

**SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA
CURSO DE MESTRADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA**

JULYE LEIKO YWAZAKI

O EFEITO DO EXERCÍCIO RESISTIDO E DO ALONGAMENTO NO MÚSCULO
SOLEO DE RATAS OSTEOPÊNICAS



Curitiba-PR

2012

JULYE LEIKO YWAZAKI

O EFEITO DO EXERCÍCIO RESISTIDO E DO ALONGAMENTO NO MÚSCULO
SOLEO DE RATAS OSTEOPÊNICAS

Dissertação apresentada como requisito parcial para à obtenção do grau de Mestre em Educação Física, Departamento de Educação Física, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dra Anna Raquel Silveira Gomes
Co-orientadora: Prof^a Ana Paula Cunha Loureiro (PUC/PR)



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós Graduação em
Educação Física




TERMO DE APROVAÇÃO

JULYE LEIKO YWAZAKI

“O Efeito Exercício Resistido e do do Alongamento no Músculo Sóleo de Ratas Osteopênicas”

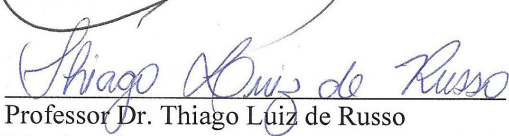
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Educação Física – Área de Concentração Exercício e Esporte, Linha de Pesquisa Fisiologia da Performance, do Departamento de Educação Física do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:



Professora Dra. Anna Raquel Silveira Gomes (Orientadora)



Professor Dr. Luiz Claudio Fernandes
Membro Interno



Professor Dr. Thiago Luiz de Russo
Membro Externo

Curitiba, 09 de Março de 2012

Campus Jardim Botânico—CEP: 80.215-370 – Curitiba/PR
Telefone: (41) 3362-8745 Fax (41) 3360-4336
email: mestrado_edf@ufpr.br danieldias@ufpr.br

www.edf.ufpr.br

DEDICATÓRIA

*A Deus,
A minha família,
Tomeji, Dulce, Mirian e Phelipe.*

AGRADECIMENTOS

Hoje coloco o último ponto de minha dissertação de mestrado, dois anos que se passaram como se fosse uma viagem onde passei por várias estações e nessas estações encontrei pessoas que me ajudaram de diversas formas, e hoje, em minha última parada, estou na estação de despedida e agradecimento, a qual me despeço com saudade, mas com a certeza de que aprendi muito e que tenho muitas viagens a percorrer, assim como tenho a certeza do quanto tenho a agradecer e agradeço a todas as pessoas que percorreram comigo nesta caminhada...

À Deus,

Minha fortaleza.

Aos meus pais,

Que me propiciaram uma vida digna onde eu pudesse crescer, acreditando que tudo é possível, desde que sejamos honestos, íntegros de caráter e que sonhar e concretizar sonhos só depende de nossa vontade.

Ao meu querido Saguí,

Por me mostrar que a luta do dia a dia não é fácil, mas que podemos superá-los de formas simples, simplesmente vivendo.

À minha irmã Mirian e Rogério,

Família é essencial.

À Ana Paula Loureiro Cunha, prof,

Onde tudo começou, obrigada pela oportunidade da minha primeira cirurgia experimental e pela colaboração em todas as etapas deste projeto.

À Rafael Zotz,

Pelo apoio técnico e em disponibilizar biotério da PUC/PR para viabilização dos procedimentos experimentais.

À Ana Paula Camargo Martins da PUC/PR,

Pela paciência e disponibilidade em me ajudar com toda a parte de confecção das lâminas histológicas.

À Luana Ribeiro Nascimento, Douglas Vizzu Nobre e Equipe de Laboratório do Setor Litoral,

Pela ajuda para isolar fibras musculares para contagem dos sarcômeros em série.

À Daniel Dias,

Pela ajuda com toda a documentação de bolsa, qualificação entre outros, e pela ajuda, no dia da minha defesa, para arrumar a sala e me acalmar na síndrome de tremedeira.

À Profª Thelma Veiga Ludwig do Departamento de Botânica da UFPR,

Pelo empréstimo do fotomicroscópio e ter dado apoio técnico para o seu manuseio, para realização das fotomicrografias dos sarcômeros.

À PUC/PR,

Pelo financiamento parcial do projeto.

Ao CNPQ,

Por ter concedido a prof Thelma Veiga Ludwig o fotomicroscópio e pela bolsa de produtividade em pesquisa concedida para minha orientadora.

Ao ReUni,

Pela concessão de minha bolsa de mestrado.

À UFPR,

Por financiar meu mestrado.

À Caroline Godoy Melo e Silva, fro,

Minha grande amiga de todas as horas e momentos.

Aos professores Luiz Claudio Fernandes e Thiago Luiz de Russo,

Pela disponibilidade em compor minha banca examinadora, pelas contribuições e observações imprescindíveis para enriquecimento desta dissertação.

À Anna Raquel Silveira Gomes,

Por ter orientado meus passos para meu crescimento profissional, pelos conhecimentos repassados, pela disponibilidade, confiança, paciência e principalmente por ter entendido minhas fragilidades e soube respeitar minhas limitações.

À Ana Carolina Macedo Brandt,

Meu agradecimento especial, por ter me acompanhado em todas as etapas do mestrado, desde os mais fáceis aos mais complexos, desde as mais alegres as que levaram a lágrimas e decepções, pelo companherismo, pela eficiência, pela lição profissional, moral e vida.

“...Bom mesmo é ir a luta com determinação. Abraçar a vida e viver com paixão, perder com classe e vencer com ousadia porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito para ser insignificante.” (Charlie Chaplin)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi analisar o efeito do exercício resistido e/ou alongamento muscular, na morfologia do músculo sóleo de ratas osteopênicas. Para tal, 75 ratas *Wistar* (218 ± 22 g) foram divididas em 8 grupos: Grupo Controle (CONT, n=5): ratas intactas; Grupo Ovariectomia e Histerectomia (OH, n= 10): submetidas a ovariectomia e histerectomia e aguardaram 60 dias para se instalar o quadro de osteopenia. Grupo Alongamento (ALONG, n= 10)- músculo sóleo esquerdo foi submetido apenas ao alongamento; Grupo Ovariectomia e Histerectomia e Alongamento (OH+ALONG, n=10)- submetidas à ovariectomia e histerectomia, e o músculo sóleo esquerdo foi submetido ao alongamento, realizado manualmente, composto por 10 séries de 60 segundos, 2x/semana. Grupo Exercício resistido (ER, n=10) foram submetidas somente ao exercício resistido, composto por 4 séries de 10 saltos, com carga progressiva, iniciando com 50% do peso corporal, aumentando progressivamente quinzenalmente até 70% do peso corporal, 3x/semana. Grupo ER+ALONG (n=10): submetidas ao exercício resistido e ao alongamento. Grupo Ovariectomia e Histerectomia e Exercício resistido (OH+ER, n=10) submetidas à ovariectomia e histerectomia e ao exercício resistido. Grupo Ovariectomia e Histerectomia, Exercício resistido e Alongamento (OH+ER+ALONG, n=10) submetidas à ovariectomia e histerectomia, ao alongamento e ao exercício resistido. Ao final de 6 semanas as ratas de todos os grupos foram submetidas a ortotanásia para a retirada do músculo sóleo. As seguintes variáveis foram analisadas: peso corporal; peso muscular; comprimento do músculo; número de sarcômeros em série; comprimento dos sarcômeros e área de secção transversa das fibras musculares. A análise dos resultados foi realizada pela comparação entre o peso corporal inicial e final e entre o sóleo direito e esquerdo por meio do teste t pareado. Resultados paramétricos foram analisados com ANOVA *one way post hoc* Tukey e os não paramétricos com Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Foi observado aumento de peso corporal final em relação ao inicial em todos os grupos ($p < 0,05$, teste t pareado). O peso corporal final dos grupos que foram submetidos à ovariectomia e histerectomia foram maiores quando comparado aos grupos que realizaram apenas os protocolos de exercícios. O peso muscular dos grupos OH+ER+ALONG, OH+ER e OH+ALONG foi superior quando comparado ao ER+ALONG ($p < 0,05$) e ao ER ($p < 0,05$). O OH+ER+ALONG apresentam maior comprimento muscular comparado ao ER ($p = 0,02$), C ($p = 0,003$)

e ALONG ($p=0,03$). O OH+ER foi superior comparado aos grupos ER, C e ALONG ($p=0,03$, $p=0,04$ e $p=0,04$ respectivamente). O número de sarcômeros em série do OH+ER+ALONG foi superior aos grupos: C ($p=0,001$) e ALONG ($p=0,02$). O OH apresentou maior número de sarcômeros comparado ao ER ($p= 0,007$), ER+ALONG ($p=0,017$), C ($p= 0,0003$) e ALONG ($p=0,003$). O OH apresentou área de secção transversa do músculo sóleo menor comparada a todos os grupos. A ovariectomia e histerectomia induziu sarcopenia, mas os protocolos de exercícios realizados foram suficientes para prevenir a perda da área de secção transversa das fibras musculares. A sobrecarga do peso corporal associada ou não ao exercício resistido com o alongamento favoreceu a sarcomerogênese em ratas osteopênicas.

Palavras-chaves: exercícios de alongamento muscular, exercício, sistema músculoesquelético, sarcopenia, osteopenia, ratas.

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the effect of resistance exercise and/or stretching, in the soleus muscle morphology of osteopenic female rats. For this purpose, 75 Wistar female rats ($218 \pm 22\text{g}$) were divided into eight groups: control group (CONT, $n = 5$): intact; Ovariectomy and hysterectomy group (OH, $n = 10$): hysterectomy and ovariectomy and waited 60 days to install osteopenia. Stretching Group (STRET, $n = 10$)- left soleus muscle was submitted only to stretching; Ovariectomy, Hysterectomy and Stretching Group (OH+STRET, $n = 10$)- ovariectomy and hysterectomy and left soleus muscle was subjected to stretching, performed manually, composed by 10 sets of 60 seconds, twice a week; Resistance exercise Group (PL, $n = 10$) the rats were submitted only to resistance exercise, consisting of four sets of 10 jumps, with progressive loading, starting with 50% of body weight, gradually increasing up fortnightly to 70% of body weight, 3 times per week; PL+STRET group ($n = 10$): resistance exercise and stretching protocols; Ovariectomy and Hysterectomy and Resistance exercise Group (OH+PL, $n = 10$) ovariectomy and hysterectomy and resistance exercise; Ovariectomy and hysterectomy, Resistance exercise and stretching Group (OH+PL+STRET, $n = 10$) ovariectomy and hysterectomy, resistance exercise and stretching. After 6 weeks the rats of all groups were submitted orthothanasia for soleus muscle excision. The following variables were analyzed: body weight, muscle weight, muscle length, number of sarcomeres in series, sarcomere length and cross-sectional area of muscle fibers. The data analyses were performed by comparing the initial and final body weight and right and left soleus through paired *student t* test. Parametric data were analyzed by *one way analysis of variance* (ANOVA) *post hoc* Tukey and non-parametric with Kruskal-Wallis test ($p < 0.05$). Results: It was observed an increase in the final body weight compared to all groups ($p < 0.05$, paired *t* test). The final body weight of the ovariectomy and hysterectomy groups was greater than the groups submitted only to exercise protocols. The muscle weight of the OH+PLE+STRET, OH+PLE and OH+STRET was higher when compared to PLE+STRET and to PLE ($p < 0.05$). Muscles of the OH+PLE+STRET showed higher length when compared to PLE ($p = 0.02$), C ($p = 0.003$), OH+STRET ($p = 0.01$) and STRET ($p = 0.03$). Hence, the OH+PLE was higher compared to the PLE, C, OH+STRET and SRET ($p = 0.03$, $p = 0.04$, $p = 0.02$ and $p = 0.04$ respectively). Serial sarcomere number of OH+PLE+STRET was higher than C ($p = 0.001$), OH+STRET ($p = 0.001$) and STRET

($p=0.02$). The OH had a greater number of serial sarcomeres compared to PLE ($p=0.007$), PLE+STRET ($p= 0.017$), C ($p=0.0003$), OH+STRET ($p=0.0002$) and STRET ($p=0.003$). The rats subjected to hysterectomy and ovariectomy (OH) had cross-sectional area of the soleus muscle fibers smaller compared to all groups. The ovariectomy and hysterectomy induced sarcopenia, but the exercise protocols performed were sufficient to prevent the loss of muscle fiber cross-sectional area. The body weight overload associated or not to resistance exercise and stretching contributed to sarcomerogenesis in osteopenic rats.

Keywords: muscle stretching exercises, exercise, musculoskeletal system, sarcopenia, osteopenia, rats.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01:** Alongamento manual do músculo sóleo. 40
- Figura 02:** Ilustração esquemática do compartimento para treinamento (Renno et al, 2007). 41
- Figura. 03:** Fotomicrografia (100x em imersão) de fibra isolada de músculo sóleo de rata, preparada para contagem do número de sarcômeros em série. 43
- Figura 04:** Mensuração de área de secção transversa do músculo sóleo, fotomicrografado em objetiva 20x, avaliada no programa *Image Tool*. 45

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1-** Efeito do alongamento e do exercício resistido no peso corporal das ratas. 46
- Tabela 2** - Efeito do alongamento e do exercício resistido no peso muscular (PM) em gramas (g), comprimento muscular (CM) em milímetros (mm), estimativa do número total de sarcomeros em serie (ENSS) e comprimento dos sarcomeros (CS) em micrômetros (μm) do músculo sóleo das ratas. 49
- Tabela 03** – Efeito do alongamento e exercício resistido na área de secção transversa das fibras musculares do sóleo. 50

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1: Declínio funcional relacionado ao processo de 16
envelhecimento, adaptado de Doherty (2003).

Fluxograma 2: Divisão dos grupos experimentais. 38

LISTA DE SIGLAS

NaCl – cloreto de sódio
ACTH - hormônio adrenocotrófico
ADM – amplitude de movimento
ALONG – grupo submetido ao alongamento
CONT – grupo controle
ASTFM – área de secção transversa das fibras musculares
AP-1 – proteína ativadora 1
AKT - proteína quinase B
E1 – enzima ativante da ubiquitina
E2 – enzima conjugante de ubiquitina
E3 – enzima ligante de ubiquitina
ER – grupo submetido ao exercício resistido
ER+ALONG – grupo submetido ao exercício resistido e ao alongamento
eIF2 - eucaryotic initiation factor 2
FOXO - Fator de Transcrição da Forquilha - forkhead transcription factor
GH - hormônio do crescimento
GSK-3 β - glicogênio sintase quinase-3 β
HE – hematoxilina/eosina
HSP70- proteína de choque térmico 70
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL-1 – interleucina 1
IL-6 – interleucina 6
IGF-1- fator de crescimento semelhante a insulina 1
IGFBP – proteína de ligação do IGF
KCl – cloreto de potássio
MAF-bx - muscle atrophy F-box
MAPKs - proteína quinase ativada por mitógeno
MuRF-1 - Muscle Ring Finger-1
MGF – fator de crescimento mecânico
MMP-2 – metaloprotease 2
mTOR - mammalian target of rapamycin
MyoD - proteína da família dos fatores regulatórios miogênicos

NF- κ B- família do fator de transcrição nuclear kappa B

NFAT - fator nuclear de células t ativadas

OH – grupo submetido à ovariectomia e histerectomia

OH+ALONG – grupo submetido à ovariectomia/histerectomia e alongamento

OH+ER – grupo submetido à ovariectomia/histerectomia e ao exercício resistido

OH+ER+ALONG– grupo submetido à ovariectomia/histerectomia, exercício resistido e alongamento

RM- repetição máxima

RNA – ácido ribonucléico

RNA_m – ácido ribonucléico mensageiro

sTNFR1- fator solúvel de necrose tumoral do receptor 1

TNF- α – fator de necrose tumoral alfa

TC – tecido conjuntivo

TSC2 - tuberin

PKB - proteína quinase B

PI3K - fosfoinositol 3 kinase

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	14
OBJETIVOS	20
OBJETIVO GERAL	20
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
HIPÓTESES A SEREM TESTADAS	20
REVISÃO DA LITERATURA	21
Efeitos do hormônio estrogênio no músculo esquelético	21
Aspectos funcionais e morfológicos do alongamento no músculo esquelético	25
Efeitos do exercício resistido no músculo esquelético	31
Efeito da associação do exercício resistido e do alongamento no músculo esquelético	36
MATERIAL E MÉTODO	37
Procedimentos	37
Procedimento cirúrgico experimental	39
Protocolo para Promover o Alongamento Muscular	40
Protocolo de Treinamento de Exercício Resistido (Protocolo modificado de Hornberger& Farrar, 2004)	40
Ortotanásia dos Animais e Dissecção dos Músculos	41
Procedimento para a contagem do número de sarcômeros em série	42
Procedimentos para Análise Histológica	43
Coloração com Hematoxilina/Eosina (HE)	43
Análise da área de Secção Transversa das Fibras Musculares-ASTFM (Morfometria)	44
Análise dos Resultados	45
RESULTADOS	46
DISCUSSÃO	51
CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
ANEXOS	73
ANEXO I – Parecer do CEP PucPr	74
ANEXO II – Parecer do CEP UFPR	76
ANEXO III – Produção Científica no período (março/10 à março/ 12)	77

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O declínio das taxas de crescimento da população, observado a partir do final da década de 60, devido à redução da fecundidade, que se iniciou em grupos populacionais mais privilegiados, determinou transição da estrutura etária, com aumento do número de idosos no Brasil (CARVALHO & RODRÍGUEZ-WONG, 2008). Os grupos mais velhos aumentaram sua participação, sendo que a população de 65 anos ou mais, aumentou de 3,1%, em 1970, para 5,5%, em 2000 (CARVALHO & RODRÍGUEZ-WONG, 2008).

Segundo Instituto Brasileiro de Geografia Estatística, a faixa etária de 60 anos ou mais é a que mais cresce em termos proporcionais, sendo que o Brasil apresenta aproximadamente 14,4 milhões de idosos, o que representa 8,6% da população (IBGE, 2008). Estima-se que no ano de 2040, o Brasil tenha 55 milhões de idosos, representando 27% da população, deste total, 13 milhões terão mais de 80 anos (IBGE, 2008).

As alterações dos sistemas orgânicos fisiológicos do corpo humano, relacionados à idade são problemas importantes de saúde pública (REBOUÇAS & PEREIRA, 2006; MURTON AND GREENHANFF, 2010). Com isso, o estudo do processo do envelhecimento e dos seus efeitos, vem se tornando cada vez mais importante nas últimas décadas (DOHERTY, 2003; MURTON AND GREENHANFF, 2010).

No processo de envelhecimento, são observadas reduções na massa muscular, na área de secção transversa das fibras musculares, no número de fibras musculares, nos receptores dihidropiridínicos e rianodínicos, nas unidades motoras, seguidos por substituição por tecido gorduroso e fibroso, efeito conhecido como sarcopenia (DOHERTY, 2003; ZHONG *et al.*, 2007; RYALL *et al.*, 2008; FRONTERA *et al.*, 2008).

A mulher, especificamente, experimenta uma das mais inevitáveis conseqüências do envelhecimento, após a instalação da menopausa, que é o declínio dos hormônios ovarianos, principalmente o estrógeno (MALTAIS *et al.*, 2009). A idade para o início da menopausa é variável entre as mulheres, sendo o tempo médio de ocorrência entre 40 e 60 anos (VELDE *et al.*, 2002). Além disso, a literatura científica fornece evidências de que a menopausa tem uma influência sobre órgãos e sistemas (DUZENTI *et al.*, 2007).

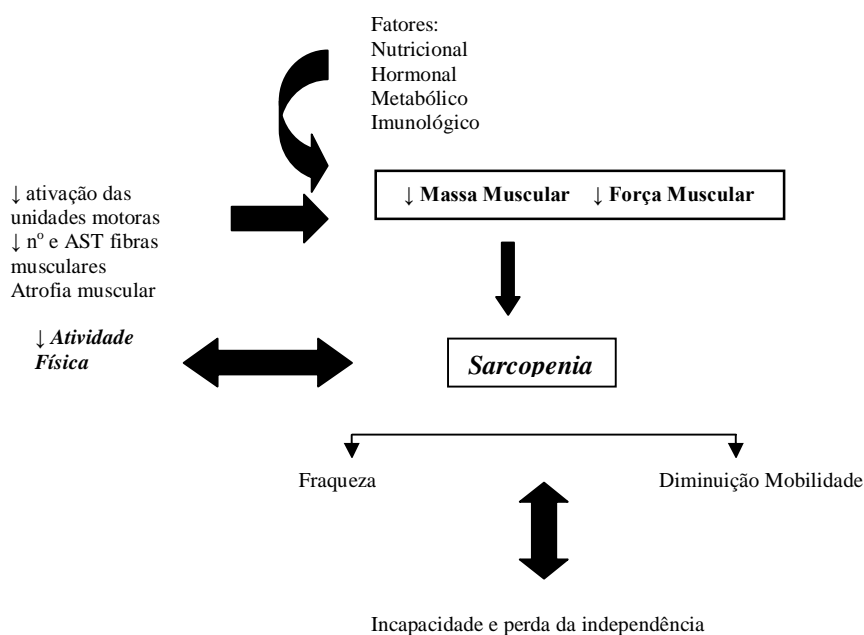
O efeito da sarcopenia é mais acentuado nas mulheres na meia idade e mais velhas, devido à menopausa, que está associada à diminuição dos hormônios femininos que induzem alterações no músculo esquelético e ósseo (PHILLIPS *et al.*, 1993; DIONE *et al.*, 2000; SIPILA *et al.*, 2001; BOCALINI *et al.*, 2009; COOPER *et al.*, 2008).

O tecido muscular estriado esquelético sofre processo de definhamento (sarcopenia) que pode ocasionar alterações nas propriedades contráteis (KADI *et al.*, 2002). As mudanças associadas mais comuns são o aumento do tecido conjuntivo e de gordura intramuscular, diminuição do número de fibras musculares e da área de secção transversa das fibras preferencialmente do tipo II, bem como diminuição de receptores de estrógenos (MALTAIS *et al.*, 2009). No entanto, alguns mecanismos de adaptação muscular que ocorrem durante e após o período da menopausa, ainda não estão totalmente esclarecidos, já que a perda de massa muscular pode ser influenciada por vários fatores como idade, baixos níveis de atividade física e processos inflamatórios (MALTAIS *et al.*, 2009).

A atrofia das fibras observada no músculo envelhecido inicia-se por volta dos 25 anos com diminuição progressiva da área em cerca de 10% até perto dos 50 anos. Após esta idade, ocorre atrofia mais pronunciada, de tal modo que aos 80 anos o idoso sofre perda de cerca de 50% na área de secção transversal do músculo, sendo que esta atrofia muscular é mais acentuada nas fibras do tipo II (LEXELL *et al.*, 1988).

Muitas das alterações fisiológicas atribuídas ao envelhecimento são semelhantes àsquelas induzidas pela inatividade imposta e que provavelmente podem ser atenuadas ou até mesmo revertidas pelo exercício (LEITE *et al.*, 2010). Se as alterações relacionadas com o envelhecimento são primariamente decorrentes do estilo de vida, então a manutenção de atividade física, ao longo da adolescência e idade avançada, pode prevenir ou retardar muitas das adversas conseqüências do processo de envelhecimento (LEITE *et al.*, 2010).

Em vez de atribuir grande parte do declínio funcional, ao processo de envelhecimento, observa-se ciclo vicioso, pelo qual o envelhecimento está relacionado a redução da atividade física (DOHERTY, 2003), como mostra o quadro abaixo:



Fluxograma 1: Declínio funcional relacionado ao processo de envelhecimento, adaptado de Doherty (2003). AST: Área de secção transversa das fibras musculares.

Há preocupação crescente em compreender os mecanismos fisiológicos subjacentes aos efeitos deletérios associados com a menopausa, para se estabelecer estratégias para prevenir e reverter essas alterações. Assim, a terapia com reposição hormonal, dieta e exercícios físicos têm sido recomendados como componentes de tratamento para menopausa (LEITE *et al.*, 2010).

A inatividade física contribui para a sarcopenia. Além disso, já está bem estabelecido que homens e mulheres mais velhos, fisicamente inativos, têm menos massa muscular esquelética e maior incapacidade funcional (EVANS, 2002). Estudos, como ACMS (Colegio Americano de Medicina Esportiva), 2002, propõe que o exercício físico é necessário para melhorar e manter a saúde da população mais idosa, recomendando atividades que incluam exercícios aeróbicos, treinamento de força e flexibilidade e atividades para o equilíbrio. O ACMS tem recomendado para sujeitos idosos treinamento de força de baixa a elevada intensidade entre 20 e 80% de 1RM, no mínimo 2 vezes por semana e, alongamento entre 30-60 segundos, para grandes grupos musculares, com 3-4 repetições, 2 a 3 vezes por semana. Mas este mesmo estudo não esclarece os efeitos de programa de exercício resistido associado ao alongamento muscular, nem as adaptações histomorfológicas no músculo esquelético de idosos a estes exercícios.

Exercícios de força e alongamentos musculares são componentes comuns em programas de treinamento, mas não está claro até o momento, quais são os efeitos isolados e da associação destes exercícios, no músculo esquelético de sujeitos idosos. Tem sido demonstrado que exercícios de alongamento e/ou exercícios resistidos podem melhorar a perda de massa muscular, desempenho, flexibilidade, bem-estar e independência, especialmente em idosas (RAAB *et al.*, 1988; FELAND *et al.*, 2001; GAJDOSIK *et al.*, 2005; CRISTOPOLISKI *et al.*, 2008; BIRD *et al.*, 2009; BATISTA *et al.*, 2009; GALLON *et al.*, 2011).

Estudo de BIRD *et al.* (2009) descrevem melhora na mobilidade e em parâmetros indiretos de equilíbrio, após a realização de programa de exercício resistido ou alongamento, realizados isoladamente, 3 vezes por semana, durante 16 semanas, em idosos. BIRD *et al.* (2011) avaliaram idosos que participaram de programa constituído por exercícios resistidos, por 16 semanas, com 4 semanas de intervalo, seguido de treinamento de flexibilidade, também por 16 semanas, 3 vezes por semana. Foram observadas melhoras pronunciadas na força muscular, no equilíbrio e mobilidade, dos idosos que continuaram os exercícios resistidos durante os 12 meses consecutivos.

No estudo de SWANK *et al.* (2003) se verificou melhora da amplitude de movimento (ADM) em idosos que realizaram exercício de alongamento com pesos entre 0,45-1,35Kg, 3 vezes por semana, durante 10 semanas, quando comparado com o grupo que realizou apenas exercício de alongamento sem carga, demonstrando que a associação do alongamento com a resistência favorece ao ganho de ADM.

Quando se associou exercício resistido e alongamento em mulheres adultas sedentárias, 3 vezes por semana, durante 16 semanas, observou-se que apenas o treinamento de força foi suficiente para ganhos de força e flexibilidade, sem a associação com exercícios de alongamento (SIMÃO, 2001).

Já estudos em ratos, mostraram que a imobilização dos músculos, em posição alongada, acarretava aumento no comprimento muscular pela adição no número de sarcômeros em série (GOLDSPINK, 1968). Estudo realizado com ratos, foi encontrado aumento no número de sarcômeros em músculos submetidos ao alongamento e na área de secção transversa de fibras musculares do sóleo, quando realizou-se alongamento, duas vezes por semana, ou exercício resistido, três vezes

por semana, sugerindo hipertrofia muscular (SECCHI *et al.*, 2008). Outro estudo relatou um aumento de 12% no número de sarcômeros em série de animais submetidos ao treinamento excêntrico em esteira quando comparado com o treinamento concêntrico (MORGAN *et al.*, 1994).

No estudo de Coutinho *et al.* (2004) foi encontrado aumento de 16% na área de secção transversa de fibras do sóleo de ratos, após alongamento passivo do músculo, durante 40 minutos, três vezes por semana, durante três semanas consecutivas.

Estudo de Renno *et al.* (2007), que realizaram treinamento resistido em ratas osteopênicas, composto por 4 séries de 10 saltos com carga progressiva, iniciando com 50% do peso corporal e aumentando quinzenalmente até 80% do peso corporal, 3x/semana durante 8 semanas consecutivas, não foi encontrada diferença significativa na área de secção transversa do músculo sóleo e tibial anterior, das ratas submetidas somente ao treinamento resistido, apenas foi encontrado aumento do peso muscular das ratas osteopênicas submetidas ao treinamento resistido. Os resultados deste estudo sugerem que o exercício resistido tem efeito estimulante sobre o tecido ósseo e muscular de ratas osteopênicas, sugerindo que o aumento do peso muscular pode estimular a massa óssea.

No estudo de Abrahão *et al.* (2006) que avaliaram as propriedades mecânicas em fêmures e tíbias de ratas osteopênicas, submetidas ao exercício em gaiola giratória, realizada durante 30 minutos, 5 vezes por semana, por período de 9 semanas, a velocidade de 0,31m/s, foi encontrado que esta atividade não foi suficiente para corrigir as alterações biomecânicas do tecido ósseo, como osteoporose, capacidade de limite máximo de carga sobre o osso, deformação no limite máximo e rigidez do osso, provocadas pela ovariectomia.

O treinamento resistido também pode ocasionar aumento de flexibilidade (FATOUROS *et al.*, 2006; ADAMS *et al.*, 1999, 2001; STONE *et al.*, 1991). Autores como Fatouros *et al.* (2006), demonstraram que o treinamento resistido progressivo (40%, 60% e 80% da repetição máxima-RM), em idosos, tem gerado ganhos de força e flexibilidade, e que este foi dependente da intensidade, isto é, o maior incremento na flexibilidade foi encontrado quando treinou-se com 60% da RM e, na força muscular, com 80% da RM. No entanto, ainda não se sabe quais são os

mecanismos de adaptação do músculo esquelético tanto em série quanto em paralelo responsáveis pelo aumento da força e da flexibilidade.

Quando foi avaliado o efeito isolado do treinamento resistido, composto por 3 séries de 8 repetições, com carga inicial de 85% de 1RM, 3x/semana, ou associado ao exercício de alongamento, realizado 2x/semana, durante 30 minutos, por um período de 8 semanas, em sujeitos jovens, foi encontrado incremento nos ganhos de força no grupo que associou o exercício resistido com o alongamento (KOKKONEN *et al.*, 2010). Já Secchi *et al.* (2008), observaram em ratos jovens que o exercício resistido associado ao alongamento causou diminuição no comprimento muscular e no número de sarcômeros em série, ainda, a realização isolada do alongamento, duas vezes por semana, ou do exercício resistido, três vezes por semana, foi suficiente para induzir hipertrofia muscular. Neste estudo o treinamento resistido do músculo sóleo foi realizado com contrações concêntricas. Assim, pode-se supor que a diminuição do comprimento muscular e do número de sarcômeros em série, tenha sido decorrente do treinamento concêntrico, como relatada por outros autores, que encontraram maior ganho com o treinamento excêntrico (LYNN & MORGAN, 1994).

Tanto o alongamento como o treinamento resistido podem induzir adaptações musculares como a hipertrofia muscular tanto em série (ganho longitudinal) quanto em paralelo (ganho radial) (CAMPOS *et al.*, 2002; COUTINHO *et al.*, 2004; FOLLAND *et al.*, 2007; SECCHI *et al.*, 2008), pois ambos podem aumentar a síntese protéica e a expressão de fatores de crescimento miogênicos (GOLDSPINK *et al.*, 2003; GOMES *et al.*, 2006; PEVIANE-MESSA *et al.*, 2007; KOSTEK *et al.*, 2007).

Desta forma, de acordo com a literatura apresentada, apesar de ser frequentemente utilizado o exercício resistido, o alongamento ou sua associação, ainda não se sabe os mecanismos celulares de adaptação do músculo esquelético ao exercício, especialmente na ausência do hormônio estrogênio.

Assim, o objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do treinamento resistido e/ou alongamento muscular, na adaptação morfologia do músculo sóleo de ratas pós menopausa.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Analisar o efeito do exercício resistido e/ou do alongamento muscular na morfologia do músculo sóleo de ratas pós menopausa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar peso corporal e peso dos músculos;
- Medir o comprimento final dos músculos;
- Contar o número e estimar o comprimento dos sarcômeros;
- Mensurar a área de secção transversa das fibras musculares;

HIPÓTESES A SEREM TESTADAS

H0) Os procedimentos de: ovariectomia e histerectomia, exercício de alongamento e/ou exercício resistido não modificam a morfologia do músculo sóleo de ratas.

H1) O procedimento de ovariectomia e histerectomia induz sarcopenia no músculo sóleo de ratas.

H2) O exercício resistido realizado isoladamente induz hipertrofia em músculos de ratas intactas e previne a perda de massa muscular em ratas pós menopausa.

H3) O exercício de alongamento realizado isoladamente induz sarcomerogênese em músculos de ratas intactas e previne a perda de sarcômeros em série em músculos de ratas pós menopausa.

H4) O exercício resistido é mais eficaz que o alongamento tanto na adaptação muscular em série (longitudinal) quanto em paralelo (radial) em músculos de ratas pós menopausa.

H5) A associação do exercício resistido com o alongamento é mais eficaz para induzir hipertrofia muscular (em série e/ou em paralelo), quando comparada à realização isolada de cada exercício, tanto em músculos de ratas intactas como de ratas pós menopausa.

REVISÃO DA LITERATURA

Efeitos do hormônio estrogênio no músculo esquelético

O hipoeestrogenismo prolongado pode provocar processo de perda de densidade no interior da fibra muscular, diminuindo seu sarcoplasma, o que seria responsável pela perda de espessura e da força do músculo esquelético, quadro conhecido como sarcopenia (TIIDUS *et al.*, 2001).

O efeito da sarcopenia é mais acentuado nas mulheres na meia idade e mais velhas, devido a pós-menopausa, que está associada à diminuição dos hormônios femininos que induzem alterações no músculo esquelético e ósseo (PHILLIPS *et al.*, 1993; DIONNE *et al.*, 2000; SIPILA *et al.*, 2001; BOCALINI *et al.*, 2009; COOPER *et al.*, 2008). Um aspecto importante na caracterização da pós-menopausa é o declínio natural dos hormônios ovarianos, principalmente estrogênio (MALTAIS *et al.*, 2009). Além disso, a literatura científica fornece evidência de que a menopausa tem influência sobre órgãos e sistemas (DUZENLI *et al.*, 2007).

Várias alterações fisiológicas têm sido associadas após a menopausa, tais como um aumento do risco de doença cardíaca coronária (SCHILLACI *et al.*, 1998), diabetes mellitus (ZOIS *et al.*, 2009), perda de massa muscular (sarcopenia) (ELLIOTT *et al.*, 2002), perda de massa óssea (osteopenia) (BOCALINI *et al.*, 2009), alterações da composição corporal, alteração do perfil lipídico e aumento de marcadores inflamatórios.

O impacto negativo da pós-menopausa pode também ser observado no tecido musculoesquelético, havendo um processo de definhamento (sarcopenia), e mudanças nas propriedades contráteis (LEITE *et al.*, 2010), devido a capacidade reduzida de sintetizar novas proteínas e o desequilíbrio entre síntese e degradação das proteínas musculares (KADI *et al.*, 2002; MALTAIS *et al.*, 2009). As mudanças mais comuns estão associadas ao aumento do tecido conjuntivo e de gordura intramuscular, diminuição da área de secção transversa das fibras musculares, diminuição principalmente de fibras do tipo II, aumento das fibras musculares do tipo I e diminuição de receptores de estrógeno no músculo (MALTAIS *et al.*, 2009).

No entanto, os mecanismos musculares relacionados às perdas após a menopausa, permanecem incertos, já que a perda muscular é influenciada por vários fatores como idade, baixos níveis de atividade física e processos inflamatórios

(MALTAIS *et al.*, 2009). O desuso da musculatura esquelética por causa da diminuição da sobrecarga imposta pode levar a decréscimo na taxa de síntese proteica e aumento na taxa de degradação proteica, os quais estão envolvidos nas vias da atrofia muscular (JACKMAN *et al.*, 2004). Entre as vias da atrofia já descritas, pode-se destacar:

Via proteolítica dependente das catepsinas: nesta via há envolvimento dos lisossomos, que são organelas que contém proteases conhecidas como catepsinas B, D, H e L, assim como outras hidrolases ácidas. As catepsinas degradam proteínas de membrana, como receptores e canais de íons transportadores (JACKMAN *et al.*, 2004).

Outra via proteolítica é a dependente das Caspases, as quais estão envolvidas na apoptose ou morte celular programada (LEEUEWENBURGH, *et al.*, 2005).

As caspases sinalizam para a apoptose e clivam esses substratos levando à condensação e fragmentação nuclear, externalização de fosfolípidios de membrana que irão sinalizar para estas células serem fagocitadas por macrófagos (Nicholson, 1997).

São conhecidas 14 caspases humanas, sendo que seis (caspases -3, -6, -7, -8, -9, -10) participam da apoptose (Boatright, 2003) . As caspases -1, -4, -5, -11, -12, -13, -14 estão envolvidas na maturação de citoquinas, e sua contribuição na apoptose permanece não esclarecida (Denault, 2002).

A ativação da caspase-3 por meio da via de sinalização da PI3K/Akt e ativação das vias proteolíticas têm importante papel na atrofia muscular induzida por doenças como o câncer e o diabetes (BELIZARIO, *et al.*, 2001).

Outro sistema proteolítico relacionado com sarcopenia considerado um dos mais importantes é o sistema ubiquitina-proteossomo.

Proteínas celulares destinadas à degradação pelo proteossomo são marcadas com uma ligação de ubiquitina. A degradação da maioria das proteínas miofibrilares decorrente da atrofia ocorre no proteossoma, e o processo de ubiquitinação envolve a cooperativa interação das três enzimas da via conhecidas como E1, uma enzima ativadora de ubiquitina, a qual é primeiramente ativada por meio da ação da E1 num processo dependente de ATP; E2, uma enzima conjugadora de ubiquitina; e E3, uma enzima ligante de ubiquitina. Inicialmente, a E1

é ativada e, em uma reação dependente de energia, a ubiquitina ativada transfere, através da E2, e em seguida a enzima E3, a qual se encontra ligada à proteína substrato a ser marcada, catalisa a ligação da ubiquitina à proteína, marcando-a para ser degradada no proteossoma (LI *et al.*, 2003).

No músculo esquelético foram identificadas duas E3 específicas que estão relacionadas ao processo de atrofia e comumente utilizadas como marcadores de proteólise da via ubiquitina proteossoma são a atrogina-1 (Muscle Atrophy F-box) também conhecida como MAF-bx (*muscle atrophy F-box*), e a MuRF-1 (Muscle Ring Finger-1). Foi descrita uma terceira ubiquitina ligase E3, a NEDD-4, que parece facilitar a atrofia muscular em modelos de denervação e de suspensão da pata traseira (Koncarevic *et al.*, 2007; KANDARIAN *et al.*, 2002; 2006; JACKMAN *et al.*, 2004).

Esse processo de degradação de proteínas poliubiquitinadas ocorre no proteossomo (20S ou 26S), que é um complexo composto de uma ou três grandes enzimas com a função de degradar proteínas desnecessárias ou danificadas da célula. (Hasselgren *et al.*, 2002)

O sistema proteolítico ubiquitina proteossoma é capaz de degradar monômeros de actina ou miosina, no entanto, este sistema não é capaz de quebrar os complexos actomiosina intactos (KANDARIAN *et al.*, 2006). Neste sentido, as caspases podem ter ações similares às calpaínas em tornar as proteínas miofibrilares disponíveis para a ubiquitinação (JACKMAN *et al.*, 2004).

O proteossoma não é capaz de degradar proteínas intactas, e acredita-se que a quebra de proteínas miofibrilares tanto pelas calpaínas (GOLL, *et al.*, 2003) como pela caspase-3 (DU, *et al.*, 2004) seja um pré-requisito para a ubiquitinação e posterior degradação destas no proteossoma. Assim, no desuso, as caspases e as calpaínas atuam liberando as miofibrilas do sarcômero, e estas entram no processo de ubiquitinação por meio da ação das enzimas E1, E2 e E3, para a posterior degradação no proteossoma (KANDARIAN *et al.*, 2002; 2006; JACKMAN *et al.*, 2004).

A atrofia muscular que ocorre pela expressão do sistema ubiquitina-proteossoma parece envolver vias distintas. Estudos têm demonstrado que a sinalização via NF- κ B, que induz a expressão de genes relacionados com o processo de sarcopenia, tais como MuRF-1 e MAF-bx, e de citocinas pró-

inflamatórias. (JACKMAN *et al.*, 2004) Além da via do NF- κ B, o aumento da expressão de MuRF-1 e MAF-bx (LI *et al.*, 2008) também pode ocorrer via FOXO3 (MAMMUCARI *et al.*, 2007) e miogenina (MORESI *et al.*, 2010).

Ainda, o envelhecimento está associado com o aumento da concentração de componentes inflamatórios no sangue, incluindo citocinas pró-inflamatórias e citocinas anti-inflamatórias (LEITE *et al.*, 2010). Estes achados são geralmente relacionados à imunossenescência que se refere às disfunções do sistema imunológico relacionadas com a idade. Aumento das concentrações circulantes de citocinas inflamatórias tem sido associado com morbidade, sarcopenia, incapacidade funcional e mortalidade em idosos (LEITE *et al.*, 2010).

A redução de estrogênio pode contribuir para a sarcopenia devido ao aumento de citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e TNF-alfa (PALMER, 1990; PEARLSTONE *et al.*, 1994). IL-6 diminui concentração de IGF-1 tanto *in vitro* e *in vivo* (POZEFSKY *et al.*, 1969; PREEDY E GARLICK, 1985). Baixa concentração de IGF-1 pode estimular a IL-6, sugerindo um elo entre IGF-1 e IL-6 (PREEDY AND GARLICK, 1988).

Cappola e colaboradores examinaram os efeitos da baixa concentração de IGF-1 e alta concentração de IL-6 (individualmente e combinados) sobre a mobilidade, habilidade das funções celulares e morte celular (CAPPOLA *et al.*, 2001). Estes autores concluíram que a combinação de baixa concentração de IGF-1 e alta de IL-6 confere um risco progressivo, sugerindo efeito na falta de regulação dos sistemas imune e endócrino (RAMSAY, 1966). Deficiência de estrogênio aumenta vias pró-inflamatórias, uma vez que o estrogênio aumenta a expressão de IL-6 e apresenta efeitos inibitórios sobre as vias do NF- κ B (fator nuclear kappa B) e AP-1 (proteína ativadora 1) para a transcrição do gene do TNF-alfa (RENNIE, 1985). Além disto, foi mostrado que o estrogênio afeta a expressão de HSP70, a qual atua como protetor contra a perda da fibra muscular (Rennie *et al.*, 1984). O NF- κ B é um complexo proteico que desempenha funções como factor de transcrição, está envolvida na resposta celular a estímulos como o estresse, citocinas, radicais livres, radiação ultravioleta, oxidação de LDL e antigénios virais e bacterianos. NF- κ B desempenha um papel fundamental na regulação da resposta imunitária à infecção que após ativado, estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias (REEDS E PALMER, 1983).

Foi demonstrado em estudos experimentais com ratas anestras, que após a ovariectomia, a histomorfometria do músculo esquelético revelou mudança no padrão

transversal das miofibrilas, que se dispuseram arredondadas, ovaladas e atípicas. A contagem do número de miofibrilas por mm², após a castração, revelou menor número de miofibrilas, bem como aumento dos espaços interfibrilares, alteração da disposição estrutural das miofibrilas, interferindo no perimísio, fazendo com que as células mudassem de forma, deixando de ser poligonais para tornarem-se arredondadas e maiores, caracterizando a sarcopenia (MOREIRA *et al.*, 2005).

McClung *et al.* (2006) mostraram que ratas submetidas a ovariectomia e a atrofia muscular por desuso, apresentaram comprometimento da recuperação da área de secção transversa das fibras musculares do sóleo, após 2 semanas de deambulação normal em gaiola, quando comparadas as ratas submetidas a reposição com estrógeno, a qual permitiu a restauração do tamanho das fibras musculares.

A remoção de hormônio ovariano de camundongos fêmeas, via ovariectomia, foi prejudicial para a função contrátil do músculo sóleo (MORAN, WARREN E LOWE, 2006). Neste mesmo estudo os autores observaram que a ovariectomia induz disfunção muscular contrátil e que as concentrações circulantes de estradiol estão relacionadas com a geração de força muscular e função da miosina, demonstrando que o estradiol afeta o músculo esquelético.

Prestes *et al.* (2008), observaram a diminuição da atividade das MMP-2 (metaloprotease 2) no músculo de ratas ovariectomizadas. As MMPs são essenciais para a manutenção do tecido saudável, sendo que a subclasse das MMP-2 exerce um papel na proliferação e diferenciação miofibrilar, recuperação pós dano e homeostasia do tecido conjuntivo local. Assim, estes autores sugerem que a fraqueza e disfunção muscular induzida pela ovariectomia estão relacionadas à diminuição da atividade das MMP-2, afetando a remodelação do músculo.

Portanto, a ausência da ação do hormônio estrogênio no músculo esquelético pode modificar a sua morfologia e função. No entanto, ainda não se sabe qual o efeito do exercício de alongamento nem do exercício resistido na sarcomerogênese e na área de secção transversa das fibras musculares no hipoestrogenismo.

Aspectos funcionais e morfológicos do alongamento no músculo esquelético

Os efeitos do alongamento dividem-se em agudos e crônicos. Os efeitos agudos (segundos, minutos, horas, após a intervenção) representam resultados

imediatos e a curto prazo, resultando no alongamento do componente viscoelástico da unidade musculotendinosa, conseqüentemente aumentando a amplitude de movimento (ADM) e a tolerância ao alongamento (TAYLOR *et al.*, 1990; SHIER, 2004; ROBBINS *et al.*, 2008; SIATRAS *et al.*, 2008; RYAN *et al.*, 2008; WEPPLER & MAGNUSSON, 2010). Os efeitos crônicos (dias, semanas e meses de treinamento de flexibilidade) representam os resultados tardios do alongamento e podem resultar em aumento do comprimento muscular por adaptação mecânica, a qual pode incluir: deformação viscolástica; aumento de sarcômeros em série, de área de secção transversa das fibras musculares e alteração da relação comprimento/tensão (COUTINHO *et al.*, 2004; GAJDOSIK *et al.*, 2005; SECCHI *et al.*, 2008; WEPPLER & MAGNUSSON, 2010).

A duração na posição alongada, número de repetições e a frequência diária e semanal, têm importante influência para o efeito do programa de alongamento no músculo esquelético. Alguns estudos têm avaliado o efeito na amplitude de movimentação articular, com diferentes tempos de execução de exercícios de alongamento, na população idosa (ZAKAS *et al.*, 2005; FELAND *et al.*, 2001b). Quando testaram o efeito agudo do alongamento na população idosa, não foram encontradas diferenças entre os seguintes protocolos: 4 x 15 s, 2 x 30 s ou 1 x 60 s, nos ganhos de ADM (ZAKAS *et al.*, 2005). No entanto, quando foi investigado o efeito crônico do alongamento, em idosos institucionalizados (75-95 anos), períodos de 60 s mostraram maior efetividade para o ganho de amplitude de movimento articular e para a manutenção desse ganho, quando comparados a programas que utilizaram 15 s e 30 s de duração (FELAND *et al.*, 2001b). Estes achados demonstram que a adaptação muscular ao alongamento difere entre os efeitos agudos e crônicos.

Tem sido reportado que a idade é um fator determinante na capacidade viscoelástica da unidade músculo tendínea e que contribui para o declínio da ADM (JAMES AND PARKER, 1989; GAJDOSIK *et al.*, 1999; HOLLAND *et al.*, 2002). Dessa forma, parece ser necessária uma maior duração do estímulo de alongamento para provocar aumento significativo na ADM em indivíduos idosos.

Ainda, deformações plásticas e elásticas podem ocorrer no tecido conjuntivo muscular (TC), quando submetido ao programa de alongamento (GAJDOSIK, 2001;

COUTINHO *et al.*, 2006) e nas fibras musculares (COUTINHO *et al.*, 2004; GOMES *et al.*, 2004; PEVIANI *et al.*, 2007).

O aumento da extensibilidade muscular observada imediatamente após o alongamento são decorrentes de propriedades viscoelásticas do tecido muscular. Os músculos esqueléticos apresentam elasticidade reatando ao seu comprimento original uma vez que a tração de força é removida. O tecido muscular se comporta viscosamente porque sua resposta a força de tração é tempo dependente. Um aumento imediato no comprimento do músculo pode ocorrer devido ao comportamento viscoelástico do músculo. Quando um alongamento é aplicado no músculo a resistência muscular declina gradualmente, este declínio da resistência ao estiramento é chamado de relaxamento do estresse viscoelástico (WEPPLER & MAGNUSSON, 2010).

Quando um alongamento muscular é mantido em uma intensidade e tempo suficientes para mobilizar o tecido conjuntivo, acima de seu limite elástico, o comprimento muscular não retornará ao original e permanecerá em um estado permanentemente alongado, denominando-se deformação plástica (WEPPLER & MAGNUSSON, 2010).

Tem sido mostrado que a mobilização é importante para reorganização do TC, por promover alinhamento mais funcional das fibras colágenas, minimizando o surgimento de aderências no tecido cicatricial após lesão muscular ou período de imobilização (JÓZSA *et al.*, 1988; VENOJARVI *et al.*, 2004). Além disso, Stone (1988) sugere que o exercício físico pode aumentar a tensão do tecido conjuntivo, bem como a massa muscular, tornando o músculo mais resistente.

O músculo esquelético é formado por fibras musculares envoltas por uma membrana de TC, denominada endomísio. Envolvendo cada feixe de fibras tem-se o perimísio, e o músculo sendo envolvido pelo epimísio (BORG *et al.*, 1980; PURSLOW, 2002). O perimísio, devido a sua organização com fibras em diferentes direções: longitudinal, perpendicular, além de fibras que se ligam a vasos e nervos, é considerada a camada que mais contribui para a resistência passiva extracelular (PURSLOW, 2002). A quantidade de endomísio aumenta com a idade, mas o perimísio, e provavelmente o epimísio, permanecem constantes ao longo da vida (JÓZSA *et al.*, 1990).

Os fibroblastos são os elementos mais comuns do TC, responsáveis pela formação das fibras colágenas e outros elementos da matriz extracelular (HINZ *et al.*, 2003). O colágeno é a proteína mais abundante, constituindo 20-25% de todas as proteínas do corpo (TAKALA *et al.*, 2000). Atualmente são conhecidos 19 tipos, predominando nos músculos os dos tipos I, II, IV e V (TAKALA *et al.*, 2000). O tipo I é encontrado principalmente no epimísio e em menor quantidade no perimísio, sendo também localizado na pele, ossos, ligamentos e tendões (TAKALA *et al.*, 2000). Suas fibras são as mais tolerantes ao estresse e apresentam alta força tênsil e limitada elasticidade, sendo, portanto, as mais adaptadas para a transmissão de força (HAN *et al.*, 1999). O tipo III predomina no perimísio e endomísio (SALONEN *et al.*, 1985), e apresenta estrutura e organização semelhante ao do tipo I, porém suas fibras são mais elásticas e de menor espessura (HAN *et al.*, 1999). O tipo IV localiza-se na membrana basal, formando um suporte para ela (HAN *et al.*, 1999). No endomísio, encontram-se os dos tipos I, III e V (KOVANEN, 2002), sendo este último encontrado em menor quantidade, representando 5% do colágeno total (JÓZSA *et al.*, 1990).

Williams (1988) avaliou os efeitos do alongamento no músculo sóleo de ratos, imobilizado na posição de encurtamento, por um período de 10 dias, sendo que, a cada dois dias, a imobilização era removida e o músculo era alongado por um período de 15 minutos. Neste estudo foi encontrado que o alongamento passivo mantido, foi suficiente para manter a amplitude de movimento da articulação e para prevenir a proliferação de tecido conjuntivo. Da mesma maneira, Coutinho *et al.* (2006) compararam 2 protocolos de alongamento, isto é, um realizado diariamente (10 repetições de 60s), e outro com alongamentos realizados três vezes por semana, no músculo sóleo, após imobilização na posição de encurtamento. Estes autores verificaram que a melhor reorganização do tecido conjuntivo foi encontrada nos músculos submetidos ao alongamento diário, demonstrando que a frequência do alongamento interfere na adaptação do tecido conjuntivo muscular.

Além das alterações no tecido conjuntivo, a massa muscular também pode ser alterada quando o músculo esquelético é submetido a estímulos como o alongamento (GOLDSPINK *et al.*, 1992; YANG *et al.*, 1997) e o exercício resistido (para revisão KRAEMER *et al.*, 2002; SECCHI *et al.*, 2008; LEITE *et al.*, 2010). As alterações na massa muscular podem ser atribuídas às mudanças longitudinais, que

ocorrem no número de sarcômeros em série, e/ou radiais, que acontecem na área de secção transversa das fibras musculares, as quais podem estar relacionadas com a relação síntese e degradação de proteínas (COUTINHO *et al.*, 2004; GOMES *et al.*, 2004; GOMES *et al.*, 2006; RENNÓ *et al.*, 2007; GOMES *et al.*, 2007; PEVIANE-MESSA *et al.*, 2007).

Assim, o aumento na massa muscular pode ser decorrente de aumento nas concentrações de RNA total (ácido ribonucléico) e na síntese de proteínas, especialmente do Fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) bem como de outros fatores regulatórios miogênicos (YANG *et al.*, 1997, GOLDSPINK, 1999; PEVIANI *et al.*, 2007; GOMES *et al.*, 2006).

Trabalhos experimentais realizados nas décadas de 60-70 identificaram que o músculo aumentava seu comprimento através da adição de sarcômeros ao longo das fibras musculares (GUNST *et al.*, 2001; GAJDOSIK, 2001, GOLDSPINK, 1968; WILLIAMS & GOLDSPINK, 1973). Nesse período já era considerada a hipótese da adaptação das fibras musculares esqueléticas a diferentes graus de extensão, com provável remoção ou adição do número de sarcômeros em série, conforme a demanda funcional e o grau de extensão a que o músculo era submetido. Tabary *et al.* (1972) observaram aumento de 20% no número de sarcômeros em série do músculo sóleo do gato, após 4 semanas de imobilização em posição de alongamento.

Estudos posteriores mostraram que a imobilização dos músculos em posição alongada, acarretava em aumento no comprimento muscular pela adição no número de sarcômeros em série, particularmente nas duas regiões terminais das fibras musculares e prevenia a proliferação do tecido conjuntivo (WILLIAMS, 1988; WILLIAMS, 1990).

Estudos mais recentes mostraram que 40 min de alongamento passivo, realizado 3 ou 2 vezes por semana, foram suficientes para aumentar o número de sarcômeros em série e a área de secção transversa de fibras do músculo sóleo de ratos (COUTINHO *et al.*, 2004; SECCHI *et al.*, 2008). No entanto, em músculos encurtados por imobilização, o alongamento apenas preveniu a atrofia muscular (COUTINHO *et al.*, 2004). Já no estudo de Secchi *et al.*, (2008), com ratos jovens, o grupo que realizou apenas exercício resistido, 3

vezes por semana, também apresentou aumento da área de secção transversa das fibras do sóleo, sugerindo hipertrofia muscular. No entanto, o grupo que realizou ambos os treinamentos (alongamento 2x/semana e exercício resistido 3x/semana) apresentou diminuição no comprimento muscular e no número de sarcômeros em série, provavelmente devido à frequência diária de treinamento, impossibilitando a recuperação muscular ideal entre os estímulos, a qual ocorre entre 36 a 48 horas, período de pico de síntese protéica após o exercício (KRAEMER *et al.*, 2002; HASS *et al.*, 2001).

Em outro estudo, quando se diminuiu o tempo de alongamento para apenas 10min, realizado de forma intermitente (10x/1min), diariamente, foi observada reorganização do colágeno e hipertrofia muscular (COUTINHO *et al.*, 2006).

Além da adaptação do número de sarcômeros em série, para que o músculo desenvolva a máxima tensão, também ocorre adaptação no comprimento do sarcômero. Desta forma, na década de 60 foram identificadas as bases morfo-funcionais da relação comprimento-tensão da fibra muscular, através de um experimento realizado por Gordon *et al.* (1966). Eles identificaram, em sarcômeros isolados, que a força isométrica máxima é produzida quando o sarcômero atinge um comprimento próximo ao comprimento da sua posição em repouso, isto é, entre 2-2.25 μ m. Essa força diminui quando os sarcômeros são alongados ou encurtados.

Nesse estudo foi demonstrado que a força isométrica dos sarcômeros atinge sua concentração máxima quando há sobreposição ótima entre os filamentos de actina e miosina, o que ocorre quando o comprimento do sarcômero está entre 2.0-2.25 μ m. Este estudo permitiu identificar que a força gerada pela contração muscular depende da quantidade de pontes cruzadas (“ligações”) entre os filamentos de actina e miosina no interior dos sarcômeros (GORDON *et al.*, 1966).

Considerando que os filamentos de actina e miosina têm comprimento constante, a adaptação dos músculos adultos a diferentes comprimentos funcionais se dá removendo ou adicionando sarcômeros em série, com o objetivo de manter o comprimento fisiológico e funcional dos sarcômeros na fibra muscular (WILLIAMS, 1988).

No estudo de Coutinho *et al.* (2004) mostraram que sessões de alongamento passivo aplicado três vezes por semana, durante 40 min, por 3 semanas, no músculo sóleo de ratos, imobilizado em posição de encurtamento, não foram

suficientes para evitar a perda de série sarcômeros, mas preveniram a atrofia das fibras musculares. Além disso, os músculos não imobilizados, que receberam apenas 3 sessões de alongamento por semana, mostraram aumento tanto no número de sarcômeros em série como na área de secção transversa das fibras musculares. Estes resultados indicam que o músculo encurtado por imobilização responde diferente ao exercício de alongamento quando comparado ao músculo com comprimento normal. Além disso, a plasticidade muscular em série (sarcômeros em série) e em paralelo (área de secção transversa das fibras musculares) também responde diferentemente, de acordo com o comprimento e trofismo musculares. Estes achados sugerem que a prescrição do alongamento para músculos com comprimento e trofismo reduzidos deve ser diferente do músculo com comprimento músculo-tendíneo e trofismo normal.

Até o presente momento, ainda não se sabe como ocorre a adaptação morfológica do músculo esquelético, na ausência do hormônio estrogênio, quando submetido ao treinamento com exercício resistido e/ou de alongamento.

Efeitos do exercício resistido no músculo esquelético

A hipertrofia muscular pode ser caracterizada pelo aumento do volume das miofibrilas e adição de sarcômeros à fibra muscular, que ocorre em resposta adaptativa aos exercícios com sobrecargas e alongamento crônico (SALVINI, 2000; COUTINHO *et al.*, 2004; MELONI, 2005; FOLLAND *et al.*, 2007). Embora os mecanismos celulares responsáveis pela hipertrofia muscular não estejam totalmente esclarecidos, o treinamento de força eleva a taxa de síntese de proteínas, adicionando novos filamentos contráteis à fibra muscular preexistente, podendo causar aumento na força muscular (GLASS, 2003). A hipertrofia ocorre preferencialmente nas fibras tipo II e a síntese protéica tem início evidente após apenas 4 horas da sessão de treinamento com sobrecarga (FRY, 2004).

O processo de síntese protéica envolve a ativação dos genes específicos, sua transcrição e tradução. A maioria dos genes presentes nas células, normalmente está suprimida, apenas pequena fração em cada célula está ativada, e esta ativação depende de uma série de fatores tanto endógenos como exógenos (ZOPPI, 2005).

Um dos principais estímulos exógenos para que ocorra a hipertrofia e o ganho de força é o treinamento com ações excêntricas (alongamento do músculo

com concomitante geração de tensão), que podem causar lesões nas fibras musculares (BARROSO *et al.*, 2005).

Os estímulos endógenos mais importantes são os hormônios e os fatores de crescimento, como por exemplo, o fator de crescimento mecânico (MGF), que regula a expressão do gene que codifica as moléculas de miosina em resposta ao estresse mecânico da sobrecarga imposta aos músculos. Este fator de crescimento possui muita similaridade com o IGF-1 (fator de crescimento semelhante à insulina) que está associado ao processo de ativação gênica, sinalizando aumento da transcrição de proteínas contráteis, sendo apenas ativado em células musculares que foram submetidas à tensão (ZOPPI, 2005).

O músculo esquelético responde a estímulos fisiológicos como o exercício físico podendo envolver tanto a síntese de proteínas como a transcrição de genes músculo-específicos, estes estímulos extracelulares se ligam a seus receptores localizados na membrana celular e ativam vias de sinalização intracelular (Hughes *et al.*, 1993).

O exercício físico corresponde a um agente trófico para a musculatura esquelética, aumentando concentrações de IGF-1. O IGF-1, quando ligado ao seu receptor, ativa a proteína PI3K (*fosfoinositol 3 kinase*), e conseqüentemente ativa a proteína quinase B (PKB) ou AKT (ATHERSON *et al.*, 2005). Em seguida, Akt promove ativação de duas vias independentes como mTOR (mammalian target of rapamycin) e GSK-3 β (glicogênio sintase quinase-3 β), direcionadas para a hipertrofia muscular esquelética, que medeiam síntese protéica, transcrição gênica e proliferação celular (GLASS, 2003)

Uma vez ativa, a PKB é capaz de fosforilar as enzimas GSK3 β (*glycogen synthase kinase 3 β*), FOXO (Fator de Transcrição da Forquilha - *forkhead transcription factor*) e TSC2 (*tuberin*), inativando-as. (PHILIPPOU *et al.*, 2007).

A inativação da GSK3 β proporciona um aumento no processo de tradução de diversas proteínas, devido ao aumento na atividade do fator de iniciação eIF2 (*eucaryotic initiation factor 2*), envolvido na ligação do RNA transportador (RNAt) à subunidade 40S do ribossomo. (WELSH *et al.*, 1998).

A inativação da proteína FOXO impede a ativação de fatores de transcrição, que sinalizam a síntese de proteínas envolvidas na atrofia muscular, como os proteassomos (VAN DER HEIDE, *et al.*, 2004).

A fosforilação da TSC2 impede que ela iniba outra enzima citosólica, denominada mTOR (DELDICQUE, *et al.*, 2005). Esta enzima é formada por dois diferentes complexos: mTORC1 e mTORC2. O complexo mTORC1 consiste de uma proteína chamada de raptor (proteína associada regulatória da mTOR), o qual é sensível a rapamicina e regula o desenvolvimento da massa muscular, controlando a fosforilação de duas proteínas no controle da síntese proteica: 4E-BP1 e p70S6K (RENNIE *et al.*, 2004).

Outra via envolvida no remodelamento muscular é a via calcineurina/ NFAT (fator nuclear de células t ativadas) (SWOAP *et al.*, 2006). As contrações musculares provocam níveis elevados de Ca²⁺ intracelular, e acabam ativando a via Calcineurina-NFATs (SCHULZ, 2004).

As MAPKs são uma classe de proteínas conhecidas por participarem da ativação de determinados fatores de transcrição responsáveis por numerosos processos fisiológicos como proliferação, diferenciação, inflamação, apoptose e hipertrofia (MARTINEAU & GARDINER, 2001).

O músculo esquelético é constituído de proteínas músculo-específicas, conhecidas como fatores regulatórios miogênicos (MRFs), as quais se ligam à regiões regulatórias de certos genes e ativam a sua transcrição (Wentworth *et al.*, 1991). A subfamília MRF é constituída pelo MyoD (ou Myf-3), Myf-5, miogenina (ou Myf-1) e MRF-4 (ou Myf-6/herculina) (Saborin & Rudnick, 2000).

A miostatina um regulador da proliferação dos mioblastos, sua ausência provoca uma proliferação desordenada dos mesmos, levando à hipertrofia, podendo causar também hiperplasia das fibras musculares (Thomas *et al.*, 2000).

O aumento da síntese protéica leva a um aumento na quantidade de proteínas no interior do sarcoplasma. Como cada núcleo da fibra muscular é responsável por um determinado volume do sarcoplasma, se faz necessária uma maior quantidade de núcleos para a manutenção do domínio mionuclear. Isto é conseguido por meio da incorporação de células satélites pela fibra muscular, ativadas quando a célula muscular é lesada. As células satélites são mononucleadas e se encontram no estado quiescente entre o sarcolema e a membrana basal das fibras musculares não lesadas (BARROSO *et al.*, 2005).

Um dos métodos freqüentes utilizados para o ganho de massa muscular, com conseqüente hipertrofia, é o exercício resistido, tanto em humanos como em animais

experimentais (KRAEMER *et al.*, 2002; TIMSON, 1990; HORNBERGER & FARRAR, 2004).

Muitos estudos têm demonstrado que, dependendo do protocolo de exercício realizado, tanto homens quanto mulheres idosas são capazes de apresentar ganhos de massa muscular similares a indivíduos adultos jovens, após o treinamento resistido (FRONTERA *et al.*, 1988; KLITGARRD *et al.*, 1990; CHARETTE, 1991).

O programa de treinamento resistido deve incluir tanto contrações concêntricas quanto excêntricas, para ganhos de massa e força musculares (WILMORE & COSTILL, 2001). No entanto, apesar da hipertrofia muscular ser mais pronunciada durante a realização de contrações excêntricas, o risco de lesão é aumentado, em especial em músculos de indivíduos idosos. Para tal, o músculo esquelético possui um sistema de regeneração muscular, através da ativação das células satélites, assim, dependendo da extensão da área lesada, esta será reparada pelas células satélites (WILMORE & COSTILL, 2001; WERNIG *et al.*, 1991). Porém, a capacidade de ativação das células satélites está diminuída nos idosos, devendo-se assim, ter cautela para prescrição do treinamento excêntrico nesta população (DENNIS *et al.*, 2008; VERDJIJK *et al.*, 2007).

A hipertrofia muscular conseqüente da prática de exercício resistido pode ser traduzida como um aumento na área de secção transversa das fibras musculares (crescimento radial- sarcômeros em paralelo), decorrente de um incremento na síntese protéica (MINAMOTO & SALVINI, 2001). Ainda, tem sido demonstrado que o ganho de força muscular pode não envolver um aumento na área de secção transversa das fibras musculares e sim apenas adaptação neural (KOH, 1995; WILMORE & COSTILL, 2001).

Em animais experimentais, o treinamento resistido tem mostrado eficácia no aumento da síntese protéica, em especial em amenizar a perda de massa muscular apresentada por músculos submetidos ao desuso (FLUCKEY *et al.*, 2002). Um outro estudo demonstrou um aumento de 12% no número de sarcômeros em série de animais submetidos ao treinamento excêntrico em esteira, quando comparado com o treinamento concêntrico (MORGAN & LYNN, 1994).

No estudo de Frontera *et al.* (1988) foi observado aumento de 100% e 200% na força dos extensores e dos flexores de joelho, respectivamente, em indivíduos idosos do sexo masculino (60-72 anos), submetidos ao treinamento resistido,

consistindo em 3 séries de 8 repetições, 3x/semana, durante 12 semanas. Neste mesmo estudo, foi avaliada a área de secção transversa destes músculos, sendo encontrado um aumento de 11%, ganhos semelhantes àqueles encontrados para os indivíduos jovens treinados, que também foram avaliados para comparação.

Quando mulheres idosas (64-86 anos) foram submetidas a treinamento resistido, 3x/semana, também por 12 semanas, foi observado ganho de 28% na força dos extensores de joelho e 115% na força dos isquiotibiais (CHARETTE *et al.*, 1991).

O treinamento resistido tem sido recomendado devido à sua eficácia em patologias associadas a menopausa, tais como osteopenia e sarcopenia. Vários estudos recomendam o treinamento de resistência progressiva como intervenção para melhora na composição corporal, na deterioração da estrutura muscular e na reverção do processo de sarcopenia, associados com a menopausa em humanos (LEITE *et al.*, 2010).

Em ratos, Renno *et al.* (2007), realizaram protocolo de exercício resistido em ratas osteopênicas, 3x/ semana, por um período de 8 semanas, onde cada sessão consistiu de 4 séries de 10 saltos com carga de 50% do peso corporal, aumentada progressivamente quinzenalmente. As ratas osteopênicas exercitadas mostraram maiores valores de pesos ósseos, da força óssea, da densidade óssea e do conteúdo mineral, evidenciando o efeito positivo deste protocolo no metabolismo ósseo.

Prestes *et al.* (2008), encontraram que a ovariectomia diminui as metaloproteases da matriz (MMP-2) no músculo esquelético. As metaloproteases da matriz são cruciais para a manutenção e integridade do tecido. Os resultados revelaram que o treinamento de resistência aumenta a atividade das MMPs-2 no músculo sóleo, tibial anterior e extensor longo dos dedos, o que pode ser importante para a remodelação do músculo esquelético.

Hornberger e Farrar (2004) relataram que o treinamento de força exerce potencial efeito sobre a hipertrofia muscular, sendo esta modalidade de exercício importante na atividade da MMP-2 e manutenção da função muscular. Este aspecto foi reforçado por Marqueti *et al.* (2008), que relataram que exercício com sobrecarga aumenta a atividade das MMP-2 no músculo sóleo e gastrocnêmio de ratos. Mais tarde, os mesmos autores encontraram diminuição das MMP-2 em ratas

ovariectomizadas e quando associou o exercício resistido em ratas ovariectomizadas, observou que o exercício com força preveniu a redução da MMP-2 induzida pela ovariectomia no músculo sóleo (HORNBERGER E FARRAR, 2004). Por outro lado, não foi encontrada modificação da atividade das MMP-2, ao longo da 1ª semana, após realização de exercícios de alongamento intermitentes, em músculos sóleos de ratos (PEVIANI *et al.*, 2009).

Prestes *et al.* (2008), observaram que em ratas ovariectomizadas há redução da área de secção transversa dos músculos sóleo e tibial anterior quando comparado ao grupo sedentário intacto e observou aumento significativo na área de secção transversa do músculo sóleo e tibial anterior nas ratas ovariectomizadas e que realizaram 12 semanas de exercício de escalada, realizado uma vez a cada três dias, as sessões consistiram de 4 escalas na escada, com 50%, 75%, 90% e 100% da capacidade máxima, determinada previamente. Durante as escaladas subseqüentes eram adicionadas 30g até que uma nova capacidade máxima de carregamento fosse determinada.

No entanto, ainda não se sabe o efeito isolado do alongamento nem da associação com o treinamento de resistência, em ratas osteopênicas, na morfologia do músculo esquelético.

Efeito da associação do exercício resistido e do alongamento no músculo esquelético

Kokkonen *et al.* (2010) sugerem em seu estudo que treinamento de resistência, realizado 3x/ por semana, composto por 3 séries de 8 repetições, com 85% de 1RM, associado ao alongamento muscular, realizado 2x/semana, durante 30 minutos, em dias alternados, podem potencializar os ganhos de força, em sujeitos jovens iniciantes de treinamento com pesos. Embora este estudo não foi desenhado para investigar o mecanismo responsável pelo ganho de força, os autores sugerem que a melhoria da força está relacionada com alterações morfológicas, pois as alterações do alongamento são similares ao treinamento de resistência, na medida em que pode induzir hipertrofia muscular, decorrente do aumento síntese de proteínas e produção de fatores de crescimento.

Bird *et al.* (2009) associou o exercício resistido, realizado 3x/semana, composto de 2 a 3 séries de 10-12 repetições, para grandes grupos musculares,

utilizando pesos livres e aparelhos, sendo a carga aumentada baseando-se na escala de Borg, iniciando no nível 6. E o alongamento muscular de grandes grupos musculares, com duração de 20 segundos, repetindo-se 2 vezes. Ambos os treinamentos foram realizados durante 16 semanas. Foi reportada melhora na mobilidade e em parâmetros indiretos de equilíbrio em idosos.

Já Simão *et al.* (2001), quando associaram exercício resistido e alongamento em mulheres adultas sedentárias, 3x/por semana, durante 16 semanas, observaram que somente o treinamento de força já foi suficiente para ganhos de força e flexibilidade, independente da inclusão de programas de alongamento.

No entanto, ainda existem dúvidas quanto aos mecanismos de adaptações morfológicas do músculo esquelético, que contribuem para os ganhos de força e flexibilidade, em resposta a exercícios de resistência e/ou de alongamento muscular.

MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Pontifícia Universidade Católica do Paraná CEUA nº 203.07 e da Universidade Federal do Paraná nº 23075.010217/2010-30.

O estudo foi analítico experimental, realizado com ratas, desenvolvido no biotério, no laboratório de Cirurgia Experimental e no laboratório de Histologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR). As fotomicrografias das lâminas histológicas, contendo as fibras isoladas, para a contagem dos sarcômeros em série, foram realizadas no laboratório de Fisiologia, sob coordenação da Profa Thelma Veiga Ludwig, do Departamento de Botânica da UFPR, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná (UFPR) em Curitiba.

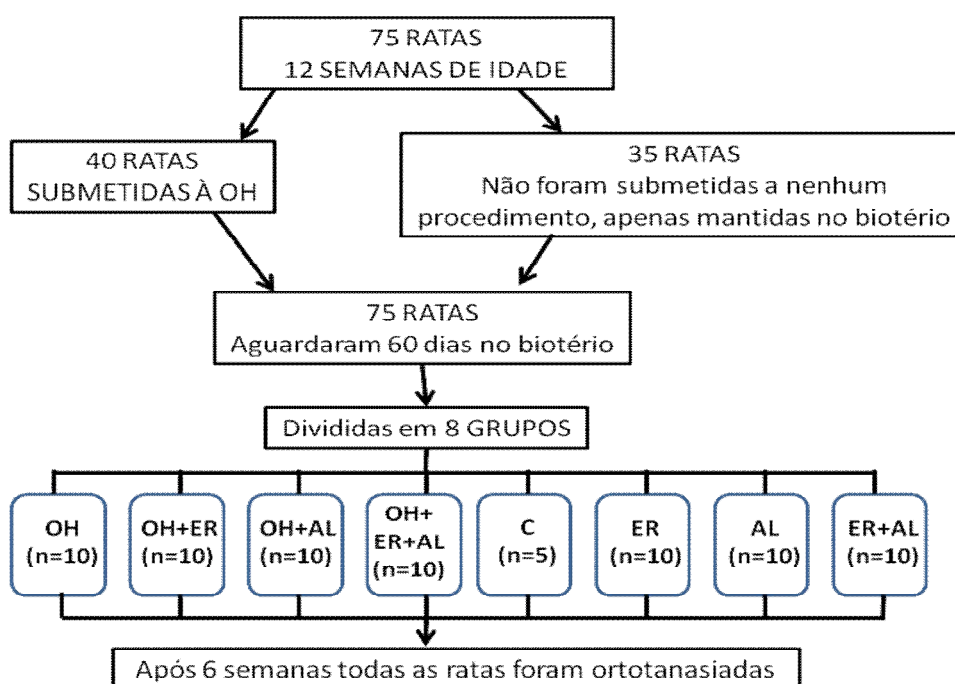
As lâminas para mensuração da área de secção transversa das fibras musculares, foram realizadas no laboratório de patologia experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, sob a coordenação da técnica Ana Paula Camargo Martins, assim como a mensuração da área de secção transversa das fibras musculares.

A montagem das fibras musculares isoladas em lâminas histológicas e a contagem do número de sarcômeros em série foram realizadas no setor Litoral da UFPR.

Procedimentos

Os animais foram agrupados e mantidos em gaiolas plásticas padrão, em condições ambientais controladas (luminosidade: 12 horas de ciclo claro/escuro) com livre acesso à água e ração peletizada, no biotério da PUC/PR. O estudo foi conduzido segundo as normas internacionais de ética na experimentação animal (National Research Council, 1996).

Em todos os procedimentos: ovariectomia e histerectomia e para retirada dos músculos, os animais de todos os grupos estavam sob efeito anestésico obtido através de injeção intra peritoneal de Tiopental Sódico (0,025 g/ml) para o procedimento cirúrgico. Para dissecação dos músculos foi utilizada injeção intra peritoneal de um coquetel de ketamina (95 mg/kg) e Xylazina (12 mg/kg).



Fluxograma 2: Divisão dos grupos experimentais.

A partir de 20 semanas de idade todos os grupos que realizaram os protocolos de alongamento, exercício resistido ou ambos, por um período de 6 semanas.

Grupo CONT (n=5), as ratas não foram submetidas aos procedimentos de ovariectomia e histerectomia nem aos protocolos de exercícios.

Grupo OH (n=10), as ratas foram submetidas à ovariectomia e histerectomia, foi aguardado 60 dias para a indução do quadro de osteopenia.

Grupo ALONG (n=10), as ratas foram submetidas apenas ao protocolo de alongamento muscular, 2x/semana, por 6 semanas consecutivas.

Grupo OH+ALONG (n=10), as ratas foram submetidas à ovariectomia e histerectomia e foram aguardados 60 dias para a indução do quadro de osteopenia. Em seguida as ratas foram submetidas ao protocolo de alongamento muscular, 2 vezes por semana, durante 6 semanas consecutivas, totalizando 12 sessões.

Grupo ER (n=10): as ratas foram submetidas apenas ao protocolo de treinamento resistido, três vezes por semana, durante 6 semanas, totalizando 18 sessões.

Grupo ER+ALONG (n=10): as ratas foram submetidas ao protocolo de exercício resistido, realizado 3x/semana, e ao protocolo de alongamento, 2x/semana, durante 6 semanas consecutivas, totalizando 30 sessões.

Grupo OH+ER (n=10): as ratas foram submetidas à ovariectomia e histerectomia, e após 60 dias foi iniciado o protocolo de treinamento resistido, três vezes por semana, durante 6 semanas, totalizando 18 sessões.

Grupo OH+ER+ALONG (n=10): as ratas foram submetidas à ovariectomia e histerectomia, 60 dias após foram iniciados os protocolos de alongamento muscular, realizado 2x/semana e o protocolo de exercício resistido, realizado 3x/semana, e ao protocolo de alongamento, 2x/semana, durante 6 semanas consecutivas, totalizando 30 sessões.

As ratas de todos os grupos quando completaram 26 semanas de idade foram submetidas a ortotanásia.

Procedimento cirúrgico experimental

Todos os grupos foram mantidos por 60 dias no biotério. Porém, as ratas dos grupos OH; OH+ALONG; OH+ER; OH+ER+ALONG foram submetidas à cirurgia de ovariectomia e histerectomia, com objetivo de cessar a produção do hormônio estrogênio e aguardaram 60 dias (8 semanas) no biotério, para indução do quadro de osteopenia, como descrito por (Kalu, 1991). Durante os 60 dias não foi realizado nenhum procedimento experimental. Após este período, as ratas submetidas à

ovariectomia e histerectomia foram divididas nos seguintes grupos: OH; OH+ALONG; OH+ER; OH+ER+ALONG. Os protocolos de exercícios foram realizados por 6 semanas consecutivas. Já as ratas ovariectomizadas e histerectomizadas, que não realizaram nenhum protocolo de exercício, foram apenas pesadas semanalmente. Desta maneira, todas as ratas foram ortotansadas quando completaram 26 semanas de idade.

Para iniciar a cirurgia, as ratas foram submetidas à anestesia intraperitoneal de Tiopental Sódico (0,025 g/ml). Posteriormente, as ratas foram posicionadas em decúbito lateral direito e foi realizada a tricotomia, através de lâmina (Feather), 2cm abaixo da última costela. A área tricotomizada foi esterilizada com álcool iodado 5% e, a seguir foi realizada a incisão utilizando lâmina cirúrgica - AC esterilizada (Med Blad).

Após a incisão foi realizada uma pequena sutura na base uterina, com fio nylon preto reabsorvível, seguida pela ovariectomia (retirada do ovário) bilateralmente e histerectomia (retirado do útero). No final do procedimento, foram realizadas suturas internas (base uterina e músculo) com fio nylon preto reabsorvível (ETHICON, 3-0, 70 cm) e suturas externas (pele) com fio de nylon não reabsorvível (ETHICON, 6-0, 45 cm).

Após a cirurgia, as ratas aguardaram período de 60 dias, visando induzir o quadro de osteopenia, como descrito por (Kalu, 1991).

Protocolo para Promover o Alongamento Muscular

Para se efetuar o alongamento passivo no músculo sóleo esquerdo, o animal foi imobilizado manualmente por um dos pesquisadores enquanto o outro estabilizou e manteve a articulação tibio-társica em flexão dorsal máxima para alongamento do músculo sóleo esquerdo, com exceção de que as ratas não foram previamente anestesiadas (Peviani *et al.*, 2007). Desta forma, foi possível realizar a técnica de alongamento muscular mais próximo do fisiológico, já que o músculo não se encontrava totalmente relaxado como em situação de anestesia.

O protocolo de alongamento consistiu em série de 10 repetições de 1 minuto com intervalo de 45 segundos entre cada repetição, controlado por meio de um cronômetro (Technos) (Peviani *et al.*, 2007, Stauber *et al.*, 2002). Os alongamentos

foram realizados 2 vezes por semana, em dias intercalados, durante 6 semanas consecutivas, totalizando 12 sessões de alongamento, sempre no mesmo horário do dia, isto é, no período da manhã.



Figura 01: Alongamento manual do músculo sóleo. Um dos pesquisadores estabilizando e mantendo articulação tibio-társica em flexão dorsal máxima.

Protocolo de Treinamento de Exercício Resistido (Renno *et al.*, 2007)

O exercício resistido foi realizado em um compartimento, de 80cm de altura, 30cm de diâmetro, com aproximadamente 60% do seu conteúdo preenchido com água aquecida (30°C), demonstrado na Figura 02. Para tal, foi adicionada uma carga, que variou de acordo com o peso do animal, fixada num colete colocado no corpo do animal (Renno *et al.*, 2007).

O treinamento dos grupos de animais que realizaram exercício resistido, foi estabelecido da seguinte maneira: a carga fixada ao corpo do animal correspondeu inicialmente a 50% do seu peso corporal, progredindo quinzenalmente até atingir 70% do peso corporal. Para realizar o treinamento resistido, os animais foram colocados no tanque onde foram realizados os saltos. A carga adicionada ao corpo do animal não permitia que o mesmo boiasse ou nadasse. Desta forma quando o rato era colocado no tanque as patas traseiras tocavam completamente o fundo do tanque e em seguida para realizar o salto para atingir a superfície do tanque, era realizada a contração excêntrica seguida da concêntrica dos músculos tríceps sural (gastrocnêmio e sóleo). O protocolo de treinamento foi constituído por 4 séries de 10 saltos, com intervalo de 60s (cronômetro *Technos*) entre cada série (Renno *et al.*, 2007). Os treinamentos foram realizados três vezes por semana (segundas, quartas e sextas-feiras), durante 6 semanas consecutivas, sempre no mesmo horário do dia.

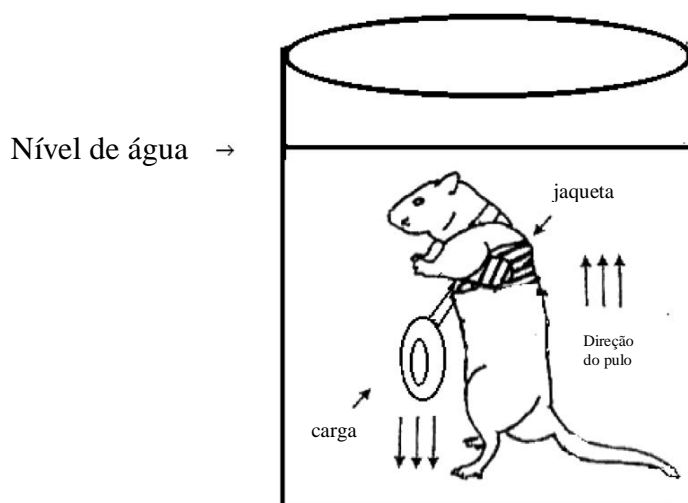


Figura 02: Ilustração esquemática do compartimento para treinamento (Renno *et al.*, 2007). Ilustração esquemática da realização do treinamento resistido, onde foi acoplada uma “jaqueta (colete)” contendo carga no tórax do animal, o tanque foi preenchido com 60% de água pré aquecida para o animal realizar os saltos.

Ortotanásia dos Animais e Dissecção dos Músculos

Todos os animais de todos os grupos, após o término do experimento proposto para cada grupo, foram anestesiados para a dissecção do músculo sóleo esquerdo e direito. Em seguida e ainda sob efeito anestésico, foi realizada a ortotanásia com injeção intracardíaca de KCl (3M). O sucesso da cirurgia foi verificado por meio de necropsia, na qual foi confirmada a ausência do útero e ovários.

Durante a dissecção, os músculos foram periodicamente gotejados com solução salina (NaCl 0,9%), para evitar ressecamento tecidual. Após a dissecção o músculo soleo foi pesado isoladamente, por meio de uma balança analítica de precisão (Mettler/Toledo com capacidade mínima 10mg e máxima 210g) e lupa (Olympus). Em seguida os músculos foram estendidos em uma superfície plana (isopor) para mensuração do comprimento muscular, por meio de um paquímetro eletrônico digital (Vonder) e lupa (Olympus). Os músculos sóleos direito e esquerdo foram divididos longitudinalmente, com uma lâmina (Feather), em duas partes iguais, a metade medial foi destinada para a contagem do número de sarcômeros em série e a metade lateral foi processada para a avaliação da morfologia das fibras musculares.

Procedimento para a contagem do número de sarcômeros em série

Para obtenção de fibras musculares isoladas e avaliação do número de sarcômeros em série, a porção medial do músculo sóleo esquerdo e direito foi fixada durante 3 horas em glutaraldeído (2,5%) e em seguida mantida durante 2 dias em ácido nítrico (30%). Posteriormente os músculos foram armazenados em solução de glicerol diluída em água destilada (50%) (Goldspink, 1968).

Em seguida, foram isoladas 10 fibras musculares do ventre de cada músculo sóleo, através da lupa (Olympus) e de pinças ultra finas (Roney). As fibras musculares isoladas foram fixadas em lâmina histológica por meio de gelatina-glicerina (Sigma). Posteriormente foi contado o número de sarcômeros em série ao longo de 300 μm em cada fibra muscular, em microscópio de luz (objetiva 100x em imersão; microscópio Nikon, modelo Eclipse E 200). A quantificação foi realizada em microscópio binocular Olympus mod. BX40 com câmera digital DP71 acoplada, em objetiva de 100x em imersão no laboratório de Ficologia no Departamento de Botânica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

O número total de sarcômeros e o comprimento dos sarcômeros em cada fibra muscular isolada foram estimados pela correlação entre o número de sarcômeros identificados em 3 campos de 100 μm totalizando 300 μm ao longo da fibra muscular e o comprimento total do músculo, como descrito por Williams e Goldspink (1971). Apesar de haver controvérsias na literatura, nesse estudo, o comprimento dos sarcômeros ao longo das fibras musculares foi considerado homogêneo (Matano *et al.*, 1994; Tamai *et al.*, 1989; Tardieu *et al.*, 1977).

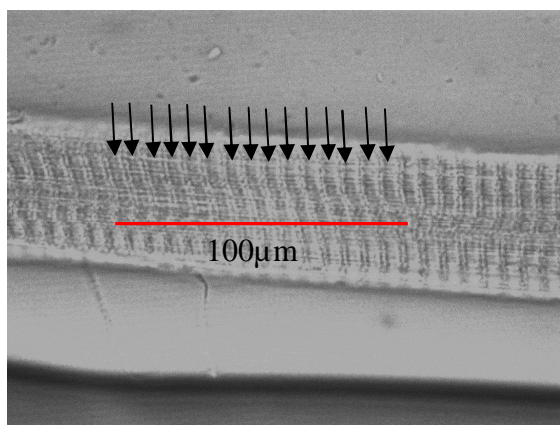


Figura. 03: Fotomicrografia (100x em imersão) de fibra isolada de músculo sóleo de rata, preparada para contagem do número de sarcômeros em série. Traçado representa 100 µm, indicando a região onde foram contados os sarcômeros em série. Setas indicam os sarcômeros contados.

Procedimentos para Análise Histológica

Coloração com Hematoxilina/Eosina (HE)

As lâminas foram coradas com HE para a avaliação morfológica das fibras musculares, mensuração da área de secção transversa das fibras musculares e da porcentagem de tecido conjuntivo.

Um fragmento foi retirado da metade lateral do ventre do músculo sóleo e fixado com Zenker (12h). Para isso, utilizou-se água destilada (95 ml), cloreto de mercúrio (5g), bicromato de potássio (2,5g), sulfato de sódio (1g) e ácido acético glacial (5ml).

Posteriormente os fragmentos foram desidratados e diafanizados, seguindo o protocolo: álcool 70%, 80%, 90%, 95% por 30 min; álcool 100% (I e II) por 30 min e xilol (I e II) por 15 min.

Após a desidratação do material, este foi incluído em parafina I, II, III por uma hora cada. A parafina foi aquecida à 56°C (I, II e III) até se tornar líquida. A seguir, a peça foi colocada no fundo da caixa e completada com parafina nova. Foi retirada a caixa com a peça da estufa deixando-a endurecer em temperatura ambiente e depois colocada no freezer.

Finalizada a inclusão, o material foi seccionado em micrótomo (Olympus) em 8µm, e posteriormente os fragmentos foram transferidos para lâminas histológicas.

As lâminas foram desparafinizadas por 3 vezes no xilol quente por 5 minutos cada. Após mergulhadas em álcool absoluto 3 vezes por 1 minuto cada. Em seguida mergulhadas em água de torneira por 5 minutos. As lâminas foram deixadas por 8

minutos na hematoxilina e em seguida lavadas em água de torneira. Após foram deixadas de molho em água por 5 minutos e em seguidas deixadas por 5 minutos na eosina. Posteriormente as lâminas foram lavadas em água de torneira e deixadas por 1 minuto em álcool 95%. Em seguida as lâminas passaram por 3 ciclos de álcool absoluto com duração de 1 minuto cada ciclo. Em seguida as lâminas passaram por 3 ciclos de xilol com duração de 1 minuto da ciclo. Ao término das etapas descritas acima, as lâminas foram montadas e fixadas a lamínulas com *entellan*.

Análise da área de Secção Transversa das Fibras Musculares-ASTFM (Morfometria)

Para fotomicrografia dos cortes histológicos foi utilizado o fotomicroscópio de Luz (Olympus BX50) e capturadas em sistema de vídeo-imagem (câmera Sony CCD IRIS) por meio do Software Image Pro Plus 4.5 no Laboratório de Patologia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC/PR, Campus Curitiba).

Em cada músculo, foram mensuradas a área de 100 fibras musculares, escolhidas de modo aleatório da região do ventre muscular da secção histológica, como descrito por Coutinho *et al.* (2004) e Gomes *et al.* (2004). A ASTFM foi mensurada com o auxílio do software UTHSCSA Image Tool 3.0 (desenvolvido na University of Texas Health Science Center at San Antonio, Texas, e disponível no endereço <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>).

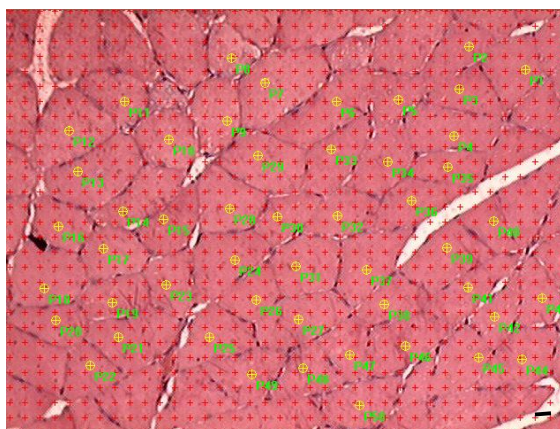


Figura 04: Corte histológico transversal do músculo sóleo, corado com HE. Fotomicrografia em objetiva 20x com aumento de x200, para mensuração da área de secção transversa do músculo sóleo, avaliada no programa *Image Tool*. Os símbolos vermelho, amarelo e verde representam: grid contados em uma fibra muscular, pontos que Determinam a fibra onde serão contados os grids, respectivamente. Barra=10µm.

Análise dos Resultados

Foram analisadas as seguintes variáveis: peso corporal, peso muscular, comprimento muscular, número de sarcômeros em série, comprimento dos sarcômeros, área de secção transversa das fibras musculares.

Para testar a homogeneidade e normalidade, foram efetuados os testes Levene e Shapiro Wilk, respectivamente.

Foi realizada comparação entre os resultados obtidos nos músculos das patas esquerdas (alongada e/ou treinada com exercício resistido) e direita (intacta/ ou treinada com exercício resistido) de cada animal, e entre o peso corporal inicial e final, através do teste t pareado, em cada grupo experimental. Os resultados paramétricos foram comparados entre os grupos experimentais por meio da ANOVA *one way post hoc* Tukey. Os resultados não paramétricos foram comparados através do Kruskal-Wallis. Os valores foram considerados significativos quando $p \leq 0,05$. Todos os resultados estão descritos como a média \pm desvio padrão.

RESULTADOS

Peso Corporal

A amostra apresentou distribuição normal ($p=0,08$, Shapiro Wilk) e não homogênea ($p=0,03$ Levene). Desta forma, os valores de peso corporal foram considerados não paramétricos, logo, a comparação entre grupos foi realizada através do Kruskal Wallis.

Foi observado aumento de peso corporal final em relação ao inicial em todos os grupos ($p<0,05$, teste t pareado).

O ganho de peso corporal final do grupo OH+ER+ALONG foi superior ao ER+ALONG ($p=0,02$) e ao ER ($p=0,01$). Ainda, o grupo OH+ER apresentou peso corporal final maior quando comparado aos grupos ER+ALONG ($p=0,0001$) e ER ($p=0,00007$). No grupo das ratas osteopênicas que realizaram alongamento (OH+ALONG) encontrou-se peso maior do que o ER+ALONG ($p=0,009$) e o ER ($p=0,006$). O grupo C apresentou peso superior ao ER+ALONG ($p=0,03$) e ao grupo ER ($p=0,02$). Os resultados estão apresentados na tabela 01.

Tabela 1- Efeito do alongamento e do exercício resistido no peso corporal das ratas.

GRUPOS	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)	DIFERENÇA RELATIVA (%)	p Teste t pareado
C[#]	247±7	327±17	24±4	0,002
ER	215±10	249±27	13±11	0,01
ALONG	219±20	298±14	26±7	0,0001
ER+ALONG	225±10	253±21	11±8	0,009
OH	242±13	310±8	22±3	0,0001
OH+ER[*]	223±14	342±25	35±2	0,0001
OH+ALONG[§]	236±20	325±24	27±5	0,0001
OH+ER+ALONG⁺	228±14	317±22	28±7	0,0001

Tabela 1- Efeito do alongamento e do exercício resistido no peso corporal das ratas. C=grupo controle intacto; OH= grupo ovariectomizado e histerectomizado; ALONG=grupo submetido ao alongamento; ER=grupo submetido ao exercício resistido; ER+ALONG=grupo submetido ao exercício resistido e ao alongamento; OH+ALONG= grupo ovariectomizado, histerectomizado e submetido ao alongamento; OH+ER= grupo ovariectomizado, histerectomizado e submetido ao exercício resistido; OH+ER+ALONG= grupo ovariectomizado, histerectomizado e submetido ao exercício resistido e alongamento. ^{*} quando comparado com o ER+ALONG ($p=0,02$) e com o ER ($p=0,01$) (kruskal-wallis). ⁺ comparado ao grupo ER+ALONG ($p=0,0001$) e com o ER ($p=0,00007$) (kruskal-wallis). [#] comparado ao ER+ALONG ($p=0,03$) e ao ER ($p=0,02$) (kruskal-wallis). [§] comparado ER+ALONG ($p=0,009$) e ao ER ($p=0,006$) (kruskal-wallis). Os valores estão representados como a média±desvio padrão.

Peso Muscular

A amostra apresentou normalidade ($p=0,32$ Shapiro) e distribuição homogênea ($p=0,05$ Levene), logo, os resultados foram considerados paramétricos e, para comparação entre os grupos foi usada a ANOVA *post hoc* Tukey. Não foram encontradas diferenças intragrupos, isto é, entre o sóleo direito e esquerdo em cada grupo (teste t pareado).

O peso muscular do grupo OH+ER+ALONG foi superior quando comparado ao ER+ALONG ($p=0,0006$) e ao grupo ER ($p=0,01$) (ANOVA *post hoc* Tukey). Já o grupo OH+ER foi superior comparado ao grupo ER+ALONG ($p=0,0001$), ER ($p=0,0002$) e ao OH ($p=0,005$) (ANOVA *post hoc* Tukey). O grupo OH+ALONG apresentou peso muscular superior ao grupo ER+ALONG ($p=0,0002$) e ER ($p=0,004$) (ANOVA *post hoc* Tukey). No grupo ALONG encontrou-se peso muscular superior ao ER+ALONG ($p=0,001$) e ER ($p=0,02$) (ANOVA *post hoc* Tukey). Os resultados estão demonstrados na tabela 02.

Comprimento Muscular

A amostra apresentou distribuição normal ($p=0,19$ Shapiro) e não apresentou homogeneidade ($p=0,03$ Levene). Desta forma, os resultados foram considerados não paramétricos e as análises entre os grupos foram realizadas através do teste Kruskal-wallis.

Foi observada diminuição do comprimento muscular do sóleo esquerdo das ratas OH quando comparado com o sóleo direito ($p=0,002$, teste t pareado).

O grupo OH+ER+ALONG apresentou maior comprimento muscular quando comparado ao grupo ER ($p=0,02$), C ($p=0,003$), OH+ALONG ($p=0,01$) e ALONG ($p=0,03$) (Kruskal-wallis).

Já o grupo OH+ER exibiu maior comprimento muscular comparado aos grupos ER, C, OH+ALONG e ALONG ($p=0,03$, $p=0,04$, $p=0,02$ e $p=0,04$ respectivamente, Kruskal-wallis). Os resultados estão descritos na tabela 02.

Número Total de Sarcômeros em Série

A amostra apresentou normalidade ($p=0,23$ Shapiro) e homogeneidade ($p=0,15$ Levene). Assim, os valores foram considerados paramétricos sendo as comparações entre grupos realizadas por meio da ANOVA, *post hoc* Tukey.

As ratas submetidas à ovariectomia/histerectomia, exercício resistido e ao alongamento muscular (OH+ER+ALONG) apresentaram maior número de sarcômeros em série comparado ao grupo C ($p=0,001$), OH+ALONG ($p=0,001$) e ao grupo ALONG ($p=0,02$) (ANOVA *post hoc* Tukey).

O grupo submetido à ovariectomia/histerectomia (OH) apresentou maior número de sarcômeros comparado ao ER ($p=0,007$), ER+ALONG ($p=0,017$), C ($p=0,0003$), OH+ALONG ($p=0,0002$) e ALONG ($p=0,003$) (ANOVA *post hoc* Tukey). Os resultados estão apresentados na tabela 02.

Comprimento dos Sarcômeros

A amostra apresentou distribuição normal ($p=0,11$ Shapiro Wilk), no entanto não foi homogênea ($p=0,000013$ Levene).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no comprimento dos sarcômeros tanto na comparação entre os grupos (Kruskal-wallis) como intra grupos (teste t pareado). Os resultados estão descritos na tabela 02.

Tabela 2 - Efeito do alongamento e do exercício resistido no peso muscular (PM) em gramas (g), comprimento muscular (CM) em milímetros (mm), estimativa do número total de sarcomeros em serie (ENSS) e comprimento dos sarcomeros (CS) em micrômetros (μm) do músculo sóleo das ratas.

GRUPOS		PM (g)	CM (mm)	ENSS	CS (μm)
C	SD	0,12±0,01	21,50±2,77	10.131±1176	2,12±0,09
	SE	0,13±0,02	21,28±3,01	10.101±1277	2,07±0,49
	Teste t	0,6	0,8	0,9	0,7
ER	SD	0,11±0,01	21,96±1,64	10.904±1003	2,06±0,15
	SE	0,11±0,01	21,57±1,88	11.070±1216	1,99±0,16
	-	-	-	-	-
ALONG	SD	0,14±0,02	21,56±2,83	10.259±1696	2,03±0,18
	SE	0,14±0,02 ¹	21,70±0,76	10.837±662	1,99±0,10
	Teste t	0,4	0,8	0,3	0,6
ER+ALONG	SD	0,11±0,02	21,90±2,90	9.934±895	2,26±0,24
	SE	0,10±0,01	23,80±1,94	11.303±1581	2,02±0,08
	Teste t	0,06	0,07	0,2	0,09
OH	SD	0,12±0,006	27,77±2,06	14.222±1490,87	2,00±0,29
	SE	0,12±0,004	26,36±2,01	14.090±1939,64 ⁷	1,92±0,34
	Teste t	0,8	0,002	0,8	0,3
OH+ER	SD	0,16±0,02	29,1±2,92	14375±782	2,06±0,30
	SE	0,16±0,02 ²	26,5±1,90 ⁵	12.219±417	2,08±0,07
	Teste t	0,7	0,28	8,35	0,8
OH+ALONG	SD	0,15±0,02	21,7±2,80	10.695±1941	2,11±0,31
	SE	0,15±0,01 ³	21,42±3,29	9.973±1560	2,19±0,23
	Teste t	0,7	0,7	0,05	0,3
OH+ER+ALONG	SD	0,16±0,02	26,6±2,06	13.827±961	1,94±0,06
	SE	0,15±0,02 ⁴	27,1±2,28 ⁶	13.540±1400 ⁸	2,02±0,16
	Teste t	0,06	0,5	0,6	0,1

SD= sóleo direito; SE: sóleo esquerdo. C=grupo controle intacto; OH= grupo ovariectomizado e hysterectomizado; ALONG=grupo submetido ao alongamento; ER=grupo submetido ao exercício resistido; ER+ALONG=grupo submetido ao exercício resistido e ao alongamento; OH+ALONG= grupo ovariectomizado, hysterectomizado e submetido ao alongamento; OH+ER= grupo ovariectomizado, hysterectomizado e submetido ao exercício resistido; OH+ER+ALONG= grupo ovariectomizado, hysterectomizado e submetido ao exercício resistido e alongamento. Valores apresentados em media e desvio-padrão. ¹ comparado ao ER+AL (p=0,001) e ER (p=0,02) *post hoc* Tukey. ² comparado ER+AL (p=0,0001), grupo ER (p=0,0002) e ao OH (p=0,005) *post hoc* Tukey. ³ comparado aos grupos ER+AL (p=0,0002) e ER (p=0,004) *post hoc* Tukey. ⁴ comparado ao ER+AL (p=0,0006) e ER (p=0,01) *post hoc* Tukey. ⁵ comparado aos grupos ER (p=0,03), C (p=0,04), OH+AL (p=0,02) e AL (p=0,04) *Kruskall-wallis*. ⁶ comparado ao ER (p=0,02), C (p=0,003), OH+AL (p=0,01) e AL (p=0,03) *Kruskall-wallis*. ⁷ comparado aos grupos ER (p=0,007), ER+AL (p=0,017), C (p=0,003), OH+AL (p=0,0002) e AL (p=0,003) *post hoc* Tukey. ⁸ comparado ao C (p=0,001), OH+AL (p=0,001) e AL (p=0,02) *post hoc* Tukey.

Área de Secção Transversa das Fibras Musculares (ASTFM)

A amostra apresentou distribuição normal (p=0,11 Shapiro) e homogenia (p=0,41 Levene). Não foi observada diferença estatisticamente significativa intra grupo (teste t pareado).

As ratas submetidas à ovariectomia e hysterectomia (OH) apresentaram área de secção transversa do músculo sóleo menor comparada a todos os grupos: OH+ER+ALONG (p=0,0001), OH+ER (p=0,0001), ER+ALONG (p=0,01), ER (p=

0,0002), OH+ALONG ($p=0,0008$), ALONG ($p=0,0001$) e C ($p= 0,002$) (ANOVA *post hoc* Tukey).

Tabela 03 – Efeito do alongamento e exercício resistido na área de secção transversa das fibras musculares do sóleo.

GRUPOS	SÓLEO DIREITO	SÓLEO ESQUERDO	Teste t
C	2139±226	2276±275	0,4
ER	2131±302	2173±426	-
ALONG	2483±226	2393±117	0,3
ER+ALONG	2027±193	1952±335	0,6
OH*	1385±274	1396±220	0,9
OH+ER	2254±248	2213±230	0,6
OH+ALONG	2170±400	2096±423	0,6
OH+ER+ALONG	2235±318	2302±284	0,5

*comparado ao OH+ER+AL ($p=0,0001$), OH+ER ($p=0,0001$), ER+AL ($p=0,01$), ER ($p=0,0002$), OH+AL ($p=0,0008$), AL ($p=0,0001$) e C ($p=0,002$).

DISCUSSÃO

Todos os grupos apresentaram ganho de peso corporal compatível com o crescimento normal do animal. No entanto, o ganho de peso corporal das ratas submetidas à ovariectomia e histerectomia associada aos protocolos de exercícios foi superior quando comparado aos grupos que apenas realizaram exercícios (ER e/ou Along).

Estes resultados demonstram que o protocolo de exercício resistido isolado ou associado ao alongamento interferiu de maneira diferente no ganho de peso corporal nas ratas intactas e nas ovariectomizadas e histerectomizadas. Deste modo, os protocolos de exercícios realizados com as ratas intactas impediram o ganho de peso corporal normal.

Este menor ganho de peso corporal poderia ser atribuído ao protocolo de exercício resistido, realizado 3x/semana, ou a sua associação com o alongamento, realizados 5x/semana, porque nas ratas submetidas somente ao alongamento (2x/semana) foi encontrado ganho de peso similar ao grupo controle. Assim, a frequência de intervenção entre 3-5x/semana pode ter interferido no ganho de peso do animal. Porém, estes protocolos de exercícios realizados nestas frequências (3-5x/semana) não prejudicaram o ganho de peso corporal das ratas ovariectomizadas e histerectomizadas, sugerindo aumento de gordura corporal devido ao hipoestrogenismo (MATSUDO *et al.*, 2000).

O ganho no peso corporal e o acúmulo da gordura corporal parecem resultar de um padrão entre mudanças na dieta e na redução do nível de atividade física, relacionados com a idade ou a interação entre esses fatores (MATSUDO *et al.*, 2000; ROUBENOFF & HUGHES, 2000; FORBES *et al.*, 1999). Portanto, estes estudos poderiam explicar o fato das ratas que realizaram exercícios em maior frequência semanal (3-5x/semana), apresentarem peso corporal inferior ao grupo controle, que não realizou nenhum tipo de exercício.

No entanto, no sexo feminino, a gordura corporal total acontece, preferencialmente, por acúmulo de gordura corporal interna e intramuscular (MATSUDO *et al.*, 2000). Essas mudanças parecem ser o padrão mais provável de comportamento da adiposidade corporal com o processo de envelhecimento (MATSUDO, 2000; HUGHES, 2002). Desta forma, este processo poderia explicar o aumento de peso corporal e muscular das ratas ovariectomizadas e

histerectomizadas e submetidas ao exercício resistido ou a sua associação com o alongamento, comparado com as ratas intactas submetidas aos mesmos protocolos de exercícios.

O aumento do peso muscular apresentado pelos grupos submetidos à ovariectomia e histerectomia e que realizaram exercício resistido, alongamento ou ambos, comparado com as ratas que apenas realizaram os protocolos de exercícios, pode estar relacionado com a cessação do hormônio estrógeno, como também observada por outros autores (RENNÓ *et al.*, 2007). O hormônio estrogênio é responsável pela homeostase estrutural dos fluidos do corpo, logo, o aumento de peso muscular pode ser atribuído ao acúmulo de gordura no perimísio, endomísio, como observado em músculos sarcopênicos (MOREIRA *et al.*, 2005). Logo, os protocolos de exercícios realizados não foram suficientes para impedir o ganho de peso muscular em ratas ovariectomizadas e histerectomizadas.

O aumento de peso corporal e muscular pode ter favorecido ao aumento do comprimento muscular e número de sarcômeros em série, nas ratas ovariectomizadas e histerectomizadas, que realizaram exercício resistido ou sua associação com o alongamento. Este desfecho sugere que a sobrecarga de peso corporal associada a carga, durante a execução do exercício resistido, poderia ter induzido a sarcomerogênese.

Trabalhos experimentais identificaram que o músculo aumentava seu comprimento através da adição de sarcômeros ao longo das fibras musculares, com conseqüente ganho de peso e aumento de síntese protéica (GOLDSPINK, 1968 e WILLIAMS and GOLSPINK, 1971; GUNST *et al.*, 2001; GAJDOSIK, 2001). Assim, as fibras musculares esqueléticas podem se adaptar de acordo com a demanda funcional, com provável remoção ou adição do número de sarcômeros em série (TABARY *et al.*, 1972).

Desta forma, o aumento do peso corporal e muscular, do comprimento muscular e do número de sarcômero em série nos grupos ovariectomizados e histerectomizados, que realizaram exercício resistido ou sua associação com o alongamento muscular, pode ser atribuído ao aumento da demanda que o músculo sóleo foi submetido. Tabary *et al.*, (1972) verificou que quando o músculo sóleo foi imobilizado em posição de encurtamento, ocorreu diminuição de 40% no número de sarcomeros em série e quatro semanas após a retirada da imobilização, isto é, com

a permanência dos ratos livres na gaiola, o músculo sóleo apresentou número de sarcômeros similar ao grupo controle não imobilizado, o que se conclui que o músculo responde de acordo com a demanda funcional imposta a ele.

O presente estudo mostrou que a diminuição do hormônio de estrogênio em ratas ovariectomizadas e histerectomizadas, diminuiu a área de secção transversa das fibras musculares do sóleo, isto é, induziu a sarcopenia. Além disso, quando se comparou as ratas ovariectomizadas e histerectomizadas às que realizaram exercício resistido e/ou alongamento muscular, observou-se que os protocolos de exercícios realizados foram capazes de prevenir a sarcopenia.

Outros autores também reportaram que a ovariectomia e histerectomia foi prejudicial para a função contrátil no músculo sóleo de ratas e que a diminuição de concentrações de estradiol afeta o músculo esquelético (MORAN *et al.*, 2006). Já McClung *et al.* (2006) observaram que em ratas ovariectomizadas e em seguida mantidas em gaiola para deambulação normal houve comprometimento da recuperação da ASTM comparado a ratas que foram submetidas a suspensão dos membros superiores. Ainda, estes autores observaram que a massa muscular do músculo sóleo voltou a se recuperar em torno do 7º dia de recuperação em animais intactos, enquanto que na OVX a massa muscular não se alterou até o 14º dia. Nas ratas OVX a ASTM permaneceu 42% inferior a ratas intactas.

Já Prestes *et al.* (2008), observaram diminuição de proteínas relacionadas com o remodelamento tecidual, as metaloproteases-2 (MMP-2), em ratas ovariectomizadas e histerectomizadas.

Kokkonen *et al.* (2010) avaliaram os efeitos da associação do exercício resistido com o alongamento muscular, em dias alternados, isto é, no dia em que foi realizado o treinamento de força, não foi realizado o alongamento e vice-versa, na força muscular de sujeitos jovens iniciantes no treinamento de força. Foi encontrado aumento da força muscular nos sujeitos que realizaram o treinamento de força e o alongamento, quando comparado com os sujeitos que apenas realizaram o treinamento de força. Estes autores sugerem que os ganhos de força podem estar relacionados com alterações morfológicas, decorrentes do aumento na síntese proteica, no comprimento muscular, no número de sarcômeros em série e na área

de secção transversa das fibras musculares (KOKKONEN *et al.* 2010; COUTINHO *et al.*, 2004).

No presente estudo, foi encontrado aumento do número de sarcômeros em série em ratas ovariectomizadas, histerectomizadas e submetidas à associação do exercício resistido com o alongamento. Além disso, os protocolos de exercício, tanto em ratas ovariectomizadas e histerectomizadas como nas ratas intactas, foram suficientes para prevenir a perda da área de secção transversa das fibras musculares.

Swank *et al.*, (2003) observaram aumento de amplitude de movimento de idosos que realizaram a associação do exercício de alongamento com carga (0,45-1,35Kg), quando comparado aqueles que realizaram apenas exercícios de alongamento. Desta forma, os ganhos de peso e comprimento musculares e aumento do número de sarcômeros em série, identificados nos grupos ovariectomizados e histerectomizados, que realizaram exercício resistido ou sua associação com o alongamento muscular, poderiam, respeitando as limitações, ser extrapolados para os ganhos encontrados por Swank *et al.* (2003). Portanto, estes achados sugerem que o alongamento associado à carga pode aumentar a sarcomerogênese de músculos na ausência do hormônio estrogênio.

Marqueti *et al.*, (2008), encontraram diminuição das MMP-2 em músculo sóleo de ratas ovariectomizadas, porém, quando as ratas foram submetidas ao exercício resistido, a redução de MMP-2 foi minimizada. Por outro lado, não foi encontrada modificação da atividade das MMP-2, ao longo da 1ª semana, após realização de exercícios de alongamento intermitentes, em músculos sóleos de ratos (PEVIANI *et al.*, 2009).

No presente estudo, não foram realizadas análises moleculares, como por exemplo, para avaliar as MMP-2, expressão de genes relacionados à sarcopenia e hipertrofia. Assim, sugere-se que para estudos futuros sejam investigados os mecanismos celulares e moleculares responsáveis pela sarcomerogênese e sarcopenia induzidas em ratas, na ausência do hormônio estrogênio, submetidas a protocolos de alongamento e/ou exercício resistido.

CONCLUSÃO

A ovariectomia e histerectomia induziu sarcopenia. Porém, os protocolos de exercícios propostos preveniu a perda da área de secção transversa das fibras musculares. A sobrecarga do peso corporal associada ou não ao exercício resistido com o alongamento favoreceu a sarcomerogênese em ratas osteopênicas. Já em ratas intactas, os protocolos de exercícios não causaram modificação em série nem em paralelo.

REFERÊNCIAS

ARAHÃO, G. S.; SHIMANO, A. C.; PICADO, C. H. F. Ação da atividade física sobre as propriedades mecânicas dos fêmures e tíbias de ratas osteopênicas. **Act ortop bras**, 14(5):242-245, 2006.

ADAMS, K.; O'SHEA, P.; O'SHEA, K.L. Aging: its effects on strength, power, flexibility, and bone density. **J Natl Strength Cond Assoc**, 21: 65-77, 1999.

ADAMS, K.; SWANK, A.M.; BERNING, J.M.; SEVENE-ADAMS, P.G.; BARNARD, K.L.; SHIMP-BOWERMAN, J. Progressive strength training in sedentary older African American women. **Med Sci Sports Exerc**, 33: 1567-1576, 2001.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. Position stand: Progression models in resistance training for healthy adults. **Med Sci Sports Exerc**, 34:364-80, 2002.

ATHERSON, P.J.; BARBRA, J.; SMITH, J.; SINGH, M.; RENNE, J.; WACKERHAGE, H. Selective activation of AMPK-PGC-1 α or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain adaptive responses to endurance or resistance training-like electrical muscle stimulation. **FASEB J**, 19:786-788, 2005.

BANDY, W.D.; IRION, J.M.; BRIGGLER, M. The effect of time and frequency of static stretching on flexibility of the hamstring muscles. **Physl Ther**, 77:1090-6, 1997.

BAUTMANS, I.; NJEMINI, R.; LAMBERT, M.; DEMANET, C.; METS, T. Circulating acute phase mediators and skeletal muscle performance in hospitalized geriatrics patients. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci.**, 60A(3):361-7, 2005.

BARROSO, R.; TRICOLI, V.; UGRINOWITSCH, C. Adaptações neurais e morfológicas ao treinamento de força com ações excêntricas. **Rev Bras Ci e Mov**, 13 (02):111-122, 2005.

BATISTA, L.H.; VILAR, A.C.; DE ALMEIDA FERREIRA, J.J.; REBELATTO, J.R.; SALVINI, T.F. Active stretching improves flexibility, joint torque, and functional mobility in older women. **Am J Phys Med Rehabil**, 88: 815-22, 2009.

BELIZARIO, J.E.; LORITE, M.J.; TISDALE, M.J. Cleavage of caspases-1, -3, -6, -8 and -9 substrates by proteases in skeletal muscles from mice undergoing cancer cachexia. **British Journal of Cancer**, England, v. 84, n. 8, p. 1135-1140, 2001.

BIRD, M.L.; HILL, K.; BALL, M.; WILLIAMS, A.D. Effects of resistance- and flexibility-exercise interventions on balance and related measures in older adults. **J Aging Phys Act**, 17: 444-54, 2009.

BIRD, M.; HILL, K.D.; BALL, M.; HETHERINGTON, S.; WILLIAMS, A.D. The long-term benefits of a multi-component exercise intervention to balance and mobility in healthy older adults. **Arch Gerontol Geriatr.**, 52:211-6, 2011.

BIRKEDAL-HANSEN, H. Proteolytic remodeling of extracellular matrix. **Curr Opin Cell Biol.**, Oct;7(5):728-35, 1995.

BOATRIGT, K.M.; SALVESEN, G.S. Mechanisms of caspase activation. **Curr Opin Cell Biol.**, 15:725-31, 2003.

BOCALINI, D.S.; SERRA, A.J.; DOS SANTOS, L.; MURAD, N.; LEVY, R.F. Strength training preserves the bone mineral density of postmenopausal women without hormone replacement therapy. **J Aging Health**, 21: 519–527, 2009.

BORG, T.K.; CAULFIELD, J.B. Morphology of connective tissue in skeletal muscle. **Tissue Cell.**, 12(1):197-207, 1980.

BRUUNSGAARD, H.; ANDERSEN-RANBERG, K; HJELMBORG, J.B.; PEDERSEN, B.K.; JEUNE, B. Elevated levels of tumor necrosis factor alpha and mortality in centenarians. **Am J Med.**, 115(9):278–83, 2003.

BRUUNSGAARD, H.; SKINHO, J. P.; SCHROLL, M. Ageing, TNF- α and atherosclerosis. **Clin Exp Immunol.**, 121:255–60, 2000.

BRUUNSGAARD, H.; PEDERSEN, A.N.; SCHROLL, M. Impaired production of proinflammatory cytokines in response to LPS stimulation in elderly humans. **Clin Exp Immunol.**, 118:235–41, 1999.

CAMPOS, G.E.R.; LUECKE, T.J.; WENDELN, H.K.; TOMA, K.; HAGERMAN, F.C; MURRAY, T.F.; RAGG, K.E.; RATAMESS, N.A.; KRAEMER, W.J.; STARON, R.S. Muscular adaptations in response to three different resistance training regimens: Specificity of repetition maximum training zones. **Eur J Appl Physiol**, 88: 50–60, 2002.

CAPPOLA, A. R. K; BANDEEN-ROCHE. Association of IGF-I levels with muscle strength and mobility in older women. **J Clin Endocrinol Metab**, v.86, n.9, Sep, p.4139-46, 2001.

CARMELI, E.; MOAS, M.; REZNICK, A.Z; COLEMAN, R. Matrix metalloproteinases and skeletal muscle: a brief review. **Musc Nerv**, Feb;29(2):191-7, 2004.

CARVALHO, D.C.L.; CLIQUET, JR. A. The Action of Low-intensity Pulsed Ultrasound in Bones of Osteopenic Rats. **Artif Organs**, 28(1):114-118, 2004.

CARVALHO, J.A.M.; RODRÍGUEZ-WONG, L.L. A transição da estrutura etária da população brasileira na primeira metade do século XXI. **Cad. Saúde Pú**l****, 24(3): 597-605, 2008.

CHAN, S. P.; HONG Y.; ROBINSON, P. D. Flexibility and passive resistance of the hamstrings of young adults using two different static stretching protocols. **Scand J Med Sci Sports**, 11:81-86, 2001.

CHARETTE, S. L. ; MCEVOY, L. Muscle hypertrophy response to resistance training in older woman. **J. Appl Physiol**, 70:1912-1916, 1991.

CHURCH, J.B.; WIGGINS M.S.; MOODE F.M.; CRIST, R. Effect of warm-up and flexibility treatments on vertical jump performance. **J Strength Cond Res**, 5(3):332-6, 2001.

COHEN, H.J.; PIEPER, C.F.; HARRIS, T. The association of plasma IL-6 levels with functional disability in community dwelling elderly. **J Gerontol.**, 52:M201-8, 1997.

COOPER, R.; MISHRA, G.; CLENNELL, S.; GURALNIK, J.; KUH, D . Menopausal status and physical performance in midlife: findings from a British birth cohort study. **Menopause**, 15:1079-1085, 2008.

COUTINHO, E.L.; GOMES, A.R.S.; FRANÇA, C.N.; OISHI, J.; SALVINI, T.F. Effect of passive stretching on the immobilized soleus muscle fiber morphology. **Braz J Med Biol Res**, 37: 1853-1861, 2004.

COUTINHO, E.L.; DELUCA, C.; SALVINI, T.F.; VIDAL B.C.; Bouts of passive stretching after immobilization of the rat soleus muscle increase collagen macromolecular organization and muscle fiber area. **Connect Tissue Res.**, 47 (5):278-286, 2006.

CRISTOPOLISKI, F.; SARRAF, T.A.; DEZAN, V.H.; PROVENSÍ, C.L.G.; RODACKI, A.L.F. Transient effect of flexibility exercises in the hip joint on the gait of older women. Efeito transiente de exercícios de flexibilidade na articulação do quadril sobre a marcha de idosas. **Rev Bras de Med do Esporte**, 14: 139-44, 2008.

DELDICQUE, L.; THEISEN, D.; FRANCAUX, M. Regulation of mTOR by amino acids and resistance exercise in skeletal muscle. **Eur J Appl Physiol**, 94(1-2):1-10, 2005.

DANTAS, E.H.M.; PEREIRA, S.A.M.; ARAGÃO, J.C.; OTA, A.H. A preponderância da diminuição da mobilidade articular ou da elasticidade muscular na perda da flexibilidade no envelhecimento. **J Fitness & Performance**, 3: 12-20, 2002.

DENNIS, R.A.; PRZYBYLA, B.; GURLEY, C.; KORTEBEIN, P.M.; SIMPSON, P.; SULLIVAN, D.H.; PETERSON, C.A. Aging alters gene expression of growth and remodeling factors in human skeletal muscle both at rest and in response to acute resistance exercise. **Physiol Gen.**, 32: 393-400, 2008.

DENAULT, J.B.; SALVESEN, G.S. Caspases: keys in the ignition of cell death. **Chem Rev**, 102:4489-500, 2002.

DEYNE, P. Application of passive stretch and its implications for muscle fibers. **Phys. Ther**, 81: 819-826, 2001.

DIONNE, I.J.; KINAMAN, K.A.; POEHLMAN, E.T. Sarcopenia and muscle function during menopause and hormone-replacement therapy. **J Nutr Health Aging**, 4: 156-161, 2000.

DOHERTY, T.J. Aging and Sarcopenia. **J Appl Physiol.**, 96: 1717-1727, 2003.

DU, J.; WANG, X.; MEIRELES, C.; BAILEY, J.L., DEBIGARE, R., ZHENG, B.; PRICE, S.R.; MITCH, W.E. Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions. **The Journal of Clinical Investigation**, United States, v. 113, n. 1, p. 115-123, 2004.

DÜZENLI, M.A.; OZDEMIR, K.; SOKMEN, A.; SOYLU, A.; AYGUL, N.; GEZGINC, K.; TOKAC, M. Effects of menopause on the myocardial velocities and myocardial performance index. **Circ J**, 71 : 1728 – 1733, 2007.

EVANS, W.J. Effects of exercise on senescent muscle. **Clin Orthop**, S211–S220, 2002.

ELLIOTT, K.J.; SALE, C.; CABLE, N.T. Effects of resistance training and detraining on muscle strength and blood lipid profiles in postmenopausal women. **Br J Sports Med**, 36 : 340 – 344, 2002.

FATOUROS, I.G.; KAMBAS, A.; KATRABASAS, I.; LEONTSINI, D.; CHATZINIKOLAOU, A.; JAMURTAS, A.Z. Resistance training and detraining effects on flexibility performance in the elderly are Intensity-dependent. **J Strength Cond Res**, 20(3): 634-2, 2006.

FELAND, J.B.; MYRER, J.W.; SCHULTHIES, S.S.; FELLINGHAM, G.W.; MEASOM, G.W. The effect of duration of stretching of the hamstring muscle group for increasing range of motion in people age 65 years or older. **Phys Ther**, 81: 1110-1117, 2001.

FELAND, J.B.; MYRER, J.W.E.; MERRILL, R.M. Acute changes in hamstring flexibility: PNF versus static stretch in senior athletes. **Phys Ther Sport**, 2: 186-193, 2001.

FERRUCCI, L.; PENNIX, B.W.J.H.; VOLPATO, S. HARRIS, T.B.; BANDEN-ROCHE, K.; BALFOUR, J. Change in muscle strength explains accelerated decline of physical function in older women with high interleukin-6 serum levels. **J Am Geriatr Soc**, 50(12):1947–54, 2002.

FERRUCCI, L.; HARRIS, T.B.; GURALNIK, J.M.; TRACY, R.P.; CORTI, M.C.; COHEN, H.J. Serum IL-6 level and the development of disability in older persons. **J Am Geriatr Soc**, 47(6):639–46, 1999.

FLUCKEY, J. D.; DUPONT-VERSTEEGDEN, E. E.; MONTAGUE, D. C. A rat resistance exercise regimen attenuates losses of musculoskeletal mass during hindlimb suspension. **Acta Physiol Scand**, 176: 293-300, 2002.

FOLLAND, J.P.; WILLIAMS, A.G. The adaptations to strength training: Morphological and neurological contributions to increased strength. **Sports Med**, 37: 145–168, 2007.

FOLLAND, J.P.; WILLIAMS, A.G. The Adaptations to Strength Training Morphological and Neurological Contributions to Increased Strength. **Sports Med**, 37 (2): 145-168, 2007.

FORBES, G.B. Body composition: overview. **J Nutr**, 129(1):270S-272S, 1999.

FRY, A. C. The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. **Sports Med**, 34 (10):663-679, 2004.

FRONTERA, W. R.; MEREDITH, C. N.; O'REILLY, K. P. Strength conditioning in older men: skeletal muscle hypertrophy and improved function. **J Appl Physiol**, 64:1038-1044, 1988.

GAJDOSIK, R.L.; LINDEN, D.W.V.; WILLIAMS, A.K. Influence of age on length and passive elastic stiffness characteristics of the calf musculotendon unit of women. **Phys. Ther**, 79(9):827-838, 1999.

GAJDOSIK, R.L. Passive extensibility of skeletal muscle: review of the literature with clinical implications. **Clin Biomech**, 16: 87-101, 2001.

GAJDOSIK, R. L. Effects of an eight-week stretching program on the passive elastic properties and function of the calf muscles of older women. **Clin Biomech**, 20: 973–983, 2005.

GALLON, D.; RODACKI, A.L.F.; HERNANDEZ, S.G.; DRABOVSKI, B.; OUTI, T.; BITTENCOURT, L.R.; GOMES, A.R.S. The effects of stretching on muscle performance and functionality of institutionalized older women. **Braz J Med Biol Res**, 44(3): 229-235, 2011.

GLASS, D. J. Molecular mechanisms modulating muscle mass. **Tren Mol Med**, 09:344-350, 2003.

GLASS, D.J. Signaling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy. **Nat Cell Biol**, 5:87-90, 2003.

GOLDSPINK, G. Sarcomere length during post natal growth of mammalian muscle fibres. **J Cell Sci**, 3: 539-548, 1968.

GOLDSPINK, G.; SCUTT, A.; LOUGHNA, P.T.; WELLS, D. J.; JAENCKE, T.; GERLACH, G. F. Gene expression in skeletal muscle in response to stretch and force generation. **Am J Physiol**, 22: R356-R363, 1992.

GOLDSPINK, G. Molecular mechanism involved in the determination of muscle fiber mass and phenotype. **Adv Exerc Sports Physiol**, 5(2): 27-39, 1999.

GOLDSPINK, G; HARRIDGE, S. Cellular and molecular aspects of adaptation in skeletal muscle. In: Strength and Power in Sport. Komi, PV, ed. Malden, MA: **Blackwell Science Inc**, 231–251, 2003.

GOLL, D.E.; THOMPSON, V.F.; LI, H.; WEI, W.; CONG, J. The calpain system. **Physiological reviews**, United States, v. 83, n. 3, p. 731-801, 2003.

GOMES, A.R.S.; COUTINHO, E.L.; FRANÇA, C. N.; POLÔNIO, J.; SALVINI, T.F. Effect of one stretch a week applied to the immobilized soleus muscle on rat muscle fiber morphology. **Braz J of Med Biol Res**, 37: 1473-148, 2004.

GOMES, A. R. S.; SOARES, A.; PEVIANI MESSA, S.; NASCIMENTO, R. B.; MORISCOT, A. S.; SALVINI, T. F. The effect of 30 minutes of passive stretch of the rat soleus muscle on the myogenic differentiation, myostatin, and atrogen-1 gene expressions. **Arch Phys Med Rehab**, 87:241 - 246, 2006.

GOMES, A.R.S.; CORNACHIONE, A.; SALVINI, T.F.; MATTIELLO-SVERZUT, A.C. Morphological effects of two protocols of passive stretch over the immobilized rat soleus muscle. **J Anat**, 210:328 –335, 2007.

GORDON, A.M.; HUXLEY, A.F.; JULIAN, F.J. The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibers. **J Physiol**, 184: 170-192, 1966.

GUCCIONE, A.A. **Fisioterapia Geriátrica**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2002.

GUNST, S.J.; WU, M. Plasticity in skeletal, cardiac and smooth muscle selected contribution: plasticity of airway smooth muscle stiffness and extensibility: role of length-adaptive mechanisms. **J Appl Physiol**, 90: 741-749, 2001.

HADDAD, F.; ZALDIVAR, F.; COOPER, D.M.; ADANIS, G.R. IL-6-induced skeletal muscle atrophy. **J Appl Physiol**, 98:911–7, 2005.

HAN, X.Y.; WANG, W.; KOMULAINEN, J.; KOSKINEN, S.O.; KOVANEN, V.; VIHKO, V.; TRACKMAN, P.C; TAKALA, T.E. Increased mRNAs for procollagens and key regulating enzymes in rat skeletal muscle following downhill running. **Pflugers Arch**, May 437(6):857-64, 1999.

HANDEL, M.; HORSTMANN, T.; DICKHURT, H.H.; GULCH, R.W. Effects of contract-relax stretching training on muscle performance in athletes. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, 76:400-8, 1997.

HARJOLA, V. P.; JANKALA, H.; HARKONEN, M. Myosin heavy chain mRNA and protein distribution in immobilized rat skeletal muscle are not affected by testosterone status. **Acta Physiol Scand**, 169: 277-282, 2000.

HARLOW, B.L.; SIGNORELLO, L.B. Factors associated with early menopause . **Maturitas**, 35 : 3 – 9, 2000.

HASS, C.J.; FREIGENBAUM, M. S.; FRANKLIN, B.A. Prescription of resistance training for healthy populations. **Sports Med**, 31 (14) 953-964, 2001.

HASSELGREN, P.O.; WRAY, C.; MAMMEN, J. Molecular regulation of muscle cachexia: It may be more than the proteasome. **Bioch Biophys Res Com**, 290(1):1–10, 2002.

HINZ, B.; GABBIANI, G. Cell-matrix and cell-cell contacts of myofibroblasts: role in connective tissue remodeling. **Thromb Haemost**, 90(6):993-1002, 2003.

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

HOLLAND, G.J.; TANAKA, K; SHIGEMATSU, R; NAKAGAICHI, M. Flexibility and physical functions of older adults: a review. **J Aging Phys Activ**, 10:169-206, 2002.

HUGHES, V.A.; FRONTERA, W.R.; ROUBENOFF, R.; EVANS, W.J.; SINGH, M.A. Longitudinal changes in body composition in older men and women: role of body weight change and physical activity. **Am J Clin. Nutcv**, 76(2):473-81, 2002.

JACKMAN, R.W.; KANDARIAN, S.C. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. **Am J Physiol Cell Physiol**, 287(4):C834-C843, 2004.

JAMES, B.; PARKER, A.W. Active and Passive Mobility of Lower Limb Joints in Elderly Men and Women. **Am J Phys Med. Rehabil**, 68:162–167, 1989.

JÓZSA, L.; THÖRING, J.; JÄRVINEN, M.; KANNUS, P.; LEHTO, M.; KVIST, M. Quantitative alterations in intramuscular connective tissue following immobilization: an experimental study in the rat calf muscles. **Exp Mol Pathol**, 49(2):267-278, 1988.

JÓZSA, L.; KANNUS, P.; THÖRING, J.; REFFY, A.; JÄRVINEN, M.; KVIST, M. The effect of tenotomy and immobilisation on intramuscular connective tissue. A morphometric and microscopic study in rat calf muscles. **J Bone Joint Surg Br**, Mar;72(2):293-7, 1990.

KADI, F.; KARLSSON, C.; LARSSON, B.; ERIKSSON, J.; LARVA, M.; BILLIG, H.; JONSDOTTIR, I.H. The effects of physical activity and estrogen treatment on rat fast and slow skeletal muscles following ovariectomy. **J Muscle Res Cell Motil**, 23 : 335 – 339, 2002.

KALU, D.N.. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. **Bone Miner**, 15, 171–192, 1991.

KANDARIAN, S.C.; STEVENSON, E.J. Molecular Events in Skeletal Muscle During Disuse Atrophy. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, United States, v. 30, n.3, p. 111-116, 2002.

KANDARIAN, S.C.; JACKMAN, R.W. Intracellular signaling during skeletal muscle atrophy. **Muscle Nerve**, United States, v. 33, n. 2, p. 155-165, 2006.

KJAER, M. ; MAGNUSSON, P. ; KROGSGAARD, M. ; BOYSEN, M. J.; OLESEN, J.; HEINEMEIER, K.; HANSEN, M.; HARALDSSON, B.; KOSKINEN, S.; ESMARCK, B. LANGBERG H. Extracellular matrix adaptation of tendon and skeletal muscle to exercise. **J Anat**, 208(4):445-50, 2006.

KLITGARRD, H.; MANTONI, M.; SCHIAFFINO, S. Function, morphology and protein expression of ageing skeletal muscle: cross-sectional study of elderly men with different training backgrounds. **Cta Physiol Scand**, 140:41-54, 1990.

KOH, T. J. Do adaptations in serial sarcomere number occur with strength training? **Human Mov Sci**, 14: 61-77, 1995.

KONCAREVIC, A.; JACKMAN, R.W.; KANDARIAN, S.C. The ubiquitin-protein ligase Nedd4 targets Notch1 in skeletal muscle and distinguishes the subset of atrophies caused by reduced muscle tension. **Faseb J**, 21(2):427–37, 2007.

KOKKONEN, J.; NELSON, A.G.; ELDREDGE, C.; WINCHESTER, J.B. Chronic static stretching improves exercise performance. **Med Sci Sports Exerc**, 39(10):1825-31, 2007.

KOKKONEN, J.; NELSON, A.G.; TARAWHITI, T.; BUCKINGHAM, P.; WINCHESTER, J.B. Early-phase resistance training strength gains in novice lifters are enhanced by doing static stretching. **J Strength Cond Res**, 24(2): 502–506, 2010.

KOVANEN, V. Intramuscular extracellular matrix environment of muscle cells. **Exerc Sport Sci Re**, 30(1):20-25, 2002.

KRABBE, K.S.; PERDERSEN, M.; BRUUNSGAARD, H. Inflammatory mediators in the elderly. **Exp Gerontol**, 39(5):687–99, 2004.

KOSTEK, M.C.; CHEN, Y-W.; CUTHBERTSON, D.J.; SHI, R.; FEDELE, M.J.; ESSER, K.A.; RENNIE, M.J. Gene expression responses over 24 h to lengthening and shortening contractions in human muscle: major changes in CSRP3, MUSTN1, SIX1, and FBXO32. **Physiol Genomics**, 31: 42–52, 2007.

KRAEMER, W. J.; ADAMS, K.; CAFARELLI, E.; DUDLEY, G. A. Progression models in resistance training for health adults. American College of sports medicine. **Med Sc Sports Exerc**, 34 (2): 364-380, 2002.

LANGLEY, B.; THOMAS, M.; BISHOP, A.; SHARMA, M.; GILMOUR, S.; KAMBADUR, R.; Myostatin inhibits myoblast differentiation by downregulating MyoD expression. **J Biol Chem**, 277:49831–40, 2002.

LAROCHE, D.P.; CONNOLLY, D.A.J. Effects of stretching on passive muscle tension and response to eccentric exercise. **Am J Sports Med**, 34:1000-7, 2006.

LAROCHE, D.P.; LUSSIER, M.V.; ROY, S.J. Chronic stretching and voluntary muscle force. **J Strength Cond Res**, 22: 589-96. 2008.

LAURETANI, F.; RUSSO, C.R.; BANDINELLI, S.; BARTALI, B.; CAVAZZINI, C.; DI IORIO, A. Age-associated changes in skeletal muscles and their effect on mobility: an operational diagnosis of sarcopenia. **J Appl Physiol**, 95:1851–60, 2003.

LEEUEWENBURGH, C.; GURLEY, C.M.; STROTMAN, B.A.; DUPONT-VERSTEEGDEN, E.E. Age-related differences in apoptosis with disuse atrophy in soleus muscle. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, United States, v. 288, n. 5, p. R1288-R1296, 2005.

LEITE, R. D; PRESTES, J; PEREIRA, G. B; SHIGUEMOTO, G. E; PEREZ, S. E. A. Menopause: highlighting the effects of resistance training. **J Sports Med**, 31: 761 – 767, 2010.

LEXELL, J.; TAYLOR, C.; SJOSTROM, M. What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studies in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. **J Neurol Sci**, 84: 275-294, 1988.

LI, Y.P.; CHEN, Y.L.; LI, A.S.; REID, M.B. Hydrogen peroxide stimulates ubiquitin-conjugating activity and expression of genes for specific E2 and E3 proteins in skeletal muscle myotubes. **Am J Physiol -Cell Physiol**, 285(4):C806–C12, 2003.

LI, H.; MALHOTRA, S.; KUMAR, A. Nuclear factor-kappa B signaling in skeletal muscle atrophy. **J Mol Med**, 86(10):1113–26, 2008.

LYNN, R.; MORGAN, D. L. Decline running produces more sarcomeres in rat vastus intermedius muscle fibers than does incline running. **J Appl Physiol**, 77(3): 1439-1444, 1994.

LLURI, G.; JAWORSKI, D.M. Regulation of TIMP-2, MT1-MMP, and MMP-2 expression during C2C12 differentiation. **Musc Nerv**, 32(4):492-9, 2005.

MALTAIS, M.L.; DESROCHES, J.; DIONNE, I.J. Changes in muscle mass and strength after menopause. **J Musc Neur Interact**, 9 : 186 – 197, 2009.

MAMMUCARI C, MILAN G, ROMANELLO V, MASIERO E, RUDOLF R, DEL PICCOLO P, BURDEN, S.J.; DI LISI, R.; SANDRI, C.; ZHAO, J.; GOLDBERG, A.L.; SCHIAFFINO, S.; SANDRI, M. FOXO3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. **Cell Metab**, 6(6):458–71, 2007

MARQUETI, R.C.; PRESTES, J.; STOTZER, U.S.; PASCHOAL, M.; LEITE, R.D.; PEREZ, S.E.; SELISTRE DE ARAUJO, H.S. MMP-2, jumping exercise and nandrolone in skeletal muscle. **Int J Sports Med**, 29(7):559-63, 2008.

MARTINEAU, L.C. & GARDINEAR, P.F. Insight into skeletal muscle mechanotransduction: MAPK activation is quantitatively related to tension, **J Appl Physiol**, 91:963-702, 2001.

MATANO, T.; TAMAI, K.; KUROKAWA, T. Adaptation of skeletal muscle in limb lengthening: a light diffraction study on the sarcomere length in situ. **J Orthop Res**,

12:193-196, 1994.

MATTIELLO-SVERZUT, A.C.; CARVALHO, L.C.; CORNACHIONE, A.; NAGASHIMA, M.; NEDER, L.; SHIMANO, A.C. Morphological effects of electrical stimulation and intermittent muscle stretch after immobilization in soleus muscle. **Histol Histopathol**, 21(9):957-64, 2006.

MATRISIAN, L.M. The matrix-degrading metalloproteinases. **Bioessays**, 14(7):455-63, 1992.

MATSUDO, S.A.; MATSUDO, V.K.R.; NETO, T.L. Impacto do envelhecimento nas variáveis antropométricas, neuromotoras e metabólicas da aptidão física. **Rev Bras Ciên e Mov**, 8(4):21-32, 2000.

MCCLUNG, J.M.; DAVIS, J.M.; WILSON, M.A.; GOLDSMITH, E.C.; CARSON, J.A. Estrogen status and skeletal muscle recovery from disuse atrophy. **J Appl Physiol**, 100(6):2012-23, 2006.

MCKOY, G.; ASHLEY, W.; MANDER, J.; YANG, S.Y.; WILLIAMS, N.; RUSSEL, B. Expression of IGF-1 splice variants and structural genes in rabbit skeletal muscle and induced by stretch and stimulation. **J Physiol**, 516:583-592, 1999.

MELONI, V.H.M. O papel da hiperplasia na hipertrofia do músculo esquelético. **Rev Bras Cine Des Hum**, 07 (01):59-63, 2005.

MINAMOTO, V.B.; SALVINI, T. F. O músculo como um órgão de secreção hormonal regulado pelo estímulo mecânico. **Rev Bras Fisioter**, 5(2): 87-94, 2001.

MITCHELL, S.L.; GRANT, S.; AITCHISON, T. Physiological Effects of Exercise on Post-menopausal Osteoporotic Women. **Physioth**, 84(4):157-163, 1998.

MORAN, A.L.; WARREN, G.L.; LOWE, D.A. Removal of ovarian hormones from mature mice detrimentally affects muscle contractile function and myosin structural distribution. **J Appl Physiol**, 100(2):548-59, 2006.

MOREIRA, M.A.; BRITO, M.V.; BRITO, N.M.; FILHO, M.S. Estudo histomorfométrico do músculo esquelético de ratos em anestro. **Acta Cir Bras**, 20: 329-355, 2005.

MORESI V, WILLIAMS AH, MEADOWS E, FLYNN JM, POTTHOFF MJ, MCANALLY J.; SHELTON, M.; BACKS, J.; KLEIN, W.H.; RICHARDSON, J.A.; BASSEL-DUBY, R.; OLSON, E.N. Myogenin and Class II HDACs Control Neurogenic Muscle Atrophy by Inducing E3 Ubiquitin Ligases. **Cell**, 143(1):35–45, 2010.

MORGAN, D. L.; LYNN, R. Decline running produces more sarcomeres in rat vastus intermedius muscle fibers than does incline running. **J Appl Physiol**, 77:1439-1444, 1994.

MURTON, A.J.; GREENHAFF, P.L. Physiological control of muscle mass in humans during resistance exercise, disuse and rehabilitation. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, 13:249–254, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington, DC. **Nat Ac Press**, 1996.

NGUYEN, T.V.; KELLY, P.J.; SAMBROOK, P.N.; GILBERT, C.; POCOCCO, N.A.; EISMAN, J.A. Lifestyle factors and bone density in the elderly: implications for osteoporosis prevention. **J Bone Miner Res**, 9(9):1339-1346, 1994.

NICHOLSON, D.W.; THORNBERRY, N.A. Caspases: killer proteases. **Trends Biochem Sci**, 22:299-306, 1997.

PALMER, R. M. Prostaglandins and the control of muscle protein synthesis and degradation. **Prost Leukot Es Fatty Acids**, 39(2):95-104. 1990.

PEARLSTONE, D.B.; WOLF, R.F.; BERMAN, R.S.; BURT, M.; BRENNAN, M.F. Effect of systemic insulin on protein kinetics in postoperative cancer patients. **Ann Surg Oncol**, 1(4):321-32. 1994.

PEREIRA, M.G.; REBOUÇAS, M. Indicadores de Saúde para Idosos. In: Freitas, E.V.; PY, L.; Cançado, F.A.X.; Doll, J.; Gorzoni, M.L. **Tratado de geriatria e gerontologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 31-138:2006.

PENNIX, B.W.J.H.; KRITCHEVSKY, S.B.; NEWMAN, A.B.; NICKLAS, B.J.; SIMONSICK, E.M.; RUBIN, S. Inflammatory markers and incident mobility limitation in the elderly. **J Am Geriatr Soc**, 52(7):1105–13, 2004.

PEVIANI, S.M.; GOMES, A.R.; MOREIRA, R.F.; MORISCOT, A.S.; SALVINI, T.F. Short bouts of stretching increase myo-D, myostatin and atrogin-1 in rat soleus muscle. **Musc Nerv**, 35: 363-370, 2007.

PHILLIPS, S.K.; ROOK, K.M.; SIDDLE, N.C.; BRUCE, S.A.; WOLEDGE, R.C. Muscle weakness in women occurs at an earlier age than in men, but strength is preserved by hormone replacement therapy. **Clin Sci**, 84:95–98, 1993.

PHILIPPOU, A.; HALAPAS, A.; MARIDAKI, M.; KOUTSILIERIS, M. Type I insulin-like growth factor receptor signaling in skeletal muscle regeneration and hypertrophy. **J Muscul Neur Int**, 7(3):208-18, 2007.

POZEFSKY, T.; FELIG, J.D.T.; SOELDNER, J.S.; CAHILL, G.F. Amino acid balance across tissues of the forearm in postabsorptive man. Effects of insulin at two dose levels. **J Clin Invest**, 48(12):2273-82. 1969.

PREEDY, V. R.; GARLICK, P. J. The effect of glucagon administration on protein synthesis in skeletal muscles, heart and liver in vivo. **Biochem J**, 228(3):575-81, 1985.

PRESTES, J.; FERREIRA, C.K.O.; DIAS, R.; FROLLINI, A.B.; DONATTO, F.F.; CURY-BOAVENTURA, M.F.; GUERESCHI, M.G.; PITHON-CURI, T.C.; VERLENGIA, R.; PALANCH, A.C.; CURI, C.; CAVAGLIERI, C.R. Lymphocyte and cytokines after short periods of exercise. **Int J Sports Med**, 29:1010-1014, 2008.

PURSLOW, P.P.; The structure and functional significance of variations in the connective tissue within muscle. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol (CBP)**, 133(4Pt A): 947-966, 2002.

RAAB, D.M.; AGRE, J.C.; MCADAMS, M.; SMITH, E.L. Light resistance and stretching exercise in elderly women: effect upon flexibility. **Arch Phys Rehabil**, 69:268-272, 1988.

RAMSAY, I. D. Muscle dysfunction in hyperthyroidism. **Lancet**, 153 (7470):931-4, 1966.

RANTANEN, T.; VOLPATO, S.; FERRUCCI, L.; HEIKKINEN, E.; FRIED, L.P.; GURALNIK, J.M. Handgrip strength and cause-specific and total mortality in older disabled women: exploring the mechanism. **J Am Geriatr Soc**, 51:636-41, 2003.

REEDS, P. J.; PALMER, R. M. The possible involvement of prostaglandin F₂ alpha in the stimulation of muscle protein synthesis by insulin. **Biochem Biophys Res Commun**, 116(3):1084-90. 1983.

RENNIE, M.J.; EDWARDS, R.H.; HALLIDAY, D.; MATTHEWS, D.E.; WOLMAN, S.L.; MILLWARD, D.J. Muscle protein synthesis measured by stable isotope techniques in man: the effects of feeding and fasting. **Clin Sci (Lond)**, 63(6):519-23. 1982.

RENNIE, M.J.; BENNEGÅRD, K.; EDÉN, E.; EMERY, P.W.; LUNDHOLM, K. Urinary excretion and efflux from the leg of 3-methylhistidine before and after major surgical operation. **Metabolism**, 33(3):250-6, 1984.

RENNIE, M. J. Muscle protein turnover and the wasting due to injury and disease. **Br Med Bull**, 41(3):257-64, 1985.

RENNIE, M.J.; WACKERHAGE, H.; SPANGENBURG, E.E.; BOOTH, F.W. Control of the Size of the human muscle mass. **Annu Rev Physiol**, 66(1):799-828, 2004.

RENNO, AM.; GOMES, A.R.S.; NASCIMENTO, R.B.; SALVINI, T.; PARIZOTO, N. Effects of a progressive loading exercise program on the bone and skeletal muscle properties of female osteopenic rats. **Exp Gerontol**, 42(6):517-22, 2007.

RYALL, J.G.; SCHERTZER, J.D.; LYNCH, G.S. Cellular and molecular mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and weakness. **Biogerontol**, 9:213-228, 2008.

ROBERTS, J.M.; WILSON, K. Effect of stretching duration on active and passive range of motion in the lower extremity. **Braz J Med**, 33:259-263, 1999.

ROBBINS, J.W.; SCHEUREMANN, B.W. Varying amounts of acute stretching and its effect on vertical jump performance. **J Strength Cond Res**, 22(3):781-6, 2008.

ROUBENOFF, R.; HUGHES, V.A. Sarcopenia: current concepts. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, 55: M716–M724, 2000.

ROUBENOFF, R. Catabolism of aging: is it an inflammatory process? **Current Opin Clin Nutr Metab Care**, 6(3):295–9, 2003.

ROGERS, M. A.; EVANS, W. J. Changes in skeletal muscle with aging: effects of exercise training. **Eur Sport Sci Rev**, 21:65-102, 1993.

RYAN, E.D; BECK, T.W; HERDA, T.J; HULL, H.R; HARTMAN, M. J; COSTA, P. B; FREITAS, J. M; STOUT, J. R; CRAMER, J.T. The time course of musculotendinous stiffness responses following different durations of passive stretching. **Orthop Sports Phys Ther**, 38(10):632-639, 2008.

SABOURIN, L. A.; RUDNICKI, M. A. The molecular regulation of myogenesis. **Clin Genet**, 57:16-25, 2000.

SALONEN, V.; LEHTO, M.; KALIMO, M.; PENTTINEN, R.; ARO, H. Changes in intramuscular collagen and fibronectin in denervation atrophy. **Musc Nerv**, 8(2):125-131, 1985.

SALVINI, T.F. Plasticidade e adaptação postural dos músculos esqueléticos. In: MARQUES, A. P. **Cadeias Musculares – Um programa para ensinar avaliação fisioterapêutica global**. Editora Manole. São Paulo, Brasil, p. 3-14, 2000.

SCHILLACI, G.; VERDECCHIA, P.; BORGIONI, C.; CIUCCI, A.; PORCELLATI, C. Early cardiac changes after menopause. **Hypertension**, 32 : 764 – 769, 1998.

SCHULZ, R.A. & YUTZEI, K.E. Calcineurin signaling and NFAT activation in cardiovascular and skeletal muscle development. **Devel Biol**, 266:1-16, 2004.

SECCHI, K.V; MORAIS, C.P; CIMATTI, P.F; TOKARS E; GOMES, A.R.S. Efeito do alongamento e do exercício contra-resistido no músculo esquelético de rato. **Rev bras fisioter**, 12 (3):228-34, 2008.

SHIER, I. Does stretching improve performance? A systematic and critical review of the literature. **Clin J Sport Med**, 14:267-273, 2004.

SHOEPE, T. C.; STELZER, J. E.; GARNER, D. P.; WIDRICK, J. J. Functional adaptability of muscle fibers to long-term resistance exercise. **Med Sci Sports Exerc**, Vol. 35, No. 6, pp. 944–951, 2003.

SIATRAS, T.A.; MITTAS, V.P.; MAMELETZI, D.N.; VAMVAKOUDIS, E.A. The duration of the inhibitory effects with static stretching on quadriceps peak torque production. **J Strength Cond Res**, 22(1): 40-6, 2008.

SIMÃO, R.; LEMOS, A.; SALLES, B.; LEITE, T.; OLIVEIRA, É.; RHEA, M.; REIS, V.M. The influence of strength, flexibility, and simultaneous training on flexibility and strength gains. **J Strength Cond Res**, 25(5):1333-8, 2011.

SIPILA, S.; TAAFFE, D.R.; CHENG, S.; PUOLAKKA, J.; TOIVANEN, J.; SUOMINEN, H. Effects of hormone replacement therapy and high-impact physical exercise on skeletal muscle in postmenopausal women: a randomized placebo-controlled study. **Clin Sci (Lond)**, 101: 147–157, 2001.

STAUBER, W.T.; MILLER, G.R.; GRIMMETT, J.G.; KNACK, K.K. Adaptation of rat soleus muscles to 4 wk of intermittent strain. **J Appl Physiol**, 1:58-62, 1994.

STAUBER, W.T.; WILLEMS, M.E.T. Prevention of histopathologic changes from 30 repeated stretches of active rat skeletal muscle by long inter-stretch rest times. **Eur J Appl Physiol**, 88, 94-99, 2002.

STONE, M.H. Implications for connective tissue and bone alterations resulting from resistance exercise training. **Med Sci Sports Exerc**, 20(5):162-168, 1988.

STONE, M.; FLECK, S.; TRIPLETT, N.; KRAMER, W. Health and performance related potential of resistance training. **Sports Med**, 11: 210-213, 1991.

SWANK, A.M.; FUNK, D.C.; DURHAN, M.P.; ROBERTS, S. Adding weights to stretching exercise increases passive range of motion for healthy elderly. **J Strength Cond Res**, 2(17):374–378, 2003.

SWOAP, S.J.; HUNTER, R.B.; STEVENSON, E. J.; FELTON, H.M.; KANSARA, N.V.; LANG, STEWART, C.E. & RITTWEGER, J. Adaptative processes in skeletal muscle: molecular regulators and genetic influences. **J Muscul Neur Inter**, 6:73-86, 2006

TABARY, J.C.; TABARY, C.; TARDIEU, C.; TARDIEU, G.; GOLDSPINK, G. Physiological and structural changes in the cat's soleus muscle due to immobilization at different lengths by plaster casts. **J Physiol**, 224: 231-244, 1972.

TAKALA, T.E.; VIRTANEN, P. Biochemical composition of muscle extracellular matrix: the effect of loading. **Scand J Med Sci Sports**, 10(6):321-325, 2000.

TAMAI, K.; KUROKAWA, T.; MATSUBARA, I. In situ observation of adjustment of sarcomere length in skeletal muscle under sustained stretch. **Nip Seikeig Gakkai Zas**, 63:1558-1563, 1989.

TARDIEU, C.; TABARY, J.C.; TABARY, C. Huet De La Tour E. Comparison of the sarcomere number adaptation in young and adult animals. **J Physiol**, 73:1045-1055, 1977.

TAYLOR, D.C.; DALTON, J.D.; SEABER, V.; GARRETT, W.E. Viscoelastic properties of muscle-tendon units: The biomechanical effects of stretching. **Am J Sports Med**, 18(3):300-8, 1990.

TAYLOR, N.A.; SANDERS, R.H.; HOWICK, E.I.; STANLEY, S.N. Static and dynamic assessment of the biodex dynamometer. **Eur J App Physiol**, 62(3):180-8, 1991.

TE VELDE, E.R.; PEARSON, P.L. The variability of female reproductive ageing. **Hum Reprod Update**, 8:141 – 154, 2002.

THOMAS, M.; LANGLEY, B.; BERRY, C.; SHARMA, M.; KIRK, S.; BASS, J.; KAMBADUR, R. Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. **J Biol Chem**, 275:40235–43, 2000.

TIIDUS, P.M.; HOLDEN, D.; BONBARDIER, E.; ZAJCHOWSKI, S.; ENNS, D.; BELCASTRO, A. Estrogen effect on post exercise skeletal muscle neutrophil infiltration and cal pain activity. **Can J Physiol Pharmacol**, 79(5):400-6, 2001.

TIMSON, B. F. Evaluation of animal models for the study of exercise-induced muscle enlargement. **J Appl Physiol**, 69 (6): 1935-1945, 1990.

TOLOSA, E.M.C.; RODRIGUES, C.J.; BEHMER, O. A.; FREITAS, A.G.N. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 2ed. Editora Manole, São Paulo, Brasil.Pp:120, 2003.

VALE R.G.S.; ARAGÃO, J.C.; DANTAS, E.H.M. A flexibilidade na autonomia funcional de idosas independentes. **J Fit Perform**, 1: 23-29, 2003.

VAN, DER HEIDE, L.P.; HOEKMAN, M.F. & SMIDT, M.P. The ins and outs of FOXO shuttling: mechanisms of FOXO translocation and transcriptional regulation. **J Biochem**, 380:297-309. 2004.

VENOJARVI, M.; KVIST, M.; ATALAY, M.; JOZSA, L.; KALIMO, H. Recovery from immobilization: responses of fast-twitch muscle fibres to spontaneous and intensive exercise in rat calf muscles. **Pathophysiol**, 11(1):17-22, 2004.

VERDIJK, L.B.; KOOPMAN, R.; SCHAART, G.; MEIJER, K.; SAVELBERG, H.H.C.M.; VAN LOON, L.J.C. Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, 292: E151-E157, 2007.

VERMAELEN, M.; SIVEBT, P.; RAYNAUD, P.; ASTIER, C.; MERCIER, J.; LACAMPAGNE, A.; CAZORLA, O. Differential localization of autolyzed calpains 1 and 2 in slow and fast skeletal muscles in the early phase of atrophy **American Journal of Physiology. Cell Physiology**, United States, v. 292, n. 6, p. C1723-C1731, 2007.

VOORHUIS, M.; ONLAND-MORET, N.C.; VAN DER SCHOUW, Y.T.; FAUSER, B.C.; BROEKMANS, F.J. Human studies on genetics of the age at natural menopause: a systematic review. **Hum Reprod Update**, 16:364 – 377, 2010.

YANG, H.; ALNAQEEB, M.; SIMPSON, H.; GOLDSPINK, G. Changes in muscle fibre type, muscle mass and IGF-I gene expression in rabbit skeletal muscle subjected to stretch. **J Anat**, 190 (4): 613-622, 1997.

WALSH, F.S.; CELESTE, A.J. Myostatin: a modulator of skeletal-muscle stem cells. **Biochem Soc Trans**, (Pt 6), 1513-7, 2005.

WEISS T.W.; SIRIS, E.S.; BARRETT-CONNOR, E.; MILLER, P.D.; MCHORNEY, C.A. Osteoporosis practice patterns in 2006 among primary care physicians participating in the NORA study. **Osteoporos Int**, 18(11):1473-80, 2007.

WELSH, G.I.; MILLER, C.M.; LOUGHLIN, A.J.; PRICE, N.T.; PROUD, C.G. Regulation of eukaryotic initiation factor eIF2B: glycogen synthase kinase-3 phosphorylates a conserved serine which undergoes dephosphorylation in response to insulin. **FEBS Lett**, 421(2):125-30, 1998.

WENTWORTH, B. M.; DONOHUE, M.; ENGERT, J. C.; BERGLUND, E. B. and ROSENTHAL, N. Paired myo-D-binding sites regulate myosin light chain gene expression. **Proc Natl Acad Sci USA**, 88:1242-1246, 1991.

WEPPLER, C.H.; MAGNUSSON, S.P. Increasing muscle extensibility: a matter of increasing length or modifying sensation. **Phys Ther**, 90(3):438-449, 2010.

WERNIG, A.; SALVINI, T.F.; IRINTCHEV, A. Axonal sprouting and changes in fibre types after running-induced muscle damage. **J Neurocytol**, 20: 903-913, 1991.

WILLIAMS, P.E. Effect of intermittent stretch on immobilized muscle. **Ann Rheum Dis**, 47(12):1014-1016, 1988.

WILLIAMS, P.E.; GOLDSPINK, G. Longitudinal growth of striated muscle fibres. **J Cell Sci**, 9: 751-761, 1971.

WILLIAMS, P.E.; GOLDSPINK, G. The effect of immobilization on the longitudinal growth of striated muscle fibres. **J Anat**, 116: 45-55, 1973.

WILLIAMS, P.E. Use of intermittent stretch in the prevention of serial sarcomere loss in immobilised muscle. **Ann Rheum Dis**, 49: 316-317, 1990.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D.L. **Fisiologia do esporte e do exercício**. Editora Manole, 2001.

WOLFMAN, N.M.; MCPHERRON, A.C.; PAPPANO, W.N.; DAVIES, M.V.; SONG, K.; TOMKINSON, K.N.; WRIGHT, J.F.; ZHAO, L.; SOBALD, S.M.; GEENSPAN, D.S.; LEE, S.J. Activation of latent Myostatin by the BMP-1/tolloid family of metalloproteinases. **Proc Natl Acad Sci**, 100:15842-6, 2003.

ZAKAS, A.; BALASKA, P.; GRAMMATIKOPOULOU, M.G. Acute effects of stretching duration of range of motion of elderly woman. **J Bodywork Mov Ther**, 9:270-276, 2005.

ZARZHEVSKY, N.; COLEMAN, R; VOLPIN, G.; FUCHS, D.; STEIN, H.; REZNICK, A. Z. Muscle recovery after immobilization by external fixation. **J Bone Joint Surg (Br.)**, 81-B: 896-901, 1999.

ZEMKOVÁ, H.; TEISINGER, J.; ALMON, R.R.; VEJSADA, R.; HNÍK, P.; VYSKOCIL, F. Immobilization atrophy, and membrane properties in rat skeletal. **Pflügers Arch Eur J Physiol**, 16: 126-129, 1990.

ZHONG, S.; CHEN, C.N.; THOMPSON, L.V. Sarcopenia of Ageing: Functional, Structural and Biochemical Alterations. **Rev Bras Fis**, 11:91-97, 2007.

ZOIS, C.E.; TOKMAKIDIS, S.P.; VOLAKLIS, K.A.; KOTSA, K.; TOUVRA, A.M.; DOUDA, E.; YOVOS, I.G. Lipoprotein profile, glycemic control and physical fitness after strength and aerobic training in post-menopausal women with type 2 diabetes. **Eur J Appl Physiol**, 106 : 901 – 907, 2009.

ZOPPI, C.C. Mecanismos moleculares sinalizadores da adaptação ao treinamento físico. **Rev Saúde Com**, 01 (01):60-70, 2005.

ANEXOS

**ANEXO I - Parecer CEEA
PUC**



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

NÚCLEO DE BIOÉTICA
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

PARECER DE PROTOCOLO DE PESQUISA

Parecer nº: 203.07 CEUA PUCPR
Registro do projeto no CEUA: 257 2ª versão

Data do parecer: 09/11/2007

Título do Projeto:

O efeito do alongamento e do exercício contra resistido no músculo esquelético de ratas osteopênicas

Pesquisador responsável:

Ana Paula Cunha Loureiro

Equipe da pesquisa:

Anna Raquel Silveira Gomes; Ana Claudia Muniz Renno.

Instituição:

PUCPR

Categoria do Experimento - B

Espécie de Animal	Sexo	Idade ou peso	Quantidade
Rato Wistar	F	8 semanas, 250g	30

O colegiado do CEUA em reunião no dia 08/11/2007, avaliou o projeto e emite o seguinte parecer: **APROVADO.**

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEUA-PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do

ⓧ

pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEUA em qualquer tempo.

Lembramos ao senhor pesquisador que é obrigatório encaminhar o relatório anual parcial e relatório final da pesquisa a este CEUA.

Curitiba, 9 de novembro de 2007

Atenciosamente

Profa. Graçinda Maria D'Almeida e Oliveira
Coordenadora do CEUA
PUC PR



ANEXO II – Parecer do CEEA UFPR



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comitê de Ética em Experimentação Animal
(CEEA)



Nº 444

CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, instituído pela PORTARIA Nº 787/03-BL, de 11 de junho de 2003, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEEA, estabelecidas pela RESOLUÇÃO Nº 01/03-BL, de 09 de maio de 2003 e considerando o contido no Regimento Interno do CEEA, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado, estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

CERTIFICATION

The Ethics Animal Experiment Committee of the Setor de Ciências Biológicas of the Federal University of Paraná, established by the DECREE Nº 787/03-BL on June 11th 2003, based upon the RESOLUTION Nº 01/03-BL from May 9th 2003, and upon the CEEA internal regiment, CERTIFIES that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the ethical principals established by the Experimental Animal Brazilian Council (COBEA), and with the requirements of the "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

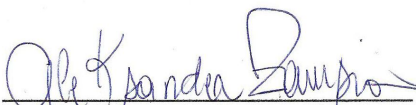
PROCESSO: 23075.010217/2010-30

APROVADO: 06/05/2010 – R.O. 04/2010

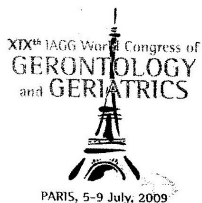
TÍTULO: O efeito do alongamento e do exercício contra resistido no músculo esquelético de ratas osteopênicas

AUTORES: Anna Raquel Silveira Gomes, Julye Ywazai, Ana Paula Loureiro, Ana Carolina Brandt de Macedo, Claudia Eliana Marino Zarbin, Tatiana Cidral da Costa, Viviane Prosdócimo

DEPARTAMENTO: UFPR Litoral


Prof. Dr. Aleksander Roberto Zamprônio
Coordenador do CEEA

ANEXO III – Produção Científica no período (março/10 à março/ 12)



**19th IAGG World Congress of
Gerontology and Geriatrics
Paris, 5 - 9 July 2009**



**CERTIFICATE FOR
POSTER PRESENTATION**

Anna Raquel Silveira Gomes

We hereby certify that the above mentioned author presented the following poster:

PB8 315

**THE EFFECT OF STRETCHING AND PROGRESSIVE LOADING EXERCISES IN THE
BODY WEIGHT OF OSTEOPENIC FEMALE RATS**

Loureiro Ana Paula Cunha, Anna Raquel Silveira Gomes, Ana Claudia Renno, Juley Leiko Iwazaki, Talita Gianello Gnoato, Camila Bressan, Paulo Roberto Nenevê, Rafaella Ribas Locks,

during the 19th IAGG World Congress of Gerontology and Geriatrics, held in Paris from July 5 to 9, 2009.

Paris, July 6, 2009

The Scientific Secretariat

19th IAGG World Congress of Gerontology and Geriatrics
c/o Colloquium
12, rue de la Croix-Faubin, 75557 Paris Cedex 11, France
Phone: +33(0)1 44 64 15 15
Fax: +33(0)1 44 64 15 16
E-mail: programme@gerontologyparis2009.com

CERTIFICADO

Conferido a

DOUGLAS V. NOBRE


por sua participação na XX Jornada Paranaense de Geriatria e Gerontologia, nos dias 9 e 10 de abril de 2010, em Curitiba/PR, na condição de

Autor(a) e Apresentador(a) do Pôster intitulado "O EFEITO DO ALONGAMENTO E DO TREINAMENTO RESISTIDO NO PESO CORPORAL E TROFISMO DO MÚSCULO SÓLEO DE RATAS"

Autor(es): JULYEL YWAZAKI; PAULO R. NENEVÉ; LUANA R. NASCIMENTO; TALITA G. GNOATO; ANA PAULA C. LOUREIRO; ANNA RAQUEL S. GOMES

Curitiba, 10 de abril de 2010.


Rodolfo Augusto Alves Pedrão
Presidente da SBGG/PR


Guilherme Falcão
Presidente do Departamento de Gerontologia da SBGG/PR


Melissa Mitsue M. Arantes Marinho
Secretária Geral da SBGG/PR