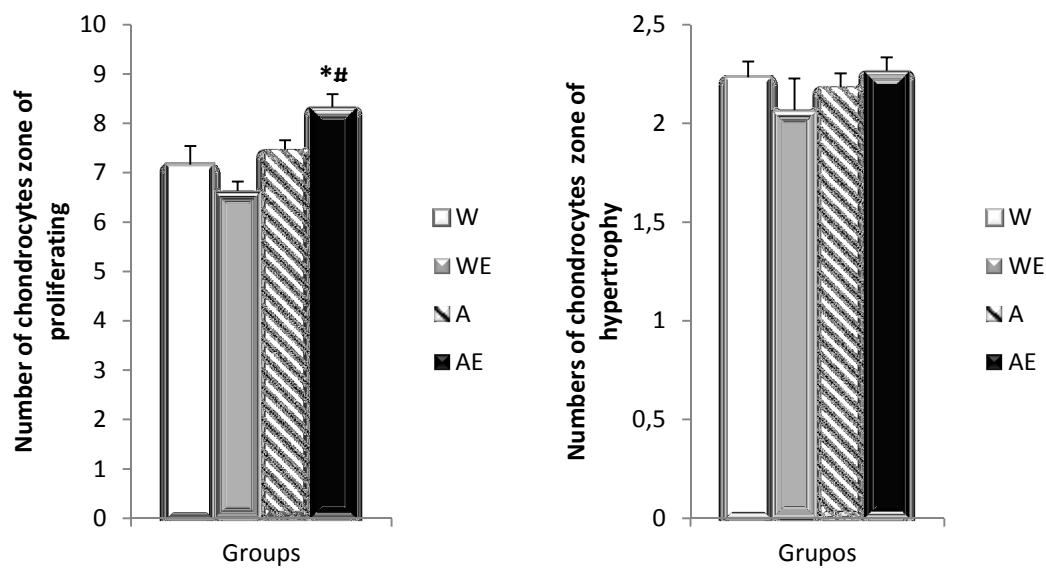


Figure 3 Numbers of chondrocytes growth plate in zone of proliferating cartilage and zone of hypertrophic cartilage of all experimental groups (n=6 per group): Water (W), Water-Exercised (WE), Arginine (A) and Arginine-Exercised (AE). The animals were submitted to orogastric administration of Arginine with 300 mg/kg/day (A and AE groups) or equivalent volume of distilled water (W and WE) from 7 to 35 days of birth. The animals were submitted to physical exercise on a motor treadmill for sessions of 30 minutes/day, five times weekly (WE and AE) or were put on a treadmill switched off (W and A groups). The results were expressed as mean $\pm$ error standard, with no significant difference in hypertrophic zone. * means significant difference between group W and AE concerning to proliferating zone. # means significant difference between group WE and AE concerning to proliferating zone (Anova one-way, $p < 0.005$, Tukey pos-hoc)

DISCUSSION

Significant difference of body weight was not found at 7th, 14th, 21th, 28th and 35th day of birth comparing all experimental groups. However, a not significant increase of body weight of animals which did not exercise is shown. It is well known that physical exercise promotes several benefits and it is widely used in weight control programs (16). Mikahil *et al.* (2009) and Nunes *et al.* (2005) observed a decrease of body weight after physical exercise. Therefore, despite not showing significant results, our study corroborates Mikahil *et al.* (2009) and Nunes *et al.* (2005).

Concerning the body weight of animals, comparing to animals which did not exercise, a decrease in body weight in the group received L-arginine compared to their control group (water group) is observed. Evidence suggests that nitric oxide produced by L-Arginine may influence the mechanisms that modulate food intake, thus reducing it and leading to decreased body weight in rats and mice (19, 20). This statement confirms our results, because the animals that received administration of the amino acid L-Arginine showed a decrease in body weight. Despite our results, Maia *et al.* (2006) observed a contradictory not significant gain of mass at animals that received L-Arginine.

The effect of L-Arginine on body weight may not have shown significant results because of the ideal dose of L-Arginine. Chiyoda *et al.* (2009) showed in their studies that Wistar rats which have taken the amino acid L-Arginina at dose of 128 mg/kg did not change their body weight. In our studies, even using a higher dose (300mg/kg) than Chiyoda *et al.* (2009), the results were the same. Thus, it is believed that the proper dose for any interference from L-Arginine on body weight is more than 300mg/kg. Not well described in the literature is the optimal dose of this amino acid in order to achieve a specific effect. Thus, we suggest the need to investigate other doses for this purpose.

The results of this study show that exercise was not enough to promote significant changes in absolute and relative weight of femoral bone. It is known that bone tissue is dynamically responsive to functional requirements that lead to changes in its bone mass (22). According to Robling *et al.* (2006), exercise is considered an osteogenic stimulus for bone mass due to piezoelectric effect. Beneficial adaptations of bone tissue due to various types of exercise have been reported in female and male rats (24, 25, 26). This may suggest that the

exercise of this study does not provide the enough stimuli to have an increase in bone mass of young rats.

Regarding the effect of nutritional manipulation by orogastric intake of L-Arginine on the femur weight of young rats, there was no significant result found. It is known that nutrition can influence the growth and bone development. According to Sekine, Watanabe and Ishibashi (1994), amino acids facilitate the bone matrix formation and calcification leading to an increase in bone mass. Bone mass is directly related to resistance to fractures (28). In bones of broilers, the amino acid L-Arginine led to increased bone resistance to fractures (29), which suggests that this amino acid acts on bone metabolism. However, in animals treated with the amino acid L-Arginine in the present study, there was no such increase in mass. This suggests that a possible change resulting from the ingestion of this amino acid has not been sufficient to cause macroscopic changes such as weight of the femur.

Despite not being significant, the relative femur weight showed higher in Water-Exercised (WE) and Arginine-Exercised (AE) groups. This fact is justified by the calculation of relative weight which represents the fraction: absolute weight/body weight on the day of sacrifice. As seen in figure 1, the groups mentioned have lower body weight. As the absolute weights are equal, the relative weight and body weight are related in a manner inversely proportional.

Concerning the numbers of chondrocytes in the growth plate proliferative zone, our results shows that orogastric ingestion of L-Arginine associated with exercise led to a significant increase in the number of cells in this zone. It is known that amino acids can modulate bone growth and differentiation of osteoblasts (30). Besides, L-Arginine is a amino acid that acts by increasing the release of growth hormone (GH) (9, 21, 31). One of the most ordinary effects of GH occurs at the growth plate which works by stimulating the synthesis

of IGF-I, which acts in a paracrine manner, inducing mitogenesis. This mitogenesis leads to the growth of long bones (32). Hence, it is suggested that orogastric administration of L-Arginine was not enough to stimulate mitogenesis of chondrocytes in the hypertrophic zone of growth plate.

Analyzing the results of the numbers of chondrocytes in the proliferative and hypertrophic zones, it is clear that there was only the influence of L-Arginine in the proliferative zone. The amino acid L-Arginine is a precursor of nitric oxide (NO), which is an important vasodilator (35, 36). NO can then act in the growth plate by increasing the blood supply to this region (37), which implies greater availability of nutrients to the increase in cell proliferation. However, the proliferative zone in its blood supply is rich enough, however, the hypertrophic zone has a rather poor vascularization (38). It is suggested, then, that by having a more abundant vascularization, proliferative zone is more likely to be influenced by the vasodilatory effects of nitric oxide produced by L-Arginine.

An important question to be discussed is the age in which the animals were subjected to nutritional manipulation and physical exercise. These interventions were performed in a stage of life of the animal of great importance for bone development. In rats, the age range of 21 to 35 days corresponds to the phase of increased longitudinal bone growth (39), which implies changes in the structure of the growth plate (40). Therefore, the age chosen for this study is consistent with the moment of greatest susceptibility for the bone tissue of animals studied.

This article documents for the first time the effect of L-Arginine, associated with exercise, on the proliferative and hypertrophic zones of the growth plate. We found that this interaction may be influenced by several factors such as: oral intake of this amino acid, intensity, duration and frequency of exercise as well as the age of the experimental

model studied. Thus, it is necessary further study on the influence of L-Arginine on the growth plate, suggesting that it can be used as an adjunct in the treatment of bone pathologies, such as osteoporosis.

REFERENCES

1. Warburton DER, Nicol CW, Bredin SSD. Health benefits of physical activity: the evidence. *Canadian Medical Association Journal*. 2006 March 14; 174(6):801-9.
2. Bass S, Pearce G, Bradney M, Hendrich E, Delmas PD, Harding A, Seeman E. Exercise before puberty may confer residual benefits in bone density in adulthood: studies in active prepuberal and retired female gymnasts. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1998; 13(3):501-6.
3. Haapasalo H, Kannus P, Sievanen H, Heinonen A, Oja P, Vuori I. Long-term unilateral loading and bone mineral density and content in female squash players. *Calcified Tissue International*. 1994; 54:249–55.
4. Ohlsson C, Bengtsson B, Isaksson OGP, Andreassen TT, Slootweg. Growth hormone and bone. *Endocrine Reviews*. 1998; 19:55-79.
5. Robson H, Anderson E, Eden OB, Isaksson O, Shalet S. Chemotherapeutic agents used in the treatment of childhood malignancies have direct effects on growth plate chondrocyte proliferation. *Journal of Endocrinology*. 1998; 157:225-35.
6. Luca F, Barnes KM, Uyeda JA, Levi S, Abad V, Palese T, Mericq V, Baron J. Regulation of growth plate chondrogenesis by bone morphogenetic protein-2. *Endocrinology*. 2001; 142(1):430-6.
7. Ocarino NM, Serakides R. Effect of the physical activity on normal bone and on the osteoporosis prevention and treatment. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2006 May/June; 12(3): 149-52.
8. Ahmed SF, Farquharson C. The effect of GH and IGF1 on linear growth and skeletal development and their modulation by SOCS proteins. *Journal of Endocrinology*. 2010; 206: 249–59.
9. Fayh, A P, Friedman R, Sapata KB, Oliveira AR. Effect of L-arginine supplementation on secretion of human growth hormone and insulin-like growth factor in adults. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2007; 51(4): 587-592.
10. Ghigo E, Arvat E, Valente F, Niclosi M, Boffano GM, Procopio M, Bellone J, Maccario M, Mazza E, Camann. Arginine reinstates the somatotrope responsiveness to intermittent growth hormone releasing hormone administration in normal adults. *Neuroendocrinology*. 1991; 54(3):291-4.

11. Collier SR, Casey DP, Kanaley JA. Growth hormone responses to varying doses of oral arginine. *Growth Hormone & IGF Research*. 2005; 15(2), 136-9.
12. Maia LMSS, Frazão MF, Souza TKM, Silva MB, Rocha-de-Melo AP, Picanço-Diniz CW, et al. L-arginine treatment early in life influences NADPH-diaphorase neurons in visual cortex of normal and early-malnourished adult rats. *Brain Research* 2006; 1072(1):19–25.
13. Monteiro HMC, Silva DL, França JPBD, Maia LMSS, Angelim MKC, Santos AA, Guedes, RCA. Differential effects of physical exercise and L-Arginine on cortical spreading depression in developing rats. *Nutritional Neuroscience*. 2011; 14:112-18.
14. Silva SG, Dona F, Fernandes MJS, Scorza FA, Cavalheiro, EA, Arida, RM. Physical exercise during the adolescent period of life increases hippocampal parvalbumin expression. *Brain & Development*. 2009; 1-6.
15. Duarte TS, Borges APB, Lvor MSL, Filgueiras R, Tsiomis AC, Oliveira FL, Pontes KCS. Osteointegração da hidroxiapatita sintética no processo alveolar da mandíbula de cães: aspectos histológicos. *Arquicvo brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2006; 58(5):849-53.
16. Braga L, Mello M, Machado F, Gobatto C. Exercício contínuo e intermitente: Efeitos do treinamento e do de treinamento sobre o peso corporal e o metabolismo muscular de ratos obesos. *Revista Portuguesa de Ciências do desporto*. 2004; 6(2):160-9.
17. Mikahil MPTC, Belletti FS, Giacomello TV, Leite ST, Souza GV, Madruga VA, Rocha J. Exercício físico para indivíduos normotensos limítrofes e hipertensos leves. *Saúde em Revista*. 2009 May/December; 11(28/29): 27-36.
18. Nunes APOB, Rios ACS, Cunha GA, Barreto ACP, Negrão, CE. Efeitos de um programa de exercício físico não-supervisionado e acompanhado a distância, via internet, sobre a pressão arterial e composição corporal em indivíduos normotensos e pré-hipertensos. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2006 abril; 86 (4):289-96.
19. Squadrito F, Alapai G, Cucinotta D, Altavilla D, Zingarelli B, Loculano M, Urna G, Sardella A, Cam G M, Aputi AP. Anorectic activity of NG-nitro-L-arginine, na inhibitor of brain nitric oxide synthase, in obese Zucker rats. *European journal of pharmacology*. 1993; 230: 125-8.
20. Hui SC, Chan TY. Mechanisms mediating NG-nitro-L-arginine methyl ester induced hypophagia in mice. *European Journal of Pharmacology*. 1995; 283: 141-50.
21. Chiyoda A, Nakamura PM, Codogno JS, Junior AJS, Leme JAA, Luciano E. Efeito da suplementação oral de arginina sobre a secreção de GH e metabolismo de lipídios em ratos Wistar treinados. *Motricidade*. 2009; 5(4): 1-11.

22. Silva CC, Teixeira AS, Goldberg TBL. O esporte e suas implicações na saúde óssea de atletas adolescentes. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2003 nov/dez; 9(6): 426-32.
23. Robling AG, Castillo AB, Turner CH. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annual Review of Biomedical Engineering*. 2006; 8:455-98.
24. Honda A, Sogo N, Nagasawa S, Shimizu T, Umemura Y. High-impact exercise strengthens bone in osteopenic ovariectomized rats with the same outcome as Sham rats. *Journal of Applied Physiology*. 2003; 95(3):1032-7.
25. Huang T, Lin SC, Chang FL, Liu SH, Hsieh SS, Yang RS. Endurance treadmill running training benefits the biomaterial quality of bone in growing male Wistar rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2008;26(4):350-7.
26. Gomes GJ, Carneiro-Júnior MA, Silva MF, Franco FSC, Marins JCBM, Natali AJ. Suplementação com alta dosagem de cafeína não afeta a resistência à fratura óssea em ratas submetidas a treinamento de saltos verticais. *Revista Brasileira de Ciências do Esporte*. 2010; 32(1):201-16.
27. Sekine T, Watanabe E, Ishibashi T. Influence of dietary amino acids and calcium-available phosphorus on bone development of female broiler chicks. *Animal Science and Technology*. 1994; 65(9):999-1007.
28. Roque WL, Souza ACA, Barbieri DX. Característica de Euler-Pincaré aplicada para identificar baixa densidade óssea a partir de imagens tomográficas de vértebras. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2009; 49(2):140-52.
29. Fernandes JIM. Efeito da suplementação de Arginina e Lisina sobre o crescimento, imunidade e metabolismo muscular e ósseo de frangos de corte. Dissertação. Doutorado em zootecnia. Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá. 2007; 147.
30. Conconi MT, Tommasini M, Muratori E, Parnigotto PP. Essential amino acids increase the growth and alkaline phosphatase activity in osteoblasts cultured in vitro. *II Fármaco*. 2001; 56:755-61.
31. Nicastro H, Dattilo M, Rogero MM. A suplementação de L-arginina promove implicações ergogênicas no exercício físico? Evidências e considerações metabólicas. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*. 2008; 16(1):115-22.
32. Isaksson OGP, Lindahl A, Nilsson A, Isgaard J. Mechanismo of the stimulatory effect of growth hormone on longitudinal bone growth. *Endocrine Reviews*. 1987, 426-38.

33. Gomes RJ, Mello, MAR, Caetano FH, Sibua CY, Anaruma CA, Rogatto GP, Pauli JR, Luciano E. Effects of swimming training on bone mass and the GH/IGF-1 axis in diabetic rats. *Growth Hormone & IGF Research*. 2006; 16: 326-31.
34. Leme JACA, Gomes, RJ, Mello MAR, Luciano, E. Effects of short-term physical training on the liver IGF-I in diabetes rats. *Growth Factors*. 2007; 25(1):9-14.
35. Jogben W, Meininger CJ, Jobgen SC, Li P, Lee MJ, Smith SB, Spencer TE, Fried SK, Wu G. Dietary L-Arginine supplementation reduces white fat gain and enhances skeletal muscle and brown fat masses in diet-induced obese rats. *The Journal of Nutrition*. 2009 February; 139(2): 230-7.
36. Nascimento TB, Baptista RFF, Pereira PC, Campos DHS, Leopoldo AS, Leopoldo APL, Júnior SAO, Padovani CR, Cicogna AC, Cordellini S. Alterações vasculares em ratos obesos por dieta rica em gordura: papel da via L-Arginina/NO endotelial. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2011; 97(1):40-45.
37. Rath NC, Huff GR, Huff WE, Balog JM. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. *Poultry Science*. 2000; 79(7):1024-32.
38. Brighton CT, Ray, RD, Soble LW, Kuettner KE. In vitro epiphyseal-plate growth in various oxygen tensions. *The journal of Bone and Joint surgery*. 1969; 51(7):1383-96.
39. Hunziker EB, Schenck RK. Physiological mechanisms adopted by chondrocytes in regulating longitudinal bone growth in rats. *Journal of Physiology*. 1989; 414:55-71.
40. Roach HI, Mehta G, Oreffo ROC, Clarke NMP, Cooper C. Temporal analysis of rat growth plates: cessation of growth with age despite presence of a physis. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2003, 51:373:83.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, considerando os resultados obtidos, pode-se concluir que:

- O protocolo de exercício utilizado e a dose de L-Arginina administrada não foram capazes de alterar o peso corporal dos animais, nem tampouco o peso absoluto e relativo do músculo gastrocnêmio e do fêmur;
- A L-Arginina administrada na dose de 300 mg/kg em animais não exercitados promoveu aumento do diâmetro médio da fibras muscular de ratos jovens;
- O exercício físico associado à ingestão do aminoácido L-Arginina levou ao aumento do número de condrócitos do disco epifisário do fêmur de ratos jovens o que sugere um aumento no crescimento ósseo durante o período da infância.

Visando dar continuidade a este trabalho, pioneiro em estudar os efeitos da L-Arginina e do exercício físico sobre a morfometria de músculo e do osso, sugere-se como perspectivas, investigar:

- Os efeitos dessa interação em diferentes faixa etárias, considerando-se as diferentes intensidades no que se refere à mitogênese de células do tecido ósseo;
- Doses distintas do aminoácido L-Arginina, já que seus efeitos podem estar relacionados a sua quantidade no organismo; não tendo portanto uma definição da dose ideal;
- Vias de administração da L-Arginina, uma vez que a depender da rota metabólica utilizada a resposta do aminoácido pode ser modificada;
- Marcar os diferentes tipos de fibras musculares esqueléticas através de técnicas específica de histoquímica.

REFERÊNCIAS

- ABDELHAMED, A.L.; REIS, S.E.; BROSNIHAN, K.B.; PRELI, R.B.; HERRINGTON, D.M. No effect of an l-Arginine-enriched medical food (HeartBars) on endothelial function and platelet aggregation in subjects with hypercholesterolemia. **American Heart Journal**, v.145, n.3, 2003.
- ALVES, A.P.; DÂMASO, A.R.; PAI, V.D. The effects of prenatal and postnatal malnutrition on the morphology, differentiation, and metabolism of skeletal striated muscle tissue in rats. **Jornal de Pediatria**, v.84, n. 3, p.264-271, 2008.
- ALVES, C.; LIMA, R.V.B. Uso de suplementos alimentares por adolescentes. **Jornal de Pediatria**, v. 85, n. 4, p. 287-293, 2009.
- ANDREA, C. E. ; BLEGGI-TORRES, L. F.; ALVES, M. T. S. Análise da morfometria nuclear: descrição da metodologia e o papel dos *softwares* de edição de imagem. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 44, n. 1, p. 51-57, 2008.
- ANGELI, G.; BARROS, T.L.; BARROS, D.F.L.; LIMA, M. Investigação dos efeitos da suplementação oral de arginina no aumento de força e massa muscular. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13, n. 2, 2007.
- APEL, R.; DELLING, G.; KRUMME, H.; SALZER-KUNSTSCHIK, M. Nuclear polymorphism in osteosarcomas as a prognostic factor for the effect of chemotherapy: a quantitative study. **Virchows Archiv: Pathology Anatomy & Histopathology**, v. 405, n. 2, p. 215-223, 1985.
- APPLEGATE, E.A.; GRIVETTI, L.E. Search for the competitive edge: a history of dietary fads and supplements. **Journal of Nutrition**, v.127, p. 869-873, 1997.
- ARAÚJO, S.M.S.; ARAÚJO, C.G.S. Aptidão física, saúde e qualidade de vida relacionada à saúde em adultos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.6, n. 5, 2000.
- BARON, J.; KLEIN, K.O.; YANOVSKI, J.A.; NOVOSAD, J.A. BACHER, J.D.; BOLANDER, M.E.; CUTLER, G.B. Introduction of growth plate cartilage ossification by basic fibroblast growth factor. **Endocrinology**, v.135, p.2790-2793, 1994.
- BARROSO, R.; TRICOLI, V.; UGRINOWITSCH, C. Adaptações neurais e morfológicas ao treinamento de força com ações excêntricas. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 13, n.2, p. 111-122, 2005.
- BEAUMIER, L.; CASTILLO, L.; YU, Y.; AJAMI, A.M.; YOUNG, V.R. Arginine: new and exciting developments for an "old" amino acid. **Biomedical Environmental Sciences**, v.9, p. 296-315, 1996.
- BIOLO, G.; TIPTON, K.D.; KLEIN, S.; WOLFE, R.R. An abundant supply of amino acids enhances the metabolic effect of exercise on muscle protein. **American Journal of Physiology (Endocrinology Metabolism)**, v.36, p. 122-129, 1997.

BORSHEIM, E.; TIPTON, K.D.; WOLF, S.E.; WOLFE, R.R. Essential amino acids and muscle protein recovery from resistance exercise. **American Journal of Physiology (Endocrinology Metabolism)**, v.208, p. 648-657, 2002.

BRASIL, Ministério de Saúde. **Secretaria da Vigilância Sanitária**. Aprova o regulamento técnica referente a alimentos para praticantes de atividade física, constante do anexo dessa portaria. Portaria 222, de 24 de março de 1998.

BRIGHT, R.W. Partial growth plate arrest: identification, classification and results of treatment. **Orthopaedics Transactions**, v.6, p.65, 1982.

CARDOSO, E. A. Alterações estruturais de músculo esquelético submetido a alongamento passivo, em ratos. Dissertação. **Pós-graduação em Biologia Molecular. Universidade Federal de Minas Gerais**. 2006.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, J. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Reports**. v.100, n.2, p. 126-131, 1985.

CASTILLO, V.D. La alimentacion del deportista. **Educación Física y Deportes**, año 3, n.9. Buenos Aires, Marzo 1998. Disponível em: <<http://www.efdeportes.com/efd9/nutric9.htm>>. Acesso em 20 ago 2010.

COLOMBANI, P.C.; BITZI, R.; FREY-RINDOVA, P.; FREY, W.; ARNOLD, M.; LANGHANS, WENK, C. Chronic arginine aspartate supplementation in runners reduces total plasma amino acid level at rest and during a marathon run. **European Journal of Nutrition**, n. 38, p.263-270, 1999.

COMAN, D.;YAPLITO-LEE, J.; BONEH, A. New indications and controversies in arginine therapy. **Clinical Nutrition**, v. 27, n.4, p. 489-496, 2008.

DAHLSTEDT, A.J.; WESTERBLAD, H. Inhibition of creatine kinase reduces the rate of fatigue- induced decrease in tetanic [Ca²⁺], in mouse skeletal muscle. **The Journal Physiology**, v.533, p.639-649, 2001.

DAVIES, A.; BLAKELEY, A. G. H.; KIDD, C. **Fisiologia Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

DELLMAN, H.; BROWM, M. E. Tecidos conjuntivos e de sustentação. In: **Histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara, cap. 3, p. 37-64. 1982.

FILHO, J. C. S. C. ; VANDERLEI, L. C. M.; CAMARGO, R.C.T.; OLIVEIRA, D. A. R.; JÚNIOR, S. A. O.; PAI, V.D.; BELANGERO, W. D. Análise histológica, histoquímica e morfométrica do músculo sóleo de ratos submetidos a treinamento físico em esteira rolante. **Arquivos de Ciências da Saúde**, v.12, n.3, p.196-199, jul/set, 2005.

FILHO, J. C. S. C.; VANDERLEI, L. C. M. ; CAMARGO, R. C. T.; FRANCISCHETI, F. A.; BELANGERO, W. D.; PAI, V. D. Efeitos do esteróide anabólico nandrolona sobre o músculo

sóleo de ratos submetidos a treinamento físico através de natação: estudo histológico, histoquímico e morfométrico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 12, n.5, Set/Out, 2006.

FLAKOLL, P.; SHARP, R.; BAIER, S.; LEVENHAGEN, D.; CARR, C.; NISSEN, S. Effect of beta-hydroxy- methylbutyrate, arginine, and lysine supplementation on strength, functionality, body composition, and protein metabolism in elderly women. **Nutrition**, v. 20, n.5, p. 445-451, 2004.

FONTANA, K.; WHITE, K.E.; CAMPOS, G.E.R.; CRUZ-HOFLING, M. A.; HARRIS, J.B. Morphological changes in murine skeletal muscle in response to exercise and mesterolone. **Journal of Electron Microscopy**, v. 59, n.2, p. 153–164, 2010.

FRAZÃO, M. F.; MAIA, L.M.S.S.; GUEDES, R.C.A. Early malnutrition, but not age, modulates in the rat the L-Arginine facilitating effect on cortical spreading depression. **Neuroscience Letters**, 447, p. 26-30, 2008.

GUEDES, R.C.A; MELO, A. P. R.; BORBA, J. M. C.; ALVES, C.R.R., SANTOS, A. A.; TEODÓSIO, N. R. **Nutrição e Fisiologia do Sistema Nervoso**. São Paulo: Editora Atheneu, 2007.

HAAPASALO, H.; KANNUS, P.; SIEVANEN, H.; HEINONEN, A.; OJA, P.; VUORI, L. Long-term unilateral loading and bone mineral density and content in female squash players. **Calcified Tissue International**, v.54, p.249–255, 1994.

HALACK, A.; FABRINI, S.; PELUZIO, M.C. Avaliação do consumo de suplementos nutricionais em academias da zona sul de Belo. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 1, p. 55-60, 2007.

HICKS, A.L.; KENT-BRAUN, J.; DITOR, D.S. Sex differences in human skeletal muscle fatigue. **Exercise and Sports Science Reviews**; v. 29, p.109-112, 2001.

HUNZIKER, E.B.; SCHENCK, R.K. Physiological mechanisms adopted by chondrocytes in regulating longitudinal bone growth in rats. **Journal of Physiology**, v. 414, p.55-71, 1989.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 9ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara, 1999.

KNOPHOLZ, J.; PRECOME, D. B.; BROFMAN, P. R.S.; BIER, G. E.; SILVA, F.K. C.; SILVA, A. P. K.; LEMOS, A. C.; SILVA, P. O.; MORAES, J. D. Efeito da L-Arginina na Neoproliferação Intimal e no Remodelamento Arterial após Lesão por Balão, em Ilíacas de Coelhos Hipercolesterolêmicos. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 87, p. 520-524, 2006.

LEACH, R.M.; GAY, C.V. Role of epiphyseal cartilage in endochondral bone formation. **Journal of Nutrition**, v. 117, n.5, p.784-790, 1987.

LI, X.; BAZER, F.W.; GAO, H.; JOBGEN, W.; JOHNSON, G.A.; LI, P.; MCNIGHT, J.R.; SATTERFIELD, M.C.; SPENCER, T.E.; WU, G. Amino acids and gaseous signaling. **Amino Acids**, v. 37, p.65–78, 2009.

LIMA, S.C.; CAIERÃO, Q.M.; DURING, J.L.Q.; SCHWARZENBECK, A.; SILVA, C.A.; MINAMOTO, V.B.; GUIRRO, R.R.J. Curto período de imobilização provoca alterações morfológicas e mecânicas no músculo de rato. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 11, n. 4, p. 297-302, jul./ago, 2007.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. (Eds). **Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia**. 10ª ed. São Paulo: Roca, 1179p. 2005.

MAIA, L.M.S.S.; FRAZÃO, M.F.; SOUZA, T.K.M.; SILVA, M.B.; ROCHA-DE-MELO, A.P.; PICANÇO-DINIZ, C.W.; AMÂNCIO-DOS-SANTOS, A.; GUEDES, R.C.A. L-Arginine treatment early in life influences NADPH-diaphorase neurons in visual cortex of normal and early-malnourished adult rats. **Brain Research**, v.1072, n.1, p. 19-25, 2006.

MATSUMOTO, K.; MIZUNO, M.; MIZUNO, T.; DILLING-HANSEN, B.; LAHOZ, A.; BERTELSEN, V.; MUNSTER, H.; JORDENING, H.; HAMADA, K.; DOI, T. Branched-chain amino acids and arginine supplementation attenuates skeletal muscle proteolysis induced by moderate exercise in young individuals. **International Journal of Sports Medicine**, v.28, p. 531-538, 2007.

MAUGHAN, J.R. The sports drink as a functional food: formulations for successful performance. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.57, p. 15-23, 1998.

MAXWELL, A. J.; HO, H. V.; LE, C. Q.; LIN, P.S.; BERNSTEIN, D.; COOKE, J.P. L-arginine enhances aerobic exercise capacity in association with augmented nitric oxide production. **Applied Physiology**, v.90, p. 933-938, 2001.

MCCONELL, G.K.; HUYNH, N.N.; LEE-YOUNG, R.S.; CANNY, B.J.; WADLEY, G.D. L-arginine infusion increases glucose clearance during prolonged exercise in humans. **American Journal of Physiology (Endocrinology Metabolism)**, v.290, n.1, p. 60-66, 2006.

MCMURRAY, R.G. ; ANDERSON, J.J.B. Tendências das Pesquisas em nutrição protéica para atletas. In: WOLINSKY, I.; HICKSON, J. F. **Nutrição no exercício e no esporte**. 2ª ed. São Paulo: Roca, 646p, 2002.

MEIJER, G.A.; BELIEN, J.A.; VANDIEST, P.J.; BAAK, J.P. Origins of image analysis in clinical pathology. **Journal of Clinical Pathology**, v. 50, p. 365-70, 1997.

MENEILLY, G.S.; BATTISTINI, B.; FLORA, J.S. Contrasting effects of L-arginine on insulin mediated blood flow and glucose disposal in the elderly. **Metabolism**, v.50, n.2, p. 194-199, 2001.

MOITA, L.; LUSTOSA, M. F.; SILVA, A. T., PIRES-DE-MELO, I. H., MELO, R. J.; CASTRO, R. M.; FILHO, N. T.; FERRAZ, J. C.; LEANDRO, C. G. Moderate Physical Training Attenuates the Effects of Perinatal Undernutrition on the Morphometry of the Splenic Lymphoid Follicles in Endotoxemic Adult Rats. **Neuroimmunomodulation**, v. 18, p. 103-110, 2011.

MONTEIRO, H. M. C.; SILVA, D. L.; FRANÇA, J. P. B. D.; MAIA, L. M. S. S.; ANGELIM, M. K. C. SANTOS, A. A.; GUEDES, R. C. A. Differential effects of physical exercise and L-Arginine on cortical spreading depression in developing rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 14, p.112-118, 2011.

MOTTA, A. B.; PINHEIRO, G. ; ANTONÂNGELO, L.; PARRA, E. R.; MONTEIRO, M. M.; PEREIRA, J. C. N.; TAKAGAKI, T.; FILHO, M. T.; MARTINS, S.; CAPELOZZI, V. L. Marcadores morfológicos de prognóstico no mesotelioma maligno: um estudo de 58 casos. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Ed. 4, v. 32, jul/ ago, 2006.

NIEVES-JR, C.; LANGKAMP-HENKEN, B.. Arginine and imunity: a unique perspective. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, p. 471-482, 2002.

NICASTRO, H.;DATTILO, M.; ROGERO, M. M. A suplementação de L-arginina promove implicações ergogênicas no exercício físico? Evidências e considerações metabólicas. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 16, n. 1, p. 115-122, 2008.

NOVAES,M.R.C.G.; LIMA, L.A.M.; SOUZA, M.V. Maillard's reaction in parenteral solutions supplemented with arginine. **Archivos Latinoamericanos de Nutrition**, v.5, n.3, p. 265-287, 2001.

NOVELLI, M.; STRUFALDI, M.B.; ROGERO, M.M.; ROSSI, L. Suplementação de glutamina aplicada à atividade física. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento** , v.1, n.15, p. 109-117, 2007.

OCARINO, N.M.; SERAKIDES, R. Effect of the physical activity on normal bone and on the osteoporosis prevention and treatment. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.2, n.3, p. 149-152, 2006.

PORTER, D.V. Dietary supplement: recent chronology and legislation. **Nutricion Reviews**, v.53, n. 2, p. 31-36, 1995.

PENTTINEN, J.; TOYRY, J.; EERIKAINEN, S.; LITMANEN, H.; RINKINEN, T., LANSIMIES, E. Does plasma L-arginine level play a role in regulation of blood pressure during exercise and autonomic nervous function? **Clinical Physiology**, v.18, p.539-543, 1998.

PHILIPPI, J. M. S. O uso de suplementos alimentares e hábitos de vida de universitários: o caso da UFSC. 2004. 211 p. Dissertação. **Doutorado em Ergonomia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção**. Universidade Federal de Santa Catarina.Florianópolis.2004.

PIZAURO, J.R.; CIANCAGLINI, P. MACARI, M. Discondrodisplasia Tibial: mecanismos de lesão e controle. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.3, p.169-185, 2002.

PRICE, J.S.; OYAJOBI, B.O.; RUSSEL, R.G.G. The cell biology of bone growth. **European Journal Cilnical Nutrition**, n. 48, p.131-149, 1993.

QUEIROZ, S.L.; BATISTA, A.A. Funções biológicas do óxido nítrico. **Química Nova**, v.22, n.4,jul/Aug, 1999.

RACKÉ, K.;HEY, C.;MOSNER, J.; HAMMERMANN, R.; STICHNOTE, C.; WESSLER, I. Activation of l-arginine transpot by protein kinase C in rabbit, rat and mouse alveolar macrophages. **The Journal of Physiology**, v.511, p. 813-25, 1998.

RADEGRAN, G; SALTIN, B. Nitric oxide in the regulation of vasomotor tone in human skeletal muscle. **American Journal of Physiology**, v. 276, 2, p.1951-1960, 1999.

REIS, O. T. G.; RAINIR, J. C.; CORADIR, S. T.; CONSTATINO, D. H. J. Effect of L-Arginine and L-NAME treatments on polymorphonuclear leukocytes and mononuclear cells influx during tumor growth. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 24, n. 2 p. 107-111, 2009.

ROACH, H.I.; MEHTA, G.; OREFFO, R.O.C.; CLARKE, N.M.P.; COOPER, C.Temporal analysis of rat growth plates: cassation of growth with age despite presence of a physis. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 51, p.373-383, 2003.

ROSS, M.H.; ROMRELL, L.J. **Histologia: texto e atlas**. 2ª. Ed. São Paulo, Panamericana. 1993.

SALES R.P.; MINÉ, C.E.C.; FRANCO A.D.; RODRIGUES, E.L.; PELÓGIA, N.C.C.; SILVA, R.S.; COGO, J.C.; LOPES-MARTINS, R.A.B.; OSORIO, R.L.; RIBEIRO, W. Efeitos da suplementação aguda de aspartato de arginina na fadiga muscular em voluntários treinados. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.11, p. 347-351, 2005.

SECCHI, K.V.; MORAIS, C.P.; CIMATTI, P.F.; TOKARS, E.; GOMES, A.R.S.Efeito do alongamento e do exercício contra-resistido no músculo esquelético de rato. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, vol.12 no.3, p. 228-234, 2008.

SCHAEFER, A.; PiQUARD, F.; GENY, B.; DOUTRELEAU, S.; LAMPERT, E.; METTAUER, B. Arginine reduces exercise-induced increase in plasma lactate and ammonia. **Intinternational Journal of Sports Medicine**, v.7, n.403, 2002.

SILVA, S. G.; DONA, F.; FERNANDES, M. J. S.; SCORZA, F. A.; CAVALHEIRO, E. A.; ARIDA, R. M. Physical exercise during the adolescent period of life increases hippocampal parvalbumin expression. **Brain & Development**, p.1-6, 2009.

SOBRAL, L. L.; OLIVEIRA, L. S.; SOMAZZ, M.C.; MONTEBELO, M.I.L.; TEODORI, R. M. Exercício Imediato *versus* tardio na regeneração no nervo isquiático de ratos após axoniotmese: análise histomorfométrica e funcional.**Revista Brasileira de Fisioterapia**, v.12, n.4, p.311-316, jul/ago, 2008.

STUEHR, D. Arginine Metabolism: Enzymology, Nutrition, and Clinical Significance. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2748-2751, 2004.

SUZUKI, J. Microvascular adaptation after endurance training with L-Arginine supplementation in rat heart and hindleg muscles. **Experimental Physiology**,v. 90, p.763-771, 2005.

SUZUKI, J. L-Arginine supplementation additional effects on exercised-induced angiogenesis and VEGF expression in the heart and hind-leg muscles of middle-aged rats. **The Journal of Physiological Sciences**, v.56, n.1, p.39-44, 2006.

TENÓRIO, A. S.; ALVES, S.B.; BEZERRA, A. L.; SOUZA, G.M.L.; CASTANHO, T.J.A.; TASHIRO, T.; GALINDO, L.C.M.; MORAES, R.A. Efeito do treinamento físico sobre o tecido ósseo e a concentração sérica de cálcio em camundongos fêmeas ovariectomizadas. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 280-283, 2005.

TIPTON, K. D.; FERRANDO, A. A.; PHILLIPS, S. M.; DOYLE, D. JR.; WOLFE, R. R. Postexercise net protein synthesis in human muscle from orally administered amino acids. **American Journal of Physiology (Endocrinology Metabolism)**, v. 276, p. 628-634, 1999.

VEIGA, R. K. A.; MELO-JÚNIOR, M. R. ; ARAÚJO- FILHO, J. L. S.; MELLO, L. A.; PONTES-FILHO, N. T. Alterações morfométricas no timo, baço e placas de Peyer durante a exposição pré e pós-natal ao álcool. **Revista Eletrônica da Faculdade de Farmácia**, v. 4, p. 32-42, 2007.

VIEBIG, R. F.; NACIF, M. A. L. Recomendações Nutricionais para a atividade física e o esporte. **Revista Brasileira de Educação Física, Esporte, Lazer e Dança**, v. 1, n. 1, p. 2-14, mar. 2006.

WEISINGER, H. Arginine Metabolism and synthesis of the nitric oxide. **Progress in Neurobiology**, v.64, p. 365-391, 2001.

WOLF, A.; ZALPOUR, C.; THEILMEIER, G.; WANG, B.Y.; MA, A.; ANDERSON, B.; TSAO, P.S.; COOKE, J.P. Dietary L-arginine supplementation normalizes platelet aggregation in hypercholesterolemic humans. **Journal of American College of Cardiology**, v.29, p. 479-485, 1997.

WU,G.; MEININGER,C.J.;KNABE, D.A.;BAZER, F.W.; RHOADS, J.M.**Arginine nutrition in development, health and disease. Current Opinion Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 3, p. 59-66, 2000.

ZUCKERBRAUN, B.S.; GEORGE, P.; GLADWIN, M.T. Nitrite in pulmonary arterial hypertension: therapeutic avenues in the setting of dysregulated arginine/nitric oxide synthase signaling. **Cardiovascular Research**, v.89, p. 542–552, 2011.

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética

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, 04 de maio de 2010

Ofício nº 267/2010

Da Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Profa. Luciana Maria Silva de Seixas Maia**
Departamento de Histologia e Embriologia – CCB
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076. 005924/2008 - 80

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **"INTERAÇÃO DA L-ARGININA E DO EXERCÍCIO FÍSICO DURANTE O DESENVOLVIMENTO: ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE ÓRGÃOS EM RATOS JOVENS E ADULTOS."**

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 CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

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

Atenciosamente,

Observação:
Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição
Animais: Ratos; Wistar; ambos os sexos; com 35 - 45/ 90 -120 dias de vida; Número de animais previsto no protocolo: 80 animais.
O Projeto será realizado com órgãos provenientes dos animais do processo intitulado, **Interação L- arginina e atividade física durante o desenvolvimento do sistema nervoso: Análise da depressão alastrante cortical em ratos jovens e adultos (Aprovado pela CEUA sob Ofício nº51/08).**

Maria Teresa Jansen
Profa. Maria Teresa Jansen,
Presidente do CEEA
UFPE

CCB: Integrar para desenvolver

ANEXO B – Normas e instruções aos autores do Journal of Morphological Sciences

Instruction for Authors

Presentation

Journal of Morphological Sciences is issued by SBA-Sociedade Brasileira de Anatomia (*Brazilian Society of Anatomy*) and publishes scientific articles in the area of vertebrate and invertebrate animals.

The publications include structure, functional morphology, animal development, as well all levels of structural organization from the submicroscopical to macroscopical levels including comparative anatomy and *in vitro* systems.

The Journal of Morphological Sciences is currently indexed in the following databases: LILACS (Latin American and Caribbean Health Science Literature), IMLA (Index Medicus Latino-Americano), Veterinary Science Database, CAB Abstracts, CAB Health e BIOSIS (Biological Abstracts and Zoological Record).

It is published four times a year, and each issue contains from 15-17 articles.

Editorial Policy

- It accepts articles in the areas of Neuroanatomy, Cytology, Histology, Embriology, Histochemistry, Electron Microscopy, Experimental Pathology, and Morphology.
- All submitted manuscripts to The Journal of Morphological Sciences should contain scientific research.
- The manuscript can be categorized as a Regular Paper, Short Communication, Review Article, or a Case report.
- All submitted manuscripts should contain original research, with novel theoretical contributions, not previously published and not under consideration for publication elsewhere.
- Papers which have been submitted for scientific conferences, printed in thesis etc., an appropriate statement note should be included as a footnote.
- The editorial will contain brief information regarding a guest author.
- Authors are required to submit manuscripts electronically using the online submission system available at <http://jms.org.br>.
- Works will be submitted to the Editorial Board's review, and analyzed by two anonymous referees. In the case of disagreement between the reviews, a third referee will be heard, and following all reviews the decision on the acceptance of the manuscript will be made.
- The authors will be contacted via e-mail once the review procedure is complete.
- Accepted articles may be subject to changes, which are not to alter the original content of the submission, related to their manuscripts.
- If a paper is to be declined, it will be sent back to the author accompanied by the referees' reviews.
- Authors and referees will be kept anonymous during the review process.

Submission of manuscript

Together with the manuscripts, all authors are required to submit the terms of agreement and submitting rights of graphic reproduction at <http://jms.submitcentral.com.br/>.

Form of the manuscript

Manuscripts should be submitted electronically only at <http://jms.submitcentral.com.br/>.

The language of all publications is English, and the text should be typed in Times New Roman font, 12 point, with 1.5 spacing between lines and all pages should be numbered as follows:

1) Page 1

Title and Identification

1.1. Title

- "Word or sentence that identifies the manuscript content". (ABNT 6022).
- The full title and the subtitle (IF there is one) should be written in English.
- Titles should be no longer than 15 words.
- The title should not bear any abbreviations, and species names and Latin words should be in italics.
- The title must be given in boldface and centered (see below):

Diel variation in fish assemblages in tidal creeks in southern Brazil

1.2. Identification/affiliation

- Author's name(s) and address:
- "The author who is responsible for the intellectual content of the manuscript". (ABNT 6022).
- The identification should include the first author's full name (no abbreviations), and, in the line below, a brief curriculum qualifying the author in that specific field of knowledge plus a complete address. The same directions should apply to all the authors.
- The qualification/affiliation in the Field should include in the following order: Laboratory, College or School, Institute, and University.
- The address must be given below the qualification, must be given in the following order: number and street, borough, city, state, P.O. box, zip code (institution), and current author's e-mail.
- Leave one line blank between the authors' identification and their respective addresses.

Example:

Rodrigo	Silva	Santos.
Departament of Zoology, Biosciences Institute, State University of São Paulo		
UNESP.		
Av. 24 ^a , nº 1515, CEP 13506-900, Rio Claro, SP, Brazil.		
sipaub@caunesp.unesp.br		

Felipe	Braga.
Departament of Hydrobiology, Federal University of São Carlos – UFSCar.	
Via Washington Luiz, Km 235, CP 676, CEP 13565-905, São Carlos, SP, Brazil.	
braga@power.ufscar.br.	

Please note the number of authors of an article is limited to a maximum of 10.

Should more people contribute to the article, they can be included in the acknowledgements.

2) Page 2

Abstract and keywords in English

2.1. Abstract

The abstract should be a single paragraph containing fewer than 250 words. It should be concise and indicate the content of the manuscript clearly stating the objective, the major findings, methodology, results, and the principal conclusions. The text should be typed in Times New Roman font, 12 point, with 1.5 spacing between lines. It should be preceded by the word "Abstract" and followed by the keywords.

The abstract should not include abbreviations and should be structured as follows: **Introduction, Material and Methods, Results and Conclusion.**

2.1.1. Keywords

A list of up to 5 words directly below the abstract and preceded by the Word "keywords" should be provided. Keywords should express the precise content of the article.

Note: Page 2 should contain a short running title in English, as a footnote and no longer than 45 characters, to be printed at the head of each page.

FOR REGULAR PAPERS AND REVIEW ARTICLES

3) Page 3

Introduction, Material and Methods, Results and Conclusion

Leave one line blank between each topic

3.1. Introduction

- It should indicate briefly give the context of the study and the objective. It should clearly state how the research is related to others in the field studied. The reasons for undertaking it and what is new or important about this study should be clearly stated.
- The introduction should provide enough background information for the reader to understand the topic and contents of the paper,
- It should be preceded by the word "introduction" in boldface and followed by: (colon) and the text.

3.2. Materials and Methods

- A clear and thorough statement of the contents of the manuscript.
- The materials and methods used in the experiments should be reported in this section. It should mention the materials source (manufacturer, city, state, country), the supplier, the description of animals studied (number, sex, weight, age, species).
- Methods which have been previously described should be mentioned in brief only with proper references unless they have been modified in the present work.
- Newly introduced techniques should be described in detail to allow easy repetition.
- The text should be preceded by the words "Materials and Methods" in boldface and followed by: (colon).
- Tables, Figures, and Annexes and respective legends can be included when necessary. Hence they should be mentioned in the text because when the manuscript is submitted they come at the end of it.

3.3. Results

- Results should be clearly presented. Tables, figures, and annexes can also be used without data overlap.

- Tables, Figures, and Annexes and respective legends can be included when necessary. Hence they should be mentioned in the text because when the manuscript is submitted they come at the end of it.
- Phrases that express doubt such as "it seems to increase" or "it seems to be higher than" should be avoided.
- Non-significative results should not be used.
- The text should be preceded by the word "Results" in boldface and followed by: (colon).

3.4. Conclusion

- Should be concise. Hypothesis should be discarded. Consider other hypotheses when justified, but define them clearly.
- All the most relevant ideas that directly derive from the work should be precisely and concisely included. The conclusions should be related to the objectives and give an answer to the hypothesis of the study. Results interpretation should be related to what has been mentioned previously in the manuscript.
- Information given previously in the introduction, materials and methods, and results can be cited again in the conclusions, but authors should not repeat detailed data that were previously presented.
- The text should be preceded by the word "Conclusions" in boldface and followed by: (colon).

CASE REPORT AND SHORT COMMUNICATION

For the case report category, the article should be structured as Introduction, Case Report and Discussion; if the item Conclusion is necessary, it should be inserted after; for Short Communications, it should be structured as Introduction, Short Communication and Discussions. The Introduction and Discussion sections should follow the criteria in items 3.1 and 3.4.

4) Page 4

Acknowledgements and References

4.1. Acknowledgements

- Acknowledgements such as technical assistance, financial support, scholarships, and collaborations can be included when appropriate and names should be cited with consent
- Acknowledgements are placed at the end of report pages before the references.
- It should be preceded by the word "Acknowledgements" in boldface and followed by: (colon).

4.2. References

- References should conform to the guidelines established in ISO 690/1987 and should be arranged alphabetically.

Examples of style for references:

4.2.1. Books

All references should be cited in the text indicating THE AUTHORS' SURNAME TYPED IN CAPITAL LETTERS, first name initials, title, subtitle (if there is one), followed by the publishing house, place and year of publication.

KENT, M. and COKER, P. *Vegetation description and analysis*: a practical approach. London: Belaven Press, 1992. 363 p.

4.2.2. Thesis, Dissertations, and Monograph

All references should be cited in the text indicating the AUTHORS' SURNAME TYPED IN CAPITAL LETTERS, first name initials, title, subtitle (if there is one), edition, place (city), institution, year of publication, page number, notes [] (brackets).

ALMEIDA, GA. *Resíduos de pesticida organoclorados no complexo esturinolagunar Iguape –cananéias e rio Ribeira e Iguape*. São Paulo: Instituto de Oceanografia; Universidade de São Paulo, 1995. 95 p. [Dissertação de Mestrado em Oceanografia Física].

4.2.3. Journal Articles

All references should be cited in the text indicating the AUTHORS' SURNAME TYPED IN CAPITAL LETTERS, first name initials, article title, subtitle (if there is one), full title of the journal, year of publication, volume, issue, page number.

RIVITTI, EA. Departamento de Dermatologia: histórico, seus professores e suas contribuições científicas. *Revista de Medicina de São Paulo*, 2002, vol. 81, n. especial, p. 7-13.

4.2.4. Events and/or Scientific Conferences

NAME OR TITLE, number (if any), year, place held, place of publication, publishing house. Page number, notes [] (brackets).

SIMPÓSIO NACIONAL de FERMENTAÇÕES, XVI, São Paulo. São Paulo: USP, 2003. 151 p. [Anais].

4.2.5. Articles Previously Presented at Scientific Conferences

AUTHORS' SURNAME TYPED IN CAPITAL LETTERS, first name initials, title, event name or title, event month, day and year, place of publication, publishing house, year of publication, page number, notes [] (brackets).

BRANDÃO, CRF. Sociologia no contexto da história e da ciência. In *Anais da Reunião Anual da Associação Brasileira de Antropologia*, maio 18, 1988. Campinas: Associação Brasileira de Antropologia, 1988. 32 p. [Resumos].

4.2.6. Patents

AUTHORS' SURNAME TYPED IN CAPITAL LETTERS, first name initials, title of invention, industrial patent number, day, month, and year, notes [] (brackets) is applicable.

PÓ, W. *Conversor eletrônico de lâmpadas*. Patente industrial, no. 6500856. 15-05-1985.

4.2.7. Institutions and Commercial websites

INSTITUTIONS AND COMMERCIAL NAMES TYPED IN CAPITAL LETTERS. [on - line]. [date (year, month, day)]. Available from: <<http://www.xxx.xxx.xx>>.

JOURNAL OF MORPHOLOGICAL SCIENCES. [on-line]. [2010-01-20]. Available from: <<http://jms.org.br/standards.php>>.

5) Page 5

Figures, Charts, Tables and Graphs

- Figures, Charts, Tables and Graphs should be presented clearly.
- They should be typed in Times New Roman font, 12 point, with 1.5 spacing between lines properly inserted and numbered sequentially into the text.
- Figures, Charts, Tables and Graphs should be as close as possible of the text in which they were mentioned.

- They should be properly titled and have legends.
- Images should have scan resolution of 300 dpi (81 mm ou 957 pixels); (167 mm ou 1972 pixels).

Units of Measure

- Use only SI units (International System of Units);

Reference citations

- All references should be cited in the text indicating the author's surname typed in capital letters followed by the year of publication.
Example: (SILVA, 2008)
- For references with two authors, both surnames should be cited joined by the word " and ".
- For references with three authors, the three surnames should be cited joined by the word " and" before the last name.
- For references with more than three authors, text citations should be shortened to the primary name followed by "et al."

Appendix

- Complement of the manuscript. Should be submitted at the end of the manuscript after the figures, charts, tables, and graphs.

Annex

- Complement citation of the manuscript. Should be submitted at the end of the manuscript after the figures, charts, tables, and graphs.

ANEXO C – Comprovante de envio do artigo ao Journal of Morphological Sciences

JMS:

Page 1 of

Journal of
Morphological Sciences
Functional Anatomy and Cell Biology

ISSN 2177-0298

Official Organ of the Brazilian Society of Anatomy and
Pan-American Association of Anatomy

Maria Patrícia Pereira Melo (mpatriciapmelo@hotmail.com) Alterar Dados

Submissão concluída com êxito! Imprima esta página para referência.

Foi enviado para seu e-mail uma mensagem com o número e título do Artigo.
Na tabela de Submissões Completas na página inicial você pode acompanhar e ter acesso as
revisões deste Artigo.

Código do Artigo: 0275-11

Responsável: Miss Maria Patrícia Melo

Categoria: Revisões

Área: Morfologia Aplicada a Outras Ciências

Changes in morphometric parameters of bone tissue due to physical exercise: a systematic review

¹Miss Maria Patrícia Pereira Melo;

²Profa. Dra. Angélica da Silva Tenório;

³Profa. Dra. Liriane Baratella-Evencio;

^{3*}Profa. Dra. Luciana Maria Silva de Seixas Maia;

¹Universidade Federal de Pernambuco (Departamento de Pós-graduação em Patologia), Recife - Pernambuco, Brasil

²Universidade Federal de Pernambuco (Departamento de Fisioterapia), 50670-901 Recife - Pernambuco, Brasil

³Universidade Federal de Pernambuco (Departamento de Histologia e Embriologia), 50740600 Recife - Pernambuco, Brasil

Resumo: Introduction: It is known that physical exercise can influence the morphometry of bone tissue.

This influence depends on the intensity, frequency, duration and mode of exercise. However, these aspects are not well described in literature. Furthermore, morphometric parameters for the study of bone tissue are more suitable to investigate this effect. Given these uncertainties, we intend to investigate the effects of exercise in bone morphometry. Materials and methods: For this study, we performed a systematic search of articles in PUBMED, MEDLINE, OLD MEDLINE, SciELO and LILACS. We used the keywords: "morphometry", "physical exercise" and "bone". Initially we found a total of 39 articles. Articles in which animals were submitted to pharmacological or surgery intervention as well as those where rats had some disease or hormonal alteration were excluded. After selection according to inclusion and exclusion criteria, only three articles remained. Results: Newhall et al (1991) investigated the effects of exercise in a non-systematic way, with no definitions of exercise parameters. McDonald et al (1986) suggest that various features of physical exercise, besides intensity, can influence on bone mechanical properties. The results of this research show the need to establish defined standards concerning the mode, intensity, frequency and duration of exercise. Conclusion: It was not possible to determine which morphometric parameters are the best to represent these changes. More studies in this area are suggested in order to comprehend the influence of physical exercise on bone tissue.

Palavras-chave: bone; Morphometry; Physical Exercise



Imprima esta página.

página inicial

Uma solução cubomultimídia@ sistemas acadêmicos

Desenvolvido para:



ANEXO D – Carta de aceite do Artigo de Revisão Sistemática pelo Journal of Morphological Sciences

Journal of Morphological Sciences
 Functional Anatomy and Cell Biology

ISSN 2177-0298
 Official Organ of the Brazilian Society of Anatomy and
 Pan-American Association of Anatomy



Maria Patrícia Pereira Melo (mpatriciapmelo@hotmail.com) [Alterar](#)

Painel do Autor

[Iniciar nova submissão](#)

[Alterar meu cadastro](#)
[Alterar minha senha](#)
[Sair \(Logout\)](#)

Para esclarecer dúvidas ou suporte técnico sobre o sistema, acesse nosso [FAQ](#)

Dúvidas sobre Normas ou andamento da avaliação de Artigos devem ser enviadas para a [Laura](#)

Journal of Morphological Sciences

Na tabela *Submissões Pendentes* você pode continuar cada submissão do ponto em que parou ou cancelar seu envio. Para acompanhar seu Artigo veja a coluna *Situação* em *Submissões Completas*. Veja maiores informações sobre Artigos onde você é co-autor em *Submissões Co-Autoradas*.

[★ Iniciar nova submissão >>](#)

Submissões Pendentes (ignoradas até estarem completas)

Código	Título Artigo	Criada em	Ações
<i>nenhuma submissão em andamento</i>			

Submissões Completas (aguardando processo de avaliação)

Código	Título Artigo	Enviada em	Situação
0275-11	Changes in morphometric parameters of bone tissue due to physical exercise: a systematic review	26/10/2011	Esperando correções

Maria Patrícia Pereira Melo (mpatriciapmelo@hotmail.com) [Alterar Dados](#)

Submissão em andamento

[Voltar](#)

Para esclarecer dúvidas ou suporte técnico sobre o sistema, acesse nosso [FAQ](#)

Dúvidas sobre Normas ou andamento da avaliação de Artigos devem ser enviadas para a [Laura](#)

Enviando versão corrigida de Artigo

Foi solicitado que você envie uma nova versão de seu Artigo, adequando-o às correções ou modificações sugeridas pelos Revisores que estão explicadas nos *Comentários do Editor* abaixo. Opcionalmente caso os Revisores tenham enviado algum arquivo estes estarão disponíveis ao final dos *Comentários do Editor*.

Recomendação e Comentários do Editor:
Recomendação:
Aceitar com revisão substancial

Comentários:
Filiação:
Colocar todos os itens em inglês: "Department of post-graduation..."

Resumo:
Na descrição dos resultados está informado que três artigos foram selecionados, mas um dos

ANEXO E – Normas e instruções aos autores da Revista Brasileira de Medicina do Esporte

A Revista Brasileira de Medicina do Esporte (RBME) é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Medicina do Exercício e do Esporte (SBME), com publicação bimestral. A missão da RBME é disseminar a produção científica nas áreas de ciências do exercício e do esporte, através da publicação de resultados de pesquisas originais e de outras formas de documentos que contribuam para o conhecimento fundamental e aplicado em atividade física, exercício e esporte no âmbito das ciências biológicas e da medicina.

Serão considerados para publicação artigos originais, artigos de opinião, artigos de revisão, relatos de experiência, relatos de casos ou cartas ao editor, sobre assuntos relacionados com as áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. Ser membro da SBME não representa um pré-requisito para publicação na RBME, nem influencia a decisão do Conselho Editorial. Serão aceitos artigos escritos na língua portuguesa e, a critério do Conselho Editorial, autores e grupos estrangeiros poderão publicar artigos escritos em inglês. Todos os artigos serão publicados na íntegra, sendo responsabilidade da RBME a produção das versões estrangeiras.

A RBME adota as regras de preparação de manuscritos da Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann Intern Med* 1997;126:36-47), cuja última atualização, realizada em 2010, está disponível na internet (<http://www.icmje.org>).

DUPLA SUBMISSÃO

Os artigos submetidos à RBME serão considerados para publicação somente com a condição de que não tenham sido publicados ou não estejam em processo de avaliação para publicação em outro periódico, seja na sua versão integral ou em parte. A RBME não considerará para publicação artigos cujos dados tenham sido disponibilizados na internet para acesso público. Se houver no artigo submetido algum material em figuras ou tabelas já publicado em outro local, a submissão do artigo deverá ser acompanhada de cópia do material original e da permissão por escrito para reprodução do material.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores deverão explicitar, através de formulário próprio (Divulgação de potencial conflito de interesses), qualquer potencial conflito de interesse relacionado ao artigo submetido, conforme determinação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC 102/ 2000) e do Conselho Federal de Medicina (Resolução nº 1.595/2000). Esta exigência visa informar os editores, revisores e leitores sobre relações profissionais e/ou financeiras (como patrocínios e participação societária) com agentes financeiros relacionados aos produtos farmacêuticos ou equipamentos envolvidos no trabalho, os quais podem teoricamente influenciar as interpretações e conclusões do mesmo. A existência ou não de conflito de interesse declarado estarão ao final de todos os artigos publicados.

BIOÉTICA DE EXPERIMENTOS COM SERES HUMANOS

A realização de experimentos envolvendo seres humanos deve seguir a resolução específica do Conselho Nacional de Saúde (nº 196/96) disponível na internet (<http://conselho.saude.gov.br/docs/Resolucoes/Reso196de96.doc>), incluindo a assinatura de um termo de consentimento informado e a proteção da privacidade dos voluntários.

BIOÉTICA DE EXPERIMENTOS COM ANIMAIS

A realização de experimentos envolvendo animais deve seguir resoluções específicas (Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e Decreto nº 24.645 de 10 de julho de 1934).

ENSAIOS CLÍNICOS

Os artigos contendo resultados de ensaios clínicos deverão disponibilizar todas as informações necessárias à sua adequada avaliação, conforme previamente estabelecido. Os autores deverão referir-se ao "CONSORT" (www.consort-statement.org).

REVISÃO PELOS PARES

Todos os artigos submetidos serão avaliados, por revisores com experiência e competência profissional na respectiva área do trabalho e que emitirão parecer fundamentado, os quais serão utilizados pelos Editores para decidir sobre a aceitação do mesmo. Os critérios de avaliação dos artigos incluem: originalidade, contribuição para corpo de conhecimento da área, adequação metodológica, clareza e atualidade. Considerando o crescente número de submissões à RBME, artigos serão também avaliados quanto à sua relevância no que tange à contribuição para o conhecimento específico na área. Assim, artigos com adequação metodológica e resultados condizentes poderão não ser aceitos para publicação quando julgados como de baixa relevância pelos Editores. Tal decisão de recusa não estará sujeita a recurso ou contestação por parte dos autores. Os artigos aceitos para publicação poderão sofrer revisões editoriais para facilitar sua clareza e entendimento sem alterar seu conteúdo.

CORREÇÃO DE PROVAS GRÁFICAS

Logo que prontas, as provas gráficas (layout) em formato eletrônico serão enviadas, por e-mail, para o autor responsável pelo artigo. Os autores deverão devolver, também por e-mail, a prova gráfica (layout) com as devidas correções em, no máximo, 48 horas após o seu recebimento. O envio e o retorno das provas gráficas por correio eletrônico visa agilizar o processo de revisão e posterior publicação das mesmas.

DIREITOS AUTORAIS

Todas as declarações publicadas nos artigos são de inteira responsabilidade dos autores. Entretanto, todo material publicado torna-se propriedade da SBME, que passa a reservar os direitos autorais. Portanto, nenhum material publicado na RBME poderá ser reproduzido sem a permissão por escrito da SBME. Todos os autores de artigos submetidos à RBME deverão assinar um Termo de Transferência de Direitos Autorais (a seguir), que entrará em vigor a partir da data de aceite do trabalho. O autor responsável pelo artigo receberá, sem custos, a separata eletrônica da publicação (em formato PDF).

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Revista Brasileira de Medicina do Esporte – SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO EXERCÍCIO E DO ESPORTE – Avenida Brigadeiro Luis Antônio, 278 – 6º andar – 01318-901 – São Paulo, SP – Tel./fax: (11) 3106 7544 / Fax: (11) 3106 8611 – E-mail: sbme@medicinadoesporte.org.br

Forma e preparação dos manuscritos:

O artigo submetido deve ser digitado em espaço duplo, fonte arial 12, papel tamanho A4 ou ofício, com margens de 2,5cm, sem numerar linhas ou parágrafos, e numerando as páginas no canto superior direito. Gráficos e tabelas devem ser apresentados no final do artigo em páginas separadas, assim como as legendas das figuras. As figuras devem ser incluídas em arquivos individuais. No corpo do texto deve-se informar os locais para inserção dos gráficos, tabelas ou figuras. Os manuscritos que não estiverem de acordo com as instruções a seguir em relação ao estilo e formato serão devolvidos sem revisão pelo Conselho Editorial.

FORMATO DOS ARQUIVOS

- Para o texto, usar editor de texto do tipo Microsoft Word para Windows ou equivalente
- Não enviar arquivos em formato PDF • As figuras deverão estar nos formatos jpg ou tif. Deverão estar incluídas no arquivo Word, mas também devem ser enviadas separadamente (anexadas durante a submissão do artigo como documento suplementar).

ARTIGO ORIGINAL

Um artigo original deve conter no máximo 30 (trinta) referências e 20 (vinte) páginas incluindo referências, figuras e tabelas, e ser estruturado com os seguintes itens, cada um começando por uma página diferente:

Página título: deve conter (1) o título do artigo, que deve ser objetivo, mas informativo; (2) nomes completos dos autores; áreas de formação dos autores; instituição(ões) de origem, com cidade, estado e país, se fora do Brasil; (3) nome do autor correspondente, com endereço completo e e-mail. A titulação dos autores não deve ser incluída.

Resumo: deve conter (1) o resumo em português, com não mais do que 300 palavras, estruturado de forma a conter: introdução e objetivo, métodos, resultados e conclusão; (2) três a cinco palavras-chave, que não constem no título do artigo. Usar obrigatoriamente termos do *Medical Subject Headings, do Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>); (3) o resumo em inglês (abstract), representando a versão do resumo para a língua inglesa; (4) três a cinco palavras-chave em inglês (keywords).

Introdução: deve conter (1) justificativa objetiva para o estudo, com referências pertinentes ao assunto, sem realizar uma revisão extensa; (2) objetivo do artigo.

Métodos: deve conter (1) descrição clara da amostra utilizada; (2) termo de consentimento para estudos experimentais envolvendo humanos; (3) identificação dos métodos, aparelhos (fabricantes e endereço entre parênteses) e procedimentos utilizados de modo suficientemente

detalhado, de forma a permitir a reprodução dos resultados pelos leitores; (4) descrição breve e referências de métodos publicados, mas não amplamente conhecidos; (5) descrição de métodos novos ou modificados; (6) quando pertinente, incluir a análise estatística utilizada, bem como os programas utilizados. No texto, números menores que 10 são escritos por extenso, enquanto que números de 10 em diante são expressos em algarismos arábicos.

Resultados: deve conter (1) apresentação dos resultados em sequência lógica, em forma de texto, tabelas e ilustrações; evitar repetição excessiva de dados em tabelas ou ilustrações e no texto; (2) enfatizar somente observações importantes.

Discussão: deve conter (1) ênfase nos aspectos originais e importantes do estudo, evitando repetir em detalhes dados já apresentados na Introdução e nos Resultados; (2) relevância e limitações dos achados, confrontando com os dados da literatura, incluindo implicações para futuros estudos; (3) ligação das conclusões com os objetivos do estudo; (4) conclusões que podem ser tiradas a partir do estudo; recomendações podem ser incluídas, quando relevantes.

Agradecimentos: deve conter (1) contribuições que justificam agradecimentos, mas não autoria; (2) fontes de financiamento e apoio de uma forma geral. Referências: as referências bibliográficas devem ser numeradas na sequência em que aparecem no texto, em formato sobrescrito entre parênteses. As referências citadas somente em legendas de tabelas ou figuras devem ser numeradas de acordo com uma sequência estabelecida pela primeira menção da tabela ou da figura no texto.

O estilo das referências bibliográficas deve seguir as regras do *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Ann Intern Med 1997;126:36-47; <http://www.icmje.org>)*. Alguns exemplos mais comuns são mostrados abaixo. Para os casos não mostrados aqui, consultar a referência acima. Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o *Index Medicus (List of Journals Indexed: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>)*. Se o periódico não constar dessa lista, deve-se utilizar a abreviatura sugerida pelo próprio periódico. Deve-se evitar utilizar "comunicações pessoais" ou "observações não publicadas" como referências. Um resumo apresentado deve ser utilizado somente se for a única fonte de informação.

Exemplos:

1) Artigo padrão em periódico (deve-se listar todos os autores; se o número ultrapassar seis, colocar os seis primeiros, seguidos por et al): You CH, Lee KY, Chey RY, Mrnguy R. Electrocardiographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-4. Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Lai LY, et al. Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet* 1989;1:352-5.

2) Autor institucional: The Royal Marsden Hospital Bone-Marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.

3) Livro com autor(es) responsáveis por todo o conteúdo: Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment. 2 nd rev. ed. London: S. Paul, 1986.

4) Livro com editor(es) como autor(es): Diener HC, Wilkinson M, editors. Drug-induced headache. New York: Springer-Verlag, 1988.

5) Capítulo de livro: Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974;457-72.

TABELAS

As tabelas devem ser elaboradas em espaço 1,5, devendo ser planejadas para ter como largura uma (8,7cm) ou duas colunas (18cm). Cada tabela deve possuir um título sucinto; itens explicativos devem estar ao pé da tabela. A tabela deve conter médias e medidas de dispersão (DP, EPM etc.), não devendo conter casas decimais irrelevantes. As abreviaturas devem estar de acordo com as utilizadas no texto e nas figuras. Os códigos de identificação de itens da tabela devem estar listados na ordem de surgimento no sentido horizontal e devem ser identificados pelos símbolos padrão.

FIGURAS

Serão aceitas fotos ou figuras em preto-e-branco. Figuras coloridas poderão ser publicadas quando forem essenciais para o conteúdo científico do artigo. Nestes casos, os custos serão arcados pelos autores. Para detalhes sobre ilustrações coloridas, solicitamos contactar diretamente a Atha Editora (atharbme@uol.com.br). Figuras coloridas poderão ser incluídas na versão eletrônica do artigo sem custo adicional para os autores. Os desenhos das figuras devem ser consistentes e tão simples quanto possível. Não utilizar tons de cinza. Todas as linhas devem ser sólidas. Para gráficos de barra, por exemplo, utilizar barras brancas, pretas, com linhas diagonais nas duas direções, linhas em xadrez, linhas horizontais e verticais. A RBME desestimula fortemente o envio de fotografias de equipamentos e animais. As figuras devem ser impressas com bom contraste e largura de uma coluna (8,7cm) no total. Utilizar fontes de no mínimo 10 pontos para letras, números e símbolos, com espaçamento e alinhamento adequados. Quando a figura representar uma radiografia ou fotografia sugerimos incluir a escala de tamanho quando pertinente.

ARTIGOS DE REVISÃO

Os artigos de revisão são habitualmente encomendados pelo Editor a autores com experiência comprovada na área. Artigos de revisão deverão abordar temas específicos com o objetivo de atualizar os menos familiarizados com assuntos, tópicos ou questões específicas nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido e o comprovado destaque dos autores na área específica abordada. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O artigo de revisão deve ter, no máximo, 30 (trinta) páginas e 100 (cem) referências.

REVISÃO SISTEMÁTICA

A RBME encoraja os autores a submeterem artigos de revisão sistemática da literatura nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido, o procedimento de busca e os critérios para inclusão dos artigos. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa

do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O artigo de revisão sistemática deve ter, no máximo, 30 (trinta) páginas e 100 (cem) referências.

META-ANÁLISE

A RBME encoraja os autores a submeterem artigos de análise meta-analítica nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido, o procedimento de busca de artigos, os critérios para inclusão dos artigos e o tratamento estatístico utilizado. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O artigo de meta-análise deve ter, no máximo, 30 (trinta) páginas e 100 (cem) referências.

ARTIGOS DE OPINIÃO

Serão encomendados pelo Conselho Editorial a indivíduos de notório saber nas áreas de Medicina do Exercício e do Esporte e das Ciências do Esporte, que emitirão sua opinião pessoal sobre assuntos de particular interesse. O artigo de opinião deve ter, no máximo, 20 (vinte) páginas e 20 (vinte) referências.

RELATOS DE EXPERIÊNCIA

A RBME estimula profissionais que possuam uma experiência relevante em algum aspecto especial, original ou inovador em Medicina do Exercício e do Esporte ou das Ciências do Esporte a partilhá-la, sob a forma de um Relato de Experiência. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O relato de experiência deve ter, no máximo, 15 (quinze) páginas e 15 (quinze) referências.

RELATO DE CASO

A RBME pode aceitar artigos de relato de caso, descrevendo casos clínicos específicos que tragam informações relevantes e ilustrativas sobre diagnóstico ou tratamento de um caso particular que seja raro na Medicina do Exercício e do Esporte. Os artigos devem ser objetivos e precisos, contendo os seguintes itens: 1) Um Resumo e um Abstract contendo as implicações clínicas; 2) Uma Introdução com comentários sobre o problema clínico que será abordado, utilizando o caso como exemplo. É importante documentar a concordância do paciente em utilizar os seus dados clínicos; 3) Um Relato objetivo contendo a história, o exame físico e os achados de exames complementares, bem como o tratamento e o acompanhamento; 4) Uma Discussão explicando em detalhes as implicações clínicas do caso em questão, e confrontando com dados da literatura, incluindo casos semelhantes relatados na literatura; 5) Referências bibliográficas. O relato de caso deve ter, no máximo, 20 (vinte) páginas e 30 (trinta) referências.

CARTA AO EDITOR

Cartas endereçadas ao Editor-Chefe da RBME serão consideradas para publicação se promoverem discussão intelectual sobre um determinado artigo recentemente publicado. As

cartas devem conter um título informativo e seguir as instruções acima para publicação. As cartas devem ter não mais do que 500 palavras. Se aceita, uma cópia será enviada ao autor do artigo original que suscitou a discussão, com um convite para submeter uma réplica que será publicada junto com a carta.

LIVROS PARA REVISÃO

A RBME estimula as editoras a submeterem livros para apreciação pelo Conselho Editorial. Devem ser enviadas duas cópias do livro ao Editor-Chefe (vide o endereço acima), as quais não serão devolvidas. O envio dos livros não garante a sua apreciação. Contudo, os livros recebidos e não apreciados serão listados no último número de cada ano da Revista. Os livros selecionados para apreciação serão encaminhados para revisores com experiência e competência profissional na respectiva área do livro, cujos pareceres deverão ser emitidos em até três meses e poderão ser adaptados pelos Editores da Revista, sem qualquer interferência das editoras dos livros apreciados. O resultado da apreciação será publicado na Revista juntamente com as informações editoriais do livro.

Envio de manuscritos

Todos os artigos deverão ser submetidos diretamente no site <http://submission.scielo.br/index.php/rbme>. Na submissão eletrônica do artigo, os autores deverão anexar como Documento Suplementar:

- Termo de Divulgação de Potencial Conflito de Interesses
- Termo de Transferência de Direitos Autorais (a seguir) Não serão aceitas submissões por e-mail, correios ou quaisquer outras vias que não a submissão eletrônica no site supramencionado.

ANEXO F – Comprovante de envio do artigo a Revista Brasileira de Medicina do Esporte



#RBME-1319 Interferência da L-Arginina e do exercício físico sobre a morfologia do músculo estriado esquelético em ratos jovens

Submissão

Autores	Maria Patricia Pereira Melo, Anna Carolina de Sena e Vasconcelos, Heloisa Mirelle Costa Monteiro, Patrícia Clara Pereira dos Santos, Ângela Amâncio dos Santos, Luciana Maria Silva de Seixas Maia, Liriane Baratella Evêncio
Título	Interferência da L-Arginina e do exercício físico sobre a morfologia do músculo estriado esquelético em ratos jovens
Documento original	RBME-1319-90174-452442-4-SM.DOCX 2012-05-04
Docs. sup.	RBME-1319-90174-452457-1-SP.DOCX INCLUIR DOCUMENTO SUPLEMENTAR 2012-05-04
Submetido por	Srta Maria Patricia Pereira Melo
Data de submissão	maio 4, 2012 - 08:42
Seção	Outras - Artigo Original
Editor	Nenhum(a) designado(a)

Situação

Situação	Aguardando designação
Iniciado	2012-05-04
Última alteração	2012-05-04

ANEXO G – Normas e instruções aos autores do Journal of Bone and Mineral Research

TYPES OF MANUSCRIPTS PUBLISHED

Original

The primary material published in the *JBMR* is original research describing regulatory factors and pathways, genetics or epidemiology related to the physiology and pathophysiology of bone, cartilage and mineral homeostasis. Original articles should be kept to within approximately 24 double-spaced pages of 12-point Times Roman text, including the text of the manuscript, references, figure legends, and tables. This is equivalent to approximately 8 pages in the Journal.

Articles

Clinical

Clinical trials are original research studies that answer specific questions about novel therapies or new uses of established therapeutic agents. *JBMR* will consider manuscripts in this category for all phases of clinical trials. Manuscripts reporting clinical trials should be kept to within approximately 24 double-spaced pages of 12-point Times Roman text, including the text of the manuscript, references, figure legends, and tables. This is equivalent to approximately 8 pages in the Journal. Authors submitting manuscripts that report clinical trials, please note that the *JBMR* has special requirements for such manuscripts. See “Clinical Trials” in the **Policies** section of Information for Authors.

Trials

Short

Short Reports are brief descriptions of a focused study, the subject of which is especially timely or of high impact in the field of bone and mineral research. Such communications should succinctly describe a particular result in 1,500-1,800 words (12-point Times Roman) and include no more than two supporting figures or tables and 20 references. Short Reports are subject to full peer review.

Reports

Case

Reports

&

Clinical

Vignettes

Case reports and clinical vignettes are discrete articles that provide highly significant insight into the pathophysiology of disorders of bone and mineral metabolism and/or highlight practical diagnostic / therapeutic considerations.

Letters

to

the

Editor

Letters to the Editor concern timely and important issues raised in articles previously published fielding the *JBMR*. All Letters are forwarded to the authors of the original article following an initial editorial review in order to provide an opportunity for a response to appear along with the submitted letter. Note that the *JBMR* only considers Letters to the Editor that are primarily about papers previously published in the Journal. Letters should be no more than 900 words (12-point Times Roman).

Reviews

and

Mini-Reviews

(Perspectives)

The *JBMR* publishes reviews and mini-reviews on topics selected by the editors. Full Reviews are approximately 6,000 words in length and Mini-Reviews (Perspectives) are approximately 2,800 words. Unsolicited reviews are rarely published. Authors should not submit reviews or perspectives without first contacting the ASBMR publications office.

Commentaries

Commentaries are manuscripts of 500 or fewer words (12-point Times Roman) that reflect on an article or articles published in the *JBMR*. One figure may be included. Commentaries are invited by the editors and unsolicited commentaries are rarely published in the Journal. Authors should not submit commentaries without first contacting the JBMR Editorial Office (email: jbmroffice@wiley.com).

EDITORIAL POLICIES

Copyright

The *JBMR* is the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR), which holds copyright to all material published in the Journal except as noted in the Author Agreement.

Duplicate/Redundant

Publication

The corresponding author is responsible for ensuring that the manuscript – including all data, figures, tables and supplementary materials – has not been previously reported or published. Further, it is the responsibility of the corresponding author to ensure that the manuscript has not been, and will not be, submitted to another journal while under review by the *JBMR*.

If any authors involved are aware of any related manuscript or other report, published or unpublished (e.g. another manuscript resulting from the same study), a copy of the related material must be sent along with the manuscript that is being submitted for publication in *JBMR*. Publication of preliminary data in the form of a meeting abstract is not considered duplicate publication unless the abstract exceeds two pages in length or is cited in PubMed.

Authorship and Acknowledgement of Contributors

The *JBMR* has adopted the requirements for authorship and acknowledgement of contributors recommended by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, April 2010 update. All manuscripts submitted to the *JBMR* must adhere to the following requirements with regard to listing of authors and acknowledgement of contributors:

- Those listed as authors must have each 1) made substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) participated in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content; and 3) approved the final version of the submitted manuscript.

- All individuals who meet conditions 1, 2, and 3 must be listed as authors of the submitted manuscript.

- The respective roles of each author must be summarized in the Acknowledgements section of the manuscript.

- One or more of the authors must accept responsibility for the integrity of the data analysis and that author/those authors must be identified as such in the Acknowledgements section of the manuscript.

- All persons who have made substantial contributions to the work reported in the manuscript (e.g., data collection, analysis, writing or editing assistance) but who do not fulfill the requirements for authorship specified above must be named, with their specific contributions, in the Acknowledgements section of the manuscript.

- The authors must obtain the permission of all those who are identified in the Acknowledgements section of the manuscript.

- One author will serve as the primary correspondent (corresponding author) for the manuscript; the corresponding author is responsible for transmitting the editors' comments to his or her co-authors.

Authors should note that the *JBMR* has adopted the following statement of policy based on a similar statement in the Information for Authors of the *Annals of Internal Medicine*:

Medical writers and pharmaceutical industry employees can be legitimate contributors to a manuscript. It is, however, particularly important that the roles, affiliations, and any potential conflicts of interest of all such contributors be included in the Acknowledgments section of the manuscript when it is submitted to the *JBMR*. The editors consider that failure to acknowledge such contributors constitutes ghost authorship, which is contrary to the editorial policy of the *JBMR*.

Disclosures/Conflict of Interest

Every paper published in the *JBMR* includes a "Disclosures" section. All authors must disclose all financial relationships with any organization or other entity that might be perceived to have influenced the objectivity or integrity of the work being reported in the manuscript. These disclosures must cover the 36-month period prior to submission of the manuscript to the *JBMR*. Such relationships include employment, research funding, income (e.g., fees for consulting, expert testimony, or speaking), or ownership interests (e.g., stock, patents) in or from an organization that may gain or lose financially from the work being submitted for publication. Disclosures must be included at the time the manuscript is initially submitted to the *JBMR*.

For details, please see the *JBMR* "[Author Guide to Conflict of Interest and Other Disclosures](#)," which is the final section of this document. Authors should read this guide before submitting a manuscript to the Journal.

Clinical Trials

Clinical trials submitted for publication in the *JBMR* must conform to the "Principles for Protecting Integrity in the Conduct and Reporting of Clinical Trials" published by the American Association of Medical Colleges (AAMC). The AAMC "Principles" are available in PDF from the following page on the AAMC web site: <https://www.aamc.org/initiatives/clinicalresearch/clinicaltrialsreporting/>

Authors should carefully read the AAMC "Principles" to ensure that their manuscripts are in full compliance, noting in particular the following:

- Authors of clinical trial manuscripts must indicate, in the cover letter, whether the study has conformed to a pre-specified analysis.
- Authors of clinical trial manuscripts must agree to provide the protocol and pre-specified analysis plan, along with amendments to and deviations from the plan, if requested by the *JBMR* editors.
- Any study for which recruiting started on or after January 1, 2006, must have been registered at ClinicalTrials.gov (see www.clinicaltrials.gov). Registration must include the minimum amount of trial information as defined by the World Health Organizations (WHO) Trial Registration Data Set (see www.who.int/ictcp/network/trds/en/index.html)

Human Subjects/Declaration of Helsinki

Research carried out with human subjects must comply with the World Medical Association Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. A statement to this effect must appear in the Methods section of the manuscript, including the

name of the body that gave approval. Identifying information of human subjects within written descriptions, photographs, or pedigrees should not be published. Additionally, clinical research studies must be registered with the appropriate national body. (See www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/17c.pdf).

Use of Animals in Research

In order to be considered for publication in the *JBMR*, research carried out on living, non-human subjects must be in compliance with the guiding principles in the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition*, ISBN-10: 0-309-15396-4 (see www.nap.edu/catalog.php?record_id=12910). Approval by the appropriate institutional animal care and oversight committee must be indicated in the Methods.

Availability/Disclosure of Materials and Methods and Author Access to Data

Authors of papers submitted to the *JBMR* must make materials and methods (e.g. cell lines, hybridomas, DNA clones, antibodies, biological reagents, and animal models) described in articles published in the *JBMR* available to scientists in non-commercial institutions for purposes of replicating reported studies. Additionally, any original nucleotide/amino acid sequence data presented in a manuscript must be submitted to GenBank (see www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/index.html) by the authors, and the accession numbers must be included with the submitted manuscript.

Authors must disclose any restrictions on availability of materials, including experimental animals, used in the study and provide information on how other researchers may obtain these materials. Examples: Requests for material x [or animal x] should be addressed to [contact information] or The authors do not have permission for access to material x [or animal x] and requests for access should be directed to [contact information].

In addition, authors must disclose any restrictions on access to raw data or statistical analyses.

Plagiarism and Image Integrity

The *JBMR* now utilizes Ithenticate to check submitted manuscripts to ensure that the text has not been plagiarized. Figures will also be scrutinized by the editors to ensure that images have not been inappropriately manipulated.

Scientific Misconduct

If an author violates any of the *JBMR*'s policies described above, the Editors may reject the manuscript, impose a moratorium on the consideration of new manuscripts from the authors, or issue a statement of concern or retract an already-published article. In addition, the Editors may contact the Office of Research Integrity or an official at the authors' home institution.

Author Agreement

The *JBMR* requires that all authors sign the Journal's **Author Agreement**. For employees of the US National Institutes of Health (NIH), the *JBMR* will accept the NIH Publishing Agreement in lieu of the standard *JBMR* Author Agreement.

NIH Public Access Policy Compliance

For authors who indicate during the submission process that their work was funded by the US National Institutes of Health (NIH), the *JBMR* will post the accepted version of articles to PubMed Central upon publication. The accepted version is the version that incorporates all amendments made during peer review, but prior to the publisher's copy-editing and typesetting. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. The NIH mandate applies to all articles based on research that has been wholly or partially funded by the NIH and that are accepted for publication on or after April 7, 2008.

PREPARATION AND SUBMISSION OF MANUSCRIPTS TO THE *JBMR*

This section presents detailed instructions on how to prepare and submit a manuscript to the *JBMR*. Questions may be addressed to the *JBMR* Editorial Office (email: jbmroffice@wiley.com).

Manuscript

Categories

Manuscripts must be submitted to the *JBMR* via the Journal's online submission system by a single corresponding author (submit manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/asbmr>). Only the designated corresponding author will be able to view the submission's status or make changes to the manuscript; if you change the corresponding author during submission, the manuscript will be removed from your account and placed into theirs. There can be only one corresponding author per manuscript.

JBMR asks authors to classify their manuscript at the time of submission as Basic, Clinical, or Translational:

- Basic: a study limited to in vitro studies of cell biology, molecular biology, etc..
- Clinical: a study with the major component of the work involving human subjects, even if some parts of the study involve laboratory tests including genotyping, pathology, etc..
- Translational: any study involving predominantly animal models or where the laboratory and clinical aspects of a human study are of approximately equal weight.

Manuscripts submitted to the *JBMR* must be as *DOC* or *DOCX* files and figures must be *TIF* or *EPS* files.

Manuscript

Details

Your manuscript must be submitted as a *DOC* or *DOCX* file, and should be formatted in 12-point, Times New Roman font, doubled-spaced with 1-inch margins. The manuscript file may include tables and figure legends. Figures must be submitted separately. All manuscript pages must be numbered consecutively in the bottom right-hand corner, including references, tables, and figure legends.

Nomenclature

Abbreviations and nomenclature must follow the recommendations of the *International Union of Pure and Applied Chemistry* and the *International Union of Biochemistry*. Use of the International system of Units (SI units) is required; include appropriate conversion factors to aid the reader where appropriate. Drug names should always be generic.

Papers on or that make use of bone histomorphometry must use the nomenclature, symbols, and units described in:

Parfitt, A M, Drezner, M K, Glorieux, F H, Kanis, J A, Malluche, H, Meunier, P J, Ott, S M, Recker, R R. Bone Histomorphometry : Standardization of Nomenclature, Symbols, and Units: Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee, *J Bone Miner Res.* 1987;6: 595–610. (Free full text available from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbmr.5650020617/pdf>).

Papers on or that make use of of micro-computed tomography (μ CT) derived bone morphometry and density measurements must cite and use the nomenclature, symbols, and units described in:

Bouxsein, M L, Boyd, S K, Christiansen, B A, Guldberg, R E, Jepsen, K J Müller, R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Miner Res.* 2010;25: 1468–1486. (Free full text available from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbmr.141/full>).

Papers on tumor necrosis factor (TNF) must use the nomenclature described in:

Proposed Standard Nomenclature for New Tumor Necrosis Factor Family Members Involved in the Regulation of Bone Resorption. 2000; J Bone Miner Res. 15: 2293–2296. (Free full text available from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1359/jbmr.2000.15.12.2293/full>).

Figures

Figures must be submitted as TIF or EPS files, preferably consolidated within a single file. The *JBMR* cannot accept figures in PDF, PPT or PPTX formats because the quality of print reproduction of figures in these formats is poor. Manuscripts should contain no more than 7 primary figures. Tables do not count against this limit.

Supplemental

material

Supplemental material must be uploaded separately from the manuscript and figures. Supplemental material will be available only in the online versions of article. Unless specifically requested by the editors during the review process, supplemental must be submitted along with the manuscript and not after the peer review process has begun or has been completed.

At the end of a successful submission the corresponding author will be required to view and approve your manuscript, at which point this author will receive an email assigning the submission a manuscript number. Make note of this number so it can easily be referenced on forms and in any communications between the authors and the editors or the ASBMR publications office.

ORGANIZATION AND FORMAT OF MANUSCRIPTS

The order of manuscript elements is as follows:

- Cover Letter
- Title Page
- Disclosure Page
- Abstracts
- Introduction
- Materials and Methods
- Results
- Discussion
- Acknowledgements
- References
- Figure Legends
- Tables
- Figures
- Supplemental Data

Descriptions of each manuscript element are provided below.

Cover

Letter

The cover letter should briefly outline the major findings of the study and the potential significance of these findings in the fields of bone and mineral research. Additionally, the authors may elect to indicate suggested reviewers in their letter, along with any reviewers to whom they might be opposed. Although these requests will be taken under consideration, the *JBMR* editors reserve the right to select any reviewer deemed appropriate by our editorial staff to ensure a timely and accurate peer review.

Title

Page

The title page must include the title, names of the authors (in appropriate order) and their major degrees, and affiliations and grant supporters. An address for reprint requests, as well as the corresponding author's telephone number and email address, must also be provided.

Finally, this page must indicate if any supplemental data has been included with the submission. Note that the *JBMR* does not ordinarily allow the names of co-authors to be added once a manuscript is in peer review or after acceptance.

Important: All those listed as authors must meet the requirements specified in the “Authorship” section under “Policies,” above. All those who qualify for authorship must be listed.

Disclosure

Page

Immediately following the title page, all authors must disclose any financial relationships in the 36 months prior to submission of the manuscript with any organization or other entity that might be perceived to have influenced the objectivity or integrity of the work being reported. Such relationships include employment, research funding, income (e.g., fees for consulting, expert testimony, or speaking), or ownership interests (e.g., stock, patents) in or from an organization that may gain or lose financially from the work being submitted for publication. Disclosures must be included at the time the manuscript is initially submitted to the *JBMR*.

For details, please see the *JBMR* “Author Guide to Conflict of Interest and Other Disclosures,” which is the final section of this document. Authors should read this guide before submitting a manuscript to the Journal.

If none of the authors have financial disclosures, authors must include the following statement in disclosure section of the manuscript: “All authors state that they have no conflicts of interest.”

In addition, authors must disclose all restrictions on full access for all authors to all raw data, statistical analyses, and material used in the study reported in manuscripts submitted to the *JBMR*. For details, please see “**Availability/Disclosure of Materials and Methods and Author Access to Data**”.

Abstract

An abstract that briefly summarizes the major findings of the study must be included. It must be unstructured (i.e. there should not be introduction, methods, results sections, etc.), self-explanatory (i.e., completely understandable without reference to the text of the manuscript), and must not exceed 300 words. Five key words should be listed at the bottom of the Abstracts page.

Introduction

This section should concisely review the rationale for the study and identify what issues were to be addressed. Background information directly pertaining to and necessary for the understanding of, the study should also be included. This should clearly place the article within the area being studied and should not describe the outcome of the study in any detail.

Materials

and

Methods

This section should carefully describe the methods and materials used, including sample size and statistical approaches. It is not necessary to describe commonly used techniques in detail. Unique experiments must be outlined well enough to allow repetition by others, including sequence and source of unique constructs. Any limitation of authors to full data access (blinded, etc.) must be explained. Restrictions on access to materials or experimental animals should be specified (for details, see “**Availability/Disclosure of Materials and Methods and Author Access to Data**”).

Results

This section should succinctly state the results without lengthy discussion or interpretation of individual data. Graphical format is preferable to tabular presentation of data. Data in text or tables should be shown to numbers of significant digits consistent with the accuracy of each individual measurement and biological relevance.

Discussion

Study results should be summarized, though not repeated in detail, to provide context for logical explanations of the reported results and extrapolations or hypotheses drawn from them. The Discussion should conclude by re-stating the major findings of the study in relation to the rationale and aims of the study as outlined in the introduction. A concluding remark regarding wider implications of study findings is expected.

Acknowledgements

Authors must acknowledge all support for the work, including funding, materials, equipment, drugs, technical assistance, etc. Acknowledgements should conform to the requirements detailed above, in the “**Policies/Contributors**” section.

In addition, the *JBMR* requires that each author briefly summarize his or her respective role. Example:

Authors’ roles: Study design: TC and DD. Study conduct: RF. Data collection: AF. Data analysis: RF and AF. Data interpretation: TC, DD, RF, and AF. Drafting manuscript: TC and DD. Revising manuscript content: RF, and AF. Approving final version of manuscript: TC, DD, RF, and AF. RF takes responsibility for the integrity of the data analysis.

For additional examples, please see recent issues of the *JBMR*.

References

Authors are responsible for the accuracy of their references. References must be numbered consecutively in the order they are first mentioned. Place each reference number in parentheses, throughout the text, tables, and legends. Use parenthetical superscripts, as in this example(1). If the same reference is used again, re-use the original number.

In the Reference section of the manuscript, references must be listed in numerical order as they appear in the text. The *JBMR* has adopted the US National Library of Medicine (NLM) reference format as published in Citing Medicine, 2nd Edition (2007). See www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=citmed. Note that the *JBMR* does not limit the number of authors listed in references (i.e., does not support the use of “et al.”).

The popular reference formatting software systems “Reference Manager” and “EndNote” both support the NLM style.

Figure

Legends

A separate list of figure legends must be supplied at the end of the manuscript. These should be brief and not restate information already in the Materials and Methods section. Do not include these legends in the figure files themselves.

Supplemental

Material

Supplemental material may be submitted to accompany an article for online-only publication when there is insufficient space or it is not possible to include the material in print. Supplemental material must be important to the understanding and interpretation of the article and should not repeat material from the submission. All supplemental material must be submitted along with the manuscript. The *JBMR* will not accept supplemental material after an article has been accepted.

Tables

Tables should complement the text without reiterating it. All necessary information should be contained in the caption, and the table itself must be understandable independently from the

text. Tables should not contain color. Provide each table column with an appropriate heading, and indicate clearly any units of measurement in the table. A key should be provided in the caption for any symbols used. Tables may be embedded into the manuscript DOC or DOCX file. Superscript notation using sequential letters to indicate statistical significance (e.g., $342 \pm 14a$) is preferable to the use of non-sequential symbols

Figures

Each figure should consist of no more than 4 panels. Figures should be labeled with Arabic numerals (Figure 1, 2, etc.) and panels labeled with letters (A, B, C). *JBMR* allows the use of videos as primary figures; in order to do so, you must submit a screen capture from the video for use in the printed version of the Journal. The y-axis of graphs should originate at 0 or should show a clear scale break in cases where this would be difficult.

Images presented in figures must adhere to the following policies, adopted from the *Journal of Cell Biology* (see <http://jcb.rupress.org/site/misc/fora.xhtml>):

- No specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced.

- The grouping of images from different parts of the same gel, or from different gels, fields, or exposures must be made explicit by the arrangement of the figure (i.e., using dividing lines) and in the text of the figure legend.

- Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if they are applied to the whole image and as long as they do not obscure, eliminate, or misrepresent any information present in the original, including the background. Non-linear adjustments (e.g., changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

- For a more detailed discussion of image presentation, see Rossner, M. Yamada, K.M. What's in a picture? The temptation of image manipulation. *J Cell Biol.* 2004; 166: 11-15. (free full text available from <http://jcb.rupress.org/content/166/1/11.full>).

Figures must not be embedded into a DOC or PDF file, and figures should not include figure legends. Figures must be submitted in TIF or EPS formats. See the “Digital Expert” web site of the Sheridan Press for information on quality, size, and file types for figures (see <http://dx.sheridan.com/index.html>).

ONLINE

OPEN

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-406241.html>.

If you wish your paper to be OnlineOpen you are required to complete the OnlineOpen payment form available from our website at: <https://onlinelibrary.wiley.com/onlineOpenOrder>. The author's fee for OnlineOpen in *JBMR* is \$3,000 US. OnlineOpen will be activated upon payment and can be ordered at any point prior to, or after, acceptance.

COVER

Authors wishing to submit images for consideration for use on the front cover of the *JBMR* are welcome to do so. Images and questions regarding cover images should be emailed to jbmrrart@yahoo.com.

IMAGES

PUBLICATION FEES

Submission

Fee

The *JBMR* charges a fee of \$50.00 US for all unsolicited submissions with the exception of revised manuscripts, invited reviews and commentaries, and Letters to the Editor.

Page

Fees

Page charges for published manuscripts are \$60 per page up to 8 pages and \$120 per page for the 9th and all subsequent pages. Instructions for payment will be sent to authors along with the proofs. **Invited material is not subject to page fees.**

Color

Figure

and

Image

Fee

The *JBMR* charges \$900.00 US per page of color figures. In many cases, multiple color figures can be fit onto the same page, reducing this charge. Figures must be consistent in all published versions; the *JBMR* does not offer online-only color publication. Instructions for payment will be sent to authors along with the e-proofs of papers accepted for publication. **Invited material is not subject to color charges.**

JBMR AUTHOR GUIDE TO CONFLICT OF INTEREST AND OTHER DISCLOSURES

Every paper published in the *JBMR* includes a “Disclosures” section in which all authors must disclose any financial relationships in the 36 months prior to submission of the manuscript with any organization or other entity that might be perceived to have influenced the objectivity or integrity of the work being reported. These relationships include employment, research funding, income, or ownership interests in or from an organization that may gain or lose financially from the work being submitted for publication. Disclosures must be included at the time the manuscript is initially submitted to the *JBMR*.

Authors should consult the *JBMR* Disclosure Checklist (below) for details on relationships that must be disclosed in manuscripts submitted to the *JBMR*. It is not necessary to submit this form to the *JBMR*. However, the ASBMR Publications Office strongly encourages all authors to carefully review and complete this checklist as a guide to preparing the “Disclosures” section of manuscripts submitted to the Journal.

If any of the authors have financial conflicts to disclose, this information must be included in the “Disclosures” section of the manuscript being submitted, which appears immediately prior to the “Acknowledgements” and “References” sections. Examples of disclosure statement language are as follows:

Author is an employee of company; author is a member of the advisory council for company; author has received speaking fees from company; author has provided expert testimony for company; author owns stock in company; author has received research funding from company.

If none of the authors have financial disclosures, authors must include the following statement in disclosure section of the manuscript: “All authors state that they have no conflicts of interest.”

In addition to financial relationships, authors must disclose any limitations on access to data or other materials critical to the work being reported. For details, see “Availability/Disclosure of Materials and Methods and Author Access to Data”.

ANEXO H – Trabalho científico desenvolvido durante o Mestrado - Apresentação no II Encontro Internacional de Educação Física e Nutrição



CERTIFICADO

Certificamos que o resumo: **INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO E DO AMINOÁCIDO L-ARGININA SOBRE A AVALIAÇÃO PONDERAL CORPORAL E DE ÓRGÃOS DO MEMBRO INFERIOR DE RATOS JOVENS**, autoria de: **MELO, M.P.P., SILVA, T.C.O., MONTEIRO, H.M.C., AMANCIO-DOS SANTOS, A., MAIA, L.M.S.S.** foi apresentado no II Encontro Internacional de Pesquisa em Educação Física e Nutrição realizado no Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão – UFPE.

Vitória de Santo Antão, 30 de Setembro de 2011


Núcleo de Educação Física e Ciências
do Esporte - CAV


Diretoria do CAV


Núcleo de Pesquisa e Extensão
CAV

ANEXO I – Trabalho científico desenvolvido durante o Mestrado - Apresentação no Congresso Luso-Brasileiro de Patologia Experimental

progress to cancer.

Key-words: Anal Intraepithelial Neoplasia (AIN), human papillomavirus, genotyping

CPE-1580a

Histomorphologic Analysis Of The Heart Of Rats Submitted Malnutrition To Different Ages

Nunes, M. J.G¹; Sant'helena, B.R. M²; Macaúbas, T. C³; Da Costa, C.P⁴; Pontes-Filho, N.T³

¹ Master student from Programa de Pós-Graduação em Patologia/UFPE/CCF

² Programa de Pós-Graduação em Farmacologia/UFPE, Brazil

³ Departamento de Patologia – CCF/UFPE, Brazil

⁴ Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFPE, Brazil

Background: The normal function of an organ or of a system depends of adequate nutrients intake. As several organs, the heart is affected by nutritional depletion, suffering morphological, morphometric and biochemical changes, that can modify its performance. **Objective:** Evaluate the morphological and histological changes of heart obtained from rats malnourished during development. **Methodology:** We used Wistar rats (n=20) separated in 2 groups: i) control group (CG, n=10), fed with standard diet Labina®; and ii) malnourished group (MG, n=10), submitted to a multideficient diet from weaning to 5 months of age. Both groups were sacrificed at 3 months of age (CG, n=5; MG, n=5) or at 5 months of age (CG, n=5; MG, n=5). The body weight gain was evaluated during this period. The histological analysis was performed in transversal sections of ventricles stained with Hematoxylin-Eosin (HE) and Picrosirius Red. The morphological data was assessed by the ventricles wet weight/body weight ratio. **Results:** At the both ages, the MG group presented lower body weight than CG rats, nevertheless, the ventricle wet weight/body weight ratio was greater in MG group, which indicates a greater reduction in body weight gain in relation to ventricles weight gain. Among the histological findings, we observed vacuolization, pyknosis and myolysis in the cardiomyocytes from 3 and 5 months age rats from MG group. However, the changes were more intense in 5 months age rats: i) the cardiac fiber arrangement was more loose and disorganized; and ii) there were interstitial fibrosis areas replacing the injured heart tissue, indicating repair process. **Conclusion:** The results revealed that multifactorial malnutrition interfered in cardiac organogenesis during post-weaning development, leading to histomorphological changes, that could contribute to decrease cardiac performance in adulthood.

Key-words: malnutrition, heart, rat

CPE-1581

Effects of amino acid L-Arginine and physical exercise on skeletal muscle of young rats

Melo, M.P.P¹; Vasconcelos, A.C.S¹; Monteiro, H.M.C¹; Amancio-Dos-Santos, A¹; Barstella-Evêncio, L¹; Maia, L.M.S.S¹

¹ Federal University of Pernambuco, Brazil

Background: Physical exercise can promote many adaptations in skeletal muscles. In addition, the amino acid L-Arginine is related to improvement in exercise performance and in the increasing muscle mass. **Objectives:** Evaluate changes in body weight and in the morphometry of skeletal muscle of young animals submitted to administration of L-Arginine and physical exercise during development. **Methodology:** 24 Wistar males rats were divided into four groups according to orogastric administration of L-Arginine (300 mg/kg/dia) and physical exercise: L-Arginine-Exercise (ArE, n=6), L-Arginine-Sedentary (ArS, n=6), Water-Exercise (WE, n=6) and Water-Sedentary (WS, n=6). L-Arginine (300 mg/kg) and water were administered

by gavage (7-35 days of birth) and exercise (15-35 days of birth) was performed on a treadmill (5 weekly sessions of 30 minutes per 3 weeks). At the age of 35-45 days, animals were weighed and sacrificed. Gastrocnemius muscle was collected, weighed, measured and processed for histology. The sections, stained with haematoxylin and eosin, were captured (Motic) and analyzed (Image J) in order to calculate mean diameter (100x) of gastrocnemius muscle fibers. All parameters were statistically analyzed (Kruskal-Wallis Test; p<0.05). **Results:** The results were expressed as mean±standard deviation. Body weights (g) in the day of sacrifice was 114.05±13.27 for ArE group, 141.11±22.37 for ArS, 126.53±17.25 for WE and 143.95±12.74 for WS. Relative and absolute weights (g) and lengths (cm) were respectively: 0.4881±0.0766, 0.0041±0.0002, 1.93±0.16 for ArE; 0.6859±0.1087, 0.00468±0.0004, 2.13±0.15 for ArS; 0.6110±0.1396, 0.0044±0.0006, 2.28±0.36 for WE; 0.6357±0.0731, 0.0042±0.0003, 2.03±0.12 for WS. Mean Diameter (µm) was 30855±2481 for ArE, 35784±3037 for ArS, 31670±2656 for WE and 28442±6140 for WS. **Conclusions:** According to these results, physical exercise promotes a significant increase of the mean diameter of skeletal muscle fibers. Besides, orogastric administration of L-Arginine leads to muscle hypertrophy independently of exercise. Neither L-Arginine nor exercise influence on muscle weight and length.

Keywords: L-Arginine, exercise; skeletal muscle

CPE-1581a

Effects Of Low Frequency Tens With Electrodes On Acupoints On Cold-Induced Pain

Melo, M.P.M¹; Montenegro, E. J. N¹

¹ Federal University of Pernambuco, Brazil

Background: Pain is an important phenomenon that influences negatively the activities of daily living of an individual. Nowadays, many therapies are used to relieve the pain, especially transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS). **Objective:** The purpose of this study was to evaluate the effect of acupuncture-like TENS (low frequency) on cold-induced pain in healthy subjects, with electrodes located on acupoints TA 5 and CS 6 and the effect of placebo application. **Methodology:** 32 volunteers of both genders, randomly allocated, were divided into 2 groups: TENS with electrodes on acupoints TA 5 and CS 6 (A group) and the sham TENS (P group). In group P, the electrodes were placed on points not related to the induced pain. Firstly, both groups were submitted to hypothermia with cold water (2-40°C) during 20 minutes in order to induce pain. Afterwards, they were subjected to TENS treatment (Electroanalgesy) during 20 minutes. The latency pain threshold of all subjects was measured before, during and after the treatment. These parameters were statistically analyzed (Anova two-way Test; p<0.05). **Results:** The results were expressed as mean±standard error. The latency pain threshold of group A was 25.54 ± 1.93 before, 31.98 ± 4.72 during, 36.29 ± 3.12 after treatment. The latency pain threshold of group P was 31.81 ± 2.54 before, 48.96 ± 6.41 during, 44.92 ± 7.93 after treatment. **Conclusions:** According to these results TENS on acupoints TA 5 e CS 6 promoted a significant increase in the latency pain threshold, during and after the treatment, comparing them with before treatment; consequently it was effective at reducing pain. Furthermore, Placebo is shown to have positive effects on pain relief so it might be used as an adjuvant therapy in treatment of algic processes.

Keywords: acupuncture-like TENS, placebo, acupoints.

CPE-1582

Association between the type of cervical injury and