



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Educação Física

MONOGRAFIA EM BACHAREL EM TREINAMENTO E ESPORTES

ANÁLISE HISTOQUÍMICA E BIOQUÍMICA DO MÚSCULO
SEMITENDINOSO DE RATOS SUBMETIDOS AO TREINAMENTO
INTERMITENTE

Alexandre D. Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Gerson Eduardo Rocha Campos

MONOGRAFIA EM BACHAREL EM TREINAMENTO E ESPORTES

Alexandre Donizete Ferreira

**ANÁLISE HISTOQUÍMICA E BIOQUÍMICA DO MÚSCULO SEMITENDINOSO
DE RATOS SUBMETIDOS AO TREINAMENTO INTERMITENTE**

Monografia apresentada com exigência parcial para obtenção do diploma em *Bacharel em Treinamento em Esportes* à Faculdade de Educação Física da Universidade Estadual de Campinas – Unicamp – sob orientação do Professor Doutor Gerson Eduardo Rocha Campos.

Universidade Estadual de Campinas
Campinas 2002

AGRADECIMENTOS

É engraçado como na vida tomamos caminhos diversos, fazemos escolhas momentâneas sem pensar no futuro e que acabam nos levando a estabelecer relações as quais vão nos acompanhar por toda nossa vida, sejam nas lembranças ou nas ações cotidianas. Em um dado momento estamos num certo lugar, no aconchego da família e de repente lá se vai aquele menino conquistar outros espaços, participar de outros mundos que jamais pensou em conhecer ou que desejava encontrá-los. E no meio desse turbilhão olha para os lados e vê que construiu uma outra família, não de sangue, mas de laços afetivos, de idéias e ideais semelhantes, de desejos de viver coisas parecidas, onde uns já viveram e outros estão na mesma busca, mas todos sendo vias de transportes e troca dessas experiências, compartilhando o mundo: o seu, o meu e o mundo físico.

Então me vem não a obrigação, mas essa vontade de aos menos mostrar através das palavras o quanto essas pessoas foram e serão importantes no meu crescimento como homem, humano, acadêmico, pesquisador, como ser integrante desse Universo.

Agradeço, aliás, devo a minha caminhada a uma mulher extremamente especial que sempre esteve presente em minha vida de duas formas: como genitora e amiga, desempenhando os dois papéis com uma graça (quase) divina. Mostrando me que não interessa aonde vamos, mas devemos sim, antes de tudo arcar com as conseqüências dessas escolhas e sermos dignos de merecê-las. À minha **Mãe** a minha eterna cumplicidade e meu coração.

À minha irmã **Michelle** pela felicidade em ter mais uma amiga apesar dos anos que nos separam cronologicamente, e pela proximidade de união com uma pessoa maravilhosa.

À **minha família** pela base e pela diversidade de situações que me prepararam pelo menos em parte para o que estava por vir, minhas avós, meus avôs (em especial meu avô materno pela suas experiências de um conhecedor medicinal e espiritual), tios, tias, primas e primos e agregados.

Ao **Professor Gerson** por ter estado comigo nesse último ano me proporcionando mais uma possibilidade de conhecimento e de poder estar aqui nesse momento, fechando um ciclo para abrir outro.

À **Professora Denise** que também abriu as portas para que eu pudesse estar me integrando em outras áreas que só me complementaram, tenho a certeza.

À minha família babilônica por fazer parte do meu cotidiano de forma integral e integra. Pelas conversas, conselhos, ombros amigos, por me mostrar vários mundos onde o mais importante e a amizade e o companheirismo. A vocês: **Castilho, Granja, Luciana, Neto, Zeca, Marina**, minha eterna gratidão e amo muito a todos. Vocês sabem o quanto são importantes.

À Minha família sensitiva **Gabi, Paty e Luly** por todos os momentos juntos, de alegria, de tristeza, de complementação, também amo muito vocês.

Ao trio **Eriquita, Reitus e Mário** pelos momentos de seriedade e molecagem. **Carol e Roberta** pelas aventuras filosóficas e dialéticas dos LIGS e a **Fernanda** pelo companheirismo.

Aos **outros amigos** por estarem nessa esfera.

Ao **Professor Miguel** pela boa vontade.

Ao **Professor Adilson** pelas conversas sobre a Dança e também pelas risadas.

À **Professora Carminha**, que conheci nesse semestre, mas que tem um jeito encantador de falar e pela sensibilidade.

Aos **Professores da FEF** que me abriram uma gama de conhecimentos.

Aos **meus amigos FEF99** pelas somas ao longo desses quatro anos mesmo que de forma indireta.

Aos **funcionários da FEF** que de uma maneira ou de outra estiveram presentes comigo.

E ao grande mentor de todas coisas, que nos proporciona essa união do espírito com o corpo, da razão com o sentimento, para termos a possibilidade de sermos completos aqui ou mais para frente. Pela sua presença nas coisas mais singelas da minha vida. **Obrigado DEUS** por ter me colocado aqui.

SUMÁRIO

Assunto	Página
Resumo.....	vii
Índice 1) Introdução.....	8
1.1) Treinamento Intermitente.....	9
1.2) Força.....	9
1.3) Velocidade.....	10
Índice 2) Objetivos.....	11
Índice 3) Materiais e Métodos.....	12
3.1) Animais.....	12
3.2) Protocolo de treinamento.....	12
3.3) Preparação das amostras.....	13
3.4) Período de cortes e montagens da lamínulas.....	14
3.5) Histoquímica.....	14
3.6) Bioquímica.....	14
3.7) Análise Estatística.....	15
Índice4) Resultados e Discussão.....	16
4.1) Histoquímica - Reação de mATPase.....	16
4.2) Bioquímica	20
4.3) Percentual de fibras.....	21
4.4) Análise Estatística.....	21
Índice5) Conclusões.....	22
Índice 6) Bibiografia.....	23

Figuras:

1	16
2	17
3	18
4	19
5	19
6	21

Figura 1: Reação Histoquímica de mATPase em pH4.5 (a, d), 4.3 (b, e) e 10.3 (c, f) em cortes seriados do músculo semitendinoso de rato Wistar. Área vermelha (a, b, c) e área branca (d, e, f). I-fibra do tipo I, IIC-tipo IIC, A-tipo IIA, AD-tipo IIAD, D-tipo IID, BD-tipo IIBD e B-tipo IIB.

Figura 2: Reação Histoquímica de mATPase em pH4.5 do músculo semitendinoso de um animal do grupo treinado. Área vermelha (superior) e área branca (inferior)

Figura 3: Gráfico das Médias e desvio Padrão dos Tipos de Fibras da Porção Branca do Músculo Semitendinoso do Grupo Controle e Grupo Treinado.

Figura 4: Gráfico das Médias e desvio Padrão dos Tipos de Fibras da Porção Vermelha do Músculo Semitendinoso do Grupo Controle e Grupo Treinado.

Figura 5: Gráfico das Médias e desvio Padrão dos Tipos de Fibras do Músculo Semitendinoso do Grupo Controle e Grupo Treinado. *significante **muito significante ***extremamente significante

Figura 6: Análise eletroforética do extrato dos músculos semitendinoso de ratos Wistar. GTI 1-8: Grupo Treinado, GC 1-4: Grupo Controle e SOL: músculo sóleo.

ANÁLISE HISTOQUÍMICA E BIOQUÍMICA DO MÚSCULO SEMITENDINOSO DE RATOS SUBMETIDOS AO TREINAMENTO INTERMITENTE

Resumo

Os músculos esqueléticos são constituídos por fibras musculares que expressam diversas isoformas de miosinas (MHC). As fibras puras podem ser dos tipos I, IIA, IID e IIB enquanto que as fibras híbridas podem expressar dois ou mais tipos de miosina. O exercício físico em particular pode levar as fibras musculares a alterações específicas, isto é, de acordo com o tipo de estímulo aplicado no músculo há probabilidade de que ocorra conversão no sentido de I para IIB (I=>IIA=>IID=>IIB) ou de IIB para I (IIB=>IID=>IIA=>I), passando pelas híbridas. Os objetivos deste trabalho consistiram em analisar os tipos de fibras musculares que compõem o músculo semitendinoso de ratos Wistar e os efeitos do treinamento intermitente, cuja aplicação se dá através de um certo número de estímulos seguido de pausa dentro de um período definido, através da técnica histoquímica da mATPase miofibrilar e da técnica bioquímica de eletroforese e uma tentativa de padronização do protocolo de treinamento utilizado. Observou-se na histoquímica que o semitendinoso apresenta duas porções distintas, uma vermelha e outra branca com a presença de todos os tipos de fibras (puras e híbridas), porém, com as fibras IIB em maior ocorrência. Na eletroforese verificou-se há presença de quatro bandas tanto em animais do Grupo Controle quanto no Grupo Treinado: I presente muito levemente, IIA, IID e com predominância a IIB. Portanto, esse músculo é composto em grande parte por fibras do grupo II caracterizando-o como um músculo essencialmente de contração rápida e o treinamento promoveu aumento das fibras híbridas, principalmente as IIAD e IIBD, que se situam entres as fibras puras do grupo II.

1) Introdução:

O músculo esquelético é um tecido altamente adaptável, pois é capaz de responder a diversos estímulos, tais como estimulação elétrica, alterações nos níveis hormonais, exercício físico, microgravidade, desnervação, reinervação, alterando as suas características fenotípicas. Tais alterações podem ocorrer nas mudanças dos perfis da miosina de cadeia pesada. Existem quatro tipos de cadeias pesadas de miosina: uma do tipo lento, MHCI, e três do tipo rápido, MCHIIa, MCHIIc e a MCHIIb presentes nas fibras puras do tipo I, IIA, IID e IIB, respectivamente. Entre essas ocorre a presença das fibras híbridas, onde estão presentes dois ou mais tipos de miosina de cadeia pesada em proporções diferentes, dependendo do nível da transição (IC = MHCI + MCHIIa, IIC = MCHIIa + MHCI, IIAD = MCHIIa + MCHIIc, IIDB = MCHIIc + MCHIIb).

As fibras do tipo I são aquelas cujo metabolismo ocorre por via oxidativa, permitindo um período de contração longo e maior resistência à fadiga sendo, portanto, mais eficientes e mais econômicas para produzir movimentos repetitivos e de longa duração (Goldspink, 1998). Essas fibras são encontradas em maior número nos músculos posturais (Mannion, 1999) e em atividades aeróbias (Weineck, 2000). As fibras do grupo II utilizam a via glicolítica como fonte de energia, sendo recrutadas em atividades de força e velocidade (Bottinelli & Reggiani, 2000). O sedentarismo também está associado à conversão de fibras do tipo I para o tipo II (Jakobsson et al., 1991). Assim, embora os fatores genéticos tenham forte influência na determinação dos tipos de fibras presentes no músculo, estímulos externos também contribuem para a grande variabilidade na distribuição dos tipos de fibras musculares, adaptando-as de acordo com as exigências do esforço (Goldspink, 1998).

O treinamento físico é um importante agente modificador dos tipos de fibras, consistindo em uma periodização de exercícios que será montada de acordo com a especificidade da modalidade a ser trabalhada e organizado em diversos ciclos divididos em fases específicas de preparação, tais como as utilizadas nesse trabalho: pré-adaptação, adaptação específica e treinamento propriamente dito. Esses ciclos podem ser montados de acordo com o princípio da carga periódica e/ou variável (treinamento intermitente) ou com o da carga contínua (treinamento contínuo) (Weineck, 2000).

Na literatura não se encontram muitos dados referentes aos tipos de fibras do músculo semitendinoso. Delp & Duan (1996) encontraram 74% de fibras IIB, 18% de IID,

5% de IIA e 3% do tipo I em ratos Sprague Dawley. Para ratos Wistar, dois trabalhos mostraram resultados discrepantes quanto à sua caracterização. Um deles mostrou que o músculo semitendinoso contém apenas fibras do tipo IIB, sendo um músculo essencialmente glicolítico (Smolka, 1999). O segundo trabalho mostrou que embora o músculo seja predominantemente glicolítico, ele apresenta atividade da enzima citrato sintase, enzima que caracteriza o metabolismo oxidativo, indicando indiretamente que o músculo não apresenta 100% de fibras do tipo IIB (Molnar, 2000).

1.1) Treinamento intermitente

É realizado de maneira descontínua, isto é, um estímulo é aplicado em um intervalo de tempo determinado seguido por uma pausa e novamente estímulo. Geralmente esse tempo é de curta duração com predominância da fonte anaeróbia para obtenção de energia, ou seja, a glicose é degradada somente até a produção de lactato (via glicolítica), não entrando no ciclo de Krebs (via oxidativa).

O treinamento intermitente pode ser realizado de forma intensiva e extensiva: no primeiro a razão de trabalho (intensidade) é alta e a realização se dá em um intervalo de tempo menos abrangente e no segundo ocorre o oposto, intensidade baixa e realização mais abrangente. Ambos podem ser realizados com pausas recuperativas ou parcialmente recuperativas. Acevedo e Goldfarb demonstraram que um aumento da intensidade de treinamento promove uma melhora mais significativa em corredores previamente treinados. Esse tipo de trabalho está ligado a atividades de força e velocidade com grande mobilização de fibras rápidas.

1.2) Força

A grandeza força é uma capacidade que pode ser medida externamente através da tensão exercida por essa contra uma resistência, tal como no levantamento de pesos. Segundo Meusel in Barbanti (1979), a força é uma característica com a qual move-se uma massa (seu próprio corpo ou um implemento esportivo), sua habilidade em dominar ou reagir a uma resistência pela ação muscular. A força pode ocorrer de forma dinâmica e estática.

- Dinâmica – ocorre quando há realização de movimento, podendo ser concêntrica ou positiva, tendo uma superação da carga aplicada a favor do movimento. A

força muscular exercida é maior do que a resistência oferecida (Barbanti,1979). É excêntrica ou negativa quando se realiza um contra movimento, ou seja, a carga aplicada é maior do que a força muscular, provocando um movimento de recuo (Barbanti, 1979).

- Estática – onde não há realização de movimento, tendo um aumento significativo do tônus muscular. O trabalho realizado nesse caso é isométrico (isso= igual e metria= medida).

Há três tipos de força:

- Máxima – aquela exercida com maior disponibilidade através de uma contração máxima dos músculos esqueléticos, sendo realizada de forma estática (força de manutenção, tração e pressão) e dinâmica (impacto, tração e empurrão). A primeira é a maior força que o sistema neuromuscular pode mobilizar através de uma contração voluntária contra uma determinada resistência e, a segunda, a máxima que pode se desenvolver por uma contração voluntária dentro de uma determinada seqüência de movimentos (Frey in Weineck, 1999).

- Rápida – compreende a capacidade de movimentar o corpo ou parte do corpo (braços e pernas) ou ainda objetos (bolas, pesos, esferas, etc) com uma velocidade máxima (Weineck, 1999). Exemplos: sprint, saltos chutes, arremessos, golpes.

- Resistência de força – capacidade de resistência à fadiga em condições de força aplicada. Exemplos: resistência de força de sprint, saltos, chutes, arremessos.

1.3) Velocidade

É uma característica presente nas diferentes situações nos vários esportes, sendo específica e também relativa, dependendo da especificidade exigida pelo esporte. Frey in Weineck (2000) define velocidade como a capacidade, com base na mobilidade dos processos do sistema nervo-músculo e desenvolvimento da força muscular, de completar ações motoras, sob determinadas condições, no menor tempo.

Há ocorrência de três tipos de velocidades:

- De Reação – é aquela caracterizada por uma resposta muscular rápida diante de estímulos externos, tais como o disparo nas corridas de atletismo, mudanças bruscas de direções etc.

- Acíclica – é realizada na forma de movimentos ou ações motoras únicas, é manifestada como lançamentos, arremessos, chutes etc.

- Cíclica – está presente em uma seqüência de ações motoras, repetidas de forma rítmica, tais como no treinamento intermitente, por exemplo.

Dessa forma, o protocolo de treinamento utilizado nesse trabalho pode ser entendido como estímulo de velocidade cíclica com pausas parcialmente recuperativas, havendo variação de velocidade e pausa, conforme tabela 3 em materiais e métodos.

2) Objetivos

Os objetivos deste trabalho consistiram em analisar os tipos de fibras musculares que compõem o músculo semitendinoso de ratos Wistar e os efeitos do treinamento intermitente, através da técnica histoquímica da mATPase miofibrilar e da técnica bioquímica de eletroforese e uma tentativa de padronização do protocolo de treinamento utilizado.

3) Materiais e Métodos

3.1) Animais

Foram utilizados 16 ratos machos da linhagem Wistar, com 21 dias de idade no início do estudo. Foram formados dois grupos com oito animais, um grupo controle (GC) e um grupo treinado (GT). Durante o período de treinamento os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada (18 a 22°C) e inversão dos ciclos de vida por meio de foto período de 12 horas (como são animais de hábitos noturnos é invertido o ciclo noturno e diurno, passando o dia para noite e a noite para dia) e providos de ração e água ad libitum.

3.2) Protocolo de treinamento

O GC não foi submetido a nenhum tipo de exercício. O GT, antes de entrar no treino específico, foi submetido a um mês de pré-adaptação, dividida em dois períodos. No primeiro período (uma semana), os animais foram colocados na esteira desligada por um tempo de dez minutos para caminhar livremente. No segundo período (três semanas), os ratos foram colocados na esteira ligada a uma velocidade inicial de 2,5 m/min durante um tempo de 2 minutos. Na última semana chegou-se à velocidade de 10 m/min em um tempo de 10 minutos de corrida, uma vez ao dia. Durante esse período, a velocidade era aumentada em 1m/min a cada dois dias e o tempo em 1 minuto, também no mesmo período. Ver tabela abaixo:

Tabela 1: Distribuição da velocidade e tempo de corrida na adaptação dos animais à esteira.

V (m/min)	T (minutos)
2,5	2
2,5	2
3,5	3
3,5	3
4,5	4
4,5	4
5,5	5
5,5	5
6,5	6
6,5	6
7,5	7
7,5	7
8,5	8
8,5	8
9,5	9
9,5	9
10	10
10	10

Em seguida, foi feita uma adaptação específica ao treino intermitente com uma semana de duração. O tempo foi fixo de 10 minutos por dia e a velocidade foi aumentada 5 m/min a cada dois dias, até chegar à velocidade de 20 m/min. Esse tempo era dividido em três “sprints” de 2 minutos com pausa de 2 minutos.

Tabela 2: Distribuição da velocidade e tempo de corrida na adaptação específica dos animais à esteira.

Dias	V (m/min)	T (min)	Pausa (min)	Repetições
Segunda	10	10	2	3
Terça	10	10	2	3
Quarta	15	10	2	3
Quinta	15	10	2	3
Sexta	20	10	2	3
Sábado	20	10	2	3

Após essa fase, o GT entrou no treinamento propriamente dito durante 8 semanas, seis dias por semana, seguindo o seguinte protocolo de treino intermitente. Ver tabela 2.

Tabela 3: Protocolo de treinamento dos animais

Semana	V (m/min)	T (min)	Pausa (min)	Repetições
1ª	20	5	2	4
2ª	30	2,5	1	4
3ª	32,5	2,5	1	6
4ª	35	2,5	1	6
5ª-8ª	35	2,5	1	6

3.3) Preparação das amostras

Imediatamente após o período de treinamento, os animais do GT e do GC foram sacrificados com éter e em seguida tiveram o músculo semitendinoso retirado. Uma secção da área vermelha e outra da área branca foram separadas e fixadas em pequenos pedaços de madeira com Tissue Tek. Utilizou-se a seguinte legenda para identificação das amostras:

ST	·ST-músculo semitendinoso
RI	·RI-especificação do rato
◆	·◆- especificação da parte do músculo
Ω	(V para vermelho e B para branco)
	·Ω- parte extraída do músculo

Depois dos músculos serem fixados nas plaquetas de madeira, foram imediatamente congelados em isopentano resfriado em nitrogênio líquido. Em seguida as amostras foram armazenadas em freezer -80°C.

3.4) Período de cortes e montagens da lamínulas

Concluídas as coletas e congelamento, elaboramos o protocolo das lamínulas. Estabeleceu-se um número de quatro animais por lamínula, com dois cortes da parte branca e dois cortes da vermelha para cada animal, tendo um total de 8 cortes/lamínula. Foi feito um conjunto de 12 lamínulas para o GT 1 à 4, 12 para os GT 5 à 8, 12 para os GC 1 à 4 e 12 para os GC 5 à 8, totalizando 48 lamínulas. Em cada lamínula foram colocados quatro cortes de cada animal, dois cortes para a porção vermelha e dois para a porção branca e esses foram feitos em criostato a -24°C com 12µm de espessura.

3.5) Histoquímica

Os cortes foram submetidos simultaneamente à reação de mATPase (myofibrillar adenosine triphosphatase) (Pette & Staron, 1993) após pré incubações em pH de 4.3, 4.5 (Brooke & Kaiser, 1970) e 10.3 (Guth & Samaha, 1970). Os pHs foram ajustados em função da especificidade existente entre músculos de animais de espécies diferentes. Foram feitas fotomontagens dos cortes no pH 4.5 que em conjunto com a observação dos cortes nos pHs 4.3 e 10.3 caracterizaram e determinaram o número de cada tipo de fibra existente no músculo.

3.6) Bioquímica

Após a coleta do último corte de cada músculo para histoquímica, coletamos de 5 a 8 cortes para análise bioquímica. Estes foram colocados em 0,5ml do seguinte meio: 10% (w/v) glycerol, 5% (v/v) 2 mercaptoethanol e 2,3% (w/v) sodium dodecylsulfate (SDS) em 62,5 mM Tris/HCL buffer (pH 6,8). Os cortes foram agitados durante um minuto e aquecido por 10 minutos a 60°C. Feito isso, submetemos pequenas porções do extrato (5-7 µl) foram submetidos a eletroforese em gel (gradiente de 7-10%) de poliacrilamina (SDS) com 17-18 horas de corrida a 120V. Foi incluída também uma amostra do músculo sóleo

por apresentar mais ou menos 95% de MHCI e 5% de MHCII. Os géis foram corados com Coomassie Blue (Bär e Pette, 1988). As cadeias de miosina foram identificadas de acordo com sua aparente massa molecular, comparadas com marcadores de proteínas.

3.7) Análise Estatística

Os dados que abordam a quantidade total de fibras do músculo semitendinoso do grupo controle (GC) e do grupo treinado (GT), foram submetidos à análise estatística utilizando o test-t não pareado para amostras independentes, através do programa INSTAT.

4) Resultados e Discussão

4.1) Histoquímica - Reação de mATPase

O músculo semitendinoso apresentou duas porções distintas, uma vermelha (a,b,c) e outra branca (d,e,f) nos dois grupos, GC e GT. Na porção vermelha foi constada a presença de todos os tipos de fibras musculares, tanto as do grupo I quanto às do grupo II, juntamente com as híbridas (IC, IIC, IIAD e IIBD) e é nesta porção que também vamos encontrar o maior número de fibras em transição. Na porção branca foi constada uma predominância das fibras do grupo II em específico as do tipo IIB. Ver figura 1 e 2.

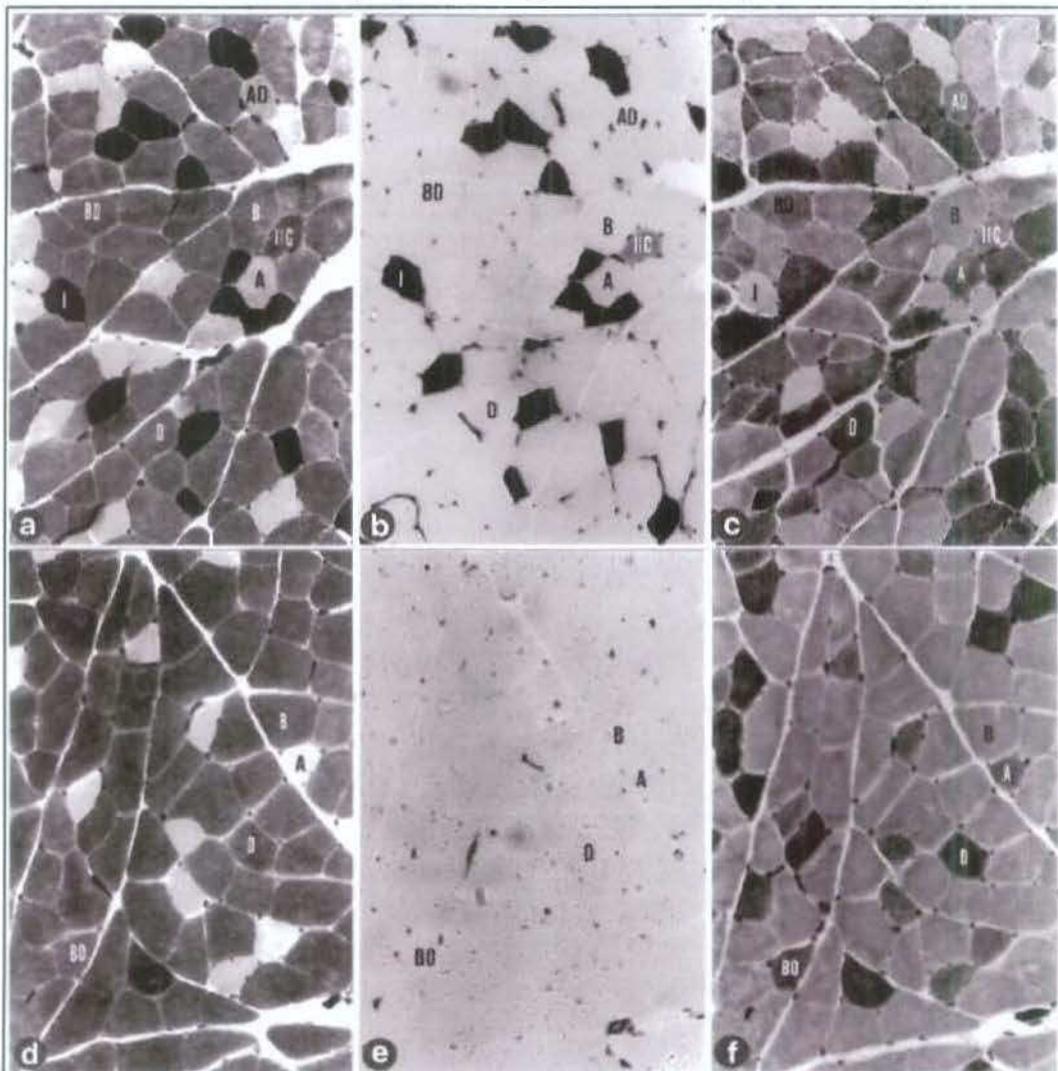


Figura 1: Reação Histoquímica de mATPase em pH4.5 (a, d), 4.3 (b, e) e 10.3 (c, f) em cortes seriados do músculo semitendinoso de rato Wistar. Área vermelha (a, b, c) e área branca (d, e, f). I-fibra do tipo I, IIC-tipo IIC, A-tipo IIA, AD-tipo IIAD, D-tipo IID, BD-tipo IIBD e B-tipo IIB.

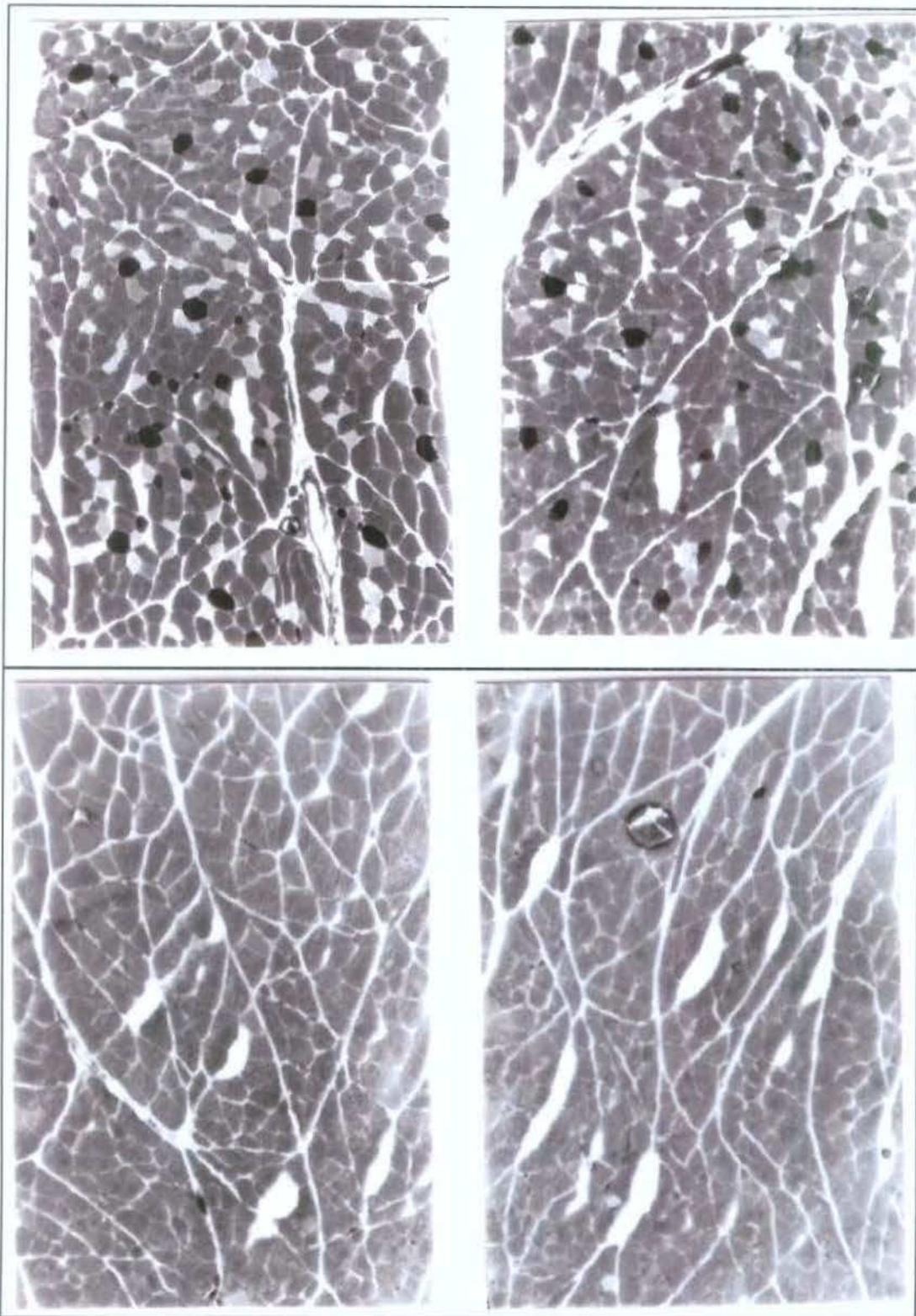


Figura 2: Reação Histoquímica de mATPase em pH4.5 do músculo semitendinoso de um animal do grupo treinado. Área vermelha (superior) e área branca (inferior)

Dessa forma pôde-se constatar que esse músculo não é composto na sua totalidade por fibras do tipo IIB como foi apresentado por Smolka (1999), possuindo também a presença de fibras do tipo IIA, também chamada de fibra rápida oxidativa glicolítica (Jurie et al., 1998), que apresenta atividade glico-oxidativa e as do tipo I, cuja obtenção de energia se dá através da via oxidativa. Tal resultado vem confirmar a atividade da enzima citrato sintase, verificada por Molnar (2000), participante na quebra da glicose para produção de ATP no ciclo de Krebs. Após a identificação dos tipos e quantidade de fibras, foi construído um gráfico das médias e desvio padrão das porções branca, vermelha e de ambas (esse caracteriza o músculo na sua integralidade), conforme figuras 3, 4 e 5.

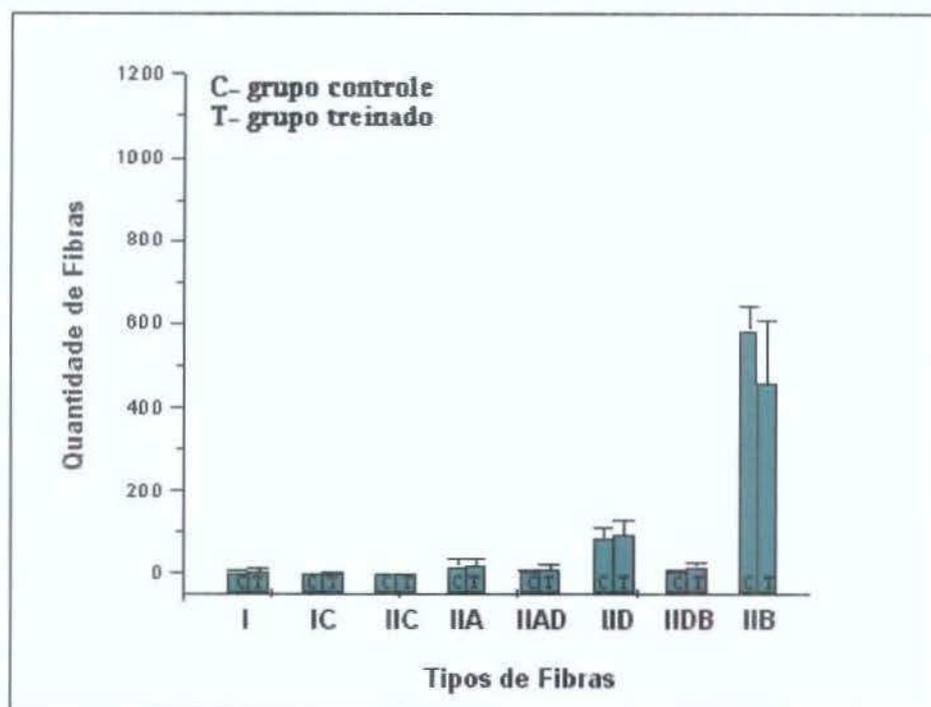


Figura 3: Gráfico das Médias e desvio Padrão dos Tipos de Fibras da Porção Branca do Músculo Semitendinoso do Grupo Controle e Grupo Treinado.

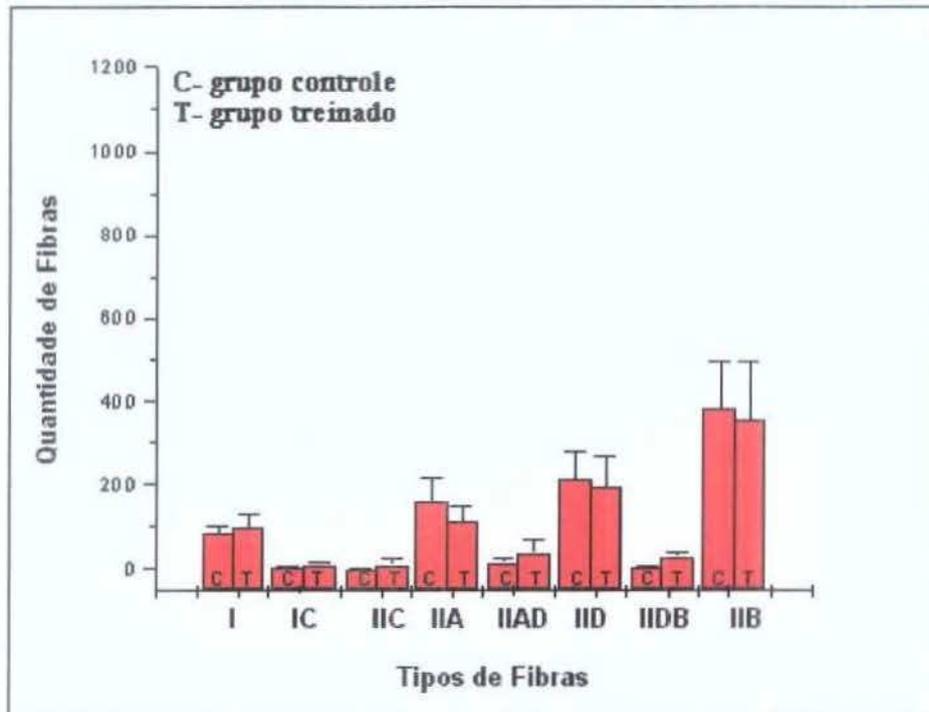


Figura 4: Gráfico das Médias e desvio Padrão dos Tipos de Fibras da Porção Vermelha do Músculo Semitendinoso do Grupo Controle e Grupo Treinado.

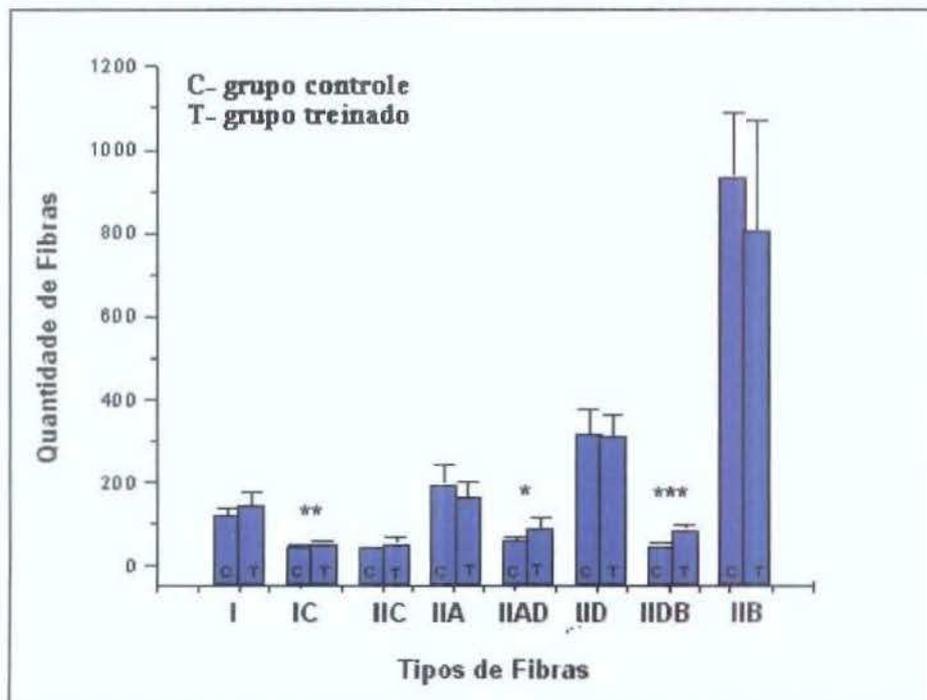


Figura 5: Gráfico das Médias e desvio Padrão dos Tipos de Fibras do Músculo Semitendinoso do Grupo Controle e Grupo Treinado. *significante **muito significante ***extremamente significante

Observando a figura 3 (porção branca) notamos que houve um aumento das fibras híbridas IC e IIDB e das puras IIA e IID. Na figura 4 (porção vermelha) das híbridas IC, IIC, IIAD e IIDB e na figura 5 (ambas porções) das híbridas IC, IIC, IIAD e IIDB. Somente no gráfico 3, da porção branca, houve aumento nas fibras puras IIA e IID e nos três ocorreram uma diminuição das fibras puras do tipo IIB.

Dessa forma, pode-se notar que a prática desse exercício físico aumenta o número de fibras híbridas para que ocorra a conversão naquelas que são utilizadas na modalidade em questão e um aumento das puras IIA e IID na porção branca. Na porção vermelha essas fibras sofreram uma diminuição. Portanto na totalidade do músculo (figura 5), a diminuição dessas fibras foram mais acentuadas com conseqüente aumento das híbridas IIAD e IIDB, que as sucedem respectivamente.

O protocolo utilizado nesse treinamento pode ser caracterizado como treinamento intermitente (Weineck,1999) onde aplica-se um estímulo seguido de um tempo de recuperação não total, podendo, então, induzir uma mudança das fibras no sentido de I para IIB, visto que é um treino de velocidade, cujo metabolismo se dá por via anaeróbica e portanto mobilização das fibras rápidas (Weineck,1999,2000). No entanto, houve uma queda das fibras do tipo IIB no geral. Esta condição nos permite levantar a hipótese de que como se trata de um treino que mobiliza em grande parte fibras rápidas, pode ter ocorrido uma hipertrofia das mesmas. Jurie et al. (1998), analisando amostras do torácico longuíssimo e semitendinoso de acordo com esforço realizado, constataram uma hipertrofia em particular da fibras IIA, IIAB e IIB.

4.2) Bioquímica

A eletroforese das amostras do músculo semitendinoso demonstrou a expressão de quatro isoformas de miosina (MHCI, IIB, IID e IIA). Existe predominância da banda IIB em todos os animais. As bandas IIA e IID aparecem muito próximas e a banda I está presente muito levemente, tanto em animais do GC quanto no GT, conforme figura 6. Portanto, o músculo semitendinoso é um músculo composto em grande parte por fibras do grupo II, o que pode também ser confirmada pela histoquímica. O gel foi submetido à análise de densitometria, que mede a densidade óptica e conseqüentemente pode ser correlacionada com quantidade de proteína. Entretanto, devido a grande proximidade das bandas IIA e IID o aparelho não conseguiu distingui-las para fazer o cálculo.

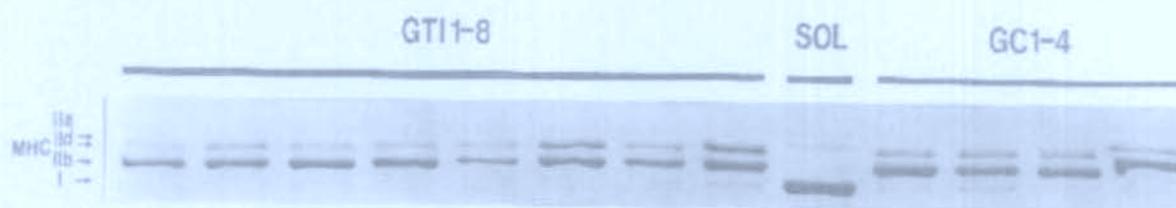


Figura 6: Análise eletroforética do extrato dos músculos semitendinoso de ratos Wistar. GTI 1-8: Grupo Treinado, GC 1-4: Grupo Controle e SOL: músculo sóleo.

4.3) Percentual de fibras

Tabela 4: Percentual de fibras que compõem o músculo semitendinoso (GC)

I	IC	IIC	IIA	IIAD	IID	IIDB	IIB
5.99%	0.16%	0.06%	10.62%	1.18%	19.18%	0.42%	62.40%

4.4) Análise Estatística

Os dados da figura 5 foram submetidos à análise estatística utilizando o test-t não pareado para amostras independentes, através do programa INSTAT. De acordo com os dados correlacionados não foi significativa a mudança obtida nas fibras puras (I, IIA, IID e IIB) e na híbrida IIC, já nas outras fibras híbridas teve uma conversão significativa nas fibras IIAD ($p=0.00103$), muito significativa nas fibras IC ($p=0,0044$) e extremamente significativa nas IIDB ($p<0,0001$) para um $p<0.005$. Dessa forma o treinamento pode ter induzido uma mudança das fibras no sentido de I para IIB.

5) Conclusões

Este trabalho permitiu concluir que o músculo semitendinoso é composto por todos os tipos de fibras, tanto as puras (I, IIA, IID e IIB) quanto às híbridas (IC, IIC, IIAD e IIDB), porém é um músculo essencialmente de contração rápida como pode ser aferido no percentual muscular de composição (Tabela 4).

O treinamento intermitente promoveu aumento das fibras híbridas principalmente das IIAD e IIDB, que estão situadas entre as fibras do grupo II, podendo caracterizar uma conversão no sentido de I para IIB.

6) Bibliografia

- ACEVEDO, E. O. & GOLDFARB^a H. (1989) *Increased training intensity effects on plasma lactate, ventilatory threshold and endurance.* **Med. Sci. Sports Exerc.** 21: 563-568.
- BARBANTI, V. J. (1979) *Teoria e prática do treinamento desportivo.* Editora Edgard Blucher Ltda.
- BÄR, A. & PETTE, D. (1988) *Three fast myosin heavy chains in adult rat skeletal muscle.* **FEBS Lett.** 235: 153-155.
- BOTTINELLI, R. & REGGIANNI, C. (2000) *Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity.* **Prog. in Biophys. And Molec. Biology.** 73: 195-262.
- BROOKE, M. H. & KAISER, K. K. (1970) *Three "myosin adenosine triphosphatase" system: the nature of their pH lability and sulfhydryl dependence.* **J. Histochem. Cytchem.** 18: 670-672.
- DELP, M. D. & DUAN, C. (1996) *Composition and size of type I, IIA, IID/X and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle.* **J. Appl. Physiol.** 80 (1): 261-270.
- GOLDSPINK, G. (1998) *Selective gene expression during adaptation of muscle in response to different physiological demands.* **Biochem. and Molec. Biology.** 120: 5-15
- GUTH, A. & SAMAHA, F. (1970) *Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase.* **Exp. Neurol.** 28: 365-367
- JAKOBSSON, F., EDSTRÖN, L., GRIMBY, L. & THORNELL, L. E. (1991) *Disuse of anterior tibial muscle during locomotion and increased proportion of type II fibers in hemiplegia.* **J. Neurol. Sci.** 105: 49-56.
- JURIE, C., PICARD, B. & GEAY, Y. (1998) *Influences of the method of housing bulls on their body composition and muscle fibre types.* **Meat Scien.** 50: 457-469.
- MANNION, F. (1999) *Fibre type characteristics and function of the human paraspinal muscle: normal values and changes in association with low back pain.* **J. Electrom. and Kines.** 9: 363-377
- MOLNAR, A. M. (2000). *Padronização da técnica de BN-Page e coloração histoquímica dos complexos I e IV da Cadeia de Transporte de Elétrons em músculo esquelético de rato.* Tese de Mestrado apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP.
- PETTE, D. & STARON, R. S. (1993) *The continuum of pure and hybrid myosin heavy chain-based types in rat skeletal muscle.* **Histochemistry.** 100: 149-153.

SMOLKA, M.B. (1999) *Exercício Físico e expressão da proteína HSP72 em músculos de ratos submetidos a diferentes tipos de treinamento*. **Tese de Mestrado apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP.**

WEINECK, J. (1999) *Treinamento Ideal*. 9ª edição. Editora Manoele Ltda.

WEINECK, J. (2000) *Biologia do Esporte*. Edição brasileira 2000 Editora Manoele Ltda.