

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**GISELLE NUNES LOPES**

**EFEITOS DO TREINAMENTO DE FORÇA NO MÚSCULO  
ESQUELÉTICO DE RATOS JOVENS E SENIS**

**SÃO CARLOS  
2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**GISELLE NUNES LOPES**

**EFEITOS DO TREINAMENTO DE FORÇA NO MÚSCULO  
ESQUELÉTICO DE RATOS JOVENS E SENIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular para obtenção do título de Mestre em Genética Evolutiva e Biologia Molecular.

Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dra. Heloisa Sobreiro  
Selistre de Araujo

Co-orientação: Prof. Dr. João Luiz  
Quagliotti Durigan

**SÃO CARLOS  
2013**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

L864et      Lopes, Giselle Nunes.  
Efeitos do treinamento de força no músculo esquelético  
de ratos jovens e senis / Giselle Nunes Lopes. -- São Carlos  
: UFSCar, 2013.  
50 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São  
Carlos, 2013.

1. Envelhecimento. 2. Exercícios. 3. CSA. 4. Colágeno. 5.  
IMCL. 6. Glicogênio. I. Título.

CDD: 612.67 (20ª)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA EVOLUTIVA E BIOLOGIA MOLECULAR

Dissertação de Mestrado de

**GISELLE NUNES LOPES**

**Banca Examinadora**

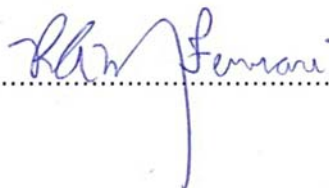
Profa. Dra. Heloisa Sobreiro Selistre de Araújo

  
.....

Prof. Dr. César Rangel Pestana

  
.....

Profa. Dra. Raquel Agnelli Mesquita Ferrari

  
.....

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, **Prof<sup>a</sup>. Dra. Heloisa Sobreiro Selistre de Araujo**, por me receber em seu laboratório e me conceder a oportunidade de realizar o Mestrado.

Ao meu coorientador, **Prof. Dr. João Luiz Quagliotti Durigan**, pelo auxílio durante todo o processo de desenvolvimento e escrita do trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, principalmente **Vinícius Guzzoni, Rita de Cássia Marqueti Durigan e Camila Gatto**, pelo apoio, carinho, disponibilidade e auxílio durante todo o período do Mestrado.

Aos colegas, **Fernando Fabrizzi, Fábio Bogni e Ricardo Calzzani**, pela disponibilidade e paciência em me ensinar sobre diferentes áreas auxiliando no entendimento de todas as fases do trabalho.

À **CAPES**, que concedeu fomento e possibilitou o andamento desta pesquisa.

Aos meus pais, **Angela Ney Nunes Lopes e José Luiz Bastos Lopes**, marido, **Walter Ap. Andrade Amorim**, e familiares em geral pelo apoio psicológico, carinho e paciência durante toda minha vida, principalmente nos momentos mais difíceis.

À **DEUS**, pela oportunidade, força, equilíbrio e sabedoria.

À todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização desse trabalho.

## RESUMO

**Introdução:** O músculo estriado esquelético forma o maior tecido presente nos vertebrados e está envolvido na locomoção, postura e movimentos respiratórios. É formado por fibras musculares alongadas, cilíndricas e multinucleadas cujo sarcoplasma apresenta gotículas de gordura, conhecidas como lipídeo intramiocelular (IMCL), e utilizadas como combustível durante o exercício. Outra fonte de energia utilizada pelo músculo é o carboidrato, estocado no corpo como glicogênio que, por sua vez, é armazenado no fígado e dentro das fibras musculares. Essas fibras também estão envoltas por uma matriz extracelular (MEC) formada, entre outros componentes, pelo colágeno, principalmente, dos tipos I, III, IV e V. No músculo esquelético, o processo de envelhecimento está associado com a perda de massa, força e função muscular, aumento de IMCL, diminuição na síntese de glicogênio com, conseqüente, resistência à insulina, além de fibrose e deposição de MEC. Por outro lado, o treinamento de força (TF) é considerado uma intervenção apropriada para alterar, diminuir ou reverter parcialmente algumas alterações fisiológicas que ocorrem no músculo esquelético durante o processo de envelhecimento. Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar o tamanho das fibras musculares, a quantidade de IMCL, o armazenamento do glicogênio e as propriedades da MEC dos músculos gastrocnêmio (GAM) e sóleo (SO) de ratos jovens e senis após protocolo de treinamento de força. **Metodologia:** 28 animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos experimentais: Jovens (J); Senis (S); Jovens que realizaram treinamento de força (JT); Senis que realizaram treinamento de força (ST). Os animais realizaram protocolo de treinamento de força que consistia em escalarem uma escada vertical com pesos, presos em suas caudas, de 65%, 85%, 95% e 100% da capacidade máxima de carregamento do animal, durante 12 semanas e com freqüência de 3x por semana. Foram realizadas contagem e morfometria da área de secção transversa (CSA) das fibras musculares, detecção de colágeno e identificação de adipócitos nos músculos GAM e SO, além das determinações de glicogênio muscular e hepático, seguido de análise estatística. **Resultados:** Os animais senis apresentaram menor valor de CSA, maior quantidade de IMCL e maior quantidade de tecido conjuntivo em ambos os músculos, porém não apresentou alterações na quantidade de glicogênio armazenada nos músculo e no fígado. Após o TF, houve aumento na CSA dos animais jovens e senis em ambos os músculos, diminuição na quantidade de IMCL no músculo SO dos animais senis, redução do conteúdo de tecido conjuntivo nos animais jovens e senis em ambos os músculos e, por fim, aumento no armazenamento de glicogênio no músculo e fígado dos animais jovens e senis. **Conclusão:** O protocolo de treinamento de

força realizado em ratos senis foi capaz de aumentar a CSA, diminuir a quantidade de IMCL, aumentar a quantidade de glicogênio armazenado e diminuir a quantidade de tecido conjuntivo presente nos músculos esqueléticos GAM e SO. Esses resultados mostram que há alterações no tamanho das fibras musculares, na quantidade de IMCL, no armazenamento de glicogênio e nas propriedades da MEC nos músculos estudados após a intervenção, comprovando que o treinamento de força minimiza os efeitos deletérios inerentes ao envelhecimento.

**Palavras-chave:** Envelhecimento. Exercício. CSA. Colágeno. IMCL. Glicogênio.

## ABSTRACT

**Introduction:** The skeletal muscle is the largest tissue present in vertebrates and is involved in locomotion, posture and breathing movements. It is composed of elongated, cylindrical and multinucleated muscle fibers with fat droplets in the sarcoplasm, known as intramyocellular lipid (IMCL) used as energy during exercise. Another source of energy used by the muscle is the carbohydrate stored in the body as glycogen, which is stored in the liver and muscle fibers. Muscle fibers are also surrounded by an extracellular matrix (ECM) formed, among other components, by collagen, mainly types I, III, IV and V. The aging process is associated with loss of muscle mass, muscle strength and function, increase of IMCL, reduction in glycogen synthesis with consequent insulin resistance, and also fibrosis and deposition of ECM. On the other hand, strength training (TF) is considered appropriate intervention to modify, minimize or reverse some physiological changes in skeletal muscle, as a result of aging. Thus, this study aimed to assess the cross section area of skeletal muscle fibers, amount of IMCL, glycogen content and MEC properties of the gastrocnemius (GAM) and soleus (SO) of young and senile rats after TF protocol. **Methods:** 28 rats were randomly divided into 4 groups: Youth (J); Old(S); Youth who underwent strength training (JT); Old who underwent strength training (ST). The animals performed strength training protocol consisting in climb a vertical ladder with weight strapped in their tails of 65%, 85%, 95% and 100% of the maximum load of the animal 3x a week for 12 weeks. CSA of muscle fibers, detection of collagen and identification of adipocytes in the GAM and SO muscles, beyond determinations of glycogen in the liver and skeletal muscle were performed. **Results:** Senile animals had lower CSA values, greater amount of IMCL, as well as of connective tissue in both muscles, but did not change the glycogen content in liver and muscle. After TF, the CSA increased in young and old animals in both muscles, the reduced IMCL in SO muscle of old animals, connective tissue decreased in young and old animals in both muscle and, finally, the glycogen content increased in liver and muscle of young and old animals. **Conclusion:** The strength training protocol in old rats was able to increase the CSA, decrease IMCL, increase of stored glycogen and decrease the connective tissue present in GAM and SO muscles. These results showed that there are changes in muscle fiber size, in the quantity of IMCL, in glycogen storage and in properties of the ECM of the GAM and SO muscle after intervention, indicating that strength training minimizes some deleterious effects inherent aging.

**Keywords:** Aging. Exercise. CSA. Collagen. IMCL. Glycogen.



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Adenosina Difosfato
ATP	Adenosina Trifosfato
CK	Creatine Kinase
CSA	Cross sectional area
DNA	Deoxyribonucleic acid
EMCL	Extramyocellular Lipid
GAM	Gastrocnêmio Medial
GBE	Glycogen branching enzyme
GLUT-4	Glucose Transporter type 4
GS	Glycogen Synthase
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IMCL	Intramyocellular Lipid
IRS-1	Insulin Receptor Substrate 1
J	Jovens
JT	Jovens Treinados
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de Potássio
KOH	Hidróxido de Potássio
LD	Lipid Droplets
MEC	Matriz Extracelular
MHC	Myosin Heavy Chain
RM	Repetição Máxima
ROS	Reactive Oxygen Species
S	Senis
ST	Senis Treinados
SO	Sóleo
TA	Tibial Anterior
TF	Treinamento de Força
TG	Triacilglicerol
VO <sub>2</sub> máx	Volume de Oxigênio Máximo

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Peso corporal entre grupos.....	30
<b>FIGURA 2.</b> Peso corporal dentro do mesmo grupo.....	31
<b>FIGURA 3.</b> Carga relativa.....	32
<b>FIGURA 4.</b> Área de secção transversa.....	32
<b>FIGURA 5.</b> CSA das fibras do músculo GAM.....	33
<b>FIGURA 6.</b> CSA das fibras do músculo SO.....	34
<b>FIGURA 7.</b> Quantidade de IMCL.....	35
<b>FIGURA 8.</b> IMCL do músculo GAM.....	35
<b>FIGURA 9.</b> IMCL do músculo SO.....	36
<b>FIGURA 10.</b> Quantidade de tecido conjuntivo.....	37
<b>FIGURA 11.</b> Tecido conjuntivo do músculo GAM.....	37
<b>FIGURA 12.</b> Tecido conjuntivo do músculo SO.....	38
<b>FIGURA 13.</b> Quantidade de glicogênio.....	39

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b>	<b>12</b>
1.1 Características gerais do músculo estriado esquelético	12
1.1.1 Tipos de fibras	12
1.1.2 Lipídeo Intramiocelular	14
1.1.3 Glicogênio	15
1.2 Características da matriz extracelular muscular	16
1.3 Alterações no músculo esquelético decorrentes do processo de envelhecimento	17
1.4 Treinamento de força no envelhecimento	19
<b>2. Justificativa</b>	<b>22</b>
<b>3. Proposição</b>	<b>24</b>
<b>4. Materiais e Métodos</b>	<b>25</b>
4.1 Animais	25
4.2 Grupos experimentais	25
4.3 Treinamento de força	25
4.4 Eutanásia dos animais, retirada e armazenamento dos músculos	26
4.5 Análise histológica	27
4.6 Análise histoquímica	27
4.7 Análise Bioquímica	28
4.8 Análise Estatística	28
<b>5. Resultados</b>	<b>30</b>
5.1 Peso corporal	30
5.2 Carga Relativa	31
5.3 Área de secção transversa	32
5.4 IMCL	34
5.5 Tecido conjuntivo	36
5.6 Glicogênio	38
<b>6. Discussão</b>	<b>40</b>
<b>7. Conclusão</b>	<b>45</b>
<b>Referências</b>	<b>46</b>

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Características gerais do músculo estriado esquelético

O músculo estriado esquelético forma o maior tecido presente nos vertebrados e está envolvido na locomoção, postura e movimentos respiratórios (Silva, 2007). O músculo esquelético é descrito como *estriado*, devido à alternância das bandas claras e escuras, ou estriações, criada pelo padrão de sobreposição dos filamentos protéicos citoplasmáticos que causam a contração muscular, e como *voluntário*, já que sua contração é controlada conscientemente (Saladin, 2003; Fox, 2007). Sua composição envolve tecido muscular, tecido conjuntivo, tecido nervoso e vasos sanguíneos (Graff, 2003).

O tecido muscular é formado por células alongadas, cilíndricas e multinucleadas, chamadas de fibras musculares ou miofibras, que apresentam diâmetro entre 10 e 100µm e até 30 cm de comprimento (Saladin, 2003). Cada fibra muscular está envolvida por um delicado tubo, denominado sarcolema, formado por 3 componentes: fibrilas reticulares, que seguem um curso em espiral ao redor da fibra, membrana basal e membrana plasmática (Silva, 2007). Essa estrutura apresenta invaginações, conhecidas como túbulos T cuja função é levar a corrente elétrica da superfície para o interior da célula quando essa é estimulada, e uma propriedade elástica capaz de suportar as distorções que ocorrem durante a contração, o relaxamento e o estiramento do músculo (Saladin, 2003). Ao longo de todo comprimento da fibra muscular encontramos uma matriz citoplasmática, chamada sarcoplasma e constituída por longos feixes de proteínas, conhecidas por miofibrilas, além de organelas, como as mitocôndrias e o retículo sarcoplasmático, grânulos de glicogênio e gotículas de gordura (Saladin, 2003). Essas miofibrilas, com aproximadamente 1µm de diâmetro, são compostas por miofilamentos finos, cujas proteínas envolvidas são actina, tropomiosina e troponina, e filamentos grossos, formados pela proteína miosina (Graff, 2003). O arranjo ordenado desses miofilamentos é o responsável pelas estriações transversais, decorrentes da organização dessas proteínas em unidades contráteis idênticas, conhecidas como sarcômeros, que constituem a unidade contrátil fundamental da fibra muscular (Silva, 2007).

### 1.1.1 Tipos de fibras

A disposição altamente organizada das fibras musculares contribui para uma variedade de capacidades funcionais. Esses tipos de fibras musculares podem ser delineados de acordo com as diferenças em suas propriedades funcionais e estruturais (Pette, 2000). Dessa forma, as fibras musculares podem ser classificadas pela sua coloração, fisiologia, bioquímica e limiar de fadiga.

A coloração do músculo foi utilizada em um dos primeiros relatos documentados sobre a classificação das fibras musculares (Pette, 1990). Por esse método descobriu-se que a maioria dos músculos de mamíferos é composta por dois tipos de fibras: as fibras vermelhas - usualmente finas, escuras e com muitas mitocôndrias e gotículas de gordura; e as fibras brancas - mais espessas, mais claras e com apenas algumas mitocôndrias e gotículas de gordura (Close, 1972).

Quanto à fisiologia, as fibras musculares podem ser classificadas de acordo com as isoformas da proteína miosina, cujas diferenças funcionais residem na porção da cadeia pesada da molécula (MHC) (Pette, 2000). A MHC é, portanto, a porção da cabeça da molécula de miosina que determina a velocidade da reação das pontes cruzadas da miosina com os filamentos de actina e, conseqüentemente, a velocidade de contração muscular (Minamoto, 2005). De acordo com as principais isoformas de MHC encontradas no músculo esquelético de mamíferos, existem três tipos de fibras puras: uma fibra lenta, conhecida como tipo I com MHC1 $\beta$ , e duas fibras rápidas, conhecidas como tipo IIA com MHCIIa e tipo IIB com MHCIIb (Pette, 2000).

Baseada nas propriedades bioquímicas, as fibras foram classificadas como fibras lentas e oxidativas, fibras rápidas glicolíticas oxidativas e fibras rápidas glicolíticas. A velocidade de contração dessas fibras difere devido ao mecanismo utilizado para a ressíntese do ATP após sua utilização como fonte de energia para as funções celulares, incluindo atividade contrátil. Os principais mecanismos envolvidos são: atividade creatina quinase (CK), glicólise e fosforilação oxidativa. A creatina quinase é responsável por regenerar rapidamente o ATP utilizando moléculas de fosfocreatina, consideradas um reservatório de fosfato de alta energia, evitando o acúmulo de ADP. Esse sistema PCr-CK localiza-se próximo à sítios de consumo de ATP, como miofibrilas e retículo sarcoplasmático, e representa um processo de alta energia, porém baixa capacidade na regeneração do ATP. Já a glicólise é responsável pelo metabolismo da glicose e do glicogênio levando à produção de piruvato e lactato, e representa a segunda fonte de ATP, com baixa energia, mas melhor capacidade quando comparada ao sistema PCr-CK. Por fim, a fosforilação oxidativa utiliza

como substrato o acetil-CoA, fornecido pelo piruvato, ácidos graxos e corpos cetônicos, e é caracterizada como um processo de baixa energia, porém com uma grande capacidade na regeneração do ATP (Schiaffino, 2011).

O limiar de fadiga, por sua vez, varia de acordo com o metabolismo da fibra. Dessa forma, as fibras lentas são bem adaptadas à respiração aeróbica e não produzem ácido láctico evitando que essas fadiguem facilmente. Já as fibras rápidas são ricas em enzimas do fosfagênio e dos sistemas ácido láctico-glicogênio produzindo, assim, ácido láctico e fadigando mais facilmente (Saladin, 2003).

Em resumo, as fibras são classificadas em três tipos. As fibras tipo I são vermelhas, apresentam metabolismo predominantemente oxidativo e, portanto, contração lenta; as fibras tipo IIA são conhecidas como fibras intermediárias, em sua maioria, vermelhas, porém com metabolismo tanto oxidativo como glicolítico e de rápida contração; e as fibras tipo IIB são brancas, com metabolismo predominantemente glicolítico e, portanto, contração rápida.

### *1.1.2 Lipídeo intramiocelular*

A gordura e o carboidrato são os principais substratos utilizados na síntese de ATP no músculo esquelético. A maioria da reserva energética é estocada como gordura, principalmente na forma de triacilglicerol (TG) depositado no tecido adiposo visceral e subcutâneo. Pequenas quantidades de TG também estão presentes em partículas lipoprotéicas circulantes, no tecido adiposo ao redor do músculo conhecido como lipídeo extramiocelular (EMCL), e em gotículas de gordura (LD) dentro das fibras musculares conhecidas como lipídeo intramiocelular (IMCL) (Howald, 2002; Loon, 2003). O IMCL encontra-se, portanto, armazenado no sarcoplasma das fibras musculares, usualmente em contato direto com as mitocôndrias. Esse contato leva à hipótese de que o IMCL serve como combustível para oxidação mitocondrial em situações onde o rápido suplemento de gordura é necessário, como durante um exercício (Schrauwen-Hinderling, 2006).

Dessa forma, a quantidade de IMCL encontrada no sarcoplasma das fibras, entre diferentes tipos de fibras, é variável. Estudos mostraram que a quantidade de IMCL dentro das fibras está positivamente relacionada com a capacidade oxidativa dessa fibra, portanto, as fibras tipo I apresentam maior conteúdo de IMCL do que as fibras tipo II (Watt, 2002). Correspondentemente, músculos com alta concentração de fibras tipo I, por exemplo, os músculos lentos como o Sóleo, apresentam maior conteúdo de IMCL do que os músculos

ricos em fibras tipo II, por exemplo, os músculos rápidos como Gastrocnêmio (Vermathen, 2012).

### *1.1.3 Glicogênio*

O carboidrato, uma das principais fontes de energia utilizadas pelo músculo esquelético durante a contração muscular, é estocado no corpo como glicogênio, um polímero ramificado formado por subunidades de glicose unidas por ligações glicosídicas. A síntese desse glicogênio é realizada pela autoglicosilação da glicogenina (núcleo protéico das partículas de glicogênio) seguido da ação das enzimas glicogênio sintase (GS) e glicogênio ramificação (GBE) responsável pelo alongamento do glicogênio (Murphy, 2012).

O glicogênio é armazenado no fígado e dentro das fibras musculares, principalmente nas regiões subsarcolemal, intermiofibrilar e intramiofibrilar (Cunha, 2005; Prats, 2011). No fígado, o estoque de glicogênio é de  $\approx 1$  MJ (240 kcal) geralmente utilizado para manter a concentração de glicose no sangue (Coyle, 2000). Essa preservação das condições homeostáticas da glicose ocorre através das vias metabólicas glicogenólise e gluconeogênese. A glicogenólise é o processo de degradação do glicogênio, onde a enzima glicogênio fosforilase hidrolisa as ligações glicosídicas do glicogênio e produz glicose-1-fosfato (G1P). A G1P é convertida em glicose-6-fosfato (G6P) que, por sua vez, é convertida em glicose pela enzima glicose-6-fosfatase (G6Pase). Essa via também pode ser utilizada na nutrição do músculo esquelético, porém como nesse tecido não há enzima G6Pase, a G6P é convertida em frutose-6-fosfato (F6P) que será utilizada na glicólise. Já a gluconeogênese é um processo em que algumas moléculas, como piruvato, lactato, glicerol, alanina e glutamina, são convertidas em glicose. No fígado, o nome dado a gluconeogênese é ciclo de Cori responsável pelo consumo de lactato, produzido pelas células musculares e eritrócitos durante a glicólise, para produção de glicose (Dashty, 2013).

No músculo esquelético, por sua vez, o estoque de glicogênio de 6–10 MJ (1500–2500 kcal) é responsável por fornecer glicose como fonte de ATP em situações de gasto energético, como durante uma contração muscular (Coyle, 2000; Murphy, 2012). Por esse motivo, o glicogênio muscular é um modulador chave na duração e desempenho do exercício e no aparecimento da fadiga (Shearer, 2004). Além disso, a quantidade de glicogênio presente no músculo varia de acordo com o tipo de fibra muscular, ou seja, fibras de contração rápida ou tipo II apresentam maior armazenamento de glicogênio e maior

atividade da enzima glicogênio fosforilase do que as fibras de contração lenta ou tipo I (Cussó, 2003).

## **1.2 Características da matriz extracelular muscular**

O músculo esquelético é composto não somente por tecido muscular, mas também por tecido conjuntivo fibroso (Saladin, 2003). As fibras musculares estão, portanto, envoltas por uma matriz extracelular (MEC) rica em carboidratos e proteínas que se inicia na membrana basal (membrana externa do sarcolema) e vai até a superfície do músculo, dando continuidade ao tendão (Imamura, 1999; Silva, 2007). Essa membrana basal é formada por duas camadas, a lâmina reticular e a lâmina basal, e apresenta vários componentes importantes como laminina, fibronectina, entactina, heparam sulfato e colágenos (Silva, 2007).

O colágeno é a proteína mais abundante da MEC, constituindo 20 a 25% de toda proteína do corpo. Na MEC muscular, o colágeno está presente principalmente nos tipos I, III e V, formadores de fibrilas, e no tipo IV, não formador de fibrilas (Takala, 2000). O colágeno tipo I é o mais comum, responsável por, aproximadamente, 90% do colágeno total, e encontra-se organizado em feixes grossos, conferindo resistência à estrutura muscular. O colágeno tipo III forma fibrilas finas e curtas; está, normalmente, associado ao colágeno tipo I; e é mais encontrado em tecidos com algum grau de elasticidade, como o músculo. Já o colágeno tipo IV é o componente estrutural mais abundante da membrana basal, fornecendo-lhe força mecânica; consiste em moléculas de colágeno que não estão em forma de fibrilas, mas permanecem unidas ponta a ponta para formar uma estrutura de rede; e está associado a vários componentes não fibrosos da MEC, formando uma membrana contínua que separa as estruturas. Por fim, o colágeno tipo V encontra-se em menor quantidade (5% do colágeno total); regula o diâmetro das fibras de colágeno; desempenha um importante papel na proliferação celular e reparo tecidual; e participa ativamente na interação dos componentes da MEC com outros tipos de colágeno associados, principalmente tipos I e III (Calvi, 2012). Esses colágenos desempenham uma função estrutural garantindo o alinhamento apropriado das fibras musculares. Dessa forma, fornecem, parcialmente, flexibilidade muscular, proporcionam força mecânica ao músculo e participam de um sistema de tolerância ao estresse que preenche o pré-requisito para absorção de choques (Imamura, 1999).

A partir dessa composição, a MEC muscular é, então, organizada em três níveis ao longo do músculo: o epimísio, formado por duas camadas de colágeno tipo I,



contínuas ao tendão, que envolve o músculo por inteiro; o perimísio, composto, principalmente, de colágeno tipo III, que liga grupos de fibras musculares reunidas em feixes, chamados fascículos, e transmite a força de tensão; e o endomísio, formado por colágeno tipo V e que circunda as fibras musculares individualmente permitindo o movimento durante a contração muscular (Imamura, 1999; Graff, 2003; Kjaer, 2004). Essa organização das fibras de colágeno é fundamental para coerência e resistência à tração do músculo esquelético normal, conservando a integridade física do músculo durante a contração muscular (Järvinen et al., 2003).

Dessa forma, as principais funções da MEC envolvem fornecer um suporte mecânico para veias e nervos; garantir a resposta elástica passiva do músculo; transmitir força das fibras musculares para o tendão e, subsequente, para o osso via junções miotendíneas e via transmissão lateral entre fibras e fascículos vizinhos dentro do músculo (Kjaer, 2004).

### **1.3 Alterações no músculo esquelético decorrentes do processo de envelhecimento**

O envelhecimento representa um processo complexo e inevitável caracterizado pela diminuição, dependente do tempo, das funções fisiológicas e bioquímicas dos principais sistemas, além de alterações morfológicas e bioquímicas a nível celular (Doria, 2012). Dentro desse processo está a sarcopenia, termo utilizado para descrever a perda de massa, força e função muscular, que pode prejudicar a qualidade de vida do idoso predispondo-o ao aumento dos riscos de morbidade, invalidez e mortalidade (Jang, 2010; Mitchell, 2012).

A perda de massa muscular está diretamente relacionada à diminuição no tamanho (atrofia) e no número (hipoplasia) de fibras musculares, principalmente das fibras de contração rápida ou tipo II (Narici e Mafulli, 2010). A atrofia muscular é causada por vários fatores, como redução no conteúdo e proliferação de células satélites, devido ao comprometimento de sua mobilidade e à redução na sua velocidade de migração; redução do estímulo mecânico causado pela diminuição da atividade física; declínio na liberação de hormônios importantes para a manutenção da massa muscular como, por exemplo, insulina, fator de crescimento-1 (IGF-1), testosterona e estrógeno; e ativação de vias inflamatórias causada por outras doenças relacionadas ao envelhecimento (Walston, 2012). Já a hipoplasia pode ser causada pela perda permanente do contato entre os motoneurônios e as fibras musculares reduzindo, portanto, o número de unidades motoras ativas. Quando esse processo neurogênico progressivo atinge uma fase onde a capacidade de reinervação fica muito diminuída, algumas fibras musculares são permanentemente desnervadas podendo causar a

apoptose dessas células e uma posterior substituição de tecido muscular por gordura ou tecido fibroso (Lexell, 1988).

A queda na produção de força e função muscular, por sua vez, está relacionada com a atrofia muscular, responsável pela perda de sarcômeros em série (diminuindo a área de secção transversa - CSA da fibra) e em paralelo, e com mudanças na qualidade do músculo, já que ocorre infiltração de tecido adiposo (IMCL) e conjuntivo no tecido muscular, condição conhecida como mioesteatose, prejudicando a habilidade contrátil da fibra muscular (Goodpaster, 2001; Narici and Maffulli, 2010).

Durante o envelhecimento, há um aumento excessivo na produção de ROS (Espécies Reativas de Oxigênio), incluindo radicais livres de oxigênio, radical ânion superóxido, radical hidroxil e oxidantes não radicais como peróxido de hidrogênio e oxigênio, que pode causar danos nas proteínas, nas membranas e no DNA das mitocôndrias prejudicando, assim, sua capacidade de sintetizar ATP e utilizá-lo em várias funções metabólicas (Doria, 2012). Essa redução na atividade oxidativa mitocondrial, entre outros danos, pode ocasionar aumento no conteúdo de IMCL que, por sua vez, irá reduzir a ativação das proteínas envolvidas na sinalização da insulina, como a IRS-1 (Insulin Receptor Substrate 1) e a proteína quinase B/Akt, e no transporte da glicose, como a GLUT-4 (proteína transportadora de glicose tipo 4), e irá, ainda, reduzir a atividade da enzima glicogênio sintase, responsável pela síntese do glicogênio (Ferrara, 2006; Nakagawa, 2007; Muoio, 2009). Essas alterações podem gerar aumento da resistência a insulina e diminuição da produção de glicogênio no tecido muscular (Gupta, 2000).

Outra alteração presente no envelhecimento é o aumento de tecido conjuntivo responsável pela fibrose e deposição de MEC no tecido muscular (Mann, 2011). Um dos principais componentes desse tecido conjuntivo é o colágeno, cujo metabolismo e propriedades mecânicas demonstram alterações evidentes no processo de envelhecimento, assim como, o arranjo e o tamanho de suas fibras e das ligações cruzadas intermoleculares desempenham um importante papel na determinação das propriedades bioquímicas da MEC nos músculos (Gao, 2008). Dessa forma, o aumento de tecido conjuntivo está relacionado ao desuso muscular, presente no envelhecimento, causando perda da orientação paralela das fibras colágenas e substituição do tecido muscular por tecido conjuntivo, e à redução na degradação e síntese das fibras colágenas gerando aumento na quantidade de ligações cruzadas dentro e entre as fibrilas. Essas alterações tornam as fibras colágenas mais frágeis, aumentando a rigidez muscular e diminuindo a força tênsil do músculo (Imamura, 1999).

Essas alterações encontradas no processo de envelhecimento estão relacionadas às limitações funcionais, mobilidade reduzida, incapacidade, quedas, fraturas e fragilidade diminuindo a qualidade de vida do indivíduo (Freiberger, 2011).

#### **1.4 Treinamento de força no envelhecimento**

O treinamento do músculo é tipicamente dividido em 2 categorias: resistência e força. O treinamento de resistência refere-se ao exercício direcionado à melhora da resistência (duração pela qual uma pessoa pode manter atividade extenuante) e da capacidade aeróbica (captação de oxigênio máximo -  $VO_2\text{max}$ ) e é caracterizado por atividades com frequência diária, intensidade moderada a vigorosa e duração de, pelo menos, 30 minutos ao dia (Williams, 2002; Freiberger, 2011). Já o treinamento de força (TF) refere-se ao exercício voltado para melhora da capacidade de geração de força máxima do músculo e é caracterizado por atividades com sobrecarga progressiva, intensidade alta e poucas repetições. Dessa forma, o TF é considerado uma intervenção apropriada para alterar, diminuir ou reverter parcialmente algumas alterações fisiológicas que ocorrem no músculo esquelético durante o processo de envelhecimento (Williams, 2002; Freiberger, 2011).

Porém, para que o treinamento de força seja realmente eficaz em idosos é necessário um programa de treinamento específico. Mayer e colaboradores (2011) demonstraram que o treinamento de força com 3 séries de 8-12 repetições e intensidade de 70-85% de uma repetição máxima, frequência de 2-3 vezes por semana por, pelo menos, 8-12 semanas, otimizará os efeitos benéficos do treinamento físico durante o processo de envelhecimento. Esse estudo confirmou a recomendação feita pelo *American College of Sports Medicine* em sua declaração oficial de 2009, que defende o programa de treinamento, formado por 3 séries de 8-12 repetições com 60-80% de 1 RM, 1-3 minutos de descanso entre as séries e de 2-3 vezes por semana, para melhoria da força e hipertrofia em idosos (Ratamess, 2009).

Uma das alterações causadas pelo TF é o aumento na CSA da fibra muscular ou hipertrofia. Essa hipertrofia muscular ocorre devido a três principais situações: alteração na função neural, aumento da síntese de proteínas musculares e ação das células satélites. As adaptações neurais incluem aumento no número de unidades motoras recrutadas e na taxa de ativação e sincronização de unidades motoras individuais; expansão nas dimensões da junção neuromuscular indicando melhor conteúdo de neurotransmissores pré-sinápticos e receptores pós-sinápticos; e aumento do acionamento neural pelo sistema nervoso central (Deschenes,

2002; Macaluso, 2004). Já o aumento da síntese de proteínas musculares ocorre devido aumento da liberação de IGF-1 (insulin-like growth factor-1), capaz de interagir e ativar as células satélites que irão fundir-se às miofibras já existentes adicionando-as novos núcleos. Dessa forma, há um aumento na síntese e no crescimento de proteínas contráteis que irá gerar hipertrofia de todo o músculo (5-8%) e das próprias fibras musculares (25-35%), além da formação de novas miofibras ou hiperplasia ( $\approx 5\%$ ) (Deschenes, 2002).

Essa hipertrofia gerada pelo TF ocorre nos três principais tipos de fibras musculares (I, IIa e IIb), porém as fibras tipo IIa apresentam maior crescimento, seguido pelas fibras tipo IIb e as fibras tipo I, que exibem a menor hipertrofia. Além disso, o treinamento produz mudanças no perfil dos tipos de fibras e na composição da cadeia pesada da miosina (MHC) gerando transições dentro dos subtipos da fibra tipo II, ou seja, um aumento na porcentagem das fibras tipo IIa com concomitante diminuição na porcentagem das fibras tipo IIb, porém sem causar qualquer mudança entre as fibras tipos I e II. Essas transições entre as fibras ocorrem de acordo com a necessidade de energia do músculo. Portanto, o desequilíbrio entre a energia necessária e a energia fornecida pode provocar um ajuste adequado na expressão do tipo de fibra, já que as fibras tipo IIb apresentam maior gasto energético, enquanto as fibras tipo IIa são intermediárias e as tipo I geram um gasto menor (Bird, 2005).

O TF também é capaz de diminuir o estresse oxidativo e aumentar a atividade de enzimas antioxidantes que, juntamente com o aumento na quantidade de fibras tipo IIa, permite a melhora na capacidade oxidativa das mitocôndrias, contribuindo para uma melhor função mitocondrial (Staron, 1984; Melov, 2007; Balakrishnan, 2010). Essa melhora na capacidade oxidativa gerada pelo TF pode diminuir os depósitos de lipídeos dentro (IMCL) e fora do tecido muscular (Deschenes, 2002). A diminuição de IMCL, por sua vez, proporciona uma melhora na qualidade no tecido muscular, aumentando sua capacidade de geração de força, e um aumento na atividade basal da enzima glicogênio sintase e do nível de transportadores da glicose (Ferrara, 2006). Essas alterações são responsáveis pela melhora na sensibilidade à insulina e na homeostase da glicose presente no sangue, prevenindo o desenvolvimento de síndrome metabólica, e pelo aumento na capacidade do fígado e do músculo esquelético em produzir e armazenar glicogênio (Ferrara, 2006). O TF, portanto, melhora a composição corporal de indivíduos idosos e diminui a chance de co-morbidades associadas à obesidade, como hipertensão, diabetes tipo II e doença arterial coronariana (Deschenes, 2002).

A MEC do músculo esquelético é conhecida por responder ao aumento da carga causado pelo treinamento de força, exercício agudo ou hipertrofia compensatória experimental por meio do aumento da síntese e/ou acúmulo de colágeno (Takala, 2000). Dessa forma, a carga mecânica aumenta a taxa de deposição e degradação do colágeno, ou seja, a taxa de “turnover”, e permite uma orientação mais paralela das fibras colágenas ao longo do eixo do estresse aplicado gerando, por fim, a redução nos níveis de ligações cruzadas que promove a diminuição na rigidez muscular e beneficia as propriedades mecânicas do músculo (Kragstrup 2011).

Nesse contexto, a hipótese desse trabalho consiste no protocolo de treinamento de força poder minimizar as alterações no tamanho das fibras musculares, na quantidade de IMCL, no armazenamento do glicogênio e nas propriedades da MEC muscular durante o processo de envelhecimento em ratos.

## 2 JUSTIFICATIVA

O crescimento da população brasileira acima dos 60 anos foi de 100% entre os anos de 1950 e 2000 e as estimativas apontam para um crescimento ainda mais significativo nas próximas décadas onde, no ano de 2040, 27% da população brasileira será idosa e, em 2050, 6% terá mais de 80 anos (IBGE, 2010).

O processo de envelhecimento é complexo e multifatorial caracterizado por alterações nas células e tecidos gerando deterioração progressiva da integridade estrutural e das funções fisiológicas (Semba, 2010). No sistema musculoesquelético, há perda das capacidades relacionadas à coordenação, flexibilidade, força muscular, velocidade e resistência causadas pela redução da atividade contrátil, atrofia progressiva, perda de fibras musculares individuais e alterações na integridade estrutural e funcional da matriz extracelular (Dudhia, 2007; Hollmann, 2007; Mann, 2011). Além disso, o tecido muscular apresenta perda de função e menor capacidade de se regenerar e recuperar quando comparado à fase jovem, tornando-se mais sensíveis aos danos. Esses fatos contribuem para a fragilidade física e redução da atividade na velhice, podendo gerar déficits de equilíbrio e alterações na marcha, predispondo os idosos à quedas, limitações funcionais e lesões e reduzindo sua qualidade de vida (Burnfield, 2000; Dudhia, 2007).

Essas informações tornam a área de cuidado ao idoso relevante, uma vez que o envelhecimento fisiológico está associado à doenças crônico-degenerativas, tornando os idosos vulneráveis à deterioração físico-funcional com, conseqüente, perda de autonomia e independência. Desse modo, a busca por opções de tratamento e prevenção é de suma importância, porém essa proposta ainda esbarra na dificuldade da compreensão da biologia básica dos músculos durante o envelhecimento (Bi, 2007).

Dessa forma, novos estudos são relevantes para investigar formas de prevenir ou minimizar as perdas decorrentes da idade, principalmente as que comprometem a capacidade funcional do sistema musculoesquelético. Nesse contexto, o treinamento físico tem sido descrito como uma intervenção importante para minimizar a perda da massa, força e função muscular em pessoas idosas (Aagaard, 2010; Sakuma e Yamaguchi, 2010). O treinamento de força promove hipertrofia das células musculares, diminuição das ligações cruzadas do colágeno e reorganização do mesmo, alterações essas que levam ao aumento da força e diminuição da rigidez muscular (Imamura, 1999; Kragstrup, 2011). O

condicionamento causado pelo treinamento também pode aperfeiçoar a utilização da glicose como fonte de energia durante o exercício e a produção do glicogênio, para armazenamento de glicose durante o repouso, além de melhorar a qualidade da contração muscular atuando por meio da diminuição na deposição de tecido conjuntivo e de IMCL no músculo.

Desse modo, acredita-se que o resultado desse estudo propiciará importante contribuição para melhor se compreender a ação do protocolo de treinamento de força sobre os efeitos deletérios do envelhecimento, favorecendo o processo de reabilitação física. Vários aspectos aqui estudados trarão grande auxílio para a ciência básica, bem como para a aplicação nas áreas de reabilitação e promoção de saúde em geriatria/gerontologia.

### **3 PROPOSIÇÃO**

Avaliar o tamanho das fibras musculares, a quantidade de IMCL, o armazenamento do glicogênio e as propriedades da MEC dos músculos gastrocnêmio e sóleo de ratos jovens e senis após protocolo de treinamento de força.



## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Animais**

Para o desenvolvimento deste estudo foram utilizados 28 ratos, *Wistar novergicus albinus* de 3 meses (jovens, n = 14) e 20 meses (senis, n = 14), provenientes do Biotério Central da UNESP (Campus de Botucatu). Os ratos foram mantidos no Biotério do Laboratório de Fisiologia do Exercício da Universidade Federal de São Carlos em temperatura ambiente, entre 22 e 24°C, com luz controlada em ciclo de 12h (claro/escuro). A água e a comida foram administradas *ad libitum*. Os animais foram pesados 3x por semana durante todo o período de treinamento. O experimento foi conduzido segundo as normas internacionais de ética na experimentação animal (National Research Council, 1996). Esse projeto, com a descrição minuciosa de todos os procedimentos, foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos com protocolo nº 056/2010.

### **4.2 Grupos Experimentais**

Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos experimentais (7 animais/grupo), na seguinte ordem: Jovens (J); Senis (S); Jovens que realizaram treinamento de força (JT); Senis que realizaram treinamento de força (ST).

### **4.3 Treinamento de força**

O treinamento de força durou 12 semanas e foi realizado com frequência de 3x por semana. Inicialmente, os ratos foram adaptados ao protocolo de treinamento de força que incluía escalada em escada vertical (1,1 x 0,18 m, degrau de 2cm, inclinação de 80°) com os pesos presos em suas caudas. O tamanho da escada fez com que os animais realizassem 8-12 movimentos por escalada. O aparato de carga foi preso na porção proximal da cauda com uma fita auto-adesiva. Com o aparato fixado à cauda, os ratos foram colocados na parte inferior da escada e familiarizados com a mesma. Quando necessário, um estímulo de pinça foi aplicado na cauda do animal para iniciar o movimento. No topo da escada os ratos alcançavam uma gaiola (20 x 20 x 20 cm) onde descansavam durante 2 minutos. Este procedimento foi repetido até que os animais conseguissem, voluntariamente, escalar três vezes consecutivas toda a escada. Três dias após esta familiarização, a primeira sessão de treinamento consistiu

de 4-9 escaladas na escada com cargas progressivamente mais pesadas. A escalada inicial consistiu em carregar uma carga de 75% do peso corporal do animal. Em seguida, foi adicionado peso de 30g até a carga com a qual o rato não conseguiu mais escalar toda a escada. A falha em escalar foi determinada quando o animal não conseguiu progredir na subida da escada após três estímulos sucessivos na cauda. A maior carga carregada por toda a escada foi considerada como a capacidade máxima inicial de carregamento do rato para aquela sessão de treinamento. As sessões de treinamento consistiram em escaladas com 65%, 85%, 95% e 100% da capacidade máxima de carregamento do animal, determinada na sessão anterior. Nas escaladas subsequentes foram adicionados 30g até uma nova capacidade máxima de carregamento ser determinada, sendo o máximo de 5 escaladas extras. O protocolo de treinamento de força apresenta metodologia similar aos usados em humanos e foi adaptado de Hornerberg e Farrar (2004) de acordo com as necessidades do presente estudo.

#### **4.4 Eutanásia dos animais, retirada e armazenamento dos músculos**

Após 48h do término do período experimental, todos os procedimentos foram realizados com os animais anestesiados, utilizando-se injeção intraperitoneal de solução de xilazina (12mg/Kg/peso corporal) e quetamina (95mg/Kg/peso corporal). Em seguida, os animais foram posicionados em uma mesa cirúrgica em decúbito dorsal, com as patas presas e mantidas em extensão, para a retirada dos músculos gastrocnêmio medial e sóleo e fígado. Ao final da remoção dos tecidos, os animais foram submetidos a uma overdose de anestésico para eutanásia dos mesmos.

Os músculos da pata posterior direita de cada animal foram separados em porções proximais e distais, sendo, nesse estudo, utilizadas somente as porções proximais de cada músculo. Esses músculos foram fragmentados e congelados rapidamente em isopentano, previamente resfriado em Becker suspenso sobre nitrogênio líquido (-150°C). Os fragmentos congelados foram transferidos para a câmara do micrótomo criostato (-25°C) e aderidos com cola branca sobre o suporte metálico, orientando-os convenientemente. Os cortes transversais seriados com 10 µm foram aderidos à superfície da lâmina para serem, então, submetidos às análises de histologia, histoquímica e bioquímica.

Os músculos gastrocnêmio e sóleo da pata posterior esquerda e o fígado foram utilizados para análise de glicogênio, enquanto as porções distais da pata posterior direita de ambos os músculos foram utilizados para outras análises não relacionadas com esse estudo.

#### **4.5 Análise Histológica**

As lâminas com os cortes histológicos foram coradas com azul de toluidina (TB) para avaliação morfométrica. Os cortes foram, então, fotografados no microscópio Leica DM4000 B com câmera Leica EC3 e objetiva de 20x. A contagem e a morfometria da área de secção transversa (CSA) das fibras musculares foram realizadas pelo programa de análise Image J, versão 1.43 (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>). Cada fibra muscular foi circulado manualmente resultando no valor de sua área, em pixels, e na contagem automática das mesmas. Em seguida, foi realizada a média das áreas de 200 fibras, escolhidas aleatoriamente, em cada músculo e grupo analisado.

#### **4.6 Análise Histoquímica**

Outras lâminas com os cortes histológicos foram coradas com Tricômio de Masson para detecção de colágeno e com Oil Red para identificação de adipócitos dentro e entre as fibras musculares.

A coloração Tricômio de Masson foi realizada inicialmente com o mergulho das lâminas em álcool absoluto, álcool 90%, álcool 70% e água deionizada, separadamente e por 3 minutos cada. Em seguida, as lâminas foram coradas com hematoxilina de Harris durante 30 segundos e lavadas em água corrente por, aproximadamente, 3 minutos. Após permanecerem cerca de 1 minuto mergulhadas em água acética 1%, as lâminas foram coradas com a Solução A, composta por fucsina ácida, ácido acético glacial e água destilada e responsável por colorir as fibras musculares, por 30 segundos. Novamente, foram lavadas em água destilada e água acética 1% por, aproximadamente, 1 minuto cada e mergulhadas em ácido fosfomolibídico 1% por 1 minuto e meio. Em seguida, foram coradas com azul de metila por 5 segundos, para colorir o colágeno, lavadas em água acética 1% por 1 minuto e, novamente, mergulhadas em ácido fosfomolibídico 1% por 1 minuto e meio. Para finalizar, as lâminas foram mergulhadas duas vezes e rapidamente em álcool 95%, seguido por mergulhos separados de 2 minutos cada em álcool absoluto, álcool/xilol e xilol e montadas com as lamínulas.

Para coloração Oil red, foi necessário diluir 0,5g de corante Oil red O (CI 26125) em 100ml de isopropanol e diluir 30 ml dessa solução em 20 ml de água destilada, aguardar 10 minutos e filtrar com papel filtro. Depois da solução pronta, as lâminas foram lavadas em isopropanol 60% e mergulhadas na solução anterior durante 15 minutos. Em seguida, foram novamente lavadas em isopropanol 60% e montadas com as lamínulas. Os

protocolos de ambas as colorações foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Bi e colaboradores (2007).

Depois de corados, os cortes histológicos foram fotografados, em objetiva de 20x, e analisados pelo programa de análise Image J, versão 1.43, a partir da segmentação por conglomerado de cor (Miot e Brianezi, 2010) permitindo a quantificação do percentual total de colágeno e adipócitos por imagem de cada grupo e músculo.

#### **4.7 Análise Bioquímica**

As determinações de glicogênio foram realizadas como descrito por Bidinotto e colaboradores (1997). Amostras do fígado e dos músculos gastrocnêmio (regiões branca e vermelha) e sóleo foram transferidas para um tubo de ensaio, contendo 1,0ml de KOH 6,0N, e incubadas por cinco minutos a 100°C em banho-maria, para dissolução dos tecidos. Em seguida, 250ml de extrato foram transferidos para um tubo rigorosamente limpo onde foram adicionados 3ml de etanol, para precipitação do glicogênio, e 100µl de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% seguidos de agitação, para torná-lo solúvel ao meio. As amostras foram centrifugadas a 3.000xg por três minutos e o precipitado ressuscitado em 2,5ml de água destilada, seguido de agitação. Um volume dessa dissolução foi analisado quanto ao seu teor de açúcares pelo método de DUBOIS (1956), que utiliza fenol e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para hidrolisar as ligações glicosídicas e desidratar o monossacarídeo resultante em um furfural específico, nesse caso o hidroximetilfurfural de cor amarelada. Em seguida, foi realizada a leitura óptica em 480nm. A concentração de açúcares totais foi estimada contra um padrão de glicose 1mM e o valor foi expresso em µmol de glicosil-glicose/mg de tecido.

#### **4.8 Análise Estatística**

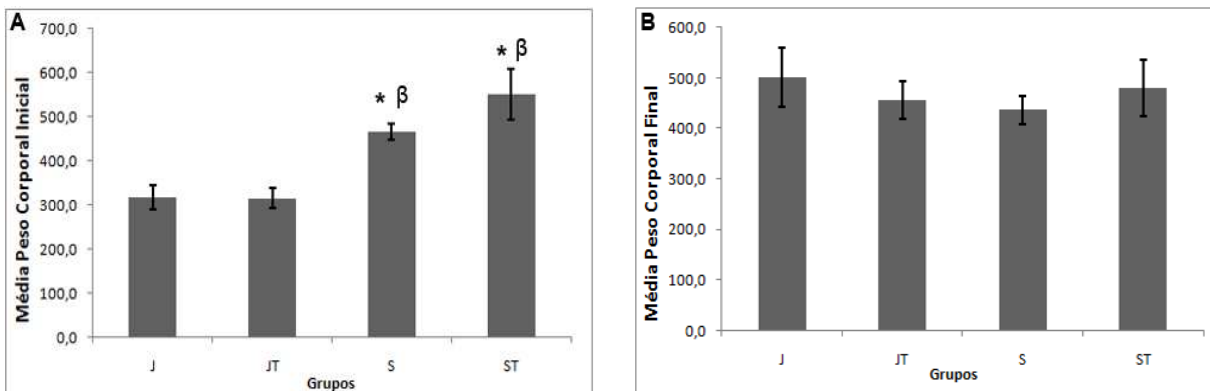
O valor dos pesos corporais e dos pesos relativos, dos músculos Gastrocnêmio Medial (GAM) e Sóleo (SO), dos grupos Jovens (J), Jovens Treinados (JT), Senis (S) e Senis Treinados (ST) foram comparados utilizando o teste de Tukey da análise de variância ANOVA. Para as demais variáveis, foi realizado inicialmente o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e o teste de homocedasticidade (Levene). Para as variáveis que apresentaram distribuição normal e homocedasticidade foram utilizados ANOVA e o teste F, porém quando a diferença apresentada foi significativa utilizou-se o teste de Tukey para as comparações múltiplas. Quando o critério de distribuição normal e homocedasticidade não foram contemplados, utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis a fim de verificar

a diferença entre os grupos. Para todos os cálculos foi fixado um nível crítico de 5% ( $p < 0,05$ ). Para isso, o software utilizado em todos os testes estatísticos foi o Statistica<sup>®</sup> 6.1. Os resultados foram apresentados na forma de média e  $\pm$  desvio padrão (SD).

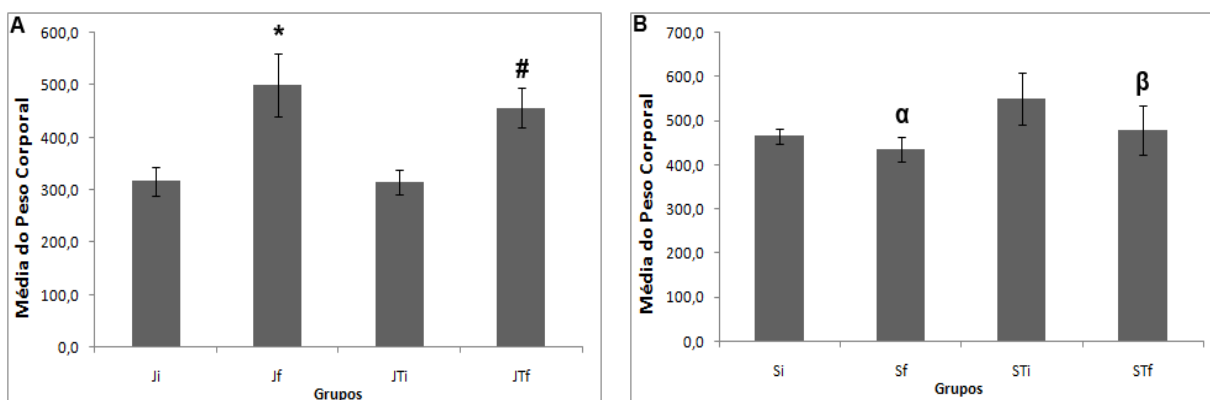
## 5 RESULTADOS

### 5.1 Peso Corporal

O peso corporal foi avaliado utilizando o valor encontrado no início do treinamento de força e nas 48 horas após a última sessão de treinamento, por meio das médias do peso corporal inicial e final entre os grupos, como ilustrado na Figura 1. Como esperado, a média do peso corporal inicial dos grupos S e ST mostrou-se 59,3% e 73,4% maior do que a média do grupo J ( $p < 0,05$ ), e 47,5% e 74,3% maior do que a do grupo JT, respectivamente (Figura 1A;  $p < 0,05$ ). Já a média do peso corporal final não apresentou diferença significativa quando comparada entre os quatro grupos (Figura 1B;  $p < 0,05$ ). Além disso, comparando a média do peso corporal inicial com a do peso corporal final dentro do mesmo grupo, foi possível perceber que houve aumento de 57,8% e 44,4% no peso final dos grupos J e JT, respectivamente, quando comparados ao peso inicial dos mesmos grupos (Figura 2A;  $p < 0,05$ ). Porém, o peso final dos grupos S e ST apresentaram-se diminuídos (6,8% e 15%, respectivamente) quando comparados ao peso inicial dos mesmos grupos (Figura 2B;  $p < 0,05$ ).



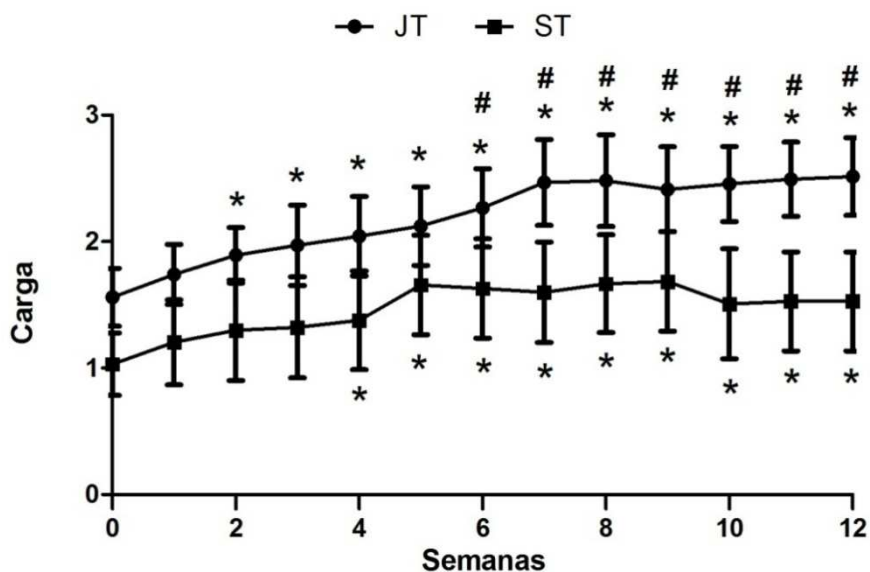
**Figura 1. *Peso corporal entre grupos*:** médias de peso corporal dos grupos Jovens (J), Jovens Treinados (JT), Senis (S) e Senis Treinados (ST) no início (A) e no final do treinamento (B). Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \* diferente de J ( $p < 0,05$ );  $\beta$  diferente de JT ( $p < 0,05$ ).



**Figura 2. Peso corporal dentro do mesmo grupo:** médias de peso corporal inicial e final dos grupos Jovens (J) e Jovens Treinados (JT) em A e dos grupos Senis (S) e Senis Treinados (ST) em B. Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \* diferente de Ji ( $p < 0,05$ ); # diferente de JTi ( $p < 0,05$ );  $\alpha$  diferente de Si ( $p < 0,05$ ); e  $\beta$  diferente de STi ( $p < 0,05$ ).

## 5.2 Carga Relativa

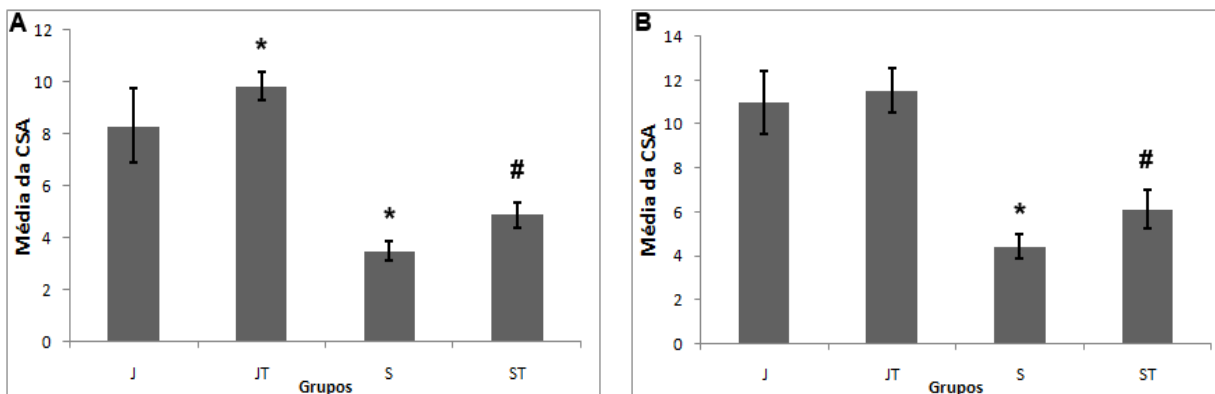
A carga relativa foi calculada utilizando a carga de carregamento do animal sobre o peso corporal de cada animal a cada treino (carga/peso corporal). Em seguida, calculou-se a média semanal da carga relativa dos grupos JT e ST (Figura 3). No grupo JT, houve aumento da carga de carregamento (21,3%) na segunda semana de treinamento quando comparada à semana inicial (semana 0), mantendo-se estável até a quinta semana ( $p < 0,05$ ). Na sexta semana (semana 6), ocorreu um novo aumento da carga de carregamento (19,7%) quando comparada à segunda semana (semana 2), mantendo-se novamente estável até a décima segunda semana de treinamento (semana 12;  $p < 0,05$ ). Além disso, o grupo ST apresentou ganho da carga de carregamento (33,6%) na quarta semana de treinamento (semana 4) quando comparada à semana inicial (semana 0). Após esse período, não houve mais nenhuma alteração significativa da carga de carregamento até o final do treinamento (semana 12;  $p < 0,05$ ).



**Figura 3. Carga Relativa:** médias das cargas relativas dos grupos Jovens Treinados (JT) e Senis Treinados (ST) por semana de treinamento (semana 0 a 12). Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \* demonstra o aumento na carga relativa quando comparada ao início do treinamento nos grupos JT e ST (\* diferente da semana 0;  $p < 0,05$ ); # ilustra o segundo aumento na carga relativa somente do grupo JT (# diferente da semana 2;  $p < 0,05$ ).

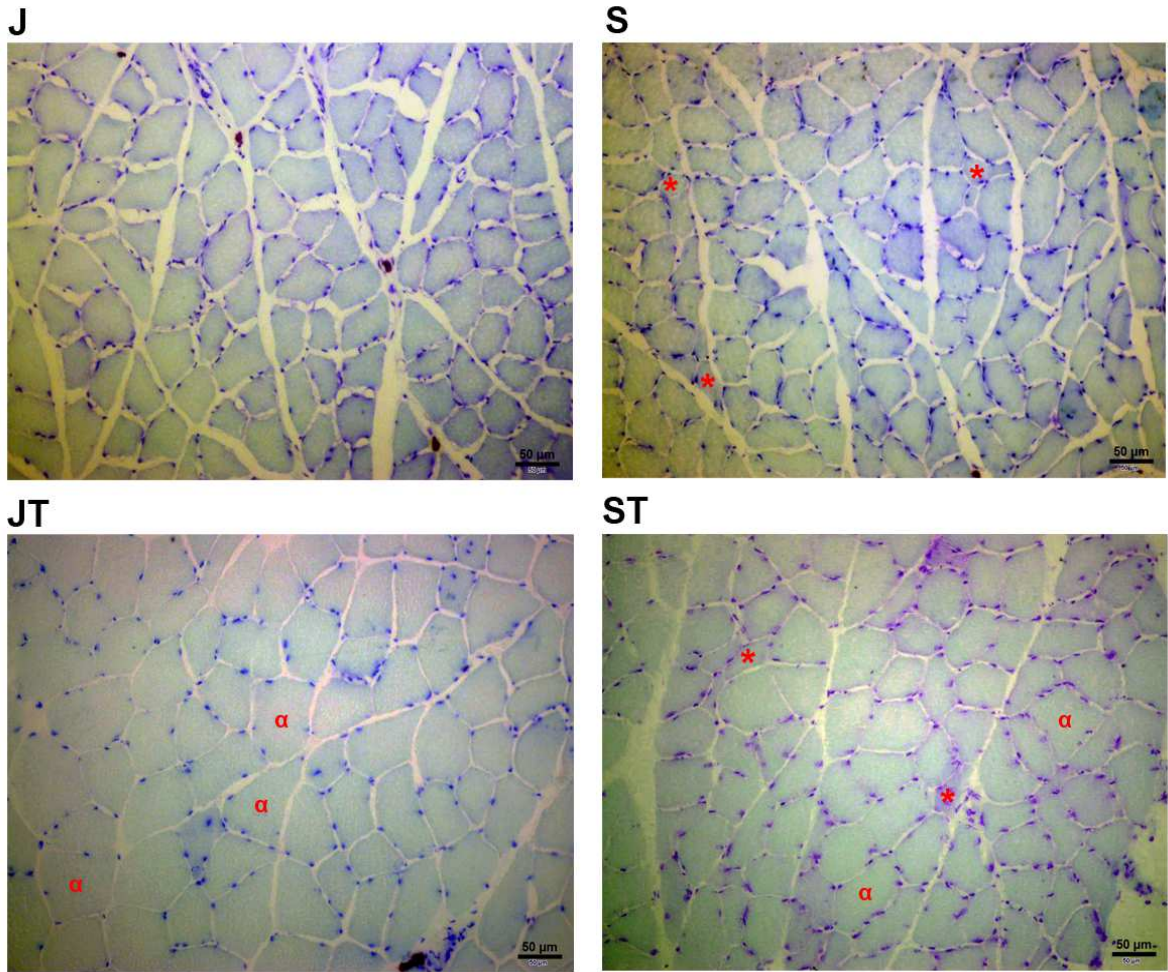
### 5.3 Área de Secção Transversa

Foram mensuradas as áreas de secção transversa das fibras musculares de GAM e SO. Em seguida, foi realizada a normalização desses valores pela média da área sobre o peso corporal de cada animal (CSA/peso corporal). Os animais senis apresentaram menor valor de CSA em ambos os músculos (GAM: 58,1% e SO: 59,4%;  $p < 0,05$ ) quando comparados aos jovens. A partir daí, o TF aumentou a CSA tanto dos animais jovens no músculo GAM (18,7%;  $p < 0,05$ ) quanto dos senis em ambos os músculos (GAM: 40,4% e SO: 37,6%;  $p < 0,05$ ). Esses dados estão ilustrados nas Figuras 4, 5 e 6.

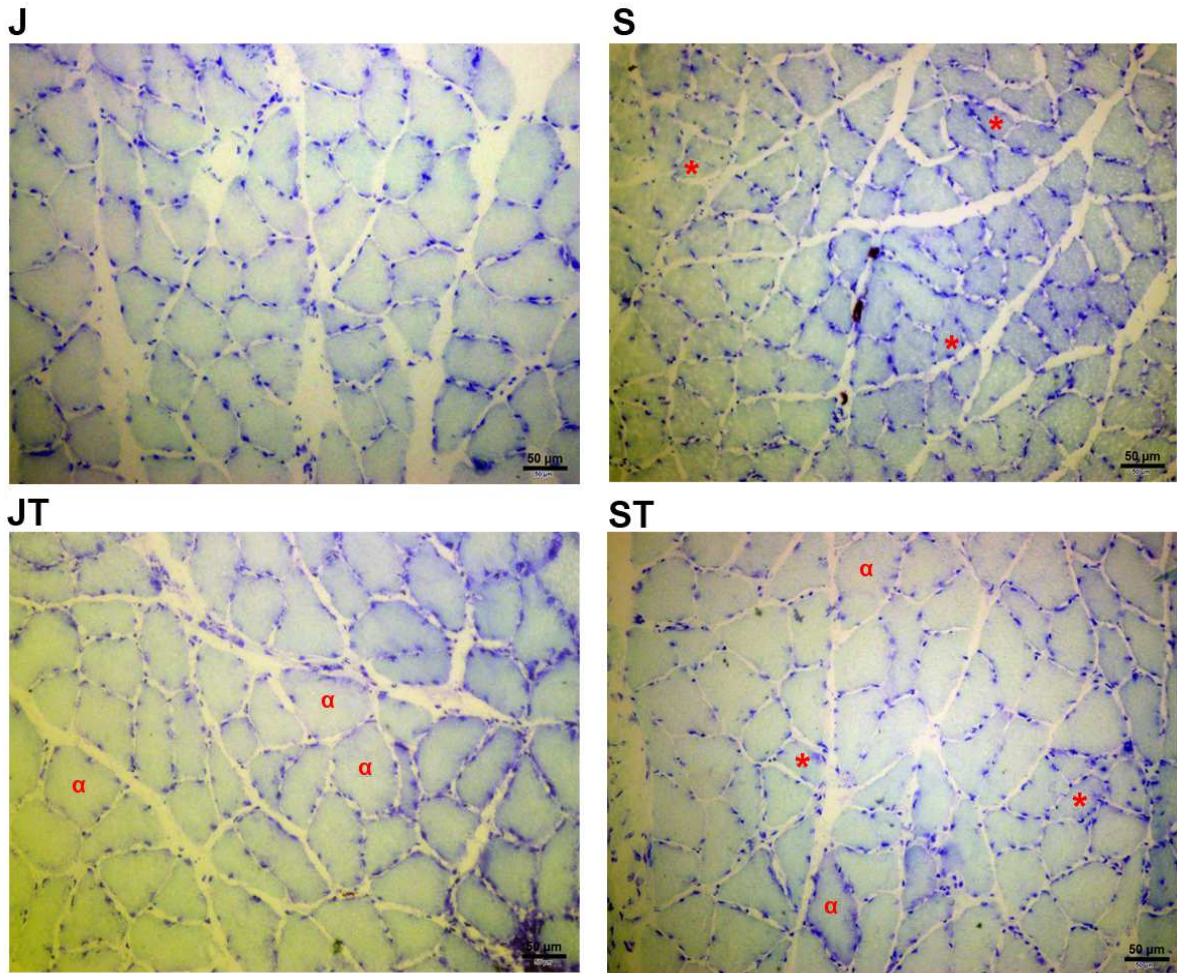


**Figura 4. Área de secção transversa:** média da CSA das fibras dos grupos Jovens (J), Jovens Treinados (JT), Senis (S) e Senis Treinados (ST) dos músculos GAM (A) e SO (B). Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \* diferente de J ( $p < 0,05$ ) e # diferente de S ( $p < 0,05$ ).





**Figura 5. CSA das fibras do músculo GAM.** Imagens da coloração com Azul de Toluidina, em aumento de 20x, ilustrando as fibras e núcleos musculares em azul. Imagem J é referente ao grupo Jovens, S ao grupo Senis, JT ao grupo Jovens Treinados e ST ao grupo Senis Treinados. \* fibras atrofiadas e  $\alpha$  fibras hipertrofiadas.

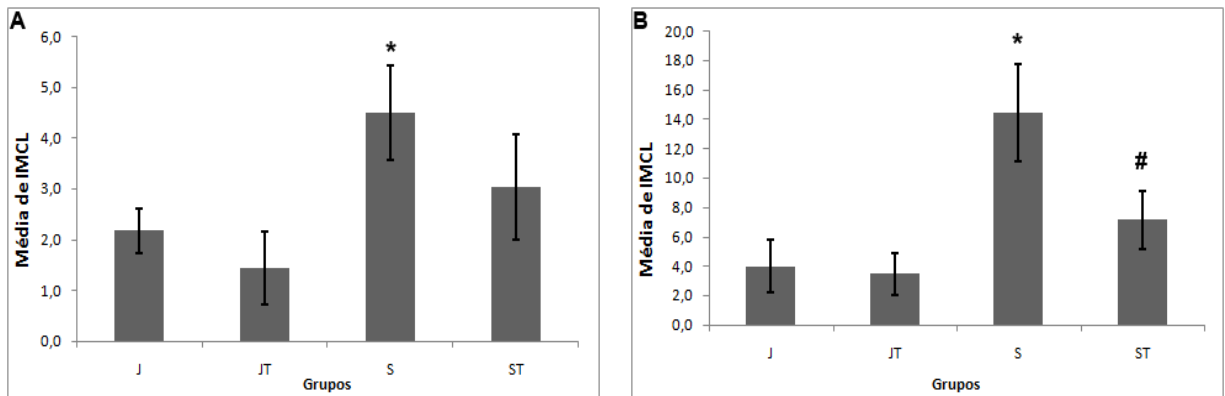


**Figura 6. CSA das fibras do músculo SO.** Imagens da coloração com Azul de Toluidina, em aumento de 20x, ilustrando as fibras e núcleos musculares em azul. Imagem J é referente ao grupo Jovens, S ao grupo Senis, JT ao grupo Jovens Treinados e ST ao grupo Senis Treinados. \* fibras atrofiadas e  $\alpha$  fibras hipertrofiadas.

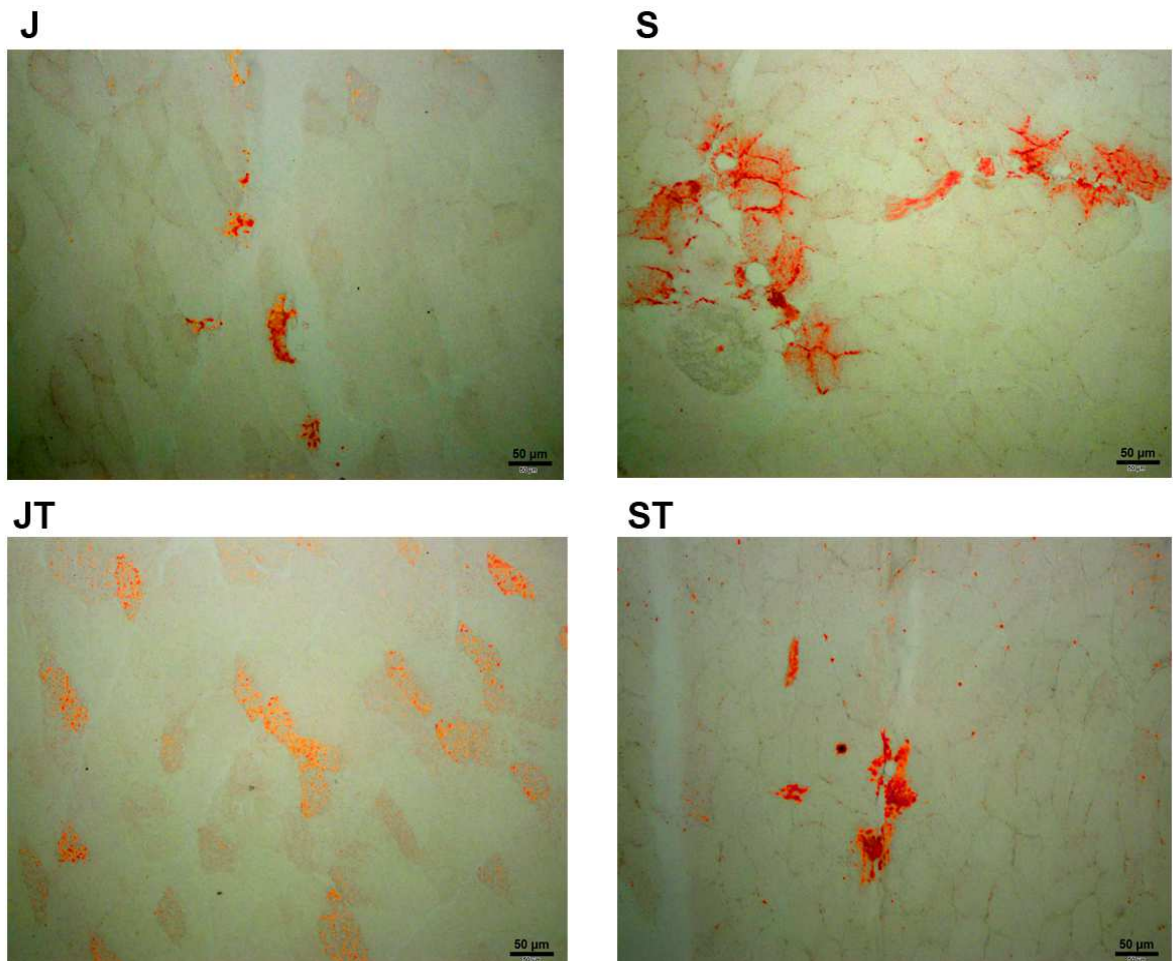
#### 5.4 IMCL

Os animais senis apresentaram maior quantidade de IMCL em ambos os músculos (GAM: 95,9% e SO: 261,6%;  $p < 0,05$ ) quando comparados aos jovens. Após o TF, a quantidade de IMCL diminuiu somente no músculo SO dos animais senis (50,5%;  $p < 0,05$ ). Esses dados estão ilustrados nas Figuras 7, 8 e 9.

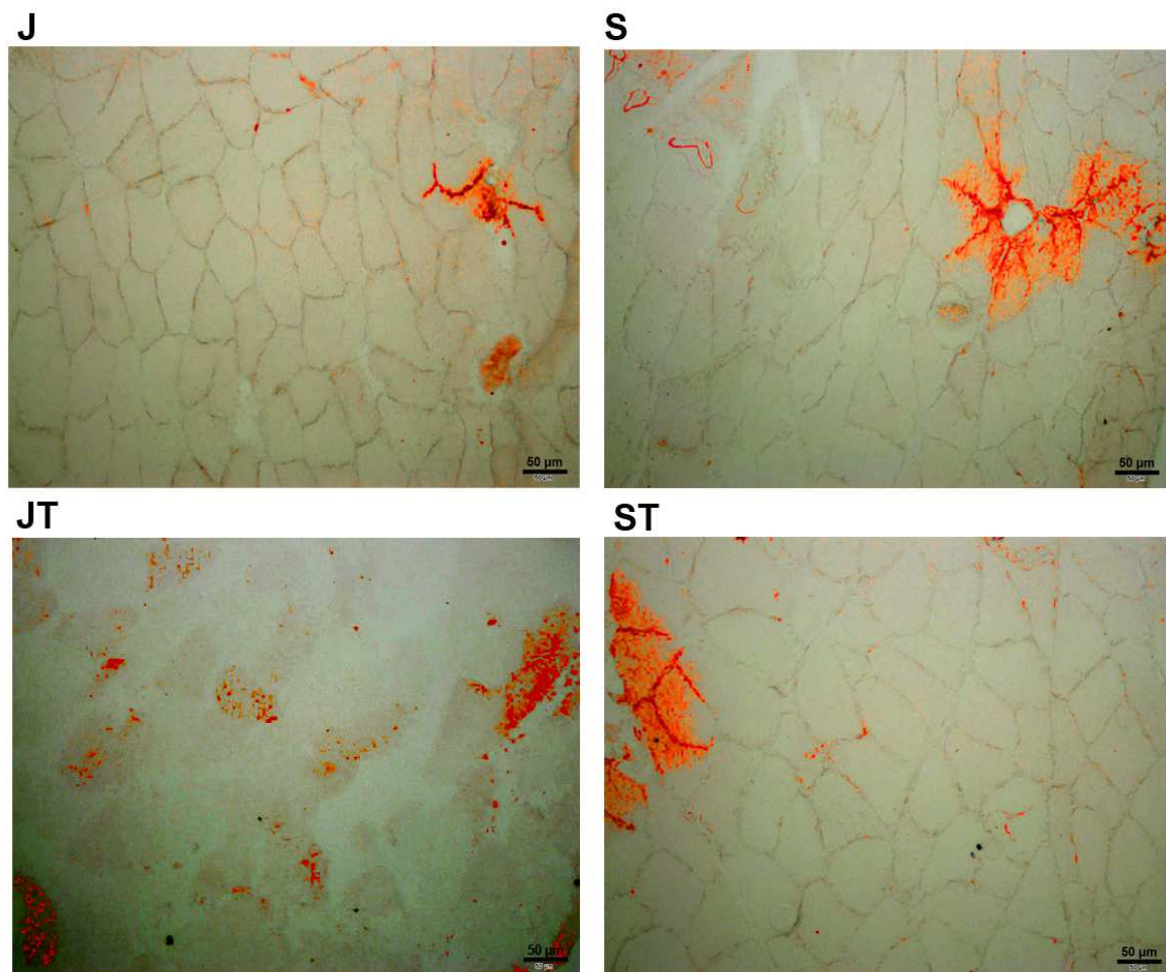




**Figura 7. Quantidade de IMCL:** média da quantidade de IMCL nos grupos Jovens (J), Jovens Treinados (JT), Senis (S) e Senis Treinados (ST) dos músculos GAM (A) e SO (B). Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \* diferente de J ( $p < 0,05$ ) e # diferente de S ( $p < 0,05$ ).



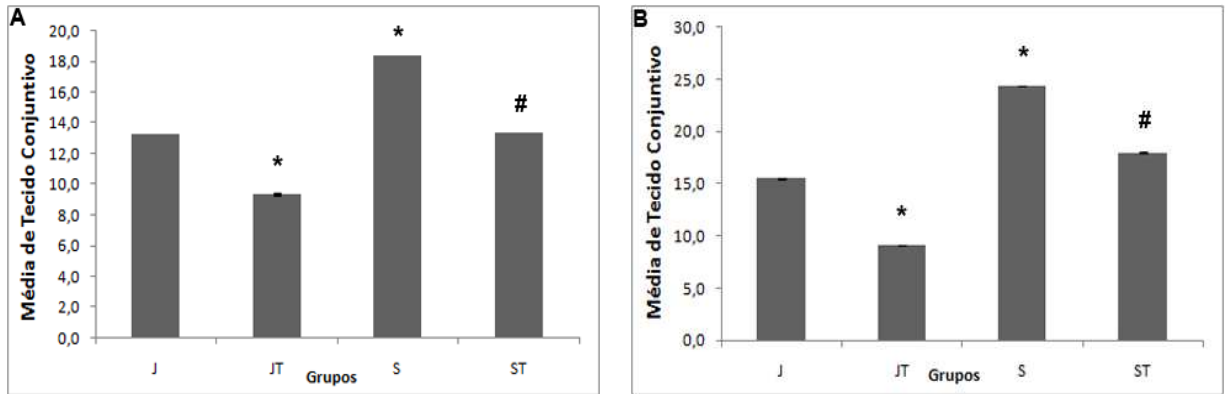
**Figura 8. IMCL do músculo GAM.** Imagens da coloração com Oil Red, em aumento de 20x, ilustrando adipócitos em vermelho. Imagem J é referente ao grupo Jovens, S ao grupo Senis, JT ao grupo Jovens Treinados e ST ao grupo Senis Treinados ( $p < 0,05$ ).



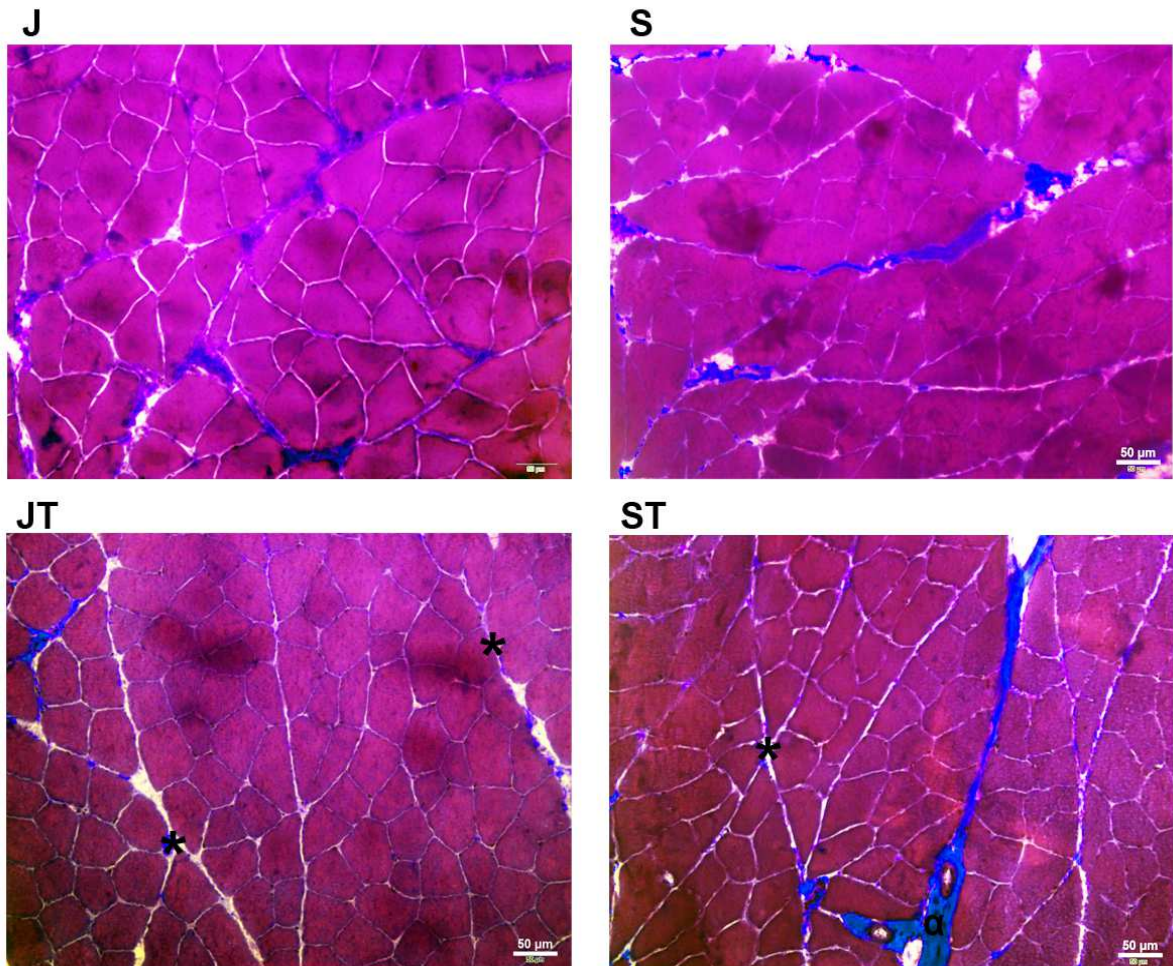
**Figura 9. IMCL do músculo SO.** Imagens da coloração com Oil Red, em aumento de 20x, ilustrando adipócitos em vermelho. Imagem J é referente ao grupo Jovens, S ao grupo Senis, JT ao grupo Jovens Treinados e ST ao grupo Senis Treinados ( $p < 0,05$ ).

### 5.5 Tecido conjuntivo

Os animais senis apresentaram maior quantidade de tecido conjuntivo em ambos os músculos (GAM: 38,5% e SO: 57,3%;  $p < 0,05$ ) quando comparado aos jovens. Após o TF, o conteúdo de tecido conjuntivo reduziu em ambos os músculos, tanto nos animais jovens (GAM: 29,7% e SO: 41%;  $p < 0,05$ ) quanto nos animais senis (GAM: 27,6% e SO: 26,2%;  $p < 0,05$ ). Esses dados estão ilustrados nas Figuras 10, 11 e 12.

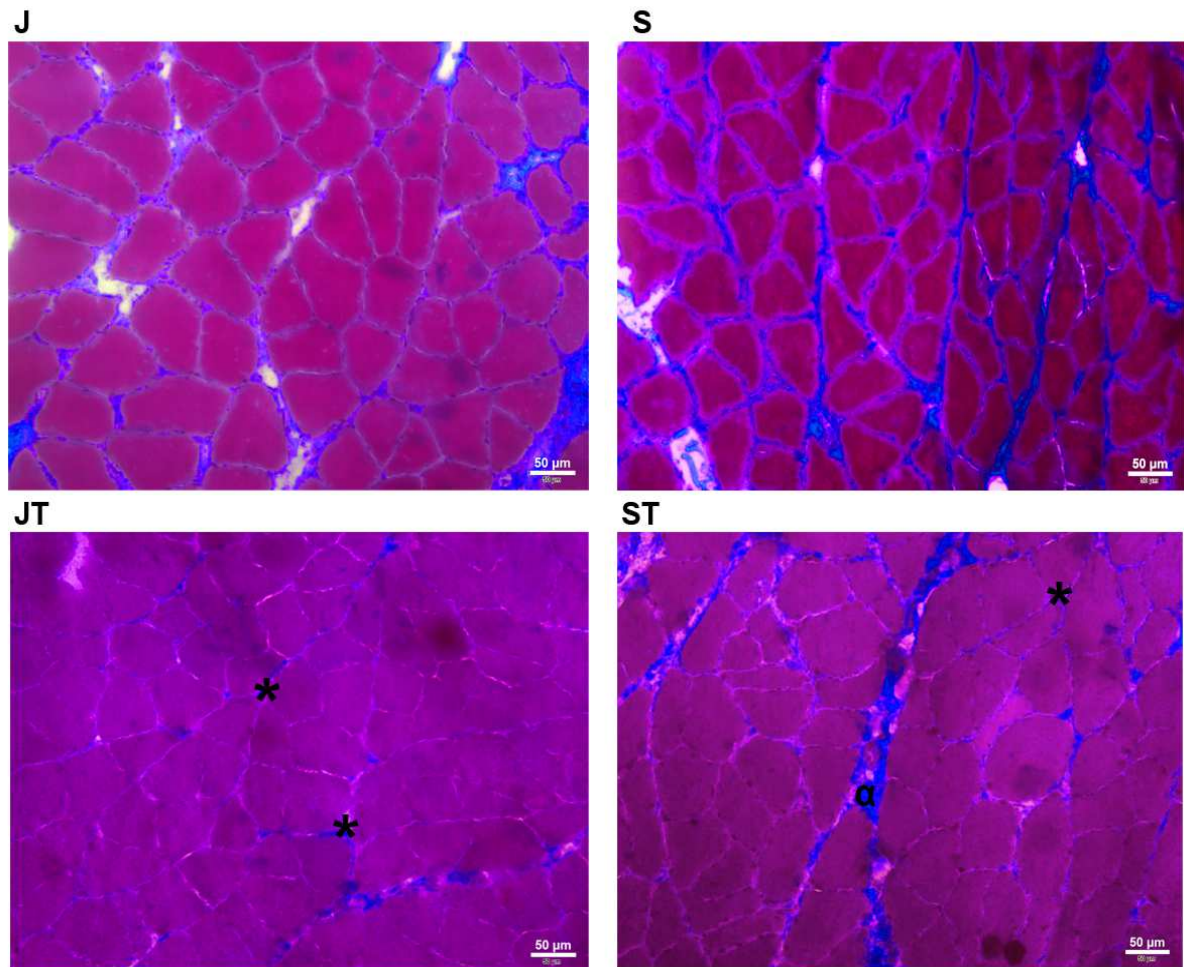


**Figura 10. Quantidade de tecido conjuntivo:** média da quantidade de tecido conjuntivo dos grupos Jovens (J), Jovens Treinados (JT), Senis (S) e Senis Treinados (ST) dos músculos GAM (A) e SO (B). Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \* diferente de J ( $p < 0,05$ ) e # diferente de S ( $p < 0,05$ ).



**Figura 11. Tecido conjuntivo do músculo GAM.** Imagens da coloração com Tricômio de Masson, em aumento de 20x, ilustrando colágeno em azul e as fibras musculares em rosa. Imagem J é referente ao grupo Jovens, S ao grupo Senis, JT ao grupo Jovens Treinados e ST ao grupo Senis Treinados. \* menor do que J ( $p < 0,05$ ) e  $\alpha$  maior do que S ( $p < 0,05$ ).

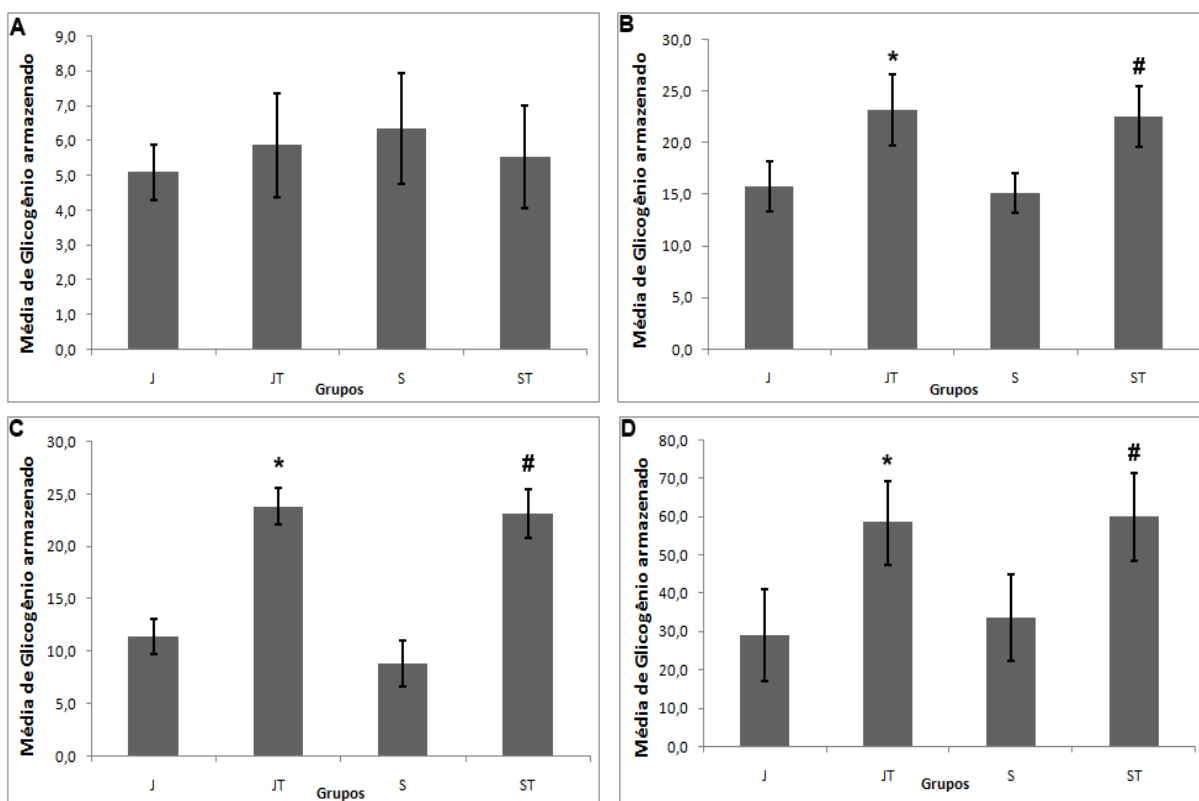




**Figura 12. Tecido conjuntivo do músculo SO.** Imagens da coloração com Tricômio de Masson, em aumento de 20x, ilustrando colágeno em azul e as fibras musculares em rosa. A imagem J é referente ao grupo Jovens, S ao grupo Senis, JT ao grupo Jovens Treinados e ST ao grupo Senis Treinados. \* menor do que J ( $p < 0,05$ ) e  $\alpha$  maior do que S ( $p < 0,05$ ).

## 5.6 Glicogênio

A quantidade de glicogênio foi analisada nas regiões vermelha e branca do músculo GAM, no músculo SO e no fígado. Na região vermelha do GAM não houve diferença significativa entre os quatro grupos analisados ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, na região branca, o TF aumentou a quantidade de glicogênio armazenada tanto nos animais jovens (47,3%;  $p < 0,05$ ), quanto nos animais senis (54,4%;  $p < 0,05$ ). Resultados similares foram encontrados no músculo SO e no fígado, onde o TF também aumentou a quantidade de glicogênio armazenada nos animais jovens (SO: 109% e fígado: 101,5%;  $p < 0,05$ ) e senis (SO: 162,8% e fígado: 78,5%;  $p < 0,05$ ). Esses dados estão ilustrados na Figura 13.



**Figura 13. Quantidade de glicogênio:** média da quantidade de glicogênio dos grupos Jovens (J), Jovens Treinados (JT), Senis (S) e Senis Treinados (ST) na região vermelha (A) e branca (B) do músculo GAM, no músculo SO (C) e no fígado (D). Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \* diferente de J ( $p < 0,05$ ) e # diferente de S ( $p < 0,05$ ).

## 6 DISCUSSÃO

O envelhecimento causa diminuição na CSA das fibras musculares e aumento na quantidade de IMCL e de tecido conjuntivo nos músculos GAM e SO de ratos senis, demonstrando alterações significativas no tamanho e composição celular, no armazenamento do glicogênio e nas propriedades da MEC, o que pode gerar perda das capacidades relacionadas à coordenação, flexibilidade, força muscular, velocidade e resistência. Por outro lado, o protocolo de treinamento de força utilizado nesse estudo minimizou a perda da CSA e o aumento de IMCL e tecido conjuntivo no músculo esquelético, além de aumentar o armazenamento de glicogênio nos músculos e no fígado. Com esses resultados, o treinamento de força mostrou-se capaz de diminuir a perda da massa e melhorar a resistência, força e função muscular em ratos senis.

O protocolo de treinamento de força desse estudo foi realizado, como descrito anteriormente, através de escalada em escada vertical com pesos presos às caudas dos animais jovens e senis. A média semanal da carga relativa dos grupos JT e ST calculada mostrou aumento na carga de carregamento durante as 12 semanas de treinamento em ambos os grupos, porém com maior diferença na 2ª e 6ª semana no grupo JT e na 4ª semana no grupo ST. Essa avaliação da capacidade dos animais de transportar cargas progressivamente mais pesadas evidenciou que o protocolo de treinamento realizado promoveu sobrecarga progressiva tanto nos animais jovens como nos senis, como sugerido por Hornerberg e Farrar (2004), comprovando que a categoria de treinamento muscular utilizada é realmente de força e não de resistência.

Uma das características do músculo analisadas foi a CSA das fibras musculares durante o processo de envelhecimento e após o treinamento de força. A diminuição da massa muscular, uma das características da sarcopenia, durante o envelhecimento tem sido relatada em humanos (Grimby e Saltin, 1983; Lexell, 1983) e em roedores (Rowe, 1969; Tauchi, 1971; Eddinger, 1985; Kovanen e Suominen, 1987). Comparando a média de vida de 30 meses para os ratos com a de 75 anos para humanos, a massa muscular atinge o seu pico no segundo quinto de vida ( $\approx$ 10 meses em ratos e 30 anos em humanos) mantendo-se relativamente estável até o quinto médio (13 a 18 meses em ratos e 31 a 45 anos em humanos) e declinando drasticamente em seguida (após os 18 meses em ratos e 50 anos em humanos) (Ibebunjo, 2013). Esses dados são similares aos resultados encontrados no presente estudo, já que a CSA das fibras dos músculos GAM e SO mostrou-se menor nos animais senis, com 23 meses, quando comparada aos animais jovens, com 6 meses de idade.



Por outro lado, o TF minimizou a perda da CSA dos animais senis, nos músculos GAM e SO, sugerindo aumento no número de sarcômeros em série com implicações na produção de força máxima do músculo, indicando hipertrofia muscular e redução da sarcopenia (Reeves, 2006). Em concordância, Verdijk (2009) analisou indivíduos idosos após realizarem treinamento de força por 12 semanas e concluiu que há relação entre o aumento da CSA e o aumento na força do músculo esquelético. Além de Verdijk, outros trabalhos, como os de Frontera (1988), Hornberger e Farrar (2004), Kryger e Andersen (2007) e Slivka (2008), também encontraram aumento da CSA em indivíduos e animais idosos que passaram por programas de treinamento de força durante o período de 8 a 12 semanas.

Outro importante sinal de sarcopenia é a diminuição na qualidade do músculo causada pela substituição do tecido muscular por tecido adiposo e/ou conjuntivo (Imamura, 1999; Goodpaster, 2001). Essa alteração foi encontrada nos resultados desse estudo, pois os animais senis apresentaram uma maior quantidade de tecido conjuntivo e de IMCL nos músculos GAM e SO quando comparados aos animais jovens, sugerindo que há menos tecido contrátil e mais tecido não contrátil nos músculos dos animais senis. O aumento de IMCL no envelhecimento também foi encontrado no estudo de Nakagawa (2007) que analisou a quantidade de IMCL nos músculos tibial anterior (TA), SO e GAM de indivíduos idosos e jovens e no estudo de Goodpaster (2001) que demonstrou aumento de IMCL no músculo quadríceps de indivíduos sedentários idosos. Essa alteração na qualidade muscular contribui para a perda na capacidade do músculo de desenvolver força de contração gerando déficit de equilíbrio e alterações na marcha e reduzindo a qualidade de vida do indivíduo.

Após o TF, a quantidade de IMCL presente nos músculos GAM e SO dos animais jovens e senis treinados apresentou-se diminuída, porém somente o músculo SO do grupo ST obteve uma diminuição estatística. O músculo SO é formado basicamente por fibras tipo I ou lentas, que apresentam um maior acúmulo de IMCL e o utilizam como principal fonte de substrato sob circunstâncias de aumento no gasto energético devido sua maior capacidade oxidativa (Kautzky-Willer, 2003). Além disso, os animais senis apresentaram uma maior quantidade de IMCL armazenado nos músculos fornecendo, portanto, maior disponibilidade de IMCL como fonte de substrato, o que explicaria a diminuição estatística desse IMCL somente no grupo ST após o TF. Devido à carência de estudos sobre a utilização do IMCL durante o treinamento força em idosos não foi possível encontrar estudos que concordassem com os resultados desse trabalho. Porém, Lithell (1979) encontrou diminuição de 60% no conteúdo de IMCL nas fibras lentas e nenhuma alteração desse conteúdo nas fibras

rápidas após corrida de esqui, enquanto Krssak (2000) demonstrou diminuição de IMCL no músculo sóleo após corrida em esteira. Embora esses estudos tenham utilizado treinamento de resistência como forma de intervenção, o resultado obtido após atividade física no músculo SO ou músculo de fibras lentas foi semelhante. Essa redução do IMCL encontrada nos animais senis e gerada pelo treinamento de força contribui para melhora na qualidade do tecido muscular e, conseqüentemente, na produção de força, reduzindo a sarcopenia presente no envelhecimento.

Como citado anteriormente, um conteúdo maior de IMCL presente no envelhecimento pode gerar resistência à insulina que, por sua vez, irá causar alterações na síntese e utilização do glicogênio em indivíduos idosos, entretanto não há comprovações de que o armazenamento desse glicogênio também seja prejudicado (Muio, 2009). Os resultados desse estudo mostraram que não houve diferença na quantidade de glicogênio armazenado nos músculos e no fígado entre os animais jovens e senis. Semelhante a esse achado, o estudo de Khandelwal (1982) analisou a quantidade de glicogênio armazenada no fígado de ratos jovens, adultos e idosos e não encontrou diferença significativa entre eles, porém quando analisou a atividade das enzimas responsáveis pela síntese do glicogênio descobriu que a sua taxa de *turnover* apresentava-se prejudicada apenas nos animais senis. Em contrapartida, Gupta (2000) concluiu que o aumento de tecido adiposo, incluindo o IMCL, está associado à diminuição da capacidade do músculo esquelético em estocar glicogênio e que o envelhecimento *per se* não é capaz de causar essa alteração, o que contraria os dados aqui encontrados já que houve aumento na quantidade de IMCL nos animais senis, porém sem alterações significativas no armazenamento do glicogênio. A escassez de estudos sobre o armazenamento de glicogênio no músculo esquelético e no fígado de indivíduos e/ou animais senis dificulta a compreensão sobre os mecanismos envolvidos nesse processo.

O TF gerou, além da redução no conteúdo de IMCL, aumento na quantidade de glicogênio armazenado nos músculos GAM e SO e no fígado dos animais jovens e senis. Em concordância com esses dados, Ferrara (2006) analisou indivíduos idosos sedentários e após treinamento de força e encontrou aumento na quantidade de glicogênio armazenada nos músculos dos indivíduos treinados. Segundo Manabe (2013), a concentração de glicogênio muscular em roedores e humanos treinados é significativamente elevada. Esse aumento é esperado, pois as sessões de treinamento resultam na depleção do glicogênio muscular seguida pela supercompensação do mesmo. Esse fenômeno de “supercompensação” é geralmente atribuído à ativação da glicogênio sintase e ao aumento da proteína transportadora

de glicose (GLUT-4) gerando maior sensibilidade à insulina, que persiste por variável período de tempo dependendo do período de treinamento, prevenindo o desenvolvimento de síndrome metabólica e diabetes tipo 2 (Cunha, 2005).

Outra alteração encontrada nos animais senis foi uma maior quantidade de tecido conjuntivo nos músculos GAM e SO quando comparado aos animais jovens. Porém, o músculo SO apresentou uma quantidade ainda maior desse tecido quando comparado ao músculo GAM. Essa diferença ocorre devido à tipagem de fibras, já que o SO apresenta grande quantidade de fibras lentas caracterizadas por abranger maior concentração de colágeno à sua volta do que as fibras rápidas (Takala, 2000). O aumento de tecido conjuntivo também pode ser encontrado em outros trabalhos, como no estudo de Gosselin (1998), que analisou a concentração de colágeno e ligações cruzadas em ratos com 23 meses de idade, e na revisão de Imamura (1999), que encontrou em vários artigos a substituição do tecido muscular por tecido conjuntivo e, conseqüente, aumento no conteúdo de colágeno em ratos senis. Esse aumento de colágeno pode gerar rigidez muscular e diminuir a força tênsil do músculo, além de prejudicar a qualidade do músculo que, juntamente com a perda de massa muscular, causa diminuição na produção da força muscular o qual pode ser um importante fator de risco para invalidez e morte de indivíduos idosos (Kjaer, 2004; Suetta, 2008; Mitchell, 2012).

O TF, por sua vez, diminuiu a quantidade de tecido conjuntivo nos músculos GAM e SO tanto dos animais jovens como dos senis. Em concordância com esses resultados, o estudo de Gosselin (1998) mostrou diminuição na quantidade de colágeno em animais jovens e senis após treinamento e ainda relacionou essa redução à diminuição de ligações cruzadas devido aumento na taxa de turnover do colágeno fibrilar causada pelo recrutamento muscular. Em contrapartida, a revisão realizada por Imamura (1999) apresentou protocolos de treinamento com durações variadas mostrando que os treinamentos realizados em até 4 semanas não apresentaram alterações no conteúdo de colágeno, porém os acima de 15 meses apresentaram aumento desse colágeno muscular. Ainda segundo Imamura, as variações nos modelos, intensidades e durações dos treinamentos juntamente com os diferentes métodos de análise do colágeno utilizados podem ser os responsáveis pelos resultados contraditórios. Essas alterações no tecido conjuntivo, causadas pelo treinamento, contribuem para a diminuição da rigidez passiva do músculo, melhoram a qualidade do tecido muscular e, conseqüentemente, a produção de força, reduzindo, mais uma vez, a sarcopenia presente no envelhecimento.

Por fim, o último resultado encontrado está relacionado ao peso corporal dos animais. O peso corporal dos animais senis antes do treinamento mostrou-se maior do que o peso dos animais jovens, como também foi encontrado nos estudos de Mitchell (1990) e de Pasini (2012). Ao final do treinamento, por outro lado, os pesos corporais já não apresentaram mais diferenças entre os quatro grupos. Porém, quando os pesos iniciais e finais foram comparados dentro do mesmo grupo, os animais jovens apresentaram aumento do seu peso corporal enquanto os animais senis mostraram diminuição desse peso.

Essas distinções entre jovens e senis ocorrem devido às ações do tempo e do treinamento sobre os animais. Os animais jovens, sejam sedentários ou treinados, apresentavam-se em fase de desenvolvimento, ou seja, a massa muscular, óssea e de outros tecidos aumentam de tamanho e peso, o que interfere diretamente em seu peso corporal (Ibebunjo, 2013). Além disso, os jovens sedentários apresentaram maior quantidade de tecido adiposo e conjuntivo enquanto os jovens treinados demonstraram aumento ainda maior da massa muscular, porém com redução na quantidade de tecido adiposo e conjuntivo. Esses dados podem explicar o aumento no peso corporal dos animais jovens, sejam sedentários ou treinados, ao final do período de 3 meses de treinamento e a alteração benéfica na composição corporal dos jovens que realizaram o treinamento de força.

Por outro lado, os animais senis sedentários e treinados apresentavam-se em fase de envelhecimento que engloba atrofia muscular, perda de massa óssea e de outros tecidos e aumento de tecido adiposo e conjuntivo, o que também interfere em seu peso corporal (Ibebunjo, 2013). Porém, os senis treinados apresentaram uma maior quantidade de massa muscular juntamente com diminuição do tecido adiposo e conjuntivo. Esses resultados demonstram que a diminuição no peso corporal dos animais senis deve-se muito mais pela perda de tecido, seja essa prejudicial, como a atrofia muscular durante o envelhecimento, ou benéfica, como a perda de tecido adiposo após o treinamento, do que pelo ganho de massa muscular. De qualquer forma, é possível visualizar a alteração benéfica na composição corporal dos animais senis que realizaram o treinamento de força melhorando a força e resistência muscular, a velocidade, a flexibilidade e a coordenação prejudicadas durante o processo de envelhecimento.

## **7 CONCLUSÃO**

O protocolo de treinamento de força realizado em ratos senis foi capaz de aumentar a CSA, diminuir a quantidade de IMCL, aumentar a quantidade de glicogênio armazenado e diminuir a quantidade de tecido conjuntivo presente nos músculos esqueléticos Gastrocnêmio medial e Sóleo. Esses resultados mostram que há alterações no tamanho das fibras musculares, na quantidade de IMCL, no armazenamento de glicogênio e nas propriedades da MEC nos músculos estudados após a intervenção, comprovando que o treinamento de força minimiza alguns efeitos deletérios inerentes ao envelhecimento.

## Referências

AAGAARD, P. et al. Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging: strength training as a countermeasure. **Scand. J. Med. Sci. Sports**, v. 20, p. 49-64, 2010.

BALAKRISHNAN, V. S. et al. Resistance training increases muscle mitochondrial biogenesis in patients with Chronic Kidney Disease. **Clin. J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 5, p. 996-1002, 2010.

BI, Y. et al. Identification of tendon stem/progenitor cells and the role of the extracellular matrix in their niche. **Nat. Med.**, v. 13, p. 1219-1227, 2007.

BIDINOTTO, P. M.; SOUZA, R. H. S.; MORAES, G. Hepatic glycogen in eight tropical fresh water teleost fish: a procedure for field determinations of micro samples. **Bol. Tec. CEPTA**, v. 10, p. 53-60, 1997.

BIRD, S. P.; TARPENNING, K. M.; MARINO, F. E. Designing resistance training programmes to enhance muscular fitness. **Sports Med.**, v. 35(10), p. 841-851, 2005.

BURNFIELD, J. M. et al. The influence of lower extremity joint torque on gait characteristics in elderly men. **Arch. Phys. Med. Rehabil.**, v. 81, p. 1153-1157, 2000.

CALVI, E. N. C. et al. An experimental model for the study of collagen fibers in skeletal muscle. **Acta Cirurg. Bras.**, v. 27(10), p. 681-686, 2012.

CLOSE, R. I. Dynamic properties of mammalian skeletal muscle. **Phys. Rev.**, v. 52, p. 129-197, 1972.

COYLE, E. F. Physical activity as a metabolic stressor. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 72, p. 512S-520S, 2000.

CUNHA, T. S. et al. Influence of high-intensity exercise training and anabolic androgenic steroid treatment on rat tissue glycogen content. **Life Sci.**, v. 77, p. 1030-1043, 2005.

CUSSÓ, R. et al. Differences between glycogen biogenesis in fast- and slow-twitch rabbit muscle. **Bioch. Bioph. Acta.**, v. 1620, p. 65-71, 2003.

DASHTY, M. A quick look at biochemistry: Carbohydrate metabolism. **Clin. Bioch.**, v. 46, p. 1339-1352, 2013.

DESCHENES, M. R.; KRAEMER, W. J. Performance and physiologic adaptations to resistance training. **Am. J. Phys. Med. Rehabil.**, v. 81, p. S3-S16, 2002.

DORIA, E. et al. Relationship between human aging muscle and oxidative system pathway. **Oxid. Med. Cell. Long.**, v. 2012, p. 1-13, 2012.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.**, v. 28, p. 350-358, 1956.

DUDHIA, J. et al. Aging enhances a mechanically-induced reduction in tendon strength by an active process involving matrix metalloproteinase activity. **Aging Cell.**, v. 6, p. 547-556, 2007.

EDDINGER, T.; MOSS, R.; CASSENS, R. Fiber number and type composition in extensor digitorum longus, soleus and diaphragm muscles with aging in Fischer 344 rats. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 33, p. 1033-1041, 1985.

FERRARA, C. M. et al. Effects of aerobic and resistive exercise training on glucose disposal and skeletal muscle metabolism in older men. **J. Geront.**, v. 61(5), p. 480-487, 2006.

FREIBERGER, E.; SIEBER, C.; PFEIFER, K. Physical activity, exercise, and sarcopenia - future challenges. **Wien Med Wochenschr.**, v. 161/17-18, p. 416-425, 2011.

FRONTERA, R. W. et al. Strength conditioning in older men: skeletal muscle hypertrophy and improved function. **J. Appl. Physiol.**, v. 64, p. 1038-1044, 1988.

FOX, S. I. **Fisiologia humana**. 7. ed. São Paulo: Ed Manole, 2007. 726 p.

GAO, Y. et al. Age-related changes in the mechanical properties of the epimysium in skeletal muscle of rats. **J. Biom.**, v. 41, p. 465-469, 2008.

GOODPASTER, B. H. et al. Attenuation of skeletal muscle and strength in the elderly: The Health ABC Study. **J. Appl. Physiol.**, v. 90, p. 2157-2165, 2001.

GRAFF, V. **Anatomia Humana**. 6. ed. São Paulo: Ed Manole, 2003. 840 p.

GRIMBY, G.; SALTIN, B. The aging muscle. **Clin. Physiol.**, v. 3, p. 209-218, 1983.

GUPTA, G. et al. Aging does not contribute to the decline in insulin action on storage of muscle glycogen in rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 278, p. R111-R117, 2000.

HOLLMANN, W. et al. Physical activity and the elderly. **Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.**, v. 14, p. 730-739, 2007.

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

HOWALD, H. et al. Content of intramyocellular lipids derived by electron microscopy, biochemical assays, and <sup>1</sup>H-MR spectroscopy. **J. Appl. Physiol.**, v. 92, p. 2264-2272, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Estimativas de projeção da população: projeções 1980-2050**. São Paulo, 2010.

IBEBUNJO, C. et al. Genomic and proteomic profiling reveals reduced mitochondrial function and disruption of the neuromuscular junction driving rat sarcopenia. **Mol. and Cell. Biol.**, v. 33, p. 194-212, 2013.

IMAMURA, S. T. et al. Efeitos do envelhecimento e do exercício físico sobre o colágeno do músculo esquelético humano. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 39, p. 35-40, 1999.

JANG, Y. C.; REMMEN, H. V. Age-associated alterations of the neuromuscular junction. **Exp. Geront.**, p. 1-6, 2010.

JÄRVINEN, T. A. et al. Mechanical loading regulates the expression of tenascin-C in the myotendinous junction and tendon but does not induce de novo synthesis in the skeletal muscle. **J. Cell. Sci.**, v. 116, p. 857-866, 2003.

KAUTZKY-WILLER, A. et al. Increased intramyocellular lipid concentration identifies impaired glucose metabolism in women with previous gestational diabetes. **Diab.**, v. 52, p. 244-251, 2003.

KHANDELWAL, R. L.; ENNO, T. L.; NARAYANAN, N. Effects of age on glycogen synthase and phosphorylase activities in rat liver. **Mech. Ageing Dev.**, v. 28, p. 13-22, 1982.



KJAER, M. Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. **Physiol Rev.**, v. 84, p. 649-698, 2004.

KOVANEN, V.; SUOMINEN, H. Effects of age and life-time physical training of fibre composition of slow and fast skeletal muscle in rats. **Pflügers Arch.**, v. 408, p. 543-551, 1987.

KRAGSTRUP, T. W. et al. Structural, biochemical, cellular, and functional changes in skeletal muscle extracellular matrix with aging. **Scand. J. Med. Sci. Sports.**, 2011.

KRYGER, A. I.; ANDERSEN, J. L. Resistance training in the oldest old: consequences for muscle strength, fiber types, fiber size, and MHC isoforms. **Scand. J. Med. Sci. Sports.**, v. 17, p. 422–430, 2007.

KRSSAK, M.; PETERSEN, K. F.; BERGERON, R. Intramuscular glycogen and intramyocellular lipid utilization during prolonged exercise and recovery in man: a <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectroscopy study. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 85, p. 748–754, 2000.

LEXELL, J. et al. Distribution of different fiber types in human skeletal muscles: effect of aging studied in white muscle cross-sections. **Muscle Nerve.**, v. 6, p. 588-595, 1983.

LEXELL, J.; TAYLOR, C. C.; SJÖSTRÖM, M. What is the cause of the ageing atrophy? **J. Neurol. Sci.**, v. 84, p. 275-294, 1988.

LITHELL, H. et al. Changes in lipoprotein-lipase activity and lipid stores in human skeletal muscle with prolonged heavy exercise. **Acta Physiol. Scand.**, v. 107, p. 257–261, 1979.

LOON, L. J. C. et al. Intramyocellular lipids form an important substrate source during moderate intensity exercise in endurance-trained males in a fasted state. **J. Physiol.**, v. 553.2, p. 611-625, 2003.

MACALUSO, A.; DE VITO, G. Muscle strength, power and adaptations to resistance training in older people. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v. 91, p. 450-472, 2004.

MANABE, Y. et al. Exercise training-induced adaptations associated with increases in skeletal muscle glycogen content. **FEBS J.**, v. 280, p. 916–926, 2013.

- MANN, C. J. et al. Aberrant repair and fibrosis development in skeletal muscle. **Skelet. Muscle J.**, p. 1:21, 2011.
- MAYER, F. et al. The intensity and effects of strength training in the elderly. **Dtsch. Arztebl. Int.**, v. 108(21), 359-364, 2011.
- MELOV, S. et al. Resistance exercise reverses aging in human skeletal muscle. **PLoS ONE.**, v. 2(5), p. e465, 2007.
- MINAMOTO, V. B. Classificação e adaptações das fibras musculares: uma revisão. **Fisiot. Pesq.**, v. 12(3), p. 50-55, 2005.
- MITCHELL, W. K. et al. Sarcopenia, dynapenia, and the impact of advancing age on human skeletal muscle size and strength: a quantitative review. **Front. Physiol.**, v. 3, p. 1-18, 2012.
- MUOIO, D. M. Intramuscular triacylglycerol and insulin resistance: Guilty as charged or wrongly accused? **Bioch. Bioph. Acta.**, v. 1801, p. 281-288, 2009.
- MURPHY, R. M. et al. Single fiber analyses of glycogen-related proteins reveal their differential association with glycogen in rat skeletal muscle. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.**, v. 303, p. C1146-C1155, 2012.
- NAKAGAWA, Y. et al. Age-related changes in intramyocellular lipid in humans by in vivo <sup>1</sup>H-MR spectroscopy. **Geront.**, v. 53, p. 218-223, 2007.
- NARICI, M. V.; MAFFULLI, N. Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance. **Brit. Med. Bull.**, v. 95, p. 139-159, 2010.
- PASINI, E. et al. Effects of treadmill exercise and training frequency on anabolic signaling pathways in the skeletal muscle of aged rats. **Exp. Geront.**, v. 47, p. 23-28, 2012.
- PETTE, D.; STARON, R. S. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. **Res. Tech.**, v. 50, p. 500-509, 2000.
- PRATS, C. et al. Intracellular compartmentalization of skeletal muscle glycogen metabolism and insulin signaling. **Exp. Physiol.**, v. 96(4), p. 385-390, 2011.

RATAMESS, N. A. et al. Progression models in resistance training for healthy adults. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 41(3), p. 687-708, 2009.

REEVES, N. D.; NARICI, M. V.; MAGANARIS, C. N. Musculoskeletal adaptations to resistance training in old age. **Manual Ther.**, v. 11, p. 192-196, 2006.

ROWE, R. The effect of senility on skeletal muscles in the mouse. **Exp. Geront.**, v. 4, p. 119-126, 1969.

SALADIN, K. S. **Anatomy Physiology: The Unity of Form and Function**. 3. ed. New York: The McGraw-Hill Companies, 2003. 1120 p.

SAKUMA, K.; YAMAGUCHI, A. Molecular mechanisms in aging and current strategies to counteract sarcopenia. **Curr. Aging Sci.**, v. 3, p. 90-101, 2010.

SCHIAFFINO, S.; REGGIANI, C. Fiber types in mammalian skeletal muscle. **Physiol. Rev.**, v. 91, p. 1447-1531, 2011.

SCHRAUWEN-HINDERLING, V. B. et al. Intramyocellular lipid content in human skeletal muscle. **Obes.**, v. 14 (3), p. 357-367, 2006.

SEMBA, R. D.; NICKLETT, E. J.; FERRUCCI, L. Does accumulation of advanced glycation end products contribute to the aging phenotype? **J. Geront. A. Biol. Sci. Med. Sci.**, v. 65, p. 963-75, 2010.

SHEARER, J.; GRAHAM, T. E. Novel aspects of skeletal muscle glycogen and its regulation during rest and exercise. **Exerc. Sport Sci. Rev.**, v. 32(3), p. 120-126, 2004.

SILVA, M. D. P.; CARVALHO, R. F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. **R. Bras. Zootec.**, v. 36, p. 21-31, 2007.

SLIVKA, D. et al. Single muscle fiber adaptations to resistance training in old (>80 yr) men: evidence for limited skeletal muscle plasticity. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 295(1), p. R273–R280, 2008.

STARON, R. S. et al. Human skeletal muscle fiber type adaptability to various workloads. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 32, p. 146-152, 1984.

SUETTA, C. et al. Resistance training induces qualitative changes in muscle morphology, muscle architecture, and muscle function in elderly postoperative patients. **J. Appl. Physiol.**, v. 105, p. 180–186, 2008.

TAKALA, T. E.; VIRTANEN, P. Biochemical composition of muscle extracellular matrix: the effect of loading. **Scand. J. Med. Sci. Sports.**, v. 10, p. 321-325, 2000.

TAUCHI, H.; YOSHIOKA, T.; KOBAYASHI, H. Age change of skeletal muscle of rats. **Geront.**, v. 17, p. 219-227, 1971.

VERDIJK, L. B. et al. Skeletal muscle hypertrophy following resistance training is accompanied by a fiber type – specific increase in satellite cell content in elderly men. **J. Geront. A. Biol. Sci. Med. Sci.**, v. 64A(3), p. 332-339, 2009.

VERMATHEN, P. et al. Skeletal muscle H MRSI before and after prolonged exercise. I. Muscle specific depletion of intramyocellular lipids. **Magnet. Reson. Med.**, v. 68, p. 1357-1367, 2012.

WALSTON, J. D. Sarcopenia in older adults. **Curr. Opin. Rheumatol.**, v. 24, p. 623-627, 2012.

WATT, M. J.; HEIGENHAUSER, G. J. F.; SPRIET, L. L. Intramuscular triacylglycerol utilization in human skeletal muscle during exercise: is there a controversy? **J. Appl. Physiol.**, v. 93, p. 1185-1195, 2002.

WILLIAMS, G. N.; HIGGINS, M. J.; LEWEK, M. D. Aging skeletal muscle: physiologic changes and the effects of training. **Phys. Ther.**, v. 82, p. 62-68, 2002.