

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



Juliana Franco Adala

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO DE LONGA DURAÇÃO NOS MÚSCULOS
ESQUELÉTICOS DE RATOS**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Juliana Franco Adala
[Signature]
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Tese apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do título de Mestre em Biologia Celular e Estrutural na área de Anatomia.

Orientador: Prof. Dr. Gerson Eduardo Rocha Campos

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

JNIDADE	BC
Nº CHAMADA	
UNICAMP	
Ad12e	
EX	
TOMBO BCI	61220
PROC.	16.114-04
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	11,00
DATA	18.11.04
Nº CPD	

bib id 336250

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

Ad12e

Adala, Juliana Franco

Efeitos do exercício físico de longa duração nos músculos esqueléticos de ratos / Juliana Franco Adala.--
Campinas, SP: [s.n.], 2004.

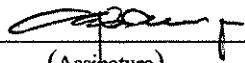
Orientador: Gerson Eduardo Rocha Campos
Tese (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas .
Instituto de Biologia.

1. Exercício fisico. 2. Fibras. 3. Músculos. I. Campos, Gerson Eduardo
- Rocha. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia.
- III. Título.

Campinas, 21 de maio de 2004.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gerson Eduardo Rocha Campos (Orientador)


(Assinatura)

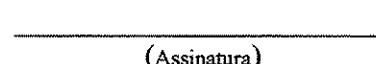
Prof. Dr. Jesus Carlos Andreo


(Assinatura)

Profa. Dra. Maeli dal Pai Silva


(Assinatura)

Prof. Dr. Humberto Santo Neto


(Assinatura)

DEDECATÓRIA

Dedico mais esta conquista totalmente a Deus, criador do mundo, da vida, do tempo... E agradeço a ele por me guiar no caminho da vida e me orientar no tempo inevitável, pois para tudo há um tempo, para cada coisa há um momento de baixo dos céus. “Existe tempo para plantar e tempo para arrancar o que foi plantado” (Eclesiastes 3,2).

AGRADECIMENTOS

- * **Aos meus pais Maria Alice Franco Adala e Jorge Henrique Adala pelo amor e paciência. A vocês meus infinitos agradecimentos.**
- * **Ao amigo Nelson Fuirini Jr. pela presença em todos os momentos: desde a escolha da melhor semente, pela paciência e preciosos conselhos.**
- * **As minhas avós Albertina de Jesus Afonso Franco e Aparecida Mendonça Adala pelo acolhimento, amor e preciosos conselhos.**
- * **Ao Prof. Gerson Eduardo da Rocha Campos, pelo aprendizado na realização deste trabalho e dedicação profissional. Obrigada pela amizade.**
- * **Ao corpo docente do laboratório de Anatomia da UNICAMP, aos Profs. Drs. Gerson Eduardo Rocha Campos, Evanisi Teresa Palomari, Elaine Minatel, Humberto Santo Neto, José Ângelo Camilli, José Merciano Filho, Maria Júlia Marques, Valéria Helena A. Cognon Quitete, pela dedicação ao ensino da Anatomia e pela amizade.**
- * **Aos técnicos e funcionários do laboratório de Anatomia da UNICAMP, os Srs. Marco Aurélio R. De Paula, Ana Floriana Rodríguez, Norivaldo Celestino, Lourdes Pinheiro, Marlene Lima, Paulo Afonso Bernardes, Paulo Francisco Santos, Silvia Helena Burghi Kalaf e Carlos Roberto, pela amizade e auxílios prestados.**
- * **Aos amigos de Pós-graduação do laboratório de Anatomia da UNICAMP pela amizade, aulas, seminários, estudos de anatomia e convívio diário.**
- * **Às pessoas que, de alguma forma, me auxiliaram nestes anos de Mestrado, pois o que seriam das árvores se não existissem os galhos, as folhas, as flores e os frutos?**

SUMÁRIO

RESUMO	1
INTRODUÇÃO GERAL	2
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
TRABALHO A SER SUBMETIDO À PUBLICAÇÃO	9
Resumo	10
Introdução	10
Materiais e métodos	12
Resultados	15
Discussão	17
Referências bibliográficas	19
Figuras e legendas	26
CONCLUSÕES GERAIS	32
ANEXOS	33

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO DE LONGA DURAÇÃO NOS MÚSCULOS ESQUELÉTICOS DE RATOS.

RESUMO

Os músculos esqueléticos em geral são constituídos por diferentes tipos de fibras. O estudo de fibras musculares isoladas tem demonstrado que as fibras chamadas puras, I, IIa, IIId e IIB, expressam isoformas de miosina dos tipos I (MHC_I), IIa (MHC_{IIa}), II_d (MHC_{IIId}) e II_b (MHC_{IIb}), respectivamente. Contudo, as chamadas fibras híbridas, IC, IIC, IIAD, II_{DA}, II_{DB} e II_{BD}, expressam duas ou mais isoformas de miosina: IC (MHC_I > MHC_{IIa}), IIC (MHC_{IIa} > MHC_I), IIAD (MHC_{IIa} > MHC_{IIId}), II_{DA} (MHC_{IIId} > MHC_{IIa}), II_{DB} (MHC_{IIId} > MHC_{IIb}) e II_{BD} (MHC_{IIb} > MHC_{IIId}). Os músculos esqueléticos dos mamíferos apresentam uma grande capacidade de adaptação. Vários fatores podem alterar a expressão fenotípica das fibras musculares. A estimulação elétrica, os hormônios, a desnervação, a reinervação, o envelhecimento, o exercício físico, etc, são alguns desses fatores. O objetivo deste trabalho foi analisar as adaptações nos tipos de fibras dos músculos, sóleo (SOL), extensor longo dos dedos (EDL) e plantar (PL) de ratos durante um período de 9 semanas de treinamento de longa duração (corrida) em esteira. Para isso foram utilizados 30 ratos Wistar, machos, com 25 dias de idade. Os animais foram divididos em 2 grupos: treinados (GT-n=21) e sedentários (GS-n=9). O grupo GT foi subdividido em 3 grupos: GTI, GTII e GTIII, todos com 7 animais. O grupo GS, que permaneceu sem qualquer tipo de atividade física, foi subdividido em 3 grupos: GSI, GSII, e GSIII, todos com 3 animais. Os animais dos grupos I, II e III, foram sacrificados a 3, 6 e 9 semanas, respectivamente. Após o período experimental os animais foram anestesiados e tiveram os músculos retirados e analisados pela técnica histoquímica da mATPase para observação de possíveis alterações decorrentes de treinamento. Os dados obtidos foram analisados pelos testes ANOVA, Comparação de Porcentagens Observadas e Análise de Variância seguida pelo Teste de Comparação de Média de Tukey, com nível de significância de 5% ($p<0,05$). Os valores absolutos do peso muscular, foram significativamente maiores no grupo GTIII quando comparados aos grupos GTI e GTII. O exercício físico de longa duração alterou

significativamente a distribuição dos tipos de fibras musculares entre os grupos GS e GT e também entre os grupos GTI, GTII e GTIII. O músculo SOL apresentou ($p<0,05$) aumento de fibras do tipo I e diminuição das fibras dos tipos IIC e IIA. O músculo EDL mostrou aumento ($p<0,05$) das fibras do tipo IIA, com diminuição ($p<0,05$) das fibras do tipo IIB e IID. O músculo PL apresentou ($p<0,05$) aumento de fibras do tipo IIA, IIAD com diminuição ($p<0,05$) das fibras do tipo IID. Estes resultados revelam que o exercício físico causa alterações na distribuição dos tipos de fibras em músculos esqueléticos de ratos. As fibras se adaptam de acordo com a exigência da atividade física de modo a alcançar um melhor desempenho.

INTRODUÇÃO GERAL

As fibras musculares esqueléticas são células multinucleadas cujo componente contrátil é formado por sarcômeros. Nos sarcômeros predominam dois filamentos proteicos: um filamento fino, formado pelo complexo troponina, tropomiosina e actina, e um filamento grosso, formado pelas cadeias de miosina. A interação desses dois filamentos é responsável pela contração muscular, cuja velocidade está correlacionada com o tipo de isoforma de miosina expressa (Talmadge & Roy, 1993).

De acordo com a velocidade de hidrólise do ATP as fibras são classificadas em lentas e rápidas cada uma expressando uma determinada isoforma de miosina (Schiaffino & Reggiani, 1994). A isoforma lenta é denominada MHCI e as rápidas são denominadas: MHCIIa, MHCIId e MHCIIb (Pette & Staron, 1997; Staron et al., 1999). Estudos de fibras musculares isoladas (single fiber analysis) têm demonstrado que as fibras dos tipos: I, IIA, IID e IIB, expressam isoformas de miosina dos tipos I (MHCI), IIa (MHCIIa), IId (MHCIId), e IIb (MHCIIb), respectivamente. Entretanto, podem existir fibras que expressam duas ou mais isoformas de miosina (Staron et al., 1999). São as chamadas fibras híbridas: IC, IIC, IIAC, IIAD, IIDA, IIIB e IIBD, com isoformas de miosina dos tipos IC (MHCI > MHCIIa), IIC (MHCIIa = MHCI), IIAC (MHCIIa > MHCI), IIAD (MHCIIa > MHCIId), IIDA (MHCIId > MHCIIa), IIIB (MHCIId > MHCIIb) e IIBD (MHCIIb > MHCIId), respectivamente (Pette & Staron, 1993, 2000). Alguns pesquisadores denominam

a fibra do tipo IID (MCHIID) como sendo IIX (MHCIIx) (Schiaffino et al., 1989; De Nardi et al., 1993; Schiaffino & Reggiani, 1994; 1996).

Esta diversidade de fibras permite ao músculo adaptações no seu sistema miofibrilar para ajustar-se, continuamente, às necessidades funcionais. A capacidade do músculo de se adaptar a um determinado estímulo é denominada plasticidade muscular. Fatores tais como exercício físico, a estimulação elétrica, a desnervação e reinervação, o envelhecimento, os hormônios, são exemplos de estímulos que podem influenciar no fenótipo de músculos esqueléticos de mamíferos (Pette & Staron, 2000; 2001; Baldwin & Haddad, 2001).

Geralmente, as adaptações musculares que ocorrem em resposta ao aumento da atividade neuromuscular através do treinamento físico são qualitativamente similares mas quantitativamente menores do que a resposta adaptativa à Estimulação Crônica de Baixa-Freqüência (CLFS). A maioria dos protocolos de treinamento de longa duração tem uma resposta menos intensa no músculo quando comparados com a CLFS. Na maioria dos estudos que usaram treinamento de longa duração, a principal resposta adaptativa foi o aumento da capacidade enzimática aeróbica-oxidativa para obtenção de energia (Holloszy & Booth, 1976; Saltin & Gollnick, 1983; Terjung & Hood, 1986; Booth & Baldwin, 1996; Henriksson, 1992).

Apesar dos exercícios de longa duração induzirem a transição nos tipos de fibras de rápidas para lentas, a extensão dessas mudanças nunca alcança o nível daquelas induzidas pela CLFS. Transição de fibras demonstrada por exercícios de longa duração e força concentram-se apenas em alterações de fibras rápidas, isto é, mudanças de fibras do tipo IIB para o tipo IIA (Andersen & Henriksson, 1977; Jansson & Kaijser, 1977; Green et al., 1979). A alta intensidade de treinamento pode, entretanto, causar transição além da população de fibras rápidas (Jansson & Kaijser, 1977; Schantz & Henriksson, 1983; Luginbuhl & Dudley, 1984; Green et al., 1984; Howald et al., 1985; Simoneau et al., 1985; Kadi et al., 1999; Schantz & Dhoot, 1987 Demirel et al., 1999).

Está bem estabelecido que o exercício de longa duração promove numerosas adaptações no músculo esquelético incluindo um aumento da capacidade oxidativa e antioxidante das fibras (Fitts et al., 1975; Holloszy & Booth, 1976; Powers et al., 1994). Além disso, também está estabelecida a relação dose-resposta entre intensidade do

exercício, duração e mudanças promovidas pelo treinamento (Fitts et al., 1975; Dudley; Abraham & Terjung, 1982; Powers et al., 1994). Entretanto, numerosas questões ainda persistem quanto ao efeito do treinamento de longa duração nas isoformas de miosina. Apesar de haver evidências de que o exercício de longa duração promove alterações no fenótipo dos músculos esqueléticos (Baumann et al., 1987; Sullivan et al., 1995), a relação entre dose-resposta e alteração do fenótipo ao longo do tempo de treinamento ainda permanece não esclarecida. Portanto, o objetivo do presente estudo foi analisar as alterações ao longo de 9 semanas de treinamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersen, P. & Henriksson, J.** Training induced changes in the subgroups of human type II skeletal muscle fibers. *Acta. Physiol. Scand.* 99: 123-125, 1977.
- Baldwin, K. M. & Haddad, F.** Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle invited review: effects of different activity and inactivity paradigms on myosin heavy chain gene expression in striated muscle. *J. Appl. Physiol.* 90: 345-357, 2001.
- Baumann, H.; Jaggi, M.; Soland, F.; Howald, H. & Schaub, M. C.** Exercise training induces transitions of myosin isoform subunits within histochemically typed human muscle fibers. *Pflügers. Arch.* 409: 349-360, 1987.
- Booth, F. W. & Baldwin, K. M.** Muscle plasticity: energy demanding and supply processes. In: Peachey L. D., Adrian R. H., Geiger S. R. (eds) *Handbook of physiology*, section 12. Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 1075-1123, 1996.
- Demirel, H. A.; Powers, S. K.; Naito, H.; Hughes, M. & Coombes, J. S.** Exercise-induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotype: dose-response relationship. *J Appl. Physiol.* 86: 1002-1008, 1999.

De Nardi, C.; Ausoni, S.; Moretti, P.; Gorza, L.; Velecca, M.; Buckingham, M. & Schiaffino, S. Type 2X-myosin heavy chain is coded by a muscle fiber type-specific and developmentally-regulated gene. *J. Cell. Biol.* 123: 823-835, 1993.

Dudley, G. A.; Abraham, W. A. & Terjung, R. L. Influence of exercise intensity and duration on biochemical adaptations in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 53: 844-850, 1982.

Fitts, R. H.; Booth, F. W.; Winder, W. W. & Holloszy, J. O. Skeletal muscle respiratory capacity, endurance, and glycogen utilization. *Am. J. Physiol.* 228: 1029-1033, 1975.

Green, H. J.; Thomson, J. A.; Daub, W. D.; Houston, M. E. & Ranney, D. A. Fiber composition, fiber size and enzyme activities in vastus lateralis of elite athletes involved in high intensity exercise. *Eur. J. Appl Physiol* 41: 109-117, 1979.

Green, H. J.; Klug, G. A.; Reichmann, H.; Seedorf, U.; Wiehrer, W. & Pette, D. Exercise-induced fibre type transitions with regard to myosin, parvalbumin, and sarcoplasmic reticulum in muscles of the rat. *Pflügers Arch.* 400: 432-438, 1984.

Henriksson, J. Effects of physical training on the metabolism of skeletal muscle. *Diabetes Care* 15: 1701-1711, 1992.

Holloszy, J. O. & Booth, F. W. Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. *Annu. Rev. Physiol.* 38: 273-291, 1976.

Howald, H.; Hoppeler, H.; Claassen, H.; Mathieu O. & Straub, R. Influence of endurance training on the ultrastructural composition of the different muscle fiber types in humans. *Pflügers Arch.* 403: 369-376, 1985.

Jansson, E. & Kaijser, L. Muscle adaptation to extreme endurance training in man. *Acta Physiol. Scand.* 100: 315-324, 1977.

Kadi, F.; Eriksson, A.; Holmner, S.; Butler-Browne, G. S. & Thornell, L-E. Cellular adaptation of the trapezius muscle in strength-trained athletes. *Histochem Cell Bio.* 111: 189-195, 1999.

Luginbuhl, A. J. & Dudley, G. A. Fiber type changes in rat skeletal muscle after intense interval training. *Histochemistry* 81: 55-58, 1984.

Pette, D. & Staron, R. S. The continuum of pure and hybrid myosin heavy chain based types in rat skeletal muscle. *Histochemistry* 100: 149-153, 1993.

Pette, D. & Staron, R. S. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int. Rev. Cytol.* 170: 143-223, 1997.

Pette, D. & Staron, R. S. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc. Res. Tech.* 50: 500-509, 2000.

Pette, D. & Staron, R. S. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochem. Cell Biol.* 115: 359-372, 2001.

Powers, S. K.; Criswell, D.; Lawler, J.; Martin, D.; Ji, L. L.; Herb, R. A. & Dudley, G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 266: R375-R380, 1994.

Saltin, B. & Gollnick, P. D. Skeletal muscle adaptability: significance for metabolism and performance. In: Peachey, L. D.; Adrian, R. H.; Geiger, S. R. (eds) *Handbook of physiology*, section 10. *Skeletal muscle*. Williams and Wilkins, Baltimore, pp 555-631, 1983.

Schantz, P. & Henriksson, J. Increases in myofibrillar ATPase intermediate human skeletal muscle fibers in response to endurance training. *Muscle Nerve* 6: 553-556, 1983.

Schantz, P. G. & Dhoot, G. K. Coexistence of slow and fast isoforms of contractile and regulatory proteins in human skeletal muscle fibres induced by endurance training. *Acta Physiol Scand.* 131: 147-154, 1987.

Schiaffino, S.; Gorza, L.; Sartore, S.; Saggin, L.; Vianello, M.; Gundersen, K. & Lomo, T. Three myosin heavy chain isoforms in type 2 muscle fibers. *J. Muscle Res. Cell. M.* 10: 197-205, 1989.

Schiaffino, S. & Reggiani, C. Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 77: 493-501, 1994.

Schiaffino, S. & Reggiani, C. Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance. *Physiol. Rev.* 76: 371-423, 1996.

Simoneau, J. A.; Lortie, G.; Boulay, M. R.; Marcotte, M.; Thibault, M-C. & Bouchard, C. Human skeletal muscle fiber type alteration with high-intensity intermittent training. *Eur. J. Appl. Physiol.* 54: 250-253, 1985.

Staron, R. S.; Kraemer, W. J.; Hikida, R. S.; Fry, A. C.; Murray, J. D. & Campos, G. E. R. Fiber type composition of four hindlimb muscles of adult fisher 344 rats. *Histochem. Cell. Biol.* 111: 117-123, 1999.

Sullivan, V.; Powers, S; Criswell, D; Turner, N.; LaRochelle, J. & Lowenthal, D. Myosin heavy chain composition in young and old rat skeletal muscle: effects of endurance exercise. *J. Appl. Physiol.* 78: 2115-2120, 1995.

Talmadge, R. J. & Roy, R. R. Electrophoretic separation of rat skeletal muscle myosin heavy-chain isoforms. *J. Appl. Physiol.* 75: 2337-2340, 1993.

Terjung, R. L. & Hood, D. A. Biochemical adaptations in skeletal muscle induce by exercise training. In: Layman, D. K. (ed) Nutrition and aerobic exercise. Am. Chem. Soc. Washington, pp. 8-27, 1986.

TRABALHO A SER SUBMETIDO À PUBLICAÇÃO

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO DE LONGA DURAÇÃO NOS MÚSCULOS
ESQUELÉTICOS DE RATOS**

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO DE LONGA DURAÇÃO NOS MÚSCULOS ESQUELÉTICOS DE RATOS

RESUMO

Os efeitos do exercício físico de longa duração nos músculos esqueléticos foram avaliados em 30 ratos Wistar machos com 25 dias de idade. Os animais foram divididos em 2 grupos: treinados (GT, n=21) e sedentários (GS, n=9). O grupo GT foi subdividido em 3 grupos: GTI, GTII, e GTIII, n=7 em cada grupo, e o GS também foi subdividido em 3 grupos: GSI, GSII, e GSIII, n=3. Os animais do GT (I, II e III) realizaram exercício de corrida por 3, 6, 9 semanas, respectivamente. Os animais dos grupos sedentários permaneceram sem qualquer exercício. Após o período experimental os animais foram anestesiados e os músculos sóleo (SOL), extensor longo dos dedos (EDL) e plantar (PL) foram retirados, pesados e analisados pela técnica histoquímica da mATPase para a observação de possíveis alterações. O grupo GTIII apresentou aumento significativo nos valores absolutos do peso muscular quando comparado aos grupos GTI e GTII. Houve aumento na distribuição das fibras musculares do tipo I e diminuição das fibras dos tipos IIC e IIA no músculo SOL, e aumento das fibras do tipo IIA, com diminuição das fibras do tipo IID e IIB no músculo EDL. No músculo PL houve aumento das fibras do tipo IIA e IIAc com diminuição das fibras do tipo IID. Estes resultados revelam que o exercício físico causa alterações na distribuição dos tipos de fibras em músculos esqueléticos de ratos. As fibras se adaptam de acordo com a exigência da atividade física de modo a alcançar um melhor desempenho.

INTRODUÇÃO

Os músculos esqueléticos em geral são constituídos por vários tipos de fibras que possuem diferentes propriedades metabólicas e contráteis. A miosina constitui uma das principais proteínas musculares e está relacionada à velocidade de contração da fibra muscular. A expressão de uma ou mais isoformas de miosina determina os vários tipos de fibras. A isoforma lenta é denominada Myosin Heavy Chain I (MHC_I) e as rápidas são denominadas: MHC_{IIa}, MHC_{IId} e MHC_{IIb}. Existem também as fibras chamadas híbridas

que expressam duas ou mais isoformas de miosina: IIC, IIAC, IIAD, IIDC, IIIDB e IIIBD. Esta diversidade de fibras permite ao músculo ajustar-se continuamente às necessidades funcionais conferindo-lhe considerável plasticidade. Vários fatores tais como o exercício físico, a estimulação elétrica, a desnervação e reinervação, o envelhecimento, os hormônios, são estímulos que podem influenciar no fenótipo de músculos esqueléticos de mamíferos (Pette & Staron, 2001).

~~Geralmente, as adaptações musculares que ocorrem em resposta ao aumento da atividade neuromuscular através do treinamento físico são qualitativamente similares mas quantitativamente menores do que a resposta adaptativa da Estimulação Crônica de Baixa-Freqüência (CLFS). A maioria dos protocolos de treinamento de longa duração tem uma resposta menos intensa no músculo quando comparada com a CLFS. Na maioria dos estudos que usaram treinamento de longa duração, a principal resposta adaptativa foi o aumento da capacidade enzimática aeróbica-oxidativa para obtenção de energia (Holloszy & Booth, 1976; Saltin & Gollnick, 1983; Terjung & Hood, 1986; Henriksson, 1992; Booth & Baldwin, 1996).~~

Apesar dos exercícios de longa duração induzirem a transição nos tipos de fibras de rápidas para lentas, a extensão dessas mudanças nunca alcança o nível daquelas induzidas pela CLFS. Transição de fibras demonstrada por exercícios de longa duração e força concentram-se apenas em alterações de fibras rápidas, isto é, mudanças de fibras do tipo IIB para o tipo IIA (Andersen & Henriksson, 1977; Jansson & Kaijser, 1977; Green et al., 1979). A alta intensidade de treinamento pode, entretanto, causar transição além da população de fibras rápidas (Jansson & Kaijser, 1977; Schantz & Henriksson, 1983; Green et al., 1984; Luginbuhl & Dudley, 1984; Simoneau et al., 1985; Howald et al., 1985; Schantz & Dhoot, 1987; Kadi et al., 1999; Demirel et al., 1999).

Está bem estabelecido que o exercício de longa duração promove numerosas adaptações no músculo esquelético incluindo um aumento da capacidade oxidativa e antioxidante das fibras (Fitts et al., 1975; Holloszy & Booth, 1976; Powers et al., 1994). Além disso, também está estabelecida a relação dose-resposta entre intensidade do exercício, duração e mudanças promovidas pelo treinamento (Fitts et al., 1975; Dudley; Abraham & Terjung, 1982; Powers et al., 1994). Entretanto, numerosas questões ainda

persistem quanto ao efeito do treinamento de longa duração nas isoformas de miosina. Apesar de haver evidências de que o exercício de longa duração promove alterações no fenótipo dos músculos esqueléticos (Baumann et al., 1987; Sullivan et al., 1995), a diversidade de fibras de um mesmo músculo lhe confere a propriedade de alterar suas características diante de um estímulo específico, promovendo adaptações no seu sistema energético e miofibrilar. As fibras se adaptam de acordo com a exigência das atividades de modo a alcançar um melhor desempenho na sua execução. Assim sendo, foi de interesse analisar os músculos sóleo (SOL), extensor longo dos dedos (EDL) e plantar (PL) de ratos durante um período de 9 semanas de treinamento. O músculo SOL é um músculo de contração lenta, com a maioria de fibras do tipo I, já os músculos EDL e PL são músculos de contração rápida, com quase a totalidade de fibras do tipo II. Portanto o objetivo do presente estudo foi analisar as possíveis alterações no peso e no fenótipo dos músculos SOL, EDL e PL de ratos ao longo de 9 semanas de treinamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 30 ratos Wistar machos com 25 dias de idade provenientes do Centro de Bioterismo da UNICAMP. Os animais foram divididos em 2 grupos: treinados (GT, n=21) e sedentários (GS, n=9). O grupo treinado foi subdividido em 3 grupos com 7 animais: GTI, GTII, e GTIII. O grupo sedentário também foi subdividido em 3 grupos com 3 animais: GSI, GSII, e GSIII. Os animais foram mantidos em ambiente controlado a uma temperatura constante de 22°C e alimentados com uma dieta padrão de água e ração à vontade.

Seleção dos animais para treinamento

Assim que os animais chegaram ao local do estudo foi realizado um protocolo de seleção de 5 dias para identificação daqueles que formariam os grupos treinados e os grupos sedentários. Os 30 animais com 25 dias de idade foram separados em 3 grupos: GI,

GII e GIII. No primeiro dia da seleção os 3 grupos foram mantidos em suas respectivas gaiolas e colocados ao lado da esteira em funcionamento durante 20 minutos para adaptação ao ruído. No segundo dia este procedimento foi repetido e em seguida os 10 animais de cada grupo foram colocados na esteira desligada por 10 minutos. No terceiro dia repetiu-se o procedimento do dia anterior. No quarto dia, além dos procedimentos anteriores, os animais de cada grupo foram distribuídos nas raias da esteira ligada e mantida a uma velocidade mínima por 3 a 5 minutos. Os animais mais ativos passaram a ser identificados. No quinto dia foi realizado o mesmo procedimento do dia anterior e os animais com maior disposição física foram separados para formar os grupos dos treinados.

Treinamento

Os animais foram treinados no Departamento de Anatomia da UNICAMP em uma esteira elétrica com raias para sete animais. Os animais de cada grupo treinado foram numerados e treinaram sempre nas mesmas raias. Os animais dos grupos GTI, GTII e GTIII tiveram um período de adaptação à esteira de uma semana. Neste período eles correram a uma velocidade mínima de 10 m/min com tempo crescente de 5 a 20 minutos. Esta adaptação foi realizada por 5 dias. Após o período de adaptação os animais iniciaram o período de exercício físico a uma velocidade sub máxima, sem inclinação e tempo crescente. Os treinos foram realizados 5 dias por semana durante 3, 6 e 9 semanas para os grupos: GTI, GTII e GTIII, respectivamente. Na 1^a semana os animais correram 25 minutos a 11m/min, na 2^a semana 30 minutos a 11m/min, na 3^a semana 35 minutos a 11 m/min, na 4^a semana 40 minutos a 12 m/min, na 5^a semana 45 minutos a 13 m/min, na 6^a semana 50 minutos a 14 m/min, na 7^a semana 55 minutos a 15 m/min e na 8^a semana foram 60 minutos a 17 m/min. Os animais não necessitaram de qualquer estímulo direto para concluirem o treinamento de cada dia. A velocidade e o tempo foram aumentados sempre no último dia de cada semana e os animais treinaram sempre no mesmo período do dia, entre 13:00 e 15:00 horas. Os animais dos grupos sedentários permaneceram sem qualquer atividade física.

Preparação das amostras

Imediatamente após os períodos de treinamento determinados (3, 6 e 9 semanas) os animais foram anestesiados e tiveram seu músculo sóleo (SOL), extensor longo dos dedos (EDL) e plantar (PL) da pata traseira direita retirados e pesados. A seguir os animais foram sacrificados por aprofundamento da anestesia. Posteriormente, uma amostra de cada músculo foi retirada e congelada em isopentano resfriado em nitrogênio líquido a -159°C.

As amostras foram armazenadas em freezer a -80°C para posteriores análises.

Os músculos foram levados para um criostato a -24°C onde permaneceram por uma hora antes de serem cortados. Foram obtidos cortes de 12 µm de espessura. Os cortes foram colocados em lamínulas de forma que se tivesse pelo menos dois cortes de cada músculo do mesmo animal. As lamínulas permaneceram armazenadas em freezer a -80°C até que se obtivesse todos os cortes para que fossem submetidos às reações histoquímicas simultaneamente.

Histoquímica

Os principais tipos e subtipos de fibras musculares (I, IC, IIC, IIA, IIAD, IID, IIIB e IIIC) foram delineados utilizando-se a técnica histoquímica da mATPase (miofibrillar adenosine triphosphatase) (Pette & Staron, 1993) após pré incubação em pH de 4.3, 4.6 (Brooke & Kaiser, 1970), e 10.4 (Guth & Samaha, 1970). Foram feitos alguns ajustes nos referidos pHs em função da diversidade existente entre músculos de animais de espécies diferentes. A seguir foram feitas fotos de dois campos do corte em pH 4.6 que em conjunto com a observação dos cortes nos pHs 4.3 e 10.4 foi determinado o número e a porcentagem de cada tipo de fibra nos músculos estudados.

Estatística

Os dados foram submetidos ao teste estatístico ANOVA, Comparação de Porcentagens Observadas e Analise de Variância seguida pelo Teste de Comparação de Média de Tukey dos grupos, sendo adotado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Peso dos músculos

O peso relativo dos músculos dos animais do grupo GTI foram comparados com o respectivo GSI e pôde-se observar que somente o músculo EDL apresentou queda significativa ($p<0,05$). O músculo SOL apresentou aumento do peso relativo porém não significativo ($p>0,05$), enquanto o músculo PL apresentou diminuição não significativa ($p>0,05$) do peso relativo nos animais submetidos ao treinamento de longa duração (Tabela 1).

Assim, comparado-se os grupos GTII e GSII, encontrou-se um valor menor significativo ($p<0,05$) do peso relativo dos músculos SOL, EDL e PL. O grupo GTIII quando comparado com o respectivo GSIII observa-se aumento significativo ($p<0,05$) do peso relativo dos músculos EDL e PL, e o músculo SOL apresentou aumento porém não significativo ($p>0,05$).

Tipos de fibras musculares

Os tipos de fibras musculares (I, IC, IIC, II A, IIAD, IID, II DB e II B), foram delineados (Figura 1) e a porcentagem obtida através da contagem das fibras nos campos analisados.

Assim, comparando-se a distribuição dos tipos de fibras do músculo SOL entre os grupo GTI e GSI, houve um aumento significativo ($p<0,05$) das fibras do tipo I, IIC (93,62%, 2,73%) e queda significativa ($p<0,05$) das fibras do tipo II A (3,18%) quando comparadas ao grupo sedentário. No grupo GTII e GSII, houve um aumento significativo ($p<0,05$) das fibras do tipo I (99,72%) e uma queda significativa ($p<0,05$) das fibras II A e IIC (0,00% e 0,27%). O grupo GTIII apresentou aumento significativo ($p<0,05$) das fibras do tipo I (97,63%) com diminuição significativa ($p<0,05$) das fibras II A e IIC (1,36% e

0,99%), respectivamente, quando comparado ao grupo GSIII. Quanto a distribuição das fibras do tipo IC no músculo SOL entre os grupos não foram significativas ($p>0,05$) (Tabela 2).

Quanto a distribuição das fibras do músculo SOL entre os grupos treinados GTI, GTII e GTIII pôde-se observar que as fibras do tipo I apresentaram um aumento significativo ($p<0,05$) após 3 e 6 semanas de treinamento (93,62% e 99,72) e após 9 semanas uma diminuição significativa ($p<0,05$) (97,63%). As fibras do tipo II A apresentaram um aumento significativo ($p<0,05$) após 3 semanas (3,18%), uma diminuição significativa ($p<0,05$) após 6 semanas de treinamento (0,00%) e após 9 semanas um aumento significativo ($p<0,05$) (1,36%). A distribuição das fibras do tipo IC e IIC não foram significativas ($p>0,05$) entre os grupos treinados ao longo das 9 semanas (Tabela 2).

Para o músculo EDL o grupo GTI apresentou aumento significativo ($p<0,05$) de fibras do tipo IID, II A e I (31,38%, 25,72% e 8,76%) com diminuição significativa ($p<0,05$) das fibras IIB e II DB (24,56% e 8,92%) quando comparadas ao grupo GSI. No grupo GTII as fibras tipo IIAD (1,22%) apresentou diminuição, porém não significativa ($p>0,05$). quando comparadas ao grupo GSII, enquanto que as fibras do tipo I, II A, IID e II DB (3,71%, 19,53%, 22,80% e 4,72%) diminuíram significativamente ($p<0,05$) e a fibra do tipo IIB (48,00%) aumentou significativamente ($p<0,05$). O grupo GTIII apresentou diminuição significativa ($p<0,05$) das fibras do tipo IIB e IID (26,37% e 25,58%) e aumento significativo ($p<0,05$) das fibras II A, IIAD e II DB (30,39%, 3,37% e 7,09%) quando comparado ao grupo GSIII. Quanto às fibras do tipo I (6,72%) houve queda, porém não significativa ($p>0,05$) dentro do grupo (Tabela 3). A distribuição dos tipos de fibras do músculo EDL entre os grupos treinados GTI, GTII e GTIII apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) após 3 , 6 e 9 semanas de treinamento das fibras do tipo I, II A, IIB, IID e II DB. As fibras do tipo IIAD não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) entre os grupos treinados ao longo das 9 semanas (Tabela 3).

A distribuição das fibras do tipo IIC no músculo PL analisado não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos GTI e GSI, porém apresentou aumento significativo ($p<0,05$) das fibras do tipo I e IIB (13,74% e 33,36%) e queda significativa ($p<0,05$) das fibras do tipo II A, IIAD, IID e II DB (16,66%, 3,45%, 28,62% e 3,70%) No

grupo GTII houve aumento significativo ($p<0,05$) de fibras de tipo IID e IIAD (26,88% e 4,17%), diminuição não significativa ($p>0,05$) das fibras do tipo I, IIA e IIB (6,56%, 16,87% e 42,04%) e aumento não significativa ($p>0,05$) das fibras do tipo IIDB em relação ao grupo GSII. O grupo GTIII apresentou o aumento significativo ($p<0,05$) de fibras do tipo IIAD e IIB (8,15% e 30,67%) com queda significativa ($p<0,05$) das fibras do tipo I, IIA e IID (10,14%, 22,08% e 24,81%). As fibras do tipo IIDB não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) quando comparadas ao grupo GSIII (Tabela 4). A distribuição dos tipos de fibras do músculo PL entre os grupos treinados GTI, GTII e GTIII apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) após 3, 6 e 9 semanas de treinamento das fibras do tipo I, IIB e IID. As fibras do tipo IIC, IIA, IIAD e IIDB não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) entre os grupos treinados ao longo das 9 semanas (Tabela 4).

DISCUSSÃO

Peso dos músculos

Toda atividade física produz estímulos para aumento da massa muscular contrapondo-se ao sedentarismo que leva à diminuição progressiva do volume dos músculos esqueléticos (McCall et al, 1996). As sobrecargas funcionais que ocorrem no músculo esquelético em atividade podem ser: sobrecarga tensional e sobrecarga metabólica. Sobrecarga tensional refere-se ao aumento de tensão no músculo em atividade, que é diretamente proporcional a resistência oposta ao movimento e ao grau de ativação dos mecanismos contráteis. Sobrecarga metabólica, no caso do tipo energética, designa o aumento de atividade dos processos de produção de energia. Ambas as sobrecargas contribuem para o aumento de volume dos músculos esqueléticos, por diferentes mecanismos (McCall et al, 1996). A adaptação do organismo estimulado pela sobrecarga tensional é a síntese de proteína contrátil miofibrilar, sendo este mecanismo mais importante para a hipertrofia do músculo esquelético. Do ponto de vista funcional, a

qualidade de aptidão paralelamente estimulada é a força, ou seja, a capacidade contrátil dos músculos (Dudley et al, 1982; Bigard et al, 1999; Carter et al, 2001; McAinch et al, 2003).

A sobrecarga metabólica dos exercícios também contribui para a hipertrofia da fibra muscular principalmente devido ao estímulo para o aumento do volume e número das mitocôndrias e ao acúmulo de glicogênio e água. O maior estímulo à vascularização, próprio da sobrecarga metabólica, embora extracelular, também contribui para o volume dos músculos (Tarpennig et al, 2004). Paralelamente existe o aumento da resistência aeróbica ou anaeróbica, dependendo do tipo de esforço envolvido no treinamento. A quantidade de glicogênio pode triplicar nos músculos adequadamente treinados, e considerando-se que por razões de hidratações moleculares, cada grama de glicogênio carreia quase três gramas de água, comprehende-se assim o grande aumento do conteúdo de água intracelular resultante do processo. Por razões diversas, a sobrecarga metabólica anaeróbica associa-se com maior grau de hipertrofia muscular do que a aeróbica (Stone et al, 1996; Tarpennig et al, 2004). As mitocôndrias e a vascularização aumentam na sobrecarga metabólica anaeróbica em função da ativação paralela do metabolismo aeróbico. A consistência do músculo aumenta proporcionalmente ao grau de sobrecarga metabólica, em função da saturação de glicogênio e água (Widrick et al, 2002; McAinch et al, 2003).

Um aspecto que pode ser mal interpretado quando se compararam os efeitos dos exercícios de força e dos exercícios aeróbicos é a distribuição da composição corporal. Neste trabalho o aumento da massa muscular (MM) pôde ter compensado em peso a diminuição da massa gorda (MG) A massa gorda consiste de todos os lipídios e a massa magra inclui água, proteínas, e componentes minerais (Vívolo & Fioretti, 1999). Os resultados demonstraram diminuição do peso relativo dos músculos: SOL, EDL e PL, nos grupos GTI e GTII. No grupo GTIII o peso relativo dos músculos: SOL, EDL e PL, aumentaram pois em todas as formas de atividade física ocorrem as sobrecarga tensional e metabólica no músculo esquelético. No caso dos exercícios de longa duração, tal como corrida, quanto maior a velocidade dos movimentos maior a sobrecarga tensional e maior o grau de anaerobiose do esforço. Por esta razão, velocistas em geral apresentam aumento da massa muscular (McAinch et al, 2003; Tarpennig et al, 2004).

Tipos de fibras musculares

A diversidade de fibras permite ao músculo adaptações no seu sistema miofibrilar para ajustar-se continuamente as necessidades funcionais. A capacidade do músculo de adaptar-se a um determinado estímulo é denominada plasticidade muscular (Pette & Staron, 2000, 2001; Baldwin & Haddad, 2001).

Ao considerar o exercício físico de longa duração, neste estudo houve alteração significativa ($p<0,05$) na distribuição dos tipos de fibras musculares, quando comparadas entre os grupos GT e GS com tendência ao aumento de fibras do tipo I e diminuição das fibras dos tipos IIC e IIA no músculo SOL. O músculo EDL apresentou a tendência ao aumento das fibras do tipo IIA, com diminuição das fibras do tipo IIB e IID e o músculo PL revelou tendência ao aumento de fibras do tipo IIA e IIAD com queda das fibras do tipo IID. Estes resultados revelam que o exercício físico causa alterações na distribuição dos tipos de fibras em músculos esqueléticos de ratos, e que as fibras musculares possuem a capacidade de adaptar-se a um determinado estímulo sem modificar a sua composição ou alterar a característica de cada músculo (Hawley, 2002; McAinch et al, 2003; Tarpenning et al, 2004). No músculo SOL predominam as fibras do tipo I e nos músculos EDL e PL predominam as fibras do tipo II (Wahrmann; Winand & Rieu, 2001; Widrick et al, 2002), após o período de treinamento com exercício de longa duração observou-se uma diferença significativa ($p<0,05$) na distribuição dos tipos de fibras entre os grupos GTI, GTII e GTII dos músculos SOL, EDL e PL que identificariam as adaptações dos músculos ao exercício físico aplicado ao longo de 9 semanas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersen, P. & Henriksson, J.** Training induced changes in the subgroups of human type II skeletal muscle fibers. *Acta. Physiol. Scand.* 99: 123-125, 1977.

Baldwin, K. M. & Haddad, F. Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle invited review: effects of different activity and inactivity paradigms on myosin heavy chain gene expression in striated muscle. *J. Appl. Physiol.* 90: 345-357, 2001.

Baumann, H.; Jaggi, M.; Soland, F.; Howald, H. & Schaub, M. C. Exercise training induces transitions of myosin isoform subunits within histochemically typed human muscle fibers. *Pflügers Arch.* 409: 349-360, 1987.

Bigard, A. X.; Janmot, C.; Sanchez, H.; Serrurier, B.; Pollet, S. & d'Albis, A. Changes in myosin heavy chain profile of mature regenerated muscle with endurance training in rat. *Acta. Physiol Scand.* 165: 185-192, 1999.

Booth, F. W. & Baldwin, K. M. Muscle plasticity: energy demanding and supply processes. In: Peachey L. D., Adrian R. H., Geiger S. R. (eds) *Handbook of physiology*, section 12. Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 1075-1123, 1996.

Brooke, M. H. & Kaiser, K. K. Three "myosin adenosine triphosphatase" systems: the nature of their pH lability and sulphydryl dependence. *J. Histochem. Cytochem.* 18: 670-672, 1970.

Carter, S. L.; Rennie, C. D.; Hamilton, S. J. & Tarnopolsky. Changes in skeletal muscle in males and females following endurance training. *Can. J. Physiol Pharmacol.* 79: 386-392, 2001.

Demirel, H. A.; Powers, S. K.; Naito, H.; Hughes, M. & Coombes, J. S. Exercise-induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotype: dose-response relationship. *J Appl. Physiol.* 86: 1002-1008, 1999.

De Nardi, C.; Ausoni, S.; Moretti, P.; Gorza, L.; Velecca, M.; Buckingham, M. & Schiaffino, S. Type 2X-myosin heavy chain is coded by a muscle fiber type-specific and developmentally-regulated gene. *J. Cell. Biol.* 123: 823-835, 1993.

Dudley, G. A.; Abraham, W. A. & Terjung, R. L. Influence of exercise intensity and duration on biochemical adaptations in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 53: 844-850, 1982.

Fitts, R. H.; Booth, F. W.; Winder, W. W. & Holloszy, J. O. Skeletal muscle respiratory capacity, endurance, and glycogen utilization. *Am. J. Physiol.* 228: 1029-1033, 1975.

Green, H. J.; Thomson, J. A.; Daub, W. D.; Houston, M. E. & Ranney, D. A. Fiber composition, fiber size and enzyme activities in vastus lateralis of elite athletes involved in high intensity exercise. *Eur. J. Appl Physiol* 41: 109-117, 1979.

Green, H. J.; Klug, G. A.; Reichmann, H.; Seedorf, U.; Wiehrer, W. & Pette, D. Exercise-induced fibre type transitions with regard to myosin, parvalbumin, and sarcoplasmic reticulum in muscles of the rat. *Pflügers Arch.* 400: 432-438, 1984.

Guth, L. & Samaha, F. J. Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. *Exp. Neurol.* 28: 365-367, 1970.

Hawley, J. A. Adaptations of skeletal muscle to prolonged, intense endurance training. *Clin. Exp. Pharmacol Physiol.* 29: 218-222, 2002.

Henriksson, J. Effects of physical training on the metabolism of skeletal muscle. *Diabetes Care* 15: 1701-1711, 1992.

Holloszy, J. O. & Booth, F. W. Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. *Annu. Rev. Physiol.* 38: 273-291, 1976.

Howald, H.; Hoppeler, H.; Claassen, H.; Mathieu O. & Straub, R. Influence of endurance training on the ultrastructural composition of the different muscle fiber types in humans. *Pflügers Arch.* 403: 369-376, 1985.

Jansson, E. & Kaijser, L. Muscle adaptation to extreme endurance training in man. *Acta Physiol. Scand.* 100: 315-324, 1977.

Kadi, F.; Eriksson, A.; Holmner, S.; Butler-Browne, G. S. & Thornell, L-E. Cellular adaptation of the trapezius muscle in strength-trained athletes. *Histochem Cell Bio.* 111: 189-195, 1999.

Luginbuhl, A. J. & Dudley, G. A. Fiber type changes in rat skeletal muscle after intense interval training. *Histochemistry* 81: 55-58, 1984.

McAinch, A. J.; Lee, J. S.; Bruce, C. R.; Tunstall, R. J.; Hawley, J. A. & Cameron-Smith, D. Dietary regulation of fat oxidative gene expression in different skeletal muscle fiber types. *Obes. Res.* 11: 1471-1479, 2003.

McCall, G. E.; Byrnes, W. C.; Dickinson, A.; Pattany, P. M. & Fleck, S. J. Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training. *J. Appl. Physiol.* 81: 2004-2012, 1996.

Pette, D. & Staron, R. S. The continuum of pure and hybrid myosin heavy chain based types in rat skeletal muscle. *Histochemistry* 100: 149-153, 1993.

Pette, D. & Staron, R. S. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int. Rev. Cytol.* 170: 143-223, 1997.

Pette, D. & Staron, R. S. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc. Res. Tech.* 50: 500-509, 2000.

Pette, D. & Staron, R. S. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochem. Cell Biol.* 115: 359-372, 2001.

Powers, S. K.; Criswell, D.; Lawler, J.; Martin, D.; Ji, L. L.; Herb, R. A. & Dudley, G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 266: R375-R380, 1994.

Saltin, B. & Gollnick, P. D. Skeletal muscle adaptability: significance for metabolism and performance. In: Peachey, L. D.; Adrian, R. H.; Geiger, S. R. (eds) *Handbook of physiology*, section 10. Skeletal muscle. Williams and Wilkins, Baltimore, pp 555-631, 1983.

Schantz, P. & Henriksson, J. Increases in myofibrillar ATPase intermediate human skeletal muscle fibers in response to endurance training. *Muscle Nerve* 6: 553-556, 1983.

Schantz, P. G. & Dhoot, G. K. Coexistence of slow and fast isoforms of contractile and regulatory proteins in human skeletal muscle fibres induced by endurance training. *Acta Physiol Scand.* 131: 147-154, 1987.

Schiaffino, S.; Gorza, L.; Sartore, S.; Saggin, L.; Vianello, M.; Gundersen, K. & Lomo, T. Three myosin heavy chain isoforms in type 2 muscle fibers. *J. Muscle Res. Cell. M.* 10: 197-205, 1989.

Schiaffino, S. & Reggiani, C. Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 77: 493-501, 1994.

Schiaffino, S. & Reggiani, C. Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance. *Physiol. Rev.* 76: 371-423, 1996.

Simoneau, J. A.; Lortie, G.; Boulay, M. R.; Marcotte, M.; Thibault, M-C. & Bouchard, C. Human skeletal muscle fiber type alteration with high-intensity intermittent training. *Eur. J. Appl. Physiol.* 54: 250-253, 1985.

Staron, R. S.; Kraemer, W. J.; Hikida, R. S.; Fry, A. C.; Murray, J. D. & Campos, G. E. R. Fiber type composition of four hindlimb muscles of adult fisher 344 rats. *Histochem. Cell. Biol.* 111: 117-123, 1999.

Stone, J.; Brannont, T.; Haddad, F.; Qin, A. & Baldwin, K. M. Adaptive responses of hypertrophying skeletal muscle to endurance training. *J. Appl. Physiol.* 81: 665-672, 1996.

Sullivan, V.; Powers, S; Criswell, D; Turner, N.; LaRochelle, J. & Lowenthal, D. Myosin heavy chain composition in young and old rat skeletal muscle: effects of endurance exercise. *J. Appl. Physiol.* 78: 2115-2120, 1995.

Talmadge, R. J. & Roy, R. R. Electrophoretic separation of rat skeletal muscle myosin heavy-chain isoforms. *J. Appl. Physiol.* 75: 2337-2340, 1993.

Tarpenning, K. M.; Hamilton-Wessler, M.; Wiswell, R. A. & Hawkins, S. A. Endurance training delays age of decline in leg strength and muscle morphology. *Med. Sci. Sports Exerc.* 36: 74-78, 2004.

Terjung, R. L. & Hood, D. A. Biochemical adaptations in skeletal muscle induce by exercise training. In: Layman, D. K. (ed) Nutrition and aerobic exercise. Am. Chem. Soc. Washington, pp. 8-27, 1986.

Vívolo, Marco Antonio & Fioretti, Andréa Messias Brito. Metabolismo hormonal e de glicídeos nas atividades física e esportiva. IN. GHORAYEB, N.; BARROS NETO, T. L. O exercício: preparação fisiológica, avaliação médica, aspectos especiais e preventivos. São Paulo: Atheneu, 1999.

Wahrmann, J. P.; Winand, R. & Rieu, M. Plasticity of skeletal myosin in endurance-trained rats (I). A quantitative study. *Eur. J. Appl. Physiol.* 84: 367-372, 2001.

Widrick, J. J.; Stelzer, J. E.; Shoeppe, T. C. & Garner, D. P. Functional properties of human muscle fibers after short-term resistance exercise training. *Am J. Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 283: 408-416, 2002.

Figuras e Legendas

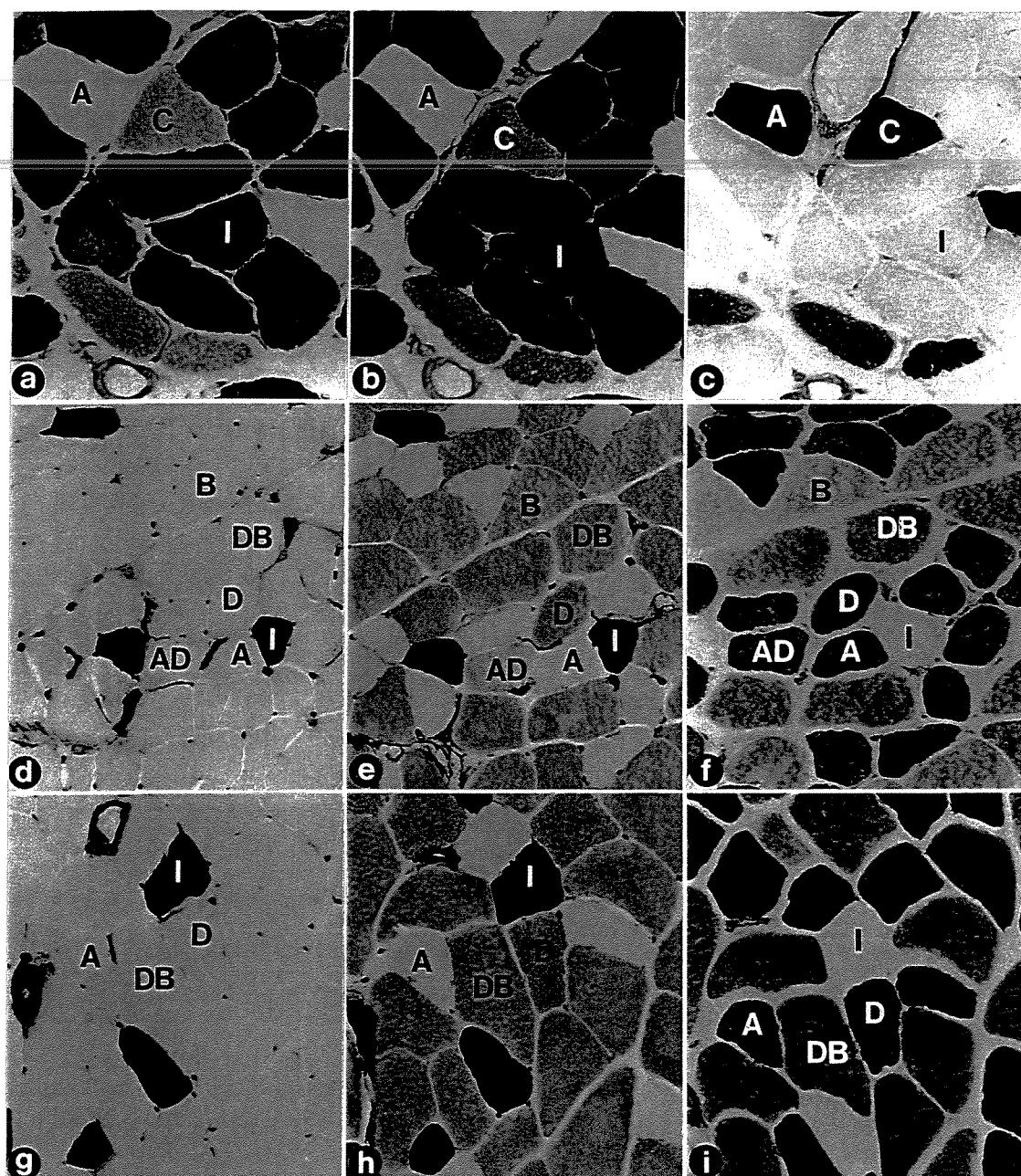


Figura 1. Reação histoquímica para mATPase em secções transversas seriadas do músculo sóleo (a, b, c), extensor longo dos dedos (d, e, f) e plantar (g, h, i) de ratos Wistar em pH 4.3 (a, d, g), 4.6 (b, e, h) e 10.4 (c, f, i). I-fibras do tipo I, C-IIIC, A-IIA, AD-IIAD, D-IID, DB-IIIB e B-IIB. Aum. 900x.

Tabela 1. Peso relativo (g) dos músculos SOL, EDL e PL dos animais dos grupos: GS e GT.

Grupos /Tratamentos	SOL	Músculos EDL	PL
GS I	0,105 ± 0,010 ^{aA}	0,135 ± 0,003 ^{bA}	0,300 ± 0,012 ^{bA}
GT I	0,110 ± 0,010 ^{bA}	0,128 ± 0,002 ^{aB}	0,284 ± 0,043 ^{aA}
GS II	0,140 ± 0,010 ^{dA}	0,153 ± 0,023 ^{deA}	0,350 ± 0,014 ^{deA}
GT II	0,127 ± 0,004 ^{cB}	0,136 ± 0,031 ^{bcB}	0,319 ± 0,014 ^{cB}
GS III	0,141 ± 0,021 ^{deA}	0,151 ± 0,000 ^{dA}	0,348 ± 0,010 ^{dA}
GT III	0,154 ± 0,023 ^{fA}	0,162 ± 0,023 ^{fb}	0,385 ± 0,011 ^{fb}

Valores em média ± SD. Letras distintas (minúsculas entre os grupos e maiúsculas dentro do grupo) em coluna, indicam diferença significativa ($P<0,05$).

Tabela 2. Distribuição dos tipos de fibras (I, IC, IIC, e IIA) (%) no músculo SOL dos animais dos grupos: GS e GT.

Grupos / Tratamento	Tipos de fibras (%)			
	I	IC	IIC	IIA
GSI	92,56 ^{aA}	0,27 ^{aA}	1,78 ^{bC}	5,43 ^{eB}
GTI	93,62 ^{bB}	0,45 ^{aA}	2,73 ^{dB}	3,18 ^{dA}
GSII	94,36 ^{bA}	0,00 ^{aA}	2,53 ^{cB}	3,09 ^{dB}
GTII	99,72 ^{dB}	0,00 ^{aA}	0,27 ^{aA}	0,00 ^{aA}
GSIII	93,61 ^{bA}	0,49 ^{aA}	3,31 ^{dB}	2,57 ^{cB}
GTIII	97,63 ^{cB}	0,00 ^{aA}	0,99 ^{abA}	1,36 ^{bA}

Letras distintas (minúsculas entre os grupos e maiúsculas dentro do grupo) em coluna, indicam diferença significativa ($P<0,05$).

Tabela 3. Distribuição dos tipos de fibras (I, IIA, IIAD, IID e IIIDB IIIB) (%) no músculo EDL dos animais dos grupos: GS e GT.

Grupos / Tratamentos	Tipos de fibras (%)					
	I	IIA	IIAD	IID	IIIDB	IIIB
GSI	4,05 ^{aA}	17,85 ^{aA}	2,93 ^{bC}	26,56 ^{cA}	10,17 ^{eB}	38,42 ^{dB}
GTI	8,76 ^{cB}	25,72 ^{eB}	0,63 ^{aA}	31,38 ^{eB}	8,92 ^{dA}	24,56 ^{aA}
GSII	7,54 ^{bB}	23,53 ^{dB}	1,25 ^{aA}	29,75 ^{dB}	5,81 ^{bB}	32,09 ^{cA}
GTII	3,71 ^{aA}	19,53 ^{bA}	1,22 ^{aA}	22,80 ^{aA}	4,72 ^{aA}	48,00 ^{eB}
GSIII	6,72 ^{bA}	21,61 ^{cA}	2,41 ^{bA}	32,36 ^{fB}	5,21 ^{abA}	31,65 ^{cB}
GTIII	7,18 ^{bA}	30,39 ^{fB}	3,37 ^{cB}	25,58 ^{bA}	7,09 ^{cB}	26,37 ^{bA}

Letras distintas (minúsculas entre os grupos e maiúsculas dentro do grupo) em coluna, indicam diferença significativa ($P<0,05$).

Tabela 4. Distribuição dos tipos de fibras (I, IIC, IIA, IIAD, IID, IIIDB e IIB) (%) no músculo PL dos animais dos grupos: GS e GT.

Grupos / Tratamentos	Tipos de fibras (%)						
	I	IIC	IIA	IIAD	IID	IIIDB	IIB
GSI	11,77 ^{cA}	0,13 ^{aA}	19,66 ^{bB}	4,70 ^{cB}	33,88 ^{fB}	5,40 ^{cB}	24,42 ^{bA}
GTI	13,74 ^{dB}	0,43 ^{aA}	16,66 ^{aA}	3,45 ^{bA}	28,62 ^{dA}	3,70 ^{bA}	33,36 ^{dB}
GSII	7,67 ^{bb}	0,79 ^{aA}	19,21 ^{bB}	1,41 ^{aA}	22,52 ^{aA}	2,39 ^{aA}	45,97 ^{fB}
GTII	6,56 ^{aA}	0,39 ^{aA}	16,87 ^{aA}	4,17 ^{bcB}	26,88 ^{cB}	3,05 ^{bA}	42,04 ^{eA}
GSIII	18,75 ^{eB}	0,76 ^{aA}	24,39 ^{dB}	6,61 ^{dA}	31,26 ^{eB}	3,84 ^{bA}	14,65 ^{aA}
GTIII	10,14 ^{bA}	0,31 ^{aA}	22,08 ^{cA}	8,15 ^{eB}	24,81 ^{bA}	3,81 ^{bA}	30,67 ^{cB}

Letras distintas (minúsculas entre os grupos e maiúsculas dentro do grupo) em coluna, indicam diferença significativa ($P<0,05$).

CONCLUSÕES GERAIS

Os efeitos do exercício físico de longa duração causaram alteração do peso relativo dos músculos: SOL, EDL e PL de ratos Wistar.

O exercício físico causa alterações significativas na distribuição das fibras em músculos esqueléticos de ratos Wistar.

ANEXOS

Protocolo de treinamento

Treinamento		
Semana	Tempo (min.)	Velocidade (m/min.)
1 ^a	25	11
2 ^a	30	11
3 ^a	35	11
4 ^a	40	12
5 ^a	45	13
6 ^a	50	14
7 ^a	55	15
8 ^a	60	17

Valores em média. Estatisticamente significativo ($P<0,05$).

Protocolo de identificação: + (orelha picotada); - (orelha não picotada); A (região anterior da orelha); P (região posterior da orelha).

Identificação dos animais		
Animais	Orelha direita	Orelha esquerda
1	-	-
2	-	+A
3	+A	+A
4	+A	-
5	-	+P
6	+P	+P
7	+P	-

