



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

**PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS – PIPGCF – ASSOCIAÇÃO AMPLA UFSCar/UNESP**

**EFEITOS MUSCULARES PROMOVIDOS PELO
TREINAMENTO RESISTIDO EM RATAS
OVARIECTOMIZADAS**

Gustavo Henrique Rigo Canevazzi

São Carlos

2014

**EFEITOS MUSCULARES PROMOVIDOS PELO
TREINAMENTO RESISTIDO EM RATAS
OVARIECTOMIZADAS**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS – UFSCar
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
DEPARTAMENTO CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS – DCF
LABORATÓRIO DE FISIOLOGIA DO EXERCÍCIO**

**PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS – PIPGCF – ASSOCIAÇÃO AMPLA UFSCar/UNESP**

Dissertação de Mestrado

**EFEITOS MUSCULARES PROMOVIDOS PELO
TREINAMENTO RESISTIDO EM RATAS
OVARIECTOMIZADAS**

Gustavo Henrique Rigo Canevazzi*

**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do título
de Mestre em Ciências Fisiológicas.**

Orientador: Sergio Eduardo de Andrade Perez

***bolsista CAPES**

São Carlos – SP

2014

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C221e Canevazzi, Gustavo Henrique Rigo
Efeitos musculares promovidos pelo treinamento
resistido em ratas ovariectomizadas / Gustavo
Henrique Rigo Canevazzi. -- São Carlos : UFSCar,
2015.
51 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de
São Carlos, 2014.

1. Treinamento resistido. 2. Área de secção
transversa. 3. Tipos de fibras. 4. Ovariectomia. I.
Título.

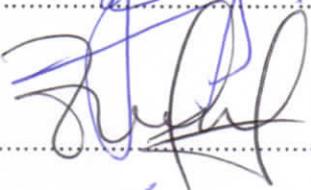
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

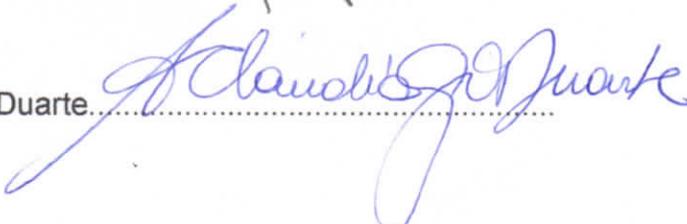
Folha de Aprovação

Dissertação de Mestrado de Gustavo Henrique Rigo
Canevazzi

Dia 04/09/2014

Prof. Dr. Sérgio Eduardo de Andrade Perez.....

Prof.ª Dr.ª Fúlvia de Barros Manchado Gobatto.....

Prof.ª Dr.ª Ana Claudia Garcia de Oliveira Duarte.....

Agradecimentos

Cada um de nós compõe a sua história e cada ser em si carrega o dom de ser capaz e ser feliz (Almir Sater).

Sei que cada um de nós compõe a sua história, mas a construção de nossas vidas depende de muitas pessoas que nos cercam. Elas que nos proporcionam toda a estrutura necessária para desenvolver a capacidade de ser feliz e poder adicionar novos parágrafos em nossas histórias.

Agradeço, em primeiro lugar, minha família que doou tanta força positiva e apoio em todos os momentos que precisei. Meu pai, **Carlos**, que lutou tanto para nos dar condições de estudar, minha mãe, **Eliete**, que soube como ninguém administrar bem a família em todos os momentos de dificuldade e aos meus irmãos, **Amanda e Lucas**, que entre beijos, “tapas” e sorrisos ajudaram nessa caminhada.

A meu orientador e companheiro, **Prof. Dr. Sergio Perez**, que acreditou em meu trabalho e possibilitou a construção desse momento em minha vida.

A **CAPES** e a **FAPESP** que deram o apoio financeiro para a realização do projeto, ao **Guilherme Borges** que me auxiliou nos entraves iniciais de estruturação do projeto, a **Maria Fernanda, Mateus, Markus, Natalia, Cristiane, Fernanda, Luciane e Marina** que ajudaram a realizar os treinamentos dos animais seja em finais de semana ou feriados todos estiveram sempre presentes. Ao **Rodrigo, Luisa, José Neto, Danilo, Anderson, Tati, Vilmar, Gabi, Juca, Dai, e Léo** que em diversos momentos se uniram para contribuir de modo brilhante nos experimentos realizados. Ao **Fabiano** que após muitas discussões, ajudou a obter um maior entendimento sobre os diversos tipos de tratamentos estatísticos.

Ao instituto de ciências biomédicas da USP na figura do **Prof. Dr. Anselmo Mariscot**, que abriu as portas e possibilitou o desenvolvimento de diversas análises que, com muita paciência, o **João Guilherme e a Graziele** deram todo o suporte necessário para o desenvolvimento das mesmas.

Aos amigos conquistados em São Paulo no período de análises **Annielle, Michelle, Sarah, Alba e Caio** que me receberam literalmente de portas abertas com um enorme carinho e deram toda a ajuda no momento em que precisei.

Aos grandes amigos e irmãos **Marcos, Tami, Alisson, Ju, Ernane, Zé Henrique, Felipe, Marcelo, Daniel, Igor** e tantos outros que fizeram e fazem parte de muitos capítulos dessa história.

Ao **Giovane, Leonardo, Adalberto, Felipe**, assim como outros companheiros da APG/UFSCar, que ajudaram por meio de debates e discussões a fundamentar o verdadeiro entendimento sobre o que é a pós-graduação na vida e na formação de uma pessoa.

Ao **Júlio, ao Giz, a Carol, ao Henrique** e todos os outros moradores da nossa república, que compartilharam de momentos de euforia, tristeza e felicidade durante todo este processo. Dando atenção, conselhos e ajudas em diversos níveis. Só tenho que agradecer por toda a diferença que vocês fazem em minha vida.

Muito obrigado a todos!!!

RESUMO

A menopausa está associada ao risco aumentado de várias alterações metabólicas. Além disso, promove perda acelerada de massa e força muscular, em um processo de sarcopenia, gerando um papel deletério no desempenho de funções físicas. Nesse sentido, o treinamento resistido, como intervenção não farmacológica, vem sendo recomendado para o tratamento de várias doenças associadas à menopausa bem como a sarcopenia. O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos do treinamento resistido em escada sobre a área de secção transversa e porcentagem dos tipos de fibras do músculo plantar de ratas intactas ou ovariectomizadas, e/ou submetidas à reposição hormonal. Foram utilizadas 77 ratas Holtzman divididas em 7 grupos: Sham operado sedentário (Sham-Sed); Sham operado treinado (Sham-Tr); Ovariectomizado sedentário (Ovx-Sed); Ovariectomizado treinado e com terapia de reposição hormonal (Ovx-Tr-TRH); Ovariectomizado sedentário com terapia de reposição hormonal (Ovx-TRH); Ovariectomizado treinado (Ovx-Tr); e Ovariectomizado com reposição placebo (Ovx-TRH-Pl). Um período de 12 semanas de treinamento resistido foi realizado, durante o qual os animais subiram uma escada vertical de 1,1 m com pesos atados na cauda. As sessões foram realizadas a cada 72 horas, com 4-9 subidas. Foi possível observar que a Ovx promoveu uma redução da área de secção transversa das fibras tipo I e tipo II em relação ao grupo Sham-Sed, enquanto que o TR na condição de Ovx (grupo Ovx-TR) foi capaz de aumentar a área de secção transversa dos dois tipos de fibras ($p < 0,05$). Além disso, a TRH adotada não preveniu a redução da área de secção transversa das fibras tipo II, mas atenuou a redução da área de secção transversa das fibras tipo I. A Ovx, a TRH e o Tr não promoveram alterações com relação ao número absoluto dos tipos de fibras encontradas no músculo plantar e não ocorreu nenhuma correlação relevante na porcentagem dos tipos de fibras musculares. Nossos achados indicaram que o Tr pode ser uma ferramenta importante na prevenção da redução da massa do músculo esquelético induzida pela Ovx.

Palavras chaves: Treinamento resistido. Área de secção transversa. Tipos de fibras. Ovariectomia.

ABSTRACT

Menopause is highly associated with the increase of several metabolic disorders. In addition menopause promotes accelerated loss of muscle strength and mass, process known as sarcopenia, generating a deleterious role in the performance of physical functions. In this sense, resistance training has been recommended for the treatment of numerous diseases associated with menopause, as well as sarcopenia, as a non-pharmacological intervention. The aim of this study was to investigate the effects of the resistance training using the vertical ladder as a model on the muscle cross-sectional area and the percentage of muscle fiber types in the plantaris muscle of intact or ovariectomized rats and/or under hormone reposition therapy. Holtzman adult female rats were distributed in 7 groups: Sham operated sedentary (Sham-Sed), Sham operated resistance trained (Sham-Tr), Ovariectomized sedentary (Ovx-Sed), Ovariectomized resistance trained and hormone reposition (Ovx-Tr-TRH), Ovariectomized sedentary and hormone reposition (Ovx-TRH), Ovariectomized resistance trained (Ovx-Tr), Ovariectomized and placebo reposition (Ovx-TRH-Pl). During a 12-week resistance training the animals climbed the vertical ladder of 1.1m with weights attached to their tails. Each session was carried out every 72 hours with 4-9 climbs. The ovariectomy promoted a reduction in cross-sectional area of the type I and II fiber when compared to Sham-Sed group, whereas the resistance training in the ovariectomy (Ovx-Tr group) was able to increase the cross-sectional area of the two fiber types ($p < 0.05$). Moreover, TRH did not prevent the reduction of cross-sectional area of the type II fiber however it attenuated the reduction in cross-sectional area of type I fiber. The ovariectomy, hormone reposition and resistance training had no effect into promote alterations in the absolute number of muscle fiber types of the plantaris muscle and there was no correlation in the percentage of fiber muscle types. Our results indicate that resistance training can be a useful tool to prevent skeletal muscle mass reduction induced by ovariectomy.

Key Words: Resistance training. Cross-sectional area. Fiber types. Ovariectomy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Organograma dos grupos experimentais.....	25
Figura 2 - Rata com o aparelho de carga fixado à calda na escada de treinamento.	27
Figura 3 - Organização da carga de carregamento por sessão de treino.....	29
Figura 4 - Coloração histoenzimológica do músculo plantar (figura 4.A: mATPase pH 4.1 e figura 4.B: mATPase pH 9.4).	31
Figura 5 - Evolução da massa corporal dos grupos no período experimental. * $p < 0,05$ quando comparado Ovx-Sed com Ovx-TRH e Ovx-Tr-TRH. # $p < 0,05$ quando comparado Ovx-Tr com Sham-Sed, Ovx-TRH e Ovx-Tr-TRH. \$ $p < 0,05$ quando comparado Ovx-Sed e Ovx-Tr com Sham-Sed, Sham-Tr, Ovx-TRH e Ovx-Tr-TRH. @ $p < 0,05$ quando comparado Ovx-TRH-PI com Shan-Sed. & $p < 0,05$ quando comparado Ovx-Sed, Ovx-Tr e Ovx-TRH-PI com Sham-Sed, Sham-Tr, Ovx-TRH e Ovx-Tr-TRH. ** $p < 0,05$ quando comparado Ovx-TRH-PI com Shan-Sed e Ovx-TRH. n= 11.....	33
Figura 6 - Capacidade máxima de carregamento. Valores apresentados em média e DP. n=11 por grupo. * $p < 0,001$ quando comparado com o respectivo grupo na semana 1. # $p < 0,001$ quando comparado com o respectivo grupo na semana 4. \$ $p < 0,001$ quando comparado com o respectivo grupo na semana 8.	35
Figura 7 - Capacidade máxima de carregamento relativa a massa corporal. Capacidade máxima de carregamento (CMC); Massa corporal (MC). Valores apresentados em média e DP. n = 11 por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado com os respectivos grupos pós-treinamento.	36
Figura 8 - Porcentagem de fibra tipo I, tipo II e intermediárias no músculo plantar em diferentes grupos analisados. Valores apresentados em média e DP. n=5 por grupo. # p	

< 0,05 quando comparado com a fibra Tipo II do grupo Sham-Tr. * p < 0,05 quando comparado com a fibra Tipo I do grupo Ovx-TRH..... 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Massa dos tecidos coletados após o sacrifício dos animais; relações da massa plantar pela massa corporal e da massa plantar pelo comprimento da tíbia.....	34
Tabela 2 - Número absoluto dos tipos de fibras encontradas no músculo plantar	38
Tabela 3 - Área de secção transversa (μm^2) das fibras tipo I e tipo II do músculo plantar nos diferentes grupos estudados	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATPase – Adenosina Trifosfatase Miofibrilar

CMC – Capacidade Máxima de Carregamento

CSA – Área de Secção Transversa

DCF – Departamento de Ciências Fisiológicas

MC – Massa Corporal

Ovx – Ovariectomia

Ovx-Sed – Ovariectomizado Sedentário

Ovx-Tr – Ovariectomizado Treinado

Ovx-TRH – Ovariectomizado Sedentário com Terapia de Reposição Hormonal

Ovx-TRH-PI – Ovariectomizado com Reposição Placebo

Ovx-Tr-TRH – Ovariectomizado Treinado e com Terapia de Reposição Hormonal

Sham-Sed – Sham Operado Sedentário

Sham-Tr – Sham Operado Treinado

TR – Treinamento Resistido

TRH – Terapia de Reposição Hormonal

UFSCar – Universidade Federal de São Carlos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVO.....	20
3. HIPÓTESES.....	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1. Aprovação no comitê de ética.....	24
4.2. Animais e condições experimentais.....	24
4.2.1. Grupos experimentais	24
4.3. Procedimentos Cirúrgicos da Ovariectomia e da operação Sham	25
4.4. Terapia de reposição hormonal (TRH)	26
4.5. Treinamento resistido	27
4.5.1. Aparatos de treinamento.....	27
4.5.2. Familiarização ao Treinamento	28
4.5.3. Determinação da Carga de Carregamento	28
4.5.4. Sessões de Treinamento.....	28
4.6. Controle da ingestão alimentar e da massa corporal.....	29
4.7. Eutanásia dos animais e retirada dos tecidos	30
4.8. Processamento Histoenzimológico	30
4.9. Análise Morfométrica	31
4.10. Análise Estatística	31
5. RESULTADOS	33
5.1. Evolução da massa corporal e massa dos tecidos	33
5.2. Cargas de Carregamento	35
5.3. Morfologia muscular.....	36
6. DISCUSSÃO.....	41
6.1. Evolução da massa corporal e massa dos tecidos	41
6.2. Cargas de Carregamento e morfologia muscular	42
7. Conclusão.....	46
8. Referências Bibliográficas	48

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Seguindo uma tendência mundial, no Brasil o crescimento da população idosa vem ocorrendo de forma bastante acelerada. Projeções indicam que em 2020 o Brasil será o sexto país do mundo com maior população de idosos, com um número superior a 30 milhões de pessoas (VERAS, 2009).

O número de mulheres com interrupção definitiva dos ciclos menstruais, a menopausa, também aumentou com o aumento da expectativa de vida. Este crescimento se iniciou a partir da segunda metade do século XX, devido aos avanços tecnológicos na área da saúde associado ao desenvolvimento de estudos específicos para a questão do envelhecimento feminino (IBGE, 2013).

A menopausa está associada ao aumento do risco de várias alterações metabólicas deletérias que podem comprometer a qualidade de vida, sendo esta uma questão de saúde pública. Cerca de 40% das mulheres neste período procuram assistência médica para tratamento dos sintomas (NEDROW et al., 2006; LEITE et al., 2010). Estudos apontam diversas alterações em mulheres menopausadas, como aumento da prevalência da síndrome metabólica (ALEXANDER; CLEARFIELD, 2006), aumento do risco de doença arterial coronariana, redução da massa mineral óssea (osteopenia), alterações na composição corporal e do perfil lipídico, maior deposição de gordura, aumento de marcadores inflamatórios (LEITE et al., 2009; PRESTES et al., 2009). Além disso, ocorre também o declínio da função mitocondrial e da capacidade de produção de ATP pela fosforilação oxidativa no cérebro (NAVARRO et al., 2008; MARTON et al., 2010) e aumento do risco de diabetes tipo 2 (TOMINAGA et al., 2011). Há também estudos correlacionando a menopausa com uma redução da massa muscular esquelética, denominada sarcopenia, associada a uma redução de força muscular (MESSIER et al., 2011).

De forma geral, o declínio médio de massa muscular é de 0,4 a 0,8 kg por década, a partir dos 20 anos de idade. No entanto, esta diminuição não é linear e não ocorre na mesma velocidade durante o envelhecimento. Na verdade, tem sido proposto que, em mulheres na menopausa, ocorra uma perda acelerada de massa e força muscular podendo as quais podem gerar um papel deletério no desempenho de funções físicas, tais como levantar de uma cadeira, andar rapidamente, subir escadas e na recuperação após uma perda de equilíbrio (MALTAIS; DESROCHES; DIONNE, 2009).

A diminuição da massa muscular após a menopausa tem uma correlação com a perda de unidades motoras específicas as quais podem ser diferenciadas de acordo com o tipo de fibra muscular presente. Unidades motoras lentas são compostas principalmente por fibras do tipo I, enquanto unidades motoras rápidas são constituídas principalmente por fibras do tipo II (LANG et al., 2010).

A diminuição da massa muscular, com o envelhecimento, é resultado da perda de ambas as unidades motoras (lentas e rápidas), sendo que essa redução é mais acelerada nas unidades motoras rápidas. Além disso, parece haver uma atrofia das fibras do tipo II (LEXEL et al., 1995). As fibras musculares das unidades motoras perdidas podem ser recrutadas e convertidas para o tipo das unidades motoras remanescentes. Assim, há uma conversão, de modo geral, de fibras do tipo II em fibras do tipo I. Clinicamente, a perda de unidades motoras rápidas e, conseqüentemente, de fibras do tipo II, resulta em diminuição de força e energia muscular que é necessária para os movimentos físicos (LANG et al., 2010). Outro aspecto morfológico importante é a infiltração de lipídeos nesse tecido, seja por um aumento do número de adipócitos (SHEFER et al., 2006; SHEFER; YABLONKA-REUVENI, 2007) ou por um aumento na deposição de lipídeos nas fibras musculares (DUBE; GOODPASTER, 2006; KRAEGEN; COONEY, 2008).

Com relação às mulheres na menopausa, outros fatores podem contribuir para esse quadro de perda de massa muscular, sarcopenia, tais como: diminuições nos níveis dos hormônios sexuais, estrogênio, estrona e dehidroepiandrosterona, ou do hormônio de crescimento, do fator de crescimento semelhante a insulina-1 e da insulina (IANNUZZI-SUCICH et al., 2002).

Diante destes dados, é notória a importância da pesquisa científica voltada à intervenções farmacológicas e não farmacológicas, que contribuam eficazmente para a saúde desses importantes segmentos populacionais (idosos e mulheres em menopausa) os quais encontram-se, como dito anteriormente, em crescimento no Brasil.

Como exemplo da intervenção farmacológica no tratamento de mulheres na menopausa, destaca-se a suplementação de estrogênio ou a terapia de reposição hormonal (TRH), a qual vem sendo considerada potencialmente estratégica na atenuação da perda da força e massa muscular, embora a literatura traga algumas opiniões contraditórias (MESSIER et al., 2011).

Outro aspecto importante é que existem alguns trabalhos correlacionando a TRH com o aumento na incidência de alguns tipos de cânceres (mama e útero), fato que deve ser considerado, uma vez que o mesmo aumenta mortalidade e morbidade dessas pessoas. (STEFANICK et al., 2006; OLSON; BANDERA; ORLOW, 2007; ZHANG et al., 2007).

Assim, dentro deste contexto, a adoção de métodos não farmacológicos assume grande importância a fim de se evitar tal situação. Estudos sugerem estratégias para se evitar a obesidade, com dietas mais equilibradas, e a sua associação com a prática regular de exercícios físicos podem contribuir significativamente para a saúde dessa população, sem aumentar o risco de desenvolvimento de cânceres (MATTAR et al., 2008). Nesse sentido, o treinamento resistido (TR), como intervenção não

farmacológica, vem sendo recomendado para o tratamento de várias doenças associadas à menopausa como a osteopenia, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e principalmente a sarcopenia (LEITE et al., 2010).

Apesar do exposto, a literatura traz relativamente poucas informações quanto à diversos fatores que podem interferir na qualidade do treinamento resistido. A intensidade, duração e o tipo de exercício praticado influenciam de maneira direta o fornecimento energético celular e promove adaptações teciduais específicas (WELLS; SELVADURAI; TEIN, 2009; WILMORE; COSTILL; KENNEY, 2010). Uma característica do músculo esquelético é a capacidade de alterar seu perfil fenotípico em resposta a estímulos específicos. No TR, por exemplo, essas alterações geralmente contribuem para um aumento significativo na força e tamanho do músculo (CAMPOS et al., 2002), sendo um dos principais fatores determinantes para a manutenção da massa muscular e redução do acúmulo de gordura intramuscular no envelhecimento (MALTAIS; DESROCHES; DIONNE, 2009).

Diversas técnicas vêm sendo desenvolvidas com intuito de se compreender os mecanismos fisiológicos envolvidos nos efeitos deletérios associados ao período pós-menopausa e de se estabelecer estratégias para prevenir e reverter essas alterações.

A ovariectomia (Ovx) em animais de experimentação é uma técnica que foi desenvolvida como uma forma de mimetização experimental da menopausa, possibilitando o desenvolvimento de estudos que permitem aprofundar os conhecimentos sobre os efeitos da redução dos hormônios ovarianos em diversos tecidos (KALU et al., 1993; PRESTES et al., 2009; PIGHON et al., 2011).

Por outro lado, Hornberger e Farrar (2004) desenvolveram um aparato que possibilita de maneira simples e eficiente, o treinamento resistido em ratos, de forma a

viabilizar estudos mais invasivos e apropriados para análise de eventuais remodelamentos teciduais que esse treinamento pode induzir.

Dessa forma, o laboratório de Fisiologia do Exercício da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) vem, já há alguns anos, associando essas técnicas descritas acima, com a finalidade de desenvolvimento de estudos mais aprofundados visando um melhor entendimento dos efeitos desse tipo de treinamento em animais de experimentação com menopausa simulada (LEITE et al., 2009; SHIGUEMOTO et al., 2012; DOMINGOS et al., 2011).

OBJETIVO

2. OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos do treinamento resistido em escada sobre a área de secção transversa e porcentagem dos diversos tipos de fibras do músculo plantar de ratas intactas ou ovariectomizadas, e/ou submetidas à reposição hormonal.

HIPÓTESES

3. HIPÓTESES

As hipóteses do presente estudo são:

- O treinamento resistido aumenta a área de secção transversa muscular.
- O treinamento resistido promove interconversão de fibras musculares.
- A ovariectomia reduz área de secção transversa muscular.
- A ovariectomia promove interconversão de fibras musculares.
- A reposição hormonal reestabelece os padrões musculares normais do animal ovariectomizado.
- O treinamento resistido reverte/atenua os efeitos musculares da ovariectomia.
- A associação do treinamento à reposição hormonal produz efeito somatório no remodelamento muscular.

MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Aprovação no comitê de ética

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos Protocolo nº 005/2013 e conduzidos de acordo com o guia de cuidados e manuseio de animais laboratoriais dos Estados Unidos da América (*National Research Council's*, 1996).

4.2. Animais e condições experimentais

Foram utilizadas 77 ratas Holtzman (*Rattus norvegicus*), adultas, obtidas do biotério da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, campus Araraquara. Durante o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (três ratas por gaiola) no biotério do Laboratório de Fisiologia do Exercício, do Departamento de Ciências Fisiológicas (DCF), sob condições constantes de temperatura ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade e iluminação em ciclo invertido (20:00-08:00: claro; 08:00-22:00h: escuro) com oferta de água e dieta *ad libitum*.

Após a chegada ao biotério do Laboratório de Fisiologia do Exercício - UFSCar os animais permaneceram por três semanas em condição de aclimatação ao biotério e ao ciclo invertido. Após este período, os animais foram distribuídos nos sete grupos experimentais conforme descrito abaixo.

4.2.1. Grupos experimentais

Os animais foram randomicamente distribuídos em sete grupos experimentais, a saber:

1. Sham operado sedentário (Sham-Sed);
2. Sham operado treinado (Sham-Tr);
3. Ovariectomizado sedentário (Ovx-Sed);
4. Ovariectomizado treinado e com terapia de reposição hormonal (Ovx-Tr-TRH);
5. Ovariectomizado sedentário com terapia de reposição hormonal (Ovx-TRH);
6. Ovariectomizado treinado (Ovx-Tr);
7. Ovariectomizado com reposição placebo (Ovx-TRH-Pl).

Como demonstrado na figura 1.

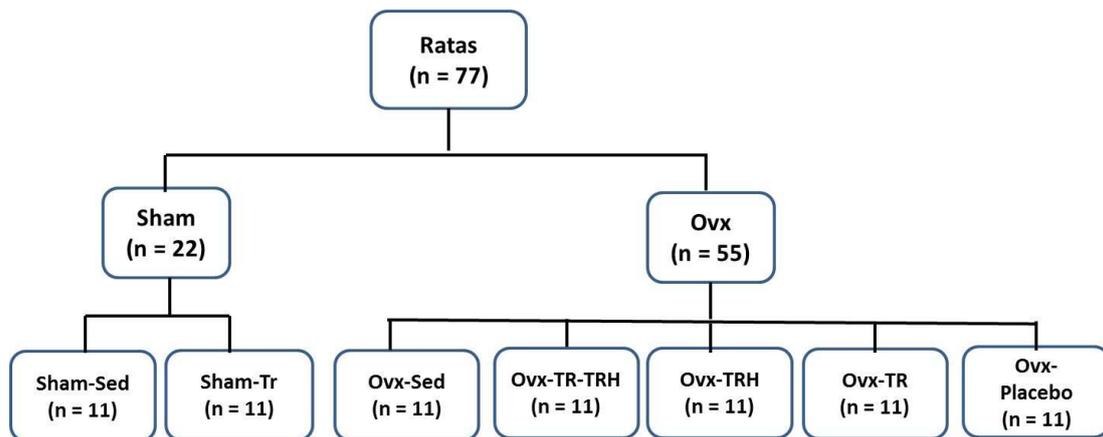


Figura 1 - Organograma dos grupos experimentais.

4.3. Procedimentos Cirúrgicos da Ovariectomia e da operação Sham

Todos os procedimentos anestésicos e cirúrgicos foram realizados pelo médico veterinário Thiago Francisco de Moraes CRMV – SP 24016.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados com as ratas sob efeito anestésico de uma mistura de Ketamina-Xilazina (61,5-7,6 mg/kg respectivamente) injetada intraperitonealmente. Para a ovariectomia foi realizada uma pequena incisão bilateral

(1,0-1,5 cm) através da pele e da camada muscular, entre a última costela e a coxa, em paralelo com a linha corporal do animal. A cavidade peritoneal foi aberta e realizada uma ligadura abaixo da fimbria. Os ovários foram removidos e as incisões feitas na pele e músculos suturadas. A cirurgia Sham foi realizada através dos mesmos procedimentos da ovariectomia, com exceção da ligadura abaixo da fimbria e da remoção dos ovários, os quais foram apenas expostos e devolvidos ao local de origem. Após 7 dias de ovariectomia, foi realizado o implante da cápsula Silastic® nos grupos TRH e placebo através de uma incisão de 0,5 cm no dorso das ratas com posterior sutura da pele. A adaptação ao treinamento iniciou-se 3 dias após o implante. Foi utilizado Cloridrato de Tramadol, 20 mg/kg por via subcutânea para ação antibiótica a cada 24 horas durante cinco dias após os procedimentos cirúrgicos.

4.4. Terapia de reposição hormonal (TRH)

A TRH foi realizada por meio de cápsulas Silastic® (Dow Corning, VWR International, Buffalo Grove, IL, EUA) de 15 mm de comprimento e diâmetro interno de 1,02 mm, com uma solução de 5% de 17 β -Estradiol (50 mg de 17 β -Estradiol/mL de óleo de girassol). O volume da solução administrada em cada cápsula foi de 10 μ L, após adição, as cápsulas foram seladas em ambos os lados com cola Silastic®. As cápsulas foram armazenadas a seco por 24h para secagem da cola. Após a secagem, foram mantidas em solução fisiológica (Salina 0,9%) por no mínimo 2h. O veículo utilizado nas cápsulas dos grupos com TRH e placebo foi o óleo de girassol.

4.5. Treinamento resistido

4.5.1. Aparatos de treinamento

Foi utilizada uma escada vertical (1,1 x 0,18 m, degraus de 2 cm, inclinação de 80°) com uma gaiola de dimensões 20 x 20 x 20 cm. Foi utilizado tubo *falcon* com chumbada de pesca atado à porção proximal a cauda das ratas como carga de carregamento (Figura 2).

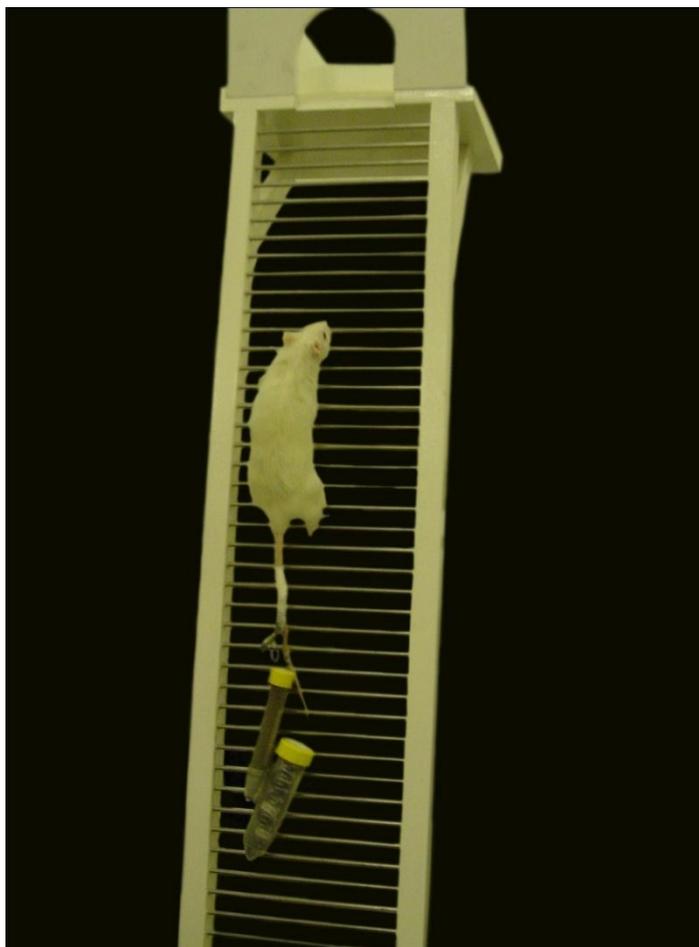


Figura 2 - Rata com o aparelho de carga fixado à calda na escada de treinamento.

4.5.2. Familiarização ao Treinamento

A familiarização ao treinamento foi realizada por 2 dias consecutivos como segue. Com o aparato fixado a cauda, as ratas eram colocadas na parte inferior da escada e familiarizadas com a escalada. Caso necessário, um estímulo com dedos em movimento de pinçar foi aplicado na cauda do animal para iniciar o movimento de escalada. As dimensões da escada obrigavam os animais a realizarem 8-12 movimentos por escalada. Atingindo a gaiola no topo da escada as ratas descansavam durante 2 minutos. Este procedimento repetia-se até que os animais escalassem voluntariamente a escada por três vezes consecutivas, sem a necessidade de estímulo.

4.5.3. Determinação da Carga de Carregamento

Três dias após a familiarização, foi realizada a determinação da carga máxima de carregamento onde a primeira escalada consistiu em carregar uma carga de 75% da massa corporal do animal. Após 2 minutos de recuperação, a segunda escalada foi realizada com a adição de um peso de 30g. Este acréscimo de 30 g na carga foi repetido em cada escalada até uma carga com a qual a rata não conseguiu escalar toda a escada mesmo após três estímulos sucessivos na cauda. A maior carga efetivamente carregada por toda a escada foi considerada a capacidade máxima de carregamento da rata.

4.5.4. Sessões de Treinamento

Cada sessão de treino consistiu em um mínimo de quatro, e um máximo de nove escaladas. As quatro escaladas iniciais consistiam respectivamente a 50%, 75%, 90% e

100% da capacidade máxima de carregamento do animal, determinada na sessão anterior. Após a quarta escalada foram realizadas um máximo de cinco escaladas adicionando-se 30g de carga até que uma nova capacidade máxima de carregamento fosse determinada (Figura 3). As sessões de treino foram realizadas a cada 72 horas não havendo dias semanais fixos para treinamento, durante 12 semanas, totalizando 27 sessões de treino resistido. Esse protocolo de treinamento resistido foi adaptado de Hornberger e Farrar (2004), mediante as necessidades do presente estudo.

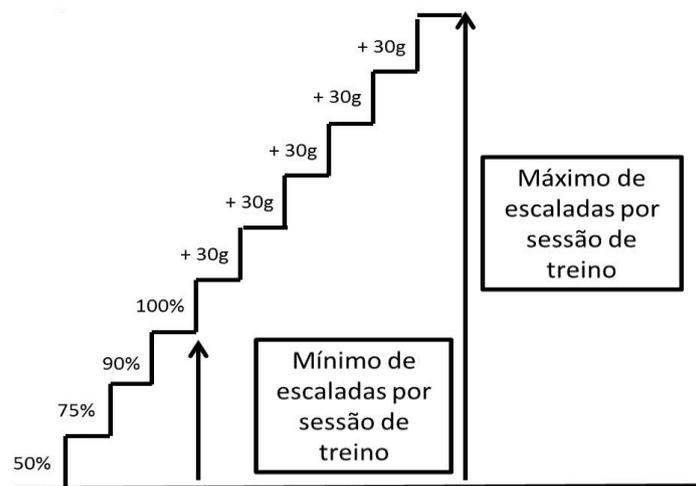


Figura 3 - Organização da carga de carregamento por sessão de treino.

4.6. Controle da ingestão alimentar e da massa corporal

A ingestão alimentar (gramas de ração consumida por gaiola) foi monitorado diariamente, sempre no mesmo horário do dia. A massa corporal foi verificada sempre as segundas, quartas e sextas-feiras sempre no mesmo horário. Ambos os procedimentos foram realizados durante todo o período experimental. Esses controles foram realizados para identificar possíveis alterações causadas pelas diferentes intervenções realizadas.

4.7. Eutanásia dos animais e retirada dos tecidos

Ao término do período experimental os animais foram eutanasiados por decapitação, sob efeito de anestésico leve, com igual período de intervenções experimentais sendo os grupos treinados, eutanasiados 48 horas após a última sessão de treino. Foi retirado um fragmento da porção média do ventre muscular de cada músculo plantar. Os fragmentos foram envolvidos em talco e submetidos ao congelamento em nitrogênio líquido. A estocagem dos mesmos ocorreu em um freezer à -80°C até o processamento do material.

4.8. Processamento Histoenzimológico

Foram obtidos cortes transversais com espessura de 10 μm da região média do músculo plantar. Os cortes foram processados para marcação por meio de reações histoenzimológicas para a atividade ATPase miofibrilar (mATPase) após pré-incubação alcalina (mATPase, pH 9,4) ou ácida (pH 4,1 mATPase). A coloração padrão do tipo de fibra no pH ácido 4.1 (tipo II A branco, II C negro, II D cinza e tipo I negro) foi comparado com o padrão inverso de coloração (fibras do tipo II A negro, II C cinza, II D negro e tipo I branco) marcado no pH alcalino 9.4 (Figura 4).

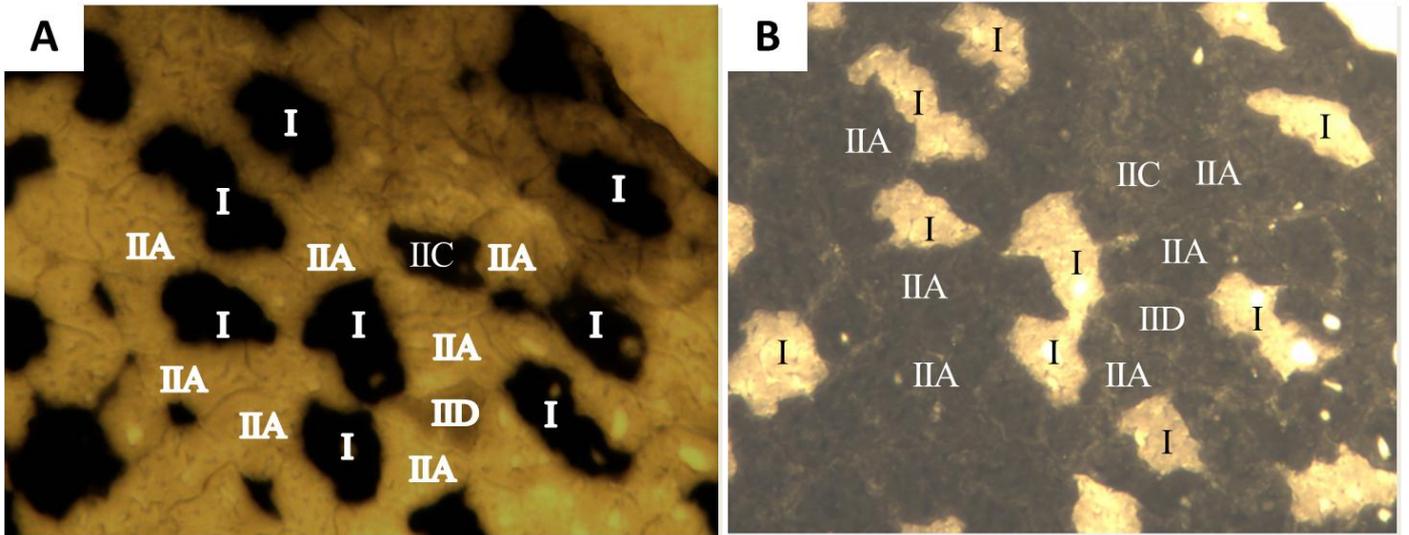


Figura 4 - Coloração histoenzimológica do músculo plantar (figura 4.A: mATPase pH 4.1 e figura 4.B: mATPase pH 9.4).

4.9. Análise Morfométrica

A análise morfométrica foi realizada com auxílio do *software* Image-Pro Plus cujas imagens foram capturadas a partir do microscópio Nikon Eclipse TS 100 equipado com uma câmera de vídeo digital e *software* de imagem NIS-Elements BR.

4.10. Análise Estatística

Foi utilizado o *software* Statistica® 7.0. Para todos os testes foi adotado um erro α de 0,05. Todos os dados foram expressos como média \pm Desvio Padrão. Foram realizados testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de homoscedasticidade de Tukey para todas as amostras. Para as amostras com distribuição normal e homoscedásticas entre si foi realizado o teste inferencial paramétrico de Análise Multivariada da Variância (MANOVA) com *post-hoc* de Tukey. Para as amostras com distribuição não-normal e/ou heteroscedásticas entre si foi realizado o teste inferencial não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Evolução da massa corporal e massa dos tecidos

A evolução da massa corporal dos grupos no período experimental (Figura 5) demonstra que os grupos Ovx (Ovx-Sed $358,93 \pm 33,49$, Ovx-Tr $346,19 \pm 22,95$ e Ovx-TRH-PI $339,89 \pm 14,67$) aumentaram o ganho de massa corporal ($p < 0,05$) quando comparados aos demais grupos que tinham a presença do hormônio 17β -Estradiol.

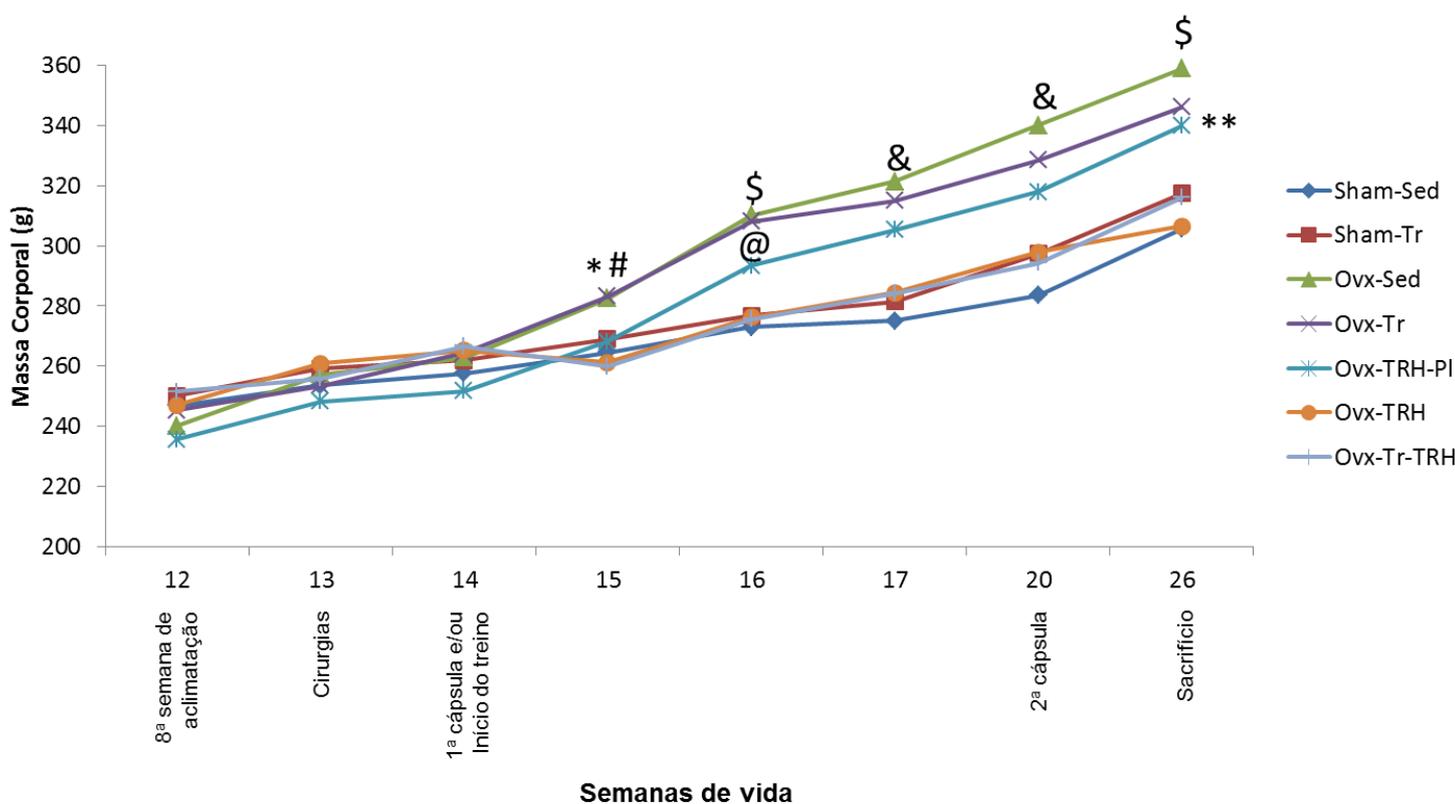


Figura 5 - Evolução da massa corporal dos grupos no período experimental. * $p < 0,05$ quando comparado Ovx-Sed com Ovx-TRH e Ovx-Tr-TRH. # $p < 0,05$ quando comparado Ovx-Tr com Sham-Sed, Ovx-TRH e Ovx-Tr-TRH. \$ $p < 0,05$ quando comparado Ovx-Sed e Ovx-Tr com Sham-Sed, Sham-Tr, Ovx-TRH e Ovx-Tr-TRH. @ $p < 0,05$ quando comparado Ovx-TRH-PI com Sham-Sed. & $p < 0,05$ quando comparado Ovx-Sed, Ovx-Tr e Ovx-TRH-PI com Sham-Sed, Sham-Tr, Ovx-TRH e Ovx-Tr-TRH. ** $p < 0,05$ quando comparado Ovx-TRH-PI com Sham-Sed e Ovx-TRH. $n = 11$.

Considerando as massas dos tecidos coletados dos animais, foi possível observar que a massa do músculo plantar (Tabela 1) dos grupos Ovx-Tr e Ovx-Sed foi superior ($p<0,05$) a do grupo Ovx-TRH e a massa do músculo plantar do grupo Ovx-Tr foi maior ($p<0,05$) do que a do grupo Sham-Sed. Quando analisamos a massa do musculo plantar relativa a massa corporal e ao comprimento da tíbia dos animais, nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os grupos.

Com relação às massas dos úteros dos diversos grupos experimentais (Tabela 1), foi encontrado que a Ovx gerou atrofia desse órgão ($p<0,05$), enquanto que a TRH adotada preveniu a atrofia do mesmo ($p<0,05$).

Tabela 1 - Massa dos tecidos coletados após o sacrifício dos animais; relações da massa plantar pela massa corporal e da massa plantar pelo comprimento da tíbia.

Grupos experimentais	Sham-Sed n=11	Sham-Tr n=11	Ovx-Sed n=11	Ovx-TRH-PI n=11	Ovx-TRH n=11	Ovx-Tr n=11	Ovx-Tr-TRH n=11
Massa do músculo Plantar (g)	0,31±0,03	0,34±0,01	0,36±0,05	0,35±0,02	0,3±0,03	0,36±0,03	0,33±0,02
			e			a, e	
Massa do músculo Plantar (g)/Massa Corporal (g)	1,02±0,08	1,09±0,03	1,0±0,11	1,03±0,09	1±0,07	1,05±0,09	1,06±0,09
Massa do músculo Plantar (g)/Comprimento da Tíbia (cm)	0,0759±0,002	0,0855±0,001	0,0873±0,003	0,0852±0,001	0,0790±0,002	0,0862±0,002	0,0842±0,002
Útero (g)	0,80±0,37	0,60±0,12	0,15±0,21	0,09±0,01	0,56±0,12	0,09±0,02	0,60±0,15
			a, b	a, b, e	d	a, b, e	c, d, f

Os dados estão apresentados em média ± desvio padrão. $p<0,05$ quando comparado ao grupo ^aSham-Sed; ^bSham-Tr; ^cOvx-Sed; ^dOvx-TRH-PI; ^eOvx-TRH; ^fOvx-Tr; ^gOvx-Tr-TRH.

5.2. Cargas de Carregamento

A capacidade máxima de carregamento (Figura 6) aumentou em média 238% em todos os grupos treinados da semana 1, em relação a semana 12, não sendo observada diferenças significativa entre esses grupos (Sham-Tr, OvX-Tr e OvX-TRH-Tr).

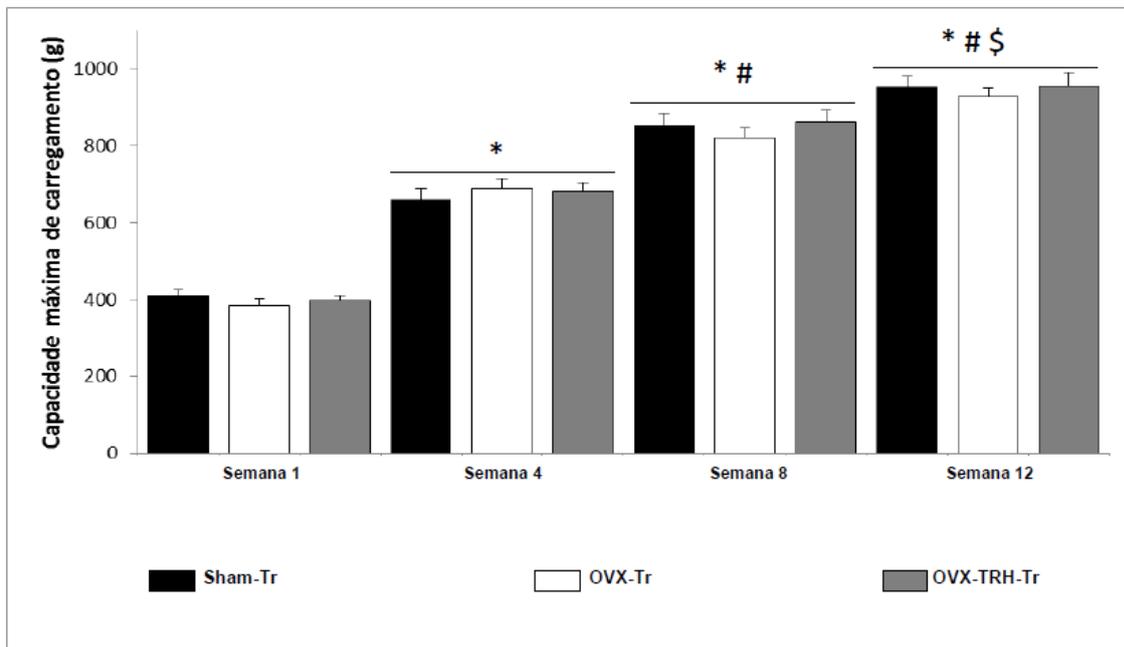


Figura 6 - Capacidade máxima de carregamento. Valores apresentados em média e DP. n=11 por grupo. * $p<0,001$ quando comparado com o respectivo grupo na semana 1. # $p<0,001$ quando comparado com o respectivo grupo na semana 4. \$ $p<0,001$ quando comparado com o respectivo grupo na semana 8.

Ao analisar a Carga Máxima de Carregamento (CMC) relativa à Massa Corporal (CMC/MC) foi possível observar um aumento dessa razão com o treinamento de 12 semanas ($p<0,05$), se comparada ao período pré-treinamento. Porém, não houve diferença significativa entre os grupos treinados (Figura 7).

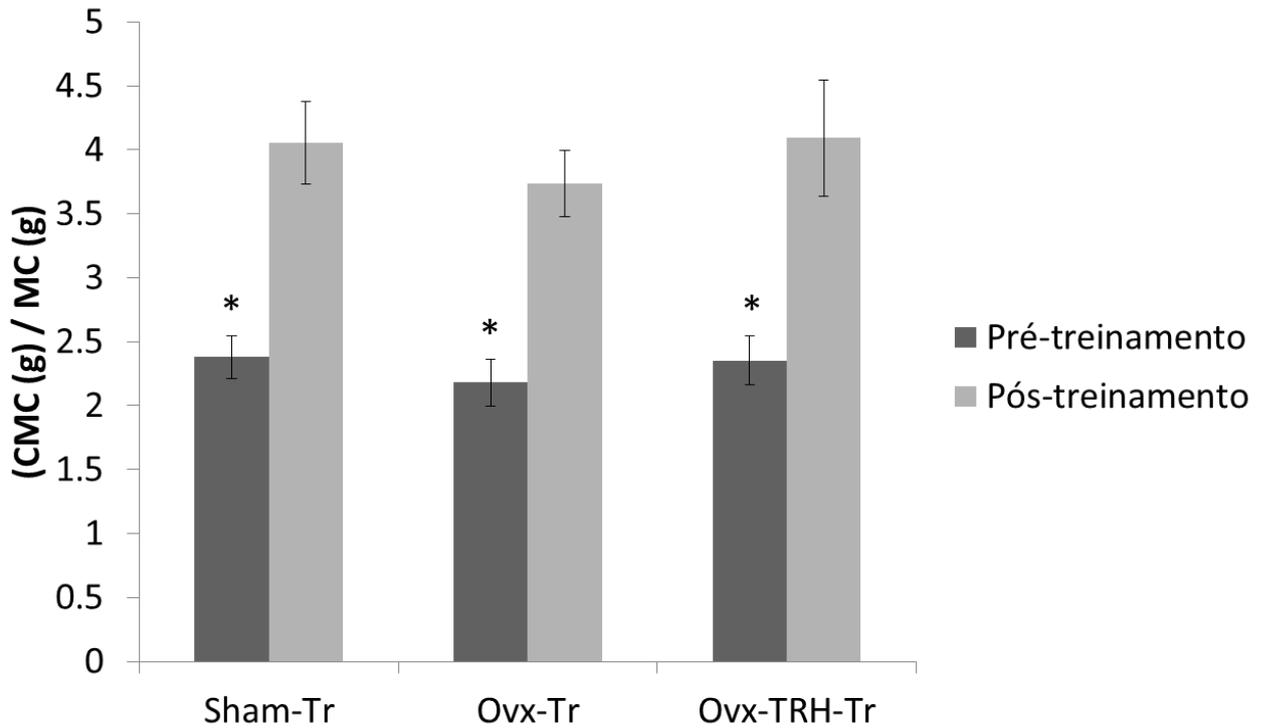


Figura 7 - Capacidade máxima de carregamento relativa a massa corporal. Capacidade máxima de carregamento (CMC); Massa corporal (MC). Valores apresentados em média e DP. n = 11 por grupo. * p < 0,05 quando comparado com os respectivos grupos pós-treinamento.

5.3. Morfologia muscular

A análise histoenzimológica para mATPase mostrou que não houve nenhuma diferença ($p > 0,05$) no número absoluto de fibras musculares analisadas entre os grupos experimentais (Tabela 2).

Os resultados mais relevantes do presente trabalho foram em relação à área de secção transversa das fibras tipo I e tipo II do músculo plantar nos diferentes grupos estudados (Tabela 3). Conforme analisado foi possível observar que a Ovx promoveu uma redução da área de secção transversa das fibras tipo I e tipo II em relação ao grupo Sham-Sed, enquanto que o TR na condição de Ovx (grupo Ovx-Tr) foi capaz de

aumentar a área de secção transversa dos dois tipos de fibras ($p < 0,05$). Além disso, a TRH adotada não preveniu a redução da área de secção transversa das fibras tipo II, mas atenuou a redução da área de secção transversa das fibras tipo I.

Tabela 2 - Número absoluto dos tipos de fibras encontradas no músculo plantar.

Grupos experimentais	Sham-Sed n=5	Sham-Tr n=5	Ovx-Sed n=5	Ovx-Tr n=5	Ovx-TRH-PI n=5	Ovx-TRH n=5	Ovx-Tr-TRH n=5
Fibras Tipo I	42.6±22.1	67.2±13.9	63.4±14.3	55.8±3.4	49.0±17.9	47.4±18.3	47.4±11.1
Fibras Tipo II	208.0±53.2	221.6±29.1	240.4±7.9	198.8±28.7	223.8±56.1	257.4±60.2	228.6±53.2
Fibras Intermediárias	1.0±1.2	8.8±5.2	1.2±1.3	6.8±4.0	1.8±2.0	6.0±3.6	7.6±4.5

Os dados estão apresentados em média ± desvio padrão.

Tabela 3 - Área de secção transversa (μm^2) das fibras tipo I e tipo II do músculo plantar nos diferentes grupos estudados.

Grupos experimentais	Sham-Sed n=5	Sham-Tr n=5	Ovx-Sed n=5	Ovx-Tr n=5	Ovx-TRH-PI n=5	Ovx-TRH n=5	Ovx-Tr-TRH n=5
CSA Tipo I (μm^2)	1185±483	1322±412	1024±336	1284±467	1272±484	1094±327	1402±394
		a	a, b	a, c	c	b, d, e	a, c, d, e, f
CSA Tipo II (μm^2)	1362±542	1204±264	1073±306	1353±399	1155±370	1057±320	1211±292
		a	a, b	b, c	a, b, c, d	a, b, d, e	a, c, d, e, f

Os dados estão apresentados em média ± desvio padrão. CSA, área de secção transversa; $p < 0,05$ comparado ao grupo ^aSham-Sed; ^bSham-Tr; ^cOvx-Sed; ^dOvx-Tr; ^eOvx-TRH-PI; ^fOvx-TRH; ^gOvx-Tr-TRH.

A Figura 8 apresenta a porcentagem dos tipos de fibras musculares encontradas no músculo plantar.

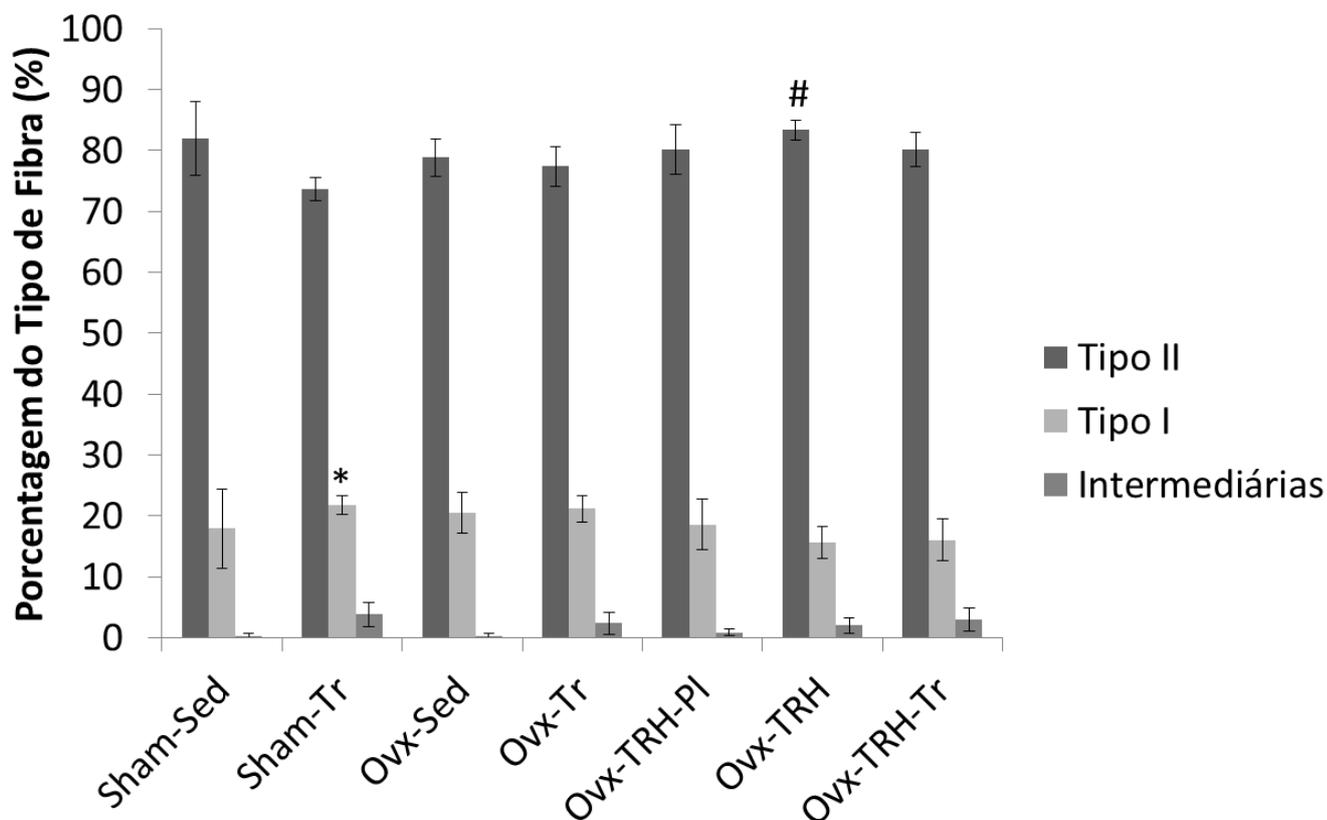


Figura 8 - Porcentagem de fibra tipo I, tipo II e intermediárias no músculo plantar em diferentes grupos analisados. Valores apresentados em média e DP. n=5 por grupo. # p < 0,05 quando comparado com a fibra Tipo II do grupo Sham-Tr. * p < 0,05 quando comparado com a fibra Tipo I do grupo Ovx-TRH.

Nesse caso, nenhuma correlação relevante foi identificada. Apenas o grupo Ovx-TRH apresentou uma maior porcentagem de fibras tipo II ($83,41 \pm 1,62$) quando comparado com o grupo Sham-Tr ($73,62 \pm 1,92$) e, por sua vez, o grupo Sham-Tr apresentou uma maior porcentagem de fibras tipo I ($21,77 \pm 1,55$) quando comparado com o grupo Ovx-TRH ($15,67 \pm 2,56$).

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

6.1. Evolução da massa corporal e massa dos tecidos

Alguns estudos relatam que a Ovx promove um ganho adicional de massa corporal quando comparado a animais intactos (CORRIVEAU et al., 2008; PIGHON et al., 2009; RODRIGUES et al., 2013) como ocorreu neste trabalho. No estudo realizado por Latour, Shinoda e Lavoie (2001), o grupo que fez terapia de substituição de estradiol recebeu uma dose quase duas vezes maior que os níveis encontrados no grupo controle, durante o período experimental de 8 semanas, obtendo uma redução do ganho normal de massa corporal. No presente estudo, os dados demonstram a eficiência da TRH adotada em evitar o ganho adicional de massa corporal promovido pela ovariectomia.

Pighon et al. (2009) apresentaram que 18 semanas de ovariectomia foi capaz de aumentar a massa dos músculos: sóleo, plantar, gastrocnêmio medial e gastrocnêmio lateral. Moran et al. (2006) demonstraram que 60 dias de Ovx em camundongos fêmeas aumentou a massa do músculo sóleo e extensor longo dos dedos, mas não alterou a quantidade de proteína total e contrátil. Jackson et al. (2013) e Leite et al. (2009) apresentaram que a ausência do hormônio ovariano promoveu um aumento nos depósitos de gordura no músculo esquelético. No presente estudo foi observado que a ovariectomia promoveu um aumento da massa do músculo plantar, mas não foi analisado se esse aumento de massa foi decorrente de um aumento do depósito de gordura ou por alteração de proteínas contrateis. (MORAN et al., 2006)

Com relação as massas dos úteros dos diversos grupos experimentais, elas demonstram que a Ovx gerou atrofia desse órgão ($p < 0,05$), como relatado em alguns estudos prévios (JACKSON et al., 2013; PIGHON et al., 2009; RODRIGUES et al.,

2013). No estudo de Latour, Shinoda e Lavoie (2001) o grupo que estava em um estado de hiperestrogenismo obteve um aumento acentuado da massa uterina quando comparado aos grupos intactos. No presente trabalho, os animais que receberam TRH exibiram a massa do órgão semelhante aos animais intactos (treinados ou não). Esses dados indicam que a TRH foi eficaz em prevenir a atrofia do órgão uterino. Em outras palavras, o estradiol, liberado pela capsula Silastic® implantada, manteve os úteros anatomicamente semelhantes aos dos animais intactos.

6.2. Cargas de Carregamento e morfologia muscular

Alguns estudos demonstram que animais ovariectomizados têm um prejuízo na função contrátil muscular. Moran et al. (2006) mostraram que a fração de ligação forte da miosina durante a contração foi reduzida em camundongos ovariectomizados. Prestes et al. (2009) propuseram um mecanismo adicional para a disfunção do músculo esquelético induzida pela Ovx, que envolve uma diminuição na atividade da matriz metalopeptidase-2 (MMP-2), que provavelmente pode comprometer o remodelamento muscular.

No presente estudo, a Ovx não resultou em prejuízo na função contrátil muscular, sendo eficaz em aumentar a capacidade máxima de carregamento (uma medida geral da força dos animais) na mesma proporção que os animais intactos e os que receberam a TRH. Estudos como o de Prestes et al. (2009) e Shiguemoto et al. (2012), demonstraram que 12 semanas de TR em animais Ovx aumentou a capacidade máxima de carregamento proporcionalmente aos animais intactos, como ocorrido neste trabalho.

Com relação a área de secção transversa das fibras musculares do músculo plantar, a Ovx promoveu uma redução da área de secção transversa das fibras tipo I e

tipo II, enquanto que o TR na condição de Ovx foi capaz de aumentar a área de secção transversa dos dois tipos de fibras, confirmando a hipótese inicial do presente estudo. Esse é um importante achado, pois esse treinamento pode ser uma ferramenta importante na prevenção da redução da massa do músculo esquelético induzida pela Ovx. Similarmente, Prestes et al. (2012) demonstraram que 12 semanas de TR foi capaz de aumentar a área de secção transversa das fibras do músculo sóleo tanto em ratas Ovx quanto em intactas.

Em contrapartida, a TRH adotada no presente estudo, inesperadamente, não foi eficaz em prevenir a redução da área de secção transversa das fibras tipo II do músculo plantar, apenas atenuou a redução da área de secção transversa das fibras tipo I e quando associada ao TR, produziu aumento somente da área de secção transversa das fibras tipo I.

Alguns estudos vêm sendo desenvolvidos com o intuito de compreender as influências do estrogênio sobre as propriedades contráteis musculares e, apesar disso, são encontrados diferentes resultados. No estudo de McClung et al. (2006) eles demonstraram que a remoção dos ovários impediu a recuperação da área da seção transversal de fibras do músculo sóleo, após atrofia por desuso, durante 2 semanas de deambulação normal na gaiola, enquanto a reposição de estrogênio permitiu a restauração do tamanho das fibras musculares após este período. De modo oposto, Suzuki e Yamamuro (1985) relataram que a tensão de contração isométrica do músculo extensor longo dos dedos (que contém principalmente fibras de contração rápida) foi menor em ratas que receberam suplementação de estrogênio, quando comparado com ratas Ovx; no entanto, o estrogênio não apresentou efeito sobre a tensão de contração isométrica no músculo sóleo, que contém principalmente fibras de contração lenta. Além disso, Suzuki e Yamamuro (1985) não encontraram alterações com relação ao

número total de fibras musculares e porcentagens dos tipos de fibras, nas condições de Ovx e suplementação de estrogênio em ratas.

No presente trabalho, a Ovx, a TRH e o TR não promoveram alterações com relação ao número absoluto dos tipos de fibras encontradas no músculo plantar e, ao contrário do que se esperava, não ocorreu nenhuma correlação relevante na porcentagem dos tipos de fibras musculares.

CONCLUSÃO

7. Conclusão

A Ovx reduziu a área de secção transversa das fibras tipo I e tipo II do músculo plantar, indicando que a redução dos níveis de estrógeno produz efeitos no remodelamento deste tecido. Em contrapartida, o protocolo de TR de 12 semanas adotado foi eficaz em evitar o desenvolvimento de tais alterações do tecido muscular, demonstrando que o TR pode ser uma ferramenta importante na prevenção da redução da massa do músculo esquelético induzida pela Ovx.

Existem poucos estudos na literatura que analisaram as alterações da área de secção transversa muscular e tipos de fibras musculares na condição de Ovx. Mais raros ainda são os trabalhos correlacionando o TR como ferramenta não farmacológica à reposição de estrogênio nessa condição. Com isso, mais estudos devem ser desenvolvidos com o intuito de elucidar os possíveis mecanismos pelos quais ocorrem as alterações morfofuncionais na redução ou ausência de estrógeno, assim como os possíveis alvos terapêuticos à sarcopenia nessa condição.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. Referências Bibliográficas

ALEXANDER, J.; CLEARFIELD, M. Cardiovascular disease after menopause: a growing epidemic. **Minerva Ginecologica Journal**, v. 58, n. 1, p. 35-40, Feb 2006.

CAMPOS, G. E. R. et al. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. **European journal Applied Physiology**, v. 88, n. 1-2, p. 50–60, nov. 2002.

CORRIVEAU, P. et al. Resistance training prevents liver fat accumulation in ovariectomized rats. **Maturitas**, v. 59, n. 3, p. 259–67, 20 mar. 2008.

DOMINGOS, M. M. et al. Resistance training restores the gene expression of molecules related to fat oxidation and lipogenesis in the liver of ovariectomized rats. **European Journal Applied Physiology**, Aug 2011.

DUBE, J.; GOODPASTER, B. H. Assessment of intramuscular triglycerides: contribution to metabolic abnormalities. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 9, n. 5, p. 553–9, 2006.

HORNBERGER, T. A.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Cananian Journal Applied Physiology**, v. 29, n. 1, p. 16-31, Feb 2004.

IANNUZZI-SUCICH, M.; PRESTWOOD, K. M.; KENNY, A. M. Prevalence of sarcopenia and predictors of skeletal muscle mass in healthy, older men and women. **Journal Gerontology A: Biological Science**, v. 57, n. 12, 2002.

IBGE Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Censo Demográfico 2001. <http://www.ibge.gov.br> (acessado em 19/Ago/2013).

JACKSON, K. C. et al. Ectopic lipid deposition and the metabolic profile of skeletal muscle in ovariectomized mice. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 304, n. 3, p. 206–17, fev. 2013.

KALU, D. N. et al. Ovariectomy-induced bone loss and the hematopoietic system. **Bone and mineral**, v. 23, n. 2, p. 145–61, nov. 1993.

KRAEGEN, E. W.; COONEY, G. J. Free fatty acids and skeletal muscle insulin resistance. **Current Opinion Lipidology**, v. 19, n. 3, p. 235–41, 2008.

LANG, T. et al. Sarcopenia: etiology, clinical consequences, intervention, and assessment. **Osteoporosis International**, v. 21, n. 4, p. 543–59, 2010.

LATOUR, M. G.; SHINODA, M.; LAVOIE, J. Metabolic effects of physical training in ovariectomized and hyperestrogenic rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 90, p. 235–241, 2001.

LEITE, R. D. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. **Applied physiology**,

nutrition, and metabolism = Physiologie appliquée, nutrition et métabolisme, v. 34, n. 6, p. 1079–86, dez. 2009.

LEITE, R. D. et al. Menopause : Highlighting the Eff ects of Resistance Training. **International journal of sports medicine**, v. 31, p. 761–767, 2010.

LEXELL, J. et al. Heavy-resistance training in older Scandinavian men and women: short- and long-term effects on arm and leg muscles. **Scandinavian Journal Medicine and Science in Sports**, v. 5, n. 6, p. 329–41, 1995.

MALTAIS, M. L.; DESROCHES, J.; DIONNE, I. J. Changes in muscle mass and strength after menopause. **Journal of musculoskeletal & neuronal interactions**, v. 9, n. 4, p. 186–97, 2009.

MARTON, O. et al. Aging and exercise affect the level of protein acetylation and SIRT1 activity in cerebellum of male rats. **Biogerontology**, v. 11, n. 6, p. 679-86, Dec 2010.

MATTAR, C. N. et al. Menopause, hormone therapy and cardiovascular and cerebrovascular disease. **Annals Academy of Medicine Singapore**, v. 37, n. 1, p. 54-62, Jan 2008.

MCCLUNG, J. M. et al. Estrogen status and skeletal muscle recovery from disuse atrophy. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 100, n. 6, p. 2012–23, jun. 2006.

MESSIER, V. et al. Menopause and sarcopenia: A potential role for sex hormones. **Maturitas**, v. 68, n. 4, p. 331–6, abr. 2011.

MORAN, A. L. et al. Removal of ovarian hormones from mature mice detrimentally affects muscle contractile function and myosin structural distribution. **Journal of Applied Physiology** v. 100, p. 548–554, 2006.

NAVARRO, A. et al. Hippocampal mitochondrial dysfunction in rat aging. **American Journal Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology**, v. 294, n. 2, p. 501-9, Feb 2008.

NEDROW, A. et al. Complementary and alternative therapies for the management of menopause-related symptoms: a systematic evidence review. **Arch International Medicine**, v. 166, n. 14, p. 1453-65, Jul 24 2006.

OLSON, S. H.; BANDERA, E. V.; ORLOW, I. Variants in estrogen biosynthesis genes, sex steroid hormone levels, and endometrial cancer: a HuGE review. **American Journal of Epidemiology**, v. 165, n. 3, p. 235-45, Feb 1 2007.

PIGHON, A. et al. Resistance training attenuates fat mass regain after weight loss in ovariectomized rats. **Maturitas**, v. 64, n. 1, p. 52–7, 20 set. 2009.

- PIGHON, A. ; GUTKOWSKA, J. ; JANKOWSKI, M. ; RABASA-LHORET, R.; LAVOIE, J. M. Exercise training in ovariectomized rats stimulates estrogenic-like effects on expression of genes involved in lipid accumulation and subclinical inflammation in liver. **Metabolism**, v. 60, n. 5, p. 629-39, May 2011.
- PRESTES, J. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in skeletal muscle. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, v. 34, n. 4, p. 700–6, ago. 2009.
- PRESTES, J. et al. Resistance training and glycogen content in ovariectomized rats. **International journal of sports medicine**, v. 33, n. 7, p. 550–4, jul. 2012.
- RODRIGUES, M. F. C. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on oxidative stress markers in the rat liver. **Clinics (São Paulo, Brazil)**, v. 68, n. 9, p. 1247–54, set. 2013.
- SHEFER G, VAN DE MARK DP, RICHARDSON JB, YABLONKA-REUVENI Z. Satellite-cell pool size does matter: defining the myogenic potency of aging skeletal muscle. **Developmental Biology**, v. 294, n. 1, p. 50–66, 2006.
- SHEFER G, YABLONKA-REUVENI Z. Reflections on lineage potential of skeletal muscle satellite cells: do they sometimes go MAD? **Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression**, v. 17, n. 1, p. 13–29, 2007.
- SHIGUEMOTO, G. E. et al. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 22, n. 5, p. 607–17, out. 2012.
- STEFANICK, M. L. et al. Effects of conjugated equine estrogens on breast cancer and mammography screening in postmenopausal women with hysterectomy. **JAMA**, v. 295, n. 14, p. 1647-57, Apr 2006.
- SUZUKI, S.; YAMAMURO, T. Long-term effects of estrogen on rat skeletal muscle. **Experimental Neurology**, v. 87, p. 291-9, feb. 1985.
- TOMINAGA, K. et al. Vascular dysfunction and impaired insulin signaling in high-fat diet fed ovariectomized mice. **Microvascular Research**, v. 82, n. 2, p. 171-6, Sep 2011.
- VERAS, R. Envelhecimento populacional contemporâneo: demandas, desafios e inovações. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 3, p. 548-54, 2009.
- WELLS, G. D.; SELVADURAI, H.; TEIN, I. Bioenergetic provision of energy for muscular activity. **Paediatric Respiratory Reviews**, v. 10, n. 3, p. 83-90, 2009.
- WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L.; KENNEY, W. L. **Fisiologia do esporte e do exercício**. Barueri, SP: 2010.

ZHANG, S. M. et al. Use of oral conjugated estrogen alone and risk of breast cancer. **American Journal Epidemiology**, v. 165, n. 5, p. 524-9, Mar 2007.