



9º Congresso de Pós-Graduação

PERFIL ENERGÉTICO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS SUPLEMENTADOS COM BCAA NA FASE AGUDA DA IMOBILIZAÇÃO

Autor(es)

JEFFERSON HISAMO KITAMURA

Co-Autor(es)

EDER JOÃO DE ARRUDA
ROSELENE CRISTINA TIBIOLI WATANABE
TAILA PENTEADO CHAVES

Orientador(es)

CARLOS ALBERTO DA SILVA

1. Introdução

A imobilização musculoesquelética, como recurso terapêutico, tem vasta aplicabilidade prática no campo da traumatologia e medicina desportiva, merecendo destaque nos entorses, fraturas ósseas, rupturas ligamentares, tendíneas e de outros tecidos moles. O princípio de sua indicação baseia-se sobre a contenção dos efeitos potencialmente algícos dos movimentos, bem como ser um instrumento para possibilitar e facilitar a cicatrização dos tecidos danificados, ou seja, visa permitir que estes tecidos possam atravessar as fases do processo de reparo sem interferências externas (URSO, 2009).

Por outro lado, a imobilização pode desencadear uma série de alterações adaptativas nos sistemas orgânicos que se traduzem em perda funcional global e/ou local, comprometendo o tempo de retorno do indivíduo às suas atividades normais. Assim, no sistema músculo-esquelético, a redução da massa muscular e óssea são os efeitos mais marcantes do processo deletério do desuso (CLARK, 2009).

Tem sido descrito que durante a atividade motora prolongada, o tecido muscular capta aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA) disponíveis na corrente sanguínea, no intuito de oxidá-los. Após a ingestão de BCAA, pode-se notar melhora no desempenho muscular, decorrente de um mecanismo poupador de glicogênio (OTHANI et al, 2006).

Alguns estudos observaram os efeitos da suplementação de aminoácidos na recuperação muscular, visto que inúmeros efeitos têm sido atribuídos aos BCAA nas últimas décadas, com destaque a melhora nas respostas fisiológicas e psicológicas frente ao treinamento e desempenho (COOMBES E MCNAUGHTON, 2000).

É sabido que o exercício aumenta a oxidação de BCAA no músculo, podendo sua suplementação ser de grande interesse para atletas e esportistas, no entanto a leucina é vista como o aminoácido de maior importância na recuperação do tecido muscular, pós atividade física (SHIMOMURA et al, 2006; CROWE et al, 2006; NORTON E LAYMAN, 2006).

Sabe-se que a suplementação oral com BCAA, é capaz de elevar a concentração de aminoácidos, em especial do aminoácido leucina, que ao se apresentar em elevação intracelular, favorece a ativação da proteína mTOR (mammalian target of rapamycin) e de fatores de iniciação de transdução que, por sua vez, são responsáveis pela recuperação da síntese protéica muscular após o exercício tanto de resistência, quanto de força (Norton e Layman, 2006).

No intuito de investigar os efeitos do BCAA no tecido muscular sob os efeitos do desuso, o presente estudo atentou-se em avaliar o

padrão quimio-metabólico dos músculos; sóleo (S), gastrocnêmio fibras brancas (GB) e gastrocnêmio fibras vermelhas (GV) de ratos, com o tornozelo imobilizado na posição de 90° e suplementados com BCAA.

2. Objetivos

Investigar os efeitos do BCAA no tecido muscular sob os efeitos do desuso, o presente estudo atentou-se em avaliar o padrão quimio-metabólico dos músculos; sóleo (S), gastrocnêmio fibras brancas (GB) e gastrocnêmio fibras vermelhas (GV) de ratos, com o tornozelo imobilizado na posição de 90° e suplementados com BCAA.

3. Desenvolvimento

O estudo contou com aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFSCar, sob o Protocolo nº 010/2006. Foram utilizados ratos, Wistar com idade entre 3 a 4 meses. Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais (n=6), Controle, imobilizados, suplementados com BCAA 7 e Imobilizados suplementados com BCAA.

Amostras dos músculos sóleo, gastrocnêmio branco, gastrocnêmio vermelho, foram retiradas e encaminhadas para a determinação do conteúdo de glicogênio.

Como modelo de imobilização foi utilizado a órtese de metacrilato de etila segundo a proposta de Silva et al (2006).

Os grupos suplementados receberam o complexo de aminoácidos BCAA (Nutristore) na concentração de 9,2mg/100g/dia, por via oral durante 7 dias, conforme a proposta de Kobayashi et al. (2006).

Para determinação de concentração do glicogênio foi utilizado a técnica fenol sulfúrico proposta por Siu, Russeau e Taylor, (1970).

Para a análise estatística dos dados foi aplicado o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov seguido de ANOVA seguida do teste de Tukey. Em todos os cálculos foi fixado um nível crítico de 5%.

4. Resultado e Discussão

Primeiramente avaliou-se os efeitos ligados ao tratamento (suplementação) com BCAA, sendo observado aumento significativo nas reservas de glicogênio no grupo tratado, quando comparado ao controle, visto que o grupo tratado apresentou reservas de glicogênio 39% maiores no sóleo, 26% no gastrocnêmio porção branca e 29% no gastrocnêmio porção vermelha. Isso demonstra uma interferência benéfica nos ajustes metabólicos, a fim de potencializar a glicogenese (vide figura 1). Nesta condição, o peso do músculo sóleo também foi avaliado e não foi observada diferença, sendo que os valores foram 135,712,3mg e 137,871,6mg controle e tratado com BCAA respectivamente. Na sequência as reservas glicogênicas foram avaliadas nas diferentes condições experimentais, sendo que inicialmente comparou-se o grupo imobilizado com o controle. Nessa condição, observou-se que as reservas musculares foram significativamente reduzidas pelo desuso atingindo valores 48% menores no sóleo, 24% no gastrocnêmio porção brancas e 53% no gastrocnêmio porção vermelha, o que demonstra uma interface funcional entre a manutenção da atividade contrátil e a eficiência das vias metabólicas (vide figura 2). Outro fato a se destacar está relacionado ao peso do músculo sóleo imobilizado, que se apresentou reduzido durante a imobilização com expressão em valor de 36% menor, passando de 135,712,3mg no grupo controle para 86,61,9mg no grupo imobilizado.

Por fim, avaliou-se os efeitos da suplementação com BCAA durante o período de imobilização, sendo constatado elevação nas reservas glicogênicas do grupo imobilizado suplementado, quando comparado ao grupo que não recebeu o suplemento. Nesse sentido, observou-se valores 19% maiores no músculo sóleo, 18% no gastrocnêmio porção branca e de 12% no músculo gastrocnêmio porção vermelha, conforme demonstrado na figura 3. Em relação ao peso do músculo sóleo, constatou-se o valor de 7,6% maiores no grupo suplementado, com base nos valores de 86,61,9mg no grupo imobilizado e 93,72,2mg no grupo imobilizado suplementado. Durante o período de imobilização na posição de 90°, observou-se redução nas reservas de glicogênio dos músculos imobilizados, sendo essa redução mais proeminente no sóleo e no gastrocnêmio fibras vermelha, ou seja, músculos predominantemente de fibras do tipo I. O peso do músculo sóleo imobilizado nesta posição também se apresentou reduzido quando comparado ao controle.

As alterações histo-fisiológicas induzidas pelo desuso muscular têm sido demonstrada por diversos autores, no entanto os resultados são contraditórios descrevendo graus diferenciados de susceptibilidade à hipotrofia. Já houve relatos que durante a imobilização as

fibras brancas (tipo II) são as mais comprometidas com a hipotrofia (JAFFE et al., 1978; MCDOUGALL et al., 1980).

Em contra partida há estudos demonstrando que as fibras musculares lentas (tipo I) possuem maior vulnerabilidade à atrofia que as fibras musculares rápidas (tipo II), devido a diferenças em seu metabolismo (HESLINGA et al.; 1995), seguindo a observação de que as enzimas oxidativas respondem por meio de sua atividade durante a imobilização, sugeriu-se que as fibras musculares que possuem um metabolismo predominantemente oxidativo (tipo I), foram mais susceptíveis a atrofia muscular (APPEL, 1990). O presente estudo corrobora com os achados supracitados, onde as reservas musculares durante o período de imobilização foram significativamente reduzidas pelo desuso atingindo valores 48% menores no sóleo, 24% no gastrocnêmio fibras brancas e 53% no músculo gastrocnêmio fibras vermelhas.

Além dos efeitos metabólicos, outro fator que influencia para que as fibras tipo I sejam as mais afetadas durante a imobilização, são suas características posturais. Ploug et al. (1995) relacionaram a maior susceptibilidade do sóleo à atrofia por inatividade pelo fato de que trata-se de um músculo postural e esse apresenta uma atividade basal maior do que os não posturais.

Estudos relatam que os músculos considerados antigravitacionais, os uniarticulares e os que possuem maior proporção de fibras lentas são os mais vulneráveis a atrofia induzida pelo desuso muscular (LIEBER, 2002).

Segundo Qin et al. (1997) a imobilização por diferentes períodos resulta em atrofia variando de 15% a 70%, dependendo dos animais utilizados e das fibras avaliadas. Gomes et al. (2004), observaram redução de 43% da área da fibra do músculo sóleo imobilizado durante 3 semanas. Kanus et al., (1998), relataram redução de 69% da área das fibras desse músculo imobilizados por meio de aparelho gessado durante 3 semanas.

O presente estudo demonstrou que o peso do músculo sóleo do grupo imobilizado (tornozelo) em posição de 90°, apresentou redução de 36% decorrente de 7 dias de imobilização, concordando com o estudo de Durigan et al. (2005), onde a imobilização do músculo durante 15 dias promoveu redução de 35% de na área das fibras musculares, seguida de aumento de 160% do tecido conjuntivo e redução nas reservas de glicogênio muscular, demonstrando uma inter-relação entre a atividade contrátil com a homeostasia energética e a morfologia da fibra muscular, indicando para o quadro de hipotrofia muscular.

Além destes achados outros autores como Józsa et al. (1990), Williams e Goldspink, (1984), Okita et al. (2004), Amiel et al. (1982); relataram proliferação de tecido conjuntivo, desarranjo das fibras de colágeno, redução no comprimento dos sarcômeros e da amplitude articular no músculo sóleo de ratos imobilizados na posição encurtada de tornozelo.

Por fim, ressalta-se que durante o período de imobilização, a suplementação com BCAA foi importante por apresentar aumento significativo nas reservas de glicogênio muscular e no peso do músculo sóleo, visto que esses indicadores apresentaram relação positiva quanto ao número de fibras musculares, sugerindo que o tratamento com BCAA, possa manter o trofismo muscular durante o período de imobilização.

5. Considerações Finais

A suplementação com BCAA foi efetiva em manter o status nutricional dos músculos imobilizados, indicando eficácia, mantendo os músculos em melhores condições energéticas, além de demonstrar uma ação anti-catabólica, fato este que pode favorecer uma reabilitação acelerada na fase pós- imobilização.

Referências Bibliográficas

1. URSO, M.L. Disuse Atrophy of Human Skeletal Muscle: Cell Signaling and Potential Interventions. *Med Sci Sports Exerc.* v. 2, n. 41, p.1860-1868, 2009.
2. CLARK, B.C. In vivo alterations skeletal muscle form and function after disuse atrophy. *Medicine e Science in Sports e Exercise.* v. 41, p.1869-1875, 2009.
3. AKIMA, H.; HOTTA, N.; SATO, K.; ISHIDA, K.; KOIKE, T.; KATAYAMA, K. Circle ergometer exercise to counteract muscle atrophy during unilateral lower limb suspension. *Aviat Space Environ Med.* v.80, p. 6-652, 2009.
4. HIROSE, M.; KANEKI, M.; SUGITA, H.; YASUHARA, S.; MARTYN, J.A. Immobilization depresses insulin signaling in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* v. 279, n.6, p. 41-1235, 2000.
5. OTHANI, M.; SUGITA, M.; MARUYAMA, K. Amino acid mixture improves training efficiency in athletes. *J. Nutr.* v.136, p.538-543, 2006.
6. COOMBES, J.S.; MCNAUGHTON, L.R. Effects of branched-chain amino acid supplementation on serum creatine Kinase and lactate dehydrogenase after prolonged exercise. *J. Sports Med. Phys. Fitness.* v. 40, p. 240-246, 2000.

7. SHIMOMURA, Y.; YAKEMOTO, Y.; BAJOTTO, G.; SATO, J. MURAKAMI, T.; SHIMOMURA, N.; KOBAYASHI, H. MAWATARI K. Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle. *J. Nutr.* 2006; 136: 529-532.
8. NORTON, L.E. E.; LAYMAN, D.K. Leucine regulates translation initiation of protein synthesis in skeletal muscle after exercise. *J. Nutr.* v.136, p. 533-537, 2006.
9. CROWE, M.J.; WEATHERSON, J.N.E.; BOWDEN, B.F. Effects of dietary leucine supplementation on exercise performance. *Eur. J. Appl. Physiol.* v.97 p. 664-672, 2006.
10. SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J.; POLACOW, M.L.O.; DURIGAN, J.L.Q. Proposal for rat hindlimb joint immobilization: orthosis with acrylic resin model. *Br. J. Med. Biol. Res.* v.39, p. 979-85, 2006.
11. KOBAYASHI, H.K.; KATO, H.; HIRABAYASHI, Y.; MURAKAMI, H.; SUZUKI H. Modulation of muscle protein metabolism by branched-chain amino acids in normal and muscle-atrophying rats. *J. Nutr.* v. 136, p. 234-236, 2006.
12. SIU, L.O.; RUSSEAU, J.C.; TAYLOR, A.W. Determination of glycogen in small tissue samples. *J. Appl. Physiol.* v. 28, n. 2, p. 234-236, 1970.
13. BOSCHERO, A.C. Acoplamento excitação-secreção nas células B pancreáticas. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 40, 55-149, 1996.
14. KOSTER, J.C.; Permutt, M.A.; Nichols, C.G. Diabetes and insulin secretion: the ATP-sensitive k⁺ channel (katp) connection. *Diabetes.* v.54, n.11, p. 3065-3072, 2000.
15. JAFFE, D.M.; TERRY, R.D.; SPIRO, A.J. Disuse atrophy of skeletal muscle. A morphometric study using image analysis. *J. Neurol. Sci.* v. 35, p.189-200, 1978
16. MCDUGALL, J.D.; ELDER, G.C.B.; SALE, D.C.; MOROZ, J.R.; SUTTON, J.R. Effects of strength training and immobilization on human muscle fibers. *Eur. J. Appl. Physiol.* v. 43, p.25-34, 1980.
17. HESLINGA, H.J.; KRONNIE, G.; HUIJING, P.A. Growth and immobilization effects on sarcomeres: a comparison between gastrocnemius and soleus muscles of the adult rat. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* v.70, p. 49-57, 1995.
18. APPELL, H.J. Muscular atrophy following immobilization. *Sports Med.*v. 7, p.42-58, 1990.
19. PLOUG, T.; OHKUWA, T. HANDBERG, A. VISSING, J.; GALBO, H. Effect of immobilization on glucose transport and glucose transporter expression in rat skeletal muscle. *Am J Physiol.* v. 268, p. 980-986, 1995.
20. LIEBER, R.L. Skeletal muscle structure, function, and plasticity, the physiological basis of rehabilitation. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott. 2002.
21. QIN, L.; APPELL, H.J.; CHAN, K.M. MAFFULLI, N. Electrical stimulation prevents immobilization atrophy in skeletal muscle of rabbits. *Arch Phys Med Rehabil.*; v. 78, p. 7-512, 1997.
22. GOMES, M.R.; TIRAPEGUI, J. Relação de alguns suplementos nutricionais e o desempenho físico. *Arch. Latinoam.* v.50, p.317-329, 2000.
23. KANNUS, P.; JOZSA, L.; JARVINEN, T.L. KVIST, M.; VIENO, T.; JARVINEN. T.A. Free mobilization and low- to high-intensity exercise in immobilization-induced muscle atrophy. *J Appl Physiol.* v. 84, n. 4, p. 24-1418, 1998.
24. DURIGAN, J.L.D.; CANCELLIERO, K.M.; POLACOW, M.L.O.; SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J. Modelos de desuso muscular e estimulação elétrica neuromuscular: aspectos pertinentes à reabilitação. *Fisio Mov.* v. 18, n.4, p. 53-62, 2005.
25. JÓZSA, L.; KANNUS, P.; THORING, J.; REFFY, A.; JARVINEN, M. KVIST M. The effect of tenotomy and immobilization on intramuscular connective tissue. *J Bone Joint Surg.* v.72, p. 293-7, 1990.
26. WILLIAMS, P.E.; GOLDSPINK, G. Connective tissue changes in immobilized muscle. *J Anat.* v.138, p. 343-504,1984.
27. OKITA, M.; YOSHIMURA, T.; NAKANO, J.; MOTOMURA, M.; EGUCHI, K. Effects of reduced joint mobility on sarcomere length, collagen fibril arrangement in the endomysium, and hyaluronan in rat muscle. *J Muscle Res Cell Motil.*; v.25, p. 66-159, 2004.
28. AMIEL, D.; WOO, S.L.Y.; HARWOOD, F.L.; AKESON, W.H. The effect of immobilization on collagen turnover in connective tissue: a biochemical-biomechanical correlation. *Acta orthop scan.* v. 53, p. 325-332, 1982.

Anexos

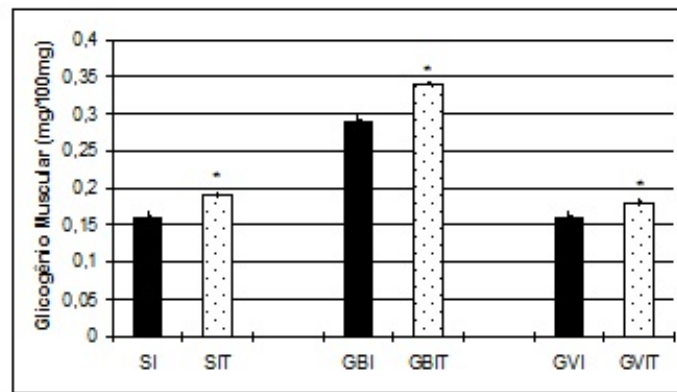


Figura 3 - Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) dos músculos sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (GB) e gastrocnêmio porção vermelha (GV) de ratos imobilizados (I) e imobilizados tratados (IT). Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao grupo imobilizado.

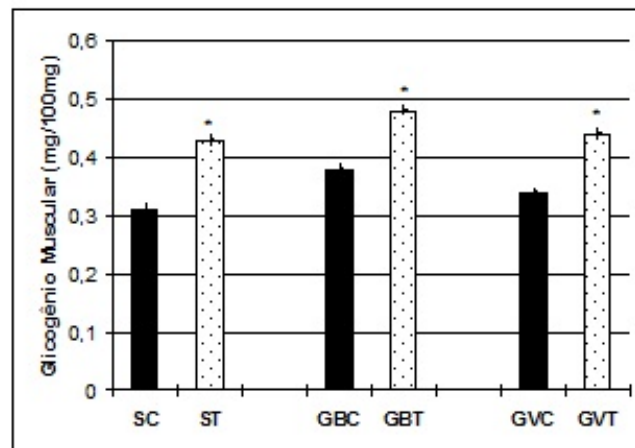


Figura 1 - Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) dos músculos sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (GB) e gastrocnêmio porção vermelha (GV) de ratos controle (C) suplementados com BCAA (T). Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.

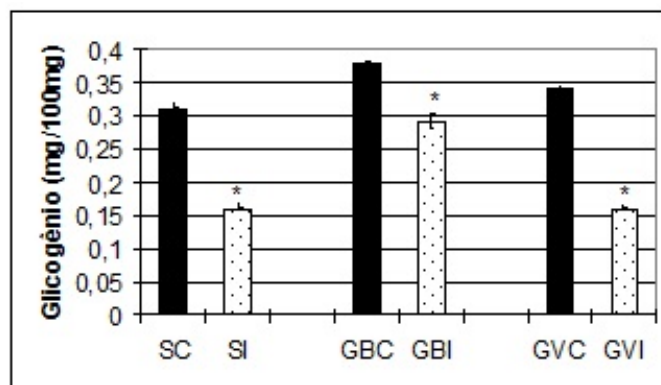


Figura 2 - Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) dos músculos sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (GB) e gastrocnêmio porção vermelha (GV) de ratos controle (C) e imobilizados (I). Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.