

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS - UFSCar
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA**

Maria Theresa Munhoz Severi

**O EFEITO DE DOIS TIPOS DE TREINAMENTO FISICO EM RATAS
ENVELHECIDAS E TRATADAS COM ESTRÓGENO**

SÃO CARLOS – SP, 2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS - UFSCar
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA**

Maria Theresa Munhoz Severi

**O EFEITO DE DOIS TIPOS DE TREINAMENTO FÍSICO EM RATAS
IDOSAS TRATADAS OU NÃO COM ESTRÓGENO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, para obtenção do Título de Doutor em Fisioterapia. Área de Concentração: Processo de avaliação e intervenção em fisioterapia do sistema músculo- esquelética.

Orientadores: Profº. Drº. Nivaldo Antonio Parizotto
Profº. Drº. Carlos Alberto da Silva

SÃO CARLOS – SP, 2013

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

S498ed

Severi, Maria Theresa Munhoz.

O efeito de dois tipos de treinamento físico em ratas idosas tratadas ou não com estrógeno / Maria Theresa Munhoz Severi. -- São Carlos : UFSCar, 2013.
100 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.

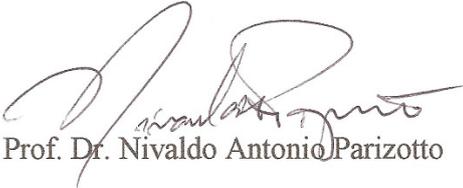
1. Fisioterapia. 2. Estrógenos. 3. Eletrocardiografia. 4. Ratas. 5. Treinamento físico. I. Título.

CDD: 615.82 (20^a)

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Banca Examinadora para Defesa de Tese de Doutorado de MARIA THEREZA MUNHOZ SEVERI, apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, em 24 de abril de 2013.

Banca Examinadora



Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto

(UFSCar)



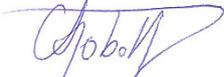
Profa. Dra. Anielle Christine de Medeiros Takahashi

(UFSCar)



Profa. Dra. Patrícia Driusso

(UFSCar)



Prof. Dr. Claudio Alexandre Gobato

(UNICAMP)



Profa. Dra. Ana Claudia Muniz Renno

(UNIFESP)

A Deus, por me dar a vida e recheá-la com pessoas especiais e momentos inesquecíveis.

Aos meus pais que me proporcionaram uma educação acreditando que o investimento profissional é o maior patrimônio.

Aos meus filhos que com amor, carinho e compreensão me retribuíram em momentos de ausência. **Dedico!**

AGRADECIMENTO

A realização deste trabalho só foi possível graças à colaboração direta ou indiretamente de muitas pessoas, especialmente:

Ao Professor **Nivaldo**, por acreditar em meu potencial e ser um incentivador incansável da pesquisa científica e captação dos docentes de fisioterapia, indo além da teoria, da técnica. Meu agradecimento e admiração.

Ao Professor **Carlos**, pelo incentivo incansável, pelas idéias inovadoras, pelo olhar diferenciado diante das possibilidades de pesquisa. Pelo dinamismo, criatividade e perspicácia dentro e fora da sala de aula. Meu sincero agradecimento e profundo respeito ainda são pouco diante de tudo que me foi oferecido.

Aos **membros da banca** por estarem sempre dispostos a contribuir com suas considerações, correções e sugestões que são de extrema importância para o enriquecimento deste trabalho.

Aos meus familiares, aos colegas de estudo e trabalho, em especial ao meu amigo **Luciano** e aos pacientes que mesmo sem saber, são responsáveis pela idealização deste trabalho.

Aos meus filhos **Giancarlo** e **Alessandro**, e ao meu neto **Miguel**, por incentivar a estar sempre ultrapassando limites. É justamente a possibilidade de realizar um sonho que torna a vida mais interessante. A todos que indiretamente contribuíram com estímulo, incentivo e inspiração neste estudo, em especial aos meus **pais Sérgio e Theresa** meu especial agradecimento.

A todos, meus sinceros agradecimentos.

Desejo que você

Não tenha medo da vida, tenha medo de não vive-la.

Não há céu sem tempestades, nem caminhos sem acidentes.

Só é digno de pódio quem usa as derrotas para alcançá-lo.

Só é digno da sabedoria quem usa as lágrimas para irrigá-la.

Os frágeis usam força; os fortes a inteligência.

Seja um sonhador, mas una seus sonhos com disciplina.

Pois sonhos sem disciplina produzem pessoas frustradas.

Uma mente saudável deveria ser uma usina de sonhos.

Pois sonhos oxigenam a inteligência e irrigam a vida de prazer e sentido.

Seja um debatedor de idéias. Lute pelo que você ama.

Augusto Cury

ABREVIATURAS E SIMBOLOS

α : Alfa

β : Beta

γ : gama

μ : Micro

β -HADH: β -hidroxiacil-CoA deidrogenase

aVR = Derivação aumentada do braço direito

aVL = Derivação aumentada do braço esquerdo

aVF = Derivação aumentada da perna esquerda

AchE = Acetilcolinesterases específicas

ACTH: Hormônio adrenocorticotrópico

ADP: Difosfato de adenosina

AF: Função ativadora

AMP: Monofosfato de adenosina

AMPK: Adenosina Monofosfato Kinase

AMPC: Adenosina monofosfato cíclico

ANOVA: Análise de variância

ATP: Trifosfato de adenosina

COBEA = Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

cDNA: DNA complementar

Ca²⁺: Íon de Calcio

CRH: Hormônio liberador de corticotropina

D = Derivação (DI, DII, DIII...)

DAG = Diacilglicerol

DNA: Ácido desoxiribonucléico

ERE= Elementos Responsíveis aos Esteróides

ERR α : Receptor de estrogênio subtipo alfa relacionada

ER2 α : Receptor estrogênico subtipo alfa

ECG = Eletrocardiograma

ERs: Receptor de estrógenos

GH: Hormônio do crescimento

GLUT: transportador de glicose

GLUT 4: Transportador de glicose subtipo quatro

GS: glicogênio sintetase

GSK-3: glicogênio sintetase kinase-3

GTT = teste de tolerância à glicose

FC = Frequencia cardiaca

HPS: Heat-shock protein

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IGF: Fator similar à insulina

IL= Interleucina

IP3 = Inositol trifosfato 3

IR = receptor de insulina

IRS = substrato do receptor de insulina

ITT = teste de tolerância à insulina

JNM = junção neuromuscular

Kg = quilograma

KATP = Canal de potássio sensível ao ATP

KITT = velocidade de decaimento da glicose

L = Litro

LBD: domínio de ligação do ligante

MAPK = Proteína quinase ativada por mitogen

MEF2A= Fator de transcrição para miócitos

mg = Miligrama

mL = Mililitro

mM (mmol) = Milimolar

MMOL = Micromol

MMPS = Metaloproteinases

nm = Nanômetro

NFkB = Fator nuclear kappa B

P = Onda P

PR = Intervalo PR

PPAR γ = Peroxisome proliferator activated receptor γ

PDK = Proteína quinase dependente de fosfoinosítídeos

PGC-1 α = Coativador de transcrição gênica subtipo um alfa

PEPCK = Enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase

PH = Pleckstrin homology

PI3-K: fosfatidilinositol-3-kinase

PLC = Fosfolipase C

PKA = Proteína quinase A

PKB = Proteína quinase B

PKC = Proteína quinase C

PP-1G: Proteínas-ligantes-fosfatases-1

QRS = Intervalo QRS

QTc = Intervalo QTc

RNAm: Ácido ribonucléico mensageiro

rpm = Rotação por minuto

T = onda T

TIMPs = Inibidores teciduais de metaloproteinases

TNF - α = Fator de necrose tumoral α

TRH = Terapia de reposição hormonal

RESUMO

A literatura científica apresenta diversas maneiras de treinamento físico e constantemente reitera que a utilização de modelos animais em estudos sobre o efeito do treinamento visto a possibilidade de avaliar variáveis como volume e intensidade, já que as respostas encontradas nos animais são similares às encontradas em humanos. Por outro lado, diversos estudos têm relatado efeitos benéficos do estrógeno como um recurso importante para minimizar os efeitos deletérios do envelhecimento. Nesse contexto, com o objetivo precípua de compreender as ações estrogênicas e suas influências no exercício aeróbio e anaeróbio foram realizados 2 trabalhos.

O primeiro trabalho intitulado “Perfil eletrocardiográfico de ratas envelhecidas treinadas e tratadas com estrógeno”, cujo objetivo foi avaliar o perfil eletrocardiográfico de ratas tratadas com a associação de estrógeno e atividade física. Foram utilizadas ratas wistar com 1 ano e meio de idade, as quais foram submetidas a dois programas de exercício físico aeróbio (natação 3 sessões semanais/8 semanas) e anaeróbio (escalada em escada de 80 cm, 3 sessões semanais/8 semanas), incluindo um período de 2 semanas de adaptação para cada protocolo de treinamento. Foram avaliados a pressão arterial e o ECG considerando os intervalos QRS, QTc e PR. Os dados foram comparados através do teste T de student seguido do teste de Tukey, $p < 0,05$. Os resultados desse estudo mostraram que o grupo tratado com estrógeno apresentou valores 21% menores se comparado ao controle. Com relação ao treinamento foi observado que o treinamento aeróbio promoveu redução 25% na FC, redução que atingiu 37,2% na presença do estrógeno. No treinamento anaeróbio foi observado redução de 28% sendo acentuado para 40% quando o estrógeno esteve presente. Dessa forma conclui-se que nas alterações cardíacas que acompanham o processo de envelhecimento, o tratamento com estrógeno isoladamente ou associado a prática de atividade física mostrou-se eficiente na manutenção bem como na melhora das condições metabólicas cardíacas. Seqüencialmente foi realizado o segundo trabalho intitulado “Ações metabólicas do estrógeno em ratas submetidas a dois tipos de treinamento físico. A proposta deste estudo foi avaliar se ratas suplementadas com estrógeno apresentam melhores respostas frente à atividade física aeróbia e anaeróbia. Foram utilizadas ratas Wistar envelhecidas (1 ano e meio de idade) acondicionadas sob condições ideais de bioterismo e divididas em grupos experimentais denominados Controle e Tratadas com estrógeno (E, 160µg/100g), Treinado aeróbio e treinado anaeróbio tratados ou não com estrógeno. Foram coletadas amostras de sangue para avaliação bioquímica e amostras de diferentes músculos dos membros anteriores e

posteriores para avaliação do conteúdo de glicogênio pelo método do fenol sulfúrico. Os resultados mostram que tanto o estrógeno quanto os diferentes treinamentos promoveram elevação nas reservas musculares de glicogênio, por outro lado, na associação do hormônio com o exercício físico, foi verificado um efeito aditivo que promoveu a melhora ainda mais expressiva nas condições energéticas. Associado a isto, foi verificado menores concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres e gordura abdominal e ainda houve elevação na concentração de proteínas totais indicando ajustes na homeostasia metabólica, condição importante a ser preservada no processo de envelhecimento.

Palavras-chave: estrógeno, fisioterapia, eletrocardiografia, ratas, treinamento físico

ABSTRACT

The literature presents many alternatives of physical training and frequently reiterates the use of animal models for studies on the effect of training, as the results in animals are similar to those in humans. There is also the possibility of evaluating variables such as volume and intensity. In addition, many studies have reported beneficial effects of estrogen as an important resource to minimize the deleterious effects of aging. As a means of understanding estrogen action and its influence on aerobic and anaerobic exercise, four experiments were carried out in this context. The first study was called "The behavior of glycogen reserves in female rats' denervated muscle, with different doses of estrogen" and aimed at evaluating the estrogen action on the glycogenic profiles of denervated skeletal muscle. Methods: The animals were divided in 6 experimental groups (n=6): control (C), denervated for 15 days (D), denervated and treated with estrogen 20mg/weight/day (E20), denervated and treated with estrogen 40mg/weight/day (E40), denervated and treated with estrogen 80mg/weight/day (E80) and denervated and treated with estrogen 160mg/weight/day (E160). The treatment was realized by 15 days and the choice substance was estradiol cypionate. The following analyses were carried out: glycogen reserves in soleus (S), white (WG) and red gastrocnemius (RG), body and soleus weights. The statistical analysis included the Kolmogorov-Smirnov test, ANOVA and post-hoc Tukey test ($p < 0.05$). Results: The denervation induced a reduction in glycogen content in the S, WG and RG muscles. The groups treated with estrogen we observed a progressive elevation in glycogen reserves concomitant with the elevation of dose and reinstate the glycogen reserves, but the dose that shows a better action is 160mg/weight/day were we observed the greatest quimiometabolic responses. Conclusions: These results suggest that estrogen may be an effective resource to minimize the metabolic compromising that follows the skeletal muscle atrophy induced by denervation. Subsequently, we conducted a study called "Estrogen modulation of insulin secretion in isolated rat pancreatic islets", whose goal was to evaluate the sensitivity to glucose in pancreatic islets isolated from female rats treated with estradiol cypionate (160 mg/body weight/ 15 days) as well as its effect on concentration of protein kinase C and protein kinase A in isolated islets. For this purpose, islets were isolated from rats by the collagenase method to evaluate the secretory process in the presence of different concentrations of glucose. On the other hand, the concentration of the enzymes PKC and PKA was also performed by Western blotting. Statistical analysis was applied to normality test (Kolmogorov-Smirnov test) followed by Tukey test, $p < 0.05$. The results showed that the group treated with estradiol cypionate had greater insulin secretion against the same

concentration of glucose, and increase of concentration of PKA and PKC enzymes, compared to control. The results show insulinotropic properties of estrogen in synergy with glucose, which is the main insulin secretagogue, since the hormone did not alter the secretion at concentrations normoglycaemia. Possibly the focus of the secretagogue action of estrogen involves the activation of cytosolic enzyme pathways that determine the exudation of insulin.

From these observations, we conducted the third study entitled "Electrocardiographic profile of aged rats trained and treated with estrogen", whose goal was to assess the electrocardiographic profile of rats treated with the association of estrogen and physical activity. We used Wistar rats at 1 year of age, which were submitted to two programs of aerobic exercise (swimming 3 sessions weekly / 8 weeks) and anaerobic (climbing stairs of 80 cm, 3 sessions weekly / 8 weeks). We evaluated blood pressure and ECG intervals considering the QRS, QTc and PR. Data were compared by Student's t test followed by Tukey test, $p < 0.05$. The findings of this study showed that the group treated with estrogen values were 21% lower compared to the control group. With respect to training, we observed that aerobic training promoted 25% reduction in FC, which reached 37.2% reduction in the presence of estrogen.

In anaerobic training, we observed 28% reduction, which was accentuated to 40% when estrogen was present. Thus we conclude that treatment with estrogen alone or associated with physical activity was effective in maintaining and improving conditions in the metabolic and functional heart in the cardiac changes that accompany the aging process. Subsequently, we held the fourth paper entitled "Metabolic actions of estrogen in rats subjected to two types of physical training". The purpose of this study was to evaluate whether rats supplemented with estrogen show better responses to the aerobic and anaerobic physical activity. We used aged Wistar rats (13 months), placed under ideal conditions of bioterism and divided into experimental groups called Control and Treated with estrogen (E, 160 μ g/100g), Aerobically and Anaerobically trained, and Treated with estrogen or not.

Blood samples were collected for biochemical evaluation and samples of different muscles of the anterior and posterior were collected for glycogen content assessment by the phenol sulfuric method. The outcomes show that both estrogen and the different workout programs promoted increase in muscle glycogen reserves. Besides, the association of hormone with exercise promoted an additional effect with further enhances in energy conditions. Additionally, we found lower plasma free fatty acids and abdominal

fat, and there was also an increase in total protein concentration indicating adjustments in metabolic homeostasis, an important condition to be preserved in the aging process.

Keywords: estrogen, denervation, muscle, physical therapy, insulin secretion, female rats, electrocardiography, physical training

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tabela 2. ESTUDO I. Ângulo do vetor cardíaco de ratas nos diferentes grupos experimentais considerando os grupos Controle; Tratadas com estrógeno; Treinamento aeróbio; Treinamento aeróbio + estrógeno; Treinamento anaeróbio; Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno.....Página41

Tabela 2. Tabela 1. ESTUDO II. Parâmetros fisiológicos dos grupos controle (C), Estrógeno (E), Treinamento Aeróbio (Ae) Treinado Aeróbio+ estrógeno (AeE), Treinamento Anaeróbio (Ana) e Treinado Anaeróbio + estrógeno (AnaE).....Página61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Figura 1. ESTUDO I. Animais sob treinamento aeróbio (A) e Escada utilizada no Treinamento de Força (1,1 x 0,18m, 2 cm de espaçamento entre os degraus da grade, 80° de inclinação (B).....Pagina:38

Figura 2. Figura 2. ESTUDO I. Freqüência cardíaca (FC, bat/min) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (E); Treinamento aeróbio (Ae); Treinamento aeróbio + estrógeno (AeE); Treinamento anaeróbio (Ana); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (AnaE).....Pagina:39

Figura 3. Figura 3. ESTUDO I. Intervalo QRS (ms) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (E); Treinamento aeróbio (Ae); Treinamento aeróbio + estrógeno (AeE); Treinamento anaeróbio (Ana); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (AnaE).....Pagina:40

Figura 4. Figura 4. ESTUDO I. Intervalo QTc (ms) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (E); Treinamento aeróbio (Ae); Treinamento aeróbio + estrógeno (AeE); Treinamento anaeróbio (Ana); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (AnaE).....Pagina:40

Figura 5. Figura 5. ESTUDO I. Intervalo PR (ms) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (E); Treinamento aeróbio (Ae); Treinamento aeróbio + estrógeno (AeE); Treinamento anaeróbio (Ana); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (AnaE).....Pagina:41

Figura 6. Figura 6. ESTUDO I. Concentração de glicogênio ventricular (mg/100mg) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (E); Treinamento aeróbio (Ae); Treinamento aeróbio + estrógeno (AeE); Treinamento anaeróbio (Ana); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (AnaE).....Pagina:42

Figura 7. Figura 7. ESTUDO II. Relação peso cardíaco/peso corporal (g/100g) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (E); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (AnaE) e Treinamento aeróbio + estrógeno (AeE).....Pagina:43

Figura 8. Figura 1. ESTUDO II. Animais sob treinamento aeróbio (A) e Escada utilizada no Treinamento de Força (1,1 x 0,18m, 2 cm de espaçamento entre os degraus da grade, 80° de inclinação (B).....Pagina:55

Figura 9. Figura 2. ESTUDO IV. Concentração de glicogênio (mg/100mg) nos músculos sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (GB), extensor longo dos dedos (ELD), tibial anterior (TA), bíceps (B) e tríceps (T) de ratas controle (C) e tratadas com estrógeno (E, 160 µg/100g).....Pagina:56

Figura 10. Figura 3. ESTUDO II. Concentração de glicogênio (mg/100mg) nos músculos abdominal (A), peitoral (P), intercostal (I) e paravertebral (PR) de ratas controle (C) e tratadas com estrógeno (E, 160 µg/100g).....Pagina:57

Figura 11. Figura 4. ESTUDO II. Concentração de glicogênio (mg/100mg) nos músculos sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (GB), extensor longo dos dedos (ELD), de ratas controle (C) e tratadas com estrógeno (E, 160 µg/100g) e treinadas aeróbio (Ae), treinadas aeróbio com estrógeno (AeE), treinadas anaeróbio (Ana) e treinadas anaeróbio com estrógeno (AnaE).....Pagina:58

Figura 12. Figura 5. ESTUDO II. Concentração de glicogênio (mg/100mg) nos músculos abdominal (A), peitoral (P), intercostal (I) e paravertebral (PR) de ratas controle (C) e tratadas com estrógeno (E, 160 µg/100g) e treinadas aeróbio (Ae), treinadas aeróbio + estrógeno (AeE), treinado anaeróbio (Ana), treinado anaeróbio + estrógeno (AnaE).....Pagina:59

Figura 13. Figura 6. ESTUDO II. Peso corporal (g) de ratas controle (C) e tratadas com estrógeno (E, 160 µg/100g) e treinadas aeróbio (Ae), treinadas aeróbio + estrógeno (AeE), treinadas anaeróbio (Ana) e treinadas anaeróbio + estrógeno (AnaE).....Pagina:60

SUMÁRIO

ABREVIATURAS E SIMBOLOS.....	VII
RESUMO.....	XI
ABSTRACT	XIII
LISTA DE TABELAS.....	XVI
LISTA DE FIGURAS.....	XVII
SUMÁRIO.....	XX
APRESENTAÇÃO GERAL.....	22
CONTEXTUALIZAÇÃO	25
ESTUDO I: “Perfil eletrocardiográfico de ratas envelhecidas treinadas e tratadas com estrógeno.”.....	31
Introdução.....	35
Material e Métodos.....	38
Resultados.....	38
Discussão.....	44
ESTUDO II: “Ações metabólicas do estrógeno em ratas submetidas a dois tipos de treinamento físico.”.....	51
Introdução.....	53
Material e Métodos.....	54

Resultados.....	55
Discussão.....	61
CONCLUSÕES GERAIS.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
APÊNDICES.....	75
Apêndice A: Estudo I.....	76
Apêndice B: Estudo II.....	110
ANEXO.....	
Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFSCar.....	

1- APRESENTAÇÃO GERAL

APRESENTAÇÃO GERAL

Um fato incontestável que acompanha a sociedade moderna e que vem ocupando as pautas de discussões em diferentes setores da sociedade é que a prática de exercícios traz benefícios em qualquer idade, melhorando a qualidade de vida. Neste sentido longevidade e qualidade de vida são fatos interligados. A ciência afirma que o envelhecimento fisiológico não acompanha necessariamente a idade cronológica, pois isto varia de pessoa para pessoa, levando em conta muitos fatores, mas principalmente o estilo de vida de cada um. Apesar desta afirmação, concomitante ao envelhecimento há perda massa muscular, flexibilidade, força, controle postural, massa óssea e redução significativa na produção hormonal, em suma inevitavelmente há declínio das capacidades funcionais e modificações fisiológicas decorrentes do envelhecimento.

Muitos estudos relatam o efeito benéfico de estrógeno como um recurso importante para minimizar os efeitos deletérios do envelhecimento, porém na década de 70 a falta de conhecimento específico, a utilização de forma discriminada, a prescrição medicamentosa sem a indicação de uma dosagem específica fizeram com que surgissem casos de câncer de mama e útero. Após esse fato veio um período de estagnação dos estudos e até certo ponto um “tabu” diante do uso do hormônio estrogênico. Assim sendo, vimos à necessidade de conhecer os mecanismos de ação do estrógeno e uma dose que fosse específica em proporcionar os efeitos benéficos da reposição hormonal estrogênica com uma menor ocorrência dos efeitos colaterais.

Buscando compreender os benefícios da Terapia de Reposição Hormonal (TRH) e da Atividade física no processo natural do envelhecimento, decidiu-se por avaliar o perfil eletrocardiográfico de ratas envelhecidas (um ano e meio de idade), tratadas com estrógeno e que foram submetidas ao Treinamento Físico Aeróbio e Anaeróbio. Assim, as considerações estão descritas no capítulo 3, onde descreve-se detalhadamente no artigo “PERFIL ELETROCARDIOGRÁFICO DE RATAS ENVELHECIDAS TREINADAS E TRATADAS COM ESTRÓGENO”.

Uma vez, que existe um consenso dos efeitos benéficos do treinamento Físico e também da suplementação hormonal resta uma pergunta que intriga a comunidade científica: Qual o tipo de exercício físico que deverá ser prescrito no processo de envelhecimento? No capítulo 4, o estudo: “AÇÕES METABÓLICAS DO ESTRÓGENO EM RATAS SUBMETIDAS A DOIS TIPOS DE TREINAMENTO FISICO” mostra os animais submetidos a duas condições triviais na pratica regular de exercício físico em

humanos. A natação descrita como uma prática Aeróbica e o treinamento resistido de força simulando uma “musculação” onde as ratas realizavam exercício com carga.

Durante a escrita, com o objetivo de não se tornar repetitivo achamos melhor citar apenas as referências contidas na contextualização, pois em cada capítulo de cada estudo já constam as suas respectivas referências.

2- CONTEXTUALIZAÇÃO

CONTEXTUALIZAÇÃO

As transformações ocorridas no século XX têm trazido benefícios à população com faixa etária nos limites do envelhecimento refletindo em modificações na morbimortalidade. Este fato exige mudanças nas ações da comunidade científica na busca de estratégias que possam contribuir para minimizar os problemas deletérios que acompanham o envelhecimento (Kaeberlein, 2013).

O aumento da expectativa de vida tem propiciado o envelhecimento da população e aumento nas manifestações de doenças crônico-degenerativas. Dados recentes do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) indicam uma estimativa de crescimento no número de idosos atingindo cerca de 25 milhões de pessoas em 2020, dos quais aproximadamente 15 milhões do sexo feminino.

A prática de exercícios é um excelente recurso promotor de saúde aplicado a qualquer faixa etária, com resultados significativamente expressivos nos indivíduos idosos, por induzir adaptações fisiológicas e psíquicas representado por: aumento da massa muscular, melhora da função pulmonar, melhora do perfil lipídico, melhor controle da glicemia, redução do massa corporal, diminuição do risco de quedas e fraturas e diminuição da mortalidade para portadores de Parkinson, além disso, também tem sido indicados para portadores de outras doenças neurológicas como Alzheimer e esclerose múltipla (Eftekhari et al., 2012).

Há consenso entre cientistas que a atividade física, uma vez realizada de forma sistemática e com planejamento promove a melhoria do condicionamento físico e ainda favorece o desenvolvimento de habilidades motoras além de exercer efeito significativo sobre o tamanho, aspecto e função do coração podendo influenciar positivamente na diminuição dos fatores de risco no sistema cardiovascular (Dempsey, 2012).

No que tange ao coração tem sido descrito que concomitante a prática de exercício aeróbio (baixa intensidade e elevada frequência) ocorre hipertrofia dos cardiomiócitos atingindo o sentido longitudinal e como consequência, a luz ventricular aumenta, constituindo um processo descrito como hipertrofia excêntrica. Por outro lado, no que se refere aos exercícios anaeróbios ou exercícios resistidos (alta intensidade e baixa frequência) sabe-se que promovem aumento da parede ventricular com possível diminuição de sua luz caracterizando o processo denominado de hipertrofia concêntrica.

Cabe ressaltar que tem sido constatado que os cardiomiócitos se adaptam a sobrecarga de forma pontual a região ventricular onde estão localizados (Koch et al., 2011).

Sabe-se que indivíduos que mantêm a prática regular de exercícios físicos apresentam minimização das alterações fisiológicas decorrentes do envelhecimento e uma significativa melhora na qualidade de vida. Segundo Ferreira (2011) homens treinados de 50 anos apresentam débito cardíaco significativamente maior do que sedentários da mesma idade, no entanto, ainda se apresentam menores se comparado a homens treinados com 25 anos. Em suma, a constância na prática de exercícios físicos durante o envelhecimento, minimiza os eventos degenerativos.

Ao se refletir sobre os benefícios propiciados pela prática de exercícios físicos no envelhecimento, destaca-se a intensa melhora na fixação de cálcio nos ossos, auxiliando na prevenção e no tratamento da osteoporose, aumento na força e a resistência muscular, controle postural e flexibilidade (Goulet et al, 2011).

Dentre as modalidades esportivas prescritas no envelhecimento a literatura mostra conceitos diferenciados, existindo a proposta de atividades aeróbias, no geral predominam as formas isotônicas ou dinâmicas de exercício, por sua vez, também há proposta de exercícios de força ou resistidos, que predominam as formas isométricas ou estáticas de exercício (Kraemer e Ratamess, 2004).

Dentre as opções de treinamento físico o padrão aeróbio induz adaptações metabólicas relevantes, tais como aumento nas reservas glicogênicas muscular expressando uma supercompensação, aumento na mobilização e contribuição dos lipídeos no aprimorando do metabolismo energético, aumento do número e tamanho das mitocôndrias, aumento da atividade das enzimas chave da mobilização e oxidação de lipídios e elevação na sensibilidade dos tecidos periféricos à insulina (Luciano et al., 2002).

Considerando-se a especificidade de cada uma dessas atividades, sabe-se que o exercício resistido consiste em uma atividade voltada para o desenvolvimento das funções musculoesqueléticas por meio da aplicação de carga, podendo ser imposta utilizando pesos, sistemas elásticos ou a própria massa corporal (Camara et al., 2012).

Dentre os fatores que regem as dinâmicas dos exercícios resistidos sabe-se que são determinados pelos princípios do treinamento sendo representados por volume e intensidade sob condição apropriada e adequada aos objetivos pretendidos. No aspecto conceitual, o volume é expresso em número de séries e repetições, por sua

vez, a intensidade é representada pelo percentual da maior carga possível de ser vencida em uma única repetição (Silva et al., 2008; Vale et al., 2006).

A literatura em muito já buscou conceituar exercício resistido, no entanto, na última década, a comunidade científica passou a demonstrar maior interesse por esse tipo de treinamento e tem sido relatado sua eficácia no desenvolvimento ou na manutenção da força, da potência e da massa muscular, trazendo benefícios tanto a saúde quanto no sentido de minimizar o surgimento de doenças crônicas (Silveira et al., 2011).

Respeitando-se o estilo de vida ativo e saudável, a constância na prática pode propiciar retardo na ocorrência das alterações morfofuncionais que ocorrem durante o envelhecimento refletindo até na melhora da flexibilidade articular (Faria, 2003).

O envelhecimento é um processo caracterizado pelo declínio progressivo de diferentes sistemas reorganizando o equilíbrio homeostático, certamente de acordo com a fase etária. Os processos que caracterizam o envelhecimento são representados por modificações morfológicas, funcionais/bioquímicas e psicológicas, as quais de forma integrada aumentam a vulnerabilidade e proporcionam maior incidência de patologias (Netto, 2004).

Dentre as alterações anatomofuncionais observa-se redução no tônus muscular bem como na constituição óssea levando a mudanças na postura do tronco, acentuando curvaturas da coluna torácica e lombar, endurecimento das articulações reduzindo a extensão dos movimentos e produzindo alterações no equilíbrio e na marcha (Aagaard et al., 2010)

No que se refere ao tecido muscular sabe-se que entre as várias alterações fisiológicas que acompanham o processo de envelhecimento destaca-se a sarcopenia que se fundamenta na perda de massa e conseqüente da força muscular. Um fato merecedor de destaque é que concomitante a perda de força muscular desenvolve-se as limitações funcionais e redução na independência. Na busca por minimizar esta alteração anatomofisiológica tem sido prescrito atividade física regular e com peso, uma vez que, o treinamento resistido produz efeito positivo sobre a massa muscular esquelética, melhorando a síntese proteica e produzindo a hipertrofia das fibras (Henwood et al., 2011).

Diversos autores têm sugerido que nos músculos de idosos a capacidade regenerativa das células satélites é menos eficiente, se comparado ao jovens. Nesses indivíduos as unidades motoras tornam-se maiores e são menos eficientes, podendo

gerar tremor e fraqueza (Sverzut, 2003). Fisiologicamente o exercício resistido aumenta a síntese proteica da miofibrila muscular com reflexo no aumento na força em idosos (Jozsi et al., 1999; Camara et al., 2012).

Avaliar as ações multifatoriais do estrógeno no músculo esquelético é foco de estudo de diversos grupos de pesquisa, neste sentido, a literatura tem descrito o que o estrógeno tem um importante papel enquanto regulador da força muscular, atuando ainda como antioxidante e estabilizador das membranas das fibras musculares (Ciooca e Vargas-Roiga, 1995; Skelton et al., 1999, Tiidus, 1995).

Estudos relacionados à sinalização do estrógeno têm demonstrado a presença de receptores de membrana ligados a fatores de transcrição, sendo denominados de receptores de estrógeno (ERs), que se apresentam em 3 tipos denominados de α , β , γ (Mangelsdorf et al., 1995). Dentre estes, os tipos denominados ER α e ER β , são expressos na musculatura esquelética humana a nível de RNAm e somente o tipo ER β pode ser detectado a nível proteico (Glenmark et al., 2004; Wiik et al., 2005). Estes receptores estão ligados à regulação do metabolismo energético celular, sendo expressos em maior proporção em tecidos com alta capacidade de metabolizar ácido graxos (Giguere et al., 1988).

Os receptores de estrógeno pertencem à família de receptores de transcrição nuclear, que apresentam homologia composta de estruturas tridimensionais, as quais geram mudanças conformacionais ativadoras de eventos ligados à transcrição gênica, eventos ainda não conhecidos totalmente, que inclui dimerização do receptor, interação com DNA, recrutamento e interação com coativadores, fatores de transcrição e formação de complexos de pré-iniciação. O domínio N-terminal do receptor nuclear apresenta a capacidade de codificar uma função ativadora denominada AF1, onde ocorre a interação proteica por meio de elementos responsivos aos esteroides (ERE). A comparação do domínio AF1 nos dois tipos de receptores tem revelado que nos receptores ER α a porção é mais ativa no que se refere à estimulação da expressão gênica (Nilsson et al., 2001). Após o acoplamento do ligante nos dedos de zinco do ocorrem mudanças conformacionais, as quais permitem que coativadores proteicos sejam recrutados e o sinal transcrito (Piccone, Brazeau e McCormick, 2005).

O estrógeno pode alterar algumas propriedades musculares, uma vez que muda a responsividade a outros hormônios como, por exemplo, ao fator similar à insulina (IGF) e ao hormônio do crescimento (GH), promovendo o crescimento das fibras por atuar na composição da miosina e na síntese proteica (Huss et al., 2004).

No intuito de descrever a amplitude de ação estrogênica no músculo esquelético diversos cientistas têm demonstrado seu papel na regulação do metabolismo, destacando-se a ação sensibilizadora da via insulínica, a modulação das vias insulínicas citosólicas a expressão e translocação de GLUT-4, a estimulação na fosforilação das enzimas Akt, AMPK, e o substrato Akt TBC1D1/4 (Bjornholm e Zierath, 2005).

Com relação à regulação da ativação/transcrição gênica, constata-se diferenças em regimes de treinamento ao se comparar o endurance com o treinamento resistido, onde se observa fosforilação da enzima da via insulínica p70s6k (enzima ribossômica que atua na tradução de novas proteínas). Assim, no treinamento de endurance a p70s6k especificamente, na forma fosforilada acelera a tradução dos mRNA de proteínas contráteis, aumentando, assim, a síntese dessas proteínas, induzindo a hipertrofia muscular (Barros e Gustafsson, 2011).

De forma diferenciada o treinamento de endurance induz aumento do mRNA de várias proteínas mitocondriais e a sinalização para as adaptações desse tipo de exercício inicia-se com a ativação da AMP quinase. Neste sentido há relatos que sua ativação inicia uma cascata de eventos, que implica no aumento de vários fatores de transcrição, como, por exemplo, o NRF-1/2. Esse fator se liga aos promotores gênicos ALA sintase e mTFA, atuando na síntese de proteínas mitocondriais, dentre elas, enzimas mitocondriais que atuam na fosforilação oxidativa (Barros e Gustafsson, 2011).

Cabe ressaltar que a cascata de eventos desencadeada pela AMPK parece ser responsável também pelo aumento da expressão de GLUT4, transportador de glicose muscular, provavelmente em decorrência do aumento dos fatores de transcrição MEF2A e MEF2D25, os quais se encontram aumentados em decorrência do treinamento de endurance.

Frente ao exposto há uma expressiva indicação terapêutica no uso do estrógeno enquanto coadjuvante à prática de atividade física para idosos, no entanto, ainda há controvérsias sobre a suplementação e a melhor opção de atividade física a ser realizada.

3- ESTUDO I

PERFIL ELETROCARDIOGRAFICO DE RATAS ENVELHECIDAS TREINADAS E TRATADAS COM ESTROGENO.

(Artigo submetido na Revista Fisioterapia em Movimento em 23/04/2012, controle n. 0003289).

RESUMO

A constância na prática de exercício físico tem sido indicado como um dos importantes fatores envolvidos na melhora na qualidade de vida. A literatura mostra os ajustes quimiometabólicos ligados a prática, bem como seus reflexos na manutenção de boas condições orgânicas para a terceira idade. Por outro lado, tem sido frequentemente descrito benefícios ligados a suplementação com estrógeno, de forma que a reposição hormonal pode permitir a manutenção na homeostase de sistemas afetados pelo envelhecimento. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil eletrocardiográfico bem como as reservas glicogênicas de ratas tratadas com a associação estrógeno/atividade física. Utilizou-se ratas wistar com 1 ano de idade, as quais foram submetidas a dois programas de exercício físico aeróbio (natação 60 min/ 8 semanas/5 vezes semana) e anaeróbio (escalada em escada de 80 cm, 3 sessões semanais/8 semanas). Foram avaliados a pressão arterial e o ECG considerando os intervalos QRS, QTc e PR. Os dados foram comparados através do teste T de student e teste de Tukey, $p < 0,05$. Os resultados mostram que, em todas as condições, o estrógeno trouxe benefícios reduzindo a sobrecarga cardíaca representado por menor frequência cardíaca e na velocidade de propagação das ondas do ECG. As reservas glicogênicas ventriculares bem como a relação peso cardíaco/peso corporal também apresentaram melhora no conteúdo ventricular na presença do estrógeno, por sua vez, a relação peso cardíaco/peso corporal também foi expressivamente maior nesta condição. Os dados mostram a importância da suplementação com estrógeno nos ajustes metabólicos e orgânicos funcionais comprometidos pelo envelhecimento.

Palavras Chave: eletrocardiografia, ratas, treinamento físico aeróbio, treinamento físico anaeróbio, glicogênio.

ABSTRACT

The constancy in the practice of physical exercise has been nominated as one of the important factors involved in improving their quality of life. The literature shows quimiometabolic adjustments related to this practice, as well as, your reflexes in maintaining good conditions for organic in seniors. Moreover, it has often been described benefits associated with estrogen supplementation in order that replacement therapy could allow the maintenance of homeostasis in systems that are affected by aging. In this context, the objective of this study was to evaluate the electrocardiographic profile and the glycogen reserves of rats treated with the combination estrogen / physical activity. We used Wistar rats with 1 year of age, which were submitted to two programs of aerobic exercise (swimming 60 min / 8 weeks / 5 times per week) and anaerobic (climbing the stairs of 80 cm, 3sessões week / 8 weeks). We evaluated blood pressure and ECG intervals considering the QRS, QTc and PR. Data were compared using Student's t test and Tukey test, $p < 0.05$. The results show that, under all conditions, estrogen has beneficial effect reducing cardiac load represented by a lower heart rate and reduction of the speed of propagation of the waves of the ECG. The glycogen reserves and the relationship ventricular heart weight / body weight also showed improvement in ventricular content in the presence of estrogen, in turn, the ratio heart weight / body weight was also significantly greater in this condition. The data show the importance of estrogen supplementation in the metabolic adjustments and functional organic compromised by aging.

Key words: electrocardiography, rats, physical training, physical training anaerobic glycogen.

INTRODUÇÃO

A constância na prática dos exercícios físicos induz adaptações bioquímicas e morfológica em diferentes órgãos principalmente no sistema muscular (1). Além disso, a prática constante de exercício físico resulta em adaptações orgânicas de acordo com as exigências e o tipo de atividade. A natação é um dos exercícios de característica aeróbia constantemente aplicada no treinamento de humanos bem como em pesquisas com animais experimentais por possuir características que auxiliam o sistema cardiorespiratório e osteoarticular, facilitando o retorno venoso e diminuindo o risco de lesões nas articulações, apresentando também maior regularidade no esforço físico (2,3).

A literatura apresenta diversas maneiras de treinamento e constantemente reitera que a utilização de modelos animais em estudos de programas de treinamento é importante visto a possibilidade de manipulação das variáveis tais como volume e intensidade, baseado no fato das respostas ao exercício, serem semelhantes às encontradas em seres humanos (4,5). Métodos de treinamento aeróbio que preconizam protocolos de natação em ratos possibilitam um primoroso controle das respostas fisiológicas geradas no treinamento possibilitando uma análise de parâmetros bioquímicos e moleculares (6,7).

Em humanos, exercício de força progressiva é reconhecido por sua habilidade de induzir hipertrofia do músculo esquelético. No intuito de desenvolver um modelo animal similar o processo de exercício de força progressiva em humanos, HORNERBERG e FARRAR. (8), descreveram um modelo experimental de treinamento progressivo de força aplicado para ratos. Esta é uma aplicação prática do princípio da sobrecarga e dá forma à base da maioria dos programas de treinamento de força em humanos (9). O protocolo proposto inicia-se com a determinação da carga máxima do animal, a partir de 75% do peso corpóreo, sendo acrescido 30 gr até a exaustão voluntária na escalada em escada. Feita a determinação da carga máxima, o protocolo de treinamento sugeriu a partir de 50, 75, 90 e 100% da carga máxima em cada uma das 4 sessões de treinamento (10,11). O número de séries, o período de descanso, e a frequência do treinamento assemelham-se a um programa típico de treinamento de força em humano e estão de acordo com a posição de ACSM (12) em modelos da progressão do exercício da resistência em adultos saudáveis (9).

O eletrocardiograma (ECG) é um dos métodos mais importantes no diagnóstico de alterações cardíacas, uma vez que, dependendo da extensão e comprometimento

da homeostasia cardíaca observa-se alterações nas ondas e nos respectivos intervalos. As ondas do ECG decorrem da somatória temporal de despolarizações e repolarizações em grupos de fibras cardíacas representando o sinal elétrico no nódulo sinusal, átrios, nódulo atrioventricular, feixe de His, rede de Purkinge e massa ventricular representado pelas ondas P, o complexo QRS e a onda T (13,14).

O objetivo do trabalho em tela foi avaliar o comportamento eletrocardiográfico de ratas envelhecidas submetidas a treinamento aeróbio e anaeróbio na presença ou não de estrógeno.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratas Wistar com 1 ano de idade, provenientes do Biotério da UNIMEP. Os animais foram alojados em gaiolas coletivas contendo no máximo 4 animais e mantidos em sala climatizada ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) com ciclo claro/escuro de 12/12 h recebendo água e ração à vontade. Todos os procedimentos utilizados neste experimento seguiram as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e Guidelines of the Department Comparative Medicine at the University of Toronto e autorizado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFScar protocolo 011/2006. Os animais foram divididos em 6 grupos experimentais com $n=10$ e denominados Controle (C); Tratadas com estrógeno (T); Treinamento aeróbio (TA); Treinamento aeróbio + estrógeno (TAE); Treinamento anaeróbio (TANA); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (TANAE). O treinamento aeróbio consistiu de sessão de 60 minutos de natação em tanque contendo água a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 8 semanas. Por sua vez, o treinamento anaeróbio (força) seguiu o protocolo de HORNERBERG et al. (10), que consistia em subida de escada (1,1 x 0,18m, 2 cm de espaçamento entre os degraus da grade, 80° de inclinação) com uma carga de aparatos fixados em suas caudas. O tamanho da escada obrigava os animais a fazer de 8 a 12 movimentos por escalada. O aparato fixado em suas caudas consistia em frascos cônicos de vários pesos, presos a uma fita adesiva (figura 1). Na suplementação com estrógeno, foi administrado diariamente, pela via subcutânea, cipionato de estradiol ($160\mu\text{g}/100\text{g}$ peso). Após o período experimental, as ratas foram anestesiadas com pentobarbital sódico ($40\text{mg}/\text{Kg}$, ip) e submetidos à avaliação da atividade elétrica cardíaca (ECG) através do aparelho ECG 98 - HEART WARE®. Para captação do sinal eletrocardiográfico os eletrodos foram conectados aos canais do

computador e registradas três derivações bipolares (DI, DII e DIII) e nas três derivações amplificadas (aVR, aVL e aVF) com sensibilidade N e velocidade de 50 mm/s. O intervalo QT foi medido em dez batimentos consecutivos, do início do complexo QRS ao ponto de retorno da onda T isométrica. O intervalo QT foi corrigido pela frequência cardíaca usando a fórmula de Bazett. Na avaliação estatística foi utilizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, T seguido do teste de Tukey, $p < 0,05$.

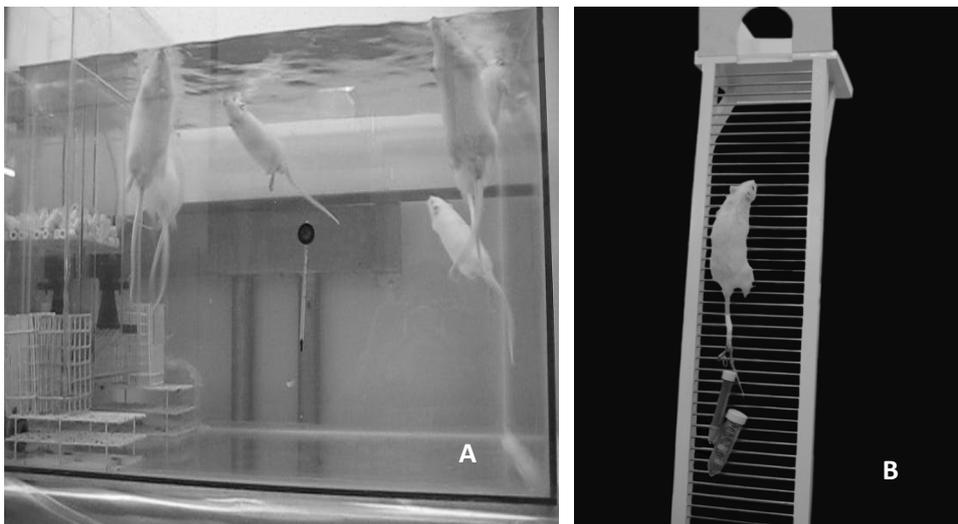


Figura 1. Animais sob treinamento aeróbio (A) e Escada utilizada no Treinamento de Força (1,1 x 0,18m, 2 cm de espaçamento entre os degraus da grade, 80° de inclinação - B)

RESULTADOS

Dentro da proposta, foi avaliada a frequência cardíaca (FC, bat/min) sendo verificado que o grupo tratado com estrógeno apresentou valores 21% menores se comparado ao controle. Com relação ao treinamento foi observado que o treinamento aeróbio promoveu redução 25% na FC, redução que atingiu 37,2% na presença do estrógeno. No treinamento anaeróbio foi observado redução de 28% sendo acentuado para 40% quando o estrógeno esteve presente (vide figura 2).

Para conhecer o comportamento das dinâmicas elétricas cardíacas quando se associa treinamento físico com a suplementação com estrógeno, avaliou-se o intervalo QRS (ms) sendo observado valores 33% menores no grupo tratado. No mesmo sentido, foi observado que o grupo submetido a treinamento aeróbio apresentou valores 32% menores, os quais foram reduzidos ainda mais na presença do estrógeno

atingindo valores 45% menores se comparado ao controle e 19% menor do que o grupo submetido ao mesmo treinamento, porém não tratado. No que se refere ao efeito do treinamento anaeróbio houve redução de 18% no tempo do intervalo QRS, no entanto, na presença do estrógeno a redução atingiu 31% (vide figura 3).

A avaliação intervalo QTc (ms) mostrou que no grupo tratado com estrógeno houve redução de 28%. Por sua vez, no grupo submetido ao treinamento aeróbio foi observado redução de 15%, a qual foi mais significativa na presença do estrógeno chegando a 22%. O grupo submetido ao treinamento anaeróbio apresentou valores 18% menores se comparado ao controle, enquanto na presença do estrógeno a redução atingiu 27% (vide figura 4).

Por fim, foi avaliado o intervalo PR (ms) sendo verificado que o grupo tratado com o estrógeno apresentou redução de 41%. No grupo submetido ao treinamento aeróbio houve redução de 55.6% no intervalo sendo reduzido ainda mais na presença do estrógeno chegando a 70%. Se comparado ao grupo não tratado os valores apresentam-se 33% menores. No mesmo perfil de análise foi verificado que o treinamento anaeróbio promoveu redução de 22% no tempo e redução de 32 % no grupo treinado tratado com o estrógeno (figura 5).

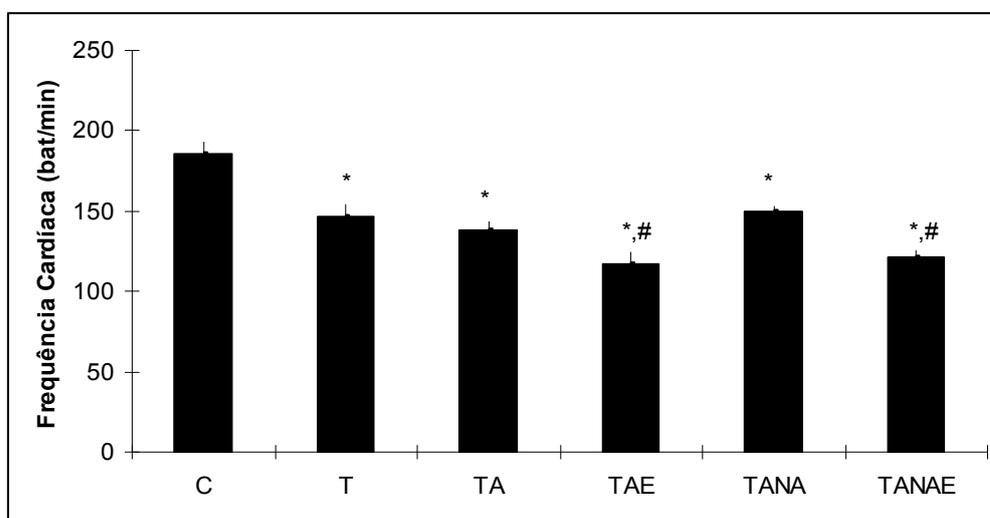


Figura 2. Frequência cardíaca (FC, bat/min) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (T); Treinamento aeróbio (TA); Treinamento aeróbio + estrógeno (TAE); Treinamento anaeróbio (TANA); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (TANAE). Os valores correspondem à média \pm epm, n=7. * $p < 0,05$ comparado ao controle, # $p < 0,05$ comparado a mesma condição de treinamento tratado com estrógeno.

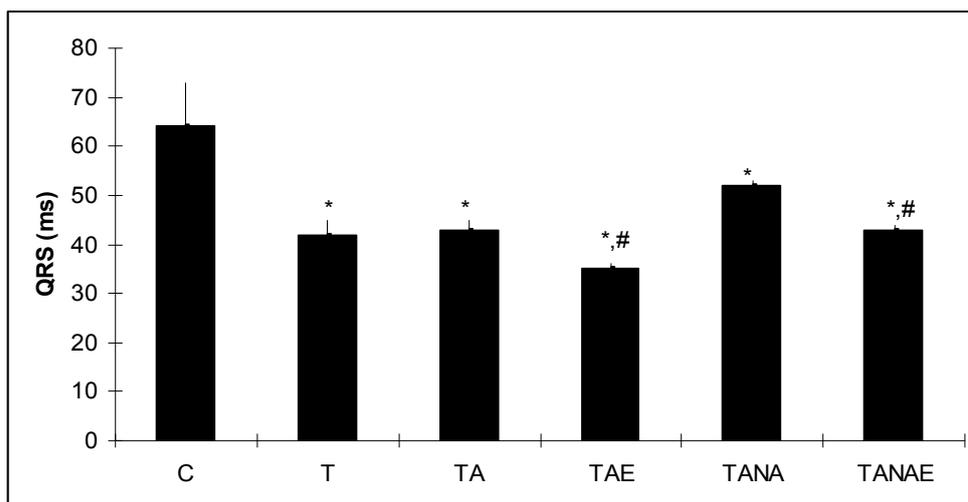


Figura 3. Intervalo QRS (ms) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (T); Treinamento aeróbio (TA); Treinamento aeróbio + estrógeno (TAE); Treinamento anaeróbio (TANA); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (TANAE). Os valores correspondem a média \pm epm, $n=7$. * $p<0,05$ comparado ao controle, # $p<0,05$ comparado a mesma condição de treinamento tratado com estrógeno.

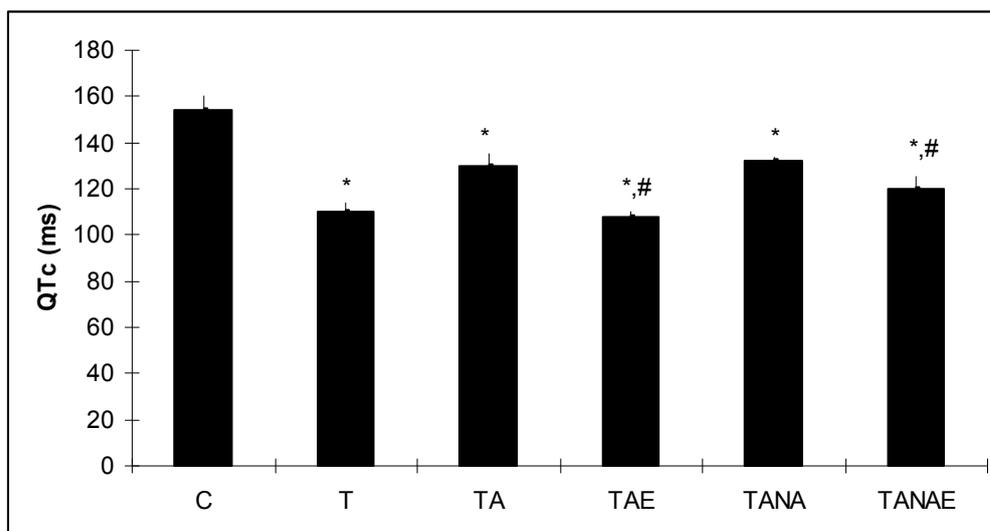


Figura 4. Intervalo QTc (ms) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (T); Treinamento aeróbio (TA); Treinamento aeróbio + estrógeno (TAE); Treinamento anaeróbio (TANA); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (TANAE). Os valores correspondem a média \pm epm, $n=7$. * $p<0,05$ comparado ao controle, # $p<0,05$ comparado a mesma condição de treinamento tratado com estrógeno.

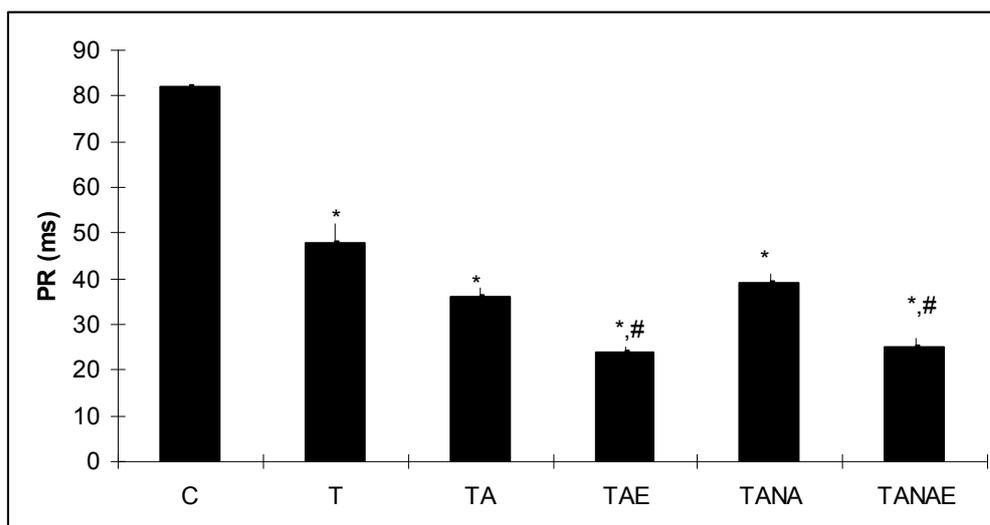


Figura 5. Intervalo PR (ms) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (T); Treinamento aeróbico (TA); Treinamento aeróbico + estrógeno (TAE); Treinamento anaeróbico (TANA); Treinamento anaeróbico tratadas com estrógeno (TANA E). Os valores correspondem à média \pm epm, $n=7$. * $p<0,05$ comparado ao controle, # $p<0,05$ comparado a mesma condição de treinamento tratado com estrógeno.

Conhecidamente ajustes cardiovasculares ligados a prática de exercício físico promovem mudanças no eixo elétrico cardíaco, neste sentido, a avaliação deste parâmetro mostrou que o eixo cardíaco foi desviado da normalidade devido ao treinamento físico tanto aeróbico quanto anaeróbico, ressaltando que a suplementação com o estrógeno não influenciou neste comportamento (tabela 2).

Tabela 2. Ângulo do vetor cardíaco de ratas nos diferentes grupos experimentais considerando os grupos Controle; Tratadas com estrógeno; Treinamento aeróbico; Treinamento aeróbico + estrógeno; Treinamento anaeróbico; Treinamento anaeróbico tratadas com estrógeno. Os valores correspondem à média \pm epm, $n = 10$. * $p<0,05$ comparado ao controle.

GRUPOS	ângulo	N
Controle	67,8 \pm 3,0	7
Estrógeno	72 \pm 2,0	6
Treinamento Anaeróbico	75 \pm 1,6 *	6
Treinamento Anaeróbico + Estrógeno	75 \pm 2,0 *	6
Treinamento Aeróbico	75 \pm 1,8 *	7
Treinamento Aeróbico + Estrógeno	72,8 \pm 1,0 *	7

Tendo em vista os reflexos da suplementação com estrógeno na atividade cardíaca foram avaliadas as reservas glicogênicas ventriculares e a relação peso cardíaco/peso corporal. Com relação ao conteúdo de glicogênio, que demonstra o status energético do músculo, pode ser observado na figura 6 que o tratamento com estrógeno promoveu elevação de 177% nas reservas, evento também observado na associação do hormônio com o treinamento aeróbio (69%) e com o treinamento anaeróbio tratado com estrógeno (38%). Cabe ressaltar que a relação peso cardíaco/peso corporal também foi expressivamente maior na presença do estrógeno atingindo valores 20% maiores na presença do estrógeno; 17% no treinamento anaeróbio e 33% no treinamento aeróbio (vide figura 7).

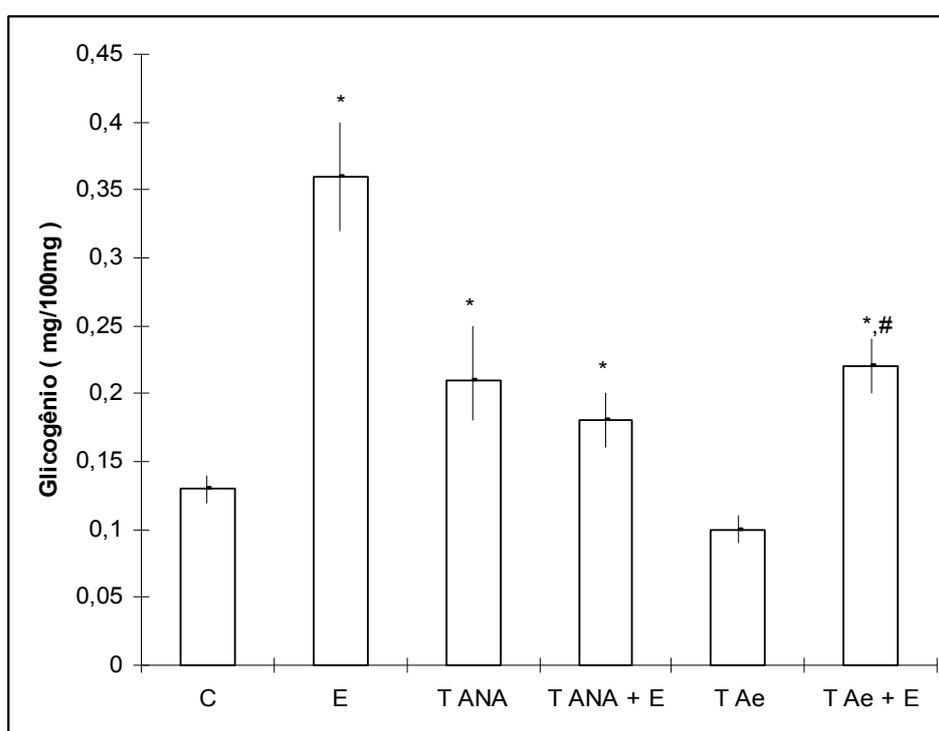


Figura 6. Concentração de glicogênio ventricular (mg/100mg) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (T); Treinamento aeróbio (TA); Treinamento aeróbio + estrógeno (TAE); Treinamento anaeróbio (TANA); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (TANAE). Os valores correspondem à média \pm epm, n=7. *p<0,05 comparado ao controle, #p<0,05 comparado a mesma condição de treinamento tratado com estrógeno.

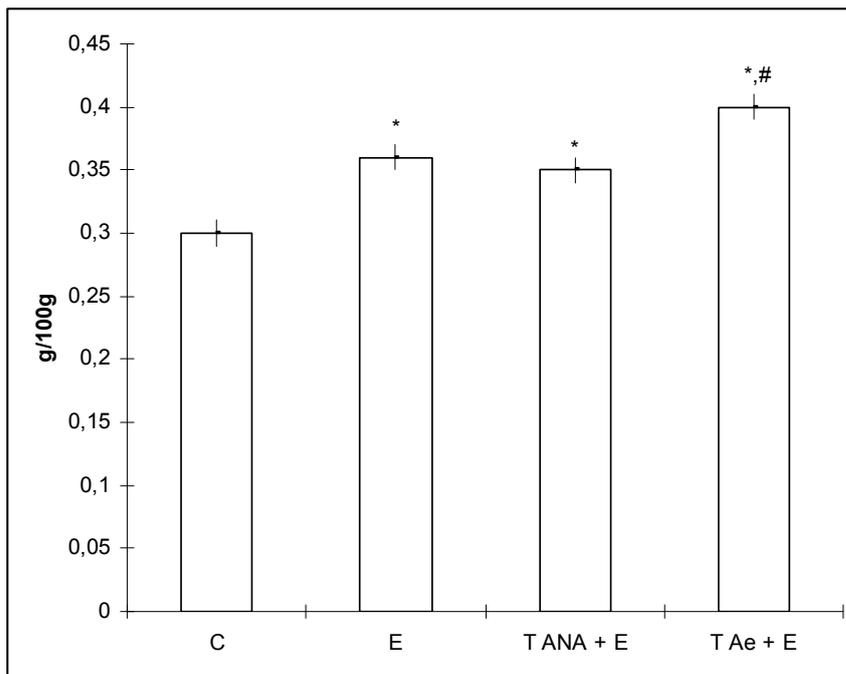


Figura 7. Relação peso cardíaco/peso corporal (g/100g) das ratas nas diferentes condições experimentais considerando os grupos Controle (C); Tratadas com estrógeno (E); Treinamento anaeróbico tratadas com estrógeno (T ANA + E) e Treinamento aeróbico + estrógeno (T Ae + E). Os valores correspondem à média \pm epm, n=7. * $p < 0,05$ comparado ao controle, # $p < 0,05$ comparado as demais condições.

DISCUSSÃO

A ciência busca compreender os benefícios da atividade física no processo natural do envelhecimento, no intuito de manter um estado saudável, afastando os fatores de risco que comumente acometem a terceira idade. O exercício físico executado regularmente promove a ativação de cascatas moleculares que mantêm a plasticidade neuronal, aumenta a vascularização e a neurogênese, melhora a força muscular, coordenação e equilíbrio (15). Na década de 90 foi demonstrado que o exercício modifica as alterações relacionadas à parede ventricular do miocárdio classicamente descritas no envelhecimento tais como o aumento do tecido intersticial e acúmulo de colágeno (16,17,18).

O estrógeno é um hormônio esteróide feminino responsável pela manutenção das funções cíclicas menstruais manifestando ações múltiplas tanto no citosol quanto interagindo-se a complexos de receptores hormonais que são transcritos no citosol e no DNA (19,20).

Este trabalho mostra relações diretas entre o estrógeno e a função cardíaca, sendo demonstrado redução tanto na frequência cardíaca quanto na condução do impulso nervoso no músculo cardíaco. Esta ação se deve a multifatorialidade sinalizadora do estrógeno, uma vez que, nos cardiomiócitos o estrógeno exerce ação modulatória negativa sobre canais de cálcio tipo L reduzindo a excitabilidade cardíaca, além de estimular canais de K⁺ do tipo BKca promovendo hiperpolarização e reduzindo com isto a ativação dos canais de cálcio (21).

No que se refere à interação entre o sistema nervoso e a dinâmica cardíaca sabe-se que a atividade neural é um importante neuromodulador do sistema cardiovascular influenciando tônica e reflexamente no funcionamento, uma vez que, a neurotransmissão além de modificar o débito cardíaco também exerce efeito trófico sobre as células musculares miocárdicas (22,23). Por outro lado, conhecidamente o estrógeno exerce ação ionotrópica negativa reduzindo a concentração de adenosina monofosfato cíclico durante estimulação beta adrenérgica (23).

O treinamento físico aeróbio por outro lado, pode induzir adaptações metabólicas relevantes, tais como o aumento na utilização de glicogênio muscular durante o exercício físico, aumento na contribuição dos lípides para o metabolismo energético, aumento do número e tamanho das mitocôndrias, aumento da atividade

das enzimas chave da mobilização e oxidação de lípidos e aumento da sensibilidade dos tecidos periféricos à insulina (24,25).

Estudos ligados ao controle da frequência cardíaca e suas relações com o treinamento físico aeróbio constataram bradicardia de repouso indicando que houve redução na responsividade adrenérgica quer seja contribuindo na regularização da tensão da vascularização periférica ou na atividade do nódulo sinusal (26,27,23). Estes dados referendam os eventos aqui descritos, e ainda acrescentamos que a análise eletrocardiográfica demonstrou que além da frequência cardíaca, as vias de condução representadas pelos intervalos QRS, QTc e PR, também tiveram seus tempos reduzidos, indicando que o ajuste é mais amplo do que somente no controle neural do nódulo sinusal.

É importante salientar que na presença do estrógeno foi observado um efeito protetor, onde os parâmetros desencadeados pelo exercício aeróbio foram minimizados tanto no que se refere a frequência cardíaca quando aos registros eletrocardiográficos. A explicação para este evento se fundamenta no mecanismo de ação do estrógeno, o qual ao interagir nas vias citosólicas e na transcrição nuclear exerce ação inotrópica e cronotrópica negativa, principalmente atuando na condução iônica que lentifica a repolarização do miocárdio por interferir diretamente na ação de canais de potássio Kv.4.3 e Kv.1.5 e indiretamente aumentando as trocas Na⁺/Ca²⁺ diminui a eficiência de canais tipo L (28,29). Os dados aqui apresentados contribuem para o entendimento dos fatores de proteção cardíaca gerados na associação de atividade física aeróbia com a terapia hormonal estrogênica. Ainda na mesma linha de raciocínio, merece destacar que na presença do estrógeno a geração de espécies reativas de oxigênio é menor exercendo um benefício adicional á homeostase do músculo cardíaco.

Na literatura o exercício anaeróbio é descrito como uma atividade física em que predomina o fornecimento de energia por processos metabólicos que não envolvem oxigênio. Nesta modalidade trabalha-se diversos grupos musculares desenvolvendo melhor performance em atividades de curta duração e alta intensidade. Nosso estudo mostra que a frequência cardíaca foi reduzida pelo treinamento anaeróbio, se comparado ao controle e na presença do estrógeno a intensidade de redução foi similar a observada na condição aeróbia indicando dessensibilização na atividade autonômica do nódulo sinusal. Esta ação também se manifestou na análise das ondas eletrocardiográficas (QRS, QTc e PR), as quais também tiveram seus tempos reduzidos devido ao efeito do treinamento, evento que se manifestou de forma mais intensa na

presença do estrógeno. Isto sugere que na dinâmica cardíaca haja similaridades quanto à resposta produzida pela associação exercício físico/estrógeno.

Dentre os substratos metabolizáveis, a glicose se reveste de fundamental importância, razão pela qual o tecido muscular manter reservas efetivas na forma de glicogênio dando o suporte energético de acordo com a necessidade funcional, assim, tal qual no músculo esquelético, as reservas glicogênicas ventriculares são importantes para a homeostasia do coração (29).

No grupo suplementado com estrógeno foi observado aumento significativo nas reservas glicogênicas que decorre das ações diretas do estrógeno nos cardiomiócitos, onde o hormônio modula a atividade metabólica, bem como a sensibilidade insulínica. Para que exerça sua ação os cardiomiócitos apresentam receptores estrogênicos que transcrevem a ação multifatorial tanto no citosol quanto no DNA (29).

Foi observado que além do efeito direto na redução da frequência cardíaca, os intervalos QTC, QRS e PR também foram reduzidos na presença do estrógeno, este fato se deve a uma significativa ação protetora do hormônio no músculo cardíaco, a qual se expressa pela capacidade do hormônio em modular canais iônicos de potássio lentificando a repolarização do miocárdio e reduzindo a contratilidade, evento importante enquanto redutor da sobrecarga cardíaca (30). Outro ponto de destaque no que se refere ao efeito protetor do estrógeno são as mudanças no metabolismo geradas pela atividade física bem como a consequente geração de radicais livres. Neste sentido tem sido descrito que o estrógeno reduz a geração mitocondrial de radicais livres além de exercer ação anti-apoptótica, indicando a amplitude de sua ação protetora (31).

Na análise do comportamento das reservas glicogênicas ventriculares dos grupos treinados não foi observado diferença nestas reservas no grupo submetido ao treinamento aeróbio e quando este grupo foi suplementado com estrógeno foi observado significativo aumento se comparado ao grupo somente treinado ou ao controle. Por sua vez, no grupo submetido ao treinamento anaeróbio foi verificado aumento significativo tanto no grupo treinado quanto na presença do hormônio. Cabe ressaltar que todos os grupos suplementados com estrógeno demonstraram elevação nas reservas glicogênicas independente da modalidade do treinamento, ação que também se expressou no grupo suplementado não treinado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- Shefer G, Benayahu D. The effect of exercise on IGF-I on muscle fibers and satellite cells. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2012, 1 (4):230-239.

2- Pauli JR, Ropelle ER, Cintra DE, De Souza CT, Da Silva AS, Moraes JC, Prada PO, De Almeida LJA, Luciano E, Velloso LA, Carvalheira JB, Saad MJ. Acute exercise reverses aged-induced impairments in insulin signaling in rodent skeletal muscle. *Mech Ageing Dev*. 2010, 131(5):323-9.

3- Liang Y, Sheng S, Fang P, Ma Y, Li J, Shi Q, Sui Y, Shi M. Exercise-induced galanin release facilitated GLUT4 translocation in adipocytes of type 2 diabetic rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2012;100 (3):554 - 559.

4- De Araujo GG, Papoti M, Manchado FB, Mello MA, Gobatto CA. Protocols for hyperlactatemia induction in the lactate minimum test adapted to swimming rats. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2007, 148:888-92.

5- Santhiago V, Voltarelli FA, Silva ASR, Pauli JR, Romero CEM, Ferreira L, Machado CEP, Leme JAC, Gomes RJ, Soarez AR, Luciano E. Respostas fisiológicas em ratos wistar submetidos ao estresse térmico durante treinamento aeróbio de natação *Revista Digital - Buenos Aires* – 2008, 121: 1 – 5.

6- Araujo GG, Papoti M, Manchado-Gobatto FB, Mello MAR, Gobatto CA. Padronização de um Protocolo Experimental de Treinamento Periodizado em Natação Utilizando Ratos Wistar. *Rev Bras Med Esporte*. 2010, 16 (1): 116 – 122.

7- Gomes RJ, Leme JAC, Mello MAR, Luciano E, Caetano FH. Efeitos do treinamento de natação em aspectos metabólicos e morfológicos de ratos diabéticos. *Motriz, Rio Claro*, 2008, 14 (3): 320-328.

8- Hornberger TA Jr, Farrar R.P. Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat. *Can. Journal Appl. Physiol.* 2004, 29(1):16-31.

9- Kraemer WJ, Adams K, Cafarelli E, Dudley GA, Dooly C, Feigenbaum MS, Fleck SJ, Franklin B, Fry AC, Hoffman JR, Newton RU, Pottenger J, Stone MH, Ratamess NA, Triplett-Mcbride T. Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults., *Medicine & Science in Sports & Exercise. American College Sports Medicine Position Stand.* 2002, 34: 364-380.

10- Libonati JR, MacDonnell SM. Cardiac B- adrenergic responsiveness with exercise. *Eur. J. Appl Physiol* 2011, 111 (11): 2735-2741.

11- Hernandez JM, Mark JF, Peter AF. Time course evaluation of protein synthesis and glucose uptake after acute resistance exercise in rats. *J. Appl. Physiol.* 2000, 88: 1141-1149.

12- American College Of Sports Medicine. Progression models in resistance training for health adults. *Med S Sports Exe.*2002, 34: 364-80.

13- Venkatachalam KL, Herbrandson JE, Asirvatham SJ. Signals and signal processing for the electrophysiologist: part II: signal processing and artifact. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2011;4(6):974-81.

14- Li S, Yang M, Ding M, Lin G, Ling Z. Development of dynamic ECG acquisition and recording system: review and prospect. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi.* 2012, 29(1):175-8

- 15- Nascimento C, Neto FR, De Santana FS, Da Silva RA, Dos Santos-Neto L, Balsamo S. The interactions between hemostasis and resistance training: a review. *Int J Gen Med.* 2012;5:249-54.
- 16- Douglas PS, O'toole M. Aging and physical activity determine cardiac structure and function in the older athlete. *J Appl Physiol.* 1992; 72 (5): 1969-73.
- 17- Pedrosa DRF, Rezende LCD, Rangel LBA, Gonçalves WLS, Graceli JB. Efeitos benéficos do estrogênio no sistema cardiovascular. *Perspectivasonline.* 2010, 3 (12) : 190-196.
- 18- De Souza RR. Aging of myocardial collagen. *Biogerontol.* 2002; 3: 325-35
- 19- Nadal A. The estrogen trinity: membrane, cytosolic and nuclear effects. *News in Physiological Sciences.* 2001, 16: 251 – 255.
- 20- Norman AW. Steroid hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble models. *Nature Rev.*2004, 3: 27 -40.
- 21- Valverde MA. Acute activation of maxi-K channels by estradiol binding to the beta subunit. *Science* 1999, 285: 1929 -1931.
- 22- Victor RG, Mark AL. The sympathetic nervous system in human hypertension. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management.* 2^a ed. New York: Raven Press Ltd.; 1995. p. 755-73.
- 23- Libonatu JR, Macdonnell L. Cardiac Beta adrenergic responsiveness with exercise. *Eur. J. Physiol.* 111: 2735 – 2741, 2011.
- 24- Panveloski-Costa AC; Júnior DACP; Brandão BB; Moreira RJ; Machado UF; Seraphim PM. Treinamento resistido reduz inflamação em músculo esquelético e

melhora a sensibilidade à insulina periférica em ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2011, 55 (2): 155-163.

25- Luciano E, Carneiro EM, Carvalho CRO, Carvalhera JBC, Peres SB, Reis MAB, Saad MJA, Boschero AC; Velloso L.A. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway. *European journal of endocrinology.*2002, 147: 149-157.

26- Sylvestre-gervais L, Nadeau A, Nguyen MH, Tancredi G, Rousseau-migneron S. Effects of physical training on beta-adrenergic receptors in rat myocardial tissue. *Cardiovasc Res.* 1982 Sep;16(9):530-4.

27- Brum PC, Forjaz CLM, Tinucci T, Negrão CE. Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular *Rev. paul. Educ. Fís., São Paulo,* 2004, 18: 21-31.

28- Saito T, Ciobotaru A, Bopassa JC, Toro L, Stefani E, Eghbali M. Estrogen contributes to gender differences in mouse ventricular repolarization. *Circ. Res.* 2009, 105: 343-352.

29- Murphy E. Estrogen signaling and cardiovascular disease. *Circ Res.* 2011,109(6):687-96.

30- Kurokawa J, Tamagawa M, Harada N, Honda S, Bai CX, Nalkaya H, Furokawa T. Acute effect of oestrogen on the guinea pig and human IKr channels and drug-induced prolongation of cardiac repolarization. *J. Physiol.* 2008, 586: 2961 – 2973.

31- Lagranha CI, Deschanps A, Aponte A, Steenbergen C, Murphy E. Sex difference in the phosphorylation of mitochondrial proteins result in reduced production of reactive oxygen species and cardioprotection in female. *Circ Res.* 2010, 106: 1681 -1691.

4- ESTUDO II

AÇÕES METABÓLICAS DO ESTRÓGENO EM RATAS SUBMETIDAS A DOIS TIPOS DE TREINAMENTO FÍSICO.

(Artigo submetido em 11 de março de 2013 na Revista Experimental Gerontology)

Titulo resumido: AÇÃO DO ESTRÓGENO EM RATAS TREINADAS

RESUMO

A proposta deste estudo foi avaliar se ratas suplementadas com estrógeno apresentam melhores respostas frente à atividade física aeróbia e anaeróbia. Foram utilizadas ratas Wistar envelhecidas (13 meses) acondicionadas sob condições ideais de bioterismo e divididas em grupos experimentais denominados Controle e Tratadas com estrógeno (E, 160µg/100g), Treinado aeróbio e treinado anaeróbio tratados ou não com estrógeno. Foram coletadas amostras de sangue para avaliação bioquímica e amostras de diferentes músculos dos membros anteriores e posteriores para avaliação do conteúdo de glicogênio pelo método do fenol sulfúrico. Os resultados mostram que tanto o estrógeno quanto os diferentes treinamentos promoveram elevação nas reservas musculares de glicogênio, por outro lado, na associação do hormônio com o exercício físico, foi verificado um efeito aditivo que promoveu a melhora ainda mais expressiva nas condições energéticas. Associado a isto, foi verificado menores concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres e gordura abdominal e ainda houve elevação na concentração de proteínas totais indicando ajustes na homeostasia metabólica, condição importante a ser preservada no processo de envelhecimento.

INTRODUÇÃO

A literatura apresenta diversas maneiras de treinamento e constantemente reitera que a utilização de modelos animais em estudos de programas de treinamento é importante visto a possibilidade de manipulação das variáveis tais como volume e intensidade, baseado no fato das respostas ao exercício, serem semelhantes às encontradas em seres humanos. Métodos de treinamento aeróbio que preconizam protocolos de natação em ratos possibilitam um primoroso controle das respostas fisiológicas geradas no treinamento possibilitando uma análise de parâmetros bioquímicos e moleculares (Araujo et al., 2010).

Em humanos, exercício de força progressiva é reconhecido por sua habilidade de induzir hipertrofia do músculo esquelético. No intuito de desenvolver um modelo animal similar o processo de exercício de força progressiva em humanos, Hornerberg e Farrar (2004), descreveram um modelo experimental de treinamento progressivo de força aplicado para ratos. Esta é uma aplicação prática do princípio da sobrecarga e dá forma à base da maioria dos programas de treinamento de força em humanos (Kraemer et al., 2002). O protocolo proposto inicia-se com a determinação da carga máxima do animal, a partir de 75% do peso corpóreo, sendo acrescido 30 gr até a exaustão voluntária na escalada em escada. Feita a determinação da carga máxima, o protocolo de treinamento sugeriu a partir de 50, 75, 90 e 100% da carga máxima em cada uma das 4 sessões de treinamento (Hornerberg e Farrar 2004). O número de séries, o período de descanso, e a frequência do treinamento assemelham-se a um programa típico de treinamento de força em humano e estão de acordo com a posição de ACSM (2002) em modelos da progressão do exercício da resistência em adultos saudáveis (Kraemer et al., 2002).

Uma das formas de melhorar a sinalização tecidual a insulina é a prática de exercício físico tanto aeróbio quanto resistidos (Ivy, 2004; Sundell, 2011).

No trabalho de Martinelli (2009) foi demonstrado que a expressão do GLUT 4 torna-se aumentada frente a exercício aeróbio, em especial a natação. Outro fator a se considerar é que outras moléculas também estão envolvidas na relação sinalização insulínica/atividade aeróbia merecendo destaque a proteína quinase dependente de AMP (AMPK). A AMPK é a enzima que detecta variações na necessidade energética celular, de forma que quanto há redução da energia disponível, tais como no exercício físico, há variação na sua expressão (Kemp et al., 1999; Musi et al., 2001).

Embora ainda não haja consenso sobre a possível elevação na expressão do GLUT 4, estimulada pela AMPK, existem estudos que sugerem veracidade na hipótese (Hardie, 2003, Towler e Hardie, 2007). Considera-se ainda que a prática de exercício físico seja um dos fatores que promovem aumento na expressão da AMPK (Hawley e Lessard, 2008).

A proposta deste trabalho foi avaliar se ratas suplementadas com estrógeno apresentam melhores respostas frente à atividade física aeróbia e anaeróbia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratas Wistar com 1 ano de idade, provenientes do Biotério da UNIMEP. Os animais foram alojados em gaiolas coletivas contendo no máximo 4 animais e mantidos em sala climatizada ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) com ciclo claro/escuro de 12/12 h recebendo água e ração à vontade. Todos os procedimentos utilizados neste experimento seguiram as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e Guidelines of the Department Comparative Medicine at the University of Toronto e autorizado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFScar protocolo 011/2006. Os animais foram divididos em 6 grupos experimentais com $n=10$ e denominados Controle (C); Tratadas com estrógeno (E); Treinamento aeróbio (TA); Treinamento aeróbio + estrógeno (TAe); Treinamento anaeróbio (TAna); Treinamento anaeróbio tratadas com estrógeno (TAnaE). O treinamento aeróbio consistiu de sessão de 60 minutos de natação em tanque contendo água a $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 8 semanas. Por sua vez, o treinamento anaeróbio (força) seguiu o protocolo de Hornerberg e Farrar (2004), que consistia em subida de escada ($1,1 \times 0,18\text{m}$, 2 cm de espaçamento entre os degraus da grade, 80° de inclinação) com uma carga de aparatos fixados em suas caudas. O tamanho da escada obrigava os animais a fazer de 8 a 12 movimentos por escalada. O aparato fixado em suas caudas consistia em frascos cônicos de vários pesos, presos a uma fita adesiva (figura 1). Na suplementação com estrógeno, foi administrado diariamente, pela via subcutânea, cipionato de estradiol ($160\mu\text{g}/100\text{g}$ peso; Severi et al., 2009). Após o período experimental, as ratas foram anestesiadas com pentobarbital sódico ($40\text{mg}/\text{Kg}$, ip) e amostras de sangue e musculares coletadas e encaminhadas para avaliação do conteúdo de glicogênio. Na avaliação estatística foi utilizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, seguido do teste de Tukey, $p<0,05$.

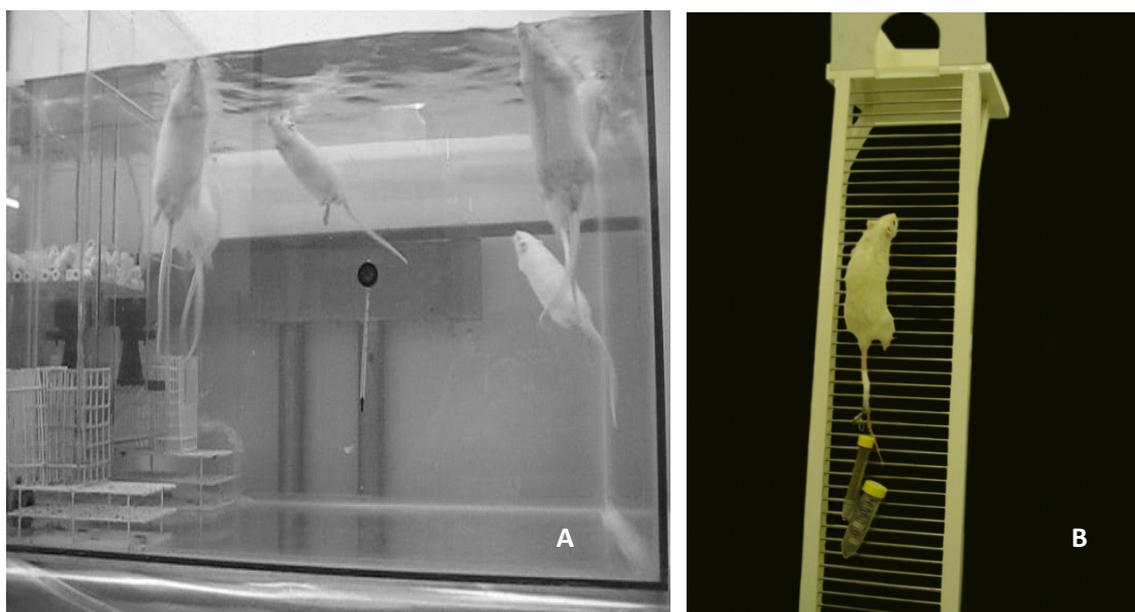


Figura 1. Animais sob treinamento aeróbio (A) e Escada utilizada no Treinamento de Força (1,1 x 0,18m, 2 cm de espaçamento entre os degraus da grade, 80° de inclinação (B)

RESULTADOS

Inicialmente foram avaliadas as reservas glicogênicas musculares na presença do estrógeno sendo verificado que o tratamento promoveu elevação de 115% no sóleo, 54% no gastrocnêmio porção branca, 71,7% no extensor digital longo, 183% no tibial anterior, 321% no biceps e 88% no triceps como demonstrado na figura 2.

Dentro do mesmo padrão de análise foi observado elevação de 90% no músculo abdominal e peitoral, 67% no intercostal e 186% no paravertebral (vide figura 3)

Uma vez que, a proposta está ligada à avaliação dos efeitos do exercício físico na presença do hormônio, passou-se a avaliar o comportamento das reservas glicogênicas sendo verificado que uma expressiva melhora tanto no exercício aeróbio atingindo 51% sóleo, 54% no gastrocnêmio porção branca, 25% no extensor digital longo. Por outro lado, na presença do treinamento anaeróbio as reservas apresentaram-se 94% maiores no sóleo, 250% no gastrocnêmio porção branca e 28% no extensor digital longo (figura 4).

Este efeito também foi observado nos demais músculos sendo constatado elevação de 250% no músculo abdominal, 240% no peitoral, 113% no intercostal e 100% no paravertebral (vide figura 5)

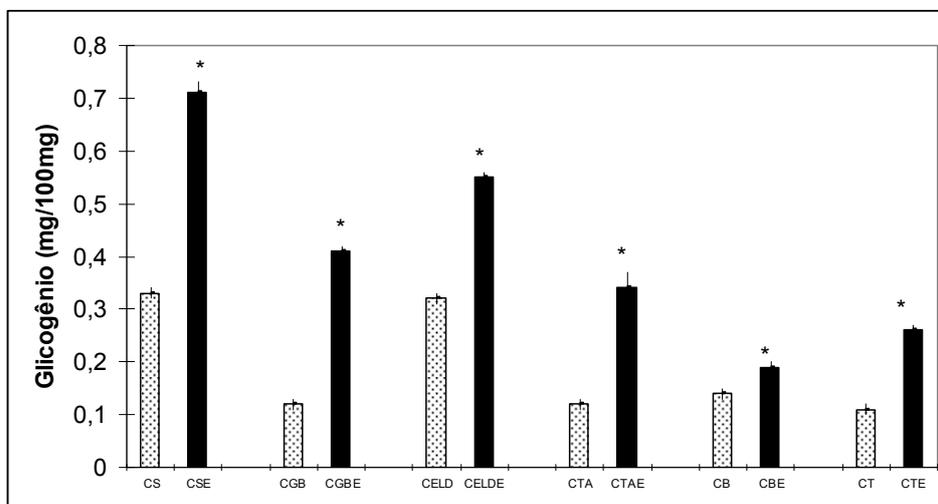


Figura 2. Concentração de glicogênio (mg/100mg) nos músculos sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (GB), extensor longo dos dedos (ELD), tibial anterior (TA), bíceps (B) e tríceps (T) de ratas controle (C) e tratadas com estrógeno (E, 160 μ g/100g). Os valores correspondem a média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle.

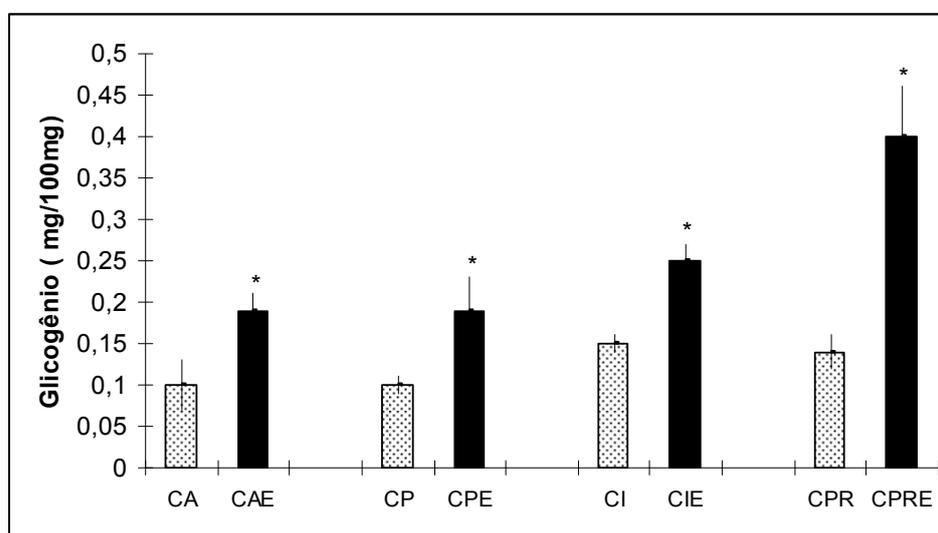


Figura 3. Concentração de glicogênio (mg/100mg) nos músculos abdominal (A), peitoral (P), intercostal (I) e paravertebral (PR) de ratas controle (C) e tratadas com estrógeno (E, 160 μ g/100g). Os valores correspondem a média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle.

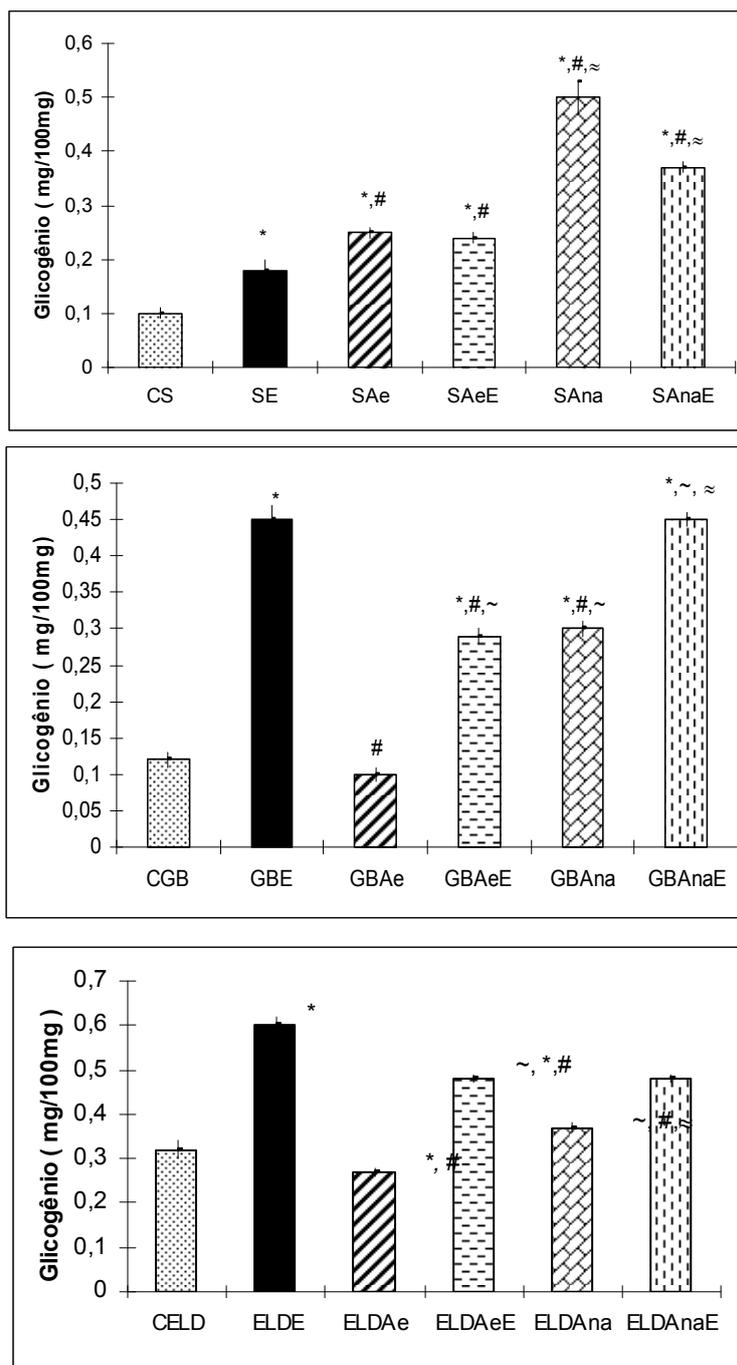


Figura 4. Concentração de glicogênio (mg/100mg) nos músculos sóleo (S),Gastrocnêmio branco (GB) e extensor longo dos dedos (ELD) de ratas controle (C) e tratadas com estrógeno (E, 160 μ g/100g) e treinamento aeróbio (TAe) e anaeróbio (TAna) treinadas com estrógeno (AeE; AnaE). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle; # p<0,05 comparado ao E, ~ comparado ao Ae, \approx comparado ao Ana, a comparado ao Ana.

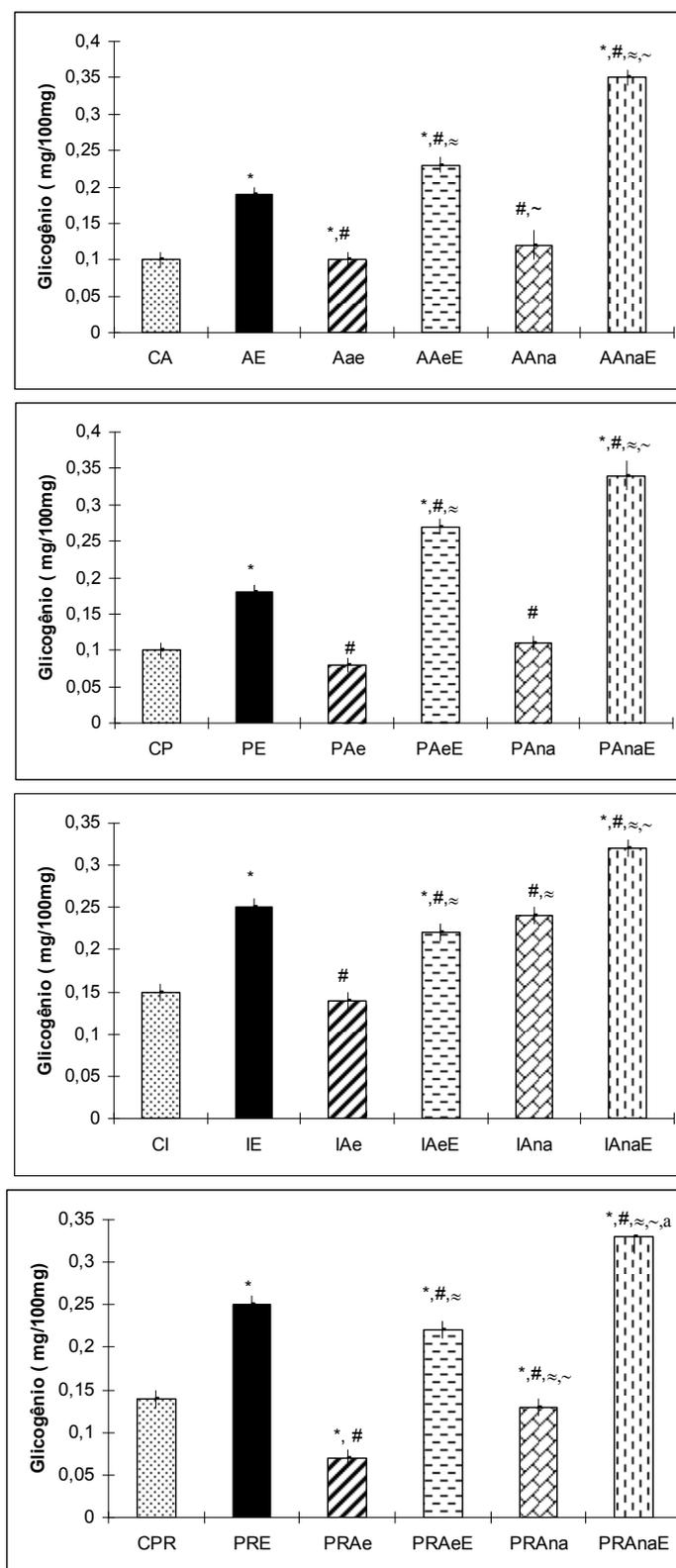


Figura 5. Concentração de glicogênio (mg/100mg) nos músculos abdominal (A), Peitoral (P), Intercostal (I) e paravertebral (PR) de ratas controle (C) e tratadas com estrógeno (E, 160 μ g/100g) e treinamento aeróbio (Ae) e anaeróbio (Ana) treinadas com estrógeno (AeE; AnaE). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle; # p<0,05 comparado ao E, ~ comparado ao Ae, \approx comparado ao Ana, a comparado ao Ana.

Ao analisar o peso dos animais foi verificado que na presença do estrógeno houve redução de 10% enquanto na presença dos treinamentos houve perda de peso de 15% sem diferença entre os treinamentos como mostra a figura 6.

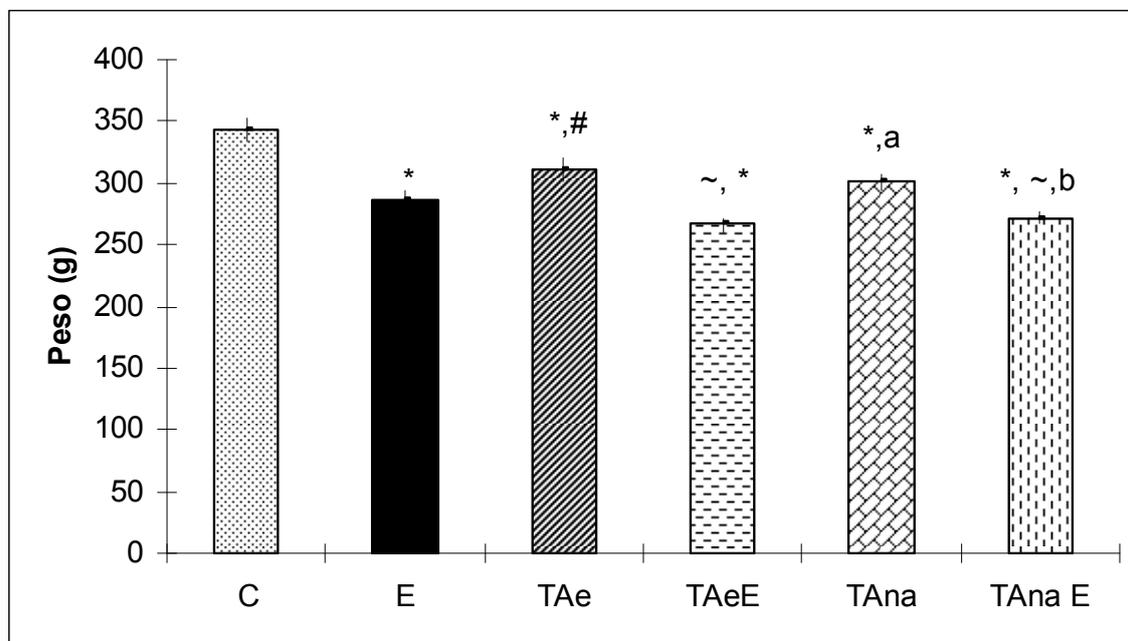


Figura 6. Peso corporal (g) de ratas controle (C) e tratadas com estrógeno (E, 160 μ g/100g) e treinadas aeróbio (TAe) e anaeróbio (TAna). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle, #p<0,05 comparado ao tratado com o estrógeno, ~ comparado ao TAe. a comparado ao TAeE, b comparado ao TAna.

Dentro de um aspecto mais amplo da avaliação, uma atenção especial foi direcionada a parâmetros plasmáticos iniciando pelo comportamento glicêmico, sendo verificado a manutenção de índices normoglicêmicos, com especial atenção para o fato dos valores ficarem próximo da base inferior da normalidade. No mesmo sentido foi verificado que a concentração plasmática de ácidos graxos livres apresentou-se menor nos grupos treinados atingindo valores 34% menores no grupo submetido ao treinamento aeróbio e 25% no grupo submetido a treinamento anaeróbio. No mesmo sentido observou-se redução no conteúdo de gordura abdominal chegando a valores 62% menores no grupo submetido ao treinamento aeróbio e 52% no grupo submetido a treinamento anaeróbio. No mesmo perfil foi observado que a concentração de proteínas totais foram elevadas em 51% no grupo submetido ao treinamento aeróbio e 20% no grupo submetido a treinamento anaeróbio (tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros fisiológicos dos grupos controle (C), treinamento Aeróbio + estrógeno (Ae + E), treinamento Anaeróbio + estrógeno (Ana + E). Os valores correspondem a média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle.

	Glicemia (mg/dL)	Ácidos graxos livres (mmol/L)	Gordura abdominal (g)	Proteínas totais (mg/dL)
C	87 \pm 2,7	1,22 \pm 0,03	12,43 \pm 0,7	7,04 \pm 0,1
E	81,83 \pm 3,5	1,91 \pm 0,009	8,72 \pm 0,5	10,67 \pm 1,3*
Ae	97,88 \pm 5,7	0,88 \pm 0,1*	12,68 \pm 0,4	9,33 \pm 1,7*
Ae + E	78,25 \pm 3,3	0,92 \pm 0,04*	4,74 \pm 0,4*	10,67 \pm 1,3*
Ana	97 \pm 3,9	0,33 \pm 0,07*	11,35 \pm 0,4	15,35 \pm 2,0*
Ana + E	77,67 \pm 3,4	0,81 \pm 0,01*	5,95 \pm 0,5*	8,48 \pm 1,9*

DISCUSSÃO

É consenso entre especialistas e cientistas que a prática da atividade física deve fazer parte das atividades diárias, com especial atenção a fase de envelhecimento, uma vez que, o exercício físico praticado de forma regular retira o organismo da homeostase, promove aumento na demanda energética permitindo melhora na qualidade de vida (Civinsky et al., 2011).

As reservas glicogênicas determinam a resistência do organismo à atividade física, de forma que, o aumento no conteúdo indica melhor resistência enquanto a redução expressiva indica exaustão (Jensen et al., 2011). Apesar de ser demonstrado que estas reservas são controladas por inúmeros fatores, tais como, bioquímicos, neurais ou endócrinos, a eficiência dos sistemas tornam-se reduzidas com o envelhecimento (Iaia et al., 2010). No que se refere ao controle endócrino, tem sido descrito que o estrógeno exerce um papel importante no controle das reservas energéticas estando seu receptor presente em inúmeros tecidos, em especial nas fibras musculares, onde exerce ação na via insulínica (Barros e Gustafsson, 2011). Os resultados mostram que os músculos suplementados apresentaram maiores reservas glicogênicas reiterando a ação hormonal na via insulínica, mais especificamente, ativando as dinâmicas que convergem para a glicogênese (Tarnopolsky, 2008).

Sabe-se que o treinamento físico é um conjunto de procedimentos organizados, que tem como alvo executar uma performance máxima num período determinado (Silva et al.,). O treinamento físico pode variar de acordo com os objetivos, podendo ser anaeróbio ou aeróbico desempenhando papel fundamental na manutenção da massa muscular além de ajustes funcionais de diversos sistemas do organismo (Silva et al., 2007; Campos et al., 2002). No mesmo perfil da análise, foi avaliado o comportamento das reservas glicogênicas na associação treinamento/tratamento com estrógeno, iniciando a avaliação com atividade física aeróbia, sendo escolhido o modelo de natação por respeitar a duração, frequência da atividade, bem como na temperatura da água indicada para a espécie (Martinelli, 2009, Pasini et al., 2012).

A literatura apresenta clássicas descrições indicando que o treinamento aeróbio eleva a taxa de ressíntese muscular de glicogênio por promover adaptações nos sistemas sinalizadores com ação facilitadora do processo que modula as taxas de ressíntese desta reserva de substrato metabólico (Figueira et al., 2007). Nesta fase do estudo foi observado que as reservas musculares foram expressivamente elevadas na associação atividade física/estrógeno indicando um efeito potencializador do hormônio sobre as respostas adaptativas geradas pelo treinamento físico (Koricnac et al., 2007).

Um ponto importante a se salientar é que durante o exercício físico há diferenças entre a mobilização das reservas glicogênicas, considerando-se os diferentes tipos de fibras musculares, no entanto, se há regularidade no treinamento as reservas musculares de glicogênio tornam-se maiores se comparado com indivíduos sedentários, visto que, sequencialmente as sessões de treinamento há supercompensação na recuperação pós-exercícios, fenômeno que envolve aumento da sensibilidade das vias insulínicas e no conteúdo da proteína transportadora de glicose, GLUT-4 facilitando a formação das reservas (Thorell et al., 1999; Hussey et al., 2011).

Com relação ao treinamento aeróbio na presença do estrógeno, foi verificado que o efeito potencializador glicogênico manifestou-se em maior intensidade em músculos com predomínio de fibras tipo I, indicando a supercompensação. Este fenômeno pode ser explicado pelo aumento na atividade da MAPKs e na transcrição do sinal no DNA como recentemente preconizado (Wiik A, 2008; Gorres et al., 2011).

O treinamento de força é um exercício físico que implica na ação muscular contra uma força de oposição, sendo essencial para melhora no desempenho,

podendo beneficiar quanto a potência, promoção de hipertrofia muscular e diminuição da gordura corporal (Haskell et al., 2007). A literatura tem demonstrado que o treinamento de força provoca um aumento na massa muscular devido a um aumento no tamanho das fibras musculares, principalmente as do tipo IIA, provocando assim um aumento na força muscular (Campos et al., 2002)

Trabalhos realizados com animais de experimentação comparando tipos de exercícios físicos e suas relações com o ganho ou perda de massa corporal, não apresentam consenso ao indicar tanto perda de peso quanto a não diferença na massa corporal total entre os animais que treinaram e sedentários, sendo sugestivo a realização de outros estudos que venham a contribuir com a literatura no âmbito da inter-relação, treinamento físico e massa corporal (Silva et al., 2007; Freiburger et al., 2011).

Na avaliação das reservas glicogênicas dos animais submetidos a treinamento anaeróbio tratados com o estrógeno foi observado que as reservas apresentaram-se significativamente maiores se comparado aos demais grupos. A explicação para a intensa resposta de supercompensação se deve as fortes relações fisiológicas que ligam a sinalização citosólica e nuclear de receptores de estrógenos do tipo E2 α e a modulação de respostas metabólicas ou funcionais (Ignacio et al., 2009, Barros et al., 2009).

Tem sido descrito que fêmeas possuem um expressivo dimorfismo sexual em relação ao treinamento físico, sendo mais ativas que os machos, perfil explicado pelas altas concentrações de estrógeno, uma vez que, quando foram avaliadas ratas ovariectomizadas treinadas (anaeróbio) e comparada com um grupo na mesma condição experimental tratada com o hormônio, foi observado que ratas ovariectomizadas tratadas apresentaram melhor resistência ao exercício físico que pode representar melhor condicionamento (Gentry e Wade, 1996).

Outro fator a se considerar se refere à presença de receptores nucleares órfãos denominados ERR α , os quais são essenciais para a regulação metabólica, por apresentarem expressão aumentada frente ao treinamento físico (Lemoine et al., 2002, Villena et al., 2007). Cabe ressaltar que este estudo retrata o efeito do treinamento em ratas envelhecidas as quais apresentam fisiologicamente redução na população de receptores estrogênicos, e os dados indicam benefícios na associação estrógeno atividade anaeróbia (Ignacio et al., 2009; Ferreira et al., 2011; Wend et al., 2012). Devemos considerar ainda, que tem sido descrito que o estrógeno também exerce ação neuroprotetora ao aumentar a plasticidade neuronal, principalmente no

que se refere à sinapse e memória, fatores que podem auxiliam na coordenação da prática de exercício físico (Marosi et al., 2012).

Ao analisar o peso dos animais foi verificado que na presença do estrógeno houve redução, no entanto, na presença dos treinamentos a perda de peso foi ainda maior. Uma explicação para este fato se deve a expressão da ação estrogênica no sistema nervoso central onde o hormônio promove redução na ingesta alimentar e modificação na homeostasia metabólica (Breton et al., 2011). Sabendo-se que o papel do estrógeno na regulação da gordura corporal é um evento multifatorial podemos interpretar que os efeitos se devam a alterações na população e nas vias sinalizadoras dos receptores estrogênicos, na atividade da enzima aromatase, bem como na diminuição de receptores de leptina no hipotálamo, o que causaria diminuição da saciedade, maior ingestão e consequente ganho de massa corpórea como descrito em camundongos com deficiências nestas vias (Brittany et al., 2011; García-Mayor et al., 2012).

Por fim, uma vez constatado benefícios tanto com relação à redução da gordura corporal quanto a concentração plasmática de ácidos graxos livres, direcionou-se o estudo a avaliação do comportamento glicêmico e das proteínas totais plasmáticas, não sendo verificado alterações nos valores glicêmicos de jejum. Neste sentido, tem sido descrito redução da sensibilidade à insulina concomitante ao envelhecimento, porém, nos grupos treinados a glicemia apresentou-se dentro da normalidade, sendo sugestivo que frente a prática de exercício físico ocorrem ajustes tanto na sensibilidade insulínica dos tecidos periféricos quanto no processo secretório da insulina, associação que permite um fino ajuste na glicemia tal qual intensamente estudado em diabéticos submetidos a programas de treinamento físico (Ribeiro et al., 2008; Behboudi et al., 2011; Iscoe e Riddell, 2011).

CONCLUSÃO

A suplementação com cipionato de estradiol promoveu a formação de expressivas reservas glicogênicas quando associado ao treinamento físico sendo observado maior eficiência na prática anaeróbia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araújo GG. Efeitos de quatro modelos de treinamento experimental de natação sobre biomarcadores de adaptação e capacidades aeróbia e anaeróbia em ratos wistar. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista - UNESP, Rio Claro, São Paulo, Brasil, 2010.

Barros RP, Gabbi C, Morani A, Warner M, Gustafsson JA. Participation of ER α and ER β in glucose homeostasis in skeletal muscle and white adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 297: E124–E133, 2009.

Behboudi L, Azarbayjani MA, Aghaalinejad H, Salavati M. Effects of aerobic exercise and whole body vibration on glycaemia control in type 2 diabetic males. *Asian J Sports Med*. 2011 Jun;2(2):83-90.

Breton AB, Cockrum RR, Austin KJ, Cammack KM, Ford SP, Hess BW, Moss GE, Nathanielsz PW, Alexander BM. Hypothalamic expression of genes for appetite regulators and estrogen α , estrogen β and leptin receptors in obese dams and their fetuses. *Animal*. 2011 Dec;5(12):1944-8.

Brittany K. Gorres, Gregory L. Bomhoff, Anisha A. Gupte, and Paige C. Geiger. Altered estrogen receptor expression in skeletal muscle and adipose tissue of female rats fed a high-fat diet. *J Appl Physiol* 110: 1046–1053, 2011.

Campos GE, Luecke TJ, Wendeln HK, Toma k, Hagerman FC, Murray T, Ragg KE, Ratamess NA, Kraemer WJ, and Staron RS. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. *Eur J Appl Physiol* 88: 50-60, 2002.

Civinski C, Montibeller A, Braz ALO. A importância do exercício físico no envelhecimento. *Revista da Unifebe (Online)* 2011; 9:163-175.

Figueira, T.R.; Lima, M.C.S.; Gurjao, A.L.D. Ruas, V.D.A.; Leme, J.A.C.A.; Luciano, E. Efeito do treinamento aeróbico sobre o conteúdo muscular de triglicérides e glicogênio em ratos. *Rev. bras. Cie Mov.* 2007; 15(2): 55-61.

Ferreira JA, Foley AM, Brown M. Sex hormones differentially influence voluntary running activity, food intake and body weight in aging female and male rats. *Eur J Appl Physiol.* 2011

Freiberger E, Sieber C, Pfeifer K. Physical activity, exercise, and sarcopenia - future challenges. *Wien Med Wochenschr.* 2011 Sep;161(17-18):416-25

García-Mayor RV, Larrañaga Vidal A, Docet Caamaño MF, Lafuente Giménez A. Endocrine disruptors and obesity: obesogens. *Endocrinol Nutr.* 2012 Apr;59(4):261-7.

Gentry RT, Wade GN. Sex differences in sensitivity of food intake, body weight, and running-wheel activity to ovarian steroids in rats. *J. Comp. Physiol Psychol.* 90 (8): 747-754, 1996.

Gorres BK, Bomhoff GL, Gupte AA, Geiger PC. Altered estrogen receptor expression in skeletal muscle and adipose tissue of female rats fed a high-fat diet. *J Appl Physiol.* 2011 Apr;110(4):1046-53.

Hardie DG, Minireview: The AMP-activated protein kinase cascade. The key sensor of cellular energy status. *Endocrinology*, 2003, 144 (12): 5179 – 5183.

Haskell, W. L.; Lee, I.; Pate, R. R.; Powell, K. E.; Blair, S. N.; Franklin, B. A; Macera, C. A.; Heath, G. W; Thompson, P. D.; Bauman, A. Physical activity and public health - updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation*, Hagerstown, v.116, n.9, p.1094-1105, 2007.

Hawley JA, Lessard SJ. Exercise training-induced improvements in insulin action. *Acta Physiol (Oxf)*. 2008; 192: 127 – 135.

Hernandez, J. M., Mark, J. F., Peter, A. F. Time course evaluation of protein synthesis and glucose uptake after acute resistance exercise in rats. *J. Appl. Physiol*. 88: 1141-1149, 2000.

Homberger, T. A. e 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, nº 1, fevereiro de 2004, pp. 16-31.

Hussey SE, Mcgee SL, Garnham A, Wentworth JM, Jeukendrup AE, Hargreaves M. Exercise training increases adipose tissue GLUT4 expression in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2011 ;13(10):959-62.

Ignacio DL, Frankenfeld TGP, Fortunato RS, Vaisman M, Werneck JPS, Carvalho DP. Regulação da massa corpórea pelo estrogênio e pela atividade física. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab* . 53 (3): 310 n- 317, 2009.

Iscoe KE, Riddell MC. Continuous moderate-intensity exercise with or without intermittent high-intensity work: effects on acute and late glycaemia in athletes with Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2011 Jul;28(7):824-32

Iaia FM, Perez-Gomez J, Nordsborg N, Bangsbo J. Effect of previous exhaustive exercise on metabolism and fatigue development during intense exercise in humans. *Scand J Med Sci Sports*. 2010 Aug;20(4):619-29.

Barros RP, Gustafsson JÅ. Estrogen receptors and the metabolic network. *Cell Metab*. 2011 Sep 7;14(3):289-99. Review.

Ivy JL. Muscle insulin resistance amended with exercise training: role of GLUT 4 expression. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2004, 36 (7): 1207 -1211.

Jensen J, Rustad PI, Kolnes AJ, Lai YC. The role of skeletal muscle glycogen breakdown for regulation of insulin sensitivity by exercise. *Front Physiol.* 2011;2:112-201.

Kraemer, W.J., Adams, K., Cafarelli, E., Dudley, G.A., Dooly, C., Feigenbaum, M.S., Fleck, S.J., Franklin, B., Fry, A.C., Hoffman, J.R., Newton, R.U., Potteiger, J., Stone, M.H., Ratamess, N.A., Triplett-Mcbride, T. Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults., *Medicine e Science in Sports e Exercise. American College Sports Medicine Position Stand.* 34: 364-380. 2002.

Kraemer, W.J., Adams, K., Cafarelli, E. American College of Sports Medicine Position Stand on progression models in resistance training for healthy adults. *Med Science Sports Exerc* ,34 (2), 2002, 364-80.

Kemp B.E., Mitchelhill K.I., Stapleton D, Michell B.J., Chen Z.P., Witters L.A. Dealing with energy demand: the AMP-activated protein kinase. *Trends Biochem Sci.* 1999, 24: 22-25.

Koricanac G, T Milosavljevic, Stojiljkovic M, Z, Tepavcevic S, Ribarac-Stepic N , Isenovic ER . Impacto do estradiol sobre sinalização da insulina no coração de rato. *Cell Biochem Funct* 2009 Mar; 27 (2):102-10.

Lemoine S, Granier P, Tiffoche C, Berthon PM, Rannou-Bekono F, Thieulant ML, Carré F, Delamarche P. Effect of endurance training on oestrogen receptor alpha transcripts in rat skeletal muscle. *Acta Physiol Scand.* 2002 Mar;174(3):283-9

Marosi K, Felszeghy K, Mehra RD, Radák Z, Nyakas C. Are the neuroprotective effects of estradiol and physical exercise comparable during ageing in female rats? *Biogerontology*. 2012, 22 (10): 257 -262.

Martinelli TCP. Captação de glicose in vivo e in vitro em ratos dislipidêmicos. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brasil, 2009.

Matveev, L. P. Fundamentos de treino desportivo. Lisboa: Horizonte, 1986.

Musi N, Hayashi T, Fujii N, Hirshman MF, Witters LA, Goodyear LJ. AMPactivated protein kinase activity and glucose uptake in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001, 280: E677 – E 684.

Pasini E, Le Douairon Lahaye S, V, Assanelli D, Corsetti G, Specca S, Bernabei R, Calvani R, Marzetti E. Effects of treadmill exercise and training frequency on anabolic signaling pathways in the skeletal muscle of aged rats. *Exp Gerontol*. 2012;47(1):23-8.

Ribeiro RT, Afonso RA, Guarino MP, Macedo MP. Loss of postprandial insulin sensitization during aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008; 63(6):560-5.

Severi MTM; Silva CA; Parizotto NA, Comportamento das reservas de glicogênio no músculo desnervado de ratas tratadas com diferentes doses de estrógeno. *Rev Bras Fisioter*, São Carlos, v. 13, n. 2, p. 159-63, 2009.

Silva DAS, Melo LA, Oliveira ACC. Efeito do treinamento físico na massa corporal de ratos. *Motriz*, Rio Claro, v.13 n.1 p.43-50, 2007.

Sundell J. Resistance training is an effective tool against metabolic and frailty syndromes. *Adv. Prev. med*. 2011, 894 – 963.

Tarnopolsky MA. Sex differences in exercise metabolism and the role of 17-beta estradiol. *Med Sci Sports Exerc.* 2008 Apr;40(4):648-54. Review.

Thorell A, Hirschman MF, Nygren J, Jorfeldt L, Wojtaszewski JF, Dufresne AD, Horton ES, Ljungqvist O, Goodyear LJ. Exercise and insulin cause GLUT-4 translocation in human skeletal muscle. *AJP - Endo*, 1999, 277 (4): E733-E741.

Towler MC, Hardie DG. AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ Res*, 2007, 100: 328 – 341.

Villena JA, Hock MB, Chang WI, Barcas JE, Giguere V, Kralli A. Orphan nuclear receptor estrogen-related receptor α is essential for adaptive thermogenesis. *Proc. Natl. Acad Sci USA.* 104 (4): 1418 – 1423, 2007.

Wend K, Wend P, Krum SA. Tissue-Specific Effects of Loss of Estrogen during Menopause and Aging. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012;3:19. Epub 2012 Feb 8.

Wiik A. Estrogen receptor in skeletal muscle. Doctoral thesis, Karolinska Institutet, 2008, 58p.

5- CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

As diferentes análises realizadas nesta tese tinham como eixo norteador auxiliar no entendimento das nuances ligadas a prática de atividade física e as respostas adaptativas do organismo em processo de envelhecimento. Neste contexto, foram inseridas nas análises os eventos associados à suplementação com cipionato de estradiol, assim os dados permitiram concluir que:

a) O estrógeno apresentou propriedades protetoras do músculo cardíaco promovendo a formação de maiores reservas glicogênicas ventriculares independente da modalidade do treinamento, além de modular a propagação do sinal elétrico no músculo cardíaco.

b) Na análise da associação do estrógeno com diferentes treinamentos foi verificado elevação nas reservas musculares de glicogênio, indicando melhora expressiva nas condições energéticas. Associado a isto, foi verificado menores concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres e gordura abdominal e ainda houve elevação na concentração de proteínas totais indicando ajustes na homeostasia metabólica, condição importante a ser preservada no processo de envelhecimento.

c) A suplementação com cipionato de estradiol promoveu a formação de expressivas reservas glicogênicas quando associado ao treinamento físico sendo observado maior eficiência na modalidade prática anaeróbia.

Este trabalho demonstrou que o estrógeno melhora todos os aspectos analisados, e a associação com o exercício aeróbio e anaeróbico potencializa a resposta protetora, contudo a avaliação dos efeitos dos exercícios não permite categorizar uma das modalidades como sendo a melhor em todos os aspectos, pois em alguns aspectos o treinamento aeróbio se mostrou melhor, porém, sobre outro foco a treinamento anaeróbico se mostra mais efetivo principalmente no processo de envelhecimento.

REFERÊNCIAS¹

Aagaard P, Andersen JL. Effects of strength training on endurance capacity in top-level endurance athletes. *Scand J Med Sci Sports* 20 (Suppl. 2): 39–47, 2010.

Barros RPA, Gustafsson JÅ. Estrogen receptors and the metabolic network. *Cell Metab* 7;14(3):289-99. Review. .2011.

Bjornholm M, Zierath, JR. Insulin signal transduction in human skeletal muscle: identifying the defects in Type II diabetes. *Biochem. Soc. Trans.* 33,354-357, 2005.

Camara LC, Bastos CC, Volpe EFT. Exercício resistido em idosos frágeis: uma revisão da literatura. Resistance exercise in frail elderly: a literature review. *Fisioter. Mov.*, Curitiba, 25 (2): 435-443, 2012.

Cicocca, DR, Vargas-Roig LM. Estrogen receptor in human nontarget tissue: biological and clinical implications. *Endocrine Rev.* 16: 35-62. 1995.

Dempsey JA. New perspectives concerning feedback influences on cardiorespiratory control during rhythmic exercise performance. *J Physiol*; 590 (Pt17): 4129-44, 2012.

Eftekhari E, Mostahfezian M, Etemadifar M, Zafari A. Resistance training and vibration improve muscle strength and functional capacity in female patients with multiple sclerosis. *Asian J Sports Med.* Dec; 3(4):279-84. 2012.

¹ Baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors - Grupo de Vancouver; 2005. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline. Apenas as referências da contextualização.

Faria, FR, Cocate PG, de Oliveira A, Hermsdorff HH, Alfenas RD, Amorim PR, Longo GZ, Peluzio MD, Natali AJ. Benefits and relationship of steps walked per day to cardiometabolic risk factor in Brazilian middle-aged men. *J Sci Med Sport*. 2013 Jun 3. doi:pii: S1440-2440(13)00104-7. 10.1016/j.jsams. 2013.

Ferreira JA, Foley AM, Brown M. Sex hormones differentially influence voluntary running activity, food intake and body weight in aging female and male rats. *Eur J Appl Physiol*. 2011.

Glenmark B, Nilsson M, Gao H, Gustafsson JA, Dahlman-Wright K, et al. Difference in skeletal muscle function in males vs. female: role of estrogen receptor- β . *Am J Physiol Endocrinol Metab.*; 287: 1125-1131. 2004.

Goulet GC, Halonem NR, Kock LG, Britton SL, Zernicke RF, Kozloff KM. Osteoblast response to ovariectomy is enhanced in intrinsically high aerobic-capacity rats. *Calcif Tissue Int*; 88(4): 325-35, 2011.

Gomes RJ, Leme JAC, Mello MAR, Luciano E, Caetano FH. Efeitos do treinamento de natação em aspectos metabólicos e morfológicos de ratos diabéticos. *Motriz, Rio Claro*, 14 (3): 320-328. 2009.

Henwood LG, Taaffe Dennis. Short-term resistance training and the older adult: The effect of varied programmed for the enhancement of muscle strength and functional performance. *Clinical Physiology and Functional Imaging*. Oxford, v.26,n.5,p.305-313, 2006.

Huss JM, Levy FH, Kelly DP. Hypoxia inhibits the PPAR α /RXR gene regulator pathways in cardiac myocytes. *J Biol Chem.*; 276: 27605-27612, 2001.

Jozsi, A. C., Campell, W. W., Jose, P. H. L. et al. "Changes in Power with Resistance Training in Older and Younger Men and Women". *Gerontol a Biology Medicine*, 54, m591-m596. 1999.

Kaeberlein M 2013. Lessons on longevity from budding yeast. *Nature*. 2010 Mar 25;464(7288):513-9. doi: 10.1038/nature08981. Review. Erratum in: *Nature*. Apr 29;464(7293):1390. 2010

Koch LG, Kemi OJ, Qi N, Ieng SX, Bijma P, Gilligan LJ, Wikinson JE, Wisloff H, Hoydal MA, Rolim N, Abadir PM, Van Grevenhol EM, Smith GL, Burant CF, Ellingsen O, Britton SL, Wialoff U. Intrinsic aerobic capacity sets a divide for aging and longevity. *Circ Res*; 109 (10): 1162-72, 2011.

Kraemer, W.J., Adams, K., Cafarelli, E. American College of Sports Medicine Position Stand on progression models in resistance training for healthy adults. *Med Science Sports Exerc* ,34 (2), 364-80. 2004.

Luciano E, Carneiro EM, Carvalho CRO, Carvalhera JBC, Peres SB, Reis MAB, Saad MJA, Boschero AC; Velloso L.A. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway. *European journal of endocrinology*. 147: 149-157. 2002.

Mangelsdorf JD, Thummel C, Beato M, Herrlich P, Schutz G, Umesono K, et al.. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell*. 83: 835-839, 1995.

Piccone CM, Brazeau GA, McCormick KM. Effect of oestrogen on myofibre size and myosin expression in growing rats. *Expererimental Physiology*. 90(1): 87-93. 2005.

Silva, CA, Guirro, RRJ, Fonseca, W, Arruda, EJ, Grassi, DO. aassessment of rat behavior with induced scoliosis by polyvinyl chloride vests. *Journal Chinese Clinical Medicine* 3(11): 621-626; 2008.

Silveira SCI, Faro ACM, Oliveira CLA. Atividade Física, manutenção da capacidade funcional e da autonomia em idosos: revisão de literatura e interfaces do cuidado. *Estud. Interdiscipl. Envelhec.*, Porto Alegre, 16 (1): 61-77, 2011.

Skelton PA, Phillips SL, Bruce AS, Naylor CH, Wodegde RC. Hormone replacement therapy increases isometric muscle strength of adductor pollicis in post-menopausal women. *Clin Sci.* 1999; 96: 357-64

Sverzut, A. C. M. "Histopatologia do músculo esquelético no processo de envelhecimento e fundamentação para a prática terapêutica de exercícios físicos e prevenção da sarcopenia". *Rev. Fisioter. Univ. São Paulo*, v. 10, nº 1, janeiro/junho de 2003, pp. 23-4.

Tiidus PM. Can estrogen diminish exercise induced muscle damage? *Can J Appl Physiol.* 1995; 20:26-38

Vale RGS, Barreto ACG, Novaes JS, Dantas EHM. Effect of resistive training on the maximum strength, flexibility and functional autonomy os ederly woman. *Rev. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum*, 8 (4): 52-58, 2006.

Wiik A, Ekman M, Morgan G, Johansson O, Jansson E, Esbjornsson M. Oestrogen receptor β is present in both muscle fibres and endothelial cells within human skeletal muscule tissue. *Histochem cCell Biol.* 2005; 124: 161-65.

APÊNDICE A: Estudo 1

(Artigo submetido na revista Fisioterapia em Movimento 23/04/2012, controle n. 0003289)



Título do manuscrito

PERFIL ELETROCARDIOGRÁFICO DE RATAS ENVELHECIDAS TREINADAS E TRATADAS COM ESTRÓGENO

Resumo (idioma original)

RESUMO

A constância na prática de exercício físico tem sido indicado como um dos importantes fatores envolvidos na melhora na qualidade de vida. A literatura mostra os ajustes quimiometabólicos ligados a prática, bem como seus reflexos na manutenção de boas condições orgânicas para a terceira idade. Por outro lado, tem sido frequentemente descrito benefícios ligados a suplementação com estrógeno, de forma que a reposição hormonal pode permitir a manutenção na homeostase de sistemas afetados pelo envelhecimento. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil eletrocardiográfico bem como as reservas glicogênicas de ratas tratadas com a associação estrógeno/atividade física. Utilizou-se ratas wistar com 1 ano de idade, as quais foram submetidas a dois programas de exercício físico aeróbio (natação 60 min/ 8 semanas/5 vezes semana) e anaeróbio (escalada em escada de 80 cm, 3 sessões semanais/8 semanas). Foram avaliados a pressão arterial e o ECG considerando os intervalos QRS, QTc e PR. Os dados foram comparados através do teste T de student

e teste de Tukey, $p < 0,05$. Os resultados mostram que, em todas as condições, o estrógeno trouxe benefícios reduzindo a sobrecarga cardíaca representado por menor frequência cardíaca e na velocidade de propagação das ondas do ECG. As reservas glicogênicas ventriculares bem como a relação peso cardíaco/peso corporal também apresentaram melhora no conteúdo ventricular na presença do estrógeno, por sua vez, a relação peso cardíaco/peso corporal também foi expressivamente maior nesta condição. Os dados mostram a importância da suplementação com estrógeno nos ajustes metabólicos e orgânicos funcionais comprometidos pelo envelhecimento.

Palavras-chave no idioma principal

Eletrocardiografia. Ratas. Treinamento físico aeróbio. Treinamento físico anaeróbio. Glicogênio.

Título do manuscrito em ingles

Electrocardiographic profile of old female rats trained and treated with estrogen

Abstract

ABSTRACT

The constancy in the practice of physical exercise has been nominated as one of the important factors involved in improving their quality of life. The literature shows quimiometabolic adjustments related to this practice, as well as, your reflexes in maintaining good conditions for organic in seniors. Moreover, it has often been described benefits associated with estrogen supplementation in order that replacement therapy could allow the maintenance of homeostasis in systems that are affected by aging. In this

context, the objective of this study was to evaluate the electrocardiographic profile and the glycogen reserves of rats treated with the combination estrogen / physical activity. We used Wistar rats with 1 year of age, which were submitted to two programs of aerobic exercise (swimming 60 min / 8 weeks / 5 times per week) and anaerobic (climbing the stairs of 80 cm, 3sessões week / 8 weeks). We evaluated blood pressure and ECG intervals considering the QRS, QTc and PR. Data were compared using Student's t test and Tukey test, $p < 0.05$. The results show that, under all conditions, estrogen has beneficial effect reducing cardiac load represented by a lower heart rate and reduction of the speed of propagation of the waves of the ECG. The glycogen reserves and the relationship ventricular heart weight / body weight also showed improvement in ventricular content in the presence of estrogen, in turn, the ratio heart weight / body weight was also significantly greater in this condition. The data show the importance of estrogen supplementation in the metabolic adjustments and functional organic compromised by aging.

Keywords

Electrocardiography. Rats. Physical training. Physical training anaerobic. Glycogen.

Autor(es) do manuscrito

MARIA THERESA MUNHOZ SEVERI.

CARLOS ALBERTO DA SILVA.

NIVALDO ANTONIO PARIZOTTO.

APÊNDICE B: Estudo 2

(Artigo submetido na Revista Experimental Gerontology)

METABOLIC ACTIONS OF ESTROGEN IN RATS SUBMITTED TO TWO TYPES OF PHYSICAL TRAINING

MARIA THERESA MUNHOZ SEVERI¹, CARLOS ALBERTO DA SILVA²,
NIVALDO ANTONIO PARIZOTTO³

- 1- PhD Federal University of São Carlos – UFSCAR – email:
ezaseveri@gmail.com
- 2- Professor Postgraduate Physiotherapy PPG – UNIMEP – Piracicaba – email:
casilva@unimep.br.
- 3- Professor Department of Physicaltherapy - Federal University of São Carlos –
UFSCAR – email: parizoto@ufscar.br

Running Title: ACTION OF ESTROGEN IN TRAINED RATS

Address for correspondence:

Maria Theresa Munhoz Severi

Dona Eugenia Street # 393

Neighborhood: Jardim Europa

CEP: 13.416 – 401 / Piracicaba - SP

Phone: 55 (19) 3422-0069; 55 (19) 4302-4390

e-mail: ezaseveri@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate whether rats supplemented with estrogen presented better responses to aerobic and anaerobic physical activity. Aged Wistar female rats (13 months) were used, housed under ideal vivarium conditions and divided into experimental groups denominated Control and Estrogen treated (E, 160µg/100g), Aerobic Trained and Anaerobic Trained, either treated with estrogen or not. Blood samples were collected for biochemical evaluation of plasmatic free fatty acid and samples of different muscle, for glycogen content evaluation by the phenolsuphuric method or total protein content. The abdominal fat also is collect. In the statistical evaluation, we used the Shapiro-Wilk normality test followed by ANOVA and Tukey test, $p < 0.05$. The results showed that both estrogen and the different training protocols promoted elevation in the muscle glycogen reserves; on the other hand, in association of the hormone with physical exercise, an additive effect was verified, which promoted an even more expressive improvement in energy conditions. Associated with this, lower plasma concentrations of free fatty acids and abdominal fat were verified, and there was elevation of the total protein content in skeletal muscle, indicating adjustments in metabolic homeostasis, an important condition to be preserved in the aging process. This study shows that association of physical exercise and estrogen promote an special nutritional condition that could be important in the aging.

Key Words: Female rats, Estrogen, Aerobic exercise, Anaerobic exercise

INTRODUCTION

The literature presents various training methods and constantly reiterates that the use of animal models in training program studies is important, considering the possibility of manipulating the variables, such the time, frequency and intensity, based on the fact that responses to exercises will be similar to those found in human beings. Aerobic training methods that recommend swimming protocols in rats have enabled excellent control of the physiological responses generated in training, making it possible to analyze the biochemical and molecular parameters (Araujo, 2010). In humans, progressive strength exercise is recognized because of its ability to induce skeletal muscle hypertrophy. With the intention of developing an animal model similar to the process of progressive strength exercise in humans, Hornerberg and Farrar (2004), described an experimental progressive resistance training model applied in rats. This is a practical application of the overload principle and provides form to the basis of the majority of resistance training programs in humans (Kramer et al., 2002). The proposed protocol begins with the determination of the animal's maximum load, as from 75% of body weight, with 30 g being added until voluntary exhaustion in a scale consisting of steps. After maximum load has been determined, the training protocol suggested from 50, 75, 90 and 100% of maximum load in each of the 4 training sessions (Hornerberg e Farrar, 2004). The number of series, rest period and frequency of training are similar to a typical resistance training program in humans, and is in accordance with the position of RALPH et al. (2004) in resistance exercise progression models in healthy adults (Kramer et al., 2002). One of the ways of improving insulin signaling in tissues is the practice of both aerobic and resistance physical exercise (Ivy, 2004; Sundell, 2011). In the study of Martinelli (2009) it was demonstrated that GLUT 4 expression is increased in response to aerobic exercise, especially swimming. Another factor to consider is that other molecules are also involved in the insulin/aerobic activity signaling relationship, and AMP dependent protein kinase (AMPK) deserves emphasis. AMPK is the enzyme that detects variations in cell energy requirement, so that when there is a reduction in available energy, such as in physical exercise, there is variation in its expression (Kemp et al., 1999; Musi et al., 2001). Although there is still no consensus about the possible elevation in GLUT 4 expression, stimulated by AMPK, there are studies that have suggested the veracity of the hypothesis (Hardie, 2003, Towler and Hardie, 2007). It has also been considered that the practice of physical exercise is one of the factors that promote an increase in AMPK expression (Hawley and Lessard, 2008). The estrogenic activity is multifactorial and is remarkably active in

the functional regulation of metabolism in different tissues. In the 1990s, estrogen receptors, named as ER, were detected and cloned; since then, isoforms of this protein have been detected in various tissues in special in skeletal muscle (Feng and Wang, 2004). Recent studies have shown that the estrogenic therapies are extremely important to restructure the energetic conditions of a skeletal muscle submitted to disuse condition, but the literature don't show if the association of estrogen therapy and physical exercise has a beneficial effect in aging process (Severi et al., 2007; 2009; La Colla et al., 2013)

The purpose of this study was to evaluate whether rats supplemented with estrogen presented better responses to aerobic and anaerobic physical activity.

MATERIALS AND METHODS

One-year-old female Wistar rats (230-280g), obtained from the UNIMEP vivarium were used in the study. The animals were housed in collective cages containing a maximum of 4 animals per cage, kept in an acclimatized room ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) with a 12/12 hour light/dark cycle, and received food and water *ad libitum*. All the procedures used in this experiment were performed in accordance with the rules of the Brazilian College of Animal Experimentation - COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) and the Department of Comparative Medicine Guidelines of the University of Toronto. The study was authorized by the Ethics Committee on Animal Experimentation of UFSCar, Protocol 011/2006. The animals were divided into 6 experimental groups with $n=10$ animals in each group, denominated Control (C); Treated with estrogen (E); Aerobic Training (Ae); Aerobic Training + estrogen (AeE); Anaerobic Training (TAna); Anaerobic Training treated with estrogen (TAnaE). The aerobic training consisted of 60-minute sessions of swimming in a tank containing water at a temperature of $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 8 weeks. In turn, aerobic (resistance) training followed the Hornerberg and Farrar (2004) protocol, which consisted of climbing stairs (1.1 x 0.18m, 2 cm spacing between the steps of the grid, inclination of 80°) with a load of appliances fixed to their tails. The size of the stairs obliged the animals to make 8 to 12 movements every time they climbed the stairs. The appliance fixed to their tails consisted of conical flasks with different weights, fixed with adhesive tape (Figure 1). In supplementation with estrogen, estradiol cypionate (160 μg /100g weight; Severi et al., 2009) was administered subcutaneously three times per week. After the experimental period, the rats were anesthetized with sodium pentobarbital (40mg/Kg,

ip) and blood collected to evaluate the plasmatic free fat acid concentration and muscle samples were collected to evaluate the glycogen reserves by the phenol sulphuric method (Siu et al., 1970) and total protein concentration (laboratorial KIT, Labtest). The abdominal fat was collected and weighed. In the statistical evaluation, we used the Shapiro-Wilk normality test followed by ANOVA and Tukey test, $p < 0.05$.

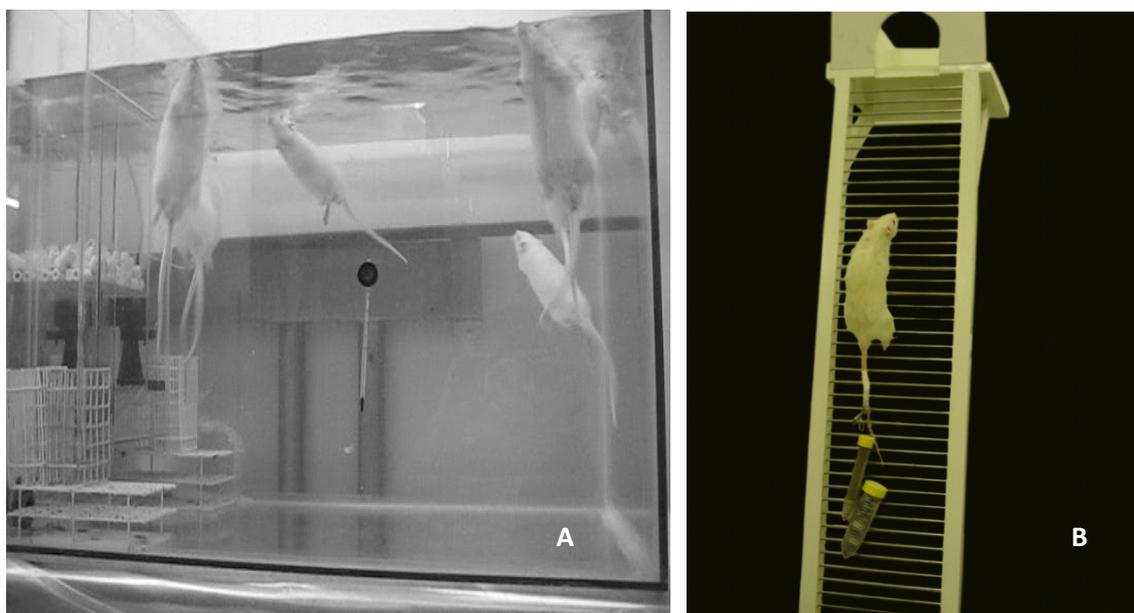


Figure 1. Animals undergoing aerobic training (A) and Stairs used in Resistance Training (1.1 x 0.18m, 2 cm spacing between the steps of the grid, and inclination of 80° (B)

RESULTS

Initially the muscle glycogen reserves in the presence of estrogen were evaluated, and it was verified that the treatment promoted a rise of 115% in the soleus, 54% in the white portion of the gastrocnemius, 71.7% in the long digital extensor, 183% anterior tibial, 321% in the biceps and 88% in the triceps, as demonstrated in Figure 2. Within the same pattern of analysis, a rise of 90% was observed in the abdominal and pectoral muscles, 67% in the intercostal and 186% in the paravertebral muscles (see Figure 3). As the proposal was connected with evaluation of the effects of physical exercise in the presence of the hormone, the behavior of the glycogen reserves were also evaluated, and an expressive improvement was verified in aerobic exercise, attaining 51% in the soleus, 54% in the white portion of the gastrocnemius,

and 25% in the long digital extensor. Whereas, in the presence of anaerobic training, the reserves were shown to be 94% higher in the soleus, 250% in the white portion of the gastrocnemius and 28% in the long digital extensor (Figure 4). This effect was also observed in the other muscles, with a rise of 250% being observed in the abdominal and 240% in the pectoral, 113% in the intercostal and 100% in the paravertebral muscles (see Figure 5). From a broader aspect of evaluation, special attention was paid to the plasmatic parameters, starting with glycemic behavior, and maintenance of the normoglycemic indices was verified, with special attention to the fact that the values remained close to the lower base of normality. In the same context it was verified that the plasma concentration of free fatty acids was shown to be lower in the trained groups, attaining 34% lower values in the group submitted to aerobic training and 25% in the group submitted to anaerobic training. In the same context a reduction in abdominal fat content was observed, attaining values 62% lower in the group submitted to aerobic training and 52% in the group submitted to anaerobic training. In the same profile, it was observed that the total protein concentrations were elevated by 51% in the group submitted to aerobic training and 20% in the group submitted to anaerobic training (Table 1). When analyzing the animals' weight, it was verified that in the presence of estrogen there was a 10% reduction, whereas in the presence of training there was 15% weight loss without difference between the types of training as shown in Figure 6.

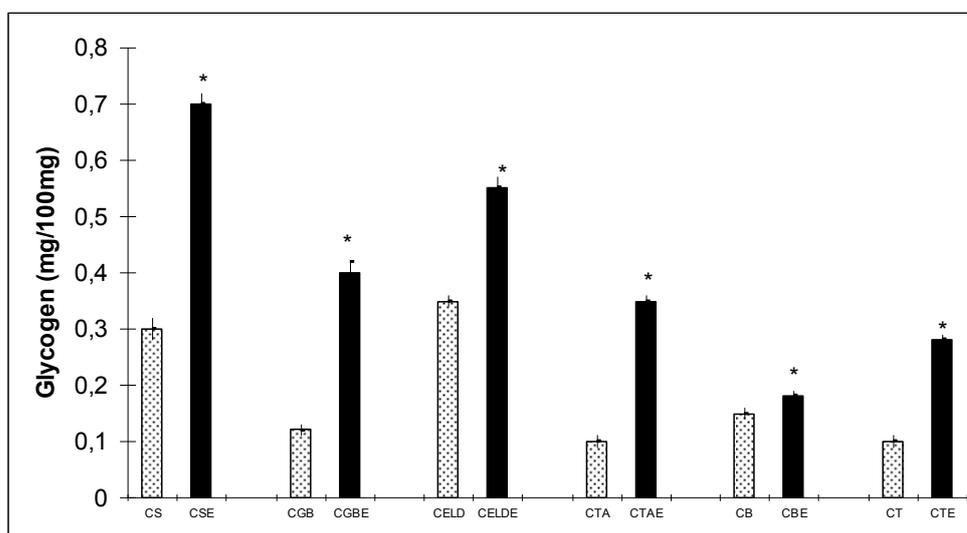


Figure 2. Glycogen concentration (mg/100mg) in the soleus (S) white portion of the gastrocnemius (GB), extensor digitorum longus (EDL), anterior Tibial (TA), biceps (B) and triceps (T) of the control rats (C), and those treated with estrogen (E). The values corresponded to the mean \pm epm, n=8. *p<0.05 compared with the control.

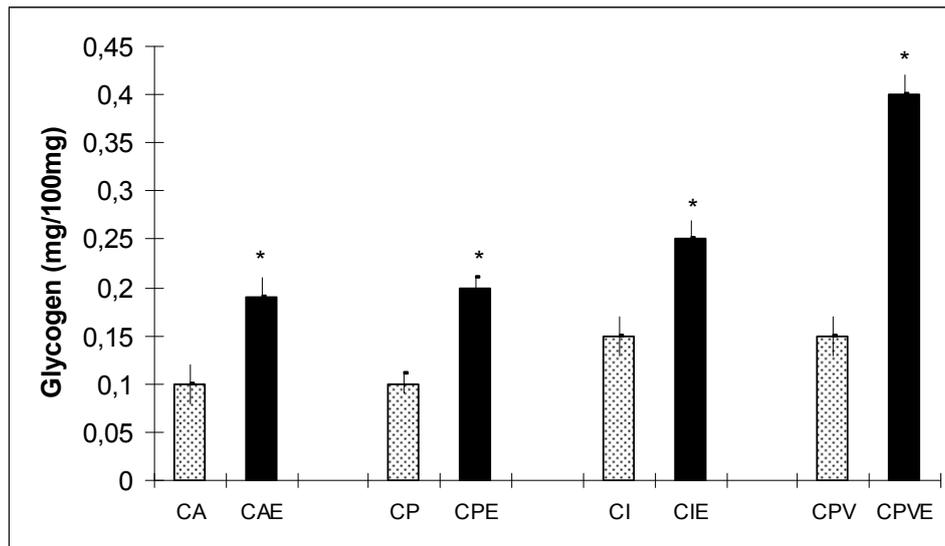


Figure 3. Glycogen concentration (mg/100mg) in the abdominal muscles (A), Pectoral (P), intercostal (I) and paravertebral (PV) of the control rats (C), and those treated with estrogen (E). The values corresponded to the mean \pm epm, n=8. *p<0.05 compared with the control.

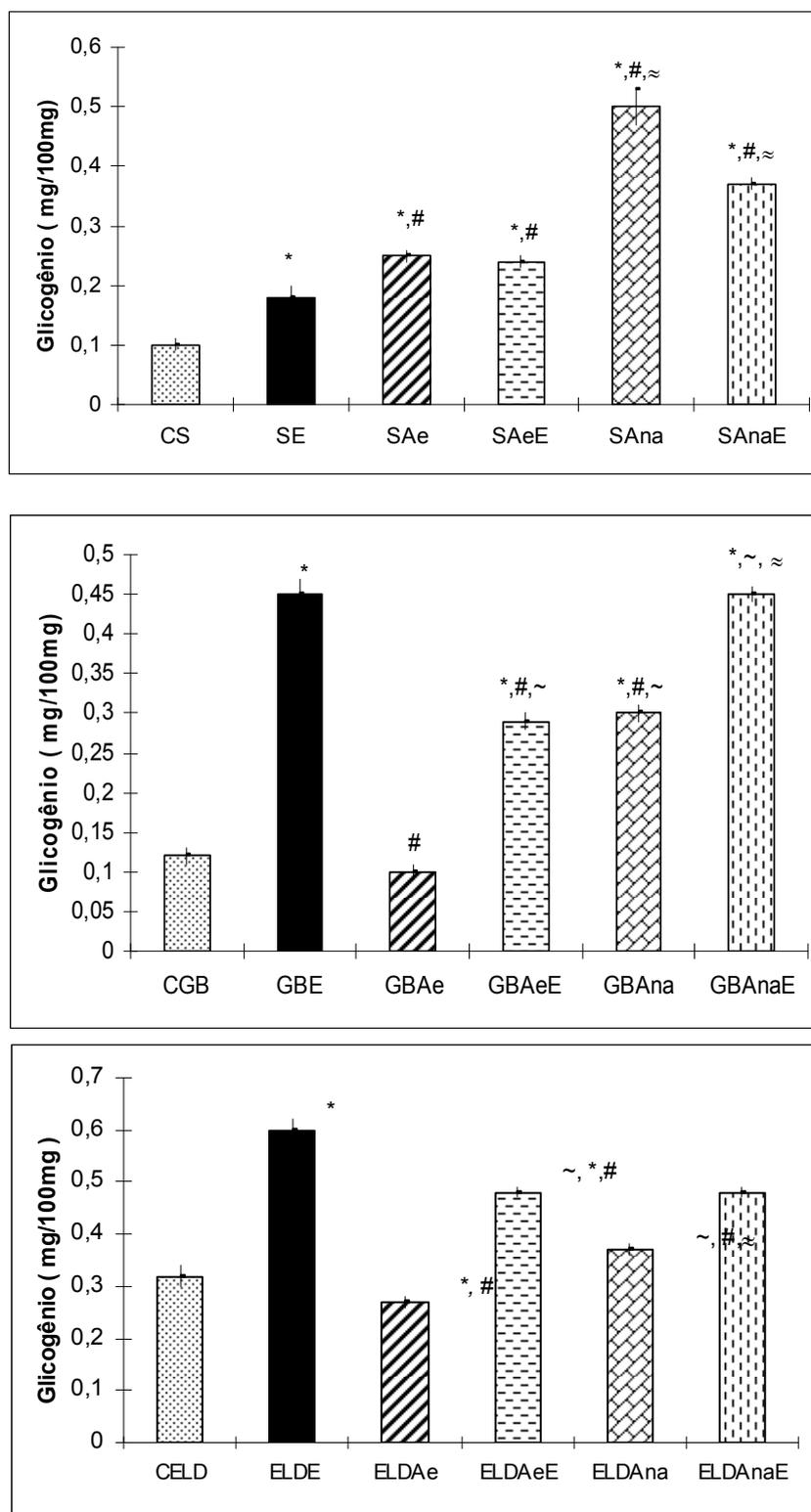


Figure 4. Glycogen concentration (mg/100 mg) in soleus (S), white gastrocnemius (WG) and extensor digitorum longus (EDL) muscles of control rats (C) and treated with estrogen (E, 160 μ g/100g) and aerobic training (TAe) and anaerobic (TAna) trained with estrogen (AeE, Ana E). Values are mean \pm sem, n = 8. * p < 0.05, compared to control, # p < 0.05 compared to E, ~ compared to Ae, \approx compared to Ana, a compared to the Ana.

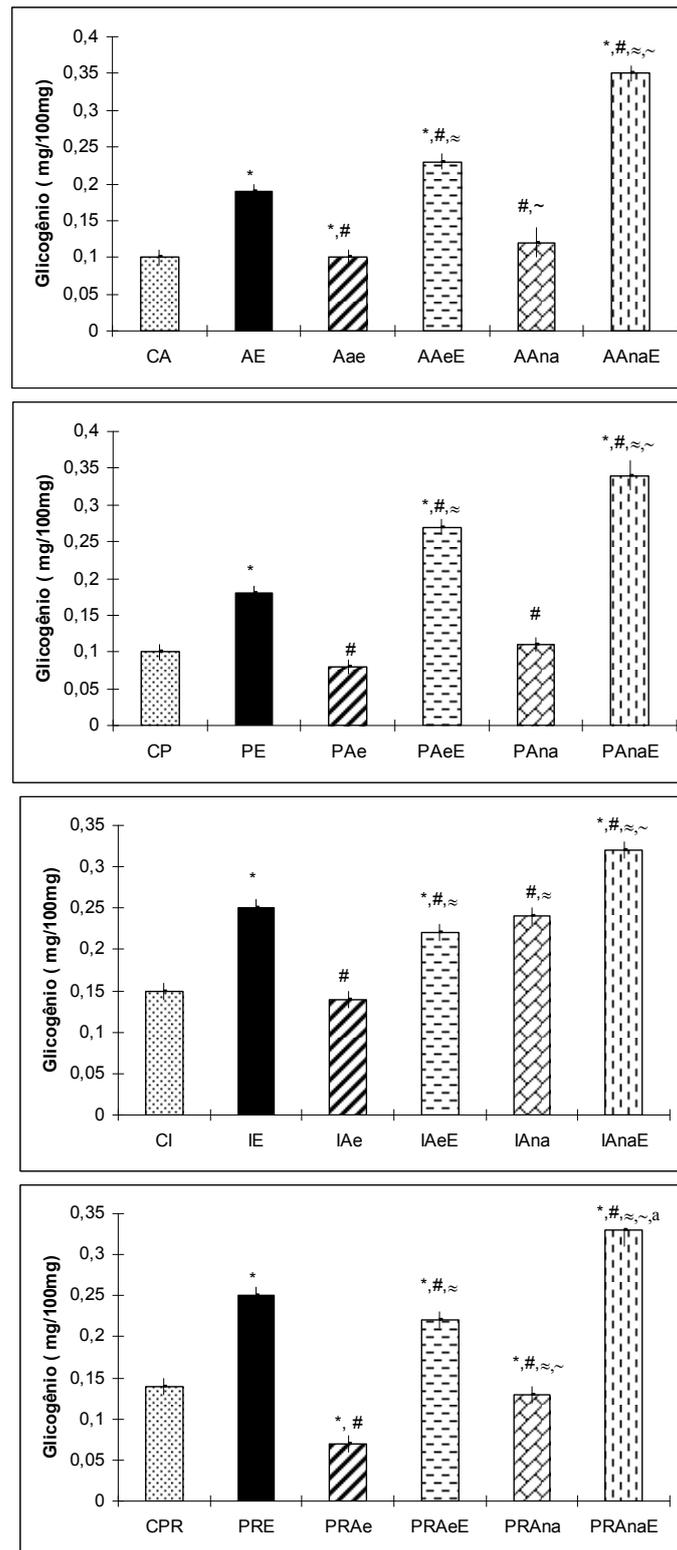


Figure 5. Glycogen concentration (mg/100 mg) in abdominal muscles (A), pectoral (P), Intercoastal (I) and paraspinal (PR) of control rats (C) and treated with estrogen (E, 160 μ g/100g) and aerobic training (Ae) and anaerobic (Ana) trained with estrogen (AeE; AnaE). Values are mean \pm sem, n = 8. * p < 0.05 compared to control, # p < 0.05 compared to E, compared to ~ Ae, \approx compared to Ana, a compared to the Ana.

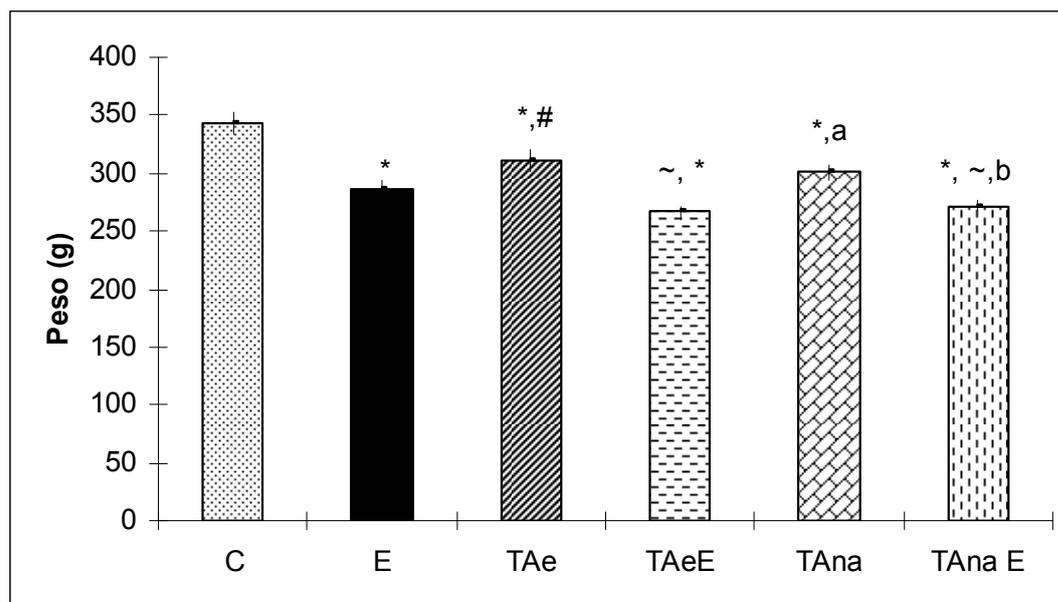


Figure 6. Body weight (g) of control rats (C) and treated with estrogen (E, 160 μ g/100g), trained aerobic (Ae) and anaerobic (Ana) and trained Aerobic and Anaerobic estrogen. Values are mean \pm sem, n = 8. * p <0.05 compared to control, # p <0.05 compared to treated with estrogen, compared to ~ Tae; a compared to the TAeE b compared to Ana.

Table 1. Physiological parameters of control (C), treated with estrógeno (E); Aerobic training (Ae); Aerobic training with estrogen (ESA); trained anaerobic (Ana); trained Anaerobic estrogen (anaerobic). Values represent mean \pm sem, n = 8. * p <0.05 compared to control.

	Glicemia (mg/dL)	Ácidos graxos livres (mmol/L)	Gordura abdominal (g)	Proteínas totais (mg/dL)
C	87 \pm 2,7	1,22 \pm 0,03	12,43 \pm 0,7	7,04 \pm 0,1
E	81,83 \pm 3,5	1,91 \pm 0,009	8,72 \pm 0,5	10,67 \pm 1,3*
Ae	97,88 \pm 5,7	0,88 \pm 0,1*	12,68 \pm 0,4	9,33 \pm 1,7*
Ae + E	78,25 \pm 3,3	0,92 \pm 0,04*	4,74 \pm 0,4*	10,67 \pm 1,3*
Ana	97 \pm 3,9	0,33 \pm 0,07*	11,35 \pm 0,4	15,35 \pm 2,0*
Ana + E	77,67 \pm 3,4	0,81 \pm 0,01*	5,95 \pm 0,5*	8,48 \pm 1,9*

DISCUSSION

It is consensus among specialists and scientists that the practice of physical activity should form part of daily activities, with special attention to the stage of aging, since physical exercise practiced regularly removes the body from homeostasis, promotes an increase in energy demand, and allows improvement in the quality of life (Civinsky et al., 2011). Glycogen reserves determine the body's resistance to physical activity, so that the increase in content indicates better resistance while expressive reduction indicates exhaustion (Jensen et al., 2011). Although it has been demonstrated that these reserves are controlled by innumerable factors, such as biochemical, neural or endocrine factors, the efficiency of the systems becomes reduced with aging (Iaia et al., 2010). With reference to endocrine control, it has been described that estrogen plays an important role in the control of energy reserves, and its receptor is present in innumerable tissues, especially in muscle fibers, in which it acts on the insulin pathway (Barros and Gustafsson, 2011). The results showed that the supplemented muscles presented larger glycogen reserves, reiterating the normal action on the insulin pathway, more specifically, activating the dynamics that converge for glycogenesis (Tarnopolsky, 2008). It is known that physical training is a set of organized procedures whose target is to carry out maximum performance in a determined period (Silva et al., 2007). Physical training may vary according to the objectives, and may be anaerobic or aerobic, playing a fundamental role in the maintenance of muscle mass, in addition to functional adjustments in various systems of the body (Silva et al., 2007; Campos et al., 2002). In the same profile of analysis, the behavior of glycogen reserves in the association of training/treatment with estrogen was evaluated, starting the evaluation with aerobic physical activity. The swimming model was chosen because it respects the duration, frequency of activity, and water temperature indicated for the species (Martinelli, 2009, Pasini et al., 2012). The literature presents classic descriptions indicating that aerobic training raises the muscle glycogen resynthesis rate, because it promotes adaptations in the signaling systems with the action of facilitator of the process that modulates the resynthesis rates of this metabolic substrate reserve (Figueira et al., 2007). In this stage of the study it was observed that the muscle reserves were expressively elevated in the association of physical activity/estrogen, indicating a potentiating effect of the hormone on the adaptive responses generated by physical training (Koricnac et al., 2007). An important point to emphasize is that during physical exercise there are differences between the mobilization of glycogen reserves, considering the different types of

muscle fibers. However, if the training is regular, the muscle glycogen reserves become high when compared with those of sedentary individuals, considering that after the training sessions there is overcompensation in post-exercise recovery. This phenomenon involves an increase in sensitivity of the insulin pathways and in the content of the glucose transporting protein, GLUT-4 facilitating the formation of reserves (Thorell et al., 1999; Hussey et al., 2011). With regard to aerobic training in the presence of estrogen, it was verified that the glycogen potentiating effect was manifested with greater intensity in muscles with predominance of Type I fibers, indicating overcompensation. This phenomenon may be explained by the increase in MAPK activity and in the transcription of the signal in DNA as was recently indicated (Wiik A, 2008; Gorres et al., 2011). Strength training is a physical exercise that involves muscle action against an opposing force, and is essential for improvement in performance. It may be beneficial as regards power, promotion of muscle hypertrophy and reduction in body fat (Haskell et al., 2007). The literature has demonstrated that strength training causes an increase in muscle mass due to an increase in the size of muscle fibers, particularly type IIA. thus causing an increase in muscle strength (Campos et al., 2002). Studies conducted in experimental animals, comparing the types of physical exercises and their relationships with gain or loss of body mass, have not presented any consensus when indicating both weight loss and no difference in total body mass between animals that trained and those that were sedentary. This suggests that further studies should be conducted in order to contribute to the literature as regards the inter-relationship between physical training and body mass (Silva et al., 2007; Freiburger et al., 2011). In the evaluation of glycogen reserves of animals submitted to anaerobic training and treated with estrogen, it was observed that the reserves were shown to be significantly high when compared with the other groups. The explanation for the intense response of overcompensation is that it is due to the strong physiological relations that link the cytosolic and nuclear signaling of type E2 α estrogen receptors and the modulation of metabolic or functional responses (Ignacio et al., 2009, Barros et al., 2009). It has been reported that females have an expressive sexual dimorphism with regard to physical training, as they are more active than males, a profile explained by the high concentrations of estrogen, because when ovariectomized trained (anaerobic) rats were evaluated and compared with a group in the same experimental condition treated with the hormone, it was observed that the treated ovariectomized rats presented better resistance to physical exercise, which may represent better conditioning (Gentry and Wade, 1996). Another factor to consider is the presence of orphan nuclear receptors denominated $ERR\alpha$, which are essential for metabolic regulation, because they show increased expression in response to

physical training (Lemoine et al., 2002, Villena et al., 2007). It should be pointed out that this study describes the effect of training on older rats, which physiologically present a reduction in the estrogen receptor population, and data indicate benefits in the association of estrogen and anaerobic activity (Ignacio et al., 2009; Ferreira et al., 2011; Wend et al., 2012). Furthermore, it must be considered that it has been reported that estrogen also exerts a neuroprotective action by increasing neuronal plasticity, particularly with reference to synapse and memory, factors that may help in the coordination of practicing physical exercise (Marosi et al., 2012). When analyzing the animals' weight, it was verified that in the presence of estrogen there was a reduction, however, in the presence of training there was an even greater weight loss. An explanation for this is the expression of estrogen action on the central nervous system, in which the hormone promotes a reduction in food ingestion and modification in metabolic homeostasis (Breton et al., 2011). Knowing that the role of estrogen in the regulation of body fat is a multifactorial event, one could interpret the effects as being due to alterations in the population and signaling pathways of estrogen receptors, in activity of the aromatase enzyme, and in the reduction in leptin receptors in the hypothalamus, which would cause diminishment in satiety, greater ingestion and consequent gain in body mass, as described in mice with deficiency in these pathways (Brittany et al., 2011; García-Mayor et al., 2012). Having found benefits both with regard to the reduction in body fat and plasma concentration of free fatty acids, the study was directed towards the evaluation of glycemic behavior and plasma total proteins, and no alterations in fasting glycemic values were found. In this context, concomitant reduction in sensitivity to insulin with aging has been described, however, in the trained groups glycemia was shown to be within the range of normality, which suggests that when physical exercise is practiced, adjustments occur both in insulin sensitivity of the peripheral tissues and in the insulin secretory process, an association that allows a fine adjustment in glycemia which has been so intensively studied in diabetics submitted to physical training programs (Ribeiro et al., 2008; Behboudi et al., 2011; Iscoe e Riddell, 2011). An important point to emphasize is that because it concerns a process of aging, one would expect a natural and gradual loss of muscle mass. Whereas, it has been demonstrated resistance exercise programs have an expressive action on both hypertrophy and muscle strength and on anticatabolic action, a unique situation in the condition and preservation of metabolic and structural functions of the elderly person's musculature, according to Ferreira et al. (2012).

CONCLUSION

Supplementation with estradiol cypionate promoted the expressive formation of glycogen reserved in skeletal muscle. This effect will be greater if associated with physical training, and could be an pharmacological tool adjuvant to promote the high efficiency in practice of physical exercise, the is an important factor in aging process.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- Araújo G.G. Efeitos de quatro modelos de treinamento experimental de natação sobre biomarcadores de adaptação e capacidades aeróbia e anaeróbia em ratos Wistar. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista - UNESP, Rio Claro, São Paulo, Brasil, 2010.
- Barros R.P, Gabbi C, Morani A, Warner M, Gustafsson J.A, 2009. Participation of ER α and ER β in glucose homeostasis in skeletal muscle and white adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 297: E124–E133.
- Barros R.P, Gustafsson J.Å, 2011. Estrogen receptors and the metabolic network. *Cell Metab.* 14(3): 289 - 299.
- Behboudi L, Azarbayjani M.A, Aghaalinejad H, Salavati M, 2011. Effects of aerobic exercise and whole body vibration on glycaemia control in type 2 diabetic males. *Asian J Sports Med.* 2(2):83-90.
- Breton A.B, Cockrum R.R, Austin K.J, Cammack K.M, Ford S.P, Hess B.W, Moss G.E, Nathanielsz P.W, Alexander B.M, 2011. Hypothalamic expression of genes for appetite regulators and estrogen α , estrogen β and leptin receptors in obese dams and their fetuses. *Animal rev.* 5(12):1944-1948.
- Brittany K. Gorres, Gregory L, Bomhoff L, Anisha A. Gupte, Paige C. Geiger, 2011. Altered estrogen receptor expression in skeletal muscle and adipose tissue of female rats fed a high-fat diet. *J. Appl Physiol* 110: 1046 – 1053.
- Campos G.E, Luecke T.J, Wendeln H.K, Toma K, Hagerman F.C, Murray T, Ragg K.E, Ratamess N.A, Kraemer W.J, Staron R.S, 2002. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. *Eur J Appl Physiol.* 88: 50-60.

- Civinski C, Montibeller A, Braz ALO, 2011. A importância do exercício físico no envelhecimento. *Revista da Unifebe (Online)*. 9:163-175.
- Figueira, T.R.; Lima, M.C.S.; Gurjao, A.L.D. Ruas, V.D.A.; Leme, J.A.C.A.; Luciano, E, 2007. Efeito do treinamento aeróbio sobre o conteúdo muscular de triglicérides e glicogênio em ratos. *Rev. Bras. Cien. Mov.* 15(2): 55-61.
- Feng X, Li G, Wang S, 2004. Effects of estrogen on gastrocnemius muscle strain injury and regeneration in female rats. *Acta Pharmacol Sin.* 25(11): 1489-94.
- Ferreira J.A, Foley A.M, Brown M, 2011. Sex hormones differentially influence voluntary running activity, food intake and body weight in aging female and male rats. *Eur J Appl Physiol.* 12: 212-215.
- Ferreira M.L, Sherrington C, Smith K, Carswell P, Bell R, Nascimento D.P, Máximo Pereira L.S, Vardon P. 2012. Physical activity improves strength, balance and endurance in adults aged 40-65 years: a systematic review. *J. Physiother.* 58 (3): 145- 156.
- Freiberger E, Sieber C, Pfeifer K, 2011. Physical activity, exercise, and sarcopenia - future challenges. *Wien Med Wochenschr.* 161(17-18):416-425.
- García-Mayor R.V, Larrañaga V, Vidal A, Docet C.M.F, Lafuente G.A, 2012. Endocrine disruptors and obesity: obesogens. *Endocrinol Nutr.*59(4):261-7.
- Gentry R.T, Wade G.N. 1996. Sex differences in sensitivity of food intake, body weight, and running-wheel activity to ovarian steroids in rats. *J. Comp. Physiol Psychol.* 90 (8): 747 -754.
- Gorres B.K, Bomhoff G.L, Gupte A.A, Geiger P.C, 2011. Altered estrogen receptor expression in skeletal muscle and adipose tissue of female rats fed a high-fat diet. *J Appl Physiol.* 110(4):1046-1053.
- Haskell, W. L., Lee, I., Pate, R.R., Powell, K.E., Blair, S.N., Franklin, B.A, Macera, C.A., Heath, G.W., Thompson, P.D., Bauman, A. 2007. Physical activity and public health - updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation*, Hagerstown, 16 (9): 1094-1105.
- Hardie D.G. 2003. Minireview: The AMP-activated protein kinase cascade. The key sensor of cellular energy status. *Endocrinology*, 144 (12): 5179 – 5183.

- Hawley J.A, Lessard S.J. 2008. Exercise training-induced improvements in insulin action. *Acta Physiol (Oxf)*. 192: 127 – 135.
- Hernandez, J. M., Mark, J. F., Peter, A. 2000. F. Time course evaluation of protein synthesis and glucose uptake after acute resistance exercise in rats. *J.Appl. Physiol*. 2000; 88: 1141-1149.
- Hussey S.E, Mcgee S.L, Garnham A, Wentworth J.M, Jeukendrup A.E, Hargreaves M. 2011. Exercise training increases adipose tissue GLUT4 expression in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*.13(10):959-962.
- Homberger T.A, Farrar R.P. 2004. Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat. *Can. J. Appl. Physiol*. 29 (1): 16-31.
- Ignacio D.L, Frankenfeld T.G.P, Fortunato R.S, Vaisman M, Werneck J.P.S, Carvalho D.P, 2009. Regulação da massa corpórea pelo estrogênio e pela atividade física. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab*. 53 (3): 310- 317.
- Iscue K.E, Riddell M.C. 2011. Continuous moderate-intensity exercise with or without intermittent high-intensity work: effects on acute and late glycaemia in athletes with Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 28(7): 824-832
- Iaia F.M, Perez-Gomez J, Nordsborg N, Bangsbo J, 2010. Effect of previous exhaustive exercise on metabolism and fatigue development during intense exercise in humans. *Scand J Med Sci Sports*. 20(4):619-629.
- Ivy J.L. 2004. Muscle insulin resistance amended with exercise training: role of GLUT 4 expression. *Med. Sci. Sports Exerc*. 36 (7): 1207 -1211.
- Jensen J, Rustad P.I, Kolnes A.J, Lai Y.C, 2011. The role of skeletal muscle glycogen breakdown for regulation of insulin sensitivity by exercise. *Front Physiol*. 2:112-201.
- Kraemer W.J, Adams K, Cafarelli E, Dudley, G.A., Dooly, C., Feigenbaum, M.S., Fleck, S.J., Franklin, B., Fry, A.C., Hoffman, J.R., Newton, R.U., Potteiger, J., Stone, M.H., Ratamess, N.A., Triplett-Mcbride, T. 2002. Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults., *Medicine e Science in Sports e Exercise*. American College Sports Medicine Position Stand. 34: 364-380.
- Kemp B.E, Mitchelhill K.I, Stapleton D, Michell B.J, Chen Z.P, Witters L.A. 1999. Dealing with energy demand: the AMP-activated protein kinase. *Trends Biochem Sci*. 24: 22-25.

- Koricanac G , T Milosavljevic , Stojiljkovic M , Zakula Z , Tepavcevic S , Ribarac-Stepic N , Isenovic E.R, 2009. Impacto do estradiol sobre sinalização da insulina no coração de rato. *Cell Biochem Funct.* 27 (2):102-110.
- La Colla A, Vasconsuelo A, Boland R, 2013. Estradiol exerts antiapoptotic effects in skeletal myoblasts via mitochondrial PTP and MnSOD. *J Endocrinol.* 25;216(3):331-41
- Lemoine S, Granier P, Tiffoche C, Berthon P.M, Rannou-Bekono F, Thieulant M.L, Carré F, Delamarche P. 2002. Effect of endurance training on oestrogen receptor alpha transcripts in rat skeletal muscle. *Acta Physiol Scand.*174(3):283-289.
- Martinelli TCP. Captação de glicose in vivo e in vitro em ratos dislipidêmicos. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brasil, 2009.
- Matveev LP. Fundamentos de treino desportivo. Lisboa: Horizonte, 1986.
- Marosi K, Felszeghy K, Mehra R.D, Radák Z, Nyakas C, 2012. Are the neuroprotective effects of estradiol and physical exercise comparable during ageing in female rats? *Biogerontology.* 22 (10): 257 -262.
- Musi N, Hayashi T, Fujii N, Hirshman M.F, Witters L.A, Goodyear L.J, 2001. AMPactivated protein kinase activity and glucose uptake in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 280: E677 – E 684.
- Pasini E, Llahaye S, Flati V, Assanelli D, Corsetti G, Specca S, Bernabei R, Calvani R, Marzetti E, 2012. Effects of treadmill exercise and training frequency on anabolic signaling pathways in the skeletal muscle of aged rats. *Exp Gerontol.* 47(1):23-28.
- Ralph N. Carpinelli, Robert M. Otto, Richard A. Winett, 2004. A critical analysis of the acsm position stand on resistance training: insufficient evidence to support recommended training protocols. *JEPonline.* 7(3):1-60.
- Ribeiro R.T, Afonso R.A, Guarino M.P, Macedo M.P, 2008. Loss of postprandial insulin sensitization during aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 63(6): 560-565.

- Severi MTM, Chingui LJ, Delfino GB, 2007. O efeito do estrogênio nas reservas glicogênicas de musculoesqueléticos desnervados de ratas. *Rev. Bras. Fisioter.* 11 (1):13-18.
- Severi M.T.M, Silva C.A, Parizotto N.A, 2009. Comportamento das reservas de glicogênio no músculo desnervado de ratas tratadas com diferentes doses de estrogênio. *Rev Bras Fisioter.* 13 (2): 159-163.
- Silva D.A.S, Melo L.A, Oliveira A.C.C, 2007. Efeito do treinamento físico na massa corporal de ratos. *Motriz.* 13(1): 43-50.
- Siu LO, Russell J.C, Taylor A.W, 1970. Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol.* 28(2): 234-6.
- Sundell J, 2011. Resistance training is an effective tool against metabolic and frailty syndromes. *Adv. Prev. Med.* 894 – 963.
- Tarnopolsky MA. Sex differences in exercise metabolism and the role of 17-beta estradiol. *Med Sci Sports Exerc.* 2008; 40(4):648-54.
- Thorell A, Hirshman M.F, Nygren J, Jorfeld T.L, Wojtaszewski J.F., Dufresne A.D., Horton E.S, Ljungqvist O, Goodyear L.J, 1999. Exercise and insulin cause GLUT-4 translocation in human skeletal muscle. *AJP – Endo.* 277 (4): E733-E741.
- Towler M.C, Hardie D.G, 2007. AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ Res,* 100: 328 – 341.
- Villena J.A, Hock M.B, Chang W.I, Barcas J.E, Gigre V, Kralli A, 2007. Orphan nuclear receptor estrogen-related receptor α is essential for adaptive thermogenesis. *Proc. Natl. Acad Sci USA.* 104 (4): 1418 – 1423.
- Wend K, Wend P, Krum S.A, 2012. Tissue-Specific Effects of Loss of Estrogen during Menopause and Aging. *Front Endocrinol (Lausanne).* 3: 20 - 22.
- Wiik A. 2008. Estrogen receptor in skeletal muscle. Doctoral thesis, Karolinska Instituted, 58p.

ANEXO

Parcer do Comitê de Ética da UFSCar



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
Comissão de Ética em Experimentação Animal
Via Washington Luís, km. 235 - Caixa Postal 676
Fones: (016) 3351.8109 / 3351.8110
Fax: (016) 3361.3176
CEP 13560-970 - São Carlos - SP - Brasil
propq@power.ufscar.br - www.propq.ufscar.br

Parecer CEEA 010/2006

A Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos – CCEA/UFSCar – na sua 7ª. Reunião, ocorrida em 20/06/2006, **APROVOU** o trabalho intitulado Perfil metabólico de ratas submetidas a diferentes condições de comprometimento muscular esquelético e o tratamento com estrógeno elaborado por Maria Theresa Munhoz Severi, Rommel Padovan Branquinho e Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva, procedente da UNIMEP/Depto. de Fisioterapia. Protocolo CEEA nº 011/2006.

São Carlos, 30 de junho de 2006

Prof. Dr. Nivaldo Antônio Parizotto

Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal