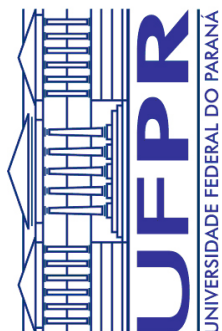


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

**CINTIA DE LOURDES NAHHAS RODACKI**

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA ASSOCIADA À  
SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE SOBRE A  
RESPOSTA NEUROMUSCULAR E IMUNITÁRIA DE  
IDOSAS**

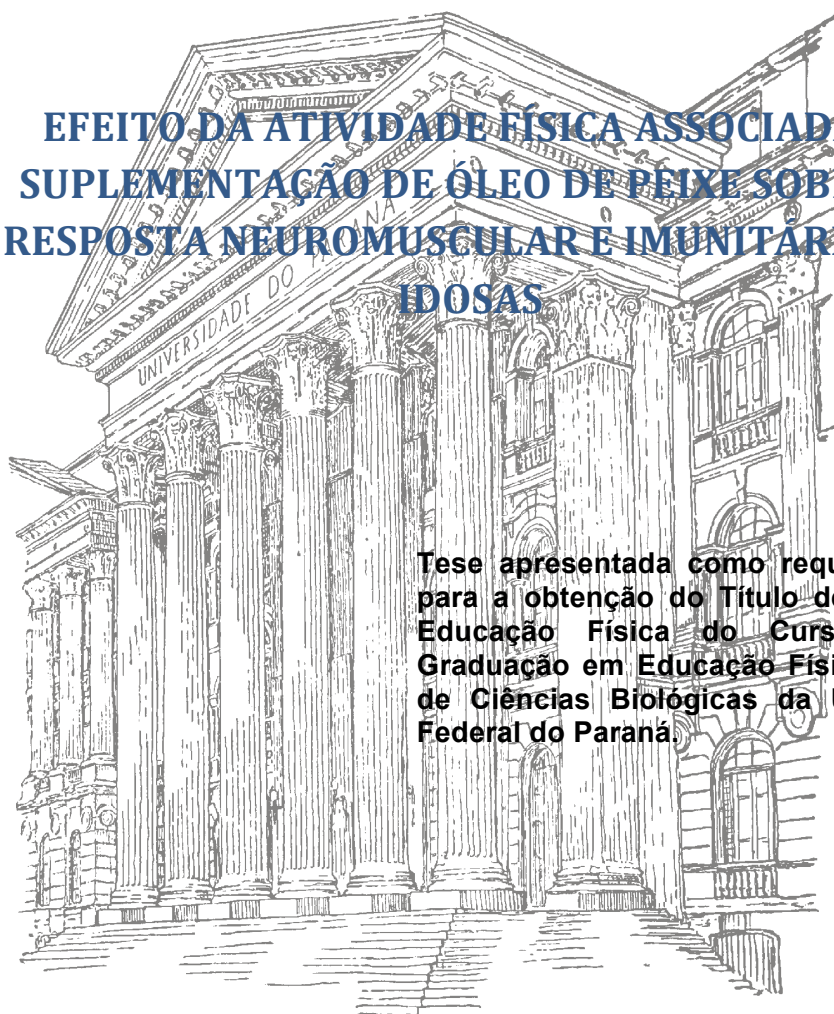


**CURITIBA**

**2012**

**CINTIA DE LOURDES NAHHAS RODACKI**

**EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA ASSOCIADA À  
SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE SOBRE A  
RESPOSTA NEUROMUSCULAR E IMUNITÁRIA DE  
IDOSAS**



**Tese apresentada como requisito parcial  
para a obtenção do Título de Doutor em  
Educação Física do Curso de Pós-  
Graduação em Educação Física, do Setor  
de Ciências Biológicas da Universidade  
Federal do Paraná.**

**Orientador: Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes**

*Dedico minha tese a minha querida  
FAMÍLIA pelo apoio e, principalmente, ao  
meu Pai Adnan que me ensinou o  
verdadeiro sentido da palavra AMOR.*

Nossas falhas, muitas vezes, dão oportunidade para que a glória de Deus se manifeste e preparem o terreno para o nosso próprio crescimento.

Lucas 17

## AGRADECIMENTOS

À Deus, sem Ele nada seria possível.

Ao Prof. Dr. Luiz Cláudio por toda dedicação, apoio, paciência e por ser um exemplo de Professor, Orientador, Pesquisador e Amigo.

Ao André por toda ajuda, apoio e carinho até mesmo nas horas mais difíceis, te amo e sempre te amarei! Aos meus filhos Luis Eduardo e Giovanna que são a razão do meu viver. A toda a minha família, principalmente a minha amada Mãe Izolde e irmãs Denise, Eliane e Vanessa que sempre me apoiaram com muito carinho e amor.

À todos os amigos do LabMetab (em ordem alfabética): Adri, Dalton, Dani, Everson, Gina, Gleisson, Isa, Julia, Juliano, Kátya, Marcelo, Rica, Ricelli, Sandro e Thiago. Pela amizade, risadas, brincadeiras e por todo o auxílio que sempre me deram. Esta pesquisa é de todos vocês. Principalmente a Isa, Dani, Gina e Kátya sempre prontas a ajudar com muita paciência e dedicação.

A querida e eterna amiga Paola, e aos colegas de trabalho Cesar, Gleber, Ricardo, Bianca e Paula que viabilizaram minha pesquisa na Universidade Positivo, sempre muito colaborativos.

À todos os que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa, especialmente aos participantes, que foram e são a razão desse estudo.

À Fundação Herbarium, pela doação das cápsulas de óleo de peixe.

## SUMÁRIO

|   |      |
|---|------|
| DEDICATÓRIA .....   | i    |
| EPÍGRAFE .....  | ii   |
| AGRADECIMENTOS .....  | iii  |
| SUMÁRIO .....   | iv   |
| LISTA DE TABELAS .....  | vii  |
| LISTA DE FIGURAS .....  | viii |
| LISTA DE ABREVIACÕES .....  | xv   |
| RESUMO .....  | xvii |
| ABSTRACT .....  | xix  |
| 1. INTRODUÇÃO .....   | 1    |
| 2. OBJETIVOS .....  | 6    |
| 2.1. Objetivo geral .....   | 6    |
| 2.2. Objetivos específicos .....  | 6    |
| 2.3. Hipóteses .....  | 7    |
| 2.3.1. Hipóteses gerais do estudo .....   | 7    |
| 2.3.2. Hipóteses específicas do estudo .....  | 8    |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA .....  | 11   |
| 3.1. Envelhecimento .....   | 11   |
| 3.2. Envelhecimento e declínio da força muscular .....                              | 12   |
| 3.3. Fatores neurais relacionados ao declínio da força no envelhecimento .....      | 13   |
| 3.4. Fatores musculares relacionados ao declínio da força no envelhecimento .....   | 16   |
| 3.5. Relação entre Inflamação e perda da massa muscular no envelhecimento .....     | 19   |
| 3.6. Efeitos do treinamento resistido sobre o sistema neuromuscular de Idosos ..... | 23   |
| 3.7 Adaptações neurais ao treinamanto resistido .....                               | 24   |
| 3.8. Sistema imunitário e envelhecimento .....                                      | 29   |
| 3.9. Imunidade inata e envelhecimento .....   | 30   |
| 3.10. Imunidade adaptativa em idosos .....  | 39   |
| 3.11. Produção de citocinas durante o envelhecimento .....                          | 43   |
| 3.12. O efeito do exercicio fisico sobre o sistema imune em idosos .....            | 49   |
| 3.13. Ácidos graxos .....   | 59   |
| 3.14. Efeito do óleo de peixe sobre o sistema imune .....                           | 65   |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.15. Efeito do óleo de peixe sobre o sistema neuromuscular .....                   | 68        |
| <b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>   | <b>71</b> |
| 4.1. Procedimentos experimentais.....   | 71        |
| 4.2. Programa de treinamento de força .....   | 74        |
| 4.3. Avaliação do desempenho neuromuscular.....                                     | 75        |
| 4.3.1. Pico e taxa de desenvolvimento de torque.....                                | 75        |
| 4.3.2. Ativação muscular (RMS) e atraso eletromecânico (EMD) .....                  | 77        |
| 4.3.3. Velocidade de condução nervosa (VCN).....                                    | 78        |
| 4.3.4. Capacidade funcional .....   | 79        |
| 4.3.4.1. Teste caminhada de seis minutos .....                                      | 79        |
| 4.3.4.2. Teste de levantar da cadeira em 30 segundos.....                           | 80        |
| 4.3.4.3. Teste de agilidade (Foot Up and Go).....                                   | 80        |
| 4.3.4.4. Teste de sentar e alcançar .....   | 81        |
| 4.4. Avaliação dos Parâmetros Imunitários .....                                     | 81        |
| 4.4.1. Reagentes, enzimas e soluções .....  | 81        |
| 4.4.2. Coleta e separação das células sanguíneas .....                              | 82        |
| 4.4.3. Determinação de parâmetros de resposta imunitária em neutrófilos .....       | 83        |
| 4.4.3.1. Soluções .....   | 83        |
| 4.4.3.2. Atividade fagocitária.....   | 84        |
| 4.4.3.3. Produção de peróxido de hidrogênio .....                                   | 84        |
| 4.4.3.4. Mensuração do ânion superóxido.....  | 85        |
| 4.4.3.5. Retenção lisossomal.....   | 85        |
| 4.4.4. Obtenção de linfócitos do sangue.....  | 86        |
| 4.4.4.1. Cultivo de linfócitos .....  | 86        |
| 4.4.4.2. Produção de citocinas.....   | 87        |
| 4.4.4.3. Análise de marcadores de superfície.....                                   | 88        |
| 4.4.5. Análises plasmáticas .....   | 88        |
| 4.4.5.1. Determinações plasmáticas.....   | 88        |
| 4.4.5.2. Determinação do conteúdo de ácidos graxos plasmáticos.....                 | 89        |
| 4.4.5.2.1. Extração lipídica.....   | 89        |
| 4.4.5.2.2. Saponificação dos extratos lipídicos.....                                | 90        |
| 4.4.5.2.3. Derivatização dos ácidos graxos .....                                    | 90        |
| 4.4.5.2.4. Análise de ácidos graxos por cromatografia Líquida de alta potência..... | 91        |

|  |            |
|--|------------|
| 4.5. Análise estatística .....                                     | 91         |
| 5 RESULTADOS.....  | 93         |
| 5.1. Resultados preliminares .....                                 | 93         |
| 5.1.1. Massa corporal e índice de massa corporal .....             | 93         |
| 5.1.2. Hábitos alimentares .....                                   | 94         |
| 5.1.3. Incorporação de ácidos graxos.....                          | 95         |
| 5.2. Parâmetros neuromusculares.....                               | 96         |
| 5.2.1. Pico de torque (PT).....                                    | 97         |
| 5.2.2. Taxa de desenvolvimento de torque (RTD).....                | 97         |
| 5.2.3. Análise da ativação muscular (EMG).....                     | 99         |
| 5.2.4. Atraso eletromecânico (EMD).....                            | 101        |
| 5.2.5. Teste de velocidade de condução nervosa motora (VCN-M)..... | 103        |
| 5.2.6. Testes funcionais .....                                     | 103        |
| 5.3. Parâmetros imunitários .....                                  | 107        |
| 5.3.1 Imunidade inata .....  | 107        |
| 5.3.1.1 Fagocitose de Zimosan.....                                 | 107        |
| 5.3.1.2 Volume lisossomal .....                                    | 108        |
| 5.3.1.3 Ânion superóxido .....                                     | 109        |
| 5.3.1.4 Peróxido de hidrogênio .....                               | 110        |
| 5.3.2 Parâmetros da imunidade adaptativa .....                     | 112        |
| 5.3.2.1 População de linfócitos CD4 e CD8.....                     | 112        |
| 5.3.2.2 Citocinas pro e anti-inflamatórias.....                    | 113        |
| 5.4 Parâmetros sanguíneos .....                                    | 116        |
| 6. DISCUSSÃO.....  | <b>119</b> |
| 7. CONCLUSÃO .....   | <b>161</b> |
| 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                | <b>162</b> |



## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| TABELA 1 - Parâmetros antropométricos e nível de atividade física dos participantes dos grupos de treinamento de força (ST; n = 15) treinamento de força, e 90 (ST90; n = 15) e 150 (ST150; n = 15) dias de suplementação de óleo de peixe, antes (PRE) e após (POS) o período de treinamento e (BASE) para o grupo ST150 durante o período que recebeu apenas suplementação..... | 94 |
| TABELA 2 - Recordatório de ingestão alimentar de 3 dias (média ± DP) dos grupos de; treinamento de força (ST; n = 15) treinamento de força, e 90 (ST90; n = 15) e 150 (ST150; n = 15) dias de suplementação de óleo de peixe, antes (PRE) e após (POS) o período de treinamento e (BASE) para o grupo ST150 durante o período que recebeu apenas suplementação. ....              | 95 |
| TABELA 3 - Composição de ácidos graxos do plasma (média ± SD) dos grupos de; treinamento de força (ST; n = 5) treinamento de força, e 90 (ST90; n = 5) e 150 (ST150; n = 5) dias de suplementação de óleo de peixe, antes (PRE) e após (POS) o período de treinamento e (BASE) para o grupo ST150 durante o período que recebeu apenas suplementação .....                        | 96 |

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| FIGURA 1 - Representação esquemática dos efeitos de várias citocinas no músculo esquelético, adaptada de Spate e Schulze, 2004.....   | 21 |
| FIGURA 2 - Neutrófilos responde à infecção da seguinte forma: (1) neutrófilos circulantes aderem livremente ao endotélio vascular, esta adesão frouxa induz ao rolamento dos neutrófilos ao longo do endotélio dos vasos sanguíneos e é seguido por adesão firme no local da infecção. Os neutrófilos, extravasam através do endotélio vascular em um processo efetuado pela ligação CD11a/CD18, CD11b/CD18 com a participação adicional de CD31, (2), os neutrófilos migram para os micróbios infectar ao longo de um gradiente quimiotático, composto por produtos bacteriano (fMLP), quimiocinas (IL8) e complemento C5a. O microrganismo é ingerido por fagocitose. (3) Uma vez ingerido, o fagossomo contendo os micróbios se funde com grânulos com enzimas líticas e os micróbios são destruídos. A fagocitose também induz a produção de espécies reativas de oxigênio que ajudam a matar os micróbios patogênicos e também desencadear a apoptose de neutrófilos, garantindo a remoção do neutrófilos e seu conteúdo por macrófagos. Adaptada de Fulop et al., 1997..... | 34 |
| FIGURA 3 - Processo de fagocitose, adaptada de Rittig et al., 1999 .....  | 35 |
| FIGURA 4 - Estrutura da NADPH oxidase fagocítica. A gp 91 phox é o ligante da NADPH com função transportadora de elétrons na NADPH oxidase ativa. A produção de $\cdot\text{O}_2$ extracelular ocorre pela redução de um elétron do $\text{O}_2$ via gp91phox, usando <i>B</i> -nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH). Adaptada de Dusting et al., 2005.....  | 37 |
| FIGURA 5 - Relação entre susceptibilidade à infecções e parâmetros do exercício físico. Adaptada de Nieman et al, 1998. ....  | 50 |
| FIGURA 6 - Produção de citocinas em cascata durante (A) Sepsis e (B) durante o exercício físico no qual não possui a liberação de TNF- e IL1, Adaptada de Pedersen et al., 1998. ....   | 53 |

|  |    |
|--|----|
| FIGURA 7 - A IL6 é produzida pelo músculo durante o exercício físico. Induz a lipólise e causa aumento da oxidação de gordura, sem causar hipertriacilglicerolemia, tem potente efeito anti-inflamatório e inibe a produção de TNF- $\alpha$ . IL6 influencia homeostase da glicose durante o exercício. Adaptada de Pedersen et al., 1998.....  | 54 |
| FIGURA 8 - Cadeia carbônica dos ácidos graxos essenciais .....   | 60 |
| FIGURA 9 - Metabolismo dos ácidos graxos n-3 e n-6. (COX – ciclooxigenase; LOX – lipooxigenase; LT – leucotrieno; PG – prostaglandina; TX – tromboxano). Adaptada de Grundy, 1996. ....  | 62 |
| FIGURA 10 - Representação esquemática das posições empregadas nos testes de força isométrica máxima. ....  | 76 |
| FIGURA 11 - Esquema da separação de células sanguíneas em Ficoll-Paque. - Adaptada de Sandro Bonato, 2008. ....  | 83 |
| FIGURA 12 - Pico de torque máximo dos músculos Flexores do Joelho (A), Extensores do Joelho (B), Extensores do Tornozelo (C) e Flexores do Tornozelo (D) dos grupos submetidos a treinamento de força (ST, n=15) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média $\pm$ DP; * p<0,05 vs. PRE; # p<0,05 vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças (p<0,05) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. .... | 98 |
| FIGURA 13 - Taxa de Desenvolvimento de Torque (RTD) dos músculos Flexores do Joelho (A), Extensores do Joelho (B), Extensores do Tornozelo (C) e Flexores do Tornozelo (D) dos grupos submetidos a treinamento de força (ST, n=15) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média $\pm$ DP; * p<0,05 vs. PRE; # p<0,05 vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de   |    |

Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. .... 99

FIGURA 14 - Ativação Muscular (RMS) dos músculos **Vasto Lateral (A)**, **Bíceps Femoral (B)**, **Reto Femoral (C)**, **Tibial Anterior (D)**, **Sóleo (E)** e **Gastrocnemio (F)** dos grupos submetidos a treinamento de força (ST,  $n=15$ ) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90,  $n=15$ ) e 150 (ST150,  $n=15$ ) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. .... 100

FIGURA 15 - Atraso Eletromecânico (EMD) dos músculos **Vasto Lateral (A)**, **Reto Femoral (B)**, **Gastrocnemio (C)**, **Sóleo (D)**, **Bíceps Femoral (E)** e **Tibial Anterior (F)** dos grupos submetidos a treinamento de força (ST,  $n=15$ ) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90,  $n=15$ ) e 150 (ST150,  $n=15$ ) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs BASE. Uma ANCOVA para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo), tendo os dados do pré-treinamento como covariada e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. O teste t para medidas repetidas não revelou diferenças ( $p > 0,05$ ) entre a base e o pré-teste do grupo ST150.. .... 102

FIGURA 16 - Velocidade de Condução Nervosa (linha superior) e Amplitude (linha inferior) dos músculos **Tibial Posterior (coluna esquerda)** e **Fibular anterior** dos grupos submetidos a treinamento de força (ST,  $n=15$ ) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90,  $n=15$ ) e 150 (ST150,  $n=15$ ) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$

vs BASE. Uma ANOVA para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. O teste t para medidas repetidas não revelou diferenças ( $p > 0,05$ ) entre a BASE e o PRE do grupo ST150. .... 105

FIGURA 17 - Testes Funcionais dos testes; Levantar da cadeira em 30 segundos (A), Sentar e alcançar (B), Levantar e caminhar (C) e Caminhada de 6 minutos (D) dos grupos submetidos a treinamento de força (ST,  $n=15$ ) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90,  $n=15$ ) e 150 (ST150,  $n=15$ ) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicado para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas não revelou diferenças ( $p > 0,05$ ) entre a base e o pré-teste do grupo ST150. .... 106

FIGURA 18 - Fagocitose de zimosan pelos neutrófilos obtidos do plasma dos grupos submetidos a treinamento de força (ST,  $n=15$ ) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90,  $n=15$ ) e 150 (ST150,  $n=15$ ) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. .... 108

FIGURA 19 - Volume lisossomal dos neutrófilos sanguíneos dos grupos submetidos a treinamento de força (ST,  $n=15$ ), que treinaram força e que foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90,  $n=15$ ) e 150 (ST150,  $n=15$ ) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs BASE. Uma

|   |     |
|---|-----|
| ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. ....  | 109 |
| FIGURA 20 – Produto de ânion superóxido pelos neutrófilos de idosas submetidas a treinamento de força (ST, n=15), que treinaram força e que foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média $\pm$ DP; * $p < 0,05$ vs. PRE; # $p < 0,05$ vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. .... | 110 |
| FIGURA 21 - Peróxido de hidrogênio dos grupos submetidos a treinamento de força (ST, n=15), que treinaram força e que foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média $\pm$ DP; * $p < 0,05$ vs. PRE; # $p < 0,05$ vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. ....                       | 111 |
| FIGURA 22 - População de linfócitos CD4 (painel esquerdo) e CD8 (painel direito) do grupo submetido a treinamento de força (n=7) antes (BASE), após receber suplementação de óleo de peixe durante 150 dias (PRE ST150) e após receber suplementação de óleo de peixe associada a um programa de exercícios físicos resistidos (POS ST150). Os valores indicam média $\pm$ DP; # $p < 0,05$ vs BASE. Uma ANOVA para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre o efeito dos grupos (tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. ....  | 113 |

FIGURA 23 - Fator de crescimento tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ; painel superior esquerdo), interleucina 2 (IL2; painel superior direito), interleucina 6 (IL6; painel central esquerdo), interleucina 10 (IL10; painel central direito) e interferon gama (IFN- $\gamma$ - painel inferior esquerdo) do grupo submetido a treinamento de força (n=7) antes (BASE), após receber suplementação de óleo de peixe durante 150 dias (PRE ST150) e após receber suplementação de óleo de peixe associada a um programa de exercícios físicos resistidos (POS ST150). Os valores indicam média  $\pm$  DP. Uma ANOVA para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre o efeito dos grupos (tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram..... 115

FIGURA 24 - Parâmetros sanguíneos de Glicemia (painel superior esquerdo), trigliceróis (painel superior direito), colesterol total (painel central esquerdo), colesterol HDL (painel central direito), colesterol LDL (painel inferior esquerdo) e colesterol VLDL (painel inferior direito) dos grupos submetidos a treinamento de força (ST, n=15), que treinaram força e que foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \* p<0,05 vs. PRE; # p<0,05 vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças (p<0,05) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. .... 117

## LISTA DE ABREVIÇÕES

AA – Ácido Araquidônico  
AG - Ácidos graxos  
AGL – Ácidos Graxos Livres  
AGPI – Ácidos Graxos Poliinsaturados  
ALX: Receptor para lipoxina  
ANOVA – Análise de Variância  
APC – Célula apresentadora de antígenos  
CD – Grupamento de diferenciação, *cluster of differentiation*  
ConA – Concanavalina A  
COX - Ciclooxigenase  
DHA – Ácido Docosaheptaenóico  
DNA – Ácido Desoxirribonucléico  
EMG-Eletromiografia  
EPA – Ácido Eicosapentaenóico  
ROS – Espécies Reativas do Oxigênio  
GH: Hormônio do crescimento  
GLUT – Transportador de Glicose  
GM-CSF-Fator de granulócitos / monócitos colônia-estimulante  
HDL – Lipoproteína de Alta Densidade  
HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência  
IFN- $\gamma$  - Interferon – gama IFN- $\gamma$ ,  
IL – Interleucina  
LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade  
LOX – Lipooxigenase  
LPS- Lipopolissacarídeo  
LT: Leucotrieno  
LTB4: Leucotrieno da série 4  
LX: Lipoxina  
mTOR- alvo da rapamicina em mamíferos  
NAD: Dinucleotídeo adenina nicotinamida  
NADH – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Reduzida  
NADPH - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Reduzida  
NF $\kappa$ B – Fator Nuclear  $\kappa$  B  
NK – *Natural Killer*  
NOX – NADPH Oxidase  
PAF: Fator ativador de plaquetas  
PDGF: Fator de crescimento derivado de plaquetas  
PDGFR: Receptor de fator de crescimento derivado de plaquetas  
PEPCK – Fosfoenolpiruvato Carboxiquinase  
PG: Prostaglandinas  
PGE2 - Prostaglandina E2  
PI(3,4,5)P3 – Fosfatidil Inositol (3,4,5) trifosfato  
PI(4,5)P2 – Fosfatidil Inositol (4,5) bifosfato  
PI3K – Fosfatidil Inositol-3-quinase  
PKC – Proteína quinase C  
PLC – Fosfolipase C  
PPAR – Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomo



PUFA: Polyunsaturated fatty acid  
ROS: Espécies reativas do oxigênio  
SFK – Quinases da família Src  
TGF- $\beta$  – Fator de crescimento transformante  
TGF- $\beta$ : Fator transformante de crescimento – beta  
Th1 – Linfócitos T *helper* 1  
Th2 – Linfócitos T *helper* 2  
TLR2 – Receptor Toll-like 2  
TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral – alfa  
TX: Tromboxanas

## RESUMO

O envelhecimento é caracterizado pela redução da função de vários sistemas orgânicos. O sistema neuromuscular é fortemente influenciado pelo envelhecimento, e repercute sobre a capacidade de exercer força, de desempenhar as atividades da vida diária além de aumentar a fragilidade desta população. Alterações do sistema imunitário também são encontrados durante o processo de envelhecimento e influenciam diretamente na saúde dos idosos. O treinamento de força pode reduzir e/ou atenuar os efeitos deletérios da senescência. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 (AGPI n3) são lipídios essenciais e estão relacionados à redução da triacilglicerolemia e colesterolemia. Estes AGPI n3 podem modular uma série de processos biológicos que envolvem a comunicação celular, interações enzimáticas e atuações em cascatas bioquímicas envolvidas na produção de respostas específicas de vários processos fisiológicos, podendo desta forma melhorar a função dos sistemas neuromuscular e imunitário. Assim, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos do exercício físico associado à suplementação de óleo de peixe rico em ômega-3 sobre parâmetros neuromusculares, sobre a função das células imunitárias e parâmetros bioquímicos sanguíneos de mulheres idosas. Quarenta e cinco idosas ( $64,0 \pm 1,4$  anos) foram aleatoriamente alocadas em três grupos experimentais. Um grupo realizou apenas treinamento resistido (ST) durante 90 dias, enquanto os outros dois grupos realizaram o mesmo treinamento e receberam suplementação de FO ( $2\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$ ) por 90 (ST90) e 150 (ST150) dias. O ST150 foi suplementado 60 dias antes do treinamento. Um conjunto de testes neuromusculares (pico e taxa de desenvolvimento de torque isométrico máxima, a resposta eletromiográfica, o atraso eletromecânico, a velocidade de condução neural), funcionais (teste de 6 minutos, levantar da cadeira, levantar e caminhar, e sentar e alcançar), imunitários tais como a funcionalidade de neutrófilos sanguíneos (fagocitose de zimosan, retenção de vermelho neutro, produção de ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) e de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (EROS)), produção de linfócitos (CD4 e CD8) e de citocinas por linfócitos cultivados ( $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{IFN-}\gamma$ , IL2, IL6 e IL10) e parâmetros sanguíneos (glicemia, triacilglicerolemia e colesterolemia (colesterol total, HDL, LDL VLDL)) foram analisados antes da suplementação no grupo ST150 (BASE), antes (PRE) e após o treinamento (POS). O treinamento

consistiu em um conjunto de exercícios resistidos para o desenvolvimento da força muscular de membros inferiores. Nos parâmetros analisados não foram encontradas diferenças entre os grupos no PRE. O pico de torque e a taxa de desenvolvimento de torque aumentaram entre PRE e POS em todos os grupos musculares de todos os grupos experimentais. Um efeito mais pronunciado para os grupos suplementados (ST90 e ST150) foi encontrado quando comparado ao ST. A ativação muscular e o atraso eletromecânico foram modificados do PRE para o POS somente nos grupos ST90 e ST150. O desempenho no teste de levantar e sentar da cadeira nos grupos que receberam FO (ST90 e ST150) foi melhor do que do grupo ST. A suplementação de FO causou melhora dos parâmetros imunitários. Todavia, o ST não obteve mudanças sobre os parâmetros imunitários. A combinação de FO e exercícios não causou incrementos adicionais sobre os parâmetros imunitários em relação aqueles decorrentes da suplementação de FO. A combinação do exercício e FO causou redução sobre TNF- $\alpha$  no ST150 entre BASE e POS. A suplementação de FO (ST150, BASE-PRE) e sua combinação com o exercício (ST150, PRE-POS) causaram aumentos sobre as citocinas IFN- $\gamma$ , IL2, IL6 e IL10. Os parâmetros sanguíneos (triacilglicerol e VLDL) foram reduzidos quando o exercício físico (ST) e FO foram ministrados isoladamente (ST90 e ST150). Não foram encontrados reduções adicionais pela combinação de FO e exercício. Foram evidenciados efeitos positivos sobre a glicemia e colesterol HDL quando FO e exercícios físicos foram combinados (ST90 e ST150). O treinamento resistido foi capazes de melhorara os parâmetros neuromusculares, os quais foram potencializados quando a suplementação de FO foi combinada com o treinamento. A melhoria do sistema neuromuscular possibilitou um aumento no desempenho dos testes funcionais. Os parâmetros imunitários apresentaram melhorias em resposta à suplementação de FO, porém o programa de treinamento isoladamente não foi capaz de causar modificações no sistema imunológico das idosas.

Palavras-chave: envelhecimento, idosas, sistema neuromuscular, sistema imunológico, treinamento resistido, ácidos graxos poliinsaturados ômega-3, óleo de peixe, força, eletromiografia, neutrófilos, perfil lipídico.

## ABSTRACT

Ageing is characterized by a functional reduction in several organic systems. The neuromuscular system is strongly influenced by ageing. Changes in the immune system are also found in the elderly and impact on health and the ability to produce strength and perform daily life activities. Strength, functionality and the immune system are modified by physical activity and resistive training has been used to reduce and/or attenuate the deleterious effects of senescence. Fish oil (FO), rich in polyunsaturated fat acid n-3, can modulate the plasmatic membrane, cellular function, immune response and a number of blood parameters. Therefore, FO dietary supplementation may enhance the beneficial effects of a physical training on a number of physiological responses of the elderly. The effects of physical training combined with FO supplementation in elderly has not been investigated. Forty-five elderly women ( $64.0 \pm 1.4$  years-old) were randomly assigned in three experimental groups. The first group performed only resistive training (ST) during 90 days, while the other groups performed the same training program and received FO supplementation ( $2\text{g}\cdot\text{day}^{-1}$ ) during 90 (ST90) and 150 (ST150) days. The ST150 was supplemented 60 days before training. A number of neuromuscular (peak and rate of force development, electromechanical delay, neural conduction velocity and EMG), functional (6 min walk, stand from a chair, foot up and go and seat and reach) immune (phagocytosis, lysosomal volume, anion superoxide, peroxide of hydrogen, lymphocyte CD4 and CD8, cytokines TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL2, IL6 e IL10) and blood parameters (glycaemia, triglycerol, total cholesterol, HDL, LDL VLDL) tests were analysed before FO supplementation in the group ST150 (BASE), before (PRE) and after (POS) training. The training program consisted of a set of resistive exercises that aimed the development of maximal strength of the lower limb muscles. No differences were found in the analyzed parameters between groups in PRE. Peak and rate of torque development increased in all muscles in all experimental groups. A more pronounced effect in the groups supplemented with FO (ST90 and ST150) was found when compared to ST. Muscle activation and the electromechanical delay were modified from PRE to POS only in the ST90 and ST150. The chair rise test in the supplemented group (ST90 and ST150) was higher than the ST. FO supplementation caused improvement of immune parameters. However, the immune

parameters of the ST remained unchanged. The combination of FO and exercises did not cause additional increments on immune parameters with respect to those observed from FO supplementation. The combination of exercise and FO reduced TNF- $\alpha$  in the ST150 from BASE to POS. FO supplementation (ST150, BASE-PRE) and its combination with exercise (ST150, PRE-POS) increased IFN- $\gamma$ , IL2, IL6 e IL10. The blood parameters (triglycerol and VLDL) decreased when FO and exercises were applied separately (ST90 e ST150). No additional reductions were found by combining FO and exercise. Positive effects were evidenced on glycaemia and HDL cholesterol when FO and exercise were combined (ST90 e ST150). Physical exercises were able to increase the neuromuscular parameters, which were further increased when FO supplementation was combined with training of resistive exercises. The increases in the neuromuscular system allowed an improved performance in the functional tests. The immune parameters showed improvements in response to FO supplementation, however, the training program alone was not able to cause improvements on the immune system.

Keywords: aging, elderly, neuromuscular system, immune system, training of resistive, polyunsaturated fatty acids omega-3 fish oil, strength, electromyography, neutrophils, lipid profile.

## 1. INTRODUÇÃO

A longevidade tem sido uma das grandes conquistas do século 20. A crescente expectativa de vida deve-se à melhorias das condições de saneamento básico e aos avanços nas áreas de saúde que, além de combater as epidemias, têm melhorado o controle de doenças crônicas e degenerativas, e contribuído para o crescimento da população idosa (Carvalho e Garcia, 2003)..

As alterações inerentes à idade ocorrem de forma sistêmica, onde cada sistema orgânico apresenta importantes modificações funcionais. Dentre as várias alterações que acometem os idosos, as mudanças no sistema neuro-muscular possuem impacto pronunciado sobre a capacidade de produzir força, as quais se refletem e traduzem pela perda da mobilidade (Hughes et al., 2000), independência (Reid et al., 2008; Abellan Van Kan, 2009), aumento no risco de quedas (Persch et al., 2009) e redução da qualidade de vida (Wolinsky et al., 1992). A perda da força muscular decorrente do envelhecimento é preocupação de saúde pública mundial, pois, vem sendo apontada como uma das causas que leva à morte prematura nesta população (Janssen et al., 2004).

O declínio da força muscular (dinapenia) decorrente do envelhecimento pode ser atribuído a combinação de fatores neurais e musculares. As deficiências na ativação neural causadas pela redução do estímulo descendente excitatório do centro supra-espinhal, a redução da quantidade de unidade motoras alfa recrutadas e a falha na transmissão neuromuscular têm sido reportadas dentre os principais fatores neurais que levam a reduções na capacidade de produzir força (Roubenoff e Hughes, 2000;

Clark e Manini, 2010). Por outro lado, os fatores musculares (sarcopenia) referem-se, preponderantemente, à redução do volume do tecido muscular devido à atrofia das fibras musculares, mudanças na estrutura e função dos filamentos de actina e miosina e pela infiltração de adipócitos no tecido muscular (Hébuterne et al., 2001). Reduções no volume do retículo sarcoplasmático do músculo e no bombeamento e captação do cálcio (Volpi et al., 2004), a membrana plasmática do músculo torna-se menos excitável (Vandervoort, 2002). A diminuição da taxa de síntese protéica muscular decorrente de estímulos nutricionais (ex., aminoacidose - Cuthbertson et al., 2005) e físicos (ex. programas de exercícios físicos - Cuthbertson et al., 2006), tem sido relatados.

A redução na capacidade adaptativa do sistema neuromuscular também está associada à modificações que ocorrem no sistema imunitário. Uma das marcas do envelhecimento normal é o declínio da efetividade do sistema imunitário, que favorece o aumento da incidência de infecções, doenças crônica-degenerativas, distúrbios auto-imunes e neoplasias malignas (Gruver et al., 2007; Mackinodan e Hirokawa, 1985). De fato, estudos com idosos têm demonstrado elevada morbidade e mortalidade por doenças infecciosas (Aspinall, 2000; Schneider, 1983).

O envelhecimento causa alterações sobre os mecanismos reguladores das citocinas (Bruunsgaard et al., 2000; Krabbe et al., 2004). Idosos apresentam aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL6 e IL1b), as quais desencadeiam quadros inflamatórios crônicos de baixo grau que pode afetar o sistema neuromuscular (Jeschke et al., 2007).

O aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL6 e IL1b) podem atuar no músculo como importante mecanismo que conduz à atrofia muscular (Licastro et al., 2005) e, por consequência, influenciar a capacidade muscular de produzir força. Alguns estudos têm mostrado que as citocinas pró-inflamatórias desempenham papel regulatório do catabolismo (ativação do sistema ubiquitina-proteossoma) e que podem influenciar a função muscular (Roubenoff et al., 1988; Ferrucci et al., 2002; Visser et al., 2002; Pedersen et al., 2003).

O exercício físico resistido moderado tem sido apontado por um grande número de estudos como um efetivo meio para reduzir e/ou reverter as perdas da capacidade contrátil que acompanham o envelhecimento. Vários estudos têm reportado aumentos substanciais na capacidade de produzir força em resposta a programas de atividade física em idosos (Aniansson et al., 1986; Reeves et al., 2004; Ferri et al., 2003; Frontera et al., 1988; Scaglioni et al., 2003). Em geral, as melhorias na capacidade de produção de força do sistema neuromuscular são atribuídas à combinação de adaptações neurais (distribuição do comando motor para os músculos, modulação da excitabilidade muscular e tempo da descarga das unidades motoras – Enoka, 1997; Hakkinen et al., 2000) e musculares (hipertrofia e alterações intrínsecas do aparato contrátil (Trappe et al., 2001; Reeves et al., 2004).

Os exercícios físicos também têm importante papel modulador do sistema imunitário (Flynn et al., 1999) no qual, os estímulos físicos (ex., intensidade, duração, frequência e tipo de atividade física) podem alterar o funcionamento do sistema imunitário (Pedersen et al., 2000). Exercícios físicos moderado parecem ser benéficos



para aprimorar a resposta imunitária, pois melhoram a expressão de linfócitos, monócitos e neutrófilos, reduzem a produção de citocinas pro-inflamatórias, causam diminuição de infecções oportunistas e aceleram o processo de cura (Crist et al., 1989; Flynn et al., 1999).

Apesar dos benefícios induzidos pelos programas de atividade física, meios complementares que auxiliem no desenvolvimento e potencializem as melhorias na funcionalidade do sistema neuromuscular são atrativos. Estudos recentes (Smith et al., 2011; Smith et al., 2011a; Naliwaiko et al., 2004; Yehuda et al., 2005) têm apontado que a suplementação alimentar pode modular alterações no sistema neuro-muscular e imunitário. Dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados n-3 (AGPI n-3) têm sido apontadas como recurso atrativo e propício para induzir tais modificações. De fato, os lipídeos influenciam uma série de processos biológicos que envolvem a comunicação celular, interações enzimáticas e atuações em cascatas bioquímicas envolvidas na produção de respostas específicas de processos fisiológicos (Bradhurst et al., 2002; Farooqui et al., 2001).

Como o óleo de peixe rico, em ômega-3, tem efeito anti-inflamatório, provavelmente o processo de lesão, inflamação e recuperação do tecido muscular causados pelo exercício físico possam ocorrer de forma mais rápida e assim propiciado maiores ganhos de tecido muscular e consequentemente de força muscular Bucci (1993). De fato, Fett et al. (2001) observaram ganhos de força em indivíduos jovens que recebem a suplementação de óleo de peixe durante o período de treinamento de força.

O presente estudo tem como objetivo investigar o efeito de um programa de treinamento de força associado a suplementação com óleo de peixe, rico em AGPI n-3 sobre o sistema neuromuscular (força muscular e capacidade funcional) e imunitário em mulheres idosas.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Este estudo objetivou investigar o efeito do exercício físico resistido (treinamento de força) associado à suplementação com óleo de peixe sobre a função neuromuscular e imunitário em mulheres idosas.

### **2.2. Objetivos Específicos**

Para alcançar este objetivo, após o programa de exercício físico associado à suplementação de óleo de peixe vai-se;

- Determinar, a capacidade de produção de força (pico e taxa de desenvolvimento de torque).
- Determinar, parâmetros de recrutamento neuromuscular tais como: nível de ativação muscular (RMS), atraso eletromecânico (EMD) e velocidade de condução nervosa (VCN).
- Determinar, a funcionalidade através de testes funcionais de sentar e levantar de uma cadeira em 30 segundos, de caminhada de seis minutos, de agilidade e de flexibilidade.
- Investigar parâmetros do sistema imunitário inato; nos neutrófilos quantificar a capacidade fagocítica, a produção de peróxido de hidrogênio, a produção de ânion superóxido e volume lisossomal.
- Investigar parâmetros do sistema imunitário adquirido em linfócitos sanguíneos pela populações de linfócitos CD4 e CD8.

- Investigar marcadores inflamatórios produzidos por linfócitos em cultivo (IL2, IL6, IL10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ).
- Verificar parâmetros bioquímicos plasmáticos (glicose, triacilglicerol e colesterol).

## **2.3. Hipóteses**

Para testar os objetivos do estudo, um número de hipóteses gerais e específicas foram aventadas;

### **2.3.1 Hipóteses Gerais do Estudo**

**H<sub>1</sub>** Os parâmetros neuromusculares, imunitário e bioquímicos plasmáticos de idosos são incrementados em resposta a um programa de treinamento de exercícios físicos resistidos.

**H<sub>2</sub>** Os incrementos nos parâmetros neuromusculares, imunitário e bioquímicos plasmáticos de idosos em resposta a um programa de treinamento de exercícios físicos resistidos são potencializados quando associados a uma dieta com a suplementação de óleo de peixe.

**H<sub>3</sub>** Os parâmetros neuromusculares, imunitário e bioquímicos plasmáticos de idosos em resposta a um programa de treinamento de exercícios resistidos quando associados a uma dieta de suplementação com óleo de peixe são melhorados em decorrência de um período prévio de suplementação (60 dias).

### **2.3.1 Hipóteses específicas do estudo**

Para responder às hipóteses gerais do estudo, um conjunto de hipóteses específicas foram postuladas:

**H<sub>1.1</sub>** O pico e a taxa de desenvolvimento de torque de idosos aumentarão em resposta ao treinamento resistido.

**H<sub>1.2</sub>** O pico e a taxa de desenvolvimento de torque derivada do treinamento resistido em idosos suplementados serão maior do que idosos treinados não suplementados.

**H<sub>1.3</sub>** O pico e a taxa de desenvolvimento de torque derivada do treinamento resistido em idosos suplementados serão maior em idosos que tiveram um período de suplementação previa ao treinamento.

**H<sub>1.4</sub>** A ativação muscular (RMS), o atraso eletromecânico (EMD) e a velocidade de condução nervosa (VCN) melhoram em resposta ao treinamento resistido, ou seja, a ativação muscular aumentará e o atraso eletromecânico e a velocidade de condução nervosa diminuirá.

**H<sub>1.5</sub>** A ativação muscular (RMS), o atraso eletromecânico (EMD) e a velocidade de condução nervosa (VCN) derivados do treinamento resistido em idosos suplementados será melhor do que em idosos treinados não suplementados.

**H<sub>1.6</sub>** A ativação muscular (RMS), o atraso eletromecânico (EMD) e a velocidade de condução nervosa (VCN) derivados do treinamento resistido em idosos

suplementados serão melhores em idosos que tiveram um período de suplementação prévia ao treinamento.

**H<sub>1.7</sub>** A funcionalidade de idosos aumentará em resposta ao treinamento resistido.

**H<sub>1.8</sub>** A funcionalidade será positivamente influenciada pelo treinamento resistido em idosos suplementados, os quais apresentarão melhor desempenho do que idosos treinados não suplementados.

**H<sub>1.9</sub>** A funcionalidade de idosos suplementados com óleo de peixe e que foram submetidos a um período de treinamento resistido será menor do que em idosos que foram submetidos a esses mesmos procedimentos e receberam suplementação prévia (60 dias) de óleo de peixe.

**H<sub>2.1</sub>** A função imunitária de idosos será melhor em resposta ao treinamento resistido.

**H<sub>2.2</sub>** A função imunitária de idosos submetidos a um treinamento resistido associado a uma dieta com suplementação de óleo de peixe será melhor do que em idosos treinados não suplementados.

**H<sub>2.3</sub>** A função imunitária de idosos submetidos a um treinamento resistido associado a uma dieta de suplementação com óleo de peixe e que tiveram um período prévio de suplementação (60 dias) será melhor do que aqueles idosos treinados e suplementados.

**H<sub>3.1</sub>** Os parâmetros bioquímicos plasmáticos (glicose, triacilglicerol e colesterol) de idosos será melhor em resposta ao treinamento resistido.

**H<sub>3.2</sub>** Os parâmetros bioquímicos plasmáticos (glicose, triacilglicerol e colesterol) de idosos submetidos a um treinamento resistido associado a uma dieta de suplementação com óleo de peixe será melhor do que em idosos treinados não suplementados.

**H<sub>3.3</sub>** Os parâmetros bioquímicos plasmáticos (glicose, triacilglicerol e colesterol) de idosos submetidos a um treinamento resistido associado a uma dieta de suplementação com óleo de peixe e que tiveram um período prévio de suplementação (60 dias) será melhor do que aqueles idosos treinados e suplementados.

### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1. Envelhecimento**

Uma das grandes conquistas dos últimos anos tem sido a longevidade. A crescente expectativa de vida deve-se à melhorias das condições de saneamento básico, nutricionais, elevação dos níveis de higiene pessoal e aos avanços nas áreas de saúde que, além de combater as epidemias, têm melhorado o controle de doenças crônicas e degenerativas. O crescimento da população idosa é fenômeno mundial, e estima-se que, no ano de 2030, o número de idosos poderá chegar a setenta milhões nos países desenvolvidos (Davini e Nunes, 2003).

No Brasil, segundo o IBGE (2010), a expectativa de vida em 1940 era de 40,5 anos, em 2008 de 72,9 anos e para 2050 será de 81,3 anos. Estas modificações ocorrem de forma acelerada pois o aumento da população idosa será da ordem de 15 vezes entre o período de 1950 e 2025, o que contrasta com o crescimento populacional no país, que tem perspectivas de não mais do que cinco vezes para o mesmo período. As projeções indicam que em 2025, o Brasil será a sexta maior população de idosos do mundo em termos absolutos com um contingente superior a 30 milhões de pessoas (Carvalho e Garcia, 2003).

A cada ano, 650 mil novos idosos são incorporados à população brasileira, a maior parte com doenças crônicas e alguns com limitações funcionais (Evans e Campbell, 1993; Hill et al., 2007). Em menos de 40 anos, o Brasil passou de um cenário de mortalidade próprio de uma população jovem para um quadro de enfermidades



complexas e onerosas, caracterizado por doenças crônicas e múltiplas, com exigência de cuidados constantes, medicação contínua e exames periódicos (Veras et al., 2008). Desta forma, o aumento da expectativa de vida e o crescimento da população idosa, demanda maior atenção sobre vários problemas de saúde relacionados a senescência.

As alterações inerentes à idade ocorrem de forma sistêmica, onde cada sistema orgânico apresenta importantes modificações funcionais. Dentre as várias alterações que acometem os idosos, as mudanças no sistema neuro-muscular possuem impacto pronunciado sobre a capacidade de produzir força, as quais se refletem e traduzem pela perda da mobilidade (Hughes et al., 2000), independência (Reid et al., 2008; Abellan Van Kan, 2009), aumento no risco de quedas (Persch et al., 2009) e redução da qualidade de vida (Wolinsky et al., 1992). A perda da força muscular decorrente do envelhecimento tem se tornado preocupação de saúde pública mundial e tem sido apontada como uma das causas que leva à morte prematura nesta população (Janssen et al., 2004). Desta forma, é importante um maior entendimento dos mecanismos associados à perda de força decorrentes do envelhecimento.

### **3.2. Envelhecimento e declínio da força muscular.**

O declínio da força muscular decorrente do envelhecimento pode ser definido como a redução na quantidade máxima de força que pode ser produzido voluntariamente. Vários estudos relacionaram a perda da “força muscular” decorrentes do envelhecimento com mudanças na “massa muscular”. Todavia, existem evidências que apontam que outros fatores influenciam e regulam a força além da massa muscular.

As primeiras investigações que avaliaram a associação entre massa muscular e força consistiram em estudos transversais e estabeleceram relações entre esses fatores que explicavam aproximadamente 35% da variabilidade em indivíduos jovens (Maughan et al., 2000, Frontera et al., 1998). Alguns estudos têm reportado que o declínio da força é de 60% maior do que estimado a partir de comparações transversais e que as mudanças na massa muscular associadas à idade explicam menos do que 5% da variância das mudanças na força (Hughes et al., 2001). Estudos longitudinais têm confirmado que apesar de correlacionados, as mudanças na massa muscular não previnem reduções na força (Goodpaster et al., 2006). As mudanças observadas após um período de 6 anos não mostram relação entre a massa muscular e força, visto que vários indivíduos são capazes de manter a força muscular apesar de apresentarem perdas na massa. As perdas na massa muscular foram similares a outros sujeitos que tiveram declínio acentuado na força (>3% ao ano). Tais achados reforçam a noção de que massa e força muscular são dissociadas e que outros fatores atuam e medeiam as adaptações que determinam a expressão na perda da força. Logo, a capacidade de gerar força depende de fatores neurais e músculo-esqueléticos.

### **3.3. Fatores neurais relacionados ao declínio da força durante o envelhecimento.**

As primeiras mudanças decorrentes de programas de treinamento apontam que o aumento na expressão da força ocorre nas fases iniciais do treinamento e precede as mudanças morfológicas mais significativas (Young et al., 1985). Tais achados sugerem que as mudanças de curto-prazo sobre a força muscular estão associadas a uma complexa interação entre mudanças na ativação e nas propriedades de descarga das

unidades motoras, bem como adaptações dos comandos centrais para o aprendizado. Clark e Manini (2008), demonstraram através de resultados com desuso que a perda de força (15%) não explica integralmente a perda de massa muscular (9%) e indicam que fatores neurológicos explicam aproximadamente 50% das perdas.

Os mecanismos de melhora ou piora da força muscular podem ser derivados de duas grandes categorias: (a) neurais e (b) músculo-esqueléticos. O sistema neuromuscular possui vários locais que potencialmente podem afetar a capacidade de produzir força voluntária máxima como o comando excitatório dos centros supra-espinais, a excitabilidade dos motoneurônios, a atividade muscular dos antagonistas, o recrutamento de unidades motoras e a taxa de recrutamento, a transmissão neuromuscular, massa muscular, o processo de excitação-contração e a morfologia e a arquitetura muscular.

O sistema nervoso pode regular a força através de uma variedade de mecanismos que resultam em modulação dos conjuntos de unidades motoras (taxa de recrutamento e sincronização). As observações de que aumentos de força de 10% sobre a força do membro contralateral fornecem argumentos para afirmar que parte da força voluntária ocorre por adaptações neurofisiológicas (Morse et al., 2005). A identificação de um único mecanismo associado ao envelhecimento não é possível, mas pode envolver mudanças supra-espinais geradas pelo córtex, co-ativação de músculos antagonistas e a coordenação (sinergismo muscular).

A forma primária de controlar a força exercida é através do recrutamento de unidades motoras adicionais dentro de um conjunto de motoneurônios alfa e/ou pelo

aumento da taxa de descarga. Quando esses fatores são otimizados, a força muscular aumenta. Estudos que analisaram o déficit neural têm demonstrado que os idosos apresentam incapacidade de produzir força máxima voluntariamente quando comparados aos jovens (Stevens et al., 2003). Esse déficit tem sido apontado como ainda maior em idosos frágeis (Harridge et al., 1999). Apesar dos mecanismos específicos não serem identificados, esses estudos indicam comprometimento da função neural como fator relevante da perda de força muscular.

Existem evidências de que com o envelhecimento, o número de unidades motoras e suas propriedades funcionais são reduzidos. As unidades motoras passam por um ciclo natural de remodelamento em que ocorrem algumas conexões sinápticas na junção neuromuscular, caracterizadas por perda de inervação, brotamento axonal e reinervação das fibras musculoesqueléticas (Davini e Nunes, 2003). Estudos eletrofisiológicos têm demonstrado perdas de unidades motoras, na ordem de 50% para o bíceps e outros músculos (Doherty e Brown, 1993). Estes achados e em conjunto com alterações histológicas decorrentes da idade confirmam um processo neurodegenerativo crônico associado ao envelhecimento e apontam para perdas de células do corno anterior como importante fator contribuinte para a perda da força e da massa muscular. As modificações neurais que acompanham o envelhecimento influenciam a forma com que as fibras musculares são recrutadas. Por exemplo, as fibras do tipo II (rápidas) sofrem processo de denervação de forma a permitir que fibras do tipo I (lentas) assumam o controle (reinervação) sobre fibras musculares denervadas (Lexell, 1995). Delbono (2003) sugere que o processo de atrofia é

acentuado quando a denervação supera o de reinervação, visto que algumas fibras não são reinervadas pelas fibras do tipo I ou II, resultando em redução na força muscular.

As mudanças que ocorrem sobre o comportamento das unidades motoras em função da idade também podem auxiliar a compreender os mecanismos neurológicos envolvidos. Por exemplo, alguns estudos têm demonstrado que os "doublets" das unidades motoras (Kamen et al.,1998) e a frequência de disparos são menores em adultos velhos (25-60 pulsos/s em jovens e 18-45 pulsos/s em idosos) (Kamen et al., 1995). Tais mudanças incluem modificações no córtex motor e reflexos espinhais que levam a hipoexcitabilidade e redução na velocidade de condução nervosa (Lauretani et al., 2006).

Dentre os aspectos neurais, as deficiências na ativação neural causadas pela redução do estímulo descendente excitatório do centro supra-espinhal, a redução da quantidade de unidade motoras alfa recrutadas e a falha na transmissão neuromuscular têm sido reportadas como principais fatores neurais que levam a reduções na capacidade de produzir força (Roubenoff e Hughes, 2000; Clark e Manini, 2010). Alterações neuromusculares incluem diminuição na frequência de disparo neural para o músculo, no número do motor neurônios, e das habilidades regenerativas do sistema nervoso tecido. Também a redução da síntese de neurotransmissores e a desmielinização dos axônios podem implicar em reduções do controle motor.

#### **3.4. Fatores musculares relacionados ao declínio da força no envelhecimento.**

Sarcopenia é a perda involuntária da massa muscular esquelética, que ocorre com o avançar da idade (Rosenberg, 1989; 1997), que tem sido concebida como a

perda de massa muscular associada ao envelhecimento normal (Cruz-Jentoft et al., 2010). São vários os fatores que acarretam na perda da massa muscular (sarcopenia) e conseqüentemente perda da força muscular. A massa muscular diminui cerca de 3-8% por década após a idade de 30 anos e esta taxa de queda é ainda maior após os 60 anos. O total da área transversal do músculo diminui em cerca de 40% entre as idades de 20 e 80 anos (Rogers e Evans, 1993). Young et al. (1985) observaram reduções entre 25-35% da área de corte transversal dos músculos do quadríceps em homens e mulheres mais velhos quando comparados aos jovens. Estudo utilizando técnicas de tomografia computadorizada têm demonstrado resultados semelhantes para os músculos do quadríceps, bíceps braquial e tríceps (Newman et al., 2003). Tais achados também foram confirmados através de medidas diretas da área transversal de músculos obtidas de cadáveres que apresentaram reduções de 40% quando compararam indivíduos de 20 e 80 anos.

A etiologia da sarcopenia não é claramente compreendida, mas vários mecanismos tem sido propostos. Um número de respostas adaptativas no sistema muscular pode explicar a compreensão dos fatores musculares envolvidos, os quais extrapolam a simples perda de massa muscular, como por exemplo, as mudanças na arquitetura muscular e no metabolismo celular.

As mudanças na arquitetura muscular têm sido relacionadas a reduções no comprimento dos fascículos musculares, menores ângulos de penação e redução da rigidez do tendão e uma redução na densidade muscular têm sido observados (Lauretani et al., 2006; Narici et al., 2006). Além disso, as alterações específicas

relacionadas com a idade incluem à redução do volume do tecido muscular devido à apoptose das fibras musculares (atrofia) que induz a perdas de 35 a 50% das fibras musculares de contração rápida (tipo II) (Lexel, 1995) e mudanças na estrutura e função dos filamentos de actina e miosina. O tamanho da fibra tipo II é reduzida com o incremento da idade, enquanto que o tamanho da fibra tipo I (fibra de contração lenta) permanece muito menos afetada. A redução das propriedades contráteis dos músculos, nos idosos, é também afetada pelo aumento da gordura intramuscular e tecido conjuntivo (Doherty et al., 1993; Hébuterne et al., 2010).

A reduzida taxa de síntese proteína no músculo em resposta a dieta está relacionada a defeitos na cascata de sinalização anabolizante do músculo (diminuição da ativação da via de sinalização do mTOR-p70S6K - Guillet et al., 2006) que pode ser mediada por aumento da atividade inflamatória que acompanha o envelhecimento (Cuthbertson et al., 2006; Greiwe et al., 2001). O envelhecimento também está associado a alterações do número de células satélite, e conseqüentemente, na capacidade reduzida do crescimento muscular (Grosso et al., 2008). Ocorre também uma diminuição da taxa de síntese protéica muscular decorrente de estímulos nutricionais (ex., aminoácidos - Cuthbertson et al., 2005) e físicos (ex. programas de exercícios físicos - Cuthbertson et al., 2006). A redução na produção de hormônios anabolizantes prejudica a capacidade musculo-esquelética em incorporar aminoácidos e sintetizar proteínas, o que pode ajudar a explicar a redução na capacidade do idoso em aumentar o volume muscular.

Alterações nos tipos de fibra e nos mecanismos envolvidos no processo de excitação-contração (Van Cutsem et al., 1998), reduções no volume do retículo sarcoplasmático do músculo e no bombeamento e captação do cálcio (Volpi et al., 2004) e na função das mitocôndrias também têm sido reportados. De fato, com o envelhecimento ocorre redução no número de receptores de dihidropropiridina nos túbulos T e na membrana do retículo sarcoplasmático que resultam em redução na abertura dos canais que liberam  $Ca^{++}$  ou falha na transdução dos potenciais de ação para a ação da resposta mecânica (Delbono, 2003). Em resumo a membrana plasmática do músculo torna-se menos excitável (Vandervoort, 2002).

### **3.5 Relação entre inflamação e perda da massa muscular no envelhecimento.**

A inflamação tem sido apontada com fator chave associada à perda progressiva da massa magra durante o envelhecimento (Roubenoff et al., 1998). Estudo, realizado com 3.075 homens e mulheres com idade entre  $70 \pm 79$  anos demonstrou que área de secção transversa dos músculos da coxa e a força de extensão do joelho e de preensão manual apresentaram relação negativa com as concentrações de citocinas inflamatórias (IL6, TNF- $\alpha$  e IL1b) (Visser et al., 2002). Tais achados indicam que maiores níveis inflamatórios tendem a produzir reduções sobre a capacidade de produzir força em idosos.

Vários fatores predisõem os idosos ao surgimento de quadros inflamatórios crônicos os quais incluem: (a) aumento do estresse oxidativo decorrente do processo de envelhecimento, (b) incidência aumentada de infecções por bactérias assintomáticas e (c) mudanças endócrinas principalmete do eixo hipófise que podem



influenciar na regulação da secreção de cortisol (importante agente anti-inflamatório). Além desses fatores, existe ainda uma série de doenças degenerativas e autoimunes que acompanham o envelhecimento e que podem desencadear quadros de inflamação crônica de baixo grau (Grimble et al., 2002).

A inflamação crônica é caracterizada pelo aumento da expressão de citocinas, tais como TNF- $\alpha$ , IL1b e IL6 e do aumento dos níveis de estresse oxidativo (Spate e Schulze, 2004). As citocinas pró-inflamatórias agem através de seus receptores de membrana que ativam vias de sinalização intracelular (Figura 1). O TNF- $\alpha$  desencadeia a ativação do fator nuclear kappa B (NF-kB), que aumenta a expressão de citocinas pró-inflamatórias no meio intracelular (Jobin e Sartor, 2000) e produz a ativação transcricional de TNF- $\alpha$  e IL1b em mecanismo de retroalimentação positiva local ou dentro da célula muscular (Habib et al., 1996). Estudos que investigam doenças musculares crônicas observaram aumento da expressão do NF-kB, TNF- $\alpha$  e IL1b e a consequente redução do tecido muscular (Langen et al., 2001). Além disso, o NF-kB regula a expressão enzimática que induz a síntese do óxido nítrico, a qual tem sido encontrado em elevadas quantidades no tecido contrátil de pacientes com síndromes catabólicas (Hambrecht et al., 1999).

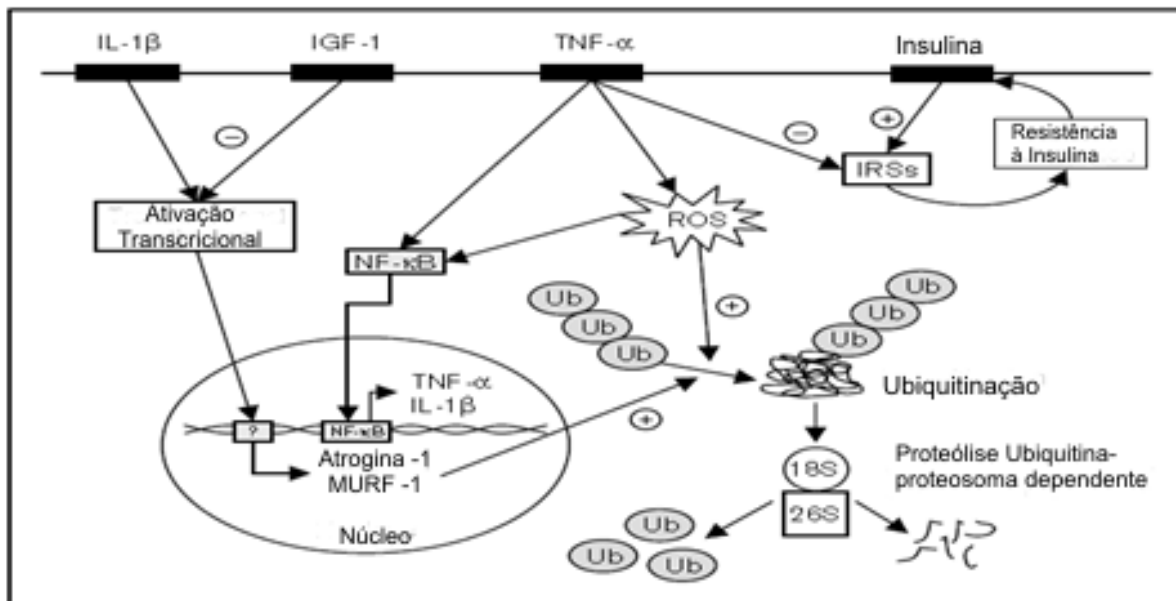


Figura 1. Representação esquemática dos efeitos de várias citocinas no músculo esquelético, adaptada de Spate e Schulze, 2004.

Estudos em vivo e em vitro têm demonstrado que as citocinas IL1b e TNF- $\alpha$  reduzem a expressão do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina tipo 1 (IGF-1) (Thissen e Verniers, 2000; Broussard et al., 2003). Sabe-se que o IGF-1 desempenha importante papel no crescimento e diferenciação celular e pode regular a sobrevivência da célula modulando estímulos anti-apoptóticos (Loughna et al., 2000; Bishop et al., 1998). Dessa forma, o processo de apoptose pode ser reforçado em resposta ao declínio local da expressão de IGF-1. Estudos revelaram que o IGF-1 inibe a expressão do IL1b-dependente da E3 ligases, atrogin-1 e Murf-1, que levam a ubiquitinação reduzida e desta forma a prevenção da degradação de proteínas musculares. O TNF- $\alpha$  também causa a inibição do receptor de insulina-substratos (IRSs), causando a

resistência e anabolismo negativo nas células do músculo esquelético. Logo, existe um papel regulador dessa citocina sobre os mecanismos de atrofia e hipertrofia muscular.

A ativação da proteólise muscular ou a degradação de proteínas musculares locais é regulada por vários sistemas celulares que incluem proteases lisossomais, a adenosina trifosfato-dependente do sistema da ubiquitina-proteossoma e do sistema cálcio-calpaína-dependente de íons. Em particular, o sistema ubiquitina-proteossoma tem sido implicado na degradação de proteínas e na atrofia do músculo esquelético em uma série de doenças crônicas tais como a diabetes mellitus, o câncer, a insuficiência renal, sepse e na insuficiência cardíaca crônica (Spate e Schulze, 2004).

As enzimas da ubiquitina conjugada (ligases E3) atrogin-1 (MFbx-1) e (Murf-1), são de particular interesse, visto que as mesmas utilizam as proteínas-alvo para a degradação pelo proteossoma. Alguns autores (Bodine et al., 2000; Dehoux et al., 2003) revelaram que a infusão da citocina pró-inflamatória IL1b induz a expressão de atrogin-1 e Murf-1. Este achado vem mais uma vez confirmar a hipótese das citocinas como um mediador da atrofia muscular. No entanto, os mecanismos exatos subjacentes à ativação transcricional de atrogin-1 pela IL1b precisam ser elucidados.

Por outro lado, citocinas anti-inflamatórias podem resultar em desaceleração da perda de tecido. Desta forma, nutrientes com propriedades anti-inflamatórias, tais como a vitamina E e ácidos graxos polinsaturados n-3 (AGPI n-3) podem reduzir os sintomas de inflamação que acompanham as doenças crônicas degenerativas.

O exercício físico consiste em um atrativo mecanismo para retardar o processo de perda da massa, uma vez que influencia a expressão local de IGF-1 no músculo

esquelético. A regulação da expressão de IGF-1 é regulada por dois mecanismos. O primeiro relaciona-se ao aumento da secreção de GH, que induz incrementos na produção de IGF-1 através dos receptores de GH (Loughna et al., 2000). O segundo mecanismo relaciona-se aos estímulos decorrentes dos exercícios físicos ou sobrecarga de trabalho e do alongamento passivo (Goldspink et al., 2000).

### **3.6 Efeitos do treinamento resistido sobre o sistema neuromuscular de idosos.**

O treinamento de resistência, ou treinamento resistido, tem sido amplamente empregado para aumentar a força e a potência muscular de idosos. Além de aumentar a massa muscular, o treinamento resistido induz a adaptações neurais que incrementam a capacidade de produzir força e assim melhorar a capacidade de executar tarefas diárias ou funcionais.

Alguns estudos têm indicado que a capacidade de hipertrofia a estímulos providos pelo treinamento resistido é preservada em idosos, mesmo acima da décima década de vida (Frontera et al., 1988; Hasten et al., 2000; Pyka et al., 1994). Fiatarone et al. (1990) observaram hipertrofia nos músculos extensores do joelho em idosos velhos (87 a 96 anos). Estudos que envolveram a análise do volume muscular em resposta ao treinamento resistido têm demonstrado ganhos similares entre jovens e idosos (Roth et al., 2001). Por outro lado, outros (Hasten et al., 2000) observam menor quantidade de miosina de cadeia pesada e taxa de síntese protéica em idosos (78-84 anos) do que em jovens (23-32 anos), porém sem diferença na resposta hipertrófica ao treinamento resistido. Dessa forma, o treinamento resistido tem sido recomendado como forma de reduzir e desacelerar as perdas de massa muscular da senilidade que

não podem ser completamente eliminadas. Klitgaard et al. (1990), demonstram a importância do treinamento resistido ao compararem grupo de idosos bem treinado (70 anos) com grupo de sedentários, pareado pela idade e, grupo de adultos jovens. O grupo de idosos bem treinados demonstrou manutenção na massa muscular em comparação ao grupo de idosos sedentários. Outros estudos tem apontado para boa capacidade de se manter os benefícios do treinamento mesmo com única sessão semanal de exercícios resistidos nos 6 meses que sucederam o término de programa de treinamento resistido (Trappe et al., 2002). O treinamento resistido tem apresentado respostas hipertróficas em fibras do tipo I e II de idosos (Frontera et al., 1998; Pyka et al., 1994).

Suetta et al. (2008), reportaram substanciais aumentos na força máxima de idosos (71 anos) após cirurgia, submetidos a 12 semanas de treinamento resistido. Os ganhos foram acompanhados de aumento da área de secção transversa e envolveram fibras do tipo I e II, além de mudanças no ângulo de penação. Naquele estudo, os ganhos sobre as fibras do tipo II (52 a 57%) foram marcadamente maiores do que os observados nas fibras do tipo I (17%). Interessantemente, protocolos de estimulação elétrica e padrão de reabilitação não produziram mudanças sobre a força ou nas características contráteis das fibras musculares.

### **3.7. Adaptações neurais ao treinamanto resistido**

O aumento da força em idosos após o treinamento resistido possui algumas características similares aos jovens em que se observam ganhos iniciais que não podem ser explicados por adaptações hipertróficas (Moritani e De Vries, 1980). Tais

adaptações têm sido atribuídas a adaptações neurais que ocorrem na coordenação intra e intermuscular (Grabiner e Enoka, 1995), as quais têm sido consideradas como importantes para a manutenção da funcionalidade em idosos, visto que os maiores ganhos na capacidade contrátil ocorrem nas fases iniciais do treinamento e não podem ser explicados por aumentos na massa muscular (hipertrofia) (Vandervoot, 2002; Moritani e DeVries, 1980). As adaptações neurais compreendem (a) reduções na atividade agonista-antagonista (Carolan e Cafarelli, 1992) (b) aumento na ativação do controle central dos músculos agonistas que resultam em acréscimo de unidades motoras (Akima et al., 1999; Adams et al., 1993) e aumento na frequência de disparo (Patten et al., 2001; Van Cussem et al., 1998).

O aumento na ativação do controle central também é denominado adaptação de aprendizado motor e é mediada por mecanismos supra-espinhais, os quais incluem mudança na organização do córtex motor (Kleim et al., 1998; Sanes e Donoghue, 2000). Essas mudanças ocorrem independentemente do treinamento envolver cargas progressivamente incrementadas, porém limitadas à amplitude em que os movimentos são efetuados (Remple et al., 2001; Van den Berg et al., 2003), o que revela adaptação específica sobre um conjunto de unidades motoras ativadas (Carolan e Cafarelli, 1992). Isso indica que as transferências dos ganhos de força são mais expressivas quando o treinamento inclui padrão de recrutamento muscular similar àqueles presentes durante a execução de diferentes tarefas motoras (transferência positiva). Por outro lado, movimentos que incluem características pouco similares não beneficiam nem impedem o desempenho de outras tarefas não relacionadas (Carroll et al., 2001).

As adaptações neurais observadas em adultos jovens em resposta ao treinamento resistido também são observadas em idosos, que apresentam redução na co-ativação agonista-antagonista (Hakkinen et al., 1998; Carolan e Cafarelli, 1992). Apesar dos resultados serem os mesmos entre jovens e idosos, existem argumentos que apontam para diferentes mecanismos que medeiam essas alterações. Nos idosos, as alterações podem ocorrer predominantemente por modificações supra-espinhais (Patten, 2000).

Os idosos parecem apresentar maior déficit do que os jovens sobre sua habilidade em ativar os músculos maximamente (Stevens et al., 2003; Yue et al., 1999) e parece não existir consenso se tais déficits podem ser amenizados pelo treinamento (Harridge et al., 1999; Knight e Kamen, 2001). Enquanto os jovens demonstram aumento na capacidade de aumentar as frequências de disparo neural e ativar mais tecido muscular após o treinamento resistido, idosos exibem reduzidas frequências de disparo durante contrações voluntárias máximas (Kamen et al., 1995). Assim, o aumento na força que ocorre após o treinamento pode ser consequência do recrutamento de unidades motoras adicionais ou do aumento das frequências de disparo (Moritani e De Vries, 1980; Connelly e Vandervoort, 2000). Por outro lado, existem evidências de que idosos não apresentam frequências de disparo neural elevadas após 6 semanas de treinamento, nem que apresentem maiores níveis de ativação muscular em resposta aos exercícios resistidos (Harridge et al., 1999).

Kamen et al. (1998), reportaram que a frequências de disparo dos músculos extensores do joelho aumenta nas primeiras sessões e continuam a apresentar incrementos após 6 semanas de treinamento resistido. Os ganhos nessas frequências

de disparo (47%) chegam a ultrapassar aqueles observados em jovens (11,4%). Tais achados permitem indicar que idosos apresentam boa capacidade em reter a capacidade em recrutar os músculos pela produção de elevadas frequências de disparo, não sendo, portanto, fator limitante para a melhoria da capacidade de produzir força. Patten et al. (2001), sugerem que os ganhos de força são predominantemente obtidos pelo aumento no número de unidades motoras do que especificamente pelo aumento na frequências de disparos. Além disso, esses autores sugerem que a melhoria no recrutamento nervoso permite ganhos de força sem que exista uma sobrecarga elevada sobre o controle central com excessiva frequências de disparos neurais. O estudo de Patten e Kamem (2000) apontam para aumentos nas taxas de disparo nervoso em estímulos sub-máximos e que tais aumentos não produziram aumentos na expressão da força muscular. Interessantemente, jovens ao serem submetidos aos mesmos estímulos não apresentaram mudanças na frequências de disparos neurais, mas apresentaram ganhos de força. Esses achados levaram Patten e Kamem (2001) a sugerir que as adaptações ao treinamento podem ocorrer em diferentes níveis neurais. Os idosos apresentam adaptações similares, mas são menos capazes em transferir tais mudanças em benefícios de desempenho mediados pela expressão da força. Assim, parece que o treinamento resistido causa melhorias sobre a capacidade de produção de força máxima, enquanto que o treinamento de controle de força apenas aumenta o controle e não a força (Patten, 2000). Portanto, sugere-se que em função das disparidades encontradas entre jovens e idosos que aumentos nos fatores supra-espinhais medeiam as adaptações para resistência e controle em idosos.



Clark et al. (2011), sugerem que a redução na freqüências de ativação neuromuscular não é pura consequência do envelhecimento biológico, mas que é mais alta em adultos velhos que mantêm estilo de vida ativo (Patten et al., 2001) e que pode ser aumentada com treinamento resistido (Lewis e Brown, 1994; Leong et al., 1999). Menor taxa de ativação neuromuscular pode ser indicador do aparecimento de déficit no sistema nervoso que contribui para a redução da mobilidade.

Adaptações na coordenação de grupos musculares também influenciam as respostas de idosos ao treinamento resistido e são particularmente importantes para a transferência dos benefícios do treinamento para tarefas que envolvam movimentos funcionais (Rutherford & Jones, 1986). Tem sido demonstrado decréscimo na co-ativação agonista-antagonista em idosos após o treinamento resistido (Hakkinen et al., 1998b). A co-ativação agonista-antagonista em idosos tem sido reportada estar reduzida em 3 e 7% em homens e mulheres idosos, respectivamente, após 6 meses de treinamento resistido. As adaptações ocorrem em jovens e idosos, porém os mecanismos em idosos essas mudanças estão mais associadas na prontidão das unidades motoras para o desenvolvimento de força. Todavia, diminuições na co-ativação agonista-antagonista nem sempre estão presentes no treinamento resistido (Connelly e Vandervoort, 2000).

A notável perda de potência muscular e a redução na capacidade funcional têm produzido argumentos de que o treinamento resistido em idosos deve estar direcionado ao desenvolvimento da taxa de desenvolvimento de força (Evans, 2000). Ainda que o treinamento resistido aumente a prevalência de fibras de contração lenta em músculos de adultos velhos, a potência e a velocidade de contração das fibras têm sido

reportadas como aumentadas após o treinamento resistido (Trappe et al., 2000). Esses ganhos têm sido atribuídos à aumentos na massa muscular e na rigidez dos tendões que aumentam a rapidez com que a força muscular é transmitida (Reeves et al., 2003). Por outro lado, existem argumentos de que os aumentos na taxa de desenvolvimento de força são maiores do que aqueles que podem ser explicados por mudanças de hipertrofia e nos tecidos conectivos (Hakkinen et al., 1998). As melhorias que ocorrem em função de estímulos elétricos não confirmam que o treinamento resistido cause redução nas características contráteis musculares (Connelly e Vandervoort, 2000). Os mecanismos que podem explicar os ganhos na taxa de desenvolvimento de força podem envolver uma excitação mais rápida das unidades motoras, um recrutamento antecipado de unidades motoras maiores, diminuição da co-ativação agonista-antagonista e melhor coordenação dos músculos sinérgicos envolvidos.

### **3.8 Sistema imunitário e envelhecimento.**

O sistema imunitário tem como função reconhecer o que é próprio do organismo e o que é estranho ao mesmo, proteger o corpo humano contra uma variedade de microorganismo patogênicos, como bactérias, vírus, protozoários, fungos, além de distinguir as células normais das células neoplásicas. Sabe-se que o sistema imunitário, reduz sua efetividade com o avançar da idade, propiciando um aumento de incidência de infecções, doenças auto-imunes e neoplasias malignas (Aspinall, 2000).

O sistema imunitário realiza a sua função através da ação coordenada de vários mecanismos de defesa, que variam desde barreiras mecânicas, tais como a pele, até células que possuem moléculas receptoras capazes de reconhecer antígenos, e

células capazes de gerar memória imunológica (Gennery e Cant, 2006). O sistema imunológico pode ser dividido em duas partes: a imunidade inata e imunidade adaptativa. A principal diferença entre esses componentes são os mecanismos utilizados para identificar o patógeno, ou seja enquanto a imunidade inata não se altera mediante exposição repetida a um dado agente infeccioso; a imunidade adaptativa se torna mais eficiente após cada encontro subsequente com o mesmo agressor pois tem a capacidade de gerar memória imunológica (Janeway et al., 2007).

Importante ressaltar que o aumento da incidência de infecções tanto por bactérias como por vírus nos idosos (Schneider, 1983) sugere, declínio tanto na função da imunidade inata como na adaptativa (Aspinall, 2000). No entanto, o mecanismo exato pelo qual as células do sistema imunitário torna-se senescente não é totalmente compreendido e muitos estudos sobre esse assunto (imunossenescência) são conflitantes (Shephard e Shek, 1995).

### **3.9 Imunidade Inata e envelhecimento.**

Imunidade inata é dita como sendo a primeira linha de defesa contra agentes infecciosos. Para desempenhar o papel de defesa no organismo, o sistema imunológico inato precisa de um sistema sensor que possa detectar quando um patógeno invade o organismo e assim, discriminar o próprio do não-próprio. Existem dois tipos de moléculas que reconhecem moléculas estranhas e ativam as células efetoras do sistema imunológico inato rapidamente. As colectinas (as quais possuem uma região de lecitina capaz de reconhecer os açúcares como a manose presente na superfície dos patógenos, e podem se ligar nos fagócitos ou no complemento MBL ou

C1q) e os receptores Toll-like localizados na superfície das células fagocíticas (se ligam as moléculas de lipopolissacarídeos encontradas nas bactérias e fungos). Assim, são capazes de sinalizar em resposta aos proteoglicanos bacterianos ou lipopolissacarídeos, promovendo ativação do fator de transcrição nuclear  $\kappa$ B e indução de diversos genes, como aqueles para citocinas, quimiocinas e moléculas co-estimuladoras, que são importantes para o início da resposta adaptativa (Janeway *et al.*, 2007).

Portanto, a capacidade de cada organismo em regular a ativação da imunidade inata e a resposta inflamatória local é crucial para iniciar a ação defensiva contra patógenos, limitar os danos aos tecidos e desencadear uma rápida recuperação e cicatrização do local lesado. O mecanismo de ativação das células imunitárias com a idade tende a entrar em desregulação. A função imunológica desregulada e o aumento da incidência de doenças nos idosos tem sido o impulso para diversas intervenções e pesquisas destinadas a prevenir, retardar, ou restaurar a função imunológica (Fahlman *et al.*, 2000; Gruver *et al.*, 2007).

Quando a imunidade inata é ativada, ela pode agir de duas maneiras para controlar o processo infeccioso: a) pela destruição direta do patógeno através das proteínas do sistema complemento o qual pode causar a morte ou a opsonização do patógeno; ou b) pela ativação de células fagocitárias (macrófagos e neutrófilos) que através de enzimas e produtos tóxicos liberados pelo processo de fagocitose, destróem os patógenos invasores. Importante ressaltar, que o reconhecimento dos patógenos pelos fagócitos causa a geração de diversos mediadores (como prostaglandinas e

citocinas) que resultam em resposta inflamatória, promovendo acúmulo de fagócitos no local da infecção, objetivando assim conter a propagação do agente infeccioso (Calder e Kew, 2002; Janeway et al., 2007).

Macrófagos residentes nos tecidos são células sentinelas e são as primeiras a encontrar os patógenos. Derivam de progenitores localizados na medula óssea, pertencentes à linhagem mielóide e representam a forma madura dos monócitos circulantes. São encontrados em grande número em vários tecidos, em associação com o trato gastrointestinal, pulmão, fígado e baço (Delves e Roitt, 2000; Janeway et al., 2007). As principais funções dos macrófagos consistem na apresentação de antígenos para os linfócitos, síntese de moléculas importantes para a resposta inflamatória, e fagocitose (Siqueira Jr. e Dantas, 2000). Embora os macrófagos sejam os primeiros a encontrar o patógeno, rapidamente recrutam outro tipo de fagócito, os neutrófilos.

Os neutrófilos representam a segunda maior família de fagócitos e são também denominados leucócitos neutrofilicos polimorfonucleares. São células de curta duração com meia-vida de apenas 8/12h no sangue periférico. Para compensar a perda constante de células devido a espontânea apoptose, a medula óssea adulta produz cerca de 10<sup>11</sup> neutrófilos por dia (Hellewell e Williams, 1994). Esta produção é regulada pela citocina IL3, e fatores estimulante de colônia de granulócitos/macrófagos (G-CSF) e (GM-CSF).

Pessoas idosas têm concentrações normais de neutrófilos sanguíneos (Chatta et al., 1994). Apesar da resposta proliferativa das células precursoras dos neutrófilos a G-CSF ser reduzida, a proliferação devido a GM-CSF e IL3 mantém-se inalterada (Chatta

et al., 1994). Desta forma, idosos são capazes de manter a neutrofilia durante uma infecção (Lord et al., 2001), indicando que as ações da GM-CSF e IL3 são suficientes para produzir número adequado de neutrófilos. De fato, alguns estudos relataram não haver diferença no número de neutrófilos (in vivo) entre idosos e jovens (Esparza et al., 1996).

Alguns estudos observaram a influência da idade sobre os neutrófilos no processo de quimiotaxia ou de migração para o local lesionado (diapedese), porém os resultados são contraditórios. Os neutrófilos deixam a medula óssea e migram para o local da infecção pelo endotélio dos vasos sanguíneos (vênulas) através de um processo de rolagem o qual ocorre devido a interação da E-selectina com os grupos carboidrato no CD15 dos neutrófilos (Figura 2). Quando chegam ao local da infecção as citocinas inflamatórias ou quimiocinas sinalizam na superfície do endotélio e causam lentidão na rolagem dos neutrófilos propiciando, assim, tempo para eles receberem o sinal de adesão (ligação das integrinas CR3/LFA-1 com ICAM-1 no endotélio e iniciem o processo de migração transendotelial realizando assim o extravasamento para o sitio da infecção). Alguns estudos observaram o processo de quimiotaxia, inalterada pela idade (Butcher et al., 2001) ou a expressão de CD11b/CD18 CD11a/CD18 e CD15 inalterada ou aumentada ligeiramente (Lord et al., 2001). Um estudo comparou em um modelo experimental a gengivite entre jovens e idosos e um número igual de neutrófilos

foram detectados no epitélio após a lesão (Franceschi et al., 2000). Outros estudos foram capazes de mostrar uma quimiotaxia reduzida com o aumento da idade (Niwa et al. 1989; Wenisch et al., 2000).

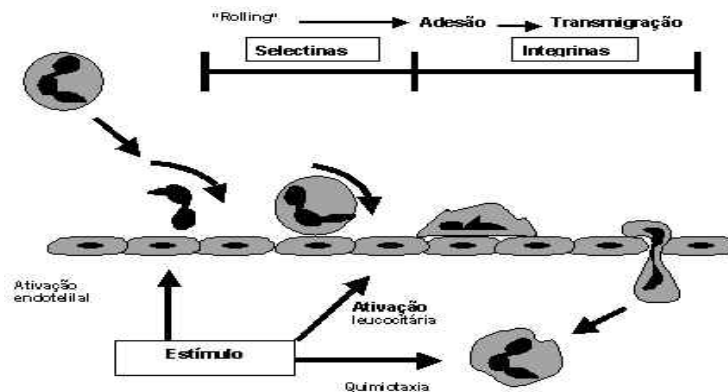


Figura 2. Neutrófilos responde à infecção da seguinte forma: (1) neutrófilos circulantes aderem livremente ao endotélio vascular, esta adesão frouxa induz ao rolamento dos neutrófilos ao longo do endotélio dos vasos sanguíneos e é seguido por adesão firme no local da infecção. Os neutrófilos, extravasam através do endotélio vascular em um processo efetuado pela ligação CD11a/CD18, CD11b/CD18 com a participação adicional de CD31, (2), os neutrófilos migram para os micróbios que infectaram ao longo de um gradiente quimiotático, composto por produtos bacteriano (fMLP), quimiocinas (IL8) e complemento C5a. O microrganismo é ingerido por fagocitose, (3). Uma vez ingerido, o fagossomo contendo os micróbios se funde com grânulos com enzimas líticas e os micróbios são destruídos. A fagocitose também induz a produção de espécies reativas de oxigênio que ajudam a matar os micróbios patogênicos e também desencadear a apoptose de neutrófilos, garantindo a remoção do neutrófilos e seu conteúdo por macrófagos, adaptada de Fulop et al., 1997.

Outro aspecto que é alterado com a idade e pode comprometer a função bactericida dos neutrófilos é a capacidade diminuída dos mediadores anti-apoptóticos dos neutrófilos em idosos (Fulop et al., 1997; Tortorella et al., 1998). Os neutrófilos por terem meia-vida curta (apenas 8/12h), desta forma, para mantê-los vivos durante uma infecção são liberados mediadores anti-apoptóticos. Alguns estudos mostram

capacidade diminuída dos mediadores anti-apoptóticos de neutrófilos em idosos. Sabe-se que GM-CSF, IL2 e a subunidade de lipopolissacarídeo (LPS) podem impedir a apoptose significativamente nos indivíduos jovens, mas apenas GM-CSF modula a apoptose dos neutrófilos nos idosos uma vez que existe uma redução na produção de IL2 (Fulop et al., 1997).

Os neutrófilos fagocitam agentes patogênicos que foram opsonizados quer por anticorpos ou pela cascata do complemento através dos receptores Fc-CD16 e CD32 ou CD35. A fagocitose é o processo de reconhecimento e englobamento de microorganismos ou resíduos de tecidos, 0,5 µm de diâmetro (Yamamoto e Sasada, 1999), que se acumulam durante uma infecção. Ou seja, após a ativação dos receptores fagocíticos e desencadeamento de vias de sinalização, processos como remodelação de polímeros de actina e da membrana para formação de pseudópodos resultam no fagossoma (Figura 3).

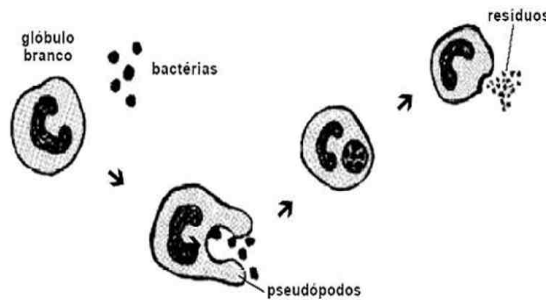


Figura 3 - Processo de fagocitose. Fonte portalsaofrancisco.com.br.



Os estudos que observaram a capacidade fagocíticas dos neutrófilos em idosos são conflitantes. Algumas pesquisas observaram que a quantidade de óleo de parafina opsonizada ou células de levedura englobadas pelos neutrofilos é igual entre jovens e idosos (Niwa et al., 1989; Fulop et al., 2004). Um outro estudo, realizado com células de levedura mostraram um aumento na fagocitose pelos idosos em comparação com jovens entre 20 e 29 anos, no entanto, nenhuma diferença foi encontrada entre os idosos e jovens de 30 e 60 anos (Corberand et al., 1981). Os resultados destes estudos indicam que não há prejuízo na capacidade fagocíticas (ou de englobar) dos neutrófilos de indivíduos com a idade. No entanto, existem evidências de que a idade reduz a função fagocítica (Butcher et al., 2001; Wenisch et al., 2000), porém as razões permanecem incertas.

Um estudo revelou redução do número de micróbios ingeridos ao invés de redução do número de neutrófilos englobando ou fagocitando, sugerindo desta forma problemas no processo de destruição dos patógenos (Butcher et al., 2001).

A destruição do patógeno não depende somente do seu englobamento, mas sim da formação de vesícula intracelular, denominada fagossoma e, posteriormente de sua maturação. A posterior fusão do fagossoma com outras vesículas intracelulares resulta no fagolisossoma que tem a função de destruir aquelas partículas englobadas através da atuação de enzimas líticas e da geração de espécies reativas de oxigênio - ROS (ou complexo NADPH oxidase) do fagócito (Scott et al., 2003; Stuart e Ezekowitz, 2005; Yeung et al., 2006). Dentre as espécies reativas de oxigênio pode-se citar o ânion

superóxido ( $O_2^-$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) os quais são agentes microbicidas (Casimir e Teahan, 1994).

Nas células fagocíticas as espécies reativas de oxigênio são formadas através de um complexo enzimático NADPH oxidase protéico multimérico com componentes na membrana celular e no citoplasma (Figura 4). O componente associado à membrana é o citocromo b558-oxidase, formado por uma subunidade maior, a gp91phox 7 (o termo "phox" deriva de "phagocytic oxidase"), e uma menor p22phox. Além dessas, a enzima compreende três subunidades citoplasmáticas (p47phox, p67phox e p40phox) e uma pequena proteína G regulatória (Rac2). A ativação da NADPH oxidase inicia-se pela fosforilação (em serina) da subunidade citoplasmática p47phox, desencadeando sua migração para a membrana onde, juntamente com a Rac, associa-se ao citocromo b558, iniciando a atividade catalítica da enzima pela transferência de elétrons do seu substrato, o NADPH, para o oxigênio utilizando os grupamentos carreadores de elétrons a flavina e o grupo heme.

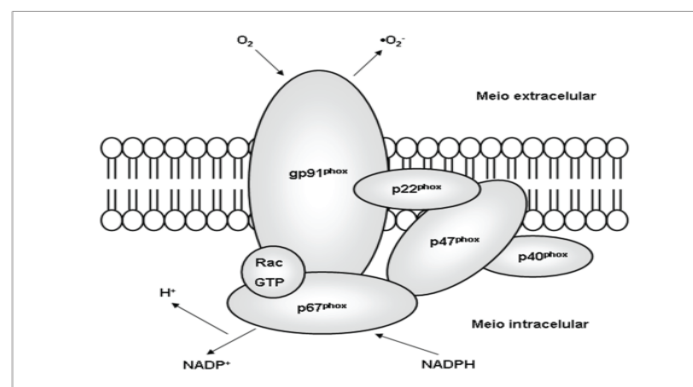


Figura 4 - Estrutura da NADPH oxidase fagocítica. A gp 91 phox é o ligante da NADPH com função transportadora de elétrons na NADPH oxidase ativa. A produção de  $^{\cdot}O_2$  extracelular ocorre pela redução de um elétron do  $O_2$  via gp91phox, usando *B*-nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH). Adaptada de Dusting et al., 2004.

Estudos sobre a geração de espécies reativas de oxigênio em neutrófilos de idosos após o estímulo de formylmethionyl-leucil-fenilalanina (fMLP) têm sido contraditórios. Alguns estudos relataram diminuição da atividade de explosão oxidativa após fMLP estimulação (Braga et al., 1998a, Tortorella et al., 2000), porém outros estudos mostraram produção ligeiramente aumentada ou normal de superóxido em idosos quando comparado com sujeitos adultos (Lord et al., 2001).

Alguns estudos revelaram que a capacidade de microbicida dos neutrófilos é significativamente reduzida com o avançar da idade (Corberand et al., 1981, Seres et al., 1993), onde a capacidade dos neutrófilos em matar *Candida albicans* é atenuada entre 10 a 50% nos idosos e *Escherichia coli* é 44% menor do que a de indivíduos jovens (Wenisch et al., 2000, Tortorella et al., 2001). Um dos fatores que contribui para essa redução na capacidade de matar os patógenos é a diminuição na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) pelo neutrófilos. Após a estimulação com fMLP, interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), fator de granulócitos / monócitos colônia-estimulante (GM-CSF), ou lipopolissacarídeo (LPS) (Fu et al., 1994; Tortorella et al., 1996), a produção de superóxido foi maior em neutrófilos de jovens do que em idosos. Um fator causador da produção reduzida de espécies reativas de oxigênio nos idosos é a diminuição de  $Ca_2$  intracelular dos neutrófilos, estudos que estimularam os neutrófilos de idosos observaram que há deficiência no fluxo de  $Ca_2$  durante a sinalização celular (Seres et al., 1993; Fulop et al., 1997). De fato, em vários sistemas de células algumas alterações relacionadas à idade em transdução do sinal têm sido relatadas (Fulop, 1994). A ativação dos neutrófilos por estimulação de fMLP é um evento mediada pelo

receptor envolvendo transdução de sinal via proteínas GTP-binding (Perianin et al., 1993). Foi indicado, que o envelhecimento é acompanhado por um aumento da viscosidade da membrana plasmática, levando a uma diminuição na fluidez (Nagy et al., 1983; Petkova et al., 1986).

### **3.10 Imunidade Adaptativa em idosos.**

A resposta protetora da imunidade adaptativa é gerada pelos linfócitos, os quais aumentam sua ativação em função da exposição ao patógeno. Eles apresentam receptores de superfície de uma única especificidade gerados através de recombinação gênica garantindo grande diversidade no reconhecimento do antígeno (Janeway et al., 2007; Gennery e Cant, 2006). Após o encontro com antígeno ocorre o processo de proliferação ou expansão dos linfócitos, aumentando o número de células capazes de responder a um antígeno em particular (Calder e Kew, 2002; Janeway et al., 2007). Os linfócitos podem ser classificados em linfócitos B, linfócitos T e células natural killer (NK).

As alterações na imunidade adaptativa decorrentes do envelhecimento formam alvo de investigação de várias pesquisas, onde o principal objetivo destas pesquisas eram identificar como o avanço da idade interferia no potencial funcional e fenótipos destas células. As pesquisas observaram que são várias as alterações decorrentes da idade sobre as células imunitárias podendo ser dadas em diferentes níveis que incluem alterações na produção das células troncos ou seja redução na geração de leucócitos e diminuição no processo de linfopoiese (Lighart et al., 1990), involução do timo, mudança nos antígenos presentes nas células, na transdução de sinal, modificações

nos receptores na superfície das células, dentre outros. Tais declínios envolvem principalmente os linfócitos B e T.

Os linfócitos B, responsáveis pela imunidade humoral, sofrem o processo de maturação na própria medula onde são produzidos, e saem deste compartimento prontos para desempenhar o seu papel de células apresentadoras de antígeno e secretoras de anticorpo. Os anticorpos agem neutralizando patógenos e toxinas, promovendo opsonização e ativando o complemento (Larosa e Orange, 2008). A formação de complexos entre antígeno/anticorpo e antígeno/complemento/anticorpo favorece o reconhecimento por fagócitos que, então iniciam o processo de fagocitose e também por células *natural killer* (Delves e Roitt, 2000).

Os estudos de imunossenescência observaram redução no número de linfócitos B virgens e aumento de células B de memória e de plasmócitos (anticorpos) nos idosos. Este balanço alterado em idosos entre as células B virgens e B de memória contribuirá para a imunidade mais pobre assim que a idade avança (Colonna-Romano et al., 2006). De fato, estudos longitudinais com pessoas muito idosos podem confirmar esta hipótese.

Linfócitos T são responsáveis pela imunidade mediada (Calder e Kew, 2002). Estas células amadurecem no timo e podem se tornar células T citotóxicas (expressam uma molécula de superfície celular CD8) ou células T auxiliares (expressam uma molécula de superfície chamada CD4). Linfócitos T citotóxicas reconhecem a infecção intracelular e tem por função destruir as células infectadas. As células T auxiliares (CD4) coordenam a resposta imunológica, e dividem-se, ainda em células T auxiliares

tipo 1 (Th1) que secretam interleucina 2 (IL2) e interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), enquanto as células T auxiliares tipo 2 (Th2) secretam interleucina 4, 5, 6, e 10. Desta forma pode-se dizer que as células Th1 auxiliam na imunidade celular por ativar macrófagos e células T citotóxicas, enquanto células Th2 auxiliam as células B a produzirem anticorpos (Delves e Roitt, 2000).

Quando uma célula T virgem encontra um antígeno (apresenta este antígeno para células especializadas, como por exemplo as células dendríticas) ele irá se proliferar e se diferenciar em célula efetora ou célula de memória, de modo que se este patógeno a encontrar em uma segunda vez, uma resposta mais rápida poderá ser alcançada.

Atualmente, está bem estabelecido que o envelhecimento esta associado ao declínio na proliferação de células T virgens. As células T virgens (naive), são aquelas que ainda não encontraram o antígeno de sua especificidade, requerem a co-estimulação via engajamento da molécula de superfície CD28. Com a idade ocorre declínio na expressão de CD28, e conseqüentemente no número de células T virgens. Diferentes autores sugerem que CD28 seja um biomarcador de envelhecimento pois, ao longo do processo de senescência, observa-se redução da expressão desta molécula na superfície das células T com baixa produção de linfócitos T virgens (Hodes, 1995; Effros et al., 2003). Ao nascimento, cerca de 99% das células T periféricas expressam a molécula CD28. Esta frequência reduz-se para 86% nos indivíduos com idade entre 20 e 40 anos, para 70% nos indivíduos com idade entre 70 e 90 anos e, em centenários, apenas 60% das células T são positivas para CD28

(Effros et al., 2003). Como contraste, as células T de memória, a sinalização pode ocorrer na ausência da co-estimulação do CD28.

O declínio do número de linfócitos com o aumento da idade se reflete tanto nas células CD4 como nas CD8, porém os efeitos mais pronunciado são vistos nas células CD8 (Rink et al., 1998). Outro efeito da idade sobre as células T, esta relacionada a quantidade produzida de células Th1 e Th2 durante uma infecção. Estudos apontaram que ocorre aumento na produção dos linfócitos Th2, e redução na produção de linfócitos Th1 durante uma infecção. Isto significa redução da produção de citocinas Th1, ou seja, na produção de interleucina-2 (IL2) e interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) (Sindermann et al., 1993; Cakman et al., 1996). Sabe-se que IL2 induz a expansão das células e ativa as células natural killer (NK células), e o IFN- $\gamma$  tem efeito estimulante sobre a imunidade mediada por fagócitos, além de induzir a opsonização pelo complemento e por anticorpos (Perussia et al., 1987). Redução de IFN- $\gamma$ , portanto, resulta em diminuição da imunidade de macrófagos e neutrófilos, reduzindo a quantidade de patógenos opsonizados (Sindermann et al., 1993).

Alterações também foram observadas na capacidade proliferativa dos linfócitos T, onde os idosos demonstraram capacidade reduzida quando estas células foram estimuladas com mitogênicos (Miller et al., 1997). Estas alterações podem ser devidas a vários fatores ou defeitos nos eventos da cascata de sinalização de células T de idosos. Esses defeitos podem ser fosforilação da tirosina; mobilização do cálcio; ativação dos caminhos (mitogen activated protein kinase - MAPK e c-Jun N-terminal kinase JNK); translocação no núcleo (nuclear factor of activated T-cells - NF-ATC);

produção de IL2 e proliferação de células T. De fato, alguns estudos observaram uma capacidade funcional alterada dos linfócitos T, onde se evidenciou uma baixa resposta ao estímulo com mitógenos, por exemplo, a fitohemaglutinina (PHA) (Cakman et al., 1996). Essa diminuição na resposta se deve à deficiência e/ou diminuição na produção de IL2 por alterações ou defeitos na transdução de sinais mitogênicos vindos do receptor do linfócito T (TCR). Essa alteração na sinalização pode ser a mais importante causa do declínio da resposta imune celular mediada em idosos.

### **3.11 Produção de citocinas durante o envelhecimento**

O processo imuno-inflamatório é um processo de defesa à resposta a patógenos e adaptativa a diferentes tipos de estresses (com ex: lesão de tecidos moles ou ósseos) para garantir a sobrevivência do hospedeiro, onde grande parte deste processo é modulado por citocinas (Perlmutter et al., 1986). Citocinas são um grupo diversificado de proteínas não humorais que agem como mensageiros ou sinalizadores entre células. A palavra citocina é derivada do grego "kytokin" que significa "colocar as células em movimento". Elas foram primeiramente identificadas como produtos das células imunitárias que agem como reguladores dos processos imunitários. Porém sabe-se agora que muitas citocinas são produzidas por células que não são do sistema imunitário e que têm efeito no sistema não-imunitário também, ou seja, elas podem ser sintetizadas pelo endotélio vascular, os adipócitos, os neurônios, entre outras. Como por exemplo, 30% de interleucina IL6 no plasma é derivado do tecido adiposo (Mohamed-Ali et al., 1997). Descobriu-se que tecido adiposo é importante órgão endócrino e que produz e secreta citocinas tais como TNF- $\alpha$ , IL6, IL18 (Kershaw e



Flier, 2004). Além disso, foi demonstrado que os músculos esqueléticos quando se movimentam produzem e também liberam citocinas na circulação (Steensberg et al. 2000, Pilegaard et al., 2000; Pedersen et al., 2000).

As citocinas agem, geralmente, de maneira autócrina ou parácrina e podem ser secretadas já em sua forma ativa ou seja diretamente, por meio de eventos que se seguem ao engajamento de seus receptores específicos na superfície celular, ou indiretamente, pela indução da expressão de numerosos genes. Elas controlam diferentes funções celulares que incluem proliferação, diferenciação, morte celular (apoptose ou necrose), sobrevivência e migração (Pilegaard et al., 2000).

As citocinas exercem sua função através da ligação com receptores específicos na superfície celular e apresentam como principais características o pleiotrofismo (cada citocina tem múltiplas funções biológicas) e a redundância (mais de uma citocina exercendo a mesma função) (Genctoy et al., 2005). Os receptores de citocinas podem ser ligados à membrana celular ou solúveis (receptores de membrana liberados na circulação) e são responsáveis não só por mediar as atividades biológicas das próprias citocinas, como também por controlar a dessensibilização para outros ligantes, reduzindo a sua disponibilidade. Desta forma, estas substâncias promovem o controle de diferentes aspectos da resposta imunitária e inflamatória (McDermott, 2001), tais como apresentação antigênica, o recrutamento e a ativação celular das moléculas de adesão e as respostas de fase aguda inflamatória.

As citocinas podem ser classificadas como pró-inflamatórias, tais como fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucinas IL1, IL6, IL12, e IL18 ou como antiinflamatórias, fator de transformação e crescimento beta (TGF- $\beta$ ), IL10, e IL5.

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) é produzido por macrófagos quando são ativados em resposta a patógenos, especialmente ao lipopolissacarídeo (LPS) de bactéria Gram negativa. É mediador importante durante o processo de inflamação aguda que estimula o recrutamento de neutrófilos e macrófagos para os locais da infecção através das células endoteliais que produzem moléculas de adesão e pela produção de quimiocinas que são citocinas quimiotáticas. O TNF- $\alpha$  também age no hipotálamo para produzir febre e promove a produção de proteínas de fase aguda (McDermott, 2001).

Muitas das atividades pró-inflamatórias de IL1 se devem à indução do metabolismo do ácido araquidônico, o qual desencadeia a síntese de prostaglandina E<sub>2</sub> e de leucotrieno B<sub>4</sub>, que atuam como “segundos mensageiros” da inflamação. A IL1 induz a síntese de outras interleucinas, como o TNF, IL6, GM-CSF, e da própria IL1. A sua ação é responsável por estes sintomas comuns na maioria das doenças. No cérebro há liberação de prostaglandina E<sub>2</sub>, que estimula o centro da temperatura corporal. Assim como TNF, a IL1 é diretamente citotóxica para células neoplásicas e células infectadas por vírus. Os antagonistas dos receptores de IL1 são secretados naturalmente durante o processo inflamatório. A IL1 gama pode modular negativamente os efeitos potencialmente deletérios da IL1 durante a resposta inflamatória (Watkins et al., 1995).

A citocina IL6 possui uma grande variedade de funções biológicas. É um potente indutor da resposta de fase aguda que desempenha um papel essencial na diferenciação final de células B em células secretoras de Ig envolvidos na diferenciação de linfócitos e monócitos. É secretada pelos macrófagos ativados com a função de aumentar a produção de neutrófilos pela medula óssea. Também atua como uma miocina e é observada em altas concentrações na corrente sanguínea após a contração muscular. Sua atuação visa aumentar a quebra de gorduras e melhorar a resistência à insulina (Watkins et al., 1995)

Os interferons tipo I (IFN- $\alpha$  e IFN- $\beta$ ) são produzidos por muitos tipos de células e funcionam inibindo a replicação viral. Os interferons tipo I também aumentam a expressão de moléculas de MHC classe I, tornando as células mais susceptíveis à morte pelas CTLs. Os interferons tipo I também ativam células NK. Interferon gama (IFN- $\gamma$ ) é uma citocina importante produzida primariamente pelas células Th1, embora ela possa também ser produzida pelas células Tc e NK em uma extensão menor (Dinarello, 2000).

Interleucina 10 (IL10) é produzida pelos macrófagos ativados e células Th2. É predominantemente uma citocina inibidora que reduz a produção do IFN- $\gamma$  pelas células Th1, que muda as respostas imunes para um tipo Th2. A IL10 também inibe a produção de citocina por macrófagos ativados e a expressão de moléculas de MHC classe II e moléculas co-estimulatórias em macrófagos, resultando no bloqueio das respostas imunes (Abramson e Vaccarino, 2002).

A interleucina 2 (IL2) é o principal fator de crescimento para as células T. A IL2 atua como a ativadora de linfócito B, linfócito T citotóxico e macrófagos e pode funcionar como neurotransmissora. Sabe-se que esta interleucina é secretada pelos linfócitos T ativados e é responsável por induzir a expansão clonal destas células. Estudos sugeriram que, nos indivíduos idosos, existe uma redução na capacidade proliferativa das células T (Tortorella et al., 1998). Acredita-se que a redução na secreção de IL2 e na expressão das moléculas CD25 (cadeia alfa do receptor de IL2) e CD28 (a qual, após ligação com a molécula B7, induz transcrição de IL2 e IL2R – receptor de IL2) devam contribuir de maneira crucial para esta diminuição da capacidade proliferativa da célula T observada no indivíduo idoso (Tortorella et al., 2001).

No entanto, nem todas as atividades imunológicas estão diminuídas durante o envelhecimento. Ao contrario da IL2, nos idosos, vários estudos observaram que a produção das citocinas pró-inflamatórias IL1, IL6 e TNF- $\alpha$  está aumentada, refletindo uma alteração no padrão de regulação destas citocinas, que podem estar associadas com os mecanismos desencadeadores de muitas das doenças típicas da idade como a aterosclerose, a demência e doenças auto-imunes (Bruunsgaard et al., 2000).

Estas afirmações foram vistas tanto em estudos "in vitro" com em "in vivo". Os estudos "in vitro" que observaram a produção de citocinas pró-inflamatórias tais como IL1, IL6 e TNF- $\alpha$  em células monucleares do sangue, estimuladas por mitógeno, concluíram que nos idosos ocorreu uma maior produção destas citocinas do que nos sujeitos jovens. Os estudos em "in vivo" observaram uma elevação anormal das

citocinas pró-inflamatórias nos idosos quando comparados aos jovens (Tortorella et al., 2001).

Desta forma, este aumento anormal das concentrações de citocinas podem levar a um quadro de inflamação crônica de baixo grau e conseqüentemente desencadear uma série de danos ao organismo senescente. Como por exemplo, atrasos na recuperação de tecidos danificados, ou exemplos mais específicos tais como níveis elevados de TNF- $\alpha$  podem estimular no tecido muscular a quebra de proteínas pelo sistema ubiquitina-proteassoma e a conseqüente perda da massa muscular, também concentrações elevadas de TNF- $\alpha$  e IL1 aumentam a resistência à insulina e a IGF-1 na célula. Por outro lado, estudos epidemiológicos observaram que o aumento do número de pessoas idosas vêm acompanhado por uma epidemia de doenças crônicas e conseqüentemente quadros de inflamação crônica.

No idoso existe a perda do equilíbrio entre as citocinas do padrão Th1 e Th2 e essa perda pode ser responsável, pelo menos em parte, pelo aumento da susceptibilidade desses indivíduos à infecções causados por vírus e por bactérias extracelulares. Esses defeitos na regulação da resposta imune podem levar a um aumento das doenças auto-imunes.

De forma resumida, os idosos tendem a apresentar concentrações aumentadas de citocinas pró-inflamatórias no sangue e isto pode ser acompanhada de aumento do estresse oxidativo, incidência aumentada de infecções por bactérias assintomáticas, mudanças endócrinas principalmente do eixo hipófise-pituitária-adrenal e imunossupressão. Além desses fatores, existem ainda uma série de doenças

degenerativas e autoimunes que acompanham o envelhecimento e predisõem os idosos ao surgimento de quadros inflamatórios crônicos (Grimble et al., 2002).

### **3.12 O efeito do exercício físico sobre o sistema imune em idosos.**

A função imunológica desregulada e o aumento da incidência de doenças nos idosos tem sido o impulso para diversas pesquisas destinadas a prevenir, retardar, ou restaurar a função imunológica (Hirakowa e Utsuyama, 1989; Fagiolo et al., 1990; Yu, 1994; Yu, 1995). Estudos realizados com fármacos, hormônios e técnicas genéticas têm apresentado problemas pois além de serem caras, a maioria das técnicas são acompanhadas de efeitos secundários adversos. Dietas ricas em AGPI omega-3 e suplementos vitamínicos e ou anti-oxidante, tem apresentado bons resultados pois alguns estudos revelaram aumento na longevidade e redução na incidência de câncer e estes resultados, são atribuídos em parte, a melhora na regulação da função imunológica (Meydani et al., 1995; Weindruch, 1999).

Exercício físico moderado tem sido mostrado ter resultados benéficos, tanto na prevenção e reabilitação de muitas doenças nos idosos (Mazzeo et al., 1998). Existem evidências de que idosos ativos apresentam menos infecções e menor incidência de câncer do que seus pares sedentários (Leveille et al., 2002).

A atividade física pode ser classificada como leve, moderada e intensa. É importante ressaltar que o exercício físico pode ter efeitos tanto positivos como negativos sobre o sistema imunológico. Os exercícios leves a moderados e regulares apresentam reduções na incidência de infecções de seus praticantes, enquanto exercícios intensos prolongados provocam supressão temporária em muitos

parâmetros do sistema imunitário. Desta forma, conclui-se que o efeito do exercício físico sobre o sistema imunitário depende da intensidade e duração de sua prática. Alguns estudos descreveram a relação entre exercício e susceptibilidade à infecção como uma curva em J (Figura 5) (Nieman et al., 1993; Nieman et al., 2003). Nieman e Pedersen (1999) sugeriram que indivíduos que se exercitavam moderadamente exibiam baixa incidência de doenças do trato respiratório superior quando comparado com população sedentária. Em contraste, atletas em treinamento intenso apresentavam aumento na incidência de infecção.



Figura 5 – Relação entre susceptibilidade à infecções e parâmetros do exercício físico. Adaptada de Nieman e Pedersen, 1999.

Exercício intenso para portadores de doença pode diminuir a capacidade do organismo em reagir contra infecções e aumentar ainda mais o risco de complicações

(Pedersen, 2000). Um dos principalmente mecanismos no qual o exercício intenso pode comprometer a função imune, são as altas e prolongadas concentrações de hormônios do estresse (catecolaminas, cortisol e hormônio do crescimento) que são liberados durante a prática de exercícios, os quais causam redução nas capacidades funcionais e no número de leucócitos circulante (Gleeson et al., 2007; Moynihan et al., 1998). A redução dos níveis de glutamina, e o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio durante o exercício também tem sido sugeridos como possíveis causas da supressão imunológica durante o exercício físico intenso (Gleeson, 2000; Nieman, 1994).

Dentre os efeitos associados ao exercício prolongado e intenso com efeitos adversos no sistema imunitário vários estudos incluem: diminuição da atividade citotóxica das células NK (Mackinnon, 1999); baixa circulação dos números de linfócitos T após 3 ou 4 horas de exercício (Nieman, 2001); diminuição da habilidade de proliferação dos linfócitos; diminuição da atividade dos neutrófilos; diminuição dos níveis imunoglobulinas na saliva e sangue; enfraquecimento da síntese de anticorpos e; diminuição da razão de células CD4±/CD8± (Keast , 1988).

Exercícios moderados e até mesmo exercícios extenuantes podem ter efeitos positivos, pois podem aumentar a produção de linfócitos Th-2 e suprimir assim a produção de linfócitos Th-1 e a capacidade do sistema imunitário em induzir a danos teciduais e a inflamação (Gleeson, 2004). Estes aspectos podem desempenhar um papel benéfico, especialmente em indivíduos que tenham doenças crônicas. Ou seja, o exercício intenso pode causar a curto prazo uma temporária susceptibilidade a



infecções (open window), porém a longo prazo pode reduzir a incidência de desenvolver doenças crônicas e degenerativas tais como aterosclerose, diabetes, doença de Alzheimer, doença auto-imunes, pois tem um efeito anti-inflamatório.

Neste contexto, vários estudos têm discutido os efeitos benéficos do exercício físico moderado, o qual não causa uma liberação tão intensa de hormônios do estresse, o efeito temporário imunossupressor não é tão significativo porém a longo prazo trás uma série de efeitos benéficos, tais como proteção contra doenças cardiovasculares (Zatsick e Mayket, 2007), diabetes (Rigla et al., 2000), o câncer (Matsudo e Matsudo, 1992), o declínio cognitivo relacionados com a idade (Miller et al., 2007). Em contraste, os exercícios extenuantes, moderados e regulares estimulam a função imunitária durante e por um período após o exercício, garantindo benefícios protetores ao organismo (Steib et al., 2010).

Durante o exercício físico o músculo esquelético produz citocinas, para manter a homeostase e regular a função do organismo durante o esforço físico. As contrações musculares realizadas durante o exercício físico induzem uma liberação de citocinas sistêmica independentemente de TNF- $\alpha$  e IL1 (Figura 6). Um estudo realizado por Febbraio et al. (2003), observou jovens, realizando 180 minutos de exercícios de extensor de joelho e observou que o TNF- $\alpha$  aumentou apenas ligeiramente (aproximadamente quatro vezes) durante os primeiros 30 minutos de exercício e, após esse tempo, não foram encontrados aumentos adicionais, enquanto que o IL6 aumentou 100 vezes no mesmo período.

Durante o exercício físico existe alta liberação da citocina IL6 e posteriormente ocorre a liberação de IL10 e IL1 Ra (Ostrowski et al., 1998). IL1Ra é antagonista IL1, enquanto que IL10 é uma forte citocina anti-inflamatórias, pois inibe a produção de TNF- $\alpha$  por monócitos e células T do tipo 1 (Senchina e Kohut, 2007)

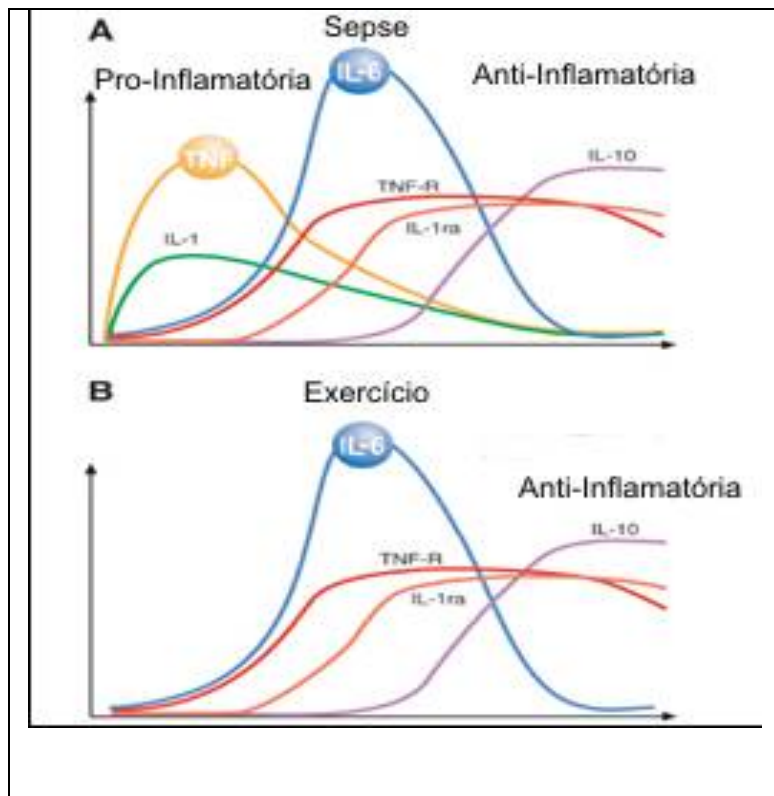


Figura 6 Produção de citocinas em cascata durante (A) Sepsis e (B) durante o exercício físico no qual não possui a liberação de TNF- $\alpha$  e IL1, Adaptada de Pedersen et al., 1998.

Embora a citocina IL6, seja classificada como pró-inflamatórias, a produção de IL6 durante o exercício físico, também tem efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores, pois IL6 pode estimular o eixo pituitária-adrenal, inibir a síntese de TNF- $\alpha$ , estimular a produção de IL10 e IL1Ra, e induzir a produção de TNFRs por neutrófilos (Bruunsgaard, 2000).

Greiwe et al. (2001), relataram que idosos saudáveis apresentam concentração elevada de TNF- $\alpha$  em comparação com jovens, porém esta superexpressão reduziu após a realização de um programa de treinamento resistido de 12 semanas.

A IL6 funciona como sensor de energia no músculo, onde a maior quantidade de IL6 é liberada quando o conteúdo de glicogênio local começa a cair durante o exercício, desta forma consegue mobilizar substratos extracelulares para aumentar a entrega de substrato muscular durante o exercício. IL6 induz a lipólise e aumento da oxidação de gordura, sem causar hipertriacilglicerolemia durante o exercício (Figura 7). Além disso, tem sido sugerido que a IL6 influencia a homeostase da glicose durante o exercício (Pedersen et al., 1998).

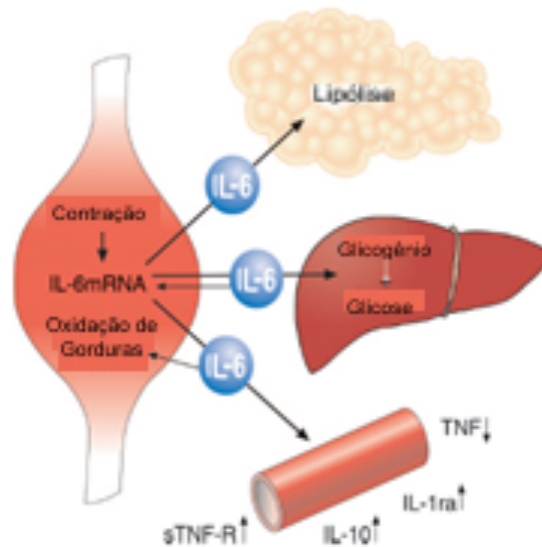


Figura 7 - A IL6 é produzida pelo músculo durante o exercício físico. Induz a lipólise e causa aumento da oxidação de gordura, sem causar hipertriacilglicerolemia. A IL6 tem potente efeito anti-inflamatório e inibe a produção de TNF- $\alpha$ . Adaptada de Pedersen et al., 1998.

A proteína quinase monofosfato de adenosina-ativada (AMPK) é ativada por mudanças no estado de energia da célula, bem como pela exposição a hormônios como a adiponectina, leptina e catecolaminas. Uma vez ativada, AMPK estimula uma variedade de processos, para aumentar a geração de ATP, incluindo oxidação de ácidos graxos, transporte de glicose no músculo cardíaco e esquelético. AMPK é ativada no músculo esquelético durante as contrações, contribui para muitas das mudanças no metabolismo muscular para gerar combustível durante a atividade física (Pedersen et al. 1998). IL6 pode ativar a AMPK no músculo e tecido adiposo, e aumentar a atividade AMPK nestes tecidos em resposta ao exercício.

Vários estudos têm observado os efeitos do exercício físico sobre o sistema imune, onde estas alterações podem ser vistas de forma aguda (durante e logo após o término do exercício físico) ou crônicas (após o término de um programa de treinamento físico). Os resultados tem sido divergentes e variados, pois os efeitos do exercício físico dependem do tipo, da intensidade e duração. Além disso, os estudos têm aplicado metodologias diferentes para observar os efeitos do exercício físico sobre o sistema imunitário (Northoff et al., 1994; Nieman, 2001; Nieman et al., 2003).

Os estudos que observaram os efeitos agudos do exercício físico mostraram um aumento na concentração de neutrófilos durante a prática do exercício isto ocorre devido a alta taxa de concentração de catecolaminas e do hormônio de crescimento. Após o término do exercício, os neutrófilos continuam a aumentar, devido ao incremento da concentração de cortisol (Nieman e Pedersen, 1999).

A concentração de linfócitos, também aumenta durante o exercício, devido o aumento da concentração de catecolaminas, porém após o término do exercício, ocorre uma linfopenia mesmo abaixo dos valores de repouso devido o aumento da concentração de cortisol (Pedersen et al., 1998).

Sabe-se que as citocinas agem na superfície das células alvo, principalmente para alterar a função celular. A quantificação da produção de citocinas pelas células imunes tem sido utilizada como parâmetro para medir a funcionalidade desta células quando respondem á um mitógeno (LPS ou ConA) (Myrianthefs et al., 2003).

Um grande número de estudos foram conduzidos com o objetivo de investigar o efeito de diferentes padrões de exercício onde foi observado os efeitos em relação a intensidade e duração do exercício. Haahr et al. (1991), examinaram o efeito de 60 minutos de bicicleta com 75% do VO<sub>2</sub>max sobre a produção de IL1, IL6, IL2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  de células mononucleares do sangue (BMNC) as quais foram estimuladas “*in vitro*” com LPS ou PHA. A produção de IL6 aumentou significativamente 2 horas após o termino do exercício, enquanto a produção de IL $\alpha$  e IL1 $\beta$  aumentou ligeiramente. TNF- $\alpha$ , IL2, IFN- $\gamma$  não se alteraram em resposta ao exercício.

Drela et al. (2004), examinaram o impacto de correr 5 km sobre a produção de citocinas no sangue. Eles mostraram que a produção de TNF- $\alpha$ , IL1 $\beta$  e o número de leucócitos estavam aumentadas durante o exercício. As células do sangue foram coletadas antes e logo após o termino do exercício e estímuladas com LPS, observaram uma diminuição na concentração de TNF- $\alpha$  imediatamente após o término do exercício.

O estudo de Northoff et al. (1994), mostrou que a estimulação de LPS e Con-A em células do sangue causaram uma redução na produção de citocinas (IFN- $\gamma$ , IL1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) após o exercício intenso (1hora de triathlon), mas os valores de IL6 mantiveram-se estáveis entre as medidas pré e pós-exercício.

Existem poucos estudos que comprovem as alterações do sistema imune como consequência do exercício físico na população idosa. Os estudos que existem são controversos e utilizam diferentes tipos de programas de exercícios e diferentes metodologias para analisar as células do sistema imunitário.

Um estudo realizado por Drela et al. (2004), observou um grupo de 30 mulheres que realizou um programa de exercício físico moderado (10 minutos de caminhada, 30 minutos exercícios localizados e 5 minutos de alongamento com a FC entre 100 a 120 bpm) durante 2 anos. Os resultados mostraram que a distribuição das principais sub-populações de linfócitos do sangue das mulheres idosas não apresentaram mudanças após o longo período de treinamento físico moderado. Porém as mulheres exercitadas expressaram uma maior produção de IL2 dos linfócitos do que as idosas sedentárias. Desta forma, os resultados sugerem, que a atividade física moderada, de longo prazo, em mulheres idosas pode aumentar a produção de IL2, um importante regulador da resposta imunitária. Normalmente, as concentrações de IL2, estimada por ELISA, diminui com o envelhecimento (Xu et al., 1993). Sabe-se que IL2 é uma citocina multifuncional e está envolvida na manutenção da homeostase de linfócitos e que a deficiência de IL2 pode levar e facilitar a formação de auto-anticorpos (Schimpl et al., 2002). Sabe-se que a produção de IL2 por linfócitos pode melhorar a atividade das

células NK e a geração de linfócitos citotóxicos. Dados demonstraram que “*in vitro*” os linfócitos de idosos estimulados com IL2 reverteu o prejuízo na produção de citocinas tipo-1, restaurando a resposta proliferativa de células T (Lio et al., 2000).

Assim, o aumento na produção de IL2 por linfócitos pode normalizar a função imunológica dependente desta citocina. A secreção de IL2 é necessária para a proliferação de células T CD4+ virgens (Haynes et al., 1994). Desta forma, o aumento na liberação de IL2 como efeito do exercício moderado pode contribuir na restauração do número de células T virgens que normalmente diminuem com o envelhecimento. De fato, os resultados de investigações realizadas em outros laboratórios mostraram que os linfócitos do sangue periférico isolado de idosos ativos demonstraram uma maior resposta proliferativa a mitógenos policlonais e taxas mais elevadas de IL2, IFN- $\gamma$ , IL4 do que nos idosos sedentários (Shinkai et al., 1992). Drela et al. (2004), demonstram que o treinamento de exercício moderado tem um potencial de melhorar a função imunitária em mulheres idosas por modularem a expressão de citocinas, que normalmente estão deprimidas com a idade.

O estudo de Flynn et al. (1999), observou o efeito de 10 semanas de exercícios resistidos em idosas. Os resultados mostraram que o treinamento resistido provocou um substancial aumento na força muscular, mas não afetou de forma aguda negativamente a função imunológica, quer antes ou depois de um período de 10 semanas de treinamento. Além disso, o treinamento resistido não influenciou de forma positiva o sistema imunológico destas idosas, quando comparados com controles inativos. Este resultado vai de encontro com os resultados de Rall et al. (1996), que

também revelaram que o treinamento com exercícios resistidos não afetam a função imunológica em idosos.

Um outro estudo revelou que 6 meses de exercícios aeróbicos não alteraram o número total de célula dos leucócitos, neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos ou hemogramas. Além disso, o percentual do número de CD3, CD4 e CD8 T no sangue permaneceu inalterado (Woods et al., 1999).

O efeito de 12 semanas de caminhada (5 dias / semana, 60% frequência cardíaca de reserva) foi testada, e nenhum efeito sobre a atividade NK e de células T em idosos previamente sedentárias foi encontrado (Nieman et al., 1993).

### **3.13 Ácidos Graxos**

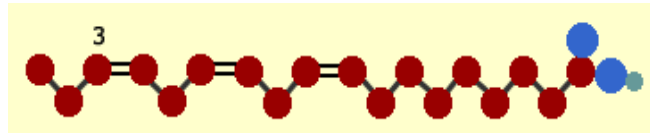
Lipídios, especialmente os ácidos graxos são importantes constituintes das células, desempenhando importantes funções na estrutura das membranas celulares e determinando uma série de processos biológicos, tais como: comunicação celular, interações enzimáticas e atuação em cascatas bioquímicas. Dessa forma, os ácidos graxos influenciam nas respostas de vários processos fisiológicos (Broughton et al., 1997; Bradhurst et al., 2002; Farooqui e Horrocks, 2006) e também desempenham papel fundamental no desenvolvimento, crescimento e maturação do organismo (Horrocks e Yeo, 1999).

Na dieta, os lipídios são encontrados na forma de triacilgliceróis, que se caracterizam pela associação de três ácidos graxos a uma molécula de glicerol e constituem a principal forma de armazenamento de gorduras nos organismos (Curi,

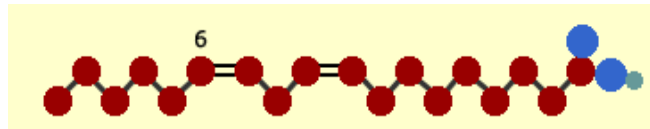


2002). Ácidos graxos podem ser classificados como de cadeia curta (com dois a quatro átomos de carbono), de cadeia média (com seis a dez átomos de carbono) e de cadeia longa (acima de doze átomos de carbono) (Curi, 2002). Quando os átomos de carbono estão ligados aos átomos de hidrogênio (exceto os dois últimos na cadeia), denominam-se saturados. Por outro lado, quando dois átomos de carbono adjacentes na cadeia estão ligados a apenas uma molécula de hidrogênio, uma dupla ligação ocorre entre os pares de carbono este tipo de ácido graxo é chamado de insaturado. Assim, ácidos graxos com apenas uma dupla ligação na cadeia carbônica são denominados monoinsaturadas (AGMIs) e aqueles com duas duplas ligações ou mais são denominados poliinsaturados (AGPIs) (Calder, 1998b).

As diferentes posições de duplas ligações ao longo da cadeia determinam à família a qual este ácido graxo pertence, bem como suas diferentes propriedades químicas, nutricionais e funcionais (Farooqui, 2009). Existem duas principais famílias de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI): a família n-6 e n-3. Os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa da família ômega-6 são derivados do ácido linoléico (18:2 n-6), e têm a primeira dupla ligação entre o sexto e o sétimo átomo de carbono na configuração cis, a partir do terminal metila, portanto, a denominação n-6. Da mesma forma, os ácidos graxos da família ômega-3 são derivados do ácido graxo alfa-linolênico (18:3 n-3), e têm sua primeira dupla ligação entre o terceiro e quarto átomo de carbono a partir do terminal metila, portanto, a denominação n-3 (Youdim et al., 2000). A figura 8 ilustra as estruturas dos ácidos graxos essenciais.



Ácido graxo alfa-linolênico (18:3) ômega-3



Ácido graxo linoléico (18:2) ômega-6

Figura 8. Cadeia carbônica dos ácidos graxos essenciais.

As duas famílias de ácidos graxos linoléico (AL) e alfa-linolênico (ALA) são denominados essenciais, pois só podem ser adquiridos através da dieta. Devido à ausência das enzimas D-15 e D-12 dessaturases, o organismos dos mamíferos são incapazes de sintetizar ou converter AGs saturados em precursores das séries n-6 e n-3 (Innis, 2003). Desta forma, a principal fonte de ácidos graxos ômega-6 são óleos vegetais (como óleo de soja), enquanto peixe de águas frias e profundas, como a sardinha, cavala, salmão, truta e atum (Delves, 2000) e outros óleos vegetais (ex., óleo de linhaça) representam importante fonte de ácidos graxos n-3 (Benatti et al., 2004).

Uma vez ingeridos, os ácidos graxos essenciais (AGE) são metabolizados por ação de um conjunto de enzimas, chamadas de dessaturases e alongases, as quais atuam gerando novas insaturações e adicionando novos carbonos às cadeias carbônicas originais (Wesley, 1998). Assim, são produzidos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (AGPI-CL) da mesma família (Figura 9). É importante ressaltar que os n-3 e n-6 não podem ser interconvertidos e competem pelo mesmo sistema enzimático (Farooqui, 2009).

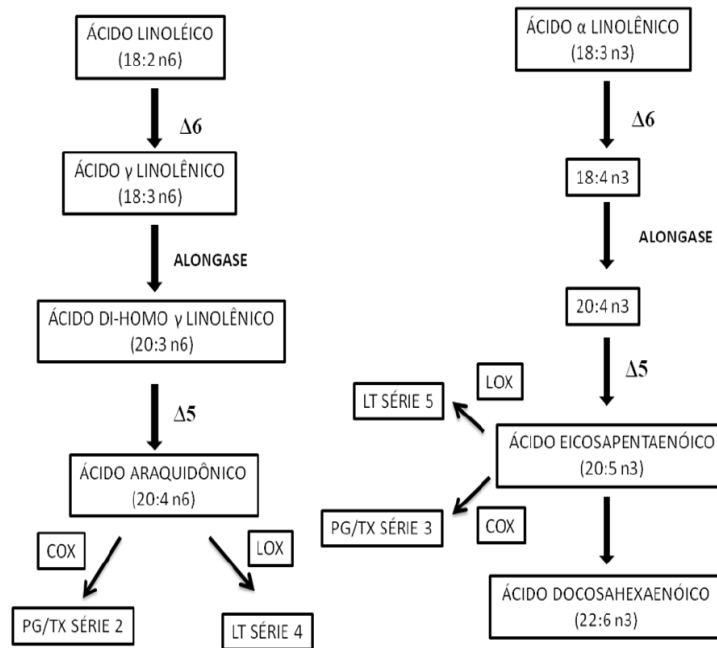


Figura 9 – Metabolismo dos ácidos graxos n-3 e n-6. (COX – ciclooxigenase; LOX – lipooxigenase; LT – leucotrieno; PG – prostaglandina; TX – tromboxano). Adaptada de Calder, 1996.

Devido à natureza competitiva da dessaturação e do alongamento dos ácidos graxos, cada classe de ácidos graxos pode interferir no metabolismo do outro. Esta competição apresenta implicações funcionais. Logo, o excesso de n-6 reduzirá o metabolismo de n-3, levando a um déficit de seus metabólitos. Inversamente, o excesso de n-3 pode levar ao prejuízo do metabolismo de n-6 (Shils, 2003).

As funções biológicas do ácido-linolênico n-3 ocorrem pela conversão em eicosapentaenóico (EPA 20:5) e docosahexaenóico (DHA 22:6), enquanto o ácido linoléico n-6 pela conversão em ácido araquidônico (AA) ambos com importantes e diferentes efeitos fisiológicos (Calder, 1996) (Figura 9).

Estes eicosanóides (ácidos graxos de vinte carbonos oxigenados) são sintetizados à partir dos ácidos graxos poliinsaturados componentes dos fosfolípidos das membranas celulares e se dividem em três grupos, os prostanóides (prostaglandinas e tromboxanas) gerados através da via da enzima ciclooxigenase (COX), os leucotrienos formados pela via da lipooxigenase (LOX) e os epóxidos gerados pela via do citocromo P450 (Smith, 1989). Eles exercem complexo controle sobre diversos sistemas do organismo humano, especialmente sobre a inflamação, imunidade, na formação das plaquetas, regulação da pressão arterial, secreção de ácidos gástricos, função reprodutiva, como mensageiros do sistema nervoso central. As redes de controles biológicos que dependem dos eicosanóides estão entre as mais complexas do corpo humano (Nelson e Cox, 2000).

Os eicosanóides originados a partir do ácido araquidônico (AA) são: prostanóides da série 2 (mediadoras do processo inflamatório e de reações anafiláticas) e leucotrienos da série 4 (potente indutor de inflamação e quimiotaxia) tromboxanas da série 2 (um potente vasoconstritor e agregador plaquetário), ou seja, apresentam características pró-inflamatórias. Eicosanóides originados a partir do ácido eicosapentaenóico (EPA) são: prostanóides da série 3, tromboxanas série 3 (fraco agregador de plaquetas e vasoconstritor) e leucotrienos da série 5 (fraco indutor de inflamação e quimiotaxia com propriedades menos potentes), ou seja, apresentam um efeito reduzido nas características pró-inflamatórias (Figura 9)

Conseqüentemente, a dieta tem importante papel em determinar a potência dos eicosanóides (Calder, 2002). Prostaglandinas estão envolvidas na intensidade e duração da resposta inflamatória e imunitária.

Alto consumo de ácidos graxos n-6 resulta em desordens imunológicas, doenças inflamatórias e cardiovasculares, sendo recomendável o maior consumo de ácidos graxos da família n-3 (Mancinelli et al., 2005). Atualmente pode-se observar um número grande de pesquisas que relacionam o tipo de dieta com o desenvolvimento de doença cardiovascular, dislipidemias, obesidade, diabetes, doenças inflamatórias e câncer (Benatti et al., 2004). A dieta das sociedades modernas baseia-se em maior consumo de ácidos graxos saturados e um desequilíbrio na razão AGPI ômega6/ômega 3, com consumo maior de ácidos graxos AGPI n-6 e declínio de AGPI n-3. Outros fatores como sedentarismo e hereditariedade também desempenham importante papel neste processo e não podem ser descartados. Vários estudos sugerem que a excessiva quantidade de ácidos graxos n-6 e a redução de n-3 na dieta, leva a uma razão desproporcional de n-6/n-3 e pode ser um dos fatores desencadeante de várias doenças. Por exemplo, nas dietas ocidentais esta razão pode chegar até 30:1, por outro lado, em países em que a alimentação está associada com maior consumo de óleo de peixe (n-3), esta razão atinge 4:1 e tem sido associada há redução de 70% das mortes associadas aterosclerose (Simopoulos, 2002). Assim, tem se tornado claro que a quantidade de gordura na dieta altera respostas celulares, mas deve-se salientar que não reagem sozinhas, sendo também influenciadas por outros nutrientes (Shepard e Shek, 1995).

### **3.14 Efeito o óleo de peixe sobre o sistema imunológico**

Muitos estudos têm investigado os efeitos da quantidade e do tipo de gordura da dieta sobre as funções de células imunitárias. Os ácidos graxos também podem alterar a função de leucócitos, a proliferação e controle da produção de citocinas e adesão de moléculas, e causando a morte celular.

Muitos dos efeitos mencionados podem ser modulados através dos eicosanóides, os quais sabe-se que o tipo e a quantidade de ácidos graxos na dieta de uma pessoa afeta as funções controladas pelos eicosanóides do organismo dela, os quais são potentes mediadores da inflamação e imunorregulatório. De fato, estudos realizados em pacientes que sofrem de doenças auto-imunes e doenças inflamatórias, o óleo de peixe rico em n-3 têm mostrado promover redução significativa na inflamação de pacientes portadores de artrite reumatóide, psoríase, lúpus eritematoso sistêmico, esclerose múltipla (De Pablo et al., 2000).

O óleo de peixe rico em n-3, têm efeito sobre a fagocitose, produção de espécies reativas de oxigênio, a produção de citocinas e a migração leucocitária. Para explicar o efeito do óleo de peixe, sobre o sistema imunitário alguns estudos sugerem as seguintes alterações: fluidez de membranas, vias de transdução de sinal, transcrição gênica, modificação protéica, metabolismo celular, despolarização mitocondrial e liberação de cálcio.

AGPI n-3 pode afetar a capacidade fagocítica de neutrófilos e macrófagos, a sinalização de células T e a capacidade de apresentação de antígenos de maneira dose-dependente (Calder, 2008). É conhecido que AGPI n-3 reduz a proliferação de

linfócitos T e B estimulados por mitógenos, além de diminuir a produção de interleucina 2 por linfócitos e macrófagos e também reduzir a atividade das células NK (Gleeson et al., 2004).

Além de seus efeitos anti-inflamatórios mediados pela menor produção de eicosanóides pró-inflamatórios, os ácidos graxos n-3 também agem controlando o processo inflamatório por modular a expressão de moléculas de adesão, tais como selectinas e VCAM-1 (molécula de adesão célula - vasculatura 1), que participam nas interações dos neutrófilos com o endotélio vascular. Isto é, conseguido através da modulação das vias de sinalização associadas com o fator de transcrição nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B).

Ácidos graxos n-3 podem agir também diretamente em receptores nucleares, como o receptor retinóide X, que opera como fator de transcrição (Calder, 2002; Surette, 2008). Portanto, com relação aos efeitos antiinflamatórios dos ácidos graxos n-3 pode-se considerar que diminuem o conteúdo de ácido araquidônico das membranas resultando na diminuição de eicosanóides derivados de n-6 (Giugliano et al., 2006), pois a incorporação de ácidos graxos n-3 na membrana celular ocorre concomitante com substituição de ácido araquidônico pelo ácido eicosapentaenóico (EPA) ou docosahexaenóico (DHA), portanto menos substrato está disponível para produção de eicosanóides (como PGE2, Tromboxano A2 e LTB4) (Browning, 2003; Lombardo e Chicco, 2006; Calder, 2007). Dessa forma, ocorre uma competição entre EPA e AA para a síntese de leucotrienos e prostaglandinas em nível de COX e LOX (Simopoulos, 1991).

No entanto, muitos dos efeitos do AGPI n-3 sobre o sistema imunitário parecem ser exercidas em uma forma independente de eicosanóides. Assim, outros mecanismos de ação de AGPI n-3 sobre a função das células imunitárias devem ser consideradas. Um outro mecanismo que poderia modular o sistema imunitário poderia ser através da alteração na expressão de genes que é a chave para regular o funcionamento das células imunológicas. Óleos de peixe são ricos em cadeia longa n-3 ácidos graxos polinsaturados (AGPI), eicosapentaenóico (20:5 n-3) e docosahexaenóico (22:6 n-3) ácidos.

Os mediadores inflamatórios produzidos como parte da resposta inflamatória (citocinas, eicosanóides, óxido nítrico e espécies reativas de oxigênio) são responsáveis por danos no tecido local, efeitos sistêmicos sobre o sistema nervoso central (febre, perda de apetite), sobre o músculo esquelético (proteólise), tecido adiposo (lipólise), fígado (síntese de proteínas de fase aguda) e destruição de patógenos. Sob condições controladas, após a fase aguda do processo de inflamação, ocorre o reparo das lesões, recuperação e resolução do problema. Estes processos são modulados por vários mediadores, incluindo compostos gerados a partir de precursores de ácidos graxos.

O n-3 é incorporado na membrana da célula e influencia a fluidez da membrana, a função de receptor, a atividade enzimática, as citocinas e a produção de eicosanóides (Nelson e Cox, 2000). A suplementação oral com n-3 de óleo de peixe em sujeitos saudáveis decresce a produção de citocinas pró-inflamatórias IL2 (Wu et al., 1996), IL1 nos monócitos isolados e o fator de necrose tumoral.



### **3.15. Efeito do óleo de peixe sobre o sistema neuromuscular.**

Vários estudos têm confirmado que determinadas substâncias nutricionais podem oferecer efeitos adicionais ao treinamento físico e ao ganho da força muscular. A creatina tem sido associada a maior aumento de massa magra e força (Wyss e Kaddurah-Daouk, 2000); os aminoácidos de cadeia ramificada possuem efeitos anticatabólicos que diminuem a mobilização de aminoácidos essenciais nos exercícios estressantes (MacLean et al., 1994). A suplementação de determinados ácidos graxos como óleo de peixe rico em ômega-3 tem sido relacionada a aumento da massa muscular e força (Bucci, 1993).

Brower et al. (2002), demonstraram que o óleo de peixe melhora a fluidez e a sensibilidade à acetilcolina, propiciando rápida transmissão sináptica na junção neuromuscular (potencial de ação excitatório) e contração muscular mais rápida, que melhora a função contrátil muscular (Curtis e O'Keefe, 2002; Brower et al., 2002). Mudanças na composição dos lípides das membranas musculares e neurais afetam a endocitose, exocitose, fusão da membrana, o uso de neurotransmissores e a atividades de enzimas, as quais também podem aumentar a velocidade do impulso ou do potencial de ação da membrana. De fato, Gerbi et al. (1999), detectaram maior velocidade de condução nervosa (VCN) em sujeitos que consumiam quantidades elevadas de EPA e DHA em suas dietas.

Alguns estudos também têm mostrado efeito protetores do óleo de peixe sobre os neurônios (Dines et al., 1993; Nicolas et al., 2011). Supari et al. (1995), observaram que ácidos graxos poliinsaturados n-3 causam maior eficiência da contração muscular

em função da melhor modulação dos canais de íons do sarcolema. Alguns estudos têm demonstrado também, que os ácidos graxos poliinsaturados n-3 podem alterar a atividade contrátil no tecido cardíaco (Curtis & O'Keefe, 2002; Brower et al., 2002). A adição de ácidos graxos essenciais na dieta influencia as arritmias cardíacas e podem corrigir sinais eletrocardiográficos, reduzindo o atraso eletromecânico (EMD) (Holguin et al., 2005; Brower et al., 2002). Os ácidos graxos não interferem apenas na transmissão e funcionamento dos impulsos nervosos (Dines et al., 1993), mas na eficiência da contração muscular pela modulação dos canais de íons do sarcolema (Supari et al., 1995).

A suplementação alimentar com óleo de peixe tem apresentado efeitos anabolizantes sobre o tecido muscular de adultos jovens, de meia-idade (Smith et al., 2011) e idosos (Smith et al., 2011). Assim, se a suplementação de óleo de peixe estimula o anabolismo muscular pelo aumento da via de sinalização do mTOR-p70s6k (Smith et al., 2011), melhora a contratilidade do músculo cardíaco (Egert e Stehle, 2001) e a velocidade de condução nervosa (Gerbi et al., 1999), pode potencializar os efeitos do treinamento de força nos músculos esqueléticos de idosos. Estes estudos reforçam a noção de que o óleo de peixe rico em ômega-3 possui efeitos anabólicos nas proteínas musculares, as quais proporcionam boa base para futuras pesquisas sobre o interação entre proteínas musculares e o metabolismo lipídico.

Ácidos graxos poliinsaturados (AGPI n-3) encontrados no óleo de peixe possuem propriedades anti-inflamatórias e podem reduzir o nível de doenças crônicas e a inflamação. Sabe-se que o envelhecimento é acompanhado por um quadro de

inflamação crônica de baixo grau, que dificulta o processo de cura e/ou desencadeia vários processos fisiológicos indesejáveis tais como a sarcopenia. Portanto, a redução dos processos inflamatórios podem minimizar a perda da massa muscular e o declínio da força que diminuem a capacidade funcional de idosos.

Estas alterações podem ser mais facilmente identificadas nos idosos, pois o processo de envelhecimento é degenerativo e pode comprometer, mais acentuadamente, a funcionalidade destes tecidos e a capacidade de produzir força.

Desta forma, mecanismos que possam melhorar os parâmetros neuromusculares e modular o sistema imunitário e/ou concentrações de citocinas pró-inflamatórias nos idosos são interessantes para garantir uma melhor qualidade de vida. O exercício físico e nutrientes com propriedades anti-inflamatórias, tais como a vitamina E e ácidos graxos poliinsaturados (AGPI n-3) podem reduzir o nível de doenças crônicas e o quadro de inflamação crônica e auxiliar na regulação das funções do sistema imunitário e neuromuscular em idosos.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

Para observar o efeito de um programa de atividade física (exercício resistido) associado à suplementação de óleo de peixe sobre os indicadores neuromusculares e imunitários em idosos, os seguintes procedimentos foram aplicados. Primeiramente, os procedimentos realizados no presente estudo, foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Positivo com parecer 108/2008 (ANEXO 1) (Curitiba, PR). Todos os sujeitos foram convidados a participar do estudo de forma voluntária e assinaram o termo de livre consentimento e esclarecimento.

Quarenta e cinco mulheres saudáveis caucasianas ( $64 \pm 1,4$  anos), residentes no nas proximidades da Universidade Positivo, voluntariaram a participar deste estudo. Elas foram examinadas por um médico e foram consideradas em boas condições de saúde para realizarem o treinamento de força, ou seja, não possuíam qualquer comprometimento de saúde no qual o treinamento físico não fosse recomendado (ex. prótese, artrite, alterações de pressão arterial). As participantes não estavam sob terapia de reposição hormonal, e também não se envolveram em outros programas de atividade física regular durante 12 meses antes do presente estudo, sendo estes critérios de exclusão.

### **4.1. Procedimentos Experimentais.**

Na primeira sessão, as participantes responderam o questionário IPAQ (Craig et al., 2003) o qual foi utilizado como indicador do nível de atividade física das

participantes. Como não foram identificadas diferenças no nível de atividade física das participantes, elas foram alocadas aleatoriamente em um dos três grupos experimentais, após serem classificadas em quartis de acordo com a força isométrica máxima de extensão do joelho (1 repetição máxima/massa corporal) com o objetivo de obter três grupos homogêneos.

Um grupo realizou o treinamento de força e não recebeu dieta de suplementação (ST; n=15). O grupo ST90 (n=15) foi suplementado com óleo de peixe ao longo de 90 dias de treinamento de força. Finalmente, o grupo ST150 (n=15) começou a suplementação 60 dias antes do início do treinamento de força e permaneceu com a suplementação durante o período de treinamento de força (90 dias), num total de 150 dias de suplementação. As participantes que foram suplementadas com 2 g/dia de óleo de peixe receberam instrução para ingerirem as cápsulas uma após o almoço e a outra após o jantar, como recomendado pela American Heart Association e o Governo do Reino Unido (UK). As cápsulas foram fornecidas pela fundação Herbarium® e uma avaliação de cromatografia da capsula de óleo de peixe (HPLC; Varian, Palo Alto, CA, EUA) revelou a presença dos seguintes ácidos graxos: láurico (12:0),  $3,4 \pm 0,7\%$ ; Mirístico (14: 0)  $9,8 \pm 0,4\%$ ; palmítico (16:0),  $25,3 \pm 3,0\%$ ; estereático (18:0),  $2,1 \pm 0,1\%$ ; palmitoleico (16:1 n-7),  $6,5 \pm 0,1\%$ ; oléico (18: 1 n-9);  $10,2 \pm 0,9\%$ ; linoléico (18:2 n-6),  $2,0 \pm 0,2\%$ ; linolênico (18:3 n-3)  $0,7 \pm 0,2\%$ ; araquidônico (20:4 n-6)  $0,9 \pm 0,2\%$ ; EPA (22:5 n-3)  $20,2 \pm 1,3\%$ ; DHA (22:6 n-3)  $18,8 \pm 1,2\%$ . A absorvância do óleo de peixe foi confirmada pela determinação das concentrações de EPA + DHA em relação ao total de ácidos graxos plasmáticos usando a técnica de cromatografia (HPLC, Varian, Palo Alto, CA, EUA).

As participantes foram orientadas a manter os hábitos alimentares e nível de atividade física durante o estudo. A dieta foi monitorada através do questionário de frequência alimentar (recordatório de 3 dias) aplicado no período pré-e pós-treinamento para garantir que não houvesse alterações na ingestão dietética. O treinamento de força foi realizado três vezes por semana, durante 12 semanas, em um total de 36 sessões de treinamento, e os exercícios resistidos utilizados durante o treinamento foram organizados com o objetivo de melhorar a força muscular dos membros inferiores. As avaliações neuromusculares (primeira sessão) e funcional (segunda sessão) foram realizadas 1 semana antes (PRE) e 48 horas depois (POS) do período de treinamento para os grupos ST, ST90 e ST150. No entanto, o grupo ST150 também foi avaliado 1 semana antes do início do período de 60 dias de suplementação (LB - linha de base) que precedeu o período de treinamento desse grupo. Os parâmetros imunitários foram coletados a partir de amostras sanguíneas em duas sessões (PRE e POS- treinamento), que foram coletadas entre o segundo e o quarto dia após a primeira e a última sessão de avaliação dos parâmetros neuromusculares. No grupo ST150, a coleta de sangue ocorreu aproximadamente 24h após a primeira sessão de avaliação (LB), quando as cápsulas para a suplementação com óleo de peixe foram fornecidas aos sujeitos.

Os pesquisadores envolvidos nas sessões de treinamento e nas análises laboratoriais não foram informados sobre os grupos que os sujeitos estavam envolvidos. Além disso, para minimizar as possíveis chances de efeitos psicológicos, uma vez que o placebo não foi fornecido ao grupo ST, os grupos suplementados treinaram em dias diferentes da semana e os sujeitos não tinham conhecimento da

existência de ou contato com os demais grupos experimentais. Todos os participantes concluíram os procedimentos experimentais.

#### **4.2 Programa de treinamento de força.**

Na primeira sessão de treinamento, após um breve período de aquecimento, foi realizado o teste de uma repetição máxima (1RM). As participantes foram familiarizadas com os exercícios de treinamento de força ao longo de seis sessões (duas semanas) no qual elas realizaram 3 séries de 8 repetições a 50% de sua carga máxima (1RM). Após o período de familiarização, foram realizadas as 12 semanas de treinamento de força. A primeira semana de treino incluiu 3 séries de 8 repetições com 70% de 1RM. A carga de treinamento foi de 80% de 1RM na segunda semana e foi ajustada a cada semana (três sessões) a partir da terceira semana de treinamento. Procedimentos semelhantes têm sido utilizados em outros estudos que visam desenvolver força em idosos (Flynn et al., 1999). Todas as sessões foram realizadas sob a supervisão do pesquisador e tiveram orientação de dois instrutores qualificados.

Os seguintes exercícios foram realizados: flexão do joelho bilateral e extensão, adução de quadril bilateral e abdução, extensão e flexão do quadril unilateral, leg press bilateral horizontal e flexão plantar bilateral. Exercícios foram realizados, incluindo as fases concêntrica e excêntrica em máquinas com polias (Athletic, Brasil). Encorajamento verbal foi fornecida durante os exercícios. A carga de cada exercício foi gravada para quantificar a evolução dos grupos.

### **4.3. Avaliação do desempenho neuromuscular**

O desempenho neuromuscular foi quantificado pelo máximo torque exercido e pela taxa de desenvolvimento de torque (4.3.1). A eletromiografia de superfície (EMG) foi utilizada para quantificar o nível de ativação muscular (RMS) e atraso eletromecânico das contrações isométricas voluntárias máximas (EMD) (4.3.2). Além disso, a velocidade de condução nervosa motora (VCN) foi analisado (4.3.3). A capacidade funcional foi determinada a fim de determinar se os benefícios da atividade física e das adaptações foram traduzidos em aumentos sobre a capacidade funcional (4.3.4).

#### **4.3.1 Pico e taxa de desenvolvimento de torque.**

A contração isométrica voluntária máxima foi utilizada para determinar o pico de torque, definido como o melhor desempenho entre os três ensaios máxima. Testes isométricos tem sido realizados por permitirem uma maior padronização das ações e por não dependerem da velocidade de execução de movimentos. O pico de torque foi calculado pelo produto da força pico pela distância de seu ponto de fixação ao centro do segmento analisado. A força foi determinada por um medidor de tensão (Modelo CZC500, Kratos, São Paulo, Brasil) que foi fixado na porção distal do segmento avaliado por meio de um cabo de aço, que foi preso a uma alça ajustável com velcrom. Um minuto de descanso foi permitido entre cada uma das 3 tentativas.

Os participantes foram requisitados a realizar um esforço máximo (ou seja, para flexionar/extender o mais forte e rápido possível) com o segmento dominante, que foi posicionado a aproximadamente 90°. Os movimentos analisados compreenderam a flexão e extensão do joelho, dorse e planti flexão do tornozelo. Esses grupos



musculares foram analisados devido ao fato de que tais músculos apresentam uma rápida adaptação ao exercício físico em idosos e desempenharem papel relevante sobre a funcionalidade (Enoka, 1997). O pico (PT) e a taxa de desenvolvimento de torque (RTD) foram calculados usando uma rotina personalizada (Matlab 6.0, EUA). A taxa de desenvolvimento de torque foi calculada pelo coeficiente de inclinação da curva força-tempo entre os instantes 20% e 80% do valor do pico de torque (Bento et al., 2010). A Figura 10 demonstra esquematicamente as posições empregadas nos testes de força isométrica máxima.

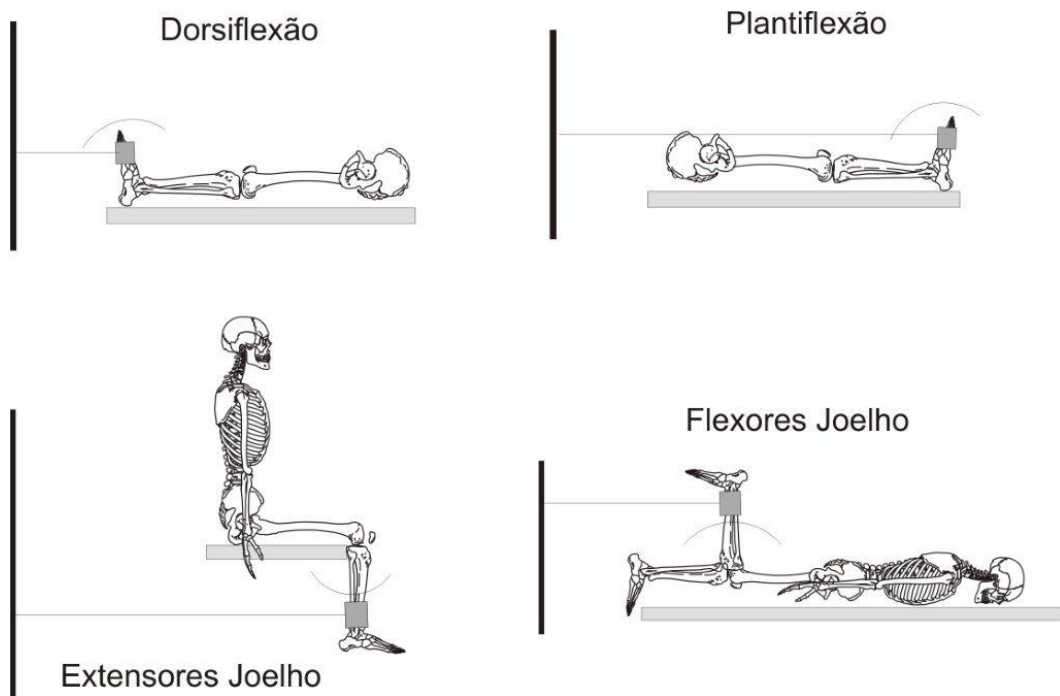


Figura 10 – Representação esquemática das posições empregadas nos testes de força isométrica máxima.

#### **4.3.2 Ativação muscular (RMS) e atraso eletromecânico (EMD)**

A eletromiografia de superfície (EMG) foi utilizada para quantificar o nível de ativação muscular e o atraso eletromecânico dos músculos, durante a execução da contração isométrica voluntária máxima. A EMG do reto femoral, vasto lateral, bíceps femoral, tibial anterior, gastrocnêmio e sóleo foram registrados em sincronia com traços de força, usando um marcador de pulso comum em um canal específico. Os eletrodos foram colocados a uma distância de 2 cm na maior porção da massa muscular seguindo a orientação das fibras musculares. Para garantir o mesmo posicionamento dos eletrodos pré e pós-treinamento, um plástico transparente foi utilizada para identificar os locais exatos do eletrodo, juntamente com pontos anatômicos, cicatrizes e marcas na pele. A frequência de aquisição da EMG foi fixado em 1000 Hz. Filtro passa banda com frequência de corte de 20 e 500 Hz foi aplicado ao dado bruto. O nível de ativação muscular foi determinado pelo cálculo da raiz quadrada da média em torno de 500 ms o pico de torque usando software específico (Noraxon, modelo Telemetry 900, EUA).

O nível de ativação muscular foi determinado pelo cálculo da raiz quadrada média (RMS) para os músculos investigados pré e pós-treinamento. O atraso eletromecânico (EMD) foi determinado pelo intervalo de tempo entre o início da atividade EMG e o início da resposta mecânica (aumento de torque). O início da atividade EMG foi considerada como a ativação muscular quando desviou mais do que dois desvios-padrão a partir do valores de repouso. O início do aumento do torque foi

determinado com o traço de força maior de dois desvios-padrão a partir de valores de repouso.

#### **4.3.3 Velocidade de condução nervosa (VCN)**

Foi realizado o teste de velocidade de condução nervosa (VCN) dos músculos tibial posterior e tibial profundo. Os exames foram realizados em uma sala com ar condicionado, com uma temperatura constante de 23,0 °C e com a temperatura média da pele da perna dos participantes mantida entre 33,4 °C e 33,5 °C. O eletromiógrafo modelo Nihon Kohden Neuropack 2 foi aplicado para a determinação dos dados.

Os testes foram realizados através de eletrodos cutâneos de superfície, posicionados sobre os nervos motores dos segmentos direitos dos músculos fibular profundo e tibial posterior. A estimulação do nervo tibial e fibular foi realizada com os sujeitos em posição de supino. O eletrodo ativo foi posicionado sobre músculo abductor do hálux, enquanto o eletrodo de referência foi posicionado sobre o quinto metatarso, sobre a superfície medial da articulação. A estimulação distal foi aplicada com o cátodo a 8 cm proximais do eletrodo ativo, posteriormente ao maléolo medial e acima do retináculo dos flexores. A estimulação proximal foi efetuada sobre a crista da fossa poplíteia na junção do terço lateral com dois terços medial. A estimulação do nervo fibular foi realizada com os sujeitos em posição de pronação. O eletrodo ativo foi posicionado sobre a crista da fossa poplíteia e o eletrodo de referência foi posicionado sobre a borda posterior do musculo bíceps.

As medidas incluíram a latência e a amplitude de ativação do nervo motor. Todos os testes foram realizados por um médico que desconhecia a alocação dos participantes nos grupos experimentais.

#### **4.3.4 Capacidade Funcional.**

A quantificação da capacidade funcional (testes funcionais) foi realizada na segunda sessão de avaliação e após o término do programa de treinamento de força. Os testes foram realizados com um intervalo de 20 minutos entre si e foram incluídos os seguintes protocolos de testes: (a) Teste Caminhada de Seis Minutos, (b) Teste de Levantar da Cadeira em 30 segundos, (c) Teste de agilidade (Teste Foot Up and Go) e (d) Teste de Sentar e Alcançar. Os protocolos dos testes estão descritos abaixo e seguiram os protocolos propostos por Rikly e Jones (1999) e Wells e Dillon (1952).

##### **4.3.4.1 Teste Caminhada de Seis Minutos.**

O teste de caminhada de seis minutos é de simples realização, capaz de mensurar com segurança a capacidade funcional e o protocolo foi realizado respeitando as indicações do American Thoracic Society. Os participantes foram orientados a caminhar durante seis minutos o mais rápido possível, sendo encorajados por comandos verbais a cada minuto. Foi permitido que os participantes estabelecessem o seu ritmo individual na caminhada e quando necessário poderiam parar a caminhada. Foram registrados os metros percorridos pelos participantes (Rikly e Jones, 1999).

#### **4.3.4.2 Teste de levantar da cadeira em 30 segundos.**

A participante iniciou o teste na posição sentada em uma cadeira de encosto reto (sem braços), que estava apoiada na parede e não poderia ser movimentada. Com as costas retas, pés apoiados no chão e braços cruzados contra o tórax, ao sinal “Atenção, Já!”, a participante levantava, e ficava totalmente em pé e então retornava a posição completamente sentada. Este movimento (levantar/sentar) foi realizado durante trinta segundos no maior número de vezes possível. Foi realizada uma demonstração para o participante e solicitado que ele fizesse uma tentativa antes do teste ser aplicado. Registrou-se o número total de movimentos completos executados corretamente durante os trinta segundos (Rikly e Jones, 1999).

#### **4.3.4.3 Teste de agilidade (Foot Up and Go)**

Este teste é iniciado com o avaliado totalmente sentado na cadeira e esta encostada na parede, mãos na coxa e pés totalmente no solo (um pé pode estar ligeiramente avançado em relação ao outro). Ao sinal de “partida” o avaliado levanta-se da cadeira (podendo empurrar as coxas ou a cadeira), caminha o mais rápido possível (sem correr) à volta do cone, por qualquer dos lados, que deve estar posicionado a sua frente, à uma distância de 2,44 metros – medida desde a ponta da cadeira até a parte anterior do marcador – regressando sentando na cadeira, foi registrado o tempo que o participante levou para levantar, percorrer a distancia e sentar na cadeira (Rikly e Jones, 1999).

#### **4.3.4.4 Teste de Sentar e Alcançar.**

O indivíduo sentou de frente para o banco, colocando os pés descalços no apoio com os joelhos estendidos, ergueu os braços e sobrepôs uma mão a outra, levando as duas para frente o máximo possível tocando a régua do banco e permanecendo na posição por 3 segundos. Foram realizadas duas tentativas (Wells e Dillon, 1952).

#### **4.4 Avaliação dos parâmetros imunitários.**

##### **4.4.1 Reagentes, enzimas e soluções.**

Os reagentes usados na preparação das soluções foram obtidos da Reagen (Quimibrás Industria Química Ltda, RJ). Solução de tampão fosfato salina pH 7,4, 10 mM (PBS) foi utilizada como meio de diluição para os corantes. O zimosan, vermelho neutro, vermelho fenol, nitroblue tetrazolium (NBT), xilenol laranja, hidroxitolueno butilado (BHT), albumina sérica bovina (BSA) e iodeto de propídeo (PI) foram provenientes da Sigma Chemical Co (St Louis, MO - EUA). Concanavalina A foi adquirido da Sigma Chemical Co. St. Louis (EUA). Meio de cultura (RPMI 1640), antibiótico (penicilina e estreptomicina) e soro fetal bovino (SFB) foram obtidos da Gibco (Grand Island, NY - EUA). O material radioativo - [2 - <sup>14</sup>C]-timidina (50 mCi/mmol) - foi obtido da New England Nuclear Research Products (Du Pont Company - Biotechnology Systems - EUA). As cápsulas de óleo de peixe foram cedidas gentilmente pela Fundação Herbarium®, contendo 1g/cápsula na proporção de 0,192 g de EPA e 0,124g de DHA.

#### **4.4.2 Coleta e separação das células sanguíneas**

As coletas de sangues foram realizadas antes (pré-) e depois (pós-) o período de treinamento para ST e ST90 grupos. No entanto, o grupo ST150 foi avaliado em três instantes diferentes: pré-suplementação (zero dia), pré-treinamento (no dia 60) e no pós-treinamento (no dia 150). O sangue dos pacientes foi coletado por um enfermeiro em tubos previamente heparinizados (Eppendorf, modelo 410R-BD, Minas Gerais, Brasil) e mantidos sob refrigeração. O isolamento de neutrófilos foi realizado conforme proposto por Boyum (1976). O sangue foi centrifugado no próprio tubo de coleta a 1200 rpm por 10 minutos a 4 °C. Parte do plasma foi aliquoteado e o restante transferido para outro tubo falcon de 50 ml, sendo adicionado o mesmo volume de tampão fosfato salina (PBS).

Em tubos contendo 3 mL de Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare Bio-Sciences, Suécia) foi acrescentado 8 mL do sangue diluído em PBS. Os tubos foram centrifugados a 400 g a 4°C durante 30 minutos. A camada superior transparente foi desprezada. A camada inferior constituída por hemácias e células polimorfonucleares foi transferida para outro tubo (Figura 11). Submeteu-se a amostra duas vezes à lise hipotônica por incubação com solução hemolítica (Tris Base (tris[hidroximetil]aminometano) 17,0 mM e NH<sub>4</sub>Cl 18,7 mM) em banho-maria a 37 °C por 15 minutos. A solução foi centrifugada a 153 g por 10 minutos. O sobrenadante foi desprezado e as células, re-suspendidas em PBS e contadas em câmara de Neubauer. Depois de isoladas, as células polimorfonucleares, representadas em sua maioria por neutrófilos, (valor determinado por microscopia óptica do material corado por May-Grünwald, Giemsa) possibilitando a obtenção de

90% de neutrófilos. À viabilidade foi determinada através da coloração de Tripan (0,2% em PBS) e foi maior que 95%.

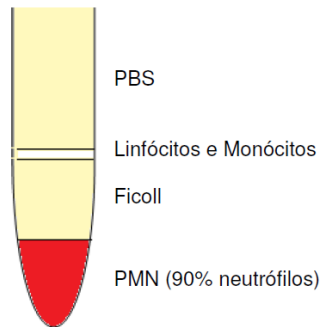


Figura 11 - Esquema da separação de células sanguíneas em Ficoll-Paque. - Adaptada de Sandro Bonato, 2008.

#### **4.4.3 Determinação de parâmetros de resposta imunitária em neutrófilos**

##### **4.4.3.1 Soluções**

O fixador utilizado foi o Baker formol-cálcio (formaldeído 4% v/v, cloreto de sódio 2% w/v e acetato de cálcio 1% w/v). A solução de extração consistiu de ácido acético glacial 96% (1% v/v) e etanol (50% v/v) dissolvidos em água bidestilada. A solução estoque do corante vermelho neutro foi preparada pela solubilização de 0,02 g de corante em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO). A solução para uso de rotina foi preparada pela diluição de 0,3 mL da solução estoque e 0,02 g de zimosan não



opsonizado ( $2,3 \times 10^8$  partículas/mL) em 3 mL de PBS para os ensaios de capacidade fagocítica.

#### **4.4.3.2 Atividade fagocitária**

Foi utilizado o método descrito por PIPE *et al.* (1995), modificado. Foram depositados 100  $\mu$ L da solução de neutrófilos, contendo  $1 \times 10^6$  células/mL, obtidos como descrito acima, em placa de 96 escavações. Em seguida se adicionou 10  $\mu$ L de zimosan ( $2,3 \times 10^8$  partículas/mL) corado com vermelho neutro e incubou-se por 30 minutos a 37°C. Após este procedimento, foram adicionados 100  $\mu$ L de fixador de Baker, para interromper o processo de fagocitose e, 30 minutos posteriormente, a placa foi centrifugada, por 5 minutos a 240 g, a fim de remover o zimosan e o vermelho neutro não fagocitados pelos neutrófilos. O vermelho neutro no interior dos neutrófilos foi solubilizado utilizando-se 100  $\mu$ L de solução de extração. Após 30 minutos a leitura das placas foi realizada a 550 nm utilizando leitor de microplaca (Microplate reader Bio-rad-Benchmark). Os dados foram expressos por absorvância/ $10^6$  células/mL.

#### **4.3.3.3 Produção de peróxido de hidrogênio**

A produção de peróxido de hidrogênio foi mensurada utilizando-se o método descrito por Pick e Mizel (1981), modificado. Através da oxidação de vermelho fenol, pela peroxidase, foi possível detectar a produção de  $H_2O_2$ . Alíquotas de 100  $\mu$ L de solução de neutrófilos, contendo  $1 \times 10^6$  células/mL, e 10  $\mu$ L de 13-acetato 12-miristato de forbila (PMA – 4  $\mu$ M) foram colocados em placas tipo ELISA. Cada orifício recebeu 100  $\mu$  L da solução de vermelho fenol contendo peroxidase (horseradish) e zimosan. Foi incubado durante 30 minutos, no escuro a 37° C e, em seguida colocou-se 10  $\mu$ L de

NaOH e, após foi feita a leitura em leitor de microplaca a 595 nm (Microplate reader Bio-rad - Benchmark). Os resultados foram determinados a partir de uma curva padrão ( $r = 0,998$ ) e expressos em  $\mu\text{mol}/10^6$  células/mL.

#### **4.4.3.4 Mensuração do ânion superóxido**

A geração de superóxido foi estimada através da redução de “nitroblue tetrazolium” (NBT – Sigma), um composto amarelo lipossolúvel que se torna insolúvel e de cor azul no seu estado reduzido (Madhavi *et al.*, 1994). Os neutrófilos contidos em 100  $\mu\text{L}$  ( $1 \times 10^6$  células/mL), foram incubados por 1 hora, em placa de 96 escavações, contendo 0,2% de NBT e 10  $\mu\text{L}$  de PMA (10  $\mu\text{l}$ ) em PBS a 37°C. Neste passo, ocorre a redução do NBT a um composto azul e insolúvel no PBS, denominado formazan, numa reação promovida pelo ânion superóxido. Após, a placa foi centrifugada a 240 g por 5 minutos, o conteúdo foi desprezado e se adicionou 100  $\mu\text{L}$  de metanol 50%, para fixar os neutrófilos. Após 10 minutos a placa foi centrifugada novamente e o conteúdo desprezado, e seco com ar quente. Então se adicionou 120  $\mu\text{L}$  de KOH 2M e 140  $\mu\text{L}$  de DMSO (dimetil sulfóxido) para solubilizar o NBT. Após 30 minutos se procedeu a leitura das placas, a 550 nm utilizando leitor de microplacas (Microplate reader Bio-rad - Benchmark). Os dados foram expressos por absorvância/ $10^6$  células/mL.

#### **4.4.3.5 Retenção Lisossomal**

Para esta análise se utilizou o método descrito por Pipe *et al.* (1995), onde em placa de 96 escavações depositou-se 100  $\mu\text{L}$  da solução de neutrófilos, contendo  $1 \times 10^6$  células/mL e, se adicionou 20  $\mu\text{L}$  da solução estoque de vermelho neutro (20 mg de vermelho neutro em 1 mL de DMSO) a 2%. Após 30 minutos, a placa foi centrifugada

por 5 minutos a 240 g e o sobrenadante foi descartado. Então, se adicionou 100 µl de solução de extração para solubilizar o vermelho neutro que estava no interior das vesículas de secreção. Esta solubilização é possível porque o vermelho neutro é um corante catiônico que se difunde através da membrana celular e, uma vez presente nas vesículas de secreção, fica aprisionado devido à mudança de cargas causada pelo pH ácido do sistema lisossomal. Finalmente, após 30 minutos, a placa foi lida a 550 nm utilizando leitor de microplacas (Microplate reader Bio-rad - Benchmark). Os dados foram expressos por absorvância/10<sup>6</sup> células/mL.

#### **4.4.4 Obtenção de linfócitos do sangue.**

A camada constituída de hemáceas e células polimorfonucleares foi transferida para um tubo falcon capacidade de 50 mL. O volume do tubo contendo células polimorfonucleares foi completado com solução hemolítica com o volume de 50 mL e deixado em banho-maria a 37 °C por 15 minutos. Em seguida, foi centrifugado a 1200 rpm por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante foi desprezado. Os linfócitos foram re-suspendidos em PBS e ao final dessa houve a contagem das células em câmara de Neubauer, para posteriormente proceder cultivo e mensuração da produção das citocinas.

##### **4.4.4.1 Cultivo de linfócitos**

Linfócitos (1,4 x 10<sup>5</sup> células por poço) foram cultivados em meio de cultura RPMI-1640 enriquecido com 10% de soro fetal bovino e 0,1% de antibióticos (penicilina 10.000 UmL e estreptomicina 10 mg/L), em placas de 96 poços (volume final de 200 µL) a 37° C em atmosfera de 95% O<sub>2</sub> / 5% CO<sub>2</sub>, por 48 horas. Os linfócitos foram

estimulados com 20  $\mu\text{L}$ /poço de solução (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) do mitógeno concanavalina A (Con A), estimulador da proliferação de linfócitos T e LPS lipopolisacarídios (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Após 24 h de cultivo, a placa foi centrifugada a 400g e o sobrenadante foi coletado para a análise de citocinas.

#### **4.4.4.2 Produção de citocinas.**

Os linfócitos cultivados, no meio descrito acima, em placas de 24 well estimulados com Con A (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e LPS (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) com volume final de 2 mL, por 24 horas. No final do período de cultivo, as placas foram centrifugadas para separação das células do meio. Alíquotas das células que foram cultivadas no meio, Con A e LPS foram congeladas ( $-70^{\circ}\text{C}$ ) para posterior análise das citocinas, através da citometria de fluxo conforme as instruções do kit da BD<sup>TM</sup> CBA (Cytometric Bead Array) para, IL2, IL6, IL4, IL10, TNF $\alpha$  e IFN $\gamma$  (Clontech – BD Bioscience – USA). Os resultados foram expressos em pg/mL.

O Kit CBA (BD) (cytometric beads array) foi usado nesse estudo para a quantificação das citocinas IL2, INF $\gamma$  e TNF (Th1) e IL4, IL10 (Th2) em uma mesma amostra. Seis populações de beads com distintas intensidades de fluorescência são conjugadas com um anticorpo de captura específico para cada citocina, misturadas para formar o CBA e lidas no canal FL3 do citômetro de fluxo FACScalibur (BD). As populações de beads foram visualizadas de acordo com as suas respectivas intensidades de fluorescência: da menos brilhante para a mais brilhante.

No CBA, as beads de captura das citocinas são misturadas com o anticorpo de detecção conjugado com o fluorocromo PE, e depois incubadas com as amostras para formar o ensaio "em sanduíche". Os tubos para aquisição foram preparados com: 50 µL de amostra, 50 µL da mistura de beads e 50 µL do reagente de detecção (Human IL2, IL6, IL4, IL10, TNF $\alpha$  e IFN $\gamma$  PE Detection Reagent/1 vial, 4mL). O mesmo procedimento foi realizado para a obtenção da curva-padrão. Os tubos foram homogenizados e incubados por três horas, em temperatura ambiente, no escuro. Os resultados foram gerados em gráficos e tabelas pelo software CellQuest (BD).

#### **4.4.4.3 Análise de marcadores de superfície.**

A determinação quantitativa dos marcadores de superfície para linfócitos T auxiliar (CD4+) e linfócitos T citotóxicos (CD8+) foi realizada através de citometria de fluxo, conforme a metodologia proposta por Pizato et al. (2006). Linfócitos foram re-suspensos em PBS e incubados por 30 minutos com anticorpos monoclonais contra CD4+, marcado com Phycoerythrin - PE (fluorescência laranja-avermelhada; detector FL2; 585  $\pm$  42nm) e contra CD8+, marcado com Fluorescein Isothiocyanate - FITC (fluorescência verde; detector FL1; 530  $\pm$  30 nm). O excesso de anticorpos foi removido pela lavagem com tampão azida PBS (0,05%).

#### **4.4.5 Análises plasmáticas.**

##### **4.4.5.1 Determinações plasmáticas.**

A concentração de glicose circulante foi determinada pelo método enzimático colorimétrico, utilizando o Kit Glicose da BioTécnica segundo Trinder (1969) e

quantificada pela medida de absorvância em 505 nm. A concentração do colesterol total, HDL colesterol e triacilglicerol foi medida pelo Kit da Bioliquid descrito por Young (2000), respectivamente, e com leitura de absorvância a 500 nm (colesterol) e 540 nm (triacilglicerol) respectivamente. Todos os kits foram utilizados segundo as informações do fabricante, cujos procedimentos técnicos utilizados seguiram os protocolos descritos nos kits comercialmente disponíveis. A concentração plasmática de triacilgliceróis (TAG) e colesterol total e HDL colesterol foram determinadas por métodos enzimáticos colorimétricos, utilizando os kits triglicérides GPO-Trinder e colesterol total Bioliquid, conforme especificações do fabricante. A leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro a 500 nm e os resultados são expressos em mg/dL.

#### **4.4.5.2 Determinação do conteúdo de ácidos graxos plasmáticos.**

##### **4.4.5.2.1 Extração lipídica.**

Foi utilizada uma adaptação da metodologia descrita por Folch *et al.* (1957). Adicionou-se 0,5 mL de metanol e 1 mL de clorofórmio, os tubos foram agitados em vórtex e centrifugados a 1500 g por 2 minutos a 4°C. A fase inferior foi transferida para outro tubo, e com a fase superior foi realizada nova extração com 0,5mL de metanol e 1mL de clorofórmio. Ao total de fases inferiores coletado das 2 extrações foi adicionado 1mL da solução de clorofórmio:metanol:água, na proporção de 3:47:48 (solvente de Folch). Cada amostra foi agitada e centrifugada e, após o descarte da fase superior (hidrometanólica), a fase orgânica foi evaporada com nitrogênio gasoso.

#### **4.4.5.2.2 Saponificação dos extratos lipídicos**

Os extratos lipídicos obtidos, bem como alíquotas de óleo de peixe e plasma, foram re-suspensos em 100 µL de metanol e saponificados com 2,0 mL de uma solução alcalina em metanol (hidróxido de sódio 1M em metanol a 90%), a 37°C por 2 horas, em banho-maria com agitação (Beyer e Jensen, 1989; Hamilton et al., 1992; Nishiyama-Naruke et al., 1998). A solução alcalina foi então acidificada até aproximadamente pH 3,0, com ácido clorídrico 1M. Os ácidos graxos em solução foram extraídos 3 vezes com 2,0 mL de hexano. O solvente foi evaporado em nitrogênio gasoso e as amostras então guardadas protegidas da luz, a -20°C, até a derivatização com BMMC.

#### **4.4.5.2.3 Derivatização dos ácidos graxos.**

A reação de derivatização foi baseada no método descrito por Abushufa *et al.*, (1994). O reagente 1 foi preparado adicionando-se 10 mg de BMMC em 10mL de acetonitrila. O reagente 2 foi preparado adicionando-se 26,5 mg de 18-crown-6 e 100mg de carbonato de potássio em 5 mL de acetonitrila. O reagente 2 foi sonicado por 30 minutos e outros 5 mL de acetonitrila foram adicionados. O sobrenadante foi separado do precipitado e a solução foi estocada a 4-8°C. As amostras contendo ácidos graxos a serem derivatizados foram reconstituídas em 100 mL de acetonitrila e homogeneizadas em vórtex. Após 30 segundos, foram adicionados 100 µL do reagente 1, e 100 µL do reagente 2. As amostras foram novamente homogeneizadas, mantidas a 60°C por 15 minutos e em seguida transferidos para frascos apropriados para injeção.

Para a análise dos ácidos graxos derivatizados através do detector de fluorescência, foram realizadas injeções de volumes que variaram de 10 a 50µL dos

derivados diluídos. O fluxo foi de 1,0mL/minuto, à temperatura controlada de 23°C. Os compostos foram detectados fluorimetricamente com excitação a 325nm e emissão a 398nm. Quanto à fase móvel, foi realizado gradiente binário com acetonitrila e água, iniciando com a proporção de 77:23% (acetonitrila:água) e finalizando com 90:10, em um total de 55 minutos.

#### **4.4.5.2.4 Análise de ácidos graxos por cromatografia líquida de alta potência.**

Após extração lipídica, saponificação dos extratos e derivatização dos ácidos graxos obtidos, as amostras foram injetadas em um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Potência (HPLC; Varian, modelo LC-10<sup>a</sup>) com detector de fluorescência (325 nm de excitação e 395 nm de emissão). A coluna analítica utilizada para a separação dos ácidos graxos derivatizados foi C-8 de fase reversa (25 cm × 4,6 mm i.d., 5 µm de partícula), com um fluxo de 1mL/min de acetonitrila/água (73:23, vol/vol). A mistura de padrões de ácidos graxos foi obtida da empresa Sigma-Aldrich.

### **4.5 Análise Estatística**

Após a confirmação de dados normalidade e homogeneidade pelo teste de Levene e Shapiro Wilk, uma série de análises de variância (two-way ANOVA) que empregou grupo (ST, ST90 e ST150) e tempo (pré e pós-treinamento) como fatores, sendo esse último fator tratado como medida repetida. Quando os dados apresentaram diferenças no pre-teste, uma análise de co-variância foi realizada considerando os valores de pre-teste como co-variada. Os dados do grupo ST150 antes do período de suplementação (linha de base; pré-teste) foram analisados por meio de um teste t para medidas repetidas. O teste de Bonferroni foi aplicado para



identificar onde as diferenças ocorreram. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statistica (Statsoft Inc., versão 7.0). O nível de significância foi  $p < 0,05$ .

## **5. RESULTADOS**

Esse capítulo visa apresentar os resultados das coletas de dados. Para tal, a seção foi dividida em resultados preliminares (5.1) dos parâmetros neuromusculares (5.2), dos parâmetros imunitários (5.3) e dos marcadores bioquímicos sanguíneos (5.4).

### **5.1. Resultados preliminares.**

Os dados preliminares envolvem os resultados de um conjunto de variáveis que expressam as características físicas dos sujeitos ou dados biométricos gerais (idade, estatura, massa corporal e índice de massa corporal), os hábitos alimentares (controle das dietas) e a incorporação de ácidos graxos (EPA e DHA) ao longo do período do estudo.

#### **5.1.1 Massa corporal e índice de massa corporal.**

Foram quantificados em todos os grupos experimentais durante as condições pré e pós treinamento e suplementação, descritos na tabela 5.1, o biotipo da amostra, a idade, a estatura, a massa corporal (MC) e o índice de massa corporal (IMC).

Os valores de MC e IMC pré-treinamento e suplementação foram semelhantes entre os grupos experimentais ( $p > 0,05$ ). Efeitos do treinamento de força e da suplementação com óleo de peixe sobre a massa corporal não foram significativos, a qual permaneceu inalterada entre o PRE e o POS teste, em todos os grupos ( $p > 0,05$ ; ST, ST90 e ST150). Os dados do grupo ST150 também permaneceram sem alterações significativas ( $p > 0,05$ ) entre o período onde só havia a suplementação com óleo de peixe (BASE) e o início do período de treinamento associado à suplementação (PRE).

Desta forma, o índice de massa corporal (IMC) também permaneceu inalterado nos grupos, os quais não demonstraram interação, efeito de tempo ou entre grupos ( $p>0,05$ ). Todos os grupos apresentaram o mesmo nível de atividade física inicial, os quais foram considerados como baixo antes do início do treinamento.

Tabela 1 – Parâmetros antropométricos e nível de atividade física dos participantes dos grupos de treinamento de força (ST; n = 15), treinamento de força, 90 (ST90; n = 15) e 150 (ST150; n = 15) dias de suplementação com óleo de peixe, antes (PRE) e após (POS) o período de treinamento e (BASE) para o grupo ST150 durante o período que recebeu apenas suplementação.

|                          | ST (n = 15) |          | ST90 (n = 15) |          | ST150 (n = 15) |           |          | p    |
|--------------------------|-------------|----------|---------------|----------|----------------|-----------|----------|------|
|                          | PRE         | POS      | PRE           | POS      | BASE           | PRE       | POS      |      |
| Idade (anos)             | 64,9±1,0    |          | 63,8±1,4      |          | 63,3±2,0       |           |          | 0,78 |
| Estatura (m)             | 1,60±0,04   |          | 1,61±0,01     |          | 1,62±0,02      |           |          | 0,76 |
| IPAQ (u.a)               | Baixo       |          | Baixo         |          | Baixo          |           |          |      |
| Massa (Kg)               | 65,9±1,0    | 65,1±1,3 | 66,8±1,4      | 66,2±1,6 | 66,7±2,2       | 67,3±2,00 | 66,1±1,7 | 0,96 |
| IMC (Kg/m <sup>2</sup> ) | 25,4±1,6    | 25,7±1,7 | 27,7±1,3      | 26,8±1,5 | 25,2±1,3       | 25,7±1,1  | 25,2±1,4 | 0,56 |

Valores de p referem-se as diferenças entre os grupos (ST, ST90 e ST150) two-way ANOVA. Os dados do grupo ST150 entre BASE e PRE foram comparados por intermédio de um teste t para medidas repetidas.

### 5.1.2. Hábitos alimentares.

Os hábitos alimentares foram determinados através do recordatório alimentar de 3 dias. Os grupos não apresentaram diferenças ( $p>0,05$ ) ao longo do experimento e os dados encontram-se descritos na Tabela 2. Assim, os dados determinam que a ingestão alimentar não foi modificada, entre os participantes.

Tabela 2. Recordatório de ingestão alimentar de 3 dias (média  $\pm$  DP) dos grupos de; treinamento de força (ST; n = 15), treinamento de força 90 (ST90; n = 15) e 150 (ST150; n = 15) dias de suplementação com óleo de peixe, antes (PRE) e após (POS) o período de treinamento e (BASE) para o grupo ST150 durante o período que recebeu apenas suplementação.

|                  | ST (n = 15)    |                | ST90 (n = 15)  |                | ST150 (n = 15) |                |                | p    |
|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------|
|                  | PRE            | POS            | PRE            | POS            | BASE           | PRE            | POS            |      |
| Energia(Kcal)    | 1470 $\pm$ 380 | 1480 $\pm$ 395 | 1490 $\pm$ 412 | 1510 $\pm$ 430 | 1502 $\pm$ 383 | 1515 $\pm$ 408 | 1475 $\pm$ 395 | 0.76 |
| Carboidratos (g) | 174 $\pm$ 47   | 183 $\pm$ 52   | 176 $\pm$ 45   | 178 $\pm$ 42   | 174 $\pm$ 45   | 181 $\pm$ 49   | 178 $\pm$ 44   | 0.67 |
| Proteína (g)     | 52 $\pm$ 21    | 57 $\pm$ 20    | 54 $\pm$ 19    | 57 $\pm$ 18    | 56 $\pm$ 17    | 58 $\pm$ 22    | 55 $\pm$ 19    | 0.77 |
| Lipídeos (g)     | 63 $\pm$ 20    | 61 $\pm$ 21    | 63 $\pm$ 18    | 60 $\pm$ 20    | 60 $\pm$ 20    | 58 $\pm$ 19    | 61 $\pm$ 21    | 0.81 |

Valores de p referem-se as diferenças entre os grupos (ST, ST90 e ST150) two-way ANOVA. Os dados do grupo ST150 entre BASE e PRE foram comparados por intermédio de um teste t para medidas repetidas. Não houve diferença entre grupos ou tempo (pré-pós;  $p > 0,05$ ).

### 5.1.3. Incorporação de ácidos graxos no plasma.

Para determinar a incorporação dos ácidos graxos, análise de cromatografia líquida de alta potência (HPLC) foi realizada no plasma de sujeitos que compuseram os grupos experimentais. Foram aleatoriamente escolhidos cinco sujeitos de cada grupo dando um total de 15 (Tabela 3). Os valores iniciais de EPA e DHA foram similares entre os grupos ( $p > 0,05$ ). O grupo ST não mostrou nenhuma mudança nas quantidades de EPA e DHA pré e pós-treinamento ( $p > 0,05$ ). O grupo ST90 apresentou um aumento significativo nas concentrações de EPA e DHA no plasma ( $p < 0,05$ ) após a suplementação e treino, as quais foram de 45% e 20%, respectivamente, que denota efeito da dieta de suplementação com óleo de peixe. O grupo ST150 também apresentou aumento significativo nas concentrações de EPA e DHA no plasma após a suplementação (do período de BASE para o PRE) de 112% e 50%, respectivamente.

Tabela 3 Composição de ácidos graxos do plasma (média  $\pm$  SD) dos grupos de; treinamento de força (ST; n = 5) treinamento de força e 90 (ST90; n = 5) e 150 (ST150; n = 5) dias de suplementação com óleo de peixe, antes (PRE) e após (POS) o período de treinamento e (BASE) para o grupo ST150 durante o período que recebeu apenas suplementação.

| Ácidos Graxos          | ST (n = 5)     |                | ST90 (n = 5)   |                | ST150 (n =5)   |                |                |
|------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                        | PRE            | POS            | PRE            | POS            | BASE           | PRE            | POS            |
| EPA (20:5 n-3)         | 1,2 $\pm$ 0,2  | 1,2 $\pm$ 0,4  | 1,1 $\pm$ 0,2  | 1,6 $\pm$ 0,3* | 0,8 $\pm$ 0,2  | 1,7 $\pm$ 0,4# | 1,8 $\pm$ 0,3# |
| DHA (22:6 n-3)         | 6,1 $\pm$ 1,3  | 5,3 $\pm$ 1,5  | 6,5 $\pm$ 1,1  | 7,8 $\pm$ 1,1* | 5,6 $\pm$ 1,1  | 8,4 $\pm$ 1,5# | 7,9 $\pm$ 1,2# |
| Araquidônico (20:4n)   | 3,1 $\pm$ 0,1  | 2,9 $\pm$ 0,1  | 2,8 $\pm$ 0,2  | 2,5 $\pm$ 0,7  | 2,6 $\pm$ 1,2  | 2,5 $\pm$ 0,9  | 2,4 $\pm$ 0,6  |
| a-linolênico (18:3n-3) | 0,7 $\pm$ 0,2  | 1,0 $\pm$ 0,8  | 0,8 $\pm$ 0,2  | 0,8 $\pm$ 0,6  | 0,9 $\pm$ 0,5  | 1,1 $\pm$ 0,5  | 1,2 $\pm$ 0,5  |
| Linoléico (18:2 n-6)   | 23,0 $\pm$ 1,5 | 22,4 $\pm$ 1,1 | 22,6 $\pm$ 1,0 | 21,5 $\pm$ 2,3 | 22,4 $\pm$ 3,9 | 21,5 $\pm$ 2,2 | 20,3 $\pm$ 2,4 |
| Oléico (18:1 n-9)      | 20,4 $\pm$ 2,8 | 19,2 $\pm$ 2,1 | 20,3 $\pm$ 2,1 | 20,2 $\pm$ 1,9 | 18,7 $\pm$ 1,8 | 18,5 $\pm$ 1,9 | 18,2 $\pm$ 1,9 |
| Esteárico (18:0)       | 2,7 $\pm$ 0,4  | 2,5 $\pm$ 1,3  | 2,8 $\pm$ 0,2  | 2,9 $\pm$ 0,2  | 3,1 $\pm$ 1,0  | 3,4 $\pm$ 1,2  | 3,1 $\pm$ 0,7  |
| Palmitoléico(16:1 n-7) | 1,2 $\pm$ 0,5  | 0,9 $\pm$ 0,3  | 1,4 $\pm$ 0,5  | 1,3 $\pm$ 0,2  | 1,3 $\pm$ 0,5  | 1,5 $\pm$ 0,7  | 1,4 $\pm$ 0,5  |
| Palmítico (16:0)       | 13,9 $\pm$ 0,2 | 13,0 $\pm$ 1,3 | 12,7 $\pm$ 1,2 | 12,6 $\pm$ 0,4 | 14,2 $\pm$ 3,2 | 15,1 $\pm$ 2,1 | 14,3 $\pm$ 2,0 |
| Mirístico (14:0)       | 4,1 $\pm$ 2,7  | 6,2 $\pm$ 2,1  | 5,1 $\pm$ 1,6  | 6,1 $\pm$ 1,9  | 5,2 $\pm$ 1,9  | 6,1 $\pm$ 1,9  | 5,8 $\pm$ 2,4  |
| Laurico (12:0)         | 25,2 $\pm$ 4,4 | 25,5 $\pm$ 3,8 | 26,1 $\pm$ 4,1 | 24,9 $\pm$ 3,7 | 22,7 $\pm$ 3,8 | 22,3 $\pm$ 3,1 | 21,9 $\pm$ 3,9 |

\* diferença entre PRE e POS treinamento (p <0,05).

# diferença com relação a BASE (p <0,05).

## 5.2. Parâmetros Neuromusculares.

Os parâmetros neuromusculares envolveram resultados de pico de torque (PT), taxa de desenvolvimento de torque (RTD), eletromiografia (RMS), atraso eletromecânico (EMD), velocidade de condução neural motora (VCN) e testes funcionais.

### **5.2.1 Pico de torque (PT).**

Foram investigados os picos de torque (PT) dos músculos flexores e extensores do joelho, flexores e extensores do tornozelo nas condições pré e pós-treinamento nos grupos ST, ST90 e ST150, onde os resultados estão apresentados na Figura 12. Nas condições pré-treinamento não houve diferença no PT entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Aumento no PT dos músculos flexores e extensores do joelho, flexores e extensores do tornozelo foi observado em todos os grupos, nas condições pré e pós treinamento (efeito tempo;  $p < 0,05$ ). No entanto, os grupos suplementados tiveram um aumento significativamente maior no PT do que o grupo ST em todos os músculos avaliados pós-treino ( $p < 0,05$ ), revelando efeitos de interação. Maior período de suplementação não causou nenhum efeito aditivo no PT, pois ambos os grupos suplementados (ST150 e ST90) apresenta ganho semelhante ( $p > 0,05$ ), mas superior ao ST ( $p < 0,05$ ).

### **5.2.2 Taxa de desenvolvimento de torque (RTD)**

A taxa de desenvolvimento de torque (RTD) dos grupos musculares flexores e extensores de joelho, flexores e extensores do tornozelo investigados pré e pós-treinamento nos grupos ST, ST90 e ST150 estão apresentados na Figura 13 Não houve diferença no RTD pré-treino entre os grupos ( $p > 0,05$ ). A RTD dos músculos flexores e extensores do joelho, flexores e extensores do tornozelo tiveram aumento significativo entre as condições do pré ao pós-treinamento em todos os grupos (efeito tempo;  $p < 0,05$ ). No entanto, os grupos suplementados apresentam aumento significativamente maior no RTD do que o grupo ST, em todos os músculos avaliados pós-treino ( $p < 0,05$ ), revelando efeitos de interação. O longo período de suplementação

não causou nenhum efeito aditivo no RTD pois ambos os grupos suplementados (ST150 e ST90) apresentaram ganhos semelhantes ( $p > 0,05$ ), mas superiores ao ST ( $p < 0,05$ ).

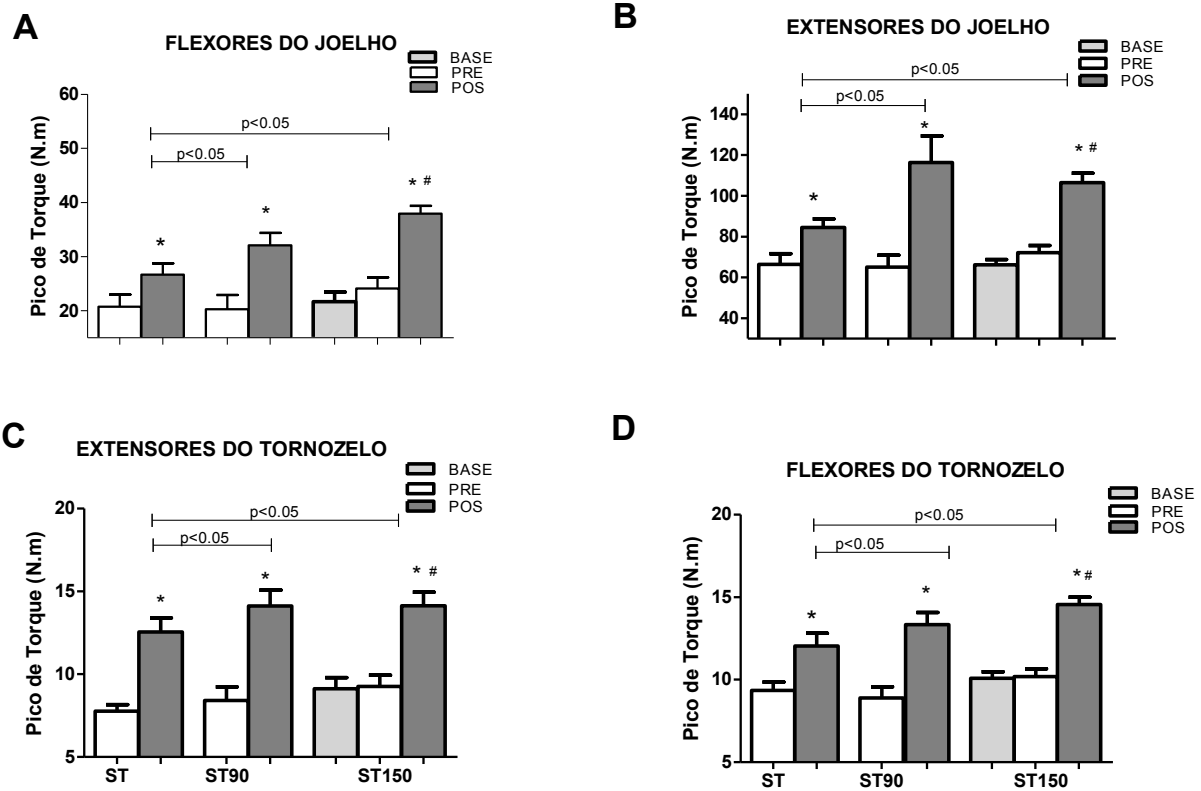


Figura 12 - Pico de torque máximo dos músculos Flexores do Joelho (A), Extensores do Joelho (B), Extensores do Tornozelo (C) e Flexores do Tornozelo (D) dos grupos submetidos a treinamento de força (ST,  $n=15$ ) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90,  $n=15$ ) e 150 (ST150,  $n=15$ ) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores representam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs. BASE. ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o posteste de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150.

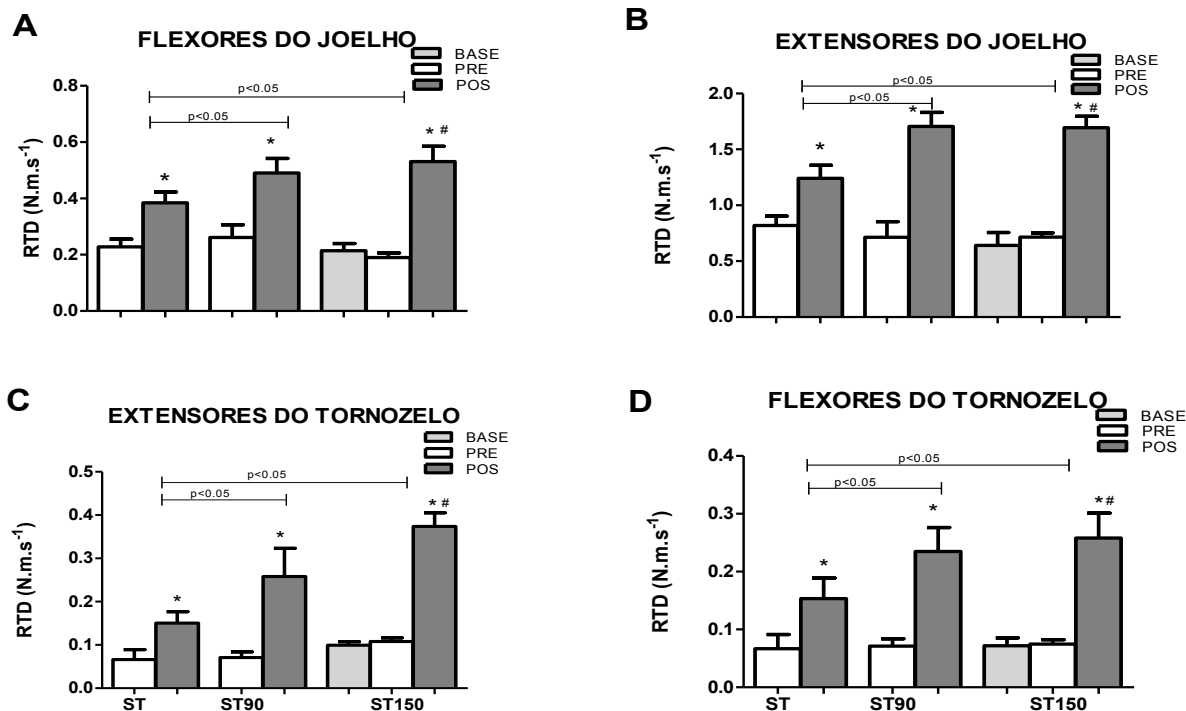


Figura 13 - Taxa de Desenvolvimento de Torque (RTD) dos músculos Flexores do Joelho (A), Extensores do Joelho (B), Extensores do Tornozelo (C) e Flexores do Tornozelo (D) dos grupos submetidos a treinamento de força (ST, n=15) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs BASE. ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150.

### 5.2.3. Análise da ativação muscular (EMG)

O nível de ativação muscular foi determinado pelo cálculo da raiz quadrada média (RMS) para os músculos investigados pré-e pós-treinamento (Figura 14). Os valores pré-treinamento da RMS foram semelhantes entre os grupos experimentais ( $p > 0,05$ ). RMS aumentou do pré ao pós-treinamento em todos os grupos ( $p < 0,05$  vs pré-). Nos grupos suplementados (ST90 e ST150) o RMS dos músculos; vasto lateral, reto femoral, bíceps femoral, tibial anterioris e sóleo tiveram aumentou significativo quando comparados ao grupo ST (interação;  $p < 0,05$ ). A suplementação, por período



maior (ST150), causou mudança na RMS apenas no músculo gastrocnêmio, o qual apresentou maior atividade no ST150 quando comparado ao grupo ST90 ( $p < 0,05$ ). Também no músculo gastrocnêmio não foram observadas diferenças entre os grupos ST e ST90 (interação;  $p > 0,05$ ), porém as diferenças só foram observadas no grupo (ST150), suplementado por um período maior (interação;  $p < 0,05$ ).

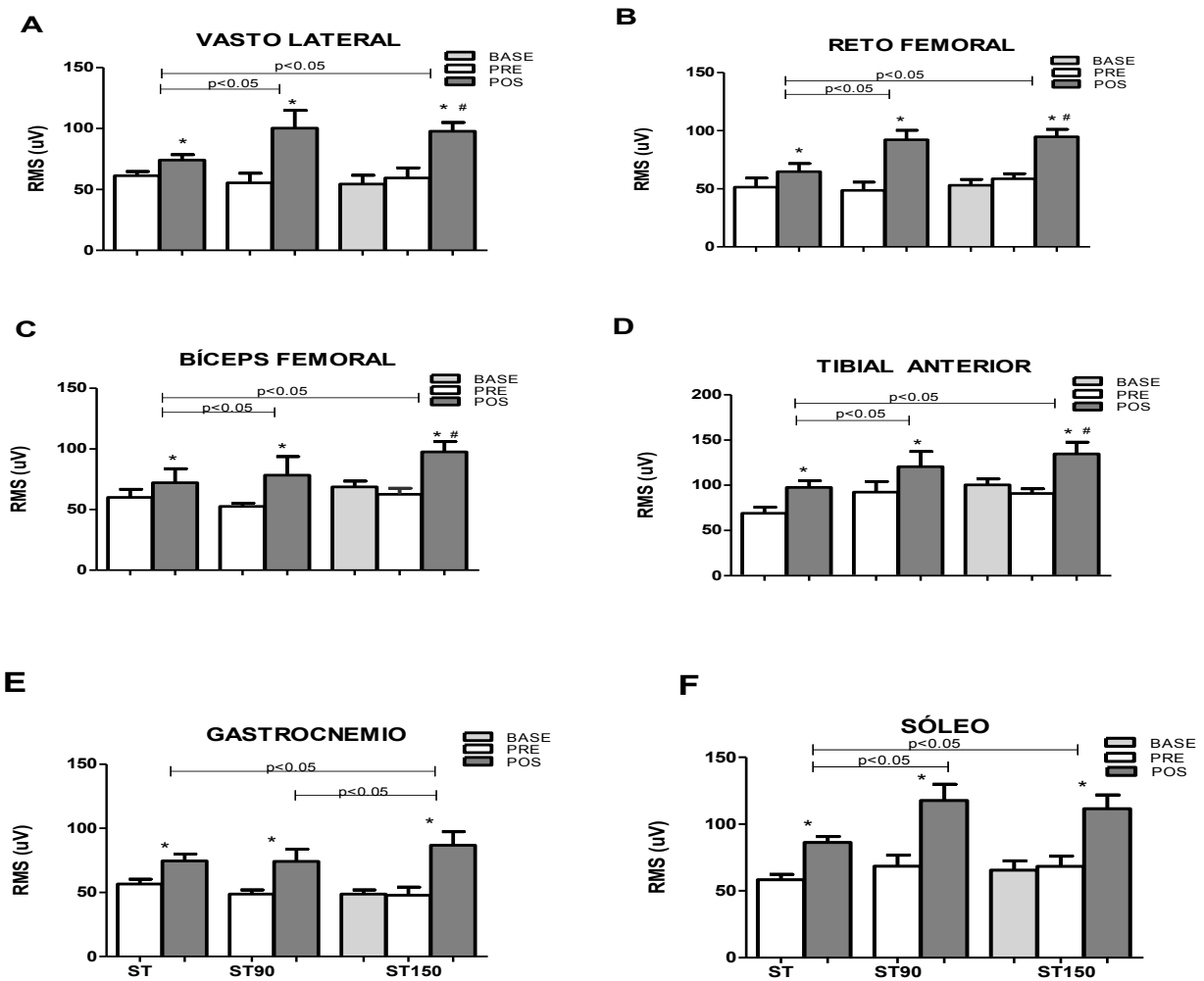


Figura 14. Ativação Muscular (RMS) dos músculos Vasto Lateral (A), Bíceps Femoral (B), Reto Femoral (C), Tibial Anterior (D), Sóleo (E) e Gastrocnêmio (F) dos grupos submetidos a treinamento de força (ST,  $n=15$ ) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90,  $n=15$ ) e 150 (ST150,  $n=15$ ) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs. BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150.

#### **5.2.4. Atraso eletromecânico (EMD)**

O intervalo de tempo entre o início do movimento e o início do sinal eletromiográfico é chamado de atraso eletromecânica (EMD) e os resultados estão apresentados na Figura 15. Não houve diferença no EMD no pré-treinamento entre todos os grupos ( $p>0,05$ ). Os músculos reto femoral e gastrocnêmio do grupo ST tiveram diminuição significativa do EMD entre o pré e pós-treinamento ( $p<0,05$ ). Os grupos suplementados (ST90 e ST150) reduziram acentuadamente o EMD de todos os músculos entre o pré e pós-treinamento (efeito tempo;  $p<0,05$ ). Os grupos suplementados (ST90 e ST150) apresentaram redução significativa no EMD quando comparados com o grupo ST ( $p<0,05$ ). Nenhuma diferença ( $p<0,05$ ) foi encontrada entre os grupos suplementados (ST90 e ST150). Os grupos suplementados apresentaram EMD reduzido quando comparados ao grupo que só treinou força ST ( $p<0,05$ ).

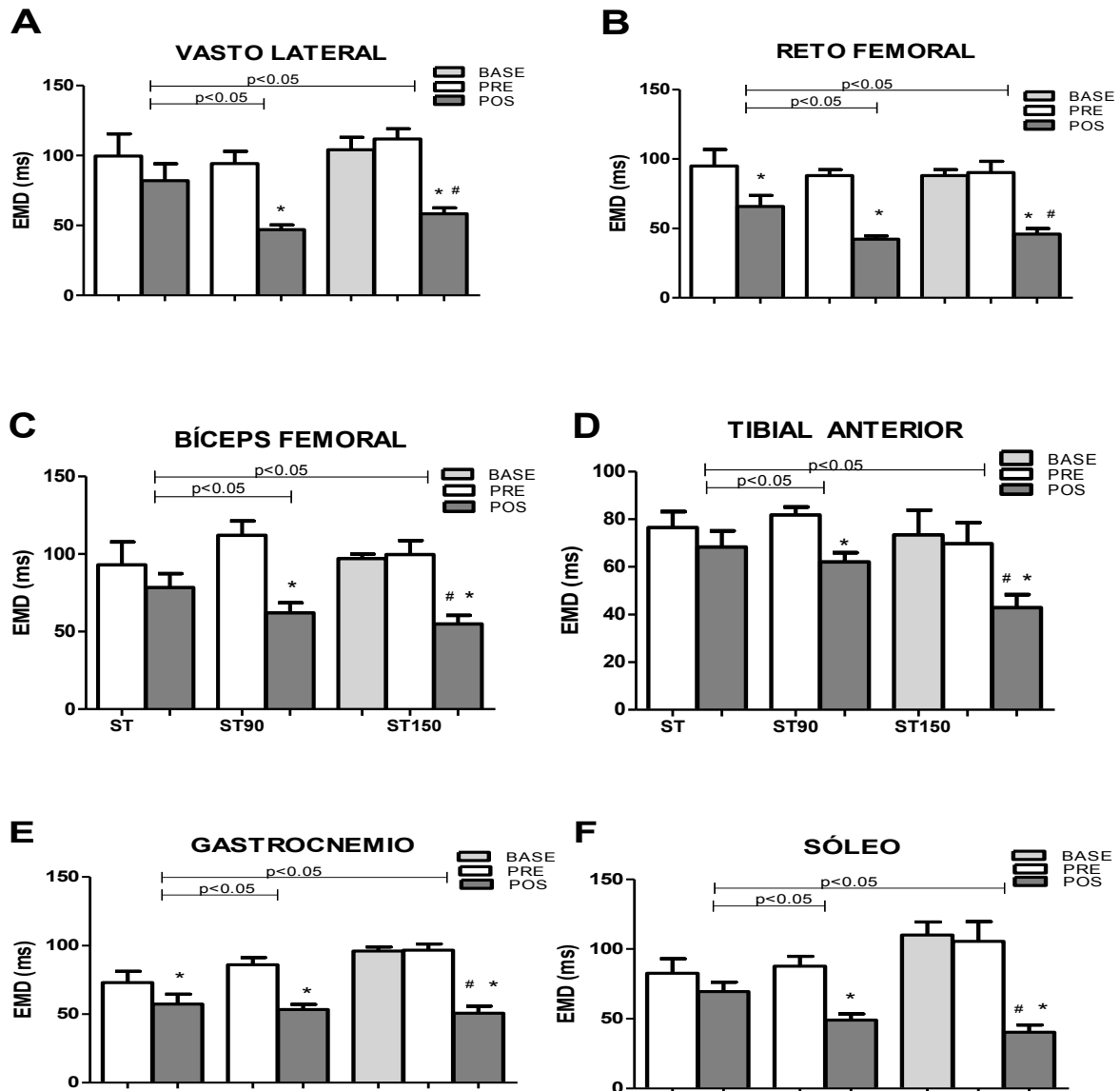


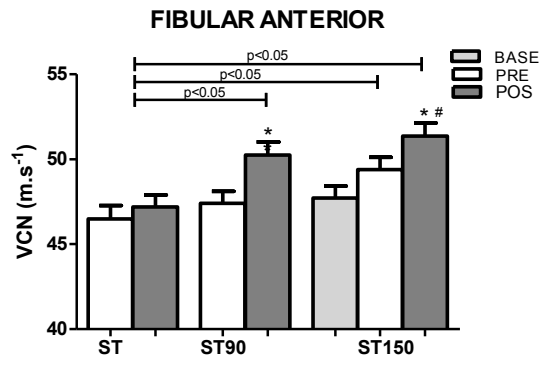
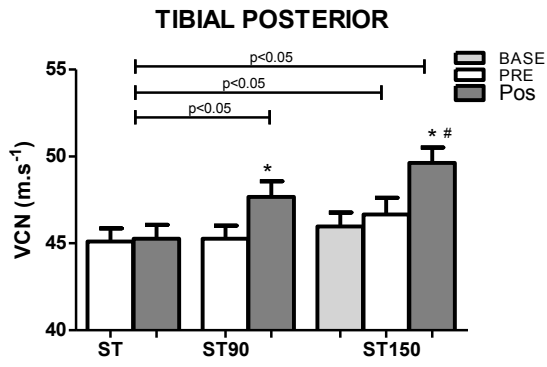
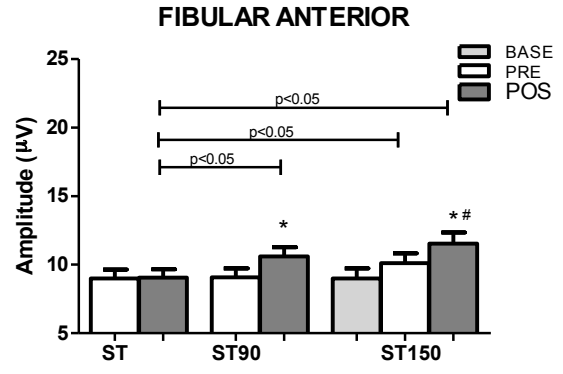
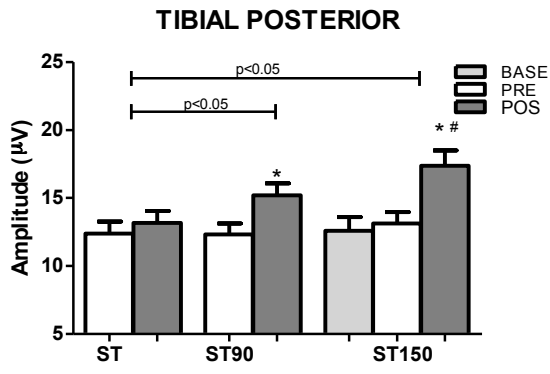
Figura 15 – Atraso Eletromecânico (EMD) dos músculos Vasto Lateral (A), Reto Femoral (B), Gastrocnemio (C), Sóleo (D), Bíceps Femoral (E) e Tibial Anterior (F) dos grupos submetidos a treinamento de força (ST, n=15) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs. BASE. Uma ANCOVA para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo), tendo os dados do pré-treinamento como covariada e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. O teste t para medidas repetidas não revelou diferenças ( $p > 0,05$ ) entre a base e o pré-teste do grupo ST150.

### **5.2.5. Teste de velocidade de condução nervosa motora (VCN-M)**

A velocidade de condução nervosa motora (VCN-M), é determinada pela aplicação de estímulo elétrico em nervo motor e, o tempo que leva para percorrer uma determinada distância e causar a contração muscular. Os resultados estão representados na Figura 16. Não houve diferença na (VCN-M) no pré-treinamento de todos os grupos ( $p>0,05$ ). O treinamento de força não foi capaz de causar alterações no grupo ST entre o PRE e POS teste ( $p>0,05$ ). Os grupos suplementados (ST150 e ST90) apresentaram aumento significativo na VCN-M quando comparado com ST ( $p<0,05$ ). Nenhuma diferença ( $p<0,05$ ) foi encontrada entre os grupos suplementados (ST90 e ST150). Os dados do grupo ST150 também permaneceram sem alterações significativas ( $p>0,05$ ) entre o período onde só havia a suplementação de óleo de peixe (BASE) e o início do período de treinamento associado à suplementação (PRE).

### **5.2.6 Testes funcionais**

A capacidade funcional das idosas foi determinado pelos teste: a) caminhada de 6 minutos, b) levantar e sentar na cadeira em 30 segundos, c) levantar e caminhar e o d) teste de sentar e alcançar nas condições pré e após treinamento (Figura 17). Não houve diferença significativa entre os grupos pré-treinamento em qualquer um desses testes avaliados ( $p>0,05$ ). Houve melhora significativa ( $p<0,05$  vs pré-teste) em todos os grupos (ST, ST90 e ST150) nos testes; caminhada de 6 minutos, levantar da cadeira em 30 segundos e de levantar e caminhar, após as intervenções de treinamento.



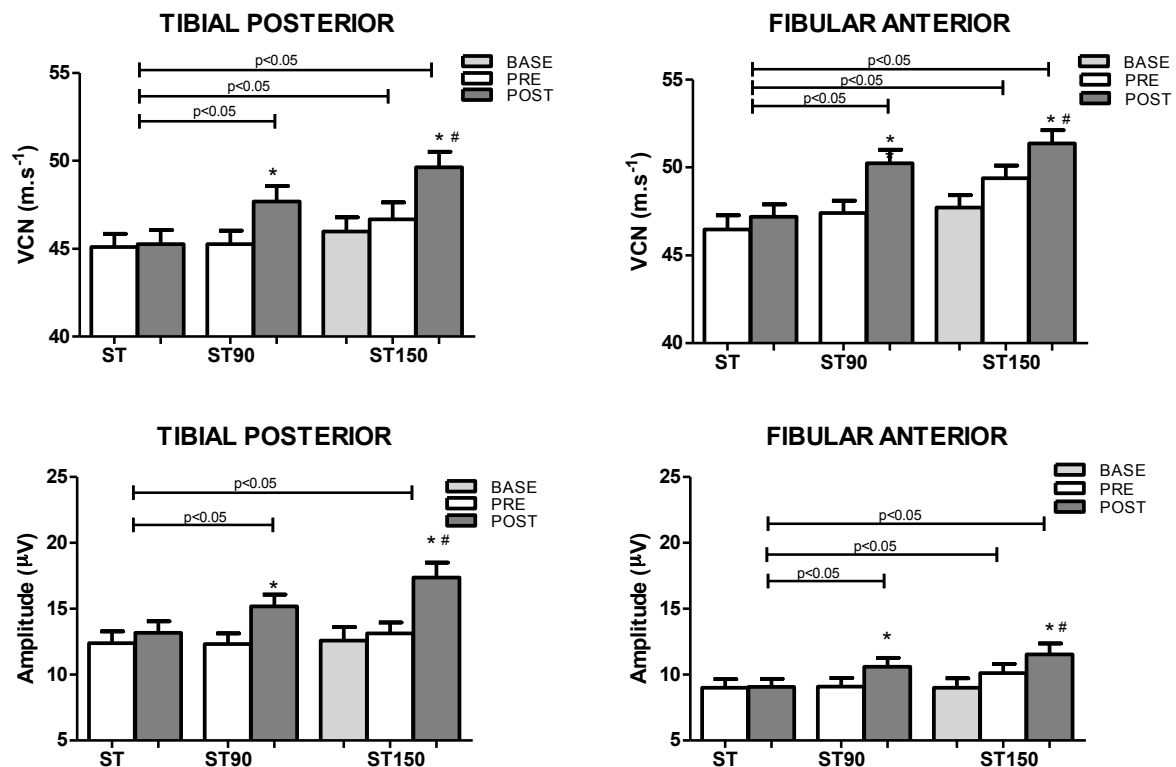


Figura 16 – Velocidade de Condução Nervosa e Amplitude do sinal dos músculos Tibial Posterior e Fibular anterior dos grupos submetidos a treinamento de força (ST, n=15) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média ± DP; \* p<0,05 vs. PRE; # p<0,05 vs. BASE. Uma ANOVA para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças (p<0,05) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150. O teste t para medidas repetidas não revelou diferenças (p> 0,05) entre a BASE e o PRE do grupo ST150.

No entanto, os grupos suplementados (ST90 e ST150) mostraram melhor desempenho no teste de levantar da cadeira em 30 segundos, quando comparados ao grupo ST (p<0,05). A suplementação por período maior (ST150) não causou diferença no teste de levantar da cadeira em 30 segundos, caminhada de 6 minutos, e levantar e

caminhar entre o grupo suplementado por menos tempo ( $p > 0,05$  vs ST90), os quais mostraram resultados similares. Não houve alterações no teste de sentar e alcançar tanto para o grupo que só treinou força como para os grupos suplementados ( $p > 0,05$  vs PRE).

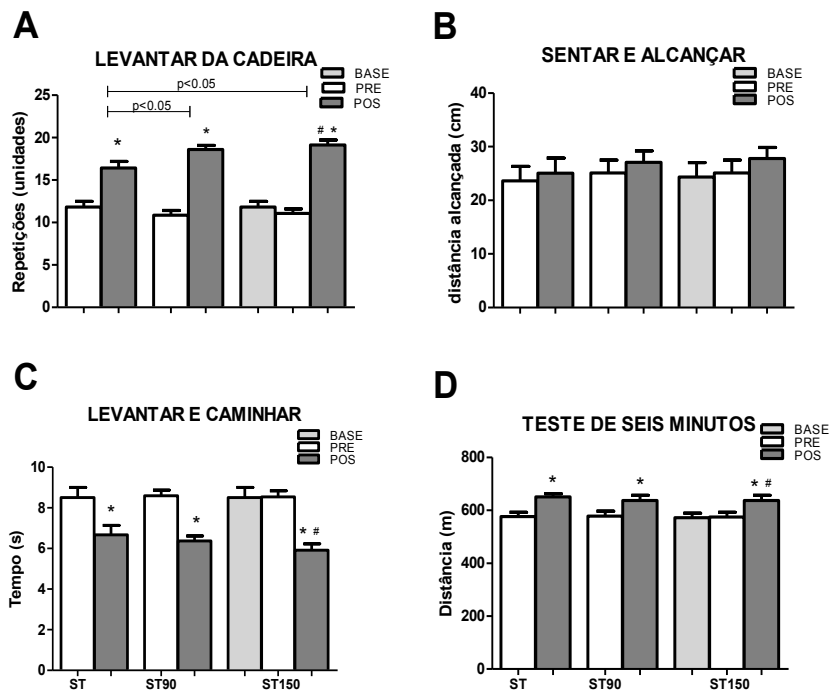


Figura 17 – Testes Funcionais: Levantar da cadeira em 30 segundos (A), Sentar e alcançar (B), Levantar e caminhar (C) e Caminhada de 6 minutos (D) dos grupos submetidos a treinamento de força (ST, n=15) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicado para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas não revelou diferenças ( $p > 0,05$ ) entre a base e o pré-teste do grupo ST150.

### **5.3. Parâmetros imunitários**

Para observar os efeitos de um programa de exercício resistido combinado com a suplementação de óleo de peixe sobre o sistema imunitário em idosos foram investigados alguns parâmetros da imunidade inata (5.3.1) e adaptativa (5.3.2).

Nos parâmetros da imunidade inata foram quantificados, nos neutrófilos, a fagocitose de zimosan (5.3.1.1), volume lisossomal (5.3.1.2), produção de ânion superóxido (5.3.1.3) e de peróxido de hidrogênio (5.3.1.4). Nos parâmetros da imunidade adaptativa a população de linfócitos CD4 e CD8 (5.3.2.1) e a produção de citocinas pró e anti-inflamatorias em linfócitos sanguíneos (5.3.2.2).

#### **5.3.1 Imunidade inata.**

##### **5.3.1.1 Fagocitose de Zimosan.**

A fagocitose de zimosan pelos neutrófilos obtidos do sangue das idosas nas condições pré-e pós-treinamento nos grupos ST, ST90 e ST150 estão apresentados na Figura 18. Não foram encontradas diferenças na fagocitose de zimosan entre os grupos nas condições pré-treinamento grupos ( $p > 0,05$ ). O grupo ST não apresentou mudanças entre as condições pré e pós-treinamento (efeito tempo;  $p > 0,05$ ). No entanto, os grupos suplementados (ST90 e ST150) apresentaram aumento na a fagocitose de 48 e 49%, respectivamente (efeito tempo;  $p < 0,05$ ). O aumento encontrado nos valores iniciais do grupo ST150 (BASE–PRE) revelam que a suplementação com óleo de peixe causa mudanças sobre a fagocitose (50%;  $p < 0,05$ ). O período prolongado de suplementação (ST150, PRE-POS) não causou efeito aditivo sobre a fagocitose, pois ambos os grupos



suplementados (ST150 e ST90) apresentaram ganho semelhante ( $p>0,05$ ), porém significativamente maiores quando comparados ao grupo ST (efeito interação;  $p<0,05$ ).

Os dados estão expressos em absorvância (abs)/ $10^6$  cel.mL<sup>-1</sup>.

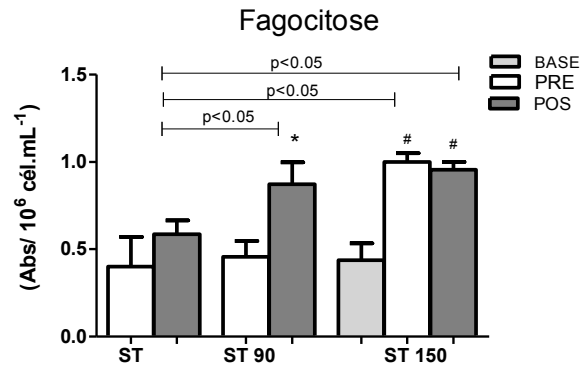


Figura 18 - Fagocitose de zimosan pelos neutrófilos obtidos do sangue de idosas dos grupos submetidos a treinamento de força (ST, n=15) e que treinaram força e foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p<0,05$  vs. PRE; #  $p<0,05$  vs. BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p<0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150.

### 5.3.1.2 Volume Lisossomal.

O volume lisossomal dos neutrófilos sanguíneos das idosas entre as condições experimentais dos grupos ST, ST90 e ST150 encontram-se na Figura 19. Não foram encontradas diferenças no volume lisossomal entre os grupos experimentais na condição pré-treinamento ( $p>0,05$ ). O grupo ST não apresentou mudanças entre as condições pré e pós-treinamento (efeito tempo;  $p>0,05$ ). A suplementação causou aumento no volume lisossomal de aproximadamente 145% e 90% após o treinamento

(ST90 vs PRE e ST150 vs BASE; efeito tempo,  $p < 0,05$ ). A suplementação com óleo de peixe causou aumento no volume lisossomal (95%; BASE vs PRE do grupo ST150; efeito tempo,  $p < 0,05$ ), porém tais ganhos não foram ampliados com a inclusão de exercícios físicos resistidos (ST150, PRE vs POS; efeito tempo  $p > 0,05$ ). Os grupos suplementados tiveram ganho de força similares entre si (efeito interação,  $p > 0,05$ ), mas significativamente maiores quando comparados ao do grupo ST (efeito interação;  $p < 0,05$ ). Os dados encontram-se expressos em absorbância (abs)/ $10^6$  cel.mL<sup>-1</sup>.

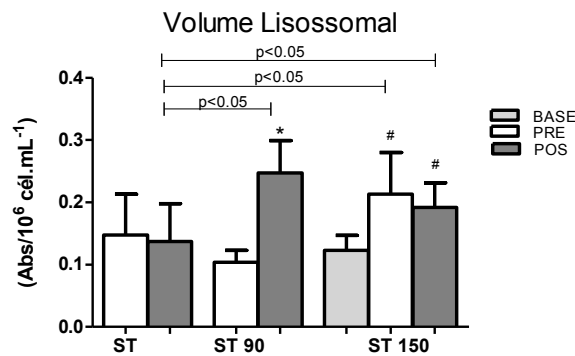


Figura 19 - Volume lisossomal dos neutrófilos sanguíneos dos grupos submetidos a treinamento de força (ST, n=15), que treinaram força e que foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150.

### 5.3.1.3 Ânion superóxido

A produção de espécie reativa de oxigênio (ânion superóxido) das idosas que foram submetidas a treinamento físico e suplementação de óleo de peixe (ST, ST90 e ST150) encontram-se na Figura 20. Não foram encontradas diferenças na produção de

espécie reativa de oxigênio (ânion superóxido) entre os grupos experimentais na condição PRE treinamento ( $p > 0,05$ ). A suplementação com óleo de peixe causou um aumento nos grupos ST90 (efeito tempo; PRE vs POS,  $p < 0,05$ ) e ST150 (efeito tempo; BASE vs PRE,  $p < 0,05$ ) de 32% e 43%, respectivamente. Não foram encontradas diferenças no grupo ST (efeito tempo;  $p > 0,05$ ). O grupo ST150 não teve influencia quando a o exercício físico foi aplicado (efeito tempo;  $p > 0,05$ ; PRE vs POS). Os grupos suplementados apresentaram redução do ânion superóxido maior do que aquela observada no grupo que recebeu apenas o treinamento físico (efeito interação;  $p < 0,05$ ).

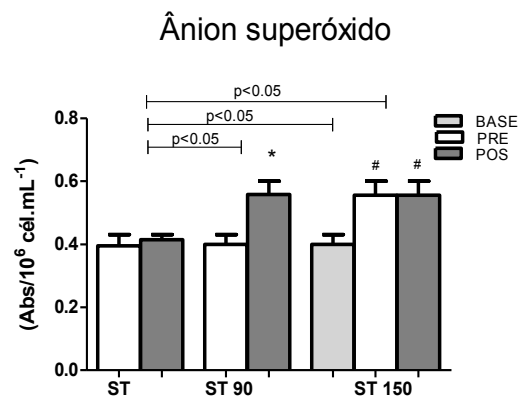


Figura 20 – Produto de ânion superóxido pelos neutrófilos de idosas submetidas a treinamento de força (ST, n=15), que treinaram força e que foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p < 0,05$  vs. PRE; #  $p < 0,05$  vs. BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p < 0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150.

#### 5.3.1.4 Peróxido de Hidrogênio

A avaliação de peróxido de hidrogênio pelos neutrófilos obtido do sangue das idosas nas condições PRE e POS treinamento nos grupos ST, ST90 e ST150 estão

apresentados na Figura 21. Não foram encontradas diferenças na produção de peróxido de hidrogênio entre os grupos nas condições pré-treinamento grupos ( $p>0,05$ ). O grupo ST não apresentou mudanças entre as condições pré e pós-treinamento (efeito tempo;  $p>0,05$ ). No entanto, os grupos suplementados (ST90 e ST150) apresentaram aumento na produção de peróxido de hidrogênio de aproximadamente 66 e 85%, respectivamente (efeito tempo;  $p<0,05$ ).

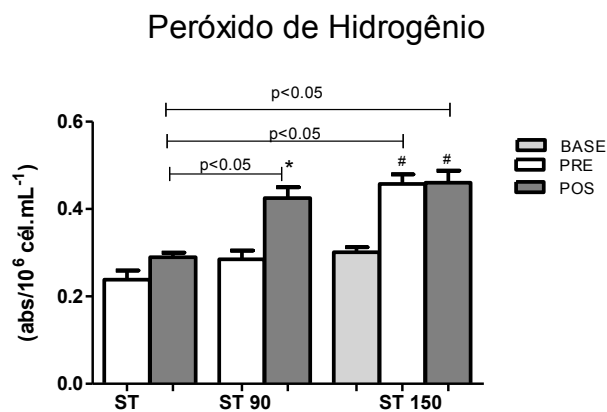


Figura 21 – Peróxido de hidrogênio dos grupos submetidos a treinamento de força (ST, n=15), que treinaram força e que foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \*  $p<0,05$  vs. PRE; #  $p<0,05$  vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças ( $p<0,05$ ) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150.

O aumento encontrado nos valores iniciais do grupo ST150 (BASE vsPRE) sugerem que a suplementação com óleo de peixe causa mudanças sobre o peróxido de hidrogênio (80%;  $p<0,05$ ). O período prolongado de suplementação (ST150, PRE vs POS) não causou efeito aditivo sobre este parâmetro peróxido de hidrogênio, pois ambos os grupos suplementados (ST150 e ST90) apresentaram ganhos semelhantes

entre si ( $p>0,05$ ), porém significativamente maiores quando comparados ao grupo ST (efeito interação;  $p<0,05$ ). Os dados são expressos em absorvância (abs)/ $10^6$  cel.mL<sup>-1</sup>.

### **5.3.2. Parâmetros da imunidade adaptativa**

#### **5.3.2.1 População de linfócitos CD4 e CD8**

A população de linfócito CD4 e CD8 obtidos do sangue das idosas nas condições BASE, PRE e POS treinamento no grupo ST150 ( $n=7$ ) estão apresentados na Figura 22. Esse parâmetro foi quantificado apenas para o grupo ST150 antes da suplementação de óleo de peixe (BASE), após um período de 2 meses de suplementação (PRE ST150) e após suplementação alimentar com óleo de peixe e treinamento físico resistido (POS ST150). A análise estatística revelou que a suplementação com óleo de peixe causou aumentos na população de linfócitos CD4 e CD8 ( $p<0,05$ ), as quais permaneceram inalteradas quando a suplementação foi combinada com o treinamento físico ( $p>0,05$ ).

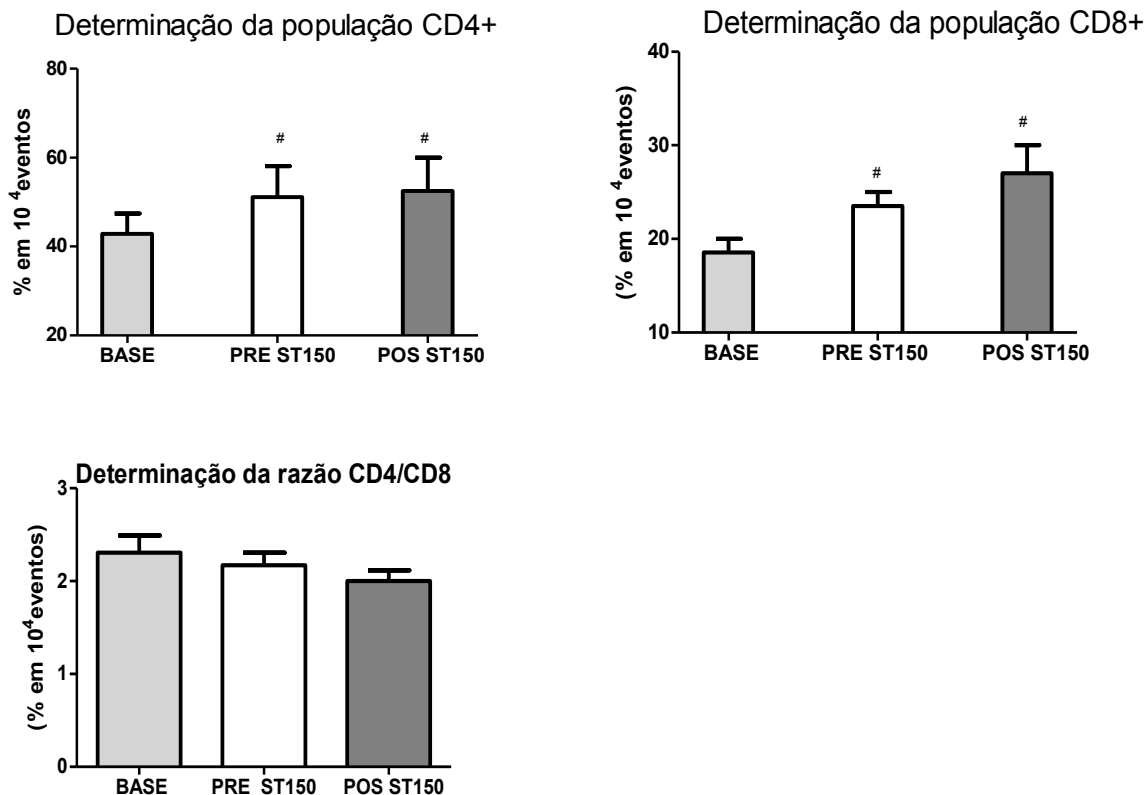


Figura 22 – População de linfócitos CD4 (painel superior esquerdo), CD8 (painel superior direito) e razão entre CD4 e CD8 (painel inferior esquerdo) do grupo submetido a treinamento de força (n=7) antes (BASE), após receber suplementação de óleo de peixe durante 150 dias (PRE ST150) e após receber suplementação de óleo de peixe associada a um programa de exercícios físicos resistidos (POS ST150). Os valores indicam média  $\pm$  DP; # p<0,05 vs BASE. Uma ANOVA para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre o efeito dos grupos (tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram.

### 5.3.2.2 Citocinas pró e anti-inflamatórias

A produção de citocinas pró e anti-inflamatórias pelos linfócitos obtidos do sangue das idosas nas condições BASE, PRE e POS treinamento no grupo ST150 (n=7) estão apresentados na Figura 23. Esses parâmetros foram quantificados apenas para o

grupo ST150 antes da suplementação de óleo de peixe (BASE), após um período de 2 meses de suplementação (PRE ST150) e após suplementação alimentar com óleo de peixe e treinamento físico resistido (POS ST150). A concentração de TNF- $\alpha$  mostrou-se sensível à combinação de exercícios físicos associados à suplementação de óleo de peixe ( $p < 0,05$ ). Não foram observadas reduções no TNF- $\alpha$  em resposta apenas à suplementação de óleo de peixe (PRE;  $p > 0,05$ ).

O IL6 e IL10 apresentaram comportamento similar em que suas concentrações se elevaram significativamente após a suplementação ( $p < 0,05$  vs BASE). Essa elevação foi mantida em relação ao estado inicial (BASE;  $p < 0,05$ ), porém não ocorreram incrementos nesses marcadores quando o exercício físico foi introduzido ( $p > 0,05$ ).

O IL2 e o IFN- $\gamma$  apresentaram semelhanças em relação ao protocolo experimental do estudo e apresentaram aumento após o período de suplementação ( $p < 0,05$  vs BASE). A inclusão do exercício físico incrementou ainda mais a produção destas citocinas. quando o exercício físico foi combinado à suplementação de óleo de peixe (PRE VS POS;  $p < 0,05$ ).

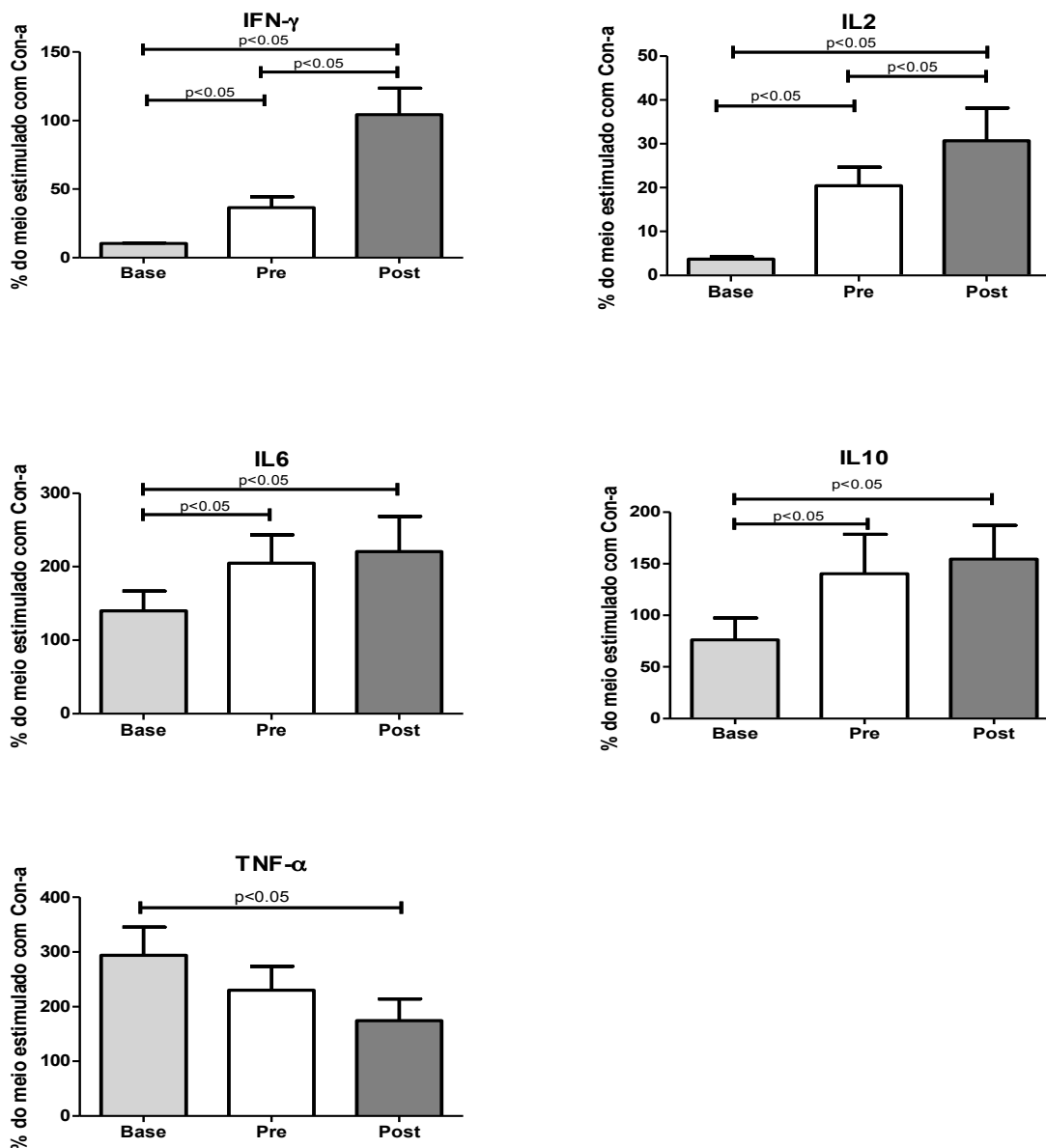


Figura 23. – Fator de crescimento tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ; painel superior esquerdo), interleucina 2 (IL2; painel superior direito), interleucina 6 (IL6; painel central esquerdo), interleucina 10 (IL10; painel central direito) e interferon gama (IFN- $\gamma$ - painel inferior esquerdo) do grupo submetido a treinamento de força (n=7) antes (BASE), após receber suplementação de óleo de peixe durante 150 dias (PRE ST150) e após receber suplementação de óleo de peixe associada a um programa de exercícios físicos resistidos (POS ST150). Os valores indicam média  $\pm$  DP. Uma ANOVA para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre o efeito dos grupos (tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram.



#### 5.4. Parâmetros sanguíneos

Os efeitos de um programa de suplementação com óleo de peixe e sua associação a um programa de exercícios físicos resistidos sobre um conjunto de parâmetros sanguíneos de idosos foi analisado antes (BASE), após um período de suplementação (POS) e após um período de suplementação combinado a um programa de exercícios resistidos (POS). Os resultados encontram-se na Figura 24.

Os valores iniciais de todos os grupos (PRE grupos ST e ST90; BASE ST150) foram similares em todos os parâmetros analisados ( $p > 0,05$ ). Colesterol total e colesterol LDL permaneceram inalterados em todas as condições experimentais ( $p > 0,05$ ). A glicemia do grupo ST permaneceu inalterada mesmo após o programa de treinamento ter sido aplicado ( $p > 0,05$ ). Todavia, quando o treinamento foi combinado com a suplementação de óleo de peixe, reduções na glicemia foram encontradas (ST90;  $p < 0,05$ ). O efeito da suplementação isolada não causou reduções na glicemia (ST150 BASE vs PRE,  $p > 0,05$ ). Reduções na glicemia foram encontradas quando o exercício físico foi combinado com a suplementação de óleo de peixe (ST150 POS vs PRE,  $p < 0,05$ ).

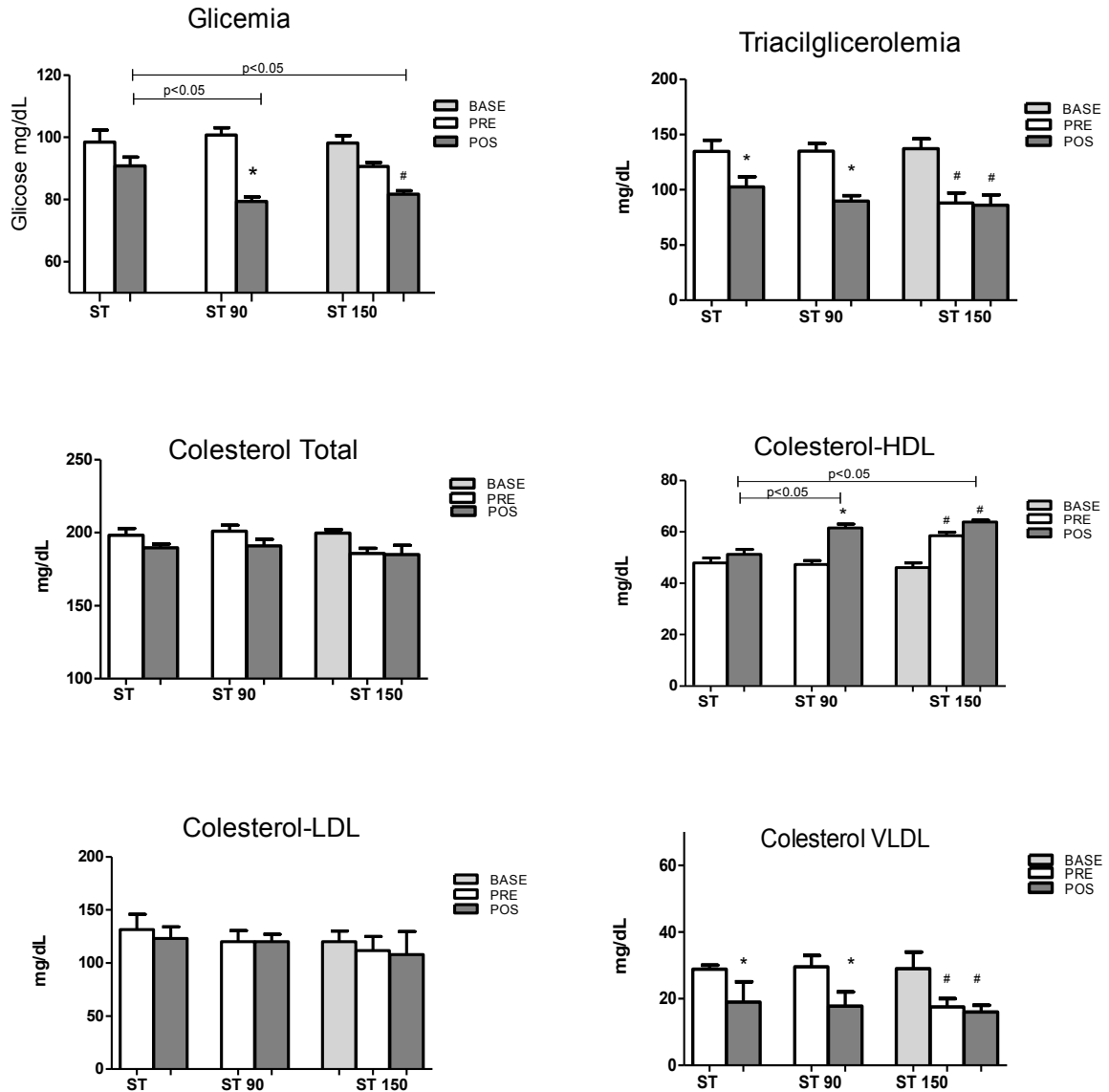


Figura 24 – Parâmetros plasmáticos sanguíneos de glicemia (painel superior esquerdo), triglicerolemia (painel superior direito), colesterol total (painel central esquerdo), colesterol HDL (painel central direito), colesterol LDL (painel inferior esquerdo) e colesterol VLDL (painel inferior direito). Em idosas submetidas a treinamento de força (ST, n=15), que treinaram força e que foram suplementados com óleo de peixe durante 90 (ST90, n=15) e 150 (ST150, n=15) dias, antes (PRE) e após (POS) o treinamento. Os valores indicam média  $\pm$  DP; \* p<0,05 vs. PRE; # p<0,05 vs BASE. Uma ANOVA com dois fatores para medidas repetidas foi aplicada para identificar diferenças entre os fatores (grupo e tempo) e o teste t de Bonferroni foi aplicado para determinar onde as diferenças ocorreram. O teste t para medidas repetidas revelou diferenças (p<0,05) entre as medidas BASE e o PRE do grupo ST150.

A triacilglicerolemia foi reduzida significativamente quando o exercício físico foi aplicado (ST PRE vs POS,  $p < 0,05$ ), quando o exercício físico foi acompanhado de suplementação com óleo de peixe (ST90 PRE vs POS,  $p < 0,05$ ) e quando apenas a suplementação de óleo de peixe foi ministrada (ST150 BASE vs PRE,  $p < 0,05$ ). Não foram encontrados reduções adicionais quando a suplementação alimentar foi acompanhada de exercícios físicos (ST150 PRE vs POS,  $p > 0,05$ ).

O colesterol HDL não sofreu influência do exercício físico isolado (ST PRE vs POS,  $p > 0,05$ ). Todavia, o exercício físico foi efetivo quando acompanhado de suplementação com óleo de peixe (ST90 PRE vs POS,  $p < 0,05$ ). De fato, a dieta com óleo de peixe parece causar ganhos importantes no colesterol HDL (ST150 BASE vs PRE). O exercício físico não causou aumento adicional na concentração de colesterol HDL (ST150 PRE vs POS,  $p > 0,05$ ). A análise estatística revelou que os efeitos do exercício físico resistido combinados com suplementação de óleo de peixe são mais pronunciados do que quando esses fatores são ministrados isoladamente (efeito de interação;  $p < 0,05$ ).

O colesterol VLDL foi influenciado tanto pela atividade física (ST PRE vs POS,  $p < 0,05$ ) quanto pela suplementação com óleo de peixe (ST150 BASE vs ST150 PRE,  $p < 0,05$ ). A associação de exercício físico resistido e suplementação com óleo de peixe também foi efetiva para reduzir a concentração de VLDL (ST90 PRE vs POS,  $p < 0,05$ ). Um período prolongado de exercícios físicos resistidos e suplementação alimentar não causaram reduções adicionais sobre a concentração de VLDL (ST150 PRE vs POS,  $p < 0,05$ ).

## 6.0 DISCUSSÃO

O presente estudo objetivou determinar os efeitos de um treinamento de força muscular associado à suplementação com óleo de peixe sobre o sistema neuromuscular, sistema imunitário e parâmetros bioquímicos sanguíneos de mulheres idosas. Inicialmente, os dados relativos às adaptações no sistema neuromuscular foram discutidos e em seguida, os dados sobre as modificações do sistema imunitário e parâmetros sanguíneos foram abordados.

Antes de iniciar a discussão sobre os efeitos do treinamento e da suplementação alimentar propriamente dita, algumas premissas foram testadas a fim de identificar e reduzir a interferência de determinados fatores sobre as variáveis manipuladas no presente estudo. A primeira delas, foi identificar alterações sobre o nível de atividade física dos participantes, a qual permaneceu inalterada ao longo do período de realização do experimento. A estabilidade do nível de atividade física durante o estudo permite atribuir as modificações sobre o sistema neuromuscular exclusivamente aos protocolos experimentais aplicados. Além disso, a magnitude dos ganhos sobre a performance do sistema neuromuscular também pode ser parcialmente explicada pelo baixo nível de atividade física dos participantes no início do experimento.

A segunda premissa refere-se ao controle dos hábitos alimentares, os quais poderiam ter influência da ingestão calórica, bem como os tipos e quantidades de ácidos graxos consumidos. O recordatório de três dias permitiu identificar comportamento relativamente estável na dieta alimentar das idosas entre o período pré e pós-experimental, independente do macronutriente analisado (carboidrato, proteína

ou lipídios). Dessa forma, a relativa constância observada na ingestão calórica não pode ser visto como fator interveniente sobre os resultados do estudo. Tal estabilidade pode ter contribuído para a manutenção da massa corporal e do índice de massa corporal. Apesar dos indicadores de composição corporal não terem sido realizados, aumentos sobre a massa magra (massa muscular), têm sido amplamente reportados em atividades que envolvem exercícios resistidos (Steib et al., 2010). A hipertrofia muscular tem sido encontrada mesmo em indivíduos com avançada idade (Clark e Manini, 2008). A atividade física também causa importantes modificações sobre a composição corporal, a qual também envolve redução na massa gorda (Visser et al., 2005). Assim, ambos os fatores (aumento da massa muscular e redução na massa gorda) podem ter ocorrido paralelamente e mantido os indicadores antropométricos (massa e índice de massa corporal) relativamente estáveis. As alterações sobre os indicadores antropométricos não foi influenciado pela dieta com óleo de peixe, visto que o grupo que não foi suplementado apresentou resposta similar a dos grupos suplementados. De fato, a quantidade de óleo de peixe fornecida não foi suficiente para aumentar o peso (massa) corporal, mesmo durante um longo período de ingestão.

Finalmente, foi necessário identificar se a suplementação alimentar com óleo de peixe foi efetivamente incorporada através da análise do perfil lipídico sanguíneo das participantes. As análises permitem concluir que houve aumento nas quantidades de EPA e DHA dos grupos ST90 e ST150, em resposta à suplementação alimentar com óleo de peixe. As análises dos perfis lipídicos não revelaram alterações significativas nas concentrações plasmáticas do grupo ST e dos outros ácidos graxos dos grupos ST90 e ST150. Estes resultados levam a sugerir que como ocorreu aumento no plasma

de EPA e DHA nos indivíduos suplementados, uma quantidade deste EPA e DHA foram incorporados nas membranas das células e tecidos e desta forma promoveram uma série de alterações sistêmicas, onde algumas destas foram analisadas no presente estudo.

### **Parâmetros Neuromusculares**

As alterações inerentes à idade ocorrem de forma sistêmica, onde cada sistema orgânico apresenta importantes modificações funcionais. Dentre as várias alterações que acometem os idosos, as mudanças no sistema neuro-muscular possuem um impacto pronunciado sobre a capacidade de produzir força, as quais se refletem e traduzem pela perda da mobilidade (Hughes et al., 2000), independência (Reid et al., 2008; Abellan Van Kan, 2009), aumento no risco de quedas (Persch et al., 2009) e redução da qualidade de vida (Wolinsky et al., 1992). A perda da força muscular, decorrente do envelhecimento, tem se tornado preocupação de saúde pública mundial, pois, vem sendo apontada como uma das causas que leva à morte prematura nesta população (Janssen et al., 2004).

O exercício físico tem sido apontado por vários de estudos como um efetivo meio para a reduzir e/ou reverter as perdas da capacidade contrátil que acompanham o envelhecimento. Vários estudos têm reportado aumentos substanciais na capacidade de produzir força em resposta a programas de atividade física em idosos (Aniansson et al., 1984; Reeves et al., 2004; Ferri et al., 2003; Frontera et al., 1988; Scaglioni et al., 2002). Em geral, as melhorias na capacidade de produção de força do sistema neuromuscular são atribuídas à combinação de adaptações neurais (distribuição do

comando motor para os músculos, modulação da excitabilidade muscular e tempo da descarga das unidades motoras – Enoka, 1997; Hakkinen et al., 2000) e musculares (hipertrofia e alterações intrínsecas do aparato contrátil (Trappe et al., 2001; Reeves et al., 2004). Assim, como o exercício físico, alguns estudos recentes e outros (Smith et al., 2011; Smith et al., 2011a; Naliwaiko et al., 2004; Yehuda et al., 2005) têm apontado a suplementação alimentar como forma de modificar as alterações do sistema neuro-muscular decorrentes do envelhecimento. Dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados n-3 (AG n-3) têm sido apontadas como recurso atrativo e propício para induzir tais modificações. De fato, os lipídios influenciam uma série de processos biológicos que envolvem comunicação celular, interações enzimáticas e atuações em cascatas bioquímicas, envolvidas na produção de respostas específicas de processos fisiológicos (Bradhurst et al., 2002; Farooqui et al., 2001). Além do efeito antiinflamatório, a suplementação com AG n-3 estimula o anabolismo muscular pelo aumento da via de sinalização do mTOR-p70s6k (Smith et al., 2011), também melhora a eficiência da contração muscular através da modulação dos canais de íons do sarcolema (Supari et al., 1995) e aumenta a velocidade de condução nervosa devido a melhora na fluidez e sensibilidade da membrana a íons e a acetilcolina (Gerbi et al., 1999), pode, desta forma, potencializar os efeitos do exercício físico.

No presente estudo foi encontrado que o treinamento resistido induziu aumento sobre o pico de torque nas idosas, o qual está geralmente, diminuído devido ao envelhecimento e/ou desuso. A força muscular observada nos resultados do estudo foi maior do que a reportada em outros estudos. Por exemplo, Ferri et al. (2003), mostraram aumento na força dos músculos extensores do joelho de 19% e dos flexores

plantares de 12%, enquanto Brown et al. (1990) identificaram aumento de 17% nos músculos extensores do joelho. Os ganhos apontados por tais estudos (Ferri et al., 2003; Brown et al., 1990) são menores do que aqueles encontrados no presente estudo. Os maiores ganhos observados no presente estudo (entre 80-150%) podem ser atribuídos ao menor condicionamento inicial dos participantes, visto que a maioria das idosas era sedentária e apresentava baixo nível de atividade física antes do início do treinamento. Maiores ganhos são comuns em participantes sedentários e/ou com reduzida funcionalidade (Cuocco et al., 2004). Em adição, o contínuo controle das cargas de treinamento (ajustadas semanalmente) e a falta de protocolo de familiarização aos movimentos requeridos nos exercícios resistidos podem ter influenciado os resultados. De fato, alguns estudos têm demonstrado elevados ganhos sobre a força isométrica em idosos (entre 33 e 44%), após algumas sessões de exercícios resistidos (Wallerstein et al., 2010). Assim, a falta de período de familiarização associada ao baixo nível de atividade física dos participantes e os procedimentos empregados para ajustar as cargas de treinamento podem explicar os elevados ganhos sobre a força isométrica voluntária máxima. Independentemente desses fatores, o protocolo ministrado foi efetivo para provocar aumento na força isométrica voluntária máxima de todos os grupos musculares testados.

A melhoria da contratilidade muscular modificou a habilidade dos músculos em desenvolver força rapidamente (taxa de desenvolvimento de torque), que é um importante parâmetro para os idosos, devido a sua contribuição para a realização de várias tarefas diárias (Clark e Manini, 2010) e por estar intimamente relacionada a habilidade de recuperar-se de um escorregão ou tropeço na prevenção de quedas. Os



estudos que analisaram a taxa de desenvolvimento de força em resposta ao treinamento têm apresentado respostas diversas. Por exemplo, Wallerstein et al., (2010) não reportaram melhorias na taxa de desenvolvimento de força em resposta ao treinamento de força ou potência muscular. Por outro lado, outros estudos têm apresentado aumentos importantes em resposta ao treinamento de força e de potência (Aagard et al., 2007; Kyrolainen et al., 2005). Provavelmente, à semelhança do que ocorreu com o pico máximo de torque, a taxa de desenvolvimento de força foi mais facilmente modificada pelo baixo nível de atividade física dos participantes antes do início do treinamento de força. De fato, vários estudos têm reportado que a taxa de desenvolvimento de força é menor em sujeitos com baixo nível de atividade física e com histórico de quedas (Skelton et al., 2002; Pijnappels et al., 2008). Em geral, o aumento na taxa de desenvolvimento de força tem sido atribuída a vários fatores que compreendem a aumento na área de secção transvesa muscular, incremento na frequência de disparos das unidades motoras (Kyrolainen et al., 2005) melhor sincronia e distribuição dos tipos fibras musculares inervadas (Ricard et al., 2005), redução do limiar de ativação e disparos que ocorrem em intervalos inferiores a 5ms (doublets; Van Cistem et al., 1998). Dentre os parâmetros analisados, a velocidade de condução nervosa e o aumento na ativação muscular podem ter contribuído para melhoria de todos esses fatores e serão discutidos mais adiante.

Assim, programas de exercícios físicos resistidos são capazes de induzir importantes mudanças sobre o sistema neuromuscular de idosas e provocar aumentos sobre o pico e a taxa de desenvolvimento de força. Portanto, a **hipótese H<sub>1.1</sub>** que o pico e a taxa de desenvolvimento de torque de idosos aumentam em resposta ao

treinamento resistido foi aceita.

A suplementação alimentar com óleo de peixe potencializou os ganhos sobre a performance do sistema neuromuscular propiciados pelos exercícios resistidos. Dentre os vários fatores que atuam na complexa etiologia da sarcopenia e dinapenia, a nutrição tem sido considerada como componente relevante. Dentre um conjunto de importantes componentes nutricionais, os ácidos graxos, encontrados no óleo de peixe, têm sido indicados na preservação da função muscular. Recentemente, Smith et al. (2011), reportaram que os ácidos graxos de cadeia longa presentes no óleo de peixe possuem propriedades anabólicas em jovens saudáveis e adultos de meia idade. Doses pequenas de óleo de peixe têm demonstrado efeitos positivos sobre a capacidade de manter a síntese de proteína e a massa muscular em ratos com queimaduras e camundongos com tumores (Van Norren et al., 2009, Hayashi et al., 1999). Em humanos, tem sido demonstrado que a suplementação com óleo de peixe em idosos (>65 anos), causou aumento significativo na taxa de síntese de proteínas musculares durante hiperinsulinemia e hiperaminoacidemia, que deve estar associada a maior ativação de sinalizadores de mTOR (mammalian target of rapamycin)/p70S6K (p70 S6 kinase). Além disso, Ryan et al. (2009) relatam que aumento da ingestão de óleo de peixe reduz a perda de massa corporal e da massa magra dos membros em pacientes com cirurgia de resecção esofágica com câncer não metastático. Todavia, os mecanismos ainda não são conhecidos, porém especula-se que podem estar relacionados às propriedades antiinflamatórias do óleo de peixe (Fetterman et al., 2009), visto que lesões por queimaduras, câncer e o envelhecimento são intimamente associados a aumentos na atividade inflamatória (McMillan, 2009; Jeschke et al.,

2007), que induz a perda de massa muscular (Degens, 2010; Lang et al., 2007; Rieu et al., 2009).

Dentre as hipóteses a cerca dos mecanismos da hipertrofia muscular a ativação das células satélites por lesão tem sido propostas por vários autores (Kelley e Kelley, 1996; Hather et al., 1991). Este mecanismo consiste em que o exercício físico cause um certo estímulo e que leve o tecido muscular a sofrer um nível de lesão e inflamação para que venha a estimular as células satélites e inicie-se assim o processo de aumento da massa muscular. Os exercícios excêntricos caracterizam-se por maior aumento da hipertrofia muscular (Hather et al., 1991), pelo aumento da tensão muscular em até 40% e lesão muscular. A lesão aumenta a atividade da creatina quinase em até cinco vezes nas 24 horas após o treino (Jones et al., 1993). Como o óleo de peixe rico, em ômega-3, tem efeito anti-inflamatório, provavelmente o processo de lesão, inflamação e recuperação do tecido muscular tenha ocorrido de forma mais rápida e assim tenha propiciado maiores ganhos de tecido e conseqüentemente de força muscular. Os dados do presente estudo corroboram com os achados de Bucci (1993) e Fett et al. (2001), que também encontraram aumento na força muscular em indivíduos que receberam a suplementação com óleo de peixe.

O óleo de peixe possui também propriedades anabólicas sobre as proteínas musculares, que podem ter estimulado a síntese protéica. Alguns estudos têm demonstrado que dietas em óleo de peixe que são ricas em EPA e DHA, duplicam o descarte de aminoácidos estimulados por insulina, que são marcadores de síntese protéica (Gingras et al., 2007). Dessa forma, o efeito anabólico e anti-inflamatório do

óleo de peixe sobre o tecido muscular pode ter sido bastante favorável para a potencialização dos efeitos do treinamento.

O óleo de peixe ministrado isoladamente não tem sido considerado como suficiente para produzir acentuados efeitos anabólicos, visto que os estados basais da taxa de síntese protéica não são afetados pela suplementação. Todavia, quando o óleo de peixe é suplementado em conjunto com aminoácidos, sua capacidade anabólica se torna potencializada (Smith et al., 2011). Tal fato não pode ser comprovado, visto que a suplementação de aminoácidos não constituiu objeto de análise do presente estudo. Sabe-se que a mTOR/p70S6K é considerada elemento essencial para a síntese protéica muscular que atua como sinalizador no crescimento muscular em função da adaptação ao treinamento físico. Barr e Esser (1999) analisaram o papel do mTOR/p70S6K em resposta ao exercício físico e observaram aumentos agudos entre 3 e 6h após o término de uma sessão de exercícios físicos. Dessa forma, pode-se presumir que os efeitos dos exercícios físicos sobre os mecanismos anabólicos musculares possam ter sido ampliados quando combinados à suplementação de óleo de peixe.

Quando a suplementação de óleo de peixe foi associada com o treinamento de força, houve ganho adicional no pico e na taxa de desenvolvimento de torque. O presente estudo foi o primeiro a demonstrar que a suplementação com óleo de peixe é capaz de aumentar a ativação dos músculos esqueléticos e a força, quando associados com o treinamento de força em mulheres idosas (Rodacki et al., 2012). De fato, a concentração de EPA (20:5 n-3) e DHA (22:6 n-3) no plasma dos grupos

suplementados com óleo de peixe (ST90 e ST150) aumentaram e podem indicar a incorporação desses ácidos graxos nas membranas celulares, particularmente no sistema nervoso e músculos. O DHA ingerido pode ter sido retido no sistema nervoso e originado eicosanóides, os quais podem estimular as vias MAPKinase e facilitar a abertura dos canais e expressão gênica devido a sua função reguladora transcricional. Os mecanismos específicos pelos quais os ácidos graxos contidos no óleo de peixe causam mudanças sobre a força muscular ainda não são completamente entendidos. A investigação do papel dos docosanóides e da existência de receptores de ácidos graxos específicos do DHA nos tecidos musculares e no sistema neuromuscular são importantes tópicos para futuros estudos.

A **hipótese H<sub>1-2</sub>** de que o pico e a taxa de desenvolvimento de torque derivados do treinamento resistido em idosos suplementados são maiores do que idosos treinados não suplementados foi aceita.

Apesar da suplementação alimentar com óleo de peixe ter potencializado ganho de força, um período relativamente longo de suplementação alimentar (dois meses) fornecida antes do período de treinamento não foi suficiente para causar ganho antes do início do exercício físico e ou aditivo sobre a função neuromuscular que resultasse em incremento do pico e da taxa de desenvolvimento de força. Logo, o estímulo derivado do exercício físico parece ter sido essencial para que o efeito da suplementação alimentar pudesse resultar em melhorias adicionais sobre o desempenho do sistema neuromuscular. Tais achados confirmam que a suplementação com óleo de peixe, isolada, não possui papel preponderante sobre

desempenho do sistema neuromuscular. O estudo de Smith et al. (2011), também concluiu que o óleo de peixe, isolado, não provocou aumento anabólico significativo, porém, quando o óleo de peixe foi, associado com aminoácidos, causou efeitos anabólicos maiores do que aqueles observados nos sujeitos que consumiram apenas aminoácidos.

Portanto, os argumentos de que o pico e a taxa de desenvolvimento de torque derivados do treinamento resistido em idosos suplementados são maiores em idosos que tiveram um período de suplementação prévio ao treinamento não foram confirmados e a **hipótese H<sub>1-3</sub>** foi rejeitada.

As melhorias do desempenho neuromuscular podem ser explicadas pelos ganhos na área de seção transversa e por modificações neurais. Infelizmente, as alterações morfológicas não foram controladas no presente estudo, porém um conjunto de parâmetros sobre as modificações funcionais neuromusculares foram determinadas. Especificamente, a ativação muscular (RMS), o atraso eletromecânico (EMD) e a velocidade de condução nervosa (VCN) foram avaliadas.

A ativação muscular (RMS) apresentou acréscimo (exceto no músculo gastrocnêmio) em todos os grupos experimentais que foram submetidos ao programa de exercícios físicos, independente da suplementação alimentar. O aumento na atividade eletromiográfica são atribuídos a aumentos na capacidade de recrutamento de unidades motoras (Moritani e De Vries, 1980; Connelly e Vandervoort, 2000). Nos idosos, o exercício físico tem sido apontado como capaz de causar reinervação das fibras do tipo II, as quais estão relacionadas aos ganhos de força e potência muscular

(Clark et al., 2011) e podem ter sido influenciadas pelos estímulos providos no presente estudo. Por outro lado, alguns estudos têm advogado que os ganhos na expressão do pico e da taxa de desenvolvimento de força estão relacionados à aumentos na frequência de disparos dos impulsos neurais sobre o tecido muscular (Kamen et al., 1998), os quais podem explicar o melhor desempenho do sistema neuromuscular após o treinamento. De fato, Patten et al. (2001), sugerem que os ganhos de força são predominantemente obtidos pelo aumento no número de unidades motoras (pico do disparo motor) do que especificamente pelo aumento na frequência de disparos neurais (frequência de disparo motor). Todavia, outros têm sugerido que a frequência de disparos pode ser aumentada com treinamento resistido (Clark et al., 2011; Lewis e Brown, 1994; Leong et al., 1999).

O atraso eletromecânico (EMD) é definido como o intervalo de tempo entre o início do movimento e o sinal eletromiográfico e tem sido relatado como aumentado em músculos de sedentários e idosos. O EMD tem sido atribuído à modificações sobre o tecido conjuntivo (maior complacência) e maior latência nos processos que medeiam o disparo das unidades motoras e o início da despolarização das membranas e liberação do cálcio do retículo sarcoplasmático. Alguns estudos relatam que o exercício físico tem a capacidade de reduzir o atraso eletromecânico. No presente estudo pode-se observar que o grupo que realizou apenas o exercício físico obteve redução no EMD nos músculos reto femoral e gastrocnêmio. Desta forma, para os idosos os três meses de programa de exercício resistido não foi suficiente para causar alteração no EMD de todos os músculos avaliados. O mesmo aconteceu com a velocidade de condução nervosa (VCN), onde o grupo com somente exercício físico não obteve reduções

significativas em função do treinamento. Portanto, apenas a ativação muscular (EMG), foi aumentada quando o exercício físico foi ministrado, sendo que a velocidade de condução nervosa (VCN) e o atraso eletromecânico (EMD) permaneceram inalterados na maioria dos músculos analisados. Tais achados não permitem que a hipótese **H<sub>1.4</sub>** de que a ativação muscular (EMG), o atraso eletromecânico (EMD) e a velocidade de condução nervosa (VCN) melhoram em resposta ao treinamento resistido seja completamente aceita. Desta forma, a hipótese **H<sub>1.4</sub>** foi parcialmente aceita.

No presente estudo a suplementação com óleo de peixe promoveu melhora nas adaptações neuromusculares (com aumentos no EMG e diminuição no EMD e na VCN), nos grupos musculares investigados (vide Figuras 14, 15 e 16). O mecanismo fisiológico que explica estes resultados podem ser embasados por alguns estudos que mostraram que o óleo de peixe melhora a fluidez e a sensibilidade das membranas neurais e musculares (Dines et al., 1993; Supari et al., 1995; Yehuda et al., 2005). Desta forma, causando, alterações na habilidade das células em responder à estímulos, incrementar as interações enzimáticas (Dines et al., 1993), modular os canais de íons (Supari et al., 1995) e a função dos neurotransmissores (Yehuda et al., 2005).

Estudo realizado por Brower et al. (2002), mostraram que o óleo de peixe melhora a fluidez e a sensibilidade das membranas neurais e musculares a acetilcolina, 8-iso-PGE<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> e F<sub>2</sub>, e ao análogo tromboxana mimético U-46619. A acetilcolina, *iso*-prostaglandinas e tromboxanas podem agir via receptores acoplados a proteína G que regula a função celular melhorando, assim, a contratibilidade muscular (Curtis e



O'Keefe, 2002; Brower et al., 2002). Também está bem estabelecido que a acetilcolina é um neurotransmissor excitatório que dispara o processo de contração muscular. Dessa forma, pode contribuir para a contração muscular pela facilitação de rápida transmissão sináptica na junção neuromuscular (potencial de ação excitatório) e desencadear contração muscular mais rápida. Além disso, mudanças na composição dos lípides das membranas musculares e neurais afetam a endocitose, exocitose, fusão da membrana, o uso de neurotransmissores e a atividades de enzimas relacionadas à membrana celular. Podendo, desta forma, aumentar a velocidade do impulso ou do potencial de ação da membrana. De fato, estudo realizado por Gerbi et al. (1999) mostraram maior velocidade de condução nervosa (VCN) em sujeitos que consumiam quantidade maior de EPA e DHA em suas dietas.

Maior permeabilidade das membranas pode facilitar a liberação e captação do cálcio, reduzindo desta forma o atraso eletromecânico (EMD). Supari et al. (1995) observaram que os ácidos graxos poliinsaturados n-3 causam maior eficiência da contração muscular através da modulação dos canais de íons do sarcolema. Alguns estudos têm demonstrado que os ácidos graxos poliinsaturados n-3 podem alterar a atividade contrátil no tecido cardíaco (Curtis e O'Keefe, 2002; Brower et al., 2002). Um estudo cardiológico revelou que os ácidos graxos essenciais podem influenciar nas arritmias do coração e corrigir os sinais eletrocardiográficos (Holguin et al., 2005) diminuindo assim o atraso eletromecânico (EMD). Logo, as melhorias nas adaptações neuro-musculares causadas pela associação da suplementação com óleo de peixe e o exercício físico, podem explicar não apenas as melhorias da ativação muscular evidenciadas pela eletromiografia, mas também a redução no atraso eletromecânico

(EMD) e a velocidade de condução neural (VCN). A hipótese  $H_{1.5}$  a qual afirma que a ativação muscular (EMG), o atraso eletromecânico (EMD) e a velocidade de condução nervosa (VCN) derivados do treinamento resistido em idosos suplementados será melhor do que em idosos treinados não suplementado foi aceita.

No presente estudo, o óleo de peixe ministrado isoladamente não causou alterações significativas nos componentes neuromusculares analisados (EMG, EMD e VCN). Pode ser que o período de dois meses a mais de suplementação de óleo de peixe, não tenham sido suficientes para causar mudanças significativas nos parâmetros avaliados nos idosos. Por outro lado, o estudo de Smith et al. (2011) observou efeitos significativos da dieta com óleo de peixe somente quando a mesma foi combinada a uma dieta rica em aminoácidos. Em relação aos efeitos do exercício físico pode-se sugerir que a suplementação com óleo de peixe parece ter o mesmo comportamento, onde aumentos podem ser vistos quando ocorreu a associação do óleo de peixe com o exercício físico, destacando-se assim, a relevância dos programas de exercício físico para idosos. Portanto, os argumentos de que o EMG, EMD e VCN são maiores em idosos que tiveram um período de suplementação prévio ao treinamento não foram confirmados e a hipótese  $H_{1.6}$  foi rejeitada.

A melhoria da capacidade funcional após o treinamento demonstraram que a atividade física é importante componente para a melhoria da qualidade de vida. Sabe-se que o envelhecimento biológico resulta em diminuição da capacidade fisiológica. Declínio em vários sistemas (cardiovascular, metabólico, respiratório e neuromuscular) resultam em fraqueza, fadiga e diminuição dos movimentos, que por sua vez causam

importante perda da capacidade de realizar tarefas diárias (capacidade funcional) (Miszko et al., 2003). Desta forma, a preservação da função física é prioritária para idosos para manter sua independência. Um dos aspectos mais relevantes para a função física é a força de membros inferiores, a qual também tem sido referida como preditor do risco de quedas entre idosos (Moreland et al., 2004) e relacionada a aumento da dificuldade de executar atividades da vida diária (Landers et al., 2001). De fato, estudos epidemiológicos tem reportado forte associação entre atividade física, desenvolvimento ou manutenção da força e redução na incidência de quedas (Buschner, 1997) e mortalidade.

Uma variedade de programas de treinamento têm sido recomendada para a manutenção e melhoria da força muscular em idosos, os quais envolvem treinamento resistido com pesos livres, máquinas e outros equipamentos como bandas elásticas ou exercícios que incluem a prática de Tai-Chi (Christou et al., 2003), pilates e yoga (Hill et al., 2007) e exercícios em meio líquido (Douris et al., 2003).

Os ganhos decorrentes do treinamento resistido em idosos são variáveis e parecem depender de muitos fatores. Independente dos mecanismos que determinam tais ganhos, os resultados apontam para incrementos de até 300% (Frontera et al., 1988). Outros examinaram o exercício como método para aumentar a capacidade funcional de idosos (Lathan et al., 2004; Nelson et al., 2004), visto que a desabilidade é inversamente proporcional à atividade física (Spirduso e Cronin, 2001). Programas que envolvem exercícios com 4 sessões semanais tem apresentado forte correlação com melhorias da habilidade funcional e facilidade de executar tarefas diárias (Stessnian et al., 2002). Apesar disso, nem sempre as melhorias observadas sobre a capacidade dos

músculos em produzir força resultam em melhorias sobre a habilidade dos idosos em executar tarefas diárias e conquistar independência.

Latham et al. (2004) sugerem que apesar do amplo efeito do treinamento resistido sobre a força muscular, tais programas possuem apenas um pequeno a moderado efeito sobre a capacidade funcional. Dessa forma, os benefícios do treinamento resistido nem sempre são traduzidos em mudanças nas atividades da vida diária (Judge et al., 2000; Singh et al., 1997, Skelton et al., 1995). O presente estudo contrapõe tais evidências, visto que todos os testes funcionais aplicados mostraram efeitos em resposta ao treinamento, exceto sobre o teste de sentar e alcançar. O treinamento resistido aplicado no presente estudo foi focado para o fortalecimento de membros inferiores, esse motivo pode explicar os resultados no teste de sentar e alcançar, uma vez que esse teste envolve a flexibilidade de membros inferiores, superiores e tronco.

Alguns estudos têm demonstrado que os exercícios resistidos podem melhorar a velocidade da marcha (Persch et al., 2009), o que pode explicar o melhor desempenho nos testes funcionais que envolvem a necessidade de deslocamentos (ex. teste de caminhada de seis minutos). Outros têm reportado que os exercícios resistidos também podem aumentar a capacidade de subir escadas e aumentar a habilidade dos idosos em realizarem atividades físicas em geral (Ramsbottom et al., 2004; McCartney et al., 1995).

Em geral, a baixa associação entre o treinamento resistido tem sido atribuída ao tipo de estímulo aplicado. O treinamento de força é indicado para aumentar a

capacidade contrátil, mas dependendo da forma com que os movimentos são executados (movimentos lentos), pode constituir um estímulo pouco específico para incrementar a potência muscular. Exercícios realizados com elevada velocidade têm sido advogados como mais efetivos para induzir melhorias sobre a capacidade funcional (Hazell et al., 2007; Bassey et al., 1992; Evans, 2000; Foldvari et al., 2000; Miszko et al., 2003). De fato, reduções na potência muscular têm sido associadas à inabilidade de realizar atividades da vida diária (Bassey et al. 1992; Earles. DR et al., 2000; Evans et al., 2004). Portanto, os aumentos sobre os testes funcionais do presente estudo podem ser vistos como resposta sobre as alterações que ocorreram na capacidade dos músculos em produzir tensão rapidamente ao invés de resposta mediada, exclusivamente, por ganhos na capacidade de produzir força. A taxa de desenvolvimento de força não reflete diretamente aumento na potência muscular, mas a capacidade dos músculos em produzir força rapidamente. Por outro lado, a combinação de tal capacidade com os aumentos na força máxima são fortes indicativos de que a potência muscular também foi influenciada pelo programa de treinamento resistido e podem explicar os ganhos funcionais observados.

Fahlman et al. (2011), encontram melhores desempenhos no teste de sentar e levantar da cadeira após um período de treinamento com banda elástica que foi realizado com o objetivo de desenvolver força muscular. Apesar do objetivo específico do treinamento, o uso de bandas elásticas modificam a velocidade de execução dos movimentos e podem ter causado ganhos sobre a potência muscular, o que pode explicar aqueles resultados. Infelizmente, os autores não realizaram medidas de potência ou da taxa de desenvolvimento de força.

O longo período de treinamento aplicado no presente estudo pode ter causado modificações sobre a potência muscular. Fatouros et al., (2005) também encontraram melhorias sobre a função muscular após período de treinamento de força, as quais são compatíveis àqueles reportados no presente estudo. Earles et al. (2001), treinaram grupo de idosos (>78 anos) para se determinar a influência do treinamento durante 12 semanas (3x/ semana com 3 séries de 10 repetições) em que os sujeitos efetuaram exercícios com velocidades de execução crescentes ao longo das sessões. Os exercícios foram direcionados aos membros inferiores e produziram aumento de 22% sobre a força e potência, mas não foram suficientes para causar melhores desempenhos nos testes funcionais (levantar da cadeira e caminhada). A elevada condição física dos idosos no início do treinamento foram usados para justificar a pequena alteração sobre a capacidade funcional (Earles et al., 2001).

Henwood e Taafee (2005) aplicaram programa de 8 semanas de treinamento resistido de alta velocidade em idosos e observaram aumento sobre a força (21-82%) e potência (17-31%), as quais resultaram em aumentos funcionais que variaram de 7 a 26% nos escores dos testes funcionais (caminhada de 6-m, levantar a partir do solo, levantar e sentar e levantar e alcançar). Miszko et al., (2003) também aplicaram protocolo de 8 semanas de treinamento resistido em idosos destinados ao desenvolvimento da potência muscular após um período de treinamento de força. Os resultados demonstraram que o grupo que realizou o treinamento de potência obteve melhores resultados sobre a capacidade funcional quando comparado ao treinamento de força.

Fielding et al. (2002) e Sayers et al. (2003) compararam os efeitos do

treinamento de alta velocidade em mulheres acima de 65 anos durante 16 semanas. O grupo que treinou potência muscular efetuou movimentos rápidos (<1s) na fase concêntrica do movimento, os quais resultaram em aumento de 35% sobre a força e 97% sobre a potência dos extensores do joelho. Os resultados sobre a capacidade funcional (equilíbrio dinâmico, tempo de subida de escada, teste de sentar e levantar) foram similares. Os autores sugeriram que a falta de especificidade entre os exercícios usados e os movimentos requeridos nos testes funcionais poderiam explicar a diferença na capacidade funcional. Esses argumentos não se aplicam no presente estudo que empregou movimentos similares aos empregados por Fielding et al. (2002) e Sayers (2003), os quais foram suficientes para prover importantes melhorias nos testes funcionais.

Wallerstein et al. (2010), demonstraram efeito similar sobre a funcionalidade decorrente do treinamento de força e potência aplicados em grupos de idosos, ou seja, ambos os estímulos (força e potência) provocaram adaptações positivas que resultaram em melhorias funcionais. Provavelmente, o aumento na taxa de desenvolvimento de força encontrados em ambos os grupos, também tenham influenciado os resultados. Portanto, ganhos na taxa de desenvolvimento de torque e da capacidade de gerar elevados níveis de força podem ter causado benefícios maiores do que quando apenas os níveis de força máximo são incrementados. Infelizmente, esses argumentos não podem ser testados posto que a maioria dos estudos publicados não tem quantificado a taxa de desenvolvimento de força de forma sistemática.

Dessa forma, a hipótese H<sub>1-7</sub> a qual coloca que a funcionalidade de idosos

aumentará em resposta ao treinamento resistido deverá ser aceita parcialmente uma vez que não ocorreram mudanças significativas no teste de sentar e alcançar. A hipótese H<sub>1-8</sub> que diz que a funcionalidade será positivamente influenciada pelo treinamento resistido em idosos suplementados, os quais apresentarão melhor desempenho do que idosos treinados não suplementados deverá também ser aceita parcialmente pois somente no teste de levantar da cadeira foram encontradas diferenças significativas. Por outro lado a hipótese H<sub>1-9</sub> que coloca que a funcionalidade de idosos suplementados com óleo de peixe e foram submetidos a um período de treinamento resistido será menor do que em idosos que foram submetidos a esses mesmos procedimentos e receberam suplementação prévia (60 dias) de óleo de peixe deve ser negada.

A duração do período de suplementação, dose, idade e gênero influenciam as respostas endoteliais. Até a presente data, nenhum estudo investigou os efeitos da suplementação com óleo de peixe sobre o sistema neuromuscular. No presente estudo, 90 dias de suplementação de óleo de peixe potencializaram os efeitos do treinamento de força. Todavia, período adicional de suplementação prévia com óleo de peixe não produziu efeito adicional. Isso indica que a dose provida durante os três meses de suplementação foi suficiente para induzir a importante mudança fisiológica no sistema neuromuscular. Esses resultados devem ser vistos com cautela, visto o reduzido número de participantes envolvidos no estudo, sendo necessário ampliação destes outros estudos com número maior de amostra.

O sistema imunitário tem como função reconhecer o que é próprio do organismo e o que é estranho contra uma variedade de microorganismo patogênicos, além de



distinguir células normais das neoplásicas. Para isto, células da imunidade inata (neutrófilos, macrófagos) e células adaptativa (Linfócitos B e Linfócitos T) precisam estar ativas no organismo. Além dessas células, as citocinas possuem importante papel na regulação da resposta inflamatória e imunitária em diferentes tecidos (Dunlop e Campbell, 2000).

O envelhecimento desencadeia declínio na efetividade do sistema imunitário, que favorece o aumento na incidência de infecções, doenças crônica-degenerativas, distúrbios auto-imunes e neoplasias malignas (Gruver et al., 2007; Mackinodan e Hirokawa, 1985). De fato, estudos com idosos tem demonstrado elevada morbidade e mortalidade por doenças infecciosas (Aspinall, 2000; Schneider, 1983).

Os exercícios físicos podem ter importante papel modulador do sistema imunitário (Flynn et al., 1999; Hiscock e Pedersen, 2002). Os exercícios físicos moderados parecem ser benéficos para aprimorar a resposta imunitário, pois melhoram a expressão de linfócitos, monócitos e neutrófilos, reduzem a produção de citocinas pró-inflamatórias, causam diminuição de infecções oportunistas e aceleram o processo de cura (Crist et al., 1989; Flynn et al., 1999).

Por outro lado, os exercícios físicos intensos prolongados provocam supressão temporária em muitos parâmetros do sistema imunitário, levando a diminuição da: proliferação dos linfócitos; atividade dos neutrófilos; razão CD4+/CD8+ e produção de anticorpos (Nieman, 2001; Mackinnon, 2000). Desta forma, pode-se concluir que o efeito do exercicios físico sobre o sistema imunitário depende da intensidade e duração de sua prática. Nieman et al. (1999), sugeriram que indivíduos que se exercitam

moderadamente exibem baixa incidência de doenças do trato respiratório superior quando comparados com a população sedentária. Em contraste, atletas em treinamento intenso apresentavam aumento na incidência de infecção.

O exercício físico moderado tem mostrado resultados benéficos, tanto na prevenção e reabilitação de muitas doenças nos idosos (Mazzeo et al., 1998). De fato, existem evidências de que idosos ativos apresentam menos infecções e menor incidência de câncer do que seus pares sedentários (Leveille et al., 2000).

No presente estudo, foi observado o efeito de um programa de exercício físico moderado resistido combinado à suplementação com óleo de peixe sobre alguns parâmetros imunitários, nos quais foram observados a funcionalidade dos neutrófilos (capacidade fagocítica, volume lisossomal, produção de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio), dos linfócitos (CD4 e CD8) e produção de citocinas (pró e anti-inflamatória).

Os neutrófilos para controlar as infecções eles utilizam o processo de fagocitose, desgranulação e a produção de espécies reativas do oxigênio (ROS). A fagocitose é o processo de reconhecimento e englobamento de microorganismos ou resíduos de tecidos que se acumulam durante uma infecção (Yeung et al., 2006). Após a ativação dos receptores fagocíticos e desencadeamento de vias de sinalização, ocorre remodelação da membrana plasmática do neutrófilo para a formação de pseudópodos que resultam no fagossoma ou em um vesícula intracelular que engloba o patógeno (Stuart e Ezekowitz, 2008). Esta vesícula ou fagossoma, sofre posterior fusão com outras vesículas intracelulares resultando na maturação (fagolisossoma) e capacitando-

a a destruir partículas englobadas através da ativação de enzimas líticas e da produção de espécies reativas de oxigênio - ROS (ou complexo NADPH oxidase) que possui ação bactericida (Scott et al., 2003; Niedergang e Chavrier, 2004; Yeung et al., 2006). Dentre as espécies reativas de oxigênio pode-se citar o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) o qual é convertido em um potente microbicida o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (Casimir e Teahan, 1994).

No presente estudo, tais parâmetros foram analisados no grupo de idosas que praticaram exercícios físicos, porém apenas o estímulo do exercício não foi capaz de modificá-los. A atividade fagocítica, a retenção lisossomal e a produção de espécies reativas de oxigênio permaneceram estáveis ao longo do período de treinamento.

Os estudos que observaram os efeitos agudos do exercício físico mostraram aumento sobre a concentração de neutrófilos durante a prática do exercício, que ocorre pela alta concentração de catecolaminas e do hormônio de crescimento. Após o término do exercício, os neutrófilos continuam a aumentar, devido o aumento da concentração de cortisol (Pedersen et al., 1998).

A longo prazo o exercício físico produz elevação na funcionalidade dos neutrófilos, pois alguns estudos mostraram que o exercício causa aumento na liberação de citocinas (IL2 e IL6) que estimulam a produção e a funcionalidade dos neutrófilos. O período de treinamento resistido, utilizado no presente estudo, foi suficiente para causar melhoras significativas nos parâmetros neuromusculares das idosas, mas não foi o suficiente para causar melhora sobre a funcionalidade dos neutrófilos e também não foi extenuante para causar imunossupressão. Os resultados do presente estudo

corroboram com alguns estudos realizados com idosas saudáveis (entre 65 e 84 anos) que demonstram que o treinamento resistido de 8 a 12 semanas não produz efeito benéfico ou detrimental em certas variações medidas do sistema imunitário. Outros estudos que investigaram os efeitos do treinamento de resistência de intensidade moderada, também obtiveram resultados similares e não influenciaram o sistema imunológico, mesmo quando ministrados em idosos frágeis por 32 semanas. Outros estudos têm demonstrado que mesmo exercícios intensos não possuem efeitos detrimentais sobre a função imunológica de animais idosos. Desta forma, a **hipótese H<sub>2.1</sub>** a qual sugere que a função imunológica de idosos será melhor em resposta ao treinamento resistido foi rejeitado.

Assim como o exercício físico, outros estudos (Calder, 1998b; Naliwaiko et al., 2004; Yehuda et al., 2005) têm apontado que a suplementação alimentar pode modular alterações no sistema imunológicos. Dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados (AG n-3) têm sido apontadas como recurso atrativo e propício induzir tais modificações. Os lipídios influenciam uma série de processos biológicos que envolvem a comunicação celular, interações enzimáticas e atuações em cascatas bioquímicas envolvidas na produção de respostas específicas de processos fisiológicos (Bradhurst et al., 2002; Farooqui et al., 2000).

Dentre os mecanismos que explicam o efeito modulatório do AGPI n-3 sobre o sistema imunológicos as pesquisas tem apresentado as seguintes hipóteses: a) a capacidade dos AGPI n-3 de incorporar-se na membrana celular e assim modificar as interações proteínas/lipídios da membrana (Wassal & Stillwell, 2008); b) a capacidade

do AGPI n-3 em alterar o metabolismo dos eicosanóides (EPA), servindo como substrato para a ciclooxigenase (COX) e a lipooxigenase (LOX), que geram citocinas com menor potencial inflamatório e desta forma modular o funcionamento de várias células do sistema imunológico (Serhan et al., 2008); e, c) de atuar diretamente em receptores nucleares ou nas vias de sinalização e assim modificar diretamente a transcrição gênica ou interagir com proteínas ligantes do elemento regulatório esteroide e com o receptor ativador de proliferação.

Vários estudos têm mostrado a habilidade do exercício físico moderado em modular o sistema imunitário (Pedersen et al., 1998), assim como os AGPI n-3 (Curi, 2002; Calder et al., 2002; Calder, 2001). Porém, são poucos os estudos que mostram o efeito combinado do exercício físico e a suplementação com óleo de peixe sobre o sistema imunológico de idosos. No presente estudo observou-se o efeito combinado do exercício físico e do óleo de peixe sobre o desempenho dos neutrófilos, sobre a proliferação de linfócitos CD4+ e CD8+, e sobre a produção de citocinas por linfócitos.

Para observar o desempenho dos neutrófilos foram quantificadas a atividade fagocítica, desgranulação e a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Sabe-se que os neutrófilos representam 50-60% do *pool* de leucócitos circulantes e destróem os patógenos através do processo de fagocitose e pela produção de enzimas e radicais livres derivados de oxigênio e nitrogênio.

A atividade fagocitária dos neutrófilos obtida dos grupos suplementados com 2 g/dia de óleo de peixe (ST90 e ST150) foram maiores entre as condições pré e pós-treinamento com aumentos de 48 e 49%, respectivamente. O grupo que realizou

apenas exercícios físicos não apresentou diferenças sobre a atividade fagocitária entre as condições pré e pós treinamento. Por outro lado, o grupo que foi apenas suplementado antes da prática de exercícios físicos (ST150; BASE vs PRE) revelou que a dieta com óleo de peixe causou mudanças sobre a fagocitose (50% antes de começar o treinamento de exercício físico). Estes resultados indicam que as melhoras na fagocitose foram influenciadas pelo óleo de peixe e corroboram com os achados de outras pesquisas (Calder et al., 1998; Bonatto et al., 2005, Kew et al., 2003; Calder et al., 1990). Um estudo realizado por Kew et al., (2003) avaliou a suplementação de 1,5 g de EPA e DHA em voluntários saudáveis por 6 meses e encontrou aumentos na atividade fagocitária de neutrófilos de cerca de 40%.

A justificativa para estes achados é que ao aumentar a ingestão de óleo de peixe rico em AGPI n-3, poderá ocorrer maior incorporação dos seus componentes (EPA e DHA) na membrana das células (Calder, 2007). Estudo realizado por Calder et al. (1990) observou que células que possuíam na sua membrana maior quantidade ácidos graxos saturados e menor quantidade de EPA e DHA mostraram menor capacidade de emitirem pseudópodos e apresentaram menor fagocitose.

O AGPI n-3 alteram a composição dos “rafts” lipídicos, os quais possuem vários receptores para fagocitose. Além disso, o ômega 3 quando incorporado na membrana, aumenta a fluidez da membrana e facilita assim a formação de pseudópodos e consequentemente, a fagocitose (Calder et al., 2007).

Após a formação do fagossomo ocorre a maturação do mesmo e posterior fusão com o lisossomos, originando o fagolissomo e capacitando esta estrutura para a morte

do patógeno através da ação de enzimas ou da geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (Kinchen e Ravichandran, 2008). No presente estudo, a funcionalidade do sistema lisossomal foi observada através da captação do vermelho neutro das vesículas de secreção.

A suplementação causou aumento no volume lisossomal de aproximadamente 145% e 90% para os grupos ST90 e ST150 respectivamente. A suplementação em 8 semanas causou aumentos no volume lisossomal de 95%, porém tais ganhos não foram ampliados com a inclusão de exercícios físicos resistidos, indicando que os ganhos foram causados pela suplementação com óleo de peixe.

Estes resultados indicam melhora na funcionalidade dos neutrófilos dos indivíduos idosos suplementados, pois estas células além de apresentarem maior atividade fagocitária, também conseguem processar o material englobado. De fato, estudo realizado por Shaikh e Edidin (2008) revelou que os AGPI 3 tem a capacidade de alterar a estrutura da membrana do complexo de Golgi e consequentemente aumentar a produção das vesículas de secreção desta organela e seu transporte para a membrana plasmática. Outra hipótese que pode explicar esses resultados é que o óleo de peixe poderia melhorar a atividade das enzimas lisossomais.

A destruição do patógeno pode ser realizada através da produção de ROS (ânion superóxido e peróxido de hidrogênio) ou por enzimas hidrolíticas. A produção das espécies reativas de oxigênio, é importante via microbicida onde a transferência de elétron provenientes do NADPH à molécula de oxigênio ( $O_2$ ) gera uma molécula reativa de oxigênio chamada de ânion superóxido ( $O_2^-$ ) (Bedard e Krause, 2007).

Sabe-se que o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) tem função microbicida, porém através da ação da enzima superóxido dismutase ou espontaneamente em situações de baixo pH, o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) pode ser rapidamente convertido à  $H_2O_2$  o qual possui a função antimicrobiana mais potente que o  $O_2^-$  (Bedard e Krause, 2007). Portanto, é relevante a análise da produção das espécies reativas de oxigênio, ânion superóxido e peróxido de hidrogênio.

Ácidos graxos poliinsaturados têm mostrado serem capazes de aumentar o estresse oxidativo, via maior produção de ânion superóxido em neutrófilos de humanos (Calder, 2001).

Os dados do presente estudo revelaram que a suplementação com óleo de peixe causou aumento na produção de ânion superóxido nos grupos ST90 e ST150 de 32% e 43%, respectivamente. Não foram encontradas diferenças no grupo ST. O grupo ST150 não foi influenciado quando o período de suplementação e exercício físico foi ampliado. Desta forma, os grupos suplementados apresentaram aumento na produção de ânion superóxido maior do que àquela observada no grupo que recebeu apenas o treinamento físico. Estes achados justificam-se pelo fato de que o óleo de peixe pode modular a atividade da NADPH oxidase em várias subunidades da enzima.

Durante o processo de defesa do organismo contra infecções, é importante a produção de ROS em concentrações adequadas. Quando estas concentrações estão acima do esperado para a eliminação de patógenos, situação de estresse oxidativo ocorre. Os sistemas antioxidantes mantêm equilibrada as concentrações de ROS em indivíduos saudáveis porém o processo de envelhecimento tende a desequilibrar este



macanismo. A baixa produção de ROS significa capacidade microbicida diminuída e conseqüentemente habilidade reduzida em matar os patógenos pelos neutrófilos. Ácidos graxos n-3 podem aumentar a atividade de enzimas antioxidantes e também modular as concentrações de ROS (Armah et al., 2008).

Ânion Superóxido é convertido em peróxido de hidrogênio (um potente agente microbicida) pela enzima superóxido dismutase ou quando o pH é baixo. Os resultados dos grupos suplementados ST90 e ST150 revelaram aumentos na produção de peróxido de hidrogênio de aproximadamente 66 e 85%, respectivamente.

Alguns estudos afirmam que a capacidade microbicida dos neutrófilos é significativamente reduzida com o avançar da idade. Fulop et al. (2004) e Van den Biggelaar et al. (2004) reportaram produção reduzida de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio em neutrófilos de idosos.

Outros estudos revelaram que a capacidade dos neutrófilos em matar *Candida Albicans* é atenuada entre 10 a 50% nos idosos (Corberand, et al., 1981, Seres et al., 1993) e *Escherichia Coli* é 44% menor do que a de indivíduos jovens (Tortorella et al., 1998, 2001). Um dos fatores que contribui para essa redução na capacidade de matar os patógenos é a diminuição na produção de espécies reativas de oxigênio pelo neutrófilos. Após a estimulação com fMLP, IFN- $\gamma$ , fator de granulócitos / monócitos colônia-estimulante (GM-CSF), ou lipopolissacarídeo (LPS) (Tortorella et al., 1998), a produção de peróxido hidrogênio foi maior em neutrófilos de jovens do que em idosos.

Um fator causador da produção reduzida de espécies reativas de oxigênio nos idosos é a diminuição de  $Ca^{2+}$  intracelular dos neutrófilos. Estudos que estimularam os

neutrófilos de idosos observaram que há uma deficiência no fluxo de  $\text{Ca}^{2+}$  durante a sinalização celular (Seres et al., 1993; Fulop et al., 1997). De fato, em vários sistemas celulares, alteração relacionada à idade em transdução do sinal foi relatada (Fulop, 1994). A ativação dos neutrófilos por estimulação de fMLP é um evento mediado pelo receptor envolvendo transdução de sinal via proteína GTP-binding (Perianin et al., 1993). Foi indicado, que o envelhecimento é acompanhado por aumento da viscosidade da membrana plasmática, levando a diminuição na fluidez (Nagy et al., 1983; Petkova et al., 1986).

O ômega-3 é incorporado na membrana da célula e aumenta a fluidez da membrana, a função de receptor, e a mobilidade de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular dos neutrófilos (Nelson e Cox, 2000). De fato, os resultados do presente estudo corroboram os achados de Nelson e Cox (2000).

Linfócitos T são responsáveis pela imunidade mediada (Calder e Kew, 2002). Estas células amadurecem no timo e podem se tornar células T citotóxicas (expressam uma molécula de superfície celular CD8) ou células T auxiliares (expressam uma molécula de superfície chamada CD4). Linfócitos T citotóxicas (CD8) reconhecem a infecção intracelular e têm a função de destruir células infectadas. As células T auxiliares (CD4) coordenam a resposta imunológica e dividem-se em células tipo 1 (Th1) que secretam IL2 e IFN-  $\gamma$ . As células T auxiliares tipo 2 (Th2) secretam interleucina 4, 5, 6, e 10. Desta forma, as células Th1 auxiliam na imunidade celular por ativar macrófagos e células T citotóxicas, enquanto células Th2 auxiliam as células B a produzirem anticorpos (Delves e Roitt, 2000).

Os idosos parecem sofrer redução numérica das células CD4+ em relação às células CD8+ a qual tem sido associada à má nutrição nos indivíduos idosos. O óleo de peixe, rico em n-3, têm a habilidade de modular a resposta imunitária (Curi, 2002). Altas doses de ácido graxo produzem ações inibitórias (Calder, 1995), enquanto doses baixas possuem ação imunoestimulatória (Robinson et al., 1998; Calder, 1995; Calder et al., 2002). A atividade física também modula a resposta imunitária. Se praticada com intensidade leve e moderada tem ação estimulatória, mas se realizada com alta intensidade, possui função imunossupressora, que diminui a proliferação dos linfócitos, atividade dos neutrófilos, razão CD4+/CD8+ e a produção de anticorpos (Nieman, 2001; Mackinnon, 2000).

O presente estudo mensurou a proliferação do CD4 e CD8 e a sua razão. Esses parâmetros foram quantificados apenas para o grupo ST150 antes da suplementação de óleo de peixe (BASE), após um período de 2 meses de suplementação (PRE ST150) e após suplementação alimentar com óleo de peixe e treinamento físico resistido (POS ST150). A suplementação com óleo de peixe causou aumento na população de linfócitos CD4 e CD8 de 25% e 23%, as quais permaneceram inalteradas quando a suplementação com óleo de peixe foi combinada com o treinamento físico.

Ao final do treinamento os idosos não apresentaram alteração da proliferação dos linfócitos, o que demonstra que o exercício não causou imunossupressão ao longo do período de treinamento (Figura 5.12). A suplementação com óleo de peixe permitiu elevação da proliferação linfocitária CD4 e CD8.

O mecanismo pelo qual o AGPI n-3 altera a proliferação das células T ainda não está claro. Um possível mecanismo de ação é pela síntese de eicosanóides em que a ingestão de EPA diminui a produção dos eicosanóides derivados do ácido araquidônico e aumenta as quantidades de derivados de EPA que possui ação regulatória quando administrado em baixas doses (Calder, 2002).

Citocinas são proteínas solúveis que são liberadas principalmente por células do sistema imunológico em resposta à lesão, infecção ou substâncias estranhas. A liberação de citocinas é indispensável para o início da resposta imunológica e para a regulação da comunicação multidirecional entre diferentes células que visa garantir a saúde do indivíduo (Seematter et al., 2004). Desta forma, o inadequado funcionamento da rede de citocinas pode desregular o sistema imunitário e levar à inflamações crônicas que podem comprometer a saúde.

Os idosos tendem a ter função desregulada das citocinas e conseqüentemente do sistema imunitário (Caruso et al., 2005; Spate e Schulze, 2004). A inflamação crônica está presente no processo de envelhecimento (Grimble, 2003) e elevadas concentrações basais de IL6 e proteína C-reativa em idosos estão relacionados com maiores riscos de morbidade e mortalidade (DeVeale et al., 2004). Por outro lado, a manutenção de baixas concentrações basais de citocinas parecem estar relacionadas com a saúde e a longevidade. Caruso et al. (2005), mostraram que pessoas com baixas concentrações de citocinas inflamatórias são correlacionadas com maior longevidade.

O presente estudo mensurou a produção de citocinas TNF- $\alpha$ , IL6, IL10, IL2 e IFN- $\gamma$  dos linfócitos quando estimulados com convananlina-a (com-a) nas condições pré suplementação, pós 60 dias de suplementação e 90 dias de exercício e suplementação de óleo de peixe. É importante ressaltar que os resultados dos estudos sobre o efeito do óleo de peixe ou do exercício sobre a produção de citocinas são controversos. Esta discrepância dos resultados pode ser atribuída à utilização de diferentes protocolos entre os estudos. Por exemplo, a aplicação de diferentes programas de exercícios, a dosagem e duração da suplementação e a seleção de biomarcadores podem ter contribuído para tais diferenças.

A inflamação crônica é caracterizada pelo aumento da expressão da citocina TNF- $\alpha$ , que é importante mediador durante o processo de inflamação aguda, pois estimula o recrutamento de neutrófilos e macrófagos para os locais da infecção, além de atuar no hipotálamo a fim de produzir estados febris e promover a produção de proteínas de fase aguda.

Concentrações elevadas de TNF- $\alpha$  causam resistência à insulina pela indução da lipólise em adipócitos, a qual causa um aumento na liberação de ácidos graxos livres, que desencadeiam a hipertriacilglicerolemia. Assim tais ácidos causam redução na lipoproteína de alta densidade (HDL) e pequena elevação da lipoproteína de baixa densidade na circulação. O aumento da produção de TNF- $\alpha$  está associada a hipertensão através da ativação do sistema renina-angiotensina. O TNF- $\alpha$  pode ser a citocina chave para desenvolver uma síndrome metabólica caracterizada por obesidade abdominal, hipertensão, concentrações reduzidas de HDL, triacilglicerol elevados e alta

concentração de glicose em jejum. TNF- $\alpha$  também está relacionado com a redução do tecido muscular (sarcopenia) (Langen et al., 2001). Além disso, altas concentrações de TNF- $\alpha$  e IL6 têm sido associados a aumentos da reabsorção óssea, a qual pode ser uma razão para o aumento da perda óssea com a idade (Boyce et al., 2005).

Os dados do presente estudo revelaram que o óleo de peixe tende a reduzir a produção de TNF- $\alpha$ . Porém diferenças significativas somente foram detectadas quando os idosos foram suplementados por um período mais longo (150 dias) e tiveram a possibilidade de praticar exercícios físicos (Figura 13), nos quais apresentaram um redução na produção de TNF- $\alpha$  de 33%.

Estes resultados podem ser justificados pelo efeito anti-inflamatório do óleo de peixe (Simopoulos, 2009), o que está em consonância com os resultados apontados por Grimble et al. (2002). Seus estudos observaram uma diminuição nos biomarcadores inflamatórios em função do consumo de EPA e DHA (derivados do óleo de peixe). A elevada quantidade de EPA e DHA permite aumento na produção de eicosanóides que geram citocinas ou produtos menos inflamatórios que o AA derivado de outro ácido graxo (Calder, 2007). Além do efeito antiinflamatório do óleo de peixe, o exercício físico moderado também tem este efeito, pois a citocina (IL6) produzida pelo músculo durante a contração muscular reduz a produção de TNF- $\alpha$  (Starkie et al., 2003). Portanto, este pode ser um dos mecanismos pelos quais o exercício apresenta efeitos anti-inflamatórios.

Infelizmente, não foi possível mensurar o efeito isolado do exercício físico sobre TNF- $\alpha$ . Porém, nos idosos o exercício não foi capaz de alterar os outros parâmetros

imunitários. Desta forma, pode-se sugerir que a combinação de óleo de peixe e exercício físico causaram alterações na produção de TNF- $\alpha$ .

Por outro lado, Pot et al. (2009), não encontraram mudanças significativas nos parâmetros inflamatórios do plasma em pessoas de meia idade que foram suplementadas por 12 semanas com 1,5g / dia. O estudo concluiu que apesar de não terem sido encontradas diferenças na produção de citocinas plasmáticas, pode ser possível que outros marcadores da função imunitária (expressão de adesão celular, marcadores de monócitos e resposta a explosão respiratória em neutrófilos) podem ser afetados (Rees et al., 2006; Luu et al., 2007).

O efeito anti-inflamatório do óleo de peixe e do exercício físico também puderam ser comprovados pelo aumento de concentrações das citocinas IL6 e IL10 nas condições pós suplementação de 33% e 40%, e pós suplementação e exercício físico de 45% e 43% respectivamente (Figura 13). Ambas tem efeitos anti-inflamatórios e vários estudos em jovens revelaram aumento em resposta à suplementação com óleo de peixe e à prática de exercício físico (Ullum et al., 1994; Pedersen e Toft, 2000).

Nos idosos ocorre aumento na produção dos linfócitos Th2, e redução nos linfócitos Th1 durante uma infecção. Isso indica redução da produção de citocinas Th1, ou seja, na produção de IL2 e IFN- $\gamma$  (Sindermann et al., 1993; Cakman et al., 1996). É importante notar que, quando esta situação ocorre, a resposta mediada por células está comprometida e os idosos tornam-se mais suscetíveis à infecções, uma vez que sua primeira linha de defesa é enfraquecida (Fulop et al., 1997).

A IL2 é o principal fator de crescimento para as células T e é responsável por induzir a expansão clonal destas células. De fato, alguns estudos sugerem que em indivíduos idosos ocorre redução na capacidade proliferativa das células T (Tortorella et al., 1998).

O IFN- $\gamma$  tem efeito estimulante sobre a imunidade mediada por fagócitos, além de induzir a opsonização pelo complemento e por anticorpos (Perussia et al., 1987). Redução de IFN- $\gamma$ , portanto, resulta em diminuição da imunidade de macrófagos e neutrófilos, reduzindo a quantidade de patógenos opsonizados. Nos idosos ocorre redução na produção de IFN- $\gamma$  (Fulop et al., 1997).

No presente estudo, houve aumento na produção de IL2 e IFN- $\gamma$  nas condições pós suplementação de 80% e 60% e pós suplementação e exercício físico de 85% e 88%, respectivamente (Figura 13). Tais aumentos evidenciam o efeito modulador do óleo de peixe e do exercício nos idosos, os quais contribuem para o restabelecimento do equilíbrio de Th1/Th2. Um dos fatores negativos do envelhecimento é a redução da produção de IL2 e IFN- $\gamma$ , os quais exercem uma importante função o controle de doenças. Estes resultados corroboram os achados de Andrade et al. (2007), que suplementaram nadadores por 6 semanas e observaram restabelecimento do equilíbrio de TH1/TH2, que foi mediado pelo aumento da produção de IL2 e IFN- $\gamma$ .

Este achado sugere que a suplementação com óleo de peixe, em idosos, durante o período de exercício físico teve ação reguladora fisiológica. Assim, os resultados do presente estudo comportam a hipótese H<sub>2-2</sub> que afirma que a função imunitário de idosos submetidos a treinamento resistido associado a suplementação



com óleo de peixe será melhor do que em idosos treinados não suplementados. Além disso, aceita-se parcialmente a hipótese H<sub>2-3</sub>, que propõe que a função imunitária de idosos submetidos a treinamento resistido associado a suplementação com óleo de peixe e que tiveram um período prévio de suplementação (60 dias) será melhor do que aqueles idosos treinados e suplementados.

Sabe-se que tanto a suplementação com óleo de peixe e a atividade física são capazes de reduzir os lipídeos plasmáticos (Clarke, 2001; Curi 2002). De fato, os resultados do presente estudo confirmam esta afirmação, posto que a concentração de triacilglicerol (Figura 14) foi reduzida. Os triacilgliceróis tiveram suas concentrações reduzidas em 25% quando o exercício físico foi aplicado e de 34% quando o exercício físico foi acompanhado de suplementação com óleo de peixe. As reduções foram de 35% quando apenas a suplementação de óleo de peixe foi aplicada e não houveram alterações adicionais quando a suplementação com óleo de peixe foi combinada com o exercício físico (33% para o ST150 POS).

O mecanismo pelo qual o óleo de peixe reduz o triacilglicerol ocorre pela redução na síntese de VLDL hepática um precursor do LDL (Nestel et al., 1984; Sanders et al., 1985). O efeito do óleo de peixe em reduzir a lipogênese e aumentar a  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos tem sido reportado (De Caterina e Massaro, 2005).

O exercício físico tem sido empregado como medida não farmacológica no combate à dislipidemia, pois modificações no perfil lipídico podem ocorrer em resposta à prática de exercícios físicos. Pessoas ativas apresentam elevadas concentrações de

HDL-c e menores de triacilgliceróis, LDL-c e VLDL-c, quando comparadas a de sedentários (Durstine e Haskell, 1994). A maior utilização dos ácidos graxos pelo tecido muscular e a maior ação da lipase lipoprotéica podem ajudar a explicar tais modificações (Maughan et al., 2000).

Tem sido defendido por muitos estudos o uso de ômega-3 e exercício no tratamento de dislipidemias pela elevação da concentração de HDL-colesterol e redução de triacilglicerol (Stanton, 1997). De fato, observou-se redução de triacilglicerol, a qual foi acompanhada de aumento do HDL-colesterol (de 28% no ST90 e de 25% e 27% para o ST150). Tais achados corroboram os achados de que o óleo de peixe é capaz de aumentar a concentração de HDL-colesterol em função do aumento da lipólise e diminuição da lipogênese, principalmente a hepática (Moore et al., 2006).

O grupo que realizou o exercício físico não apresentou diferenças na concentração de HDL-colesterol, que deve ter ocorrido pela característica do exercício físico. Os estudos que revelaram efeitos do exercício físico sobre o HDL-colesterol utilizaram exercício aeróbicos (Kelley e Kelley, 2005), os quais diferem dos exercícios de força empregados no presente estudo. Talvez, uma maior duração do programa de exercícios de força pudessem revelar efeitos positivos sobre o HDL-colesterol. A metanálise realizada por Kelley e Kelley (2005) demonstrou que o exercício aeróbio aumenta em aproximadamente 11% a partícula HDL2-c em adultos.

Os resultados do presente estudo permitem concluir que apenas a suplementação com óleo de peixe e a sua associação com a atividade física são capazes de elevar a concentração de HDL e reduzir a concentração de lipídeos, que são considerados fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Patsch, 1992).

O aumento ou a manutenção das concentrações de LDL com redução das de VLDL parece estar relacionado com a conversão da VLDL em LDL (Sanders, 1987) ou a redução na atividade do receptor de LDL (Roach et al., 1987). No presente estudo observou-se redução na concentrações de VLDL em todos os grupos (26% no ST; 35% no ST90; 35% no ST150 base e 36% no ST150 pós). O LDL não foi alterado. Os ácidos graxos n-3 podem diminuir a concentração de triacilglicerol e aumentar a de LDL, entretanto, o efeito benéfico ocorre pela redução dos triacilgliceróis (Dhika et al., 2004).

Os resultados do presente estudo detectaram redução na glicemia dos grupos que tiveram a associação da suplementação de óleo de peixe com o exercício físico (Figura 14). Esse achado justifica-se pelo aumento sobre a sensibilidade à insulina em resposta ao exercício físico (O'Donovan et al., 2005). O principal efeito do exercício pode ser o aumento da expressão de elementos intracelulares da via de sinalização da insulina, particularmente dos transportadores de glicose (GLUT-4) na musculatura esquelética (Teran-Garcia et al., 2005), a ação das catecolaminas e a liberação de glucagon (Canali e Krueel, 2001; Pardini, 2001). Além disso, os exercícios físicos de longa duração promovem outros benefícios que envolvem a redução na adiposidade (o

tamanho da célula de gordura), diminuição das concentrações de insulina no plasma e aumenta a expressão muscular de GLUT-4 (Hardman, 1996; Mensink et al., 2003; Stubbs e Lee, 2004). Estes aspectos podem oferecer estímulo suficiente para o transporte de glicose e diminuir ou normalizar as concentrações basais de glicose, como foi visto nos resultados do presente estudo.

O treinamento de força também se mostrou efetivo na melhoria da sensibilidade à insulina como foi demonstrado por Ibanez et al. (2005), ao avaliar 9 idosos diabéticos (tipo 2). Verificou-se que, após 16 semanas de exercício, realizado duas vezes por semana, houve diminuição de 7,1% na glicemia de jejum e aumento de 46,3% na sensibilidade à insulina. Concluiu-se que mesmo os indivíduos idosos são susceptíveis às alterações nos parâmetros metabólicos decorrentes do exercício, podendo haver benefícios fundamentais para a saúde nesta fase da vida.

O exercício físico e o óleo de peixe possuem a capacidade de melhorar a sensibilidade à insulina e regular a glicemia (Mensink et al., 2003). Porém, no presente estudo o grupo que praticou exercício físico e o outro grupo que só foi suplementado não apresentaram diferenças significativas do período pré para pós teste. Todavia, quando o treinamento foi combinado com a suplementação com óleo de peixe, reduções na glicemia foram encontradas de 21% para o grupo ST90 e de 19% para o grupo ST150. Provavelmente, o óleo de peixe tenha potencializado o efeito do exercício físico.

A hipótese H<sub>3-1</sub> que diz que os parâmetros bioquímicos plasmáticos (glicose, triacilglicerol e colesterol) de idosos será melhor em resposta ao treinamento resistido foi aceita parcialmente. A hipótese H<sub>3-3</sub> que propõe que os parâmetros bioquímicos plasmáticos (glicose, triacilglicerol e colesterol) de idosos submetidos a treinamento resistido associado a suplementação com óleo de peixe e que tiveram período prévio de suplementação (60 dias), será melhor do que aqueles idosos treinados e suplementados também foi parcialmente aceita.

A hipótese H<sub>3-2</sub> de que os parâmetros bioquímicos plasmáticos (glicose, triacilglicerol e colesterol) de idosos submetidos a treinamento resistido associado a suplementação com óleo de peixe será melhor do que em idosos treinados não suplementados foi aceita.

## **7. CONCLUSÃO**

A suplementação com óleo de peixe potencializou os efeitos do treinamento de força, melhorando os parâmetros neuromusculares que favoreceram aumentos na capacidade funcional de idosas. Os parâmetros imunitários não foram influenciados pelo treinamento de força. Todavia as idosas que foram suplementadas com óleo de peixe tiveram melhorias nos fatores imunitários.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aagaard P, Magnusson PS, Larsson B, Kjker M, and Krstrup P. Mechanical Muscle Function, Morphology, and Fiber Type in Lifelong Trained Elderly. *Med. Sci. Sports Exerc.* 39, 11: 1989-1996, 2007.
- Abellan van Kan G. Epidemiology and consequences of sarcopenia. *J Nutr Health Aging*: 13:708–712, 2009.
- Abramson JL and Vaccarino V. Relationship between physical activity and inflammation among apparently healthy middle-aged and older USadults. *Arch Intern Med* 162: 1286–1292, 2002.
- Adams GR, Harris RT, Woodard D, Dudley GA. Mapping of electrical muscle stimulation using MRI. *J Appl Physiol.* 74: 532–537, 1993.
- Akima H, Takahashi H, Kuno SY, et al. Early phase adaptations of muscle use and strength to isokinetic training. *Med Sci Sports Exerc.* 31:588–594, 1999
- Andrade PMM, Ribeiro BG, Bozza MT, Rosa LFBC, Carmo MGT. Effects of the fish-oil supplementation on the immune and inflammatory responses in elite swimmers Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 77 139–145, 2007
- Aniansson A, Hedberg M, Henning GB, Grimby G. Muscle morphologic enzymatic activity and muscle strength in elderly men: a follow-up study. *Muscle and Nerve.* 9: 585-591, 1986.
- Armah CK, Jackson KG, Doman I, James L, Cheghani F, Minihaue AM. Fish oil fatty acids improve postprandial vascular reactivity in healthy men. *Clin Sci (Lond).* Jun;114(11):679-86, 2008.
- Aspinall R. Longevity and the immune response. *Biogerontology* 1, 273-278, 2000.
- Baar K, Esser KA Phosphorylation of p70S6k correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. *Am J Physiol* 276:C120–127, 1999.
- Bassey EJ, Fiatarone MA, O'Neill EF, Kelly M, Evans WJ e Lipsitz LA. Leg extensor power and functional performance in very old men and women. *Clinical Science,* 82, 321-327, 1992.
- Bedard K. and Krause K. H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol. Rev.* 87, 245–313, 2007.
- Benatti P, Peluso G, Nicolai R, Calvani M. Polyunsaturated fatty acids: biochemical, nutritional and epigenetic properties. *Journal of the American College of Nutrition,* v. 23, n. 4, p. 281-302, 2004.

- Bento PCB, Pereira G, Ugrinowitsch C, Rodacki ALF. Peak torque and rate of torque development in elderly with and without fall history. *Clin Biom.* 25:450-454, 2010.
- Bonato S. Efeito da Suplementação com Óleo de Peixe, Durante Oito Semanas sobre o Sistema Imunitário Inato de Pacientes, Pós-Remoção Tumoral e Efeito In Vitro do Óleo de Peixe sobre as Células Tumorais. Tese de Doutorado do Programa de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná. Orientação: Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes, 2005.
- Boyce BF, Li P, Yao Z, Zhang Q, Badell IR, Schwarz EM. TNF-alpha and pathologic bone resorption. *Keio J. Med.* 54: 127–131, 2005.
- Bradhurst CL, Wang Y, Crawford MA, Cunnane SC, Parkington JE, Schmidt WF. Brain-specific lipids from marine, lacustrine or terrestrial food resources: potential impact on early African Homo-Sapeins. *Comparative Biochemistry and Physiology part b*, 131: 653-673, 2002.
- Braga PC, Sala MT, Dal Sasso M, Mancini L, Sandrini MC, Annoni G Age-associated differences in neutrophil oxidative burst (chemiluminescence) *Exp. Gerontol.* 33, 477–484, 1998.
- Broughton KS, Johnson CS, Pace BK, Liebman M, Kleppinger KM: Reduced asthma symptoms with n-3 fatty acid ingestion are related to 5-series leukotriene production. *Am J Clin Nutr* 65:1011–1017, 1997.
- Brower IA, Zock PL, Van Amelsvoort LG. Association between n-3 fatty acid status in blood electrocardiographic predictors arrhythmia risk in healthy volunteers. *Am J of Cardiol*, 89: 629-631, 2002.
- Brown AB, McCartney N, Sale DG. Positive adaptations to weightlifting training in the elderly. *J Appl Physiol.* 69: 1725–1733, 1990.
- Browning LM. n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation and obesity-related disease. *Proc. Nutr. Soc.* 62, 447–453, 2003.
- Bruunsgaard H, Skinhoj P, Pedersen AN, Schroll M, Pedersen BK. Ageing, tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and atherosclerosis. *Clin. Exp. Immunol.* 121, 255–260, 2000.
- Bucci L. Nutrients as ergogenic aids for sports and exercise. Boca Raton, FL: CRC Press, 1993.
- Buchner DM. Preserving mobility in older adults. *West J Med.* 167: 258–264, 1997.
- Burg ND, Pillinger MH. The neutrophil. function and regulation in innate and humoral immunity. *Clin. Immunol.* 99: 7–17, 2001.



- Butcher SK, Chahal H, Nayak L, Sinclair A, Henriquez NV, Sapet E, O'Mahony D, Lord M Senescence in innate immune responses: reduced neutrophil phagocytic capacity and CD16 expression in elderly humans. *J. Leuk. Biol.* 70: 881–886, 2001.
- Cakman I, Rohwer J, Schirtz RM, Kirchner H & Rink LDysregulation between TH1 and TH2 cell sub-populations in the elderly. *Mechanism of Ageing and Development* 87, 197-209, 1996.
- Calder PC & Kew S The immune system: a target for functional foods?. *Br. J. Nutr.* **88**, S165–S177, 2002.
- Calder PC. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids *Proceeding of the nutrition society.* 55: 737-774, 1996.
- Calder PC. N-3 Polyunsaturated fatty acids and mononuclear phagocyte function. *Medicinal Fatty Acids in Inflammation.* Edited by J. Kremer, 1998b.
- Calder PC. The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function. *Prostaglandines, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, v. 79, p. 101-108, 2008.
- Calder PC. Immunomodulation by omega-3 fatty acids. *Prostaglandines, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, v. 77, p. 327-335, 2007.
- Canali ES, Krueel LFM. Respostas hormonais ao exercício. *Rev Paul Educ Fis* ;15 (2): 141-53, 2001.
- Carolan B, Cafarelli E. Adaptations in coactivation after isometric resistance training. *J Appl Physiol.* 73:911–917, 1992.
- Carroll TJ, Riek S, Carson RG. Neural adaptations to resistance training: implications for movement control. *Sports Med.* 31: 829–840, 2001.
- Caruso C, Candore G, Colonna-Romano G, et al. Inflammation and life-span. *Science*; 307:208–209, 2005.
- Carvalho JAM, Garcia RA. O envelhecimento da população brasileira: um enfoque demográfico. *Cadernos de Saúde Pública*, 19(3), 725-733, 2003.
- Casimir CM, Teahan CG, *The Respiratory Burst of Neutrophils and Its Deficiency Immunopharmacology of Neutrophils.* Academic Press, London, 1994.
- Chatta GS, Price TH, Allen RC, et al. Effects of in vivo recombinant methionyl human granulocyte colony-stimulating factor on the neutrophil response and peripheral blood colony-forming cells in healthy young and elderly adult volunteers. *Blood.*;84:2923- 2929, 1994.

- Christou EA, Yang Y, Rosengren KS. Taiji training improves knee extensor strength and force control in older adults. *J Gerontol Med Sci.* 58A:763–766, 2003.
- Clark BC, Manini TM, Sarcopenia ≠ Dynapenia. *Journal of gerontology: medical Sciences*, 63:8, 829-834, 2008.
- Clark BC, Manini TM. Functional consequences of sarcopenia and dynapenia in the elderly. *Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13:271–276, 2010.
- Clark DJ, Patten C, Reid KF, Carabello RJ, Phillips EM, Fielding AM. Muscle Performance and Physical Function Are Associated With Voluntary Rate of Neuromuscular Activation in Older Adults. *J. Gerontol A Biol Sci Med Sci.*66A(1): 115–121, 2011.
- Clarke SD, Polyunsaturated Fatty Acid Regulation of Gene Transcription: A Molecular Mechanism to Improve the Metabolic Syndrome. *Journal of Nutrition.*131:1129-1132, 2001.
- Connelly DM, Vandervoort AA. Effects of isokinetic strength training on concentric and eccentric torque development in the ankle dorsi-flexors of older adults. *J Gerontol Biol Sci.* 55:B465–B472, 2000.
- Corberand J, Ngyen F, Laharrague P. Polymorphonuclear functions and aging in humans *J. Am. Geriatr. Soc.* 29,391-397,1981.
- Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sport and Exerc*, 35: 1381–1395, 2003.
- Crist DM, Mackinnon LT, Thompson RF, Atterbom HA, Egan, PA. Physical exercise increases natural cellular-mediated tumor cytotoxicity in elderly women. *Gerontology*, 35: 66-71, 1989.
- Cuoco A, Callahan DM, Sayers S, Frontera WR, Bean J, Fielding RA. Impact of muscle power and force on gait speed in disabled older men and women. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 59, 1200–1206, 2004.
- Curi R; Pompeia C; Miyasaka, C K; Araújo Filho, J P. Entendendo a Gordura. Os Ácidos Graxos. 1. ed. São Paulo: Manole, 2002.
- Curtis BM e O'Keefe JHJ. (2002 ). Autonomic tone as a cardiovascular risk factor: the dangers of chronic fight or flight. *Mayo Clinic Proceedings*, 77(1): 45-54, 2002.
- Cuthbertson D, Smith K, Babraj J, et al. Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle. *FASEB J.* 19:422–4, 2005.
- Cuthbertson DJ, Babraj J, Smith K, et al. Anabolic signaling and protein synthesis in human skeletal muscle after dynamic shortening or lengthening exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 290: E731–8, 2006.

- Davini R e Nunes, CV. Alterações no sistema neuromuscular decorrentes do envelhecimento e o papel do exercício físico na manutenção da força muscular em indivíduos idosos. *Revista Brasileira de Fisioterapia*. Campinas. V. 7, n. 3, p. 201-207, 2003.
- De Caterina R. and Massaro M. Omega-3 fatty acids and the regulation of expression of endothelial pro-atherogenic and proinflammatory genes. *J. Membr. Biol.* 206: 103-116, 2005.
- De Pablo MA, Puertollano AM, Cienfuegos GA. Immune cell functions, lipids and host natural resistance. *FEMS Immunol Med Microbiol.* Dec;29(4):323-8, 2000.
- Degens H. The role of systemic inflammation in age-related muscle weakness and wasting. *Scand. J. Med.Sci. Sports* 20, 28–38, 2010.
- Delbono O. Neural control of aging skeletal muscle *Aging Cell* 2, 21-29, 2003.
- Delves PJ; Roitt IM. The immune system *N Engl J Med* . July 6; 343:37-49, 2000.
- DeVeale B, Brummel T, Seroude L. Immunity and aging: the enemy within? *Aging Cell*, 3:195–208, 2004.
- Dhika VV, Anand K S, Sudha R. Omega-3 polyunsaturated fatty acid and cardiovascular disorders. *JIACM*. v. 5, n. 2, p. 182-185, 2004.
- Dinarello CA. The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *N Engl J Med* 343: 732–734, 2000.
- Dines KC, Cotter MA, Cameron NE. (1993) Contrasting effects of treatment with v-3 and v-6 essential fatty acids on peripheral nerve function and capillarization in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 36: 1132–1138, 1993.
- Doherty TJ, Brown WF. The estimated numbers and relative sizes of thenar motor units as selected by multiple point stimulation in young and older adults. *Muscle & Nerve*, 16: 355–366, 1993.
- Douris P, Southard V, Varga C, Schauss W, Gennaro C, Reiss A. The Effect of Land and Aquatic Exercise on Balance Scores in Older Adults. *Journal of Geriatric Physical Therapy*, 26: 1-3, 2003.
- Drela N, Kozdron E. Szczypiorski P Moderate exercise may attenuate some aspects of immunosenescence, *BMC Geriatrics*, 4:8, 2004.
- Dunlop RJ, Campbell CW Citokines and advanced cancer. *Journal Pain and Symptom Management* 20: 214-232, 2000.
- Durstine JI, Haskell WJ. Effects of exercise on plasma lipids and lipoproteins. *Exerc Sport Sci Rev*; 22:477- 21, 1994.
- Dusting GJ, Selemidis S, Jiang F. Mechanisms for suppressing NADPH oxidase in the vascular wall. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 100 (Suppl.I): 97-103, 2004.

- Earles DR, Judge JO e Gunnarsson OT. Velocity training induces power specific adaptations in highly functioning older adults. *Archives of Physical and Medical Rehabilitation*, 82: 872-878, 2001.
- Effros RB, Dagarag M, Valenzuela HF In vitro senescence of immune cells. *Experimental Gerontology*, 38, 11–12: 1243-1249, 2003.
- Egert S, Stehle P. Impact of n-3 fat acids on endothelial function: results from human interventions studies. *Curr Op Clin Nutr Metab Care*. 14: 121-131, 2011.
- Enoka, RM. Neural adaptation with chronic physical activity. *Journal of Biomechanics.*, 30: 447-455, 1997.
- Esparza B, Sanchez H, Ruiz M, Barranquero M, Sabino E, Merino F Neutrophil function in elderly persons assessed by flow cytometry *Immunol. Invest.* 25, 185–190.1996
- Evans WJ, Campbell W. Sarcopenia and agerelated changes in body composition and functional capacity. *J. Nutr.* v. 123, p.465-468, 1993.
- Evans WJ. Exercise strategies should be designed to increase muscle power. *Journal of Gerontology: Biological Sciences*, 55A, M309-M310, 2000.
- Fagiolo U, Amadori A, Borghesan F, Immune dysfunction in the elderly:effect of thymic hormone administration on several in vivo and in vitro immune function parameters. *Aging* 2, 347-350, 1990.
- Fahlman M, Boardley D, Flynn MG, Braun WA, Lambert CP, Bouillon LE. Effects of endurance training on selected parameters of immune function in elderly women. *Gerontology.*,46:97–104, 2000.
- Fahlman MM, Mc Nevin N, Boardley D, Morgan A, Topp, R. Effects of Resistance Training on Functional Ability in Elderly Individuals. *Am J Health Promot*, 25(4):237-243, 2011.
- Farooqui AA, Horrocks LA. Glycerophospholipids in the brain: phospholipases A2 in neurologic disorders. In: Farooqui AA, Horrocks LA. *Phospholipase A2-generated lipid*. Springer, New York, 2006.
- Farooqui AA, Horrocks LA. Plasmalogens phospholipase A2 and docosahexaenoic acid turnover in brain tissue. *Journal of Mollecular Neuroscience*. 16: 263-272, 2001.
- Farooqui, A.A. Lipid mediators in the neural cell nucleus: their metabolism,signaling and association with neurological disorders. *Neuroscientist*, 4: 392-407, 2009.
- Fatouros IG, Kambas A, Katrabasas I, Nikolaidis K, Chatzinikolaou A, Leontsini D e Taxildaris K. Strength training and detraining effects on muscular strength, anaerobic power, and mobility of inactive older men are intensity dependent. *British Journal of Sports Medicine*, 39, 776-780, 2005.

- Febbraio MA, Steensberg A, Keller C, Starkie RL, Nielsen RB, Krstrup P, Ott P, Secher NH, Pedersen BK. Glucose ingestion attenuates interleukin-6 release from contracting skeletal muscle in humans, *J Physiol*, 549.2: 607–612, 2003.
- Ferri A, Scaglioni G, Pousson M, Capodaglio P, Van Hoecke J, Narici M. Strength and power changes of the human plantar-flexion and knee extensors in response to resistance training in old age. *Acta Physiol Scand*; 177:69-78, 2003.
- Ferrucci L, Penninx BW, Volpato S, Harris TB, Bandeen-Roche K, Balfour J, Leveille SG, Fried, LP. Change in muscle strength explains accelerated decline of physical function in older women with high interleukin-6 serum levels. *J. Am. Geriatr. Soc.* 50, 1947–1954, 2002.
- Fett CA, Petricio A, Maestá N, Correa, C, Crocci AJ, Burini RC. Suplementação de Ácidos Graxos Ômega-3 ou Triglicéridios de Cadeia Média para Indivíduos em Treinamento de Força. *Motriz Jul-Dez, Vol. 7, n.2, pp. 83-91, 2001.*
- Fetterman Jr JW. and Zdanowicz MM. Therapeutic potential of n-3 polyunsaturated fatty acids in disease. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 66, 1169–1179, 2009
- Fiatarone MA; Marks EC, Ryan ND, Meredith CN, Lipsitz LS, Evans WJ. High-intensity strength training in nonagenarians: effects on skeletal muscle. *The Journal of the American Medical Association.* Chicago, 263: 3029-34, 1990.
- Fielding RA, Le Brasseur NK, Cuoco A, Bean J, Mizer K e Fiatarone Singh, M.A. High-velocity resistance training increases skeletal muscle peak power in older women. *Journal of the American Geriatrics Society*, 50, 655-662, 2002.
- Flynn MG, Fahlman M, Braun WA, Lamber CP, Bouillon LE, Brolinsos PG, Armstrong CW. Effects of resistance training on selected indexes of immune function in elderly women. *American Physiological Society.* 1905-1913, 1999.
- Foldvari M, Clark M, Laviolette LC, Bernstein MA, Kaliton D, Castaneda C. Association of muscle power with functional status in community-dwelling elderly women. *Journal of Gerontology: Biological Sciences*, 55A, M192-M199, 2000.
- Franceschi C, Bonafe M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann. NY Acad. Sci.* 908: 244–254, 2000.
- Frontera WR, Folstein SE, Mchugh PR. Mini-mental state. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Applied Physiology.* 64: 1038-1044, 1988.
- Frontera WR, Meredith CN, O'Reilly KP, Knuttgen HG, Evans WJ. Strength conditioning in older men: skeletal muscle hypertrophy and improved function. *J Appl Physiol.* 64: 1038–1044, 1998.

- Fulop T, Fouquet C, Allaire P, Perrin N, Lacombe G, Stankova J, Rola-Pleszczynsky M, Wagner JR, Khalil A, Dupuis G. Changes in apoptosis of human polymorphonuclear granulocytes with aging. *Mech. Ageing Dev.* 96, 15–31, 1997.
- Fulop T, Larbi A, Douziech N, et al. Signal transduction and functional changes in neutrophils with aging. *Aging Cell* 2004; 3:217–226, 2004.
- Fulop T. Signal transduction changes in granulocytes and lymphocytes with ageing. *Immunol. Lett.* 40, 259/268, 1994.
- Genctoy G, Altun, B, Kiykim, AA, Arici M, Erdem Y, Caglar M, Vasavul U, Turgan C, Caglar S. TNF $\alpha$ -308 genotype and renin-angiotensin system in hemodialysis patients: an effect on inflammatory cytokine levels? *Artif. Organs*, 29: 174–178, 2005.
- Gennery AR e Cant AJ. Applied physiology: immune competence. *Current paediatrics*, v.16, p. 447-452, 2006.
- Gerbi A, Maixent JM, Ansaldi JL. Fish oil supplementation prevents diabetes-induced nerve conduction velocity and neuroanatomical changes in rats. *J Nutr*;129:207-213, 1999.
- Gingras AA, White PJ, Chouinard PY, Julien P, Davis TA, Dombrowski L, Couture Y, Dubreuil P, Myre A, Bergeron K. et al. Long-chain omega-3 fatty acids regulate bovine whole-body protein metabolism by promoting muscle insulin signalling to the Akt-mTOR-S6K1 pathway and insulin sensitivity. *J. Physiol.* 579, 269–284, 2007.
- Giugliano D.; Ceriello A.; Esposito K. The effects of diet on inflammation. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 48, n. 4, p. 677-85, 2006.
- Gleeson M, Nieman DC, Pedersen BK. Exercise, nutrition and immunity. *J Sports Sci* 22:115–125, 2004.
- Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol* 103:693–699, 2007
- Gleeson M. Mucosal immune responses and risk of respiratory illness in elite athletes. *Exerc Immunol Rev* 6, 5–42, 2000.
- Goldspink DF, Cox VM, Smith SK, et al. Muscle growth in response to mechanical stimuli. *Am J Physiol.* 268:E288–E297, 2000.
- Goodpaster BHW, Park TB, Harris SB, Kritchevsky M, Nevitt AV, Schwartz EM, Simonsick FA, Tylavsky M, Visser M and Newman, AB. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 61 (10):1059-64. 2006.
- Grabiner MD, Enoka RM. Changes in movement capabilities with aging. *Exerc Sport Sci Rev.* 23: 65–104, 1995.

- Greiwe JS, Cheng B, Rubin DC, Yarasheski KE, Semenkovich CF. Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor alpha in frail elderly humans. *FASEB J* 15:475–82, 2001.
- Grimble RF, Howell WM, O'Reilly G, et al. The ability of fish oil to suppress tumor necrosis factor-alpha production by peripheral blood mononuclear cells in healthy men is associated with polymorphisms in genes which influence TNFalpha production. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:454±459, 2002.
- Grosso S, Volta V, Sala, LA, Vietri M, Marchisio PC, Ron D and Biffo S. PKCβII modulates translation independently from mTOR and through RACK1. *Biochem. J.* 415, 77–85, 2008.
- Gruver AL, Hudson LL, Sempowski GD. Immunosenescence of ageing. *J. Pathol.*; 211, 144–156, 2007.
- Guillet C, Prod'homme M, Balage M, et al. Impaired anabolic response of muscle protein synthesis is associated with S6K1 dysregulation in elderly humans. *FASEB J.* 18: 1586–7, 2004.
- Haahr P, Pedersen B, Fomsgaard A, Tvede N, Diamant M, Klarlund K, Halkjaer-Kristensen J, Bendtzen K. Effect of Physical Exercise Production of Interleukin 1, Interleukin 6, Tumor Necrosis Factor- α, Interleukin 2 and Interferon-γ. *Int J Sports Med* 12: 223-227, 1991.
- Habib FM, Springall DR, Davie GJ, et al. Tumor necrosis factor and inducible nitric oxide synthase in dilated cardiomyopathy. *Lancet*: 347:1151–1155. 1996.
- Hakkinen K, Kallinen M, Izquierdo M, et al. Changes in agonist-antagonist EMG, muscle CSA, and force during strength training in middle-aged and older people. *J Appl Physiol.* 84: 1341–1349, 1998.
- Hakkinen K, Newton RU, Gordon SE, et al. Changes in muscle morphology, electromyographic activity, and force production characteristics during progressive strength training in young and older men. *J Gerontol Biol Sci.* 53A: B415–B423, 1998b.
- Hakkinen, et al. Neuromuscular adaptation during prolonged strength training, detraining and re-strength-training in middle-aged and elderly people. *Eur J Appl Physiol*; 83:51-62, 2000.
- Hambrecht R, Adams V, Gielen S. Exercise intolerance in patients with chronic heart failure and increased expression of inducible nitric oxide synthase in the skeletal muscle. *J Am Coll Cardiol*; 33:174–179, 1999.
- Hardman AE. Exercise in the prevention of atherosclerotic, metabolic and hypertensive diseases: a review. *Journal of Sports Sciences*, v.14, n.3, p.201-218, 1996

- Harridge SD, Kryger A, Stensgaard A. Knee extensor strength, activation, and size in very elderly people following strength training. *Muscle and Nerve*. 22:831–839, 1999.
- Harris WS, Connor WE, Goodnight W, Junior SH. Dietary fish oil, plasma lipids and platelets in man. *Prog Lipid Res*. p. 20-75, 1981.
- Hasten DL, Pak-Loduca J, Obert KA, Yarasheski KE. Resistance exercise acutely increases MHC and mixed muscle protein synthesis rates in 78-84 and 23-32 yr olds. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 278: E620–E626, 2000.
- Hather BM, Tesch PA, Buchanan P, and Dudley GA. Influence of Eccentric Actions on Skeletal Muscle Adaptations to Resistance Training. *Acta.Physiol.,Scand.*, 143, 177-185, 1991.
- Hayashi N, Tashiro T, Yamamori H, Takagi K, Morishima Y, Otsubo Y, Sugiura T, Furukawa K, Nitta H, Nakajima N. et al.Effect of intravenous omega-6 and omega-3 fat emulsions on nitrogen retention and protein kinetics in burned rats. *Nutrition* 15, 135–139, 1999.
- Hazell T, Kenno, K, Jakobi, J. Functional Benefit of Power Training for Older Adults. *Journal of Aging and Physical Activity*, 15, 349-359, 2007.
- Hébuterne A, Bermon S, Schneider SM. Ageing and muscle: the effects of malnutrition, re-nutrition, and physical exercise *Clinical Nutrition and Metabolic Care* 4:295±300, 2010.
- Hellewell, P.G., Williams, T.J., 1994. *The Neutrophil. Immunopharmacology of Neutrophils*. Academic Press, London, 1994.
- Henwood TR e Taaffe DR. Improved physical performance in older adults undertaking a short-term programe of high-velocity resistance training. *Gerontology*, 51, 108-115, 2005.
- Hill K, Smith R, Fearn M, Rydberg M, Oliphant R. Physical and psychological outcomes of a supported physical activity program for older carers. *J Aging Phys Act*. 15: 257–271, 2007.
- Hirakowa K e Utsuyama M, 1989. Combined grafting of bone marrow and thymus, and sequential multiple thymus graftings in various strains of mice: the effect on immune function and life span *Mech. Ageing Dev*. 49, 49–56,1989.
- Hiscock N, Pedersen BK. Exercise-induced immunodepression plasma glutamine is not the link. *J Appl Physiol*. 93: 813-22, 2002.
- Hodes RJ.Molecular alterations in the aging immune system. *J. Exp. Med*. 182, 1 1995.
- Holguin F, Tellez-Rojo MM, Lazo M. Cardiac autonomic Changes associated with fish oil vs. soy oil supplementation in the elderly. *Chest*.1102-1107, 2005.



- Horrocks, L.A.; Yeo, Y.K. Health benefits of docosaexarenoic acid (DHA). *Pharmacological Research*, v.40, n.3, p. 211-225, 1999.
- Hughes VA, Frontera WR, Wood M, et al. Longitudinal muscle strength changes in the elderly: influence of health, physical activity, and body composition. *J Gerontol*;123-145, 2000.
- Ibanez J, MIKEI J, Naki AU, Luis F, Jose LI, Marisol GU, Fernando I, Esteban MG. Twice-Weekly Progressive Resistance Training Decreases Abdominal Fat and Improves Insulin Sensitivity in Older Men With Type 2 Diab Care; 28:662-7. 2005
- IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Em 2010, esperança de vida dos brasileiros chega a 72,9 anos. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>> 01 de dezembro de 2010. acesso em: 12 de janeiro de 2011.
- Innis SM. Perinatal biochemistry and physiology of long chain polyunsaturated fatty acids. *Jounal Pediatric*;143:S1–8, 2003.
- Janeway CA, Travers P, Walport M, Capra JD. *Imunobiologia: o sistema imunológico na saúde e na doença*. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2007.
- Janssen I, Shepard DS, Katzmarzyk PT, Roubenoff R. The healthcare costs of sarcopenia in the United States. *J Am Geriatr Soc* 52:80–5, 2004.
- Jeschke MG, Mlcak RP, Finnerty CC., Norbury WB, Gauglitz GG, Kulp GA. and Herndon DN. Burn size determines the inflammatory and hypermetabolic response. *Crit. Care* 11, R90, 2007.
- Jobin C and Sartor RB The I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B system: a key determinant of mucosa inflammation and protection. *Am J Physiol*. 278: C451–C462, 2000.
- Jones BH, Cowan DN, Tomlinson JP, Robinson JR, Polly DW, Frykman PN. Epidemiology of injuries associated with physical training among young men in the army. *Med Sci Sports Exerc*. 25(2): 197-203m, 1993.
- Judge JO, Whipple RH e Wolfson LI. Effects of resistive and balance exercises on isokinetic strength in older persons. *Journal of the American Geriatrics Society*, 42, 937-946, 2000.
- Kamen G, Knight CA, Laroche DP, Asermely DG. Resistance training increases vastus lateralis motor unit firing rates in young and old adults. *Med Sci Sports Exerc*. 30: S337, 1998.
- Kamen G, Sison SV, Du CC, Patten C. Motor unit discharge behavior in older adults during maximal-effort contractions. *J Appl Physiol*. 79: 1908–1913, 1995.

- Keast D, Cameron K, And Morton Ar. Exercise and the immune response. *Sports Med* 5: 248–267, 1988.
- Keen DA, Yue GH, Enoka RM. Training-related enhancement in the control of motor output in elderly humans. *J Appl Physiol.* 77: 2648-2658, 1994.
- Kelley GA, Kelley KS. Aerobic exercise and HDL2-C: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Atherosclerosis*, 5-9, 2005.
- Kershaw EE e Flier JS. Adipose Tissue as an Endocrine Organ *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* June 1, vol. 89 no. 6 2548-2556, 2004.
- Kew T, Banerjee AM, Minihane YE, Finnegan R, Muggli R, Albers CM, Williams C. Calder R. Lack of effect of foods enriched with plant- or marine-derived n-3 fatty acids on human immune function, *Am.J. Clin. Nutr.* 77: 1287–1295, 2003.
- Kinchen JM, Ravichandran KS. Phagocytic signaling: you can touch, but you can't eat. *Curr Biol.* Jun 24;18(12):R521-4, 2008.
- Kleim JA, Barbay S, Nudo RJ. Functional reorganization of the rat motor cortex following motor skill learning. *J Neurophysiol.* 80: 3321–3325, 1998.
- Klitgaard H, Manton M, Schiaffino S, et al. Function, morphology and protein expression of ageing skeletal muscle: a cross-sectional study of elderly men with different training backgrounds. *Acta Physiol Scand.* 140: 41–54, 1990.
- Knight CA, Kamen G. Adaptations in muscular activation of the knee extensor muscles with strength training in young and older adults. *J Electromyogr Kinesiol.* 11: 405–412, 2001.
- Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H., Inflammatory mediators in the elderly. *Experimental Gerontology* 39 687–699, 2004.
- Kyröläinen H, Avela J, McBride JM, Koskinen S, Andersen JL, Sipilä S, Takala TES and Komi PV, Effects of power training on muscle structure and neuromuscular performance. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 15: 58–64, 2005.
- Lamberts SW, van den Beld AW, and van der Lely AJ. The endocrinology of aging. *Science*, 278, 419–424, 1997.
- Landers KA, Hunter GR, Wetzstein CJ, Bamman MM, Weinsier RL. The inter-relationship among muscle mass, strength, and the ability to perform physical tasks of daily living in younger and older women. *J Gerontol Biol Sci.* 6A:B443–B448, 2001.
- Lang CH, Frost RA, and Vary TC. Regulation of muscle protein synthesis during sepsis and inflammation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 293, E453–E459, 2007.

- Langen RC, Schols AM, Kelders MC, et al. Inflammatory cytokines inhibit myogenic differentiation through activation of nuclear factor-kappaB. *FASEBJ* 2001; 15: 1169–1180, 2001.
- Larosa DF, Orange JS. Lymphocytes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 121, p. 364-369, 2008
- Latham N, Bennett D, Stretton C, Anderson C. Systematic review of progressive resistance strength training in older adults. *Gerontol A Biol Sa Med Sd*.59A: 48-6f, 2004.
- Lauretani F, Bandinelli S, Di Iorio A, Giacomini V, Corsi A.M, Guralnik J.M, Ferrucci L. Axonal degeneration affects muscle density in older men and women. *Neurobiol Aging*, 27, 1145-54, 2006.
- Leong B, Kamen G, Patten C, Burke JR. Maximal motor unit discharge rates in the quadriceps muscles of older weight lifters. *Med Sci Sports Exerc.* 31: 1638–1644, 1999.
- Leveille SG, Bean J, Bandeen-Roche K, Jones R, Hochberg M, Guralnik JM. musculoskeletal pain and risk for falls in older disabled women living in the community. *J Am Geriatr Soc.*;50:671–2002.
- Lewis RD, Brown JM. Influence of muscle activation dynamics on reaction time in the elderly. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 69: 344–349, 1994.
- Lexell J. Human aging, muscle mass, and fiber type composition. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*; 50:11–16, 1995.
- Licastro F, Candore G, Lio D, Porcellini E, Colonna-Romano G, Franceschi C, Caruso C,. Innate immunity and inflammation in ageing: a key for understanding age-related diseases. *Immunity & Ageing*: 2:8, 2005.
- Ligthart GJ, Corberand JX, Geertzen HGM, et al. (1990) Necessity of the assessment of health status in human immunogerontological studies: evaluation of the SENIEUR protocol. *Mech. Ageing Dev.* 55, 89–98, 1990.
- Lombardo YB; Chicco AG. Effects of dietary polyunsaturated n3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodentes and huumans. A review. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 17, p.1-13, 2006.
- Lord, JM, Butcher S, Killampali V, Lascelles D, Salmon M. Neutrophil ageing and immunesenescence. *Mech. Ageing Dev.* 122, 1521-1535, 2001.
- Luu NT, Madden J, Calder PC, Grimble RF, Shearman CP, Chan T. Dietary supplementation with fish oil modifies the ability of human monocytes to induce an inflammatory response. *J Nutr* 137, 2769–2774, 2007.

- Mackinnon LT. *Advances in Exercise and Immunology*. Champaign, IL: Human Kinetics, 1999.
- Mackinodan T, Hirokawa K, Normal aging of the immune system. In: Johnson, H.A. (Ed.) *Relations between Normal Aging and Disease*. Raven Press, NY, pp. 117–132, 1985.
- Maclean, DA.; Graham, TE. and Saltin B. Branched-chain amino acids augment ammonia metabolism while attenuating protein breakdown during exercise. *American Journal of Physiology*, v.26, p.1010-22, 1994.
- Mancinelli R, Vargiu A, Cappai G, Flores M, Fraschini M and Faa G. A Metabolic approach to the treatment of dilated cardiomyopathy in BIO TO-2 cardiomyopathic Syrian hamsters, *BioFactors* 25: 127–135, 2005.
- Matsudo VKR, Matsudo SMM. Câncer e Exercício: Uma Revisão. *Revista Brasileira da Ciência e Movimento*, v.6. p.2, 1992.
- Maughan R, Michael G, Greenhaff, PL. *Bioquímica do exercício e do treinamento*. Editora Manole, 2000.
- Mazzeo RS, Cavanaugh P, Evans WJ, Fiatarone M, Hagberg J, McAuley E, Startzell J. Exercise and physical activity for older adults: American College of Sports Medicine position stand. *Med. Sci. Sport Exerc.* 30, 992–1008, 1998.
- Mc Cartney N, Hicks AI, Martin J, Webber CE. Long-term resistance training in the elderly: effects on dynamic strength, exercise capacity, muscle, and bone. *J Gerontol.* 50A:B97-B104, 1995.
- McDermott MF: TNF and TNFr biology in health and disease. *Cell Mol Biol* 47: 619-35, 2001.
- McMillan DC. Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 12, 223–226, 2009.
- Mensink M, Blaak EE, Vidal H, De Bruin TW, Glatz JF, Saris WH. Lifestyle changes and lipid metabolism gene expression and protein content in skeletal muscle of subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetologia*, v.46, n.8, p.1082-1089, 2003.
- Meydani SN, Wu D, Santos MS, Hayek MG. Antioxidants and immune response in aged persons: overview of present evidence. *Am. J. Clin. Nutr.* 62, 1462S–1476S 1995.
- Miller D, Taler V, Davidson PSR, Messier C. Measuring the impact of exercise on cognitive aging: methodological issues *Neurobiology of Aging* Vol. 33, Issue 3, 622.e29-622.e43, 2007.
- Miller RA, Garcia G, Kirk CJ & Witkowski JM Early activation defects in T lymphocytes from aged mice. *Immunological Reviews* 160,79-90, 1997.

- Miszko TA, Cress ME, Slade JM, Covey CJ, Agrawal, SK e Doerr CE. Effect of strength and power training on physical function in community-dwelling older adults. *Journal of Gerontology: Biological Sciences*, 58A, 171-175, 2003.
- Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM., Yudkin JS, Klein S. e Coppack, SW. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 82, 4196–4200, 1997.
- Moore CS, Bryant SP, Mishra GD, Krebs JD, Browning LM, Miller GJ, Jebb SA, Oily fish reduces plasma triacylglycerols: a primary prevention study in overweight men and women. *Nutrition* V 22, 10, 012-1024, October 2006
- Moreland JD, Richardson JA, Goldsmith CH, Clase CM. Muscle weakness and falls in older adults: a systematic review and meta analysis. *J Am Geriatr Soc*; 52: 1121–1129, 2004.
- Moritani T, DeVries HA. Potential for gross muscle hypertrophy in older men. *J Gerontol.* 35: 672–682, 1980.
- Morse CI, Thom JM, Mian OS, et al. Muscle strength, volume and activation following 12-month resistance training in 70-year-old males. *Eur J Appl Physiol*; 95:197-204, 2005.
- Myrianthefs P, Karatzas S, Venetsianou K, Grouzi E, Evagelopoulou P, Boutzouka E, Fildissis G, Spiliotopoulou I. Seasonal variation in whole blood cytokine production after LPS stimulation in normal individuals. *Cytokine* 24: 286-292, 2003.
- Nagy, K., Nagy, V., Bertoni-Freddari, C., Nagy, I., 1983. Alterations of the synaptosomal membrane 'microviscosity' in the brain cortex of rats during aging and centrophenoxine treatment. *Arch.Gerontol. Geriatr.* 2: 23-39, 1983.
- Naliwaiko K, Araujo RLF, Fonseca RV, Castilho JC, Andreatinni R., Bellissimo MI, Oliveira BH, Martins EF, Cury R., Fernandes LC, Ferraz AC. Effects of fish oil on the central nervous system: A new potential antidepressant. *Nutritional Neuroscience*, 7 (2): 91-99, 2004.
- Narici MV, Hoppeler H, Kayser B, et al. Human quadriceps cross-sectional area, torque and neural activation during 6 months training strength. *Acta Physiol Scand* 157:175-86, 2006.
- Nelson D, Cox M. *Principles of Biochemistry* Third Edition. New York: Worth Publishers. pp. 28–39. ISBN 1-57259-153-6, 2000.
- Nelson M, Layne J, Bernstein M. The effects of multidimensional home-based exercise on functional performance in elderly people. *Gertmttil A Bitd .Sd Metl Sa.*59A: 2004.

- Nestel PJ, et al. Suppression by diets rich in fish oil of very-low-density lipoprotein production in man. *J Clin Invest.* v. 74, p. 82-89, 1984.
- Newman AB, Haggerty CL, Goodpaster B, Harris T, Kritchevsky S, Nevitt M, Miles TP, Visser M. Strength and Muscle Quality in a Well-Functioning Cohort of Older Adults: The Health, Aging and Body Composition Study for the Health, Aging, and Body Composition Research Group *J Am Geriatr Soc* 51:323–330, 2003.
- Nicolas G, Bazan M, Molina F, Gordon WC. Docosahexaenoic acid signalolipidomics in nutrition: neuroinflammation, macular degeneration, Alzheimer's and other neurodegenerative diseases. *Annu. Rev. Nutr;* 31:321-51, 2011.
- Niedergang F, Chavrier P. Signaling and membrane dynamics during phagocytosis: many roads lead to the phagos(R)ome. *Current Opinion in Cell Biology* V16, 4, August, 422-428, 2004.
- Nieman DC, Davis JM, Henson DA, Walberg-Rankin J, Shute M, Dumke CL, Utter AC, Vinci DM, Carson JA, Brown A, Lee WJ, McAnulty SR, and McAnulty LS. Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokine levels after a 3-hrun. *J Appl Physiol* 94: 1917–1925, 2003.
- Nieman DC, Henson DA, Gusewitch BJ, et al. Physical activity and immune function in elderly women. *Med Sci Sports Exerc.*;25: 823–831, 1993.
- Nieman DC, Henson DA, smith LL, Utter AC, Vincl DM, Davis JM, Kaminsky DE, and Shute M. Cytokine changes after a marathon race. *J Appl Physiol* 91: 109–114, 2001.
- Nieman DC, Nehlsen-Canarella SL, Fagoaga OR, Henson DA, Utter A, Davis JM, Williams F, and Butterworth DE. Influence of mode and carbohydrate on the cytokine response to heavy exertion. *Med Sci Sports Exerc* 30: 671–678, 1998.
- Nieman DC, Pedersen BK. Exercise and immune function. *Sports Med.* Feb. 27: 73-80, 1999.
- Nieman DC. Exercise immunology. Nutritional countermeasures. *Can. J. Appl. Physiol.* 26: 45-55, 2001.
- Nieman DC. Exercise, infection and immunity. *Int J Sports Med*,15: S131-41. 1994.
- Niwa Y, Kasama T, Miyachi Y, Kanoh T. Neutrophil chemotaxis, phagocytosis and parameters of reactive oxygen species in human aging: cross sectional and longitudinal studies. *Life Sci.* 44, 1655–1664.1989.
- Northoff H, Weinstock C, Berg A. The cytokine response to strenuous exercise. *Inter J Sports Med* 15S3: S167-S171, 1994.

- O'Donovan G, Kearney EM, Nevill AM, Woolf-May K, Bird SR. The effects of 24 weeks of moderate- or high-intensity exercise on insulin resistance. *European Journal of Applied Physiology*, v., p.1-7, 2005.
- Ostrowski K, Rhode T, Zacho M, Asp S & Pedersen BK (1998). Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *J Physiol* 508, 949–953, 1998.
- Pardini DP. Alterações hormonais da mulher atleta. *Arq Bras Endocrinol Metab*; 45(4): 343-51, 2001.
- Patsch W, Szklo M, Folsom AI, Gotto A Jr, Nietto Fg, Shimakuwa T, Wijnberg L. Trends in plasma cholesterol levels in the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Prev Med*. 30(3): 252-9, 2000.
- Patten CT, Kamen G, Rowland DM. Adaptations in maximal motor unit discharge rate to strength training in young and older adults. *Muscle Nerve*. 24: 542–550, 2001.
- Patten CT, Kamen G. Adaptations in motor unit discharge activity with force control training in young and older human adults. *Eur J Appl Physiol*. 83: 128–143, 2000.
- Patten CT. Reeducação da força muscular em idosos através do treinamento de força. *Top Geriatric Rehabil*. 15: 47–59, 2000.
- Patten GS, Abeywardena MY, McMurchie EJ, Jahangiri A. Biochemical and Molecular Actions of Nutrients Dietary Fish Oil Increases Acetylcholine- and Eicosanoid-Induced Contractility of Isolated Rat Ileum 1; 2506-2513, 2001.
- Pedersen B, Rohde T, Ostrowski K. Recovery of the immune system after exercise. *Acta Physiol Scand* 162: 325-332, 1998.
- Pedersen BC, Toft AD, Effects of exercise on lymphocytes and cytokines, *Br. J. Sports Med*. 34, 246–251, 2000.
- Pedersen M, Bruunsgaard H, Weis N, Hendel HW, Andreassen BU, Eldrup E, Dela F, Pedersen BK. Circulating levels of TNF $\alpha$  and IL-6—relation to truncal fat mass and muscle mass in healthy elderly individuals and in patients with type-2 diabetes. *Mech. Ageing Dev*. 124, 495–502, 2003.
- Pedersen BK, Bruunsgaard H, Ostrowski K, Krabbe K, Hansen H, Krzywkowski K, Toft A, Sondergaard SR, Petersen EW, Ibfelt T.; Schjerling, P. Cytokines in aging and exercise. *Int. J. Sports Med*. 21 Suppl. 1:S4-S9, 107, 2000.
- Perianin A, Combadiere C, Pedruzzi E, Djerdjouri B, Hakim J. Staurosporine stimulates phospholipase D activation in human polymorphonuclear leukocytes. *FEBS Lett*. 315, 33/37, 1993.

- Perry MC, Carville SF, Smith IC, Rutherford OM, Newham DJ. Strength, power output and symmetry of leg muscles: effect of age and history of falling. *Eur. J. Appl. Physiol.* 100, 553–561, 2007.
- Persch LN, Ugrinowitsch C, Pereira G, Rodacki ALF. Strength training improves fall-related gait kinematics in the elderly: a randomized controlled trial. *Clin Biomech.* 24:819–825, 2009.
- Perussia B, Kobayashi M, Rossi ME, Anegon I. and Trinchieri G. Immune interferon enhances functional properties of human granulocytes: role of Fc receptors and effect of lymphotoxin, tumor necrosis factor, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J. Immunol.* 138, 765, 1987.
- Petkova DH, Momchilova AB., Koumanov KS. 1986. Age-related changes in rat liver plasma membrane phospholipase A2 activity. *Exp. Gerontol.* 21:187-193, 1986.
- Pijnappels M, van der Burg PJ, Reeves ND, van Dieen JH. Identification of elderly fallers by muscle strength measures. *Eur. J. Appl. Physiol.* 102, 585–592, 2008.
- Pilegaard H, Ordway GA, Saltin B, and Neufer PD. Transcriptional regulation of gene expression in human skeletal muscle during recovery from exercise. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism* 279, E806–814, 2000.
- Pot GK, Brouwer IA, Enneman A, Rijkers GT, Kampman E and Geelen A No effect of fish oil supplementation on serum inflammatory markers and their interrelationships: a randomized controlled trial in healthy, middle-aged individuals. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63, 1353–1359, 2009.
- Pyka G, Lindenberger E, Charette S, Marcus R. Muscle strength and fiber adaptations to a year-long resistance training program in elderly men and women. *J Gerontol.* 49A: M22–M27, 1994.
- Rall LC, Roubenoff R, Cannon JG, Abad LW, Dinarello CA, Meydani SN. Effects of progressive resistance training on immune response in aging and chronic inflammation. *Med Sci Sports Exerc*; 28: 1356–1365, 1996.
- Ramsbottom R, Ambler A, Potter J. The effect of 6 months training on leg power, balance, and functional mobility of independently living adults over 70 years old. *J Aging Phys Act.* 12: 497-510, 2004.
- Rees D, Miles EA, Banerjee T, Wells SJ, Roynette CE, Wahle KW. Dose-related effects of eicosapentaenoic acid on innate immune function in healthy humans: a comparison of young and older men. *Am J Clin Nutr* 83, 331–342, 2006.
- Reeves ND, Maganaris CN, Narici MV. Effect of strength training on human patella tendon mechanical properties of older individuals. *J Physiol.* 548: 971–981, 2003.



- Reeves ND, Narici MV, Maganaris, CD. Effect of resistance training on skeletal muscle-specific force in elderly humans. *Journal of Applied Physiology*. 96: 885-892, 2004.
- Reid KF, Naumova EN, Carabello RJ, et al. Lower extremity muscle mass predicts functional performance in mobility-limited elders. *J Nutr Health Aging*; 12:493–498, 2008.
- Remple MS, Bruneau RM, Van den Berg PM, Goertzen C, Kleim JA. Sensitivity of cortical movement representations to motor experience: evidence that skill learning but not strength training induces cortical reorganization. *Behav Brain Res*. 123: 133–141, 2001.
- Ricard MD, Ugrinowitsch C, Parcell AC, Hilton S, Rubley MD, Sawyer R, Poole CR. Effects of Rate of Force Development on EMG Amplitude and Frequency. *Int J Sports Med* 26(1/02): 66-70, 2005.
- Rieu I, Magne H, Savary-Auzeloux I, Averous J, Bos C, Peyron MA, Combaret L. and Dardevet D. Reduction of low grade inflammation restores blunting of postprandial muscle anabolism and limits sarcopenia in old rats. *J. Physiol*. 587, 5483–5492, 2009.
- Rigla M, Sánchez-Quesada JL, Ordóñez-Lianos J, Prat T, Caixàs A, Jorba O,, et al. Effect of physical exercise on lipoprotein (a) and low-density lipoprotein modifications in type-1 and type-2 diabetic patients. *Metabolism*; 49(5): 640-7, 2000.
- Rink L, Cakman I, Kirchner H, 1998. Altered cytokine production in the elderly. *Mech. Ageing Dev*. 102, 199, 1998.
- Robinson LE, Field CJ. Dietary Long-Chain (n-3) Fatty Acids Facilitate Immune Cell Activation in Sedentary, but not Exercise-Trained Rats. *J. Nutr*.128: 498-504, 1998.
- Rodacki CLN, Rodacki ALF, Pereira G, Naliwaiko K, Coelho I, Pequito D, Fernandes LC. Fish-oil supplementation enhances the effects of strength training in elderly women. *Am J Clin Nutr*, 95: 2 428-436; 2012.
- Rogers MA, Evans WJ: Changes in skeletal muscle with aging: Effects of exercise training. *Exerc Sport Sci Rev* 21: 65–102, 1993.
- Roth SM, Ivey FM, Martel GF. Muscle size responses to strength training in young and older men and women. *J Am Geriatr Soc*. 49: 1428–1433, 2001.
- Roubenoff R, Harris TB, Abad LW, Wilson PF, Dallal GE, Dinarello CA. Monocyte cytokine production in an elderly population: effect of age and inflammation. *J. Gerontol. Med. Sci*. 53, M20–M26, 1998.

- Roubenoff R e Hughes V: Sarcopenia: current concepts. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 55:M716-724, 2000.
- Rutherford OM, Jones DA. The role of learning and coordination in strength training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 55: 100–105, 1986.
- Ryan AM, Reynolds JV, Healy L, Byrne M, Moore J, Brannelly N, McHugh A, McCormack D and Flood, P. Enteral nutrition enriched with eicosapentaenoic acid (EPA) preserves lean body mass following esophageal cancer surgery: results of a double-blinded randomized controlled trial. *Ann. Surg.* 249, 355–363, 2009.
- Sanders TBA. Triglyceride lowering effects of marine polyunsaturates in patients with hypertriglyceridemia. *Arterioscl. v. 5*, p. 459-465, 1985.
- Sanders TBA. Influence of moderate intakes of fish oil on bloods lipids. In: Land WEM. *Polyunsaturated fatty acids and eicosanoids*. Champaign, IL: Americam Oil Chemists Society, p.70-86, 1987.
- Sanes JN, Donoghue JP. Plasticity and primary motor cortex. *Ann Rev Neurosci*. 23: 393–415, 2000.
- Sauer LA, Dauchy RT, Blask De. Mechanism for the antitumor and anticachectic of n-3 fatty acids. *Cancer Research*, 60: 5289-5295, 2000.
- Sayers SP, Bean J, Cuoco A, Le Brasseur NK, Jette A e Fielding RA. Changes in function and disability after resistance training: Does velocity matter? A pilot study. *American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 82, 605-613, 2003.
- Scaglioni G, Narci MV, Mafiuletti NA. Effect of ageing on the electrical and mechanical properties of human slues motor unit activated by the H reflex and M wave. *J Physiol*; 548:649-66, 2003.
- Schneider EL. Infectious diseases in the elderly. *Ann. Intern.Med.* 98, 395-400, 1983.
- Scott CC, Botelho RJ, Grinstein S. Phagosome maturation: a few bugs in the system. *The Journal of Membrane Biology*, 193: 137-152, 2003.
- Seematter C, Binnert JL, Martin L, Tappy L. Relationship between stress, inflammation and metabolism, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 7: 169–173, 2004.
- Senchina DS, Kohut ML. Immunological outcomes of exercise in older adults *Clinical Interventions in Aging* 2(1): 1-16, 2000.
- Seres I, Csongor J, Mohacsi A, Leovey A, Fulop T Agedependent alterations of human recombinant GM-CSF effects on human granulocytes. *Mech. Ageing Dev.* 71: 143-154, 1993.

- Serhan CN. Novel chemical mediators in the resolution of inflammation: resolvins and protectins. *Anesthesiol. Clin. North Am.* 24: 341–364, 2006.
- Shaikh SR, Edidin M. Polyunsaturated fatty acids and membrane organization: elucidating mechanisms to balance immunotherapy and susceptibility to infection. *Chem. Phys. Lipids* 153:24–33, 2008.
- Shephard RJ and Shek PN Cancer, immune function and physical activity *Can J Applied Physiol* 20: 1–25, 1995.
- Shils ME. *Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença* Editora Manoele 2003.
- Shinkai S, Kohno H, Kimura K, Komura T, Asai H, Inai R, Oka K, Kurokawa Y, Shepard R: Physical activity and immune senescence in men *Med Sci Sports Exerc* , 27:1516-1526, 1995.
- Shinkai SK Shore S, Shek PN, Shephard RJ. Acute exercise and immune function. Relationship between lymphocyte activity and changes in subset counts. *International Journal of Sports Medicine*,13 (6): 452-461, 1992.
- Simopoulos AP. Evolutionary aspects of the diet omega-6: omega-3 fatty acid ratio: Medical implications *World Rev Nutr Diet.*100: 1-21, 2009.
- Simopoulos AP. Ômega 3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 54, p. 438-463, 1991.
- Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega6/omega3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacoteraphy*, 56: 365-379, 2002.
- Sindermann J, Kruse A, Frercks HJ, Schutz RM & Kirchner H. Investigations of the lymphokine system in elderly individuals. *Mechanism of Ageing and Development* 70, 149-159, 1993.
- Singh NA, Clements KM e Fiatarone MA. A randomized controlled trial of progressive resistance training in depressed elders. *Journal of Gerontology: Biological Sciences*, 52A, M27-M35, 1997.
- Siqueira Jr JF, Dantas, CJS. *Mecanismos Celulares e Moleculares da Inflamação*. Rio de Janeiro: MEDSi. 238 p. 2000.
- Skelton DA, Greig CA, Davies JM, Young A. Strength, power and related functional ability of healthy people aged 65–89 years. *Age and Ageing*; 23:371-377, 1994.
- Skelton DA, Young A, Greig CA e Malbut KE. Effects of resistance training on strength, power, and selected functional abilities of women aged 75 and older. *Journal of the American Geriatrics Society*, 43, 1081-1087, 1995.
- Smith GI, Atherton P, Reeds DN, Mohammed BS, Rankin D, Rennie MJ And Mittendorfer, B. Omega-3 polyunsaturated fatty acids augment the muscle protein

- anabolic response to hyperinsulinaemia–hyperaminoacidaemia in healthy young and middle-aged men and women. *Clinical Science*. 121: 267–278, 2011a.
- Smith GI, Atherton P, Reeds DN, Mohammed BS, Rankin D, Rennie MJ. and Mittendorfer B. Dietary omega-3 fatty acid supplementation increases the rate of muscle protein synthesis in older adults: a randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 93: 402–412, 2011.
- Smith WL. The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action *Biochemistry Journal*, 259: 315-324, 1989.
- Spate U, Schulze PC. Proinflammatory cytokines and skeletal muscle. *Clin Nutr Metab Care* 7: 265–269, 2004.
- Spirduso W e Cronin D. Exercise dose response effects on quality of life and independent living in older adults. *Med and Sports Exer*, 3: S598-S608, 2001
- Stanton K, Dustan D, Mori T, Puddey I, Burke V. The Independent and combined effects of aerobic exercise and dietary fish intake on serum lipids and glycemic control in NIDDM. A randomized controlled study. *Diabetes Care*. 20(6): 913-21, 1997.
- Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, and Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans. *FASEB J*. 17:884–886, 2003.
- Steensberg A, Vanhall G, Osada T. Sacchetti M, Saltin B. & Klarlund PB. (2000). Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *Journal of Physiology* 529, 237–242, 2000.
- Steib S, Schoene D, Pfeifer K. Dose-response relationship of resistance training in older adults: A meta-analysis. *Medicine and Science in Spor and Exercise*, 42(5): 902-914, 2010.
- Stessnian I, Hamnierman-Rozenberg R, Maaravi Y, Cohen A. Effects of exercise on ease of performing activities of daily living and instrumental activities of daily living from age 70 to 77: the Jerusalem longitudinal study, *f Am Geriatr Soc*. 50:19.S4-1938, 2002.
- Stevens JE, Stackhouse SK, Binder-Macleod SA, Snyder-Mackler L. Are voluntary muscle activation deficits in older adults meaningful? *Muscle Nerve*. 27: 99–101, 2003.
- Stuart LM, Ezekowitz RAB. Phagocytosis: elegant complexity. *Immunity*, v. 22, p. 539-550, 2005.

- Stubbs CO, Lee AJ. The obesity epidemic: both energy intake and physical activity contribute. *The Medical Journal of Australia*, 181, 9: 489-491, 2004.
- Suetta C, Andersen JL, Dalgas U, Berget J, Koskinen S, Aagaard P, Magnusson P, Kjaer M. Resistance training induces qualitative changes in muscle morphology, muscle architecture, and muscle function in elderly postoperative patients. *J Appl Physiol*. 105: 180-186, 2008.
- Supari F, Ungerer T, Harisson DG. Fish oil treatment decreased superoxide anions in the myocardium and coronary arteries of atherosclerotic monkeys. *Circulation*; 91:1123-1128, 1995.
- Surette ME. The science behind dietary omega 3 fatty acids. *Canadian Medical Association Journal*, 178, 2: 177-180, 2008.
- Teran-Garcia M, Rankinen T, Koza RA, Rao DC, Bouchard C. Endurance training-induced changes in insulin sensitivity and gene expression. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 288, 6: E1168-78, 2001.
- Tortorella C, Piazzolla G, Napopi N, Antonaci S Neutrophil apoptotic cell death: does it contribute to the increased infectious risk in aging? *Microbios* 106: 129–136, 2001.
- Tortorella C, Piazzolla G, Spaccavento F, Pece S, Jirillo E, Antonaci S Spontaneous and Fas induced apoptotic cell death in aged neutrophils. *J. Clin. Immunol.* 18, 321–329, 1998.
- Trappe S, Godard M, Gallagher P, Carroll C, Rowden G, Porter D. Resistance training improves single muscle fiber contractile function in older women. *American Journal of Physiology and Cellular Physiology*. 281: C398-C406, 2000.
- Trappe S, Williamson D, Godard M. Maintenance of whole muscle strength and size following resistance training in older men. *J Gerontol Biol Sci.* 57A: B138–B143, 2002.
- Ullum H, Haahr PM, Diamant M, Palmo J, Halkjaer-Kristensen J. Bicycle exercise enhances plasma IL6 but does not change IL1 alpha, IL1 beta, IL6, or TNF-alpha pre-mRNA in BMNC, *J. Appl. Physiol.* 77 93–97, 1994.
- Utsuyama M, Hirokawa K, Kurashima C. Differential age changes in the numbers of CD4+, CD45RA+, and CD4+CD29+T cell subsets in human peripheral blood. *Mech. Ageing Dev.* 63:57-68, 1992.
- Van Cutsem M, Duchateau J, Hainaut K. Changes in single motor unit behavior contribute to the increase in contraction speed after dynamic training in humans. *J Physiol.* 513 (Pt 1): 295–305, 1998.

- Van den Biggelaar AH, Huizinga TW, de Craen AJ, et al. Impaired innate immunity predicts frailty in old age: the Leiden 85-plus study. *Exp Gerontol*; 39:1407–1414, 2004.
- Van Norren K, Kegler D, Argiles JM, Luiking Y, Gorselink M, Laviano A, Arts K, Faber J, Jansen H, van der Beek EM. and van Helvoort A. Dietary supplementation with a specific combination of high protein, leucine, and fish oil improves muscle function and daily activity in tumour-bearing cachectic mice. *Br J Cancer* 100, 713–722, 2009.
- Van den Berg P, Bruneau R, Remple M, Soroka N, Cooper N, Kleim JA. Strength vs skill: differential patterns of plasticity within the rat motor system. *Soc Neurosci Abstr.* 27: 931.3, 2003.
- Vandervoort AA. Aging of the human neuromuscular system. *Muscle Nerve*; 25:17–25, 2002.
- Veras RP, Caldas CP, Araújo DV, Kushinir R, Mendes W. Características demográficas dos idosos vinculados ao sistema suplementar de saúde no Brasil. *Revista de saúde Pública* 42: 497-502, 2008.
- Visser M, Goodpaster BH, Kritchevsky SB et al., Muscle mass, muscle strength and muscle fat infiltration as predictor of incident mobility limitations in well-functioning older persons. *Journal of Gerontology: Biol Sci med*, 60: 324-333, 2005.
- Visser M, Pahor M, Taaffe DR, Goodpaster BH, Simonsick EM, Newman AB., Nevitt M, Harris TB. Relationship of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC study. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 57, M326–M332, 2002.
- Volpi E, Nazemi R, Fujita S. Muscle tissue changes with aging. *Clin Nutr Metab Care* 7: 405–410, 2004.
- Wallerstein, LF. Influência dos treinamentos de força e potência nas adaptações neurais, morfológicas e na funcionalidade de idosos. Dissertação de Mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Educação Física da USP/SP. Orientador Carlos Ugrinowitsch. São Paulo, 2010
- Wassall SR, Stillwell W. Docosahexaenoic acid domains: the ultimate non-raft membrane domain *Chemistry and Physics of Lipids*, V153, 1: 57-63, 2008.
- Watkins LR, Maier SF, Goehler LE: Immune activation: The role of pro-inflammatory cytokines in inflammation, illness responses and pathological pain states. *Pain* 63: 289-302, 1995.
- Weindruch R. 1995. Immunogerontologic outcomes of dietary restriction started in adulthood. *Nut.Rev.* 53, S66–S7, 1995.

- Wenisch C, Patruta S, Daxbock F, Krause R, Horl W. Effect of age on human neutrophil function. *J. Leuk. Biol.* 67: 40–45, 2000.
- Wesley Alexander J. Immunonutrition. The role of w-3 fatty acid. *Nutrition* 14:7-8, 1998.
- Wolinsky FD, Callahan CM, Fitzgerald JF, Johnson RJ. The risk of nursing home placement and subsequent death among older adults. *J Gerontol* 47:S173–82, 1992.
- Woods JA, Cедdia MA, Wolters BW, Evans JK, Lu Q, McAuley E. Effects of 6 months of moderate aerobic exercise training on immunefunction in the elderly. *Mech Ageing Dev*, 109: 1–19, 1999.
- Wu Y, Reece RJ and Ptashne M. Quantitation of putative activator-target affinities predicts transcriptional activating potentials. *EMBO J*, 15, 3951–3963, 1996.
- Wyss M, e Kaddurah-Daouk R. Creatine and Creatinine Metabolism *Physiol Rev* 80: 1107–1213, 2000.
- Xu X, Beckman I, Bradley J: Age-related changes in the expression of IL-2 and high affinity IL-2 binding sites. *Int Arch AllergyImmunol*, 102:224-231, 1993
- Yamamoto K, Sasada M Neutrophil function. *Jap. J. Clin. Med.*57 (Suppl.), 524–526, 1999.
- Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI. Essential fatty acids are mediators of brain biochemistry and cognitive functions. *J Neurol Sci.* 56: 565–570, 1999.
- Yehuda S.; Rabinovitz S, Mostofsky DI. Essential fat acids on the brain: From Infancy to aging. *Neurobiology of Aging*; 26S: S98-S102, 2005.
- Yeung T, Ozdamar B; Paroutis, P. Grinstein, S. Lipid metabolism and dynamics during phagocytosis. *Current Opinion in Cell Biology.* 18: 429-437, 2006.
- Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *International Journal of Developmental Neuroscience*, v.18, p.383-399, 2000.
- Young A, Stokes M, Crowe M: The size and strength of the quadriceps muscle of old and young men. *Clin Physiol.* 5: 145–155, 1985.
- Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev.* 74: 139-62, 1994.
- Yu BP. Putative interventions. In: E.J. Masoro (Ed.) *Handbook of Physiology* (Section 11: Aging). Oxford University Press, 613–631, 1995.
- Yue GH, Ranganathan VK, Siemionow V, Liu JZ, Sahgal V. Older adults exhibit a reduced ability to fully activate their biceps brachii muscle, 1999.

Zatsick NM, Mayket P. Fish oil: getting to the heart of it. *The Journal for nurse practitioners*, 3: 104-109, 2007.