

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA

Felipe Pereira da Silveira

**Efeito do Exercício Físico sobre a Expressão de microRNAs:
Revisão de Literatura**

Porto Alegre
2015

Felipe Pereira Da Silveira

**Efeito do exercício físico sobre a expressão de microRNAs:
Revisão de Literatura**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Comissão de Graduação do Departamento de Educação Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel em Educação Física.

Orientador: Professor Dr. Alvaro Reischak de Oliveira

Porto Alegre
2015

Felipe Pereira da Silveira

**Efeito do Exercício Físico Sobre a Expressão de microRNAs:
Revisão de Literatura**

Conceito Final:

Aprovado em ____ de _____ de _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. - **Instituição**

Orientador: Prof. Dr. Alvaro Reischak de Oliveira - **UFRGS**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, pelo esforço dedicado à minha educação. Por me apoiarem em minhas decisões, acreditarem em meu potencial e me dar suporte nas situações de dificuldade. Por servir de exemplo, demonstrando todos os dias o a importância de buscar meus objetivos, mas sendo justo aos direitos do próximo. Pelas demonstrações de respeito e amor diárias, pela coerência das suas atitudes. Por manter uma relação de quase 30 anos de casamento, que acompanho a 25 anos, com um respeito e amor inacreditável. Por me darem um irmão que é uma é um reflexo desses valores, criarem um lar, uma família, um ambiente onde qualquer pessoa teria a possibilidade de atingir o máximo do seu potencial. Hoje termino este trabalho e em breve encerro uma fase muito importante para mim, mas que para eles talvez cause felicidade igual ou maior. Não por acharem que minha felicidade passa pela obtenção de um diploma de nível superior, mas por entenderem que antes de me formar como profissional eles me formaram como pessoa. Uma das minhas maiores felicidades atualmente é atingir um nível de maturidade que me permiti ter uma via mútua de ensino/aprendizado com meus heróis, meus exemplos, meus pais.

AGRADECIMENTOS

Em relação à minha trajetória acadêmica gostaria primeiramente de agradecer ao Programa de Educação Tutorial (PET) da Educação Física. Sob tutoria da Professora Janice Zarpellon Mazo, ingressei como um aluno de segundo semestre ambicioso, mas imaturo e inexperiente. Sem dúvidas, o PET foi um dos pontos-chaves na minha formação. Lá fui apresentado a 12 colegas de grupo que tinham objetivos diferentes dos meus, algumas vezes opostos. Aprendemos juntos a discutir respeitando as diferenças de pensamentos, aprendemos a gerir um grupo com suas responsabilidades, aprendemos a planejar e também prestar contas. Tivemos autonomia e descobrimos o peso dessa autonomia. Convivemos do primeiro ao último dia com a questão da indissociabilidade entre ensino, pesquisa e extensão. Organizamos e participamos de eventos, de pesquisas, reuniões e discutimos novamente a indissociabilidade entre ensino, pesquisa e extensão. Sem dúvidas, este aluno que entrou no segundo semestre ao sair dois anos e meio após carregava uma bagagem tão diversa que o subsidiará em toda sua carreira. Por isso hoje queria agradecer primeiramente ao grupo PET Educação Física. Gostaria também de agradecer a Professora Cláudia Silveira Lima, por me aceitar em seu grupo de pesquisa ainda no segundo semestre, assim como os colegas do grupo de pesquisa que me ensinaram muito. Ao Professor Alvaro Reischak de Oliveira por abrir as portas do seu grupo de pesquisa, apesar de ter rejeitado minha candidatura à monitoria (tirei B na sua disciplina, risos), e seus bolsistas que me ensinaram muito em suas aulas, experimentos e em nossos debates. Também aos Professores, Adroaldo Gaya, Marco Aurélio Vaz e Ronei Silveira Pinto pela relevância do conteúdo de suas disciplinas na minha formação.

Finalmente, gostaria de agradecer aos meus amigos (nestes incluo os colegas de trabalho e faculdade) e familiares por me proporcionarem um ambiente de lazer e formação pessoal durante esses cinco anos. Com certeza, sem esses momentos eu não seria capaz de atingir meus objetivos.

RESUMO

MicroRNAs são pequenos RNAs não codificantes capazes de modular a expressão gênica em nível pós-transcricional, através de uma ligação ao RNA mensageiro. Desempenham um papel importante em processos como a diferenciação, proliferação e a plasticidade celular. Apresentam expressão tecidual, mas também podem ser encontrados em fluídos como sangue, urina e saliva. São apontados como possíveis biomarcadores e remédios para o tratamento de doenças, tendo em vista a sensibilidade do perfil de expressão a estímulos externos e também do efeito de alteração do perfil na função tecidual. No músculo esquelético, seu papel foi demonstrado em adaptações relacionadas ao uso e desuso. O exercício físico é uma das principais ferramentas não farmacológicas na indução de adaptações, não só teciduais como também sistêmicas. Uma série de estudos *in vitro*, em modelo animal e em humanos demonstra o efeito do exercício físico nos níveis de microRNAs no tecido músculo esquelético. Entretanto, não há consenso sobre os efeitos do exercício físico nos níveis de microRNAs circulantes. Os estudos envolvendo microRNAs circulantes e exercício físico demonstraram alteração em 31 microRNAs diferentes, contudo apenas 3 destes microRNAs foram observados em comum por mais de um estudo, há também divergência na escolha do tempo para avaliação dos microRNAs após o exercício físico. Um dos fatores que dificulta a avaliação dos microRNAs circulantes em resposta ao exercício é sua expressão menor em fluídos do que a encontrada em tecidos, complicando assim a análise de variação. Em conclusão, microRNAs são importantes nos processos de resposta e adaptação do exercícios físico. Entretanto, novos modelos para avaliação de microRNAs circulantes são necessários, levando em consideração a escolha dos microRNAs e também o tempo que são medidos.

ABSTRACT

MicroRNAs are small non-coding RNAs, which modulates gene expression at post-transcriptional level through a binding to the messenger RNA. They play an important role in biological process as differentiation, proliferation and adaptation, being expressed at both: the tissues and body fluids as blood, urine and saliva. Recently, they are being indicated as biomarkers and a target for drug therapies, considering the sensibility of the expression profile and its effect on tissues functions. Physical exercise is one of the most recommended non-pharmacological tool to induce adaptation, not just at tissue level, but also systemic. Several studies in vitro, in animals and in humans have shown the effect of physical exercise on microRNAs expression in the skeletal muscle tissue. However, the effect of physical exercise on circulating microRNAs levels remains unclear. The studies involving circulating microRNAs and exercise presented changes in 31 different microRNAs, but only 3 were observed in common for more than one study. There are also differences between the choices in time to measure the microRNAs after the exercise. One factor that complicates the measurement of circulating microRNAs is the lower expression compared to that from tissues, due to the technique limitation to analyze the changes. In conclusion, microRNAs are important in skeletal muscle process that relate to physical exercise. However, new models for the measurement of microRNAs, mainly circulating, are necessities, considering the microRNAs choice and the time for measurements.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. METODOLOGIA	10
3. REVISÃO DE LITERATURA	10
3.1 MICRORNAS	10
3.2 MICRORNAS E O MÚSCULO ESQUELÉTICO.....	15
3.3 EXERCÍCIO FÍSICO	16
3.4 TREINAMENTO FÍSICO	20
4. DISCUSSÃO	22
5. CONCLUSÃO	28
6. REFERÊNCIAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

MicroRNAs são pequenos RNAs (aproximadamente 22 nucleotídeos) não codificantes capazes de modular a expressão gênica em nível pós-transcricional (Wang *et al.*, 2010). Sua biogênese inicia no núcleo, atingindo a forma madura no citoplasma e é dependente da ação de três complexos proteicos e um transportador. Em sua forma ativa o microRNA se liga a região 3' não traduzido dos RNAs mensageiros (mRNA), inibindo assim sua tradução e a expressão das proteínas relacionadas a este mRNA (Wang *et al.*, 2010; Sharma *et al.*, 2014). Desde o início dos anos 2000 o interesse acerca dos microRNAs tem aumentado. Estudos demonstram sua relevância na diferenciação, proliferação e adaptação celular (Lee, Feinbaum e Ambros, 1993; Reinhart *et al.*, 2000; Sharma *et al.*, 2014). MicroRNAs podem apresentar expressão ubíqua (em todos os tecidos), expressão enriquecida em determinados tecidos (20 vezes maior) e também estão presentes em fluídos (Aoi *et al.*, 2015; Lim *et al.*, 2005; Valadi *et al.*, 2007). O músculo esquelético expressa mais de 300 microRNAs, entretanto 4 destes representam 25% da expressão total do tecido. Estes 4 microRNAs são conhecidos como a família myomiR, sua relevância foi demonstrada durante as fases de desenvolvimento, adaptações ao uso e desuso e também em patologias (Zacharewicz *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2014; Aoi *et al.*, 2015). No músculo esquelético além da expressão tecidual, microRNAs circulantes também desempenham papel importante nas adaptações do tecido músculo esquelético, bem como nos mecanismos de interação com outros tecidos (Karolina *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011)

O exercício físico, em geral, é a uma eficaz estratégia na promoção de adaptações fisiológicas teciduais e também sistêmicas (Xu *et al.*, 2015; Zacharewicz *et al.*, 2013). Uma série de estudos vem demonstrando o papel dos microRNAs nas adaptações do tecido músculo esquelético e as respostas dos níveis de expressão dos microRNAs ao exercício e treinamento físico. Embora, o papel dos microRNAs nas adaptações do tecido tenha sido demonstrado, as alterações na expressão dos microRNAs causadas pelo exercício físico ainda não são claras. Mesmo havendo estudos avaliando a resposta a protocolos de exercício aeróbico (Aoi, 2013) e de força (Uhlemann, 2012; Sawada *et al.*, 2013), sessões (Uhlemann *et al.*, 2012; Banzet *et al.*, 2013) e treinamento (Baggish *et al.*, 2011; Aoi *et al.*, 2013; Nielsen *et al.*, 2014)

e em populações distintas (atletas, não atletas, jovens e idosos) (Baggish *et al.*, 2011; Nielsen *et al.* 2014), um melhor entendimento sobre a respostas dos microRNAs ao exercício e a relevância destas alterações é necessária. Assim, o objetivo deste estudo é revisar as publicações que envolvam microRNAs e exercício físico, enfatizando no efeito do exercícios físico sobre a expressão de microRNAs, os critérios de seleção dos microRNAs avaliados e os tempos de avaliação destes estudos .

2. METODOLOGIA

Este trabalho se caracteriza como uma revisão de literatura. Tem como objetivo analisar a partir de artigos científicos publicados o efeito do exercício e o treinamento físico sobre a expressão de microRNAs. Para isto foi realizada uma busca por artigos científicos mais relevantes na base de dados PubMed. Os artigos selecionados continham a combinação dos termos ("Exercise"[Mesh]) AND "MicroRNAs"[Mesh], que resultou em 63 artigos científicos, com a utilização do filtro estudos em humanos restaram 43 artigos científicos. Após a leitura dos títulos e resumos destes 43 artigos, aqueles que eram originais e tinham como objetivo principal avaliar os efeitos do exercício sobre a expressão de microRNAs em indivíduos livres de doenças foram selecionados. Assim, ao final destas etapas de avaliação de pesquisa literária restaram 10 artigos científicos originais, que serão o objeto principal de análise desta revisão de literatura.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 MICRORNAS

MicroRNAs são pequenos RNAs não codificantes capazes de modular a expressão gênica em nível pós-transcricional. A primeira descrição foi de Lee, Feinbaum e Ambros (1993), que avaliaram diferentes fases do desenvolvimento pós-

embrionário em nematódeos. Os autores relataram a presença de um pequeno RNA (21 nucleotídeos) capaz de reduzir a expressão das proteínas ligada ao mRNA lin-4. Houve, entretanto, uma lacuna na produção de conteúdo relacionado aos microRNAs, interrompida no ano 2000 quando Reinhart *et al.*, descreveram a modulação da tradução do mRNA let-7 por um pequeno RNA, denominado let-7, assim como o mRNA que ele modulava. O estudo também usou o modelo do nematódeo, porém durante o desenvolvimento adulto. No mesmo ano, Pasquinelli *et al.* (2000) mostraram que esses dois pequenos RNAs descritos no nematódeo também são expressos em uma série de outras espécies, incluindo humanos. Um grande número de estudos publicados no início dos anos 2000 proporcionou um melhor entendimento da expressão, mecanismos de ação e de seus efeitos nos organismos vivos. Atualmente, os pequenos RNAs, entre 19-25 nucleotídeos, capazes de modular a expressão de proteínas através de inibição da tradução do mRNA são classificados como microRNAs. Atualmente, estima-se que mais de 2.200 microRNAs sejam expressos do genoma humano e que aproximadamente 90% de nossos genes sejam modulados por microRNAs (Friedman *et al.*, 2009; Guay e Regazzi, 2013).

A figura 1 ilustra genericamente a expressão dos microRNAs. No núcleo uma longa molécula de RNA, o microRNA primário (pri-microRNA), é expressa. O complexo proteico DROSHA se liga ao pri-microRNA e há então uma clivagem que reduz o tamanho da molécula. Com um formato de grampo de cabelos o ácido ribonucleico tem nesse estágio aproximadamente 70 nucleotídeos e é denominada pré-microRNA. Depois de ser transportada através da membrana nuclear ligada ao transportador Exportin-5 o pré-miRNA se liga ao complexo DICER no citoplasma. Uma nova clivagem divide a estrutura, dando origem a duas moléculas com uma fita simples cada (aproximadamente 19-25 nucleotídeos), uma das fitas se ligará ao complexo RISC atingindo a forma ativa do microRNA, enquanto a outra será degradada (Guay e Regazzi, 2013).

Sobre a expressão, microRNAs podem apresentar um perfil ubíquo (expressão em todos os tecidos) como também podem ter perfil enriquecido em determinados tecidos (20 vezes maior que em outros tecidos). Este perfil de expressão dos microRNAs é importante para a especificidade da expressão gênica de cada tecido (Lim *et al.*, 2005). Fluídos como sangue, urina e saliva também

apresentam expressão de microRNAs. Em fluídos os microRNAs são encapsulados em exossomos (Valadi *et al.*, 2007) e microvesículas (Hunter *et al.*, 2008) livres de ribonucleases (RNases), também podem se associar a complexos proteicos como Argonata-2 e HDL (Arroy *et al.*, 2011; Vickers *et al.*, 2011). Além de evitar a degradação dos microRNAs esta forma de transporte na circulação permite a entrega dos microRNAs em outros tecidos. Estudos demonstram inclusive a expressão de microRNAs não expressos no citoplasma da célula de origem, mas que são encontrados em vesículas secretadas na circulação (Valadi *et al.*, 2007).

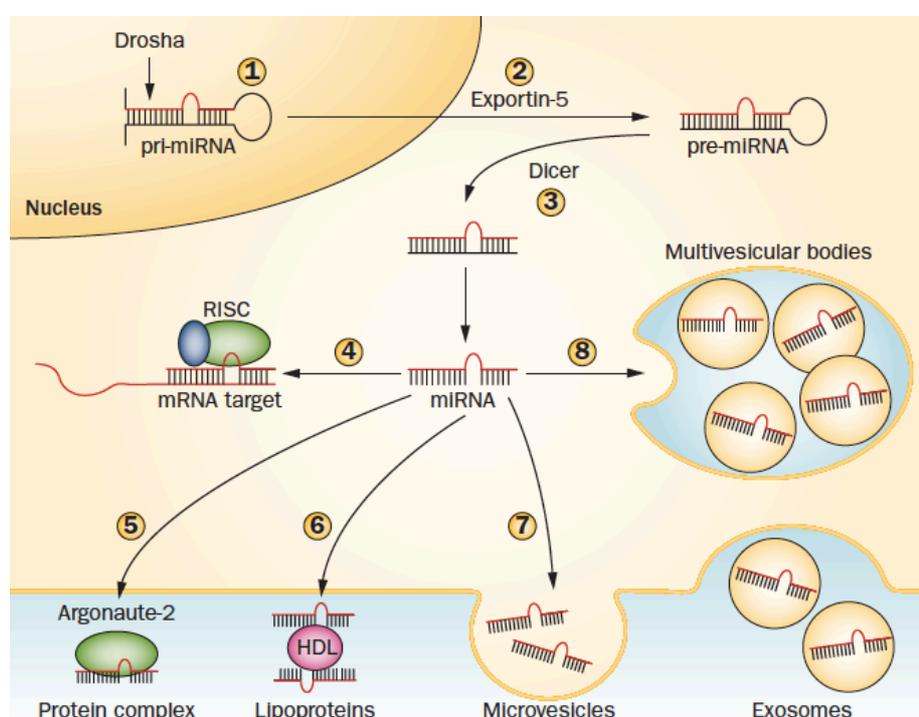


Fig. 1 Expressão de microRNAs. Guay e Regazzi (2013) Biogênese de microRNAs, 1- o microRNA primário (pri-miRNA) é expresso e clivado pelo complexo proteico dando origem ao pré-miRNA Drosha. 2- O transportador Exportin-5 permite a passagem do pré-miRNA através da membrana nuclear. 3 – No citoplasma o complexo proteico Dicer faz uma nova clivagem dividindo a molécula em duas fitas simples. 4. Uma das fitas se associará ao complexo RISC atingindo a forma madura e capaz de modular a expressão gênica do microRNA. 5, 6, 7 e 8 – Alternativamente o microRNA pode ser encapsulado ou associado a complexos proteicos e liberado na circulação.

A partir de agora a descrição microRNA se refere à sua forma ativa (microRNA-RISC). Pouquíssimos genes não são modulados por microRNAs

(Friedman *et al.*, 2009). O mecanismo de ação do microRNA é uma interação entre o seu terminal 5' e o terminal 3' não traduzido do mRNA alvo, interações fora dessa região também ocorrem, porém são menos responsivas (Grimson *et al.*, 2007). A afinidade micro-RNA mRNA alvo é definida principalmente pela estabilização das bases nucleicas da região 2-8 do terminal 5' do microRNA (Figura 2). Os pares se dão em maioria entre 7 bases nucleicas, com uma menor proporção de interações entre 6 e também 8 pares de base (Wang *et al.*, 2010). As pontes de hidrogênio formadas entre os ácidos ribonucleicos normalmente obedecem ao padrão de bases complementares de Watson-Crick (A-T e C-G), com algumas interações U-G (Grimson *et al.*, 2007). Uma ligação parcial do microRNA já é capaz de reduzir a expressão das proteínas relacionadas a este mRNA (Wang *et al.*, 2010). Quanto aos pares, um microRNA é capaz de modular centenas de mRNA, há também mRNA modulados por mais de um microRNA. Entretanto, um microRNA com grande número de mRNAs alvo possui um menor índice de interação do que um microRNA com um menor número de mRNAs alvo (Garcia *et al.*, 2011). Em conclusão, a relação do microRNA com o mRNA é plural, porém segue um comportamento de afinidade dependente da sequência de pares de base, da região de interação e do número de mRNA alvo que o microRNA possui.

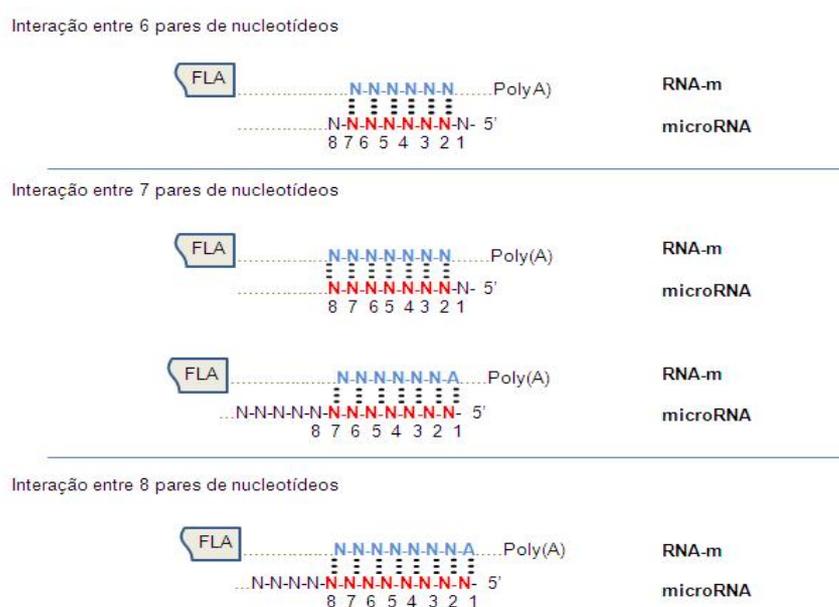


Fig. 2 Interação de pares de bases mRNA e microRNA. Adaptado de Grimson *et al.* (2007). MicroRNAs se ligam ao mRNA alvo através de pareamento entre a região 2-8 do terminal 5' do microRNA e o terminal 3' não traduzido do mRNA. Esta interação pode se dar

entre 6 nucleotídeos (imagem no topo), 7 nucleotídeos (imagem central) e também 8 nucleotídeos (imagem na base). A sequência de pares de base, o número de pares de bases e a região do mRNA que interage com o microRNA determinarão a afinidade entre os ácidos ribonucleicos. Siglas: FLA: Fase de Leitura Aberta / mRNA: RNA mensageiro

O efeito da expressão de um microRNA pode ser medido pela síntese das proteínas produto do mRNA alvo. Além disso, pode haver uma redução na expressão de mRNA e também no número de ribossomos por mRNA (Lim *et al.*, 2005; Guo *et al.*, 2010), devido ao aumento na expressão do microRNA específicos dessa tradução. Além de inibir a ligação com o sítio de tradução a ligação é capaz de degradar o mRNA, sendo sugerido que quase 90% dos efeitos na redução da expressão final de proteínas pode ser explicada pela degradação dos RNAs-m (Guo *et al.*, 2010). Estudos *in vitro* que avaliaram o efeito da superexpressão ou ausência de determinados microRNAs no meio demonstraram sua importância em processos biológicos como fases de desenvolvimento, diferenciação e adaptações ao ambiente. O estudo de Lim *et al.* 2005 demonstrou que a superexpressão de microRNAs que apresentam expressão elevada no cérebro (miR-124) e no músculo estriado (miR-1) a uma cultura de células alterou o perfil de expressão gênica da cultura celular em direção ao dos tecidos de origem de cada microRNA. Demonstrando assim a capacidade de modulação da especificidade da expressão gênica tecidual através dos microRNAs. Estudos *in vivo* demonstram também a alteração do perfil de expressão em condições, onde reconhecidamente ocorrem alterações fisiológicas como o desenvolvimento fetal (Koutsoulidou *et al.*, 2011) e o envelhecimento (Drummond *et al.*, 2010) por exemplo. Clinicamente, os microRNAs, principalmente circulantes, são visto como potenciais biomarcadores e também alvos de terapias farmacológicas no tratamento de doenças. Recentemente, Janssen *et al.* (2013) demonstraram a eficácia de um inibidor do miR-122 no tratamento do vírus da hepatite C, através de um ensaio clínico randomizado em pacientes com hepatite C. Os autores encontraram uma redução no nível de RNA do vírus sem qualquer evidência de resistência viral. Apesar de uma série de estudos em pacientes com doenças como distrofia muscular de Duchenne (Hu *et al.*, 2014), diabetes mellitus tipo II (Zampetaki *et al.*, 2010) e HIV (Thapa *et al.*, 2014) demonstrar diferenças no perfil de expressão circulante de microRNAs dos

pacientes comparados com indivíduos controle, ainda não é possível determinar microRNAs específicos para o diagnóstico de doenças. Desde o primeiro relato de microRNAs muito conhecimento foi produzido acerca de sua relevância científica e da importância nos processos celulares. Atualmente, o foco na relevância clínica dos microRNAs tem crescido, os relatos de sua sensibilidade a alterações fisiológicas e a sua ação moduladora vem aumentando o interesse nestas pequenas moléculas como biomarcadores e alvos no tratamento de doenças.

3.2 MICRORNAS E O MÚSCULO ESQUELÉTICO

No músculo esquelético mais de 300 microRNAs já foram descritos. Destes, quatro (miR-1, miR-133a, miR-133b e miR-206) representam cerca de 25% da expressão total do tecido e são conhecidos como myomiRs (Kirby, Chailou e McCarthey, 2015). Devido a sua alta expressão, estes quatro microRNAs são associados a uma série de processos que ocorrem no músculo esquelético. Uma avaliação do nível de expressão destes quatro microRNAs durante o desenvolvimento fetal humano (12, 14 semanas e recém nascido) demonstrou que os quatro microRNAs tem comportamento semelhante: aumento na expressão ao longo do desenvolvimento (recém nascido > 14 sem. > 12 sem.) (Koutsoulidou *et al.*, 2011). Além disso, a estimulação para diferenciação *in vitro* de células músculo esqueléticas demonstrou que há uma correlação entre a expressão destes quatro microRNAs e o nível de diferenciação celular (Koutsoulidou *et al.*, 2011). McCarthy e Esser (2007) demonstraram que o nível do miR-206 difere entre os músculos sóleo e plantar, os quais apresentam uma diferença no perfil de fibras musculares. Os autores também demonstram que durante uma reposta hipertrófica em músculos estimulados mecanicamente os níveis do miR-1 e miR-133a são reduzidas em 50%. Os microRNAs desempenham papel importante nos processos teciduais, no tecido muscular esquelético os myomiRs merecem atenção especial devido a sua alta expressão no tecido. Estudos com foco nestes microRNAs tem demonstrado sua relevância nas adaptações fisiológicas relacionados ao músculo esquelético.

A análise do perfil de expressão de microRNAs no músculo esquelético demonstra alterações em quadros onde a função do tecido também esta alterada como o desenvolvimento, envelhecimento e em patologias. O estudo de McCarthy *et*

al., (2009) demonstrou que a atrofia muscular causada por imobilização do membro altera o perfil de expressão de microRNAs, no músculo sóleo. Os autores encontraram 18 microRNAs diferentemente expressos após uma semana de imobilização. Em pacientes com laminopatia, doença que apresenta disfunção do músculo estriado, Sylvius *et al.*, (2011) demonstraram que 16 microRNAs são expressos em nível diferente aqueles de pessoas saudáveis. Em idosos, apresentam alto índice de sarcopenia (perda de massa muscular), 19 microRNAs diferiram de adultos (Drummond *et al.*, 2010). Análises de bioinformática demonstram o papel destes microRNAs, em processos de proliferação, diferenciação (Drummond *et al.*, 2010; Sylvius *et al.*, 2011) e reparação do tecido (Sylvius *et al.*, 2011). Além disso, aumentos na demanda metabólica do músculo esquelético promovem adaptações mediadas por microRNAs. Yamamoto *et al.* 2012 demonstraram que o miR-494 regula a biogênese mitocondrial. O metabolismo da glicose também é afetado por microRNAs como demonstrado nos estudo de Karolina *et al.* (2011) e Agarwal *et al.* (2013) que demonstraram a importância dos miR-144 e miR-135a na vias de sinalização de insulina e captação de glicose do músculo esquelético. A interação entre tecidos com o músculo esquelético também é descrita como potencial alvo de ação dos microRNAs. Os miR-29a, -29b e -486 são apontados como responsáveis pela diferenciação debilitada do músculo esquelético e a atrofia em pacientes com doença renal crônica através de modulação na sinalização das vias de síntese e regeneração das proteínas musculares (Wang *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2012). Em conclusão, microRNAs parecem estar envolvidos nas características do músculo esquelético, além disso certos mecanismos de patologias associadas ao músculo esquelético são mediados parcialmente por microRNAs.

3.3 EXERCÍCIO FÍSICO

O exercício físico é reconhecidamente uma potente ferramenta na indução de alterações do músculo esquelético. Entretanto, como em um processo de ação e reação, as respostas se relacionam às demandas propostas. Modalidades distintas de exercício sobrecarregam estruturas diferentes do tecido e, como consequência, promovem respostas distintas. Sabendo do papel dos microRNAs nas respostas

celulares, Russel *et al.* (2013) avaliaram a resposta ao exercício aeróbio (bicicleta ergométrica, 60 min a 70% $VO_{2\text{pico}}$) dos myomiRs e também microRNAs com expressão alterada em miopatias. Três horas após a sessão de exercício os autores encontraram a expressão aumentada de três dos quatro myomiRs avaliados (miR-1, -133a, -133b, mas não -206), aumento da expressão de um (miR-181) e redução da expressão de outros quatro (miR-9, -23a, -23b e -31) microRNAs relacionados a miopatias. Dois myomiRs (miR-1 e miR-133a) também demonstraram expressão aumentada no estudo de Nielsen *et al.* (2010) seguindo uma sessão de exercício aeróbio (bicicleta ergométrica, 60 min a 65% P_{max}). Neste estudo, no entanto, os microRNAs foram avaliados 60 min após a sessão de exercício. Enquanto o exercício aeróbio promove adaptações músculo esqueléticas mais relacionadas ao metabolismo, o exercício de força está relacionado ao processo de regeneração e aumento de proteínas contráteis. O estudo de Drummond *et al.* (2008) comparou a resposta de três myomiRs (miR-1, -133a e -206) de idosos e jovens adultos a um estímulo anabólico por exercício físico e suplementação (treinamento de força mais aminoácidos essenciais). Os autores encontraram uma expressão reduzida do miR-1 três e seis horas após em jovens adultos, mas não em idosos. Entretanto, não houve diferenças na expressão destes microRNAs entre os grupos em repouso, apesar de idosos apresentarem uma maior expressão de pri-microRNA-1 e pri-microRNA-133a. Em conclusão, as respostas de microRNAs no tecido músculo esquelético em resposta ao exercício físico variam e essas variações parecem estar relacionadas não só à modalidade de exercício como também à configuração das variáveis do exercício (volume, intensidade e intervalo) e da população.

O músculo esquelético é um órgão endócrino capaz de induzir respostas em outros tecidos. Apesar de a classificação do músculo como órgão endócrino ser recente o efeito do exercício físico sobre outros tecidos é conhecido a mais tempo. A hipótese de que as respostas de tecidos, além do músculo esquelético, ao exercício poderia ser mediada por microRNAs circulantes induziu uma série de estudos. Baggish *et al.* (2011) avaliaram o efeito de um protocolo progressivo máximo (aumento de carga de 25W/min) de bicicleta, em atletas, sobre a expressão de microRNAs circulantes relacionados à angiogênese (miR-20a, miR-210, miR-221/miR-222 e miR-328), inflamação (miR-21 e miR-146a), função muscular esquelética e cardíaca (miR-21 e miR-133a) e resposta celular à hipóxia (miR-21,

miR-146a e miR-210). Após a sessão de exercício na bicicleta os miR-21, -146a, -221 e -222 apresentaram aumento na expressão comparado às medidas de base, contudo somente o miR-221 continuava apresentando valores elevados uma hora após exercício. Como descrito anteriormente existem microRNAs que modulam vias em mais de um tecido (miR-21, -210 por exemplo), assim uma avaliação da variação dos níveis circulantes dos microRNAs não é suficiente para avaliar o seu efeito nos tecidos. Em uma segunda fase do mesmo estudo os autores demonstraram que após um período de treinamento de 90 dias, uma sessão semelhante de exercício aeróbio aumentou a expressão dos microRNAs -146a e -222 acima dos valores de repouso antes e após o treinamento (resultados deste protocolo de treinamento na próxima sessão). Assim, os microRNAs circulantes são alterados pelo exercício físico. Contudo, somente alterações nos níveis circulantes não são suficientes para avaliar o seu papel nas respostas dos tecidos ao exercício físico. Além disso, algumas das alterações no nível circulante à sessão de exercício se mantêm, mesmo após um período de treinamento.

A configuração das variáveis desempenha papel relevantes nas respostas ao exercício. Aoi *et al.* (2013) avaliaram o efeito de uma sessão de exercício de maior volume (60min a 70% VO_{2max}) sobre a expressão de myomiRs (miR-1, -16, -133a, -133b, -206, -208b, -486 e 499) circulantes. O único afetado pelo exercício foi o miR-486, que estava com expressão reduzida na circulação após a sessão. Os autores, no entanto, relatam que a baixa expressão de microRNAs tecido específicos (no caso músculo esqueléticos) na circulação comparada a de tecidos dificulta a análise de variações (principalmente quando o nível reduz). Outra forma de avaliar os níveis circulantes de microRNAs é através de uma matriz que avalia um grande número de microRNAs. Nielsen *et al.* (2014) utilizaram essa técnica, eles avaliaram o comportamento de 160 microRNAs seguindo 60min de exercício aeróbio (65% P_{max}) em cicloergômetro. O autor encontrou sete microRNAs (miR-30b, -106a, -146a, -151-5p, -151-3p, -652 e let-7i) com concentração reduzida logo após a sessão de exercício. Além disso, seis microRNAs (miR-139-5p, -143, -223, -330-3p e -338-3p) reduziram uma hora após o exercício e o miR-1 estava elevado 3h após a sessão. Os estudos acima demonstram que a avaliação de alterações nos níveis circulantes de microRNAs tem limitações técnicas. Os microRNAs escolhidos devem apresentar

uma expressão suficiente para que permita avaliações na sua variação. Além disso, outro fator a ser considerado é o tempo para avaliação dessas alterações.

Bem como a intensidade e o volume, a modalidade do exercício físico também altera as respostas. Assim, Uhlemann *et al.* (2012) avaliaram a expressão circulante de microRNAs relacionados a função endotelial (miR-126) e função músculo esquelética (miR-133) em resposta a quatro formas de exercício físico: teste incremental máximo em bicicleta, bicicleta ergométrica (abaixo do limiar anaeróbio) por 4h, maratona e uma sessão de exercícios de força. A prova de maratona foi capaz de aumentar o nível de ambos os microRNAs. O teste incremental produziu um aumento no nível do miR-126 logo após a carga máxima no exercício na bicicleta, pedalar abaixo do limiar anaeróbio por 4h também alterou a expressão circulante apenas dos miR-126. Por outro lado, a sessão de exercícios de força aumentou a expressão apenas do miR-133.

Existem duas hipóteses sobre a relação do exercício físico com os níveis circulantes de microRNAs. A primeira hipótese é que alterações nos níveis circulantes de microRNAs em resposta a exercícios com alta demanda metabólica são um mecanismo de sinalização entre tecidos. A segunda hipótese é sobre exercícios com estresse mecânico (exercícios com alto componente excêntrico), no qual ocorre uma alteração no nível circulante de microRNAs, principalmente aqueles com expressão enriquecida no músculo esquelético, após a sessão devido a rupturas no sarcolema (membrana muscular) permitindo vazamento dos microRNAs para a circulação. No estudo de Uhlemann *et al.* (2012), a maratona e a sessão de exercícios de força foram as modalidades que alteraram a expressão do miR-133 (músculo específico), provavelmente relacionado ao já bem conhecido dano muscular induzido por essas modalidades. Banzet *et al.* (2013) testaram essa hipótese. Os autores avaliaram os níveis circulantes de myomiRs (miR-1, -133a e -133b) seguindo um protocolo capaz de induzir dano muscular (caminhada *downhill*) e também em um protocolo semelhante, mas quase sem indução de dano muscular (caminhada *uphill*). Como esperado o protocolo *downhill* produziu dano muscular (creatina quinase, produção de força e dor muscular tardia), enquanto o protocolo *uphill* não. Além disso, somente o protocolo *downhill* foi capaz de aumentar o nível dos myomiRs na circulação. Porém, estas modalidades de exercícios estimulam processos de regeneração muscular que também incluem mecanismos de

comunicação entre tecidos. No estudo de Sawada *et al.* (2013) os autores observaram doze microRNAs, oito microRNAs (miR-20a, -21, 133a, -146a, -210, -221, -222 e -328) que foram avaliados previamente por Baggish *et al.* (2011) mais quatro microRNAs determinados por *microArray*. Os oito microRNAs avaliados em comum nos dois estudos apresentaram resultados diferentes, enquanto Baggish *et al.* (2011) encontraram quatro microRNAs (miR-21, -146a, -221 e -222) com expressão alterada logo após a sessão de exercícios, Sawada *et al.* (2013) viram alteração três dias após a sessão de exercícios e em apenas dois destes microRNAs (miR-146a e -221). No entanto, 3 horas após o exercício o nível outro microRNA (miR-149*) que foi determinado por *microArray* estava elevado. Em conclusão os estudos acima descritos demonstraram que o exercício físico é capaz de alterar a expressão dos microRNAs tanto no tecido muscular esquelético como na circulação. A modalidade de exercício, bem como a configuração das variáveis de treinamento afeta as respostas dos microRNAs. Além disso, o potencial dos microRNAs como biomarcadores do exercício físico passa pela baixa expressão circulante, dificuldades na determinação do papel da alteração de cada microRNA e dos tempos de medida.

3.4 TREINAMENTO FÍSICO

Mesmo com uma sessão de exercício promovendo respostas, a manutenção do estímulo é fundamental para atingir e manter as adaptações relacionadas ao exercício físico. Diversos estudos demonstram que após a suspensão do treinamento, um período chamado de destreino, grande parte, quando não todas as adaptações, são perdidas. Alguns estudos previamente descritos contam com uma segunda parte, aonde o efeito da somação de sessões de exercício (treinamento) sobre a expressão de microRNAs foi avaliado. Nielsen *et al.* (2010) mediram o efeito de um programa de treinamento aeróbio de 12 semanas sobre a expressão dos myomiRs no tecido músculo esquelético. Os autores encontraram expressão reduzida dos quatro microRNAs após o treinamento. Entretanto, duas semanas de destreino foram suficientes para restaurar a expressão aos níveis basais. Em um período menor de treinamento (10 sessões) Russel *et al.* (2013) encontraram expressão aumentada de apenas um myomiR (miR-1). Além do myomiR os autores

também encontraram alteração em dois microRNAs relacionados a miopatias (aumento do miR-29b e redução do miR-31). Ambos os autores adotaram um protocolo de treinamento que mesclava sessões aeróbias intervaladas e contínuas, porém o primeiro estudo utilizou um modelo de cinco dias de treinamento por dois de descanso (12 vezes), enquanto o segundo optou por 10 dias consecutivos de treinamento. Davidsen et al. (2011) compararam a expressão de microRNAs no tecido músculo esquelético de indivíduos, classificados após o treinamento, em mais e menos responsivos ao treinamento de força. Os autores mediram a expressão de 21 microRNAs apontados como altamente expressos no tecido. Destes, 15 não apresentaram alteração em nenhum dos grupos após 12 semanas de treinamento, quatro demonstraram uma tendência à redução, miR-378 reduziu e miR-457 aumentou apenas no grupo menos responsivo ao treinamento. A somação de exercícios tem efeito distinto à sessão de exercícios na expressão tecidual de microRNAs. Além disso, a suspensão do treinamento parece remover o efeito repressor do exercício à expressão de microRNAs no tecido músculo esquelético.

Além dos estudos avaliando expressão tecidual de microRNAs, alguns autores que avaliaram expressão de microRNAs circulantes também mediram o efeito da somação de exercícios. A matriz de análise de microRNAs circulantes de Nielsen *et al.* (2014), demonstrou alteração de nove microRNAs após um treinamento aeróbio de 12 semanas, que incluía sessões contínuas e intervaladas com intensidade moderada a alta (cinco vezes por semana). Os autores encontraram sete microRNAs (miR-21, -25, -148a, -185, -342-3p, -766 and let-7d) com expressão reduzida após o treinamento e dois microRNAs com expressão aumentada após o treinamento (miR-103 and -107) comparado ao repouso antes do treinamento. Um período menor de treinamento foi utilizado no estudo de Aoi *et al.* (2013) um programa de treinamento físico de quatro semanas (três vezes por semana, 60 minutos a 70% VO_{2max}) sobre os expressões circulantes dos myomiRs (miR-1, -133a, -133b, -206, -208b, -486 e -499). Curiosamente, os myomiRs circulantes apresentaram o mesmo comportamento após o treinamento do que aquele apresentado após a sessão de exercício agudo, ou seja, redução apenas nos níveis circulantes do miR-486, sem alteração nos níveis de expressão dos outros. Um comportamento semelhante entre sessão e treinamento foi demonstrado também por Baggish *et al.* (2011) avaliando microRNAs circulantes de atletas de

remo após um período de 90 dias de treino (cinco vezes por semana, uma a três horas por dia, com um ritmo de 20-24 remadas por minuto). Assim como no estudo de Aoi et al. (2013), Baggish *et al.* encontraram um comportamento semelhante entre a resposta à sessão aguda e ao treinamento. Os quatro microRNAs (miR-21, -146a, -221 e -222), avaliados em repouso, estavam elevados após o treinamento quando comparados com antes do treinamento. Em oposição à resposta tecidual, os microRNAs circulantes parecem responder de maneira semelhante ao exercício e ao treinamento físico, mesmo com populações distintas (neste caso atletas e não atletas).

4. DISCUSSÃO

Os protocolos de exercício físico dos estudos apresentados nesta revisão de literatura incluíram distintas modalidades de exercícios (aeróbia, de força, pliométrica) em diferentes configurações das variáveis de treinamento físico (intensidade, volume e intervalo). Estes estudos representam boa parte dos estímulos metabólicos e mecânicos possíveis através do exercício físico atualmente. Entretanto, não há interação entre os protocolos disponíveis, considerando as mesmas diferenças de estímulo anteriormente citadas. A escolha de protocolos que forneçam estímulos semelhantes pode contribuir para um melhor entendimento do papel do exercício físico sobre a expressão de microRNAs. As tabelas 1 e 2 descrevem os microRNAs diferentemente expressos no tecido muscular esquelético e na circulação, respectivamente, após exercício e treinamento físico.

Na avaliação tecidual, a expressão do miR-1 estava alterada após uma sessão de exercícios em três estudos diferentes e se manteve alterado após o treinamento em dois estudos (o estudo de Drummond *et al.* 2008 não avaliou o efeito do treinamento). Os estímulos gerados através do exercício físico divergiram entre os estudos, sugerindo que o miR-1 desempenhe papel importante tanto nas respostas a exercícios aeróbios quanto de força, ainda que a resposta tenha sido oposta entre o estudo com protocolo de exercício de força (Drummond *et al.* 2008) e os estudos com protocolo de exercício aeróbio (Nielsen *et al.* 2010; Russel *et al.* 2013). Após o treinamento miR-1 teve resposta oposta aos dois protocolos de

treinamento aeróbio, sugerindo a ação de outros fatores como a população e o tempo de treinamento na expressão deste microRNA. No total 12 microRNAs foram descritos com expressão alterada após o estímulo por exercício físico (quatro após uma sessão de exercícios e oito após o treinamento físico), destes apenas o miR-1 foi apontado por mais de um estudo.

Tabela 1. MicroRNAs teciduais com expressão alterada em resposta ao exercício e treinamento físico. A primeira coluna descreve os microRNAs que apresentam alteração após uma sessão (segunda coluna) e/ou treinamento físico (terceira coluna). Os autores que apresentaram esses resultados em seus estudos estão descritos na coluna respectiva a(s) formas de exercício que ele avaliou, bem como se a resposta foi um aumento (↑) ou redução na expressão dos microRNAs (↓) .

MicroRNA	Alterado em:	
	Exercício	Treinamento
miR-1	↓ Drummond ↑ Russel ↑ Nielsen	↑ Russel ↓ Nielsen
miR-9	↓ Russel	
miR-23a	↓ Russel	
miR-23b	↓ Russel	
miR-29b		↑ Russel
miR-31		↓ Russel
miR-133a		↓ Nielsen
miR-133b		↓ Nielsen
miR-181		↑ Russel
miR-206		↓ Nielsen
miR-378		↓ Davidsen
miR-457		↑ Davidsen

Tabela 2. MicroRNAs circulantes alterados em resposta ao exercício e ao treinamento. A primeira coluna descreve os microRNAs que apresentam alteração após uma sessão (segunda coluna) e/ou treinamento físico (terceira coluna). Os autores que apresentaram esses resultados em seus estudos estão descritos na coluna respectiva a(s) formas de exercício que ele avaliou, bem como se a resposta foi um aumento (↑) ou redução na expressão dos microRNAs (↓)

MicroRNA	Alterado em:	
	Exercício	Treinamento
let-7d		↓ Nielsen
let-7i	↓ Nielsen	
miR-1	↑ Banzet ↑ Nielsen	
miR-103		↑ Nielsen

miR-106a	↓ Nielsen	
miR-107		↑ Nielsen
miR-126	↑ Uhlemann	
miR-133	↑ Uhlemann	
miR-133a	↑ Banzet	
miR-133b	↑ Banzet	
miR-139-5p	↓ Nielsen	
miR-143	↓ Nielsen	
miR-146a	↑ Baggish ↓ Nielsen ↓ Sawada	↑ Baggish
miR-148a		↓ Nielsen
miR-149*	↑ Sawada	
miR-151-3p	↓ Nielsen	
miR-151-5p	↓ Nielsen	
miR-185		↓ Nielsen
miR-21	↑ Baggish	↑ Baggish ↓ Nielsen
miR-221	↑ Baggish ↓ Sawada	↑ Baggish
miR-222	↑ Baggish	↑ Baggish
miR-223	↓ Nielsen	
miR-25		↓ Nielsen
miR-30b	↓ Nielsen	
miR-330-3p	↓ Nielsen	
miR-338-3p	↓ Nielsen	
miR-342-3p		↓ Nielsen
miR-486	↓ Aoi	↓ Aoi
miR-652	↓ Nielsen	
miR-766		↓ Nielsen

Os estudos incluídos nesta revisão apresentam um total de 31 microRNAs circulantes com expressão alterada após exercício e/ou treinamento físico. Destes, apenas 3 microRNAs foram descritos por mais de um autor (2 após sessão de exercícios e 1 após treinamento). O miR-1 e o miR-146a foram descritos por dois e três autores, respectivamente, com expressão alterada após a sessão de exercícios e o miR-21 foi descrito como alterado por dois autores após o treinamento físico.

Apesar da falta de consistência dos microRNAs circulantes ao exercício físico, os estudos de Baggish et al. (2011) e Aoi et al. (2013) apontam para um comportamento das respostas dos microRNAs -146a, -21, 221, -222 e -486, estes microRNAs demonstraram comportamento semelhante em resposta ao exercício e ao treinamento físico. Assim, é demonstrada uma sensibilidade dos microRNAs circulantes ao estímulo por exercício físico reforçando a ideia de que microRNAs em fluídos corporais possam ser utilizados como biomarcadores. Embora, novos estudos sejam necessários para determinar os mecanismos de resposta destes microRNAs e também sua meia vida na circulação. Os mecanismos na alteração dos níveis circulantes de microRNAs podem ser aumento/redução da expressão dos microRNAs, mas também podem ocorrer reduções devido a uma maior taxa de degradação por RNases ou por captação dos microRNAs por outros tecidos. Assim, microRNAs circulantes ainda precisam de resultados mais consistentes para permitir sua utilização como biomarcadores em resposta ao exercício físico. É necessário entender os mecanismos que induzem o aumento e redução na sua expressão, bem como sua meia vida na circulação.

Diferentes métodos foram empregados pelos autores revisados neste trabalho para a seleção dos microRNAs. As bases de dados de microRNAs disponíveis permitem o acesso a resultados previamente publicados. Desta forma é possível obter informações sobre o tecido onde o microRNA é mais expressos, os genes que ele modula e sua estrutura por exemplo, podendo ser analisado através de softwares que predizem os níveis de interação dos microRNAs com suas vias/genes alvo. Alguns autores também selecionam seus microRNAs com base em estudos prévios semelhantes e há também a possibilidade de realizar um *Array* que avalia os microRNAs expressos em uma determinada amostra de tecido ou fluído. A figura 3 apresenta o número de microRNAs avaliado em cada estudo e o número de microRNAs que apresentou alteração após a intervenção por exercício físico.

		Autor	MicroRNAs medidos	MicroRNAs alterados	Percentual de alteração	Média
Tecidual	Agudo	Nielsen ('10)	21	1	 4.76%	49.21%
		Drummond ('08)	3	1	 33.33%	
		Russel ('13)	12	4	 33.33%	
	Crônico	Daividsen ('11)	4	2	 50.00%	
		Russel ('13)	21	4	 19.05%	
		Autor	MicroRNAs medidos	MicroRNAs alterados	Percentual de alteração	Média
Circulante	Agudo	Aoi ('13)	7	1	 14.29%	38%
		Baggish ('11)	9	4	 44.44%	
		Banzet ('13)	3	3	 100.00%	
		Nielsen ('14)	160	13	 8.13%	
		Sawada ('13)	12	3	 25.00%	
	Crônico	Uhlemann ('12)	2	2	 100.00%	
		Aoi ('13)	7	1	 14.29%	
		Baggish ('11)	9	4	 44.44%	
		Nielsen ('14)	160	9	 5.63%	

Fig. 3. Número de microRNAs avaliados e alterados em resposta a exercício e treinamento físico.

Os dados da Figura 3 demonstram que os protocolos de estudo de microRNAs estão apresentando diferenças em menos de 50% do total de microRNAs avaliados. Sabe-se que o número de microRNAs descritos atualmente em humanos é superior a 2.000, além disso cada microRNA é capaz de modular centenas de RNAs-m. A avaliação do papel de cada microRNA objeto de estudo nas vias de resposta induzidas pelo protocolo de exercício proposto é necessária, a fim de reduzir a quantidade de microRNAs não responsivos avaliados. Os estudos que definiram menos alvos apresentaram alto percentual de microRNAs alterados em resposta ao exercício físico. Além disso em microRNAs circulantes os protocolos que avaliaram a resposta de exercícios com componente excêntrico (Uhlemann *et al.*, 2011; Banzet *et al.*, 2013) apresentaram aumentos nos níveis de myomiRs circulantes, reforçando a hipótese de que o stress mecânico gera rupturas no sarcolema, causando o vazamento de microRNAs para a circulação. Em microRNAs circulantes a baixa expressão comparada ao tecido dificulta interpretação das alterações. Aoi *et al.*, (2013) encontraram diferença em apenas um dos 9 microRNAs avaliados, os autores argumentam que devido a baixa expressão não foi possível

analisar a variação dos outros microRNAs circulantes. Como demonstrado na Figura 4 é possível também através de estudos prévios prever a expressão basal circulante dos microRNAs que serão estudados. Contudo, o emprego de ferramentas de bioinformática aumenta o potencial de predição do papel dos microRNAs na vias de interesse.

A meia vida dos microRNAs na circulação ainda não é clara. Existem diferentes formas de transporte de microRNAs na circulação (exossomos, microvesículas e complexos protéicos). Além disso, o exercício promove alterações na circulação (aumento do fluxo sanguíneo, diferenças de pH, liberação de hormônios e citocinas) que podem alterar esta meia vida do microRNA. Assim, a decisão dos pontos de avaliação da resposta dos microRNAs é extremamente relevante. A figura 5 descreve os pontos de avaliação dos estudos apresentados nesta revisão de literatura. Nove pontos foram avaliados variando de 0 h após exercício até 96 h após. As avaliações em 3, 0, 1 e 6 h após apresentaram diferenças mais vezes, respectivamente. Assim, avaliações dentro de um período de até 6 h após o exercício físico parecem representar mais a diferenças na expressão de microRNAs.

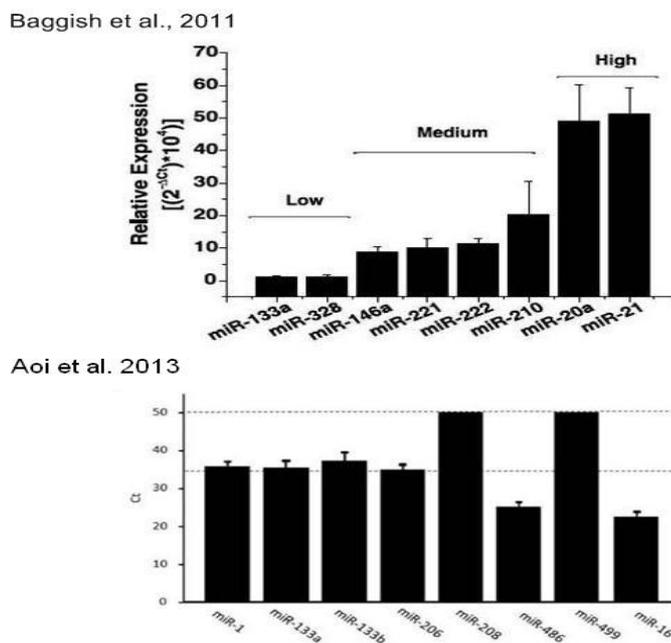


Figura 4. Expressão basal circulante de microRNAs nos estudos de Baggish et al. 2011 e Aoi et al. 2013.

Tempo	Tecidual	Circulante	Alterados
0 (Pós exercício)	Drummond ('08) Nielsen ('10)	Aoi ('13) Baggish ('11) Nielsen ('14) Uhlemann ('12)	Aoi ('13) Baggish ('11) Nielsen ('14) Uhlemann ('12)
1 h	Drummond ('08) Nielsen ('10)	Baggish ('11) Uhlemann ('12) Nielsen ('14)	Nielsen ('10 e '14)
2 h		Banzet ('13)	
3 h	Drummond ('08)	Nielsen ('14) Sawada ('13)	Drummond ('08) Sawada ('13) Nielsen ('14)
4 h	Nielsen ('10)		
6 h	Drummond ('08)	Banzet ('13)	Banzet ('13)
24 h		Banzet ('13) Uhlemann ('12)	
48 h		Banzet ('13)	
72 h		Banzet ('13)	
96h		Sawada ('13)	Sawada ('13)

Fig. 5. Linha do tempo das avaliações e alterações na expressão de microRNAs.

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, os microRNAs são moléculas importantes nas respostas e processos de adaptação celular. No músculo esquelético, microRNAs são capazes de modular os processos de desenvolvimento, proliferação, regeneração, adaptações do metabolismo e também nos mecanismos de interação entre os tecidos. O exercício físico é capaz de modular a expressão de microRNAs de forma aguda e crônica (exercício e treinamento físico). Entretanto, os resultados de estudos que avaliam o efeito do exercício físico não são sólidos o suficiente para inferir sobre os mecanismos envolvidos nas alterações da expressão de microRNAs, do efeito fisiológico destas alterações e ainda não é possível apontar microRNAs como biomarcadores para o exercício físico.

Perspectivas

Como perspectiva, futuros estudos devem selecionar os microRNAs de forma mais criteriosa, utilizando as informações disponíveis nas bases de dados de microRNAs, podendo ser empregado o uso de softwares de bioinformática, e/ou selecionando os microRNAs por meio de *Array*. A escolha de protocolos de exercício semelhantes

aos disponíveis na literatura pode ajudar a construir uma base de dados de informações de microRNAs e exercício físico. A meia vida dos microRNAs circulantes e o efeito do exercício físico nesta meia vida são informações relevantes para utilização dos microRNAs como biomarcadores em fluídos. Além disso, a identificação dos fatores de transcrição liberados pelo exercício físico que estimulam a expressão de microRNAs, pode aumentar a compreensão da interação entre as respostas do exercício físico e a modulação da expressão gênica.

6. REFERÊNCIAS

AGARWAL, Priyanka; SRIVASTAVA, Rohit; SRIVASTAVA, Arvind; ALI, Shakir e DATTA, Malabika. miR-135a targets IRS2 and regulates insulin signaling and glucose uptake in the diabetic gastrocnemius skeletal muscle. **Biochim Biophys Acta**, 1832(8), 1294-303 (2013) DOI: 10.1016/j.bbadis.2013.03.021

AOI, Wataru; ICHIKAWA, Hiroyuki; MUNE, Keitaro; TANIMURA, Yuko; MIZUSHIMA, Katsura; NAITO, Yuji e YOSHIKAWA, Toshikazu. Muscle enriched microRNA miR-486 decreases in circulation in response to exercise in young men. **Frontiers in Physiology**. Vol. 4, Num. 80, Abril, 2013. DOI: 10.3389/fphys.2013.00080.

AOI, Wataru. Frontier impact of microRNAs in skeletal muscle: a future perspective. **Frontiers in Physiology**. Vol. 5, Num 495, Janeiro de 2015.

ARROY, Jason D.; CHEVILLET, John R.; KROH, Evan M.; RUF, Ingrid K.; PRITCHARD, Colin C.; GIBSON, Donald F.; MITCHELL, Patrick S.; BENNET, Christopher F.; POGOSOVA-AGADJANYAN, Era L.; STIREWALT, Derek L.; TAIT, Jonathan F. e TEWARI, Munesh. Argounate2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. **PNAS**. Vol 108 Num 12, Março 2011.

BAGGISH, Aaron L.; HALE, Andrew; WEINER, Rory B.; LEWIS, Gregory D.; SYSTROM, David; WANG, Francis; WANG, Thomas J. e CHAN, Stephen Y. Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training. **Journal of Physiology**. Vol. 589, Num. 16, Junho, 2011. DOI: 10.1113/jphysiol.2011.213363

BANZET, Sébastien; CHENNAOUI, Mounir; GIRARD, Olivier; RACINAIS, Sébastien; DROGOU, Catherine; CHALABI, Hakim e KOULMANN, Nathalie. Changes in circulating microRNAs levels with exercise modality. **Journal of Applied Physiology**. Vol. 115, Pag. 1237-1244, Agosto, 2013. DOI:10.1152/jappphysiol.00075.2013

DAVIDSEN, Peter K.; GALLAGHER, Iain J.; HARTMAN, Joseph W.; TARNOPOLSKY, Mark A.; DELA, Flemming; HELGE, Jørn W.; TIMMONS, James A. e PHILLIPS, Stuart M. High responders to resistance exercise training microRNA expression demonstrate differential regulation of skeletal muscle. **J Appl Physiol**. Vol. 110, Pag. 309-317, 2011.

DRUMMOND, Micah J.; MCCARTHY, John J.; FRY, Christopher S.; ESSER, Karyn A. e RASMUSSEN, Blake B. Aging differentially affects human skeletal muscle microRNA expression at rest and after an anabolic stimulus of resistance exercise and essential amino acids **Am J Physiol Endocrinol Metab** Vol. 295, Pag. 1333–1340, 2008.

DRUMMOND, Micah J.; MCCARTHY, John J.; SINHA, Mala; SPRATT, Heidi M.; VOLPI, Elena; ESSER, Karyn A. e RASMUSSEN, Blake. **Physiol Genomics** Vol. 43 Pag. 595–603, 2011. doi:10.1152/physiolgenomics.00148.2010.

FRIEDMAN, Robin C; FARH, Kyle K.; BURGE, Cristopher B. e BARTEL, David P. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. **Genome Res.** Vol. 19, Pag. 92–105, 2009.

GARCIA, David M.; BAEK, Daehyun; SHIN, Chanseok; BELL, George W.; GRIMSON, Andrew e BARTEL, David. Weak seed-pairing stability and high target site abundance decrease the proficiency of Isy-6 and other microRNAs. **Nature struct and mol biology.** Vol. 18 Num. 10, 2011.

GRIMSOM, Andrew; FARH, Kyle KH.; JOHNSTON, Wendy K.; GARRET-ENGELE, Philip; LIM, Lee P. e BARTEL, David. MicroRNA targeting specificity in Mammals: Determinants Beyond Seed Pairing. **Mol Cell.** 27(1): 91–105, Julho 2007 doi:10.1016/j.molcel.2007.06.017.

GUAY, Claudiane e REGAZZI, Romano. Circulating microRNAs as novel biomarkers for diabete mellitus. **Nat. Rev. Endocrinol.** Vol. 9, Pag. 513–521, Abril 2013. doi:10.1038/nrendo.2013.86

GUO, Huili; INGOLIA, Nicholas T.; WEISSMAN, Jonathan S. e BARTEL, David. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. **Nature.**; 466(7308): 835–840, Agosto 2010. doi:10.1038/nature09267.

HU, Jun; KONG, Min; YE, Yuanzhen; HONG, Siqi; CHENG, Li e JIANG, Li. Serum miR-206 and other muscle-specific microRNAs as non-invasive biomarkers for Duchenne muscular dystrophy. **Journal of Neurochemistry.** Vol 129, Pag 877-883, 2014.

HUNTER, Melissa P.; ISMAIL, Noura; ZHANG, Xiaoli; AGUDA, Baltazar D.; LEE, Eun J.; YU, Lianbo; XIAO, Tao; SCHAFFER, Jeffrey; LEE, Mei-Ling T.; SCHMITTGEN, Thomas D.; NANA-SINKAM, S. Patrick; JARJOURA, David e MARSH, Clay B. Detection of microRNA Expression in Human Peripheral Blood Microvesicles. **PLoS ONE.** Vol. 3 Num. 11, 2008.doi:10.1371/journal.pone.0003694

JANSSEN, Harry L.A.; REESIN, Hendrik W.; LAWITZ, Eric J.; ZEUZEM, Stefan; RODRIGUEZ-TORRES, Maribel; PATEL, Keyur; VAN DER MEER, Adrian J.; PATRICK, Amy K.; CHEN, Alice; ZHOU, Yi; PERSSON, Robert; KING, Barney D.; KAYPPINEN, Sakari; LEVIN, Arthur A. e HODGES, Michael R. Treatment of HCV Infection by Targeting MicroRNA. **New England J of Medicine.**Vol. 368 Pag. 1685-94, Março 2013.

KAROLINA, Dwi S.; ARMUGAM, Arunmozhiarasi; TAVINTHARAN, Subramian; WONG, Michael T. K.; LIM, Su C.; SUM, Chee F. e JEYASEELAN Kandiah. MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin

receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus. **PLoS One**, 6(8), e22839 (2011) DOI: 10.1371/journal.pone.0022839

KIRBY, Tyler J; CHAILLOU, Thomas e MCCARTHY, John J. The role of microRNAs in skeletal muscle health and disease. **Frontiers in Bioscience**. Vol. 20, Pag. 37-77, Janeiro 2015.

KOUTSOULIDOU, Andrie; MASTROYIANNOPOULOS, Nikolaos P.; FURLING, Denis; UNEY, James B. e PHYLACTOU, Leonidas. Expression of miR-1, miR-133a, miR-133b and miR-206 increases during development of human skeletal muscle. **BMC Developmental Biology**. Vol. 11 Num 34, 2011.

LEE, Rosalind C.; FEINBAUM, Rhonda L. e AMBROS, Victor. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementary to *lin-14*. **Cell**. Vol. 75, Pag. 843-854, Dezembro 1993.

LIM, Lee P.; LAU, Nelson C.; GARRET-ENGELE, Philip; GRIMSON, Andrew; SCHELTER, Janell M.; CASTLE, John; BARTEL, David P.; LINSLEY, Peter S. e JOHNSON, Jason M. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large number of target mRNAs. **Nature**. Vol. 433, Fevereiro 2005.

MCCARTHY, John J e ESSER, Karyn A. MicroRNA-1 and microRNA-133a expression are decreased during skeletal muscle hypertrophy. **J Appl Physiol**. Vol. 102 Pag. 306-313, 2007.

MCCARTHY, John J; ESSER, Karyn A.; PETERSON, Charlotte A e DUPONT-VESTEEGDEN, Esther E. Evidence of myomiR network regulation of beta-myosin heavy chain gene expression during skeletal muscle atrophy. **Physiol. Genomics**. Vol. 39, Pag. 219-226, 2009.

NIELSEN, Soren; SCHEELE, Camila; YFANTI, Christina; ÅKERSTRÖM, Thorbjörn; NIELSEN, Anders R.; PEDERSEN, Bente K. e LAYE, Matthew. Muscle specific microRNAs are regulated by endurance exercise in human skeletal muscle. **J Physiol** Vol. 588, Num. 20, pag 4029–4037, 2010

NIELSEN, Soren; ÅKERSTRÖM, Thorbjörn; RINNOV, Anders; YFANTI, Christina; SCHEELE, Camilla; PEDERSEN, Bente K. e LAYE, Matthew J. The miRNA Plasma Signature in Response to Acute Aerobic Exercise and Endurance Training. **PLoS ONE**. Vol. 9, Num. 2, Fevereiro, 2014. DOI:10.1371/journal.pone.0087308

REINHART, Brenda J.; SLACK, Franck J.; BASSON, Michael; PASQUINELLI, Amy E.; BETTINGER, Jill C.; ROUGVIE, Ann E.; HORVITZ, H. Robert e RUVKUN, Gary. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. **Nature**. Vol 403, Fevereiro 2000.

RUSSELL, Aaron P.; LAMON, Severine; BOON, Hanneke; WADA, Shogo; GULLER, Isabelle; BROWN, Erin L.; CHIBALIN, Alexander V.; ZIERATH, Juleen R.; SNOW, Rod J.; STEPTO, Nigel; WADLEY, GlennD. e AKIMOTO, Takayuki. Regulation of

miRNAs in human skeletal muscle following acute endurance exercise and short-term endurance training. **J Physiol.** Vol. 591, Num.18, Pag. 4637–4653. 2013.

SAWADA, S.; KON, M.; WADA, S.; USHIDA, T.; SUZUKI, K. e AKIMOTO, T. Profiling of Circulating MicroRNAs after a bout of acute resistance exercise in humans. **PLoS ONE** 8 2013:e70823. doi:10.1371/journal.pone.0070823

SHARMA, Mridula.; JUVVUNA, Prasanna. K.; KUKRETI, Himani. e McFARLANE, Craig. Mega Roles of microRNAs in Regulation of Skeletal Muscle Health and Disease. **Frontiers in Physiology.** Vol. 4 Num. 239, Junho 2014.

SYLVIUS, Nicolas; BONNE, Gisèle; STRAATMAN, Kees; REDDY, Thimma; GANT, Timothy W. e SHACKLETON, Sue. MicroRNA expression profiling in patients with lamin A/C associated muscular dystrophy. **FASEB Journal.** Vol. 25, Novembro 2011.

THAPA, Dharma R.; HUSSAIN, Shehnaz K.; TRAN, Wen-Ching; D'SOUZA, Gypsyamber; BREAM, Jay H.; ACHENBACK, Chad J.; AYYAVOO, Velpandi; DETELS, Roger e MARTÍNEZ-MAZA, Otoniel. Serum microRNAs in HIV-infected individuals as pre-diagnosis biomarkers for AIDS-related non-Hodgkin lymphomas (AIDS NHL) **J Acquir Immune Defic Syndr.** Vol. 66 Num. 2 Pag. 229–237, Junho 2014. doi:10.1097/QAI.000000000000146

TONEVITSKY, A.; MALTSEVA, D.; ABBASI, A.; SAMATOV, T.; SAKHAROV, D.; SHKURNIKOV, M., *et al.* Dynamically regulated miRNA–mRNA networks revealed by exercise. **BMC Physiol.** 13:9 2013. doi: 10.1186/1472-6793-13-9

UHLEMANN, Madlen; MÖBIUS-WINKLER, Sven; FIKENZER, Sven; ADAM, Jennifer; REDLICH, Maren; MÖHLENKAMP, Stefan; HILBERG, Thomas; SCHULER, Gerhard C e ADAMS, Volker. Circulating microRNA-126 increases after different forms of endurance exercise in healthy adults. **European Journal of Preventive Cardiology.** Vol. 21, Num. 4, Pag. 484-491, Abril 2014. DOI: 10.1177/2047487312467902.

VALADI, Hadi; EKSTRÖM, Karin; BOSSIOS, Apostolos; SJÖSTRAND, Margareta; LEE, James L. e LÖTVALL Jan O. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic Exchange between cells. **Nature cell biology.** Maio 2007

VICKERS, Kasey C.; PALMISANO, Brian T.; SHOUCRI, Bassem, M.; SHAMBUREK, Robert D. e REMALEY, Alan T. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by High-Density Lipoproteins. **Nature Cell Biology.** Vol. 13 Num. 4, Pag. 423-433. Abril 2011. doi:10.1038/ncb2210

WANG, Yonghua; LI, Yan; ZHI, Ma; YANG, Wei e AI, Chunzi. Mechanism of microRNA-Target interaction: molecular dynamics simulations and thermodynamics analysis. **Plos Computational Biology.** Vol 6 Num 7, Julho 2010.

WANG, Xiaonan H.; HU, Zhaoyong; KLEIN, Janet D., ZHANG, Liping; FANG, Fude e MITCH, William E. Decreased miR-29 suppresses myogenesis in CKD. **J Am Soc Nephrol**, Vol. 22 Num. 11, Pag. 2068-76 ,2011. DOI: 10.1681/ASN.2010121278

XU, Jing ; LI, Rongshan; WORKENEH, Biruh; DONG, Yanlan; WANG, Xiaon e HU, Zhaoyong. Transcription factor FoxO1, the dominant mediator of muscle wasting in chronic kidney disease, is inhibited by microRNA-486. **Kidney Int**, 82(4), 401-11 (2012) DOI: 10.1038/ki.2012.84

XU, T.; LIU, Q.; YAO, J; DAI, Y.; WANG, H. e XIAO, J. Circulating microRNAs in response to exercise. **Scand J Med & Science in Sports**. Vol. 25, Pag. 149-154, 2015. doi: 10.1111/sms.12421

YAMAMOTO, Hirotaka; MORINO Katsutarō; NISHIO, Yoshihiko; UGI, Satoshi; YOSHIZAKI, Takeshi; KASHIWAGI, Atsunori e MAEGAWA, Hiroshi. MicroRNA-494 regulates mitochondrial biogenesis in skeletal muscle through mitochondrial transcription factor A and Forkhead box j3. **Am J Physiol Endocrinol Metab** Vol.303, Pag. 1419–1427, 2012.

ZACHAREWICZ, Evelyn; LAMON, Séverine e RUSSEL, Aaron P. MicroRNAs in Skeletal Muscle and their Regulation with Exercise, Ageing and Disease. **Frontiers in Physiology**. Vol. 4 Num. 266, Setembro 2013

ZAMPETAKI, Anna; KIECHL, Stefan; DROZDOV, Ignat; WILLEIT, Peter; MAYR, Ursula; PROKOPI, Marianna; MAYR, Agners; WEGER, Siegfried; OBERHOLLENZER, Friedrich; BONORA, Enzo; SHAH, Ajay; WILLEIT, Johann e MAYR, Manuel. Plasma microRNA Profiling Reveals Loss of Endothelial miR-126 and other microRNAs in type 2 Diabetes. **Circulation Research**. Vol. 107, Pag. 810-817, Setembro 2010.