



e-ISSN 2446-8118

SUPLEMENTAÇÃO CONTENDO NUCLEOTÍDEOS MODIFICA AS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E MORFOMÉTRICAS GERADAS PELA IMOBILIZAÇÃO: ESTUDO EM RATOS

101

SUPPLEMENTATION CONTAINING NUCLEOTIDE MODIFIES THE METABOLIC AND MORPHOMETRIC ALTERATIONS GENERATED BY IMMOBILIZATION: STUDY IN MALE RATS

LA SUPLEMENTACIÓN QUE CONTIENE NUCLEÓTIDO MODIFICA LAS ALTERACIONES METABÓLICAS Y MORFOMÉTRICAS GENERADAS POR LA INMOBILIZACIÓN: ESTUDIO EM RATAS

Carlos Alberto Silva¹
Rafael Francisco Bonito Souza²
Verena Gottaderlio Marafon³
Allison Ferreira Souza⁴
Heron Soares Santos⁵

RESUMO: Foi avaliado as ações da suplementação com nucleotídeos na imobilização de membro pélvicos de ratos (IM), buscando identificar se há influência em aspectos metabólicos ou morfométricos. Utilizou-se ratos machos divididos nos grupos: controle (C), tratados com o suplemento (T; NUCLEOCELL, 4 mg/dia por 7 dias), imobilizados (I) e imobilizados tratados (IT). Os parâmetros analisados foram: massa corporal (M); conteúdo muscular de glicogênio (GLI), relação proteína total/DNA (PT/DNA), teste de tolerância à insulina (ITT) e área de secção transversa (AST). Na estatística utilizou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov, ANOVA e Tukey, $p < 0,05$. Resultados mostraram que não houve diferença na M nas diferentes condições C e T, por outro lado, a IM promoveu redução na relação PT/DNA do músculo sóleo, condição minimizada pelo tratamento. Com relação ao GLI, houve redução decorrente da IM e melhora significativa após tratamento com o Nucleocell. Na análise do ITT foi verificado que o tratamento promoveu aumento. Por sua vez, a AST foi reduzida no grupo I, sendo a perda de M minimizada devido ao tratamento, evento expresso no grupo T e pela maior relação PT/DNA. Os resultados indicam que o suplemento, minimizou as respostas deflagradas pela imobilização.

DESCRITORES: Nucleotídeos; Atrofia Muscular; Morfometria.

ABSTRACT: Was evaluated the actions of nucleotide-containing supplementation in the immobilization of the pelvic limbs of rats (IM), seeking to identify whether there is influence on metabolic or morphometric aspects. Male rats were divided into the groups: control (C), treated with

¹ Universidade Paulista – Departamento de Ciências da Saúde.

² Universidade paulista – ICS – Medicina Veterinária.

³ Universidade Paulista – Medicina Veterinária.

⁴ Universidade paulista – ICS – Medicina Veterinária.

⁵ Uniso – Sorocaba.

the supplement (T; NUCLEOCELL, 4 mg / day for 7 days), immobilized (I) and immobilized treated (IT). The parameters analyzed were: Body Mass (BM); muscle glycogen content (GLY), total protein/DNA ratio (PT/DNA), insulin tolerance test (ITT) and cross-sectional area (AST). Statistical analysis was performed by Kolmogorov-Smirnov normality test, ANOVA and Tukey's test, $p < 0.05$. The results showed that there was no difference in BM in the different experimental conditions; on the other hand, IM promoted a reduction in mass and PT / DNA ratio of the soleus muscle. Regarding the GLY, there was reduction due to IM and significant improvement after treatment with Nucleocell. In the analysis of the ITT, it was verified that the treatment promoted an increase. The morphometric analysis showed that the AST was reduced in the I group, the loss of M being minimized due to the treatment, an event represented by the AST of the T group and the higher PT / DNA ratio. The results indicate that the supplement minimized the responses triggered by immobilization

DESCRIPTORS: Nucleotides; Muscle Atrophy; Morphometry.

RESUMEN: Ha sido calificado las acciones de la suplementación con nucleótidos en la inmovilización de las extremidades pélvicas de ratas (INM) buscando identificar si existe influencia en los aspectos metabólicos o morfométricos. Las ratas macho dividieron en los grupos: control (C), tratados con el suplemento (T; NUCLEOCELL, 4 mg / día durante 7 días), inmovilizados (I) e inmovilizados tratado (IT). Los parámetros analizados fueron: Masa corporal (M); contenido de glucógeno muscular (GLI), proporción proteína/AND (PT/ADN), prueba de tolerancia a la insulina (ITT) y área de sección transversal (AST). Se realizó un análisis estadístico de la prueba Kolmogorov-Smirnov; ANOVA y Tukey, $p < 0,05$. Los resultados mostraron que no hubo diferencia en M en las condiciones C y T; la INM promovió una reducción en M y la relación PT/ADN del músculo sóleo, y fue minimizado por tratamiento. Con respecto al GLI, hubo una reducción debido a la INM y una mejora significativa después del T. En el análisis de ITT, se verificó que el tratamiento promovió un aumento. Por otro lado, el análisis morfométrico mostró que la AST se redujo en el grupo I, la pérdida de masa se minimizó debido al tratamiento, un evento representado por la AST del grupo T y la mayor relación PT / ADN. Los resultados indican que el suplemento minimizó las respuestas desencadenadas por la inmovilización.

DESCRIPTORES: Nucleótidos; Atrofia Muscular; Morfometría.

INTRODUÇÃO

Na literatura há muitas descrições sobre condições que desencadeiam lesão músculo esquelética nas quais, se utiliza a imobilização dos membros visando minimizar o tempo de recuperação. Em detrimento da lesão deflagram-se alterações metabólicas, estruturais e funcionais, representado pela diminuição da força e resistência muscular, elevação na proteólise e consequente atrofia¹. A atrofia muscular é um evento multifatorial gerado pela diminuição na atividade da placa motora, aumento das citocinas inflamatórias, redução na sensibilidade insulínica².

Procurando minimizar as alterações geradas no desuso e buscando proteger a homeostasia do sistema musculoesquelético, tem sido rotineiramente utilizadas diferentes protocolos no âmbito Fisioterapêutico,

ortopédico ou ainda estratégias nutricionais ligadas a diferentes suplementos. Cabe ressaltar que, intervenções precoces são essenciais para reduzir a proteólise e preservar as condições homeostáticas do tecido muscular esquelético³.

Poucos estudos se propuseram a discutir os efeitos de suplementos que possam alterar a homeostasia metabólica da musculatura imobilizada. Já foram avaliadas as ações da creatina sobre a imobilização de membros pélvicos de ratos e observou que os efeitos são seletivos onde as fibras do tipo II se beneficiariam mais do que as fibras do tipo I⁴. No mesmo sentido, foi demonstrado que a suplementação com leucina foi eficiente em minimizar as alterações metabólicas e estruturais geradas na imobilização sugerindo sua participação na manutenção na eficiência das reservas energéticas e vias responsáveis

pelo trofismo. A hipótese é que os nucleotídeos atuando como facilitadores da sinalização celular podem interagir com mensageiros reguladores de vias citosólicas que coordenam vias enzimáticas⁵.

Os nucleotídeos consistem na associação de bases nitrogenadas com uma pentose e grupos fosfatos, sendo os precursores do ácido desoxirribonucleico (DNA) e ribonucleico (RNA), sendo mediadores de respostas fisiológicas, componentes ligados a coenzimas ou sinalizadores intracelular.⁶ Desta forma, é sugestivo o fato que a suplementação nutricional contendo nucleotídeos possa estimular a síntese proteica bem como células satélites elevando o número de miócitos e consequentemente de fibras musculares.

Trabalhos direcionados a avaliação da suplementação com nucleotídeos, indicaram ações sobre o sistema imunológico e sugeriram que a suplementação com nucleotídeos pode ser importante em condições de imunossupressão. Cabe considerar que diferentes nucleotídeos podem atuar de forma distinta e propuseram que novos estudos devem ser realizados com foco em outros sistemas do organismo⁷.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as ações da suplementação com nucleotídeos sobre parâmetros metabólicos e morfométricos na musculatura esquelética submetida a imobilização.

MÉTODOS

Animais: Utilizou-se ratos machos da linhagem *Wistar* com 3 meses de idade e massa corpórea média de 298 ± 6 g determinada com balança marca Filizola ®. Os ratos foram alojados em gaiolas coletivas contendo 4 animais em sala climatizada (23 ± 2 °C) com ciclo claro/escuro de 12/12 h recebendo água e ração à vontade. Este estudo foi aprovado pela CEUA/UNIMEP sob protocolo 09/2018.

Grupos experimentais: Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos (n=6 por grupo) denominados: Grupo Controle (C); Grupo Imobilizado (I); Grupo suplementado com nucleotídeos denominado Nucleocell (T); Grupo imobilizado suplementado com nucleotídeos denominado Nucleocell (IT). Na imobilização utilizou-se o modelo de órtese de resina acrílica, conforme figura 1 permanecendo por 7 dias. A adaptação da órtese ocorreu após anestesia com Dopalen® (Cloridrato de Cetamina) 0,09 mL/100g e Rompun® (Cloridrato de Xilazina) 0,06 mL/100g por massa corporal em uma proporção de 3:2, via intramuscular. Os animais foram tratados com suplemento contendo 16% de nucleotídeos (Nucleocell, marca Sponser®), administrado pela via orogástrica na concentração de 4 mg/100g/dia durante 7 dias. Cabe ressaltar que no texto, o termo suplementado indica o tratamento com nucleotídeos na dose citada anteriormente.

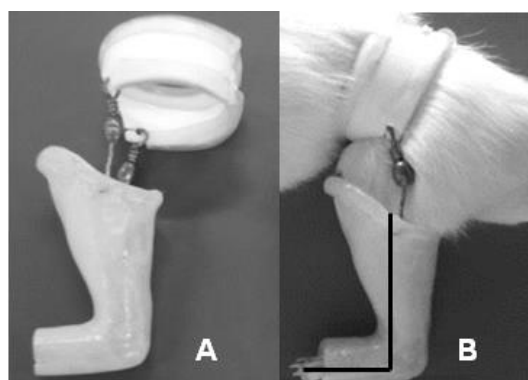


Figura 1. Modelo de órtese utilizado na imobilização. Em A pode ser observado órtese e a figura B mostra a órtese adaptada ao corpo do animal de acordo com a proposta de Silva *et al.*, (2006).

Procedimentos: Após os 7 dias experimentais, os animais foram decapitados e coletadas amostras do fígado, dos músculos

sóleo, gastrocnêmio branco e gastrocnêmio porção vermelha, foram coletadas e encaminhadas para avaliação bioquímica e

morfológica. O músculo sóleo foi pesado, em seguida, o seu segmento ventral foi colocado em solução tamponada em formol a 10% para a fixação. Após 48 horas de fixação as peças foram desidratadas em álcool etílico, diafanização em xilol sendo incluídas em paraplast. Foram realizados cortes transversais não seriados de 7 µm de espessura e corados em Hematoxilina-Eosina (H:E). Para análise da área das fibras musculares foram selecionados 5 cortes por animal e para cada um, realizado 5 capturas de imagens através de um software chamado de Image Pró-Plus 4.5 e uma câmera digital (JVC) acoplada a um microscópio com ligação ao computador. As imagens foram captadas com uma resolução de 640x480 pixels com uma objetiva de 10x visualizada em uma área de tela (área frame) de 190.464,12 µm². Realizou-se 15 interseções aleatórias analisando-se a área de secção transversa de 375 fibras musculares. Na determinação das reservas hepáticas e musculares de glicogênio, utilizou-se o método do fenol sulfúrico e no teste de tolerância a insulina (ITT) foi utilizado glicosímetro (Accu-check® - Roche), por sua vez, na

determinação da relação proteínas totais/DNA foi utilizado KIT de uso laboratorial (Sigma diagnostic). A análise estatística foi realizada inicialmente pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov seguido de ANOVA e teste de Tukey, p<0,05.

RESULTADOS

Na avaliação da massa corporal não foi observado diferença entre os grupos experimentais, estando assim representados: 300 ± 11 g no grupo C; 293 ± 12 g no grupo I; 300 ± 14 g no grupo T e 291 ± 13 g no grupo IT. A seguir, foi avaliado a massa do músculo sóleo, tendo como parâmetro anatômico seu limite facilmente definido e foi observado que frente na imobilização houve redução de 42% na massa muscular. Cabe ressaltar que, o tratamento com o suplemento não modificou a massa do músculo normal, porém, no grupo IT foi observado massa 28% maior, se comparado ao I. Porém, ainda ficou 25% menor que o C (tabela 1).

Tabela 1. Massa (mg) e relação proteína total/ DNA (mg/100mg) do músculo sóleo nos grupos: controle (C), Imobilizado (I), Tratado com nucleotídeos (T) e Imobilizado tratado com nucleotídeos (IT). Os valores correspondem a média ± dp, n=6. *p<0,05 comparado ao C; #p<0,05 comparado ao grupo I.

	C	I	T	IT
Massa (mg)	120 ± 12	70 ± 10*	130 ± 15	90 ± 11*.#
PT/DNA (mg/100mg)	0,8 ± 0,05	0,4 ± 0,04*	0,9 ± 0,03	0,6 ± 0,02*.#

Na avaliação morfométrica foi determinado a área de secção transversa (AST) das fibras do músculo sóleo sendo verificado que a imobilização induziu redução de 66% na AST. Neste sentido, destaca-se que o tratamento de músculos normais com o suplemento não modificou a AST, por outro lado, no grupo IT, a AST foi 88% maior, se comparado ao grupo I, indicando menor perda de massa muscular (figura 2). A figura 3 contém as imagens das lâminas histológicas obtidas nos diferentes grupos experimentais.

Para avaliar o número de mionúcleos, foi determinada a relação proteína total/DNA nas mesmas condições supra citadas sendo

verificado que houve redução de 50% nesta relação devido a imobilização, não havendo diferença entre os grupos C e T, e de forma similar ao observado na massa, o grupo IT apresentou relação PT/DNA 50% maior se comparado ao grupo imobilizado, indicando menor perda de fibras indicadas pelo número de mionúcleos (tabela 1).

Na análise das reservas glicogênicas musculares (RG) foi verificado que a imobilização promoveu redução atingindo 34% no sóleo, 43% no gastrocnêmio porção branca e 38% no gastrocnêmio porção vermelha. O mesmo perfil de análise realizada nos músculos suplementados demonstrou elevação de 60% nas RG do sóleo, 48% no

gastrocnêmio porção branca e 30% no gastrocnêmio porção vermelha. Por sua vez, no grupo IT foi verificado que a elevação nas RG atingiu 68% no sóleo e gastrocnêmio porção

branca e 45,8% no gastrocnêmio porção vermelha, se comparado ao grupo I, como mostra a figura 4.

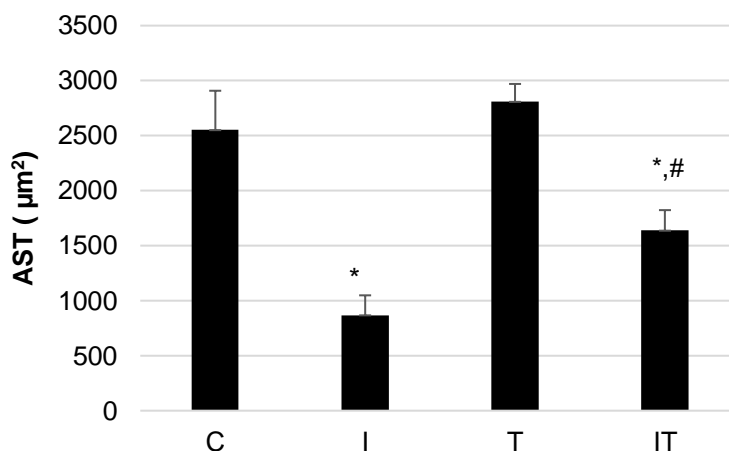


Figura 2. Área de secção transversa (AST, µm²) das fibras do músculo sóleo nos grupos: Controle (C), Imobilizado (I), Suplementado com nucleotídeos (T) e Imobilizado suplementado com nucleotídeos (IT). Os valores correspondem a média ± dp, n=8. *p<0,05 comparado ao C; #p<0,05 comparado ao grupo I.

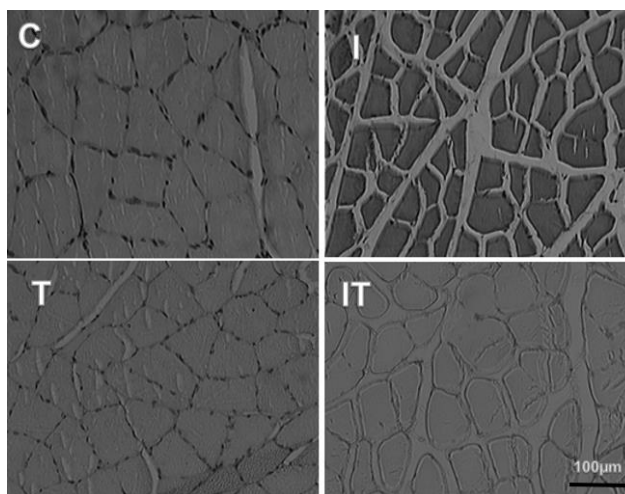


Figura 3. Área de secção transversa (AST) do músculo sóleo dos grupos Controle (C); Imobilizados (I); Suplementado com nucleotídeos (T); Imobilizado Suplementado com nucleotídeos (IT). Aumento de 10x (barra = 100 µm).

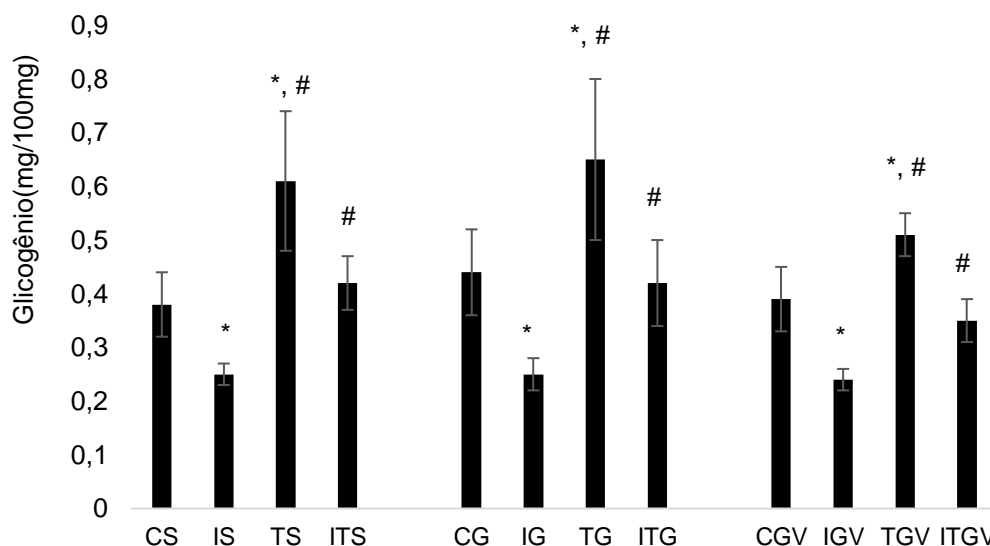


Figura 4. Concentração muscular de glicogênio (mg/100mg) no músculo sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (G), gastrocnêmio porção vermelha (GV) nos grupos: controle (C), Imobilizado (I), Tratado com nucleotídeos (T) e Imobilizado tratado com nucleotídeos (IT). Os valores correspondem a média \pm dp, n=8. * $p < 0,05$ comparado ao grupo C; # $p < 0,05$ comparado ao grupo I.

Para dirimir a dúvida quanto à possibilidade do tratamento com o suplemento contendo nucleotídeos, promover modificações na sensibilidade tecidual a insulina, foi realizado o teste de tolerância à insulina (ITT) sendo verificado que o grupo suplementado apresentou aumento de 15% na velocidade de decaimento da glicemia, representado por $8,73 \pm 0,1$ %/min no grupo C e $9,78 \pm 0,1$ %/min no grupo T. Um fato importante a se considerar, é que a glicemia não foi modificada pelo tratamento, mantendo-se dentro da normoglicemia descrita para a espécie, e assim descrita, a saber: 125 ± 12 mg/dL no grupo C; 130 ± 17 mg/dL no grupo I; 140 ± 10 mg/dL no grupo T e 118 ± 12 mg/dL no grupo IT.

DISCUSSÃO

A comunidade científica busca o entendimento das alterações geradas pelo desuso muscular, no intuito de desenvolver novos recursos que possam contribuir para minimizar as alterações químico-metabólicas que acompanham a imobilização muscular. O desuso muscular crônico, produzido por condições de inatividade prolongada, desnervação ou suspensão do membro (microgravidade), induz resistência à insulina

potencializando o estado catabólico em músculos esqueléticos de humanos e ratos, fibrose intramuscular, redução da extensibilidade muscular, além de limitação da liberdade de movimento articular⁸⁻⁹.

Há tempos, tem-se descrito que a atrofia é um processo desencadeado em diferentes intensidades e de forma seletiva atinge em diferentes nuances cada tipo de músculo¹⁵. Desta maneira as fibras do tipo I possuem maior susceptibilidade em relação às fibras do tipo II, sendo conseqüentemente mais afetadas pelo desuso. Kasper et al., observaram maior susceptibilidade à atrofia em fibras lentas oxidativas e posteriormente em 2004 foi observado no músculo sóleo maior comprometimento em situações de desuso por ser predominantemente formado por fibras do tipo I¹⁰⁻¹¹.

Os dados expressos neste trabalho indicam que devido ao desuso houve redução das reservas glicogênicas, menor área de secção transversa e diminuição na relação de proteína total e DNA acompanhando os autores que sugerem a maior susceptibilidade das fibras tipo I as quais são mais sensíveis a essas intervenções, caracterizando redução na sensibilidade de vias insulínicas. Neste sentido, tem-se observado que as fibras lentas em situação de desuso apresentam marcantes alterações histo-fisiológicas como

irregularidades no retículo sarcoplasmático, fibrilas desintegradas, lesão mitocondrial, linhas Z estendidas, condensação e fragmentação da cromatina nuclear e redução de sarcômeros em paralelo, ocasionando resistência à insulina, aumento do tecido conjuntivo intramuscular, fibrose, redução da densidade dos capilares, extensibilidade muscular e limitação na mobilidade articular¹².

Em 2003 foram estudados ratos com suspensão de membros posteriores e demonstraram que a resistência à insulina acompanha o processo de atrofia muscular induzida pelo desuso em músculos esqueléticos de contração lenta, como o músculo sóleo. Simultaneamente, esses autores também observaram redução na expressão de receptores de substrato de insulina e da atividade da proteína JNK, que auxilia na regulação do processo de autodestruição celular nos músculos atrofiados e a correlacionaram com a degradação da proteína IRS-1, evidenciando redução na efetividade da sinalização insulínica. Além disso, observaram também uma redução na atividade da enzima Akt¹³.

Os dados aqui apresentados corroboram para explicar a redução no peso do músculo sóleo, bem como, na área de secção transversa, indicando a multiplicidade de eventos provocados pelo desuso e a maior susceptibilidade das fibras vermelhas. De forma consensual têm sido descritos que as principais alterações morfofuncionais e metabólicas estão totalmente configuradas no período de 7 dias pós-imobilização, fato que, este estudo corrobora ao demonstrar o comprometimento na massa muscular e área de secção transversa das fibras quando submetidas ao desuso por esse período, o mesmo foi apresentado pelo devido trabalho e foi representado tanto pela diminuição do peso úmido como da relação Proteína Total/DNA, no grupo IT a suplementação mostrou-se eficiente em agir na perda da massa e na relação citada acima¹⁰.

Essa proteção aconteceu devido à influência dos nucleotídeos na taxa de maturação celular, crescimento tecidual, aumento na concentração de RNA e nas atividades enzimáticas e concentração de

proteínas, possibilitando a aceleração da recuperação morfofuncional¹¹. Os nucleotídeos são compostos de uma base nitrogenada que participam de muitos processos bioquímicos que contribuem para a manutenção da homeostasia energética e funcional do organismo. Estas estruturas são precursoras do DNA e RNA, fonte de energia na formação de ATP, coenzimas tais como NADH além de sinalizadores citosólicos, como, por exemplo, o AMP-cíclico e GMP-cíclico¹¹.

Passou-se a avaliar os parâmetros até aqui descritos utilizando o suplemento com nucleotídeos e não foi verificada diferença na massa ou na relação proteínas totais/DNA nos músculos normais. Por sua vez, ao direcionarmos a análise para o músculo imobilizado foi verificada menor perda de massa e preservação da AST, indicando que o suplemento possa ter protegido a perda da massa muscular.

No que se refere às vias pós-absortivas dos nucleotídeos destaca-se a grande capacidade do duodeno em transferir eficientemente nucleotídeos do trato digestivo para a corrente sanguínea, o qual é direcionado ao fígado e sequencialmente ao tecido muscular. Sendo os nucleotídeos essenciais para a replicação do DNA e síntese de RNAm, tem sido descrito que após a lesão ou frente a necessidade de regeneração tecidual aumenta a necessidade de nucleotídeos visando um eficiente reparo tecidual. Tem sido descrito em diferentes tecidos que os nucleotídeos promovem aumento no crescimento e maturação celular e também estimulam a diferenciação célula¹³⁻¹⁴.

Na análise das reservas glicogênicas musculares foi verificado aumento nos grupos tratados com nucleotídeos. Neste sentido, tem sido descrito que os nucleotídeos atuam com potencializadores de substâncias que são secretagogos elevando a secreção da insulina, ação impar para a melhora na distribuição de substratos metabolizáveis¹⁵⁻¹⁶. Uma vez que a atrofia muscular está fundamentada na redução das vias sinalizadoras citosólicas que modulam respostas metabólicas e o anabolismo proteico, tem sido descrito que os nucleotídeos apresentam propriedades que lhes permitem

sinalizar no citosol. Assim, estão presentes em baixas concentrações em células em repouso. Porém, podem ser rapidamente produzidos ou captados, permitindo intensificar a propagação de sinais¹⁷. Desta forma, é sugestivo que concomitante a suplementação e elevação no oferecimento dos nucleotídeos aumentem a possibilidade destes de atuarem na reorganização das vias sinalizadoras citosólicas pela ativação das enzimas PI3K que foram comprometidas pela imobilização.

Considerando as vias moduladoras ligadas ao metabolismo celular e controle da formação das reservas glicogênicas, sabe-se que a PI-3-quinase é uma enzima citosólica ligada a dinâmica celular de captação da glicose, de forma que, inicialmente ativa proteínas alvo como a Akt e as isoformas da aPKC (ζ e λ) em paralelo observa-se que a proto-oncogene Cbl se associa com a proteína adaptadora CAP e forma o complexo Cbl-CAP migrando para a membrana celular e interagindo com o complexo CrkII-C3G, assim ativa-se a proteína TC10 gerando os complexos que induzem a translocação do GLUT4, aumentando a captação e disponibilidade da hexose¹⁸.

Quanto as menores áreas de secção transversa, estabilização de glicogênio muscular, e queda de decaimento da glicemia observada no músculo imobilizado suplementado, um recente trabalho avaliou a suplementação com nucleoproteínas, que é a combinação de aminoácidos e nucleotídeos e observou que essas substâncias promovem aumento na atividade do ciclo celular¹². Desta forma, favoreceu significativamente a recuperação da massa muscular por aumentar a síntese proteica, hipótese que corroboramos neste estudo.

CONCLUSÃO

O presente trabalho mostra os efeitos dos nucleotídeos em condições de desuso muscular e o seu uso mostrou-se eficiente na preservação das funções energéticas e morfológicas do tecido muscular quando levado a condições atroficas pelo desuso através da imobilização. Sugere-se que o

suplemento contendo nucleotídeos pode ser um importante coadjuvante no tratamento da atrofia muscular.

REFERÊNCIAS

1. Rocha WA, Gobbi GA, Araujo VF, Santuzzi CH, Coutinho GC, Nogueira BV, Gonçalves WS. Alterações morfofuncionais musculares em resposta ao alongamento passivo em modelo animal de imobilização prolongada de membro posterior. *Rev. Bras. Med. Esporte.* 2010, 16 (6): 407-410.
2. Chingui LJ, Severi MTM, Silva CA. Comportamento quimio metabólico do músculo sóleo na fase aguda da imobilização articular. *Fisioterapia e Pesquisa*, 2008, 15 (2): 194-199.
3. Ye F, Baligand C, Keener JE. Hindlimb muscle morphology and function in a new atrophy model combining spinal cord injury and cast immobilization. *J Neurotrauma.* 2013, 30: 227–235.
4. Aoki MS, Lima WP, Miyabara EH, Gouveia CHA, Moriscot AS. Deleterious effects of immobilization upon rat skeletal muscle: role of creatine supplementation. *Clinical Nutrition.* 2004, 23:1176-1183.
5. Ribeiro C, Christofolletti D, Marqueri RC, Prestes J, Tibana RA, Pereira ECL. Leucine minimizes denervation-induced skeletal muscle atrophy of rats through AKT/MTOR signaling pathways. *Frontiers in Physiology.* 2015, 6:1-6.
6. Chen ZP, Levy A, Lightman SL. Nucleotides as extracellular signaling molecules. *Journal of Neuroendocrinology.* 1995, 7: 83-86.
7. Riera J, Pons V, Matinez-Puig D, Chetrit C, Tur JA, Pons A. Dietary nucleotide improves markers of immune response to strenuous exercise under a cold environment. *Journal of the international society of sports nutrition.* 2010, 10: 1-8.

8. Wang F, Zhang QB, Zhou Y, Chen S, Huang PP, Liu Y, Xu YH. The mechanisms and treatments of muscular pathological changes in immobilization-induced joint contracture: A literature review. *Chin J Traumatol.* 2019, 22 (2): 93-98.

9. Martín AI, Priego T, López-Calderón A. Hormones and Muscle Atrophy. *Adv Exp Med Biol.* 2017, 108: 207-233..

10. Kasper CE, Talbot LA, Gaines JM. Skeletal muscle damage and recovery. *AACN Clin.* 2002, 13 (2): 37- 47.

11. Tanaka T, Kariya Y, Hoshino Y. Histochemical study on the change in muscle fibers in relation to the effects of aging on recovery from muscular atrophy caused by disuse in rats. *J Orthop Sci.* 2004, 9: 76-85.

12. Rudrappa SS, Wilkinson DJ, Greenhaff PL, Smith K, Iskandar I, Atherton PJ. Human Skeletal Muscle Disuse Atrophy: Effects on Muscle Protein Synthesis, Breakdown, and Insulin Resistance - A Qualitative Review. *Front. Physiol.* 2016, 25 (7): 1-10.

13. Hilder TL, Tou JC, Grindeland RE, Wade CE, Graves LM. Phosphorylation of insulin receptor substrate-1 serine 307 correlates with JNK activity in atrophic skeletal muscle. *FEBS Lett.* 2003, 553 (1-2): 63-67.

14. Rossi P, Xavier EG, Rutz F. Nucleotídeos na nutrição animal. *R. Bras. Agrobiociências.* 2007, 13 (1): 5-12.

15. Fanzani A, Conraads Vm, Penna F, Martinet W. Molecular and cellular mechanism of skeletal muscle atrophy: an update. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2012, 3: 163-179.

16. P, Wang DZ. Regulation of Skeletal Muscle by microRNAs. *Compr Physiol.* 2016, 13 (6): 279-294.

17. Newton AC, Bootman MD, Scott JD. Second Messengers. *Cold Spring Harb Perspective Biol.* 2016, 8 (8): 1-14.

18. Ørtenblad N, Nielsen J. Muscle glycogen and cell function--Location, location, location. 2015, 25 (Suppl 4): 34-40.

Recebido em: 05.08.2019
Aprovado em: 07.12.2019