

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



200331927

Ricardo Noboro Isayama

**EFEITOS DA TESTOSTERONA EM MÚSCULOS ESQUELÉTICOS DE RATOS
JOVENS E SENIS**

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato (a) <u>Ricardo Noboro Isayama</u> 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.

A handwritten signature in black ink, likely belonging to the orientador.

Orientador: **Prof. Dr. Gerson Eduardo Rocha Campos**

UNICAMP
BIBLIOTECA

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

UNIDADE	BO
Nº CHAMADA	UNICAMP
Is 1e	
V	EX
TOMBO BCI	56042
PROC.	16-124/03
C	☐
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	09/10/03
Nº CPD	

CM00170402-5
Bib id 302185

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

Is1e

Isayama, Ricardo Noboro

Efeitos da testosterona em músculos esqueléticos de ratos jovens e senis /
Ricardo Noboro Isayama.--
Campinas, SP: [s.n.], 2003.

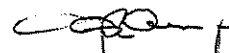
Orientador: Gerson Eduardo Rocha Campos
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas .
Instituto de Biologia.

1. Hormônio. 2. Envelhecimento. 3. Músculos. I. Campos, Gerson
Eduardo Rocha. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Biologia. III. Título.

Data da defesa: 07/08/2003

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gerson Eduardo Rocha Campos (Orientador)



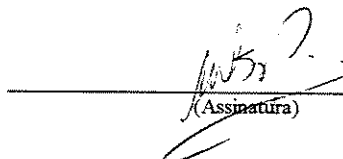
(Assinatura)

Profa. Dra. Maeli Dal Pai Silva



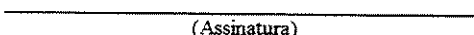
(Assinatura)

Profa. Dra. Maria Jose Salete Viotto

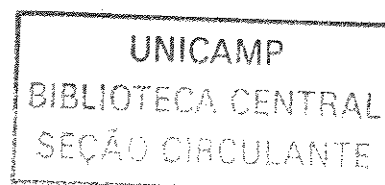


(Assinatura)

Profa. Dra. Tania de Fátima Salvini

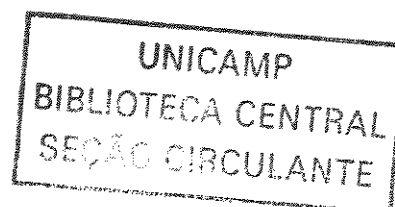


(Assinatura)



DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Jesus Cristo, meu Senhor e Salvador, por tudo que tens feito em minha vida. Obrigado Senhor, pelo teu sacrificio propiciatório, pois agora tenho a esperança do advento e a promessa da vida eterna juntamente com aqueles que te amam e guardam os teus mandamentos.



AGRADECIMENTOS

☞ *Aos meus pais Haruo Isayama e Maria Flora Rodrigues Isayama pelo amor e preciosos conselhos. A vocês meus sinceros agradecimentos.*

☞ *Aos Profs. Drs. Gerson Eduardo Rocha Campos e Maria Jose Salette Viotto, a quem devo meu aprendizado em pesquisas científicas. Obrigado pela amizade e profissionalismo.*

☞ *À Profa. Dra. Valéria Helena A. Cagnon Quitete pelo auxílio prestado em procedimentos experimentais com utilização de hormônios em animais de laboratório.*

☞ *Ao Prof. Dr. Jorge Oishi pelo auxílio estatístico.*

☞ *Aos amigos técnicos e funcionários do laboratório de Anatomia da UNICAMP, os Srs. Marco Aurélio R. de Paula, Ana Floriana Rodrigues, Norivaldo Celestino, Lourdes Pinheiro, Paulo Afonso Bernardes, Marlene Lima, Paulo Francisco dos Santos, Silvia Helena Burghi Kalaf e Carlos Roberto, pela amizade e auxílios prestados.*

☞ *Ao corpo docente do laboratório de Anatomia da UNICAMP, os Profs. Drs. Alexandre L. R. de Oliveira, Evanisi Teresa Palomari, Gerson Eduardo Rocha Campos, Humberto Santo Neto, José Ângelo Camilli, José Merciano Filho, Maria Júlia Marques, Marcos César Somazz, Valéria Helena A. Cagnon Quitete, Roberto de Oliveira Levy e Roberto Natalino Ricarte, pela dedicação ao ensino da Anatomia e pela amizade.*

☞ *Aos amigos de Pós-graduação do laboratório de Anatomia da UNICAMP pela amizade, pelos churrascos, aulas, seminários, palestras, estudos de anatomia e convívio diário. Valeu pessoal!*

☞ *Aos funcionários e corpo docente do Instituto de Biologia da UNICAMP pela seriedade profissional e amizade.*

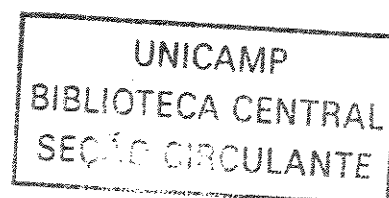
☞ Aos funcionários das Bibliotecas da UNICAMP pelo agradável convívio e auxílio bibliográfico prestado.

☞ À Profa. Dra. Inês Minniti Rodrigues Pereira e funcionários do Departamento de Radiologia do Hospital das Clínicas (UNICAMP) pela amizade e auxílio durante o estágio concedido junto a este Departamento. Meus sinceros agradecimentos.

☞ À CAPES pelo apoio financeiro que possibilitou a realização deste projeto de pesquisa.

☞ Aos professores indicados para compor a banca examinadora desta Tese de Mestrado, pela amizade e pelo auxílio científico prestado.

☞ Às pessoas que, de alguma forma, me auxiliaram nestes dois anos de Mestrado, pois o sucesso não vem através de uma só mão ou de uma só mente. Obrigado!



SUMÁRIO

I. RESUMO.....	01
II. INTRODUÇÃO GERAL.....	02
III. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	05
IV. TRABALHO A SER SUBMETIDO À PUBLICAÇÃO.....	10
Resumo.....	11
Introdução.....	11
Materiais e métodos.....	13
Resultados.....	14
Discussão.....	16
Referências bibliográficas.....	18
Figuras e legendas.....	23
V. CONCLUSÕES GERAIS.....	30
VI. ANEXOS.....	31

I. RESUMO

Os músculos esqueléticos de mamíferos são compostos por diferentes tipos de fibras que podem alterar seu fenótipo em razão de fatores tais como a desnervação, reinervação, exercício físico, envelhecimento, hormônios, etc. Assim sendo, o objetivo do trabalho foi analisar os possíveis efeitos da testosterona nos músculos Sóleo (SOL) e Extensor Longo dos Dedos (EDL) de ratos jovens e senis. Para isso, foram usados 20 ratos *Wistar* de 80 dias (10) e 1 ano de idade (10). Os animais foram divididos em 4 grupos: testosterona jovem (TJ, 6), testosterona senil (TS, 6), controle jovem (CJ, 4) e controle senil (CS, 4). Os grupos TJ e TS receberam 15 aplicações subcutâneas de cipionato de testosterona (5mg/kg) em dias alternados, enquanto os grupos controles receberam apenas o veículo. Após 30 dias, os animais foram sacrificados e tiveram seus músculos retirados e analisados pela técnica histoquímica da mATPase. Os dados obtidos foram submetidos aos testes ANOVA, Kruskal-Wallis e Post Hoc de Duncan com nível de significância de 5%. Os grupos TJ e TS apresentaram queda significativa de peso corpóreo sem alteração de peso relativo dos músculos. A testosterona não alterou significativamente a distribuição dos tipos de fibras musculares, mas apresentou tendência ($p>0.05$) à transição de fibras do tipo I para fibras dos tipos IIC, IIA e IIAD no músculo SOL e tendência ao aumento ($p>0.05$) das fibras do tipo IID, com diminuição ($p>0.05$) das fibras do tipo IIB, no músculo EDL. Houve aumento da área de secção transversal das fibras do tipo I no músculo SOL do grupo TJ. No músculo EDL, houve aumento da área das fibras dos tipos I e IIAD do grupo TJ e diminuição da área das fibras do tipo I do grupo TS. Estes resultados revelam que a testosterona não causa alterações significativas na distribuição dos tipos de fibras em músculos esqueléticos de ratos, apenas a área de secção transversal de alguns tipos de fibras sofrem alterações.

II. 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 ligada à porção globular da miosina (TALMADGE and ROY, 1993).

De acordo com a velocidade de hidrólise do ATP as fibras são classificadas em lentas e rápidas (SCHIAFFINO and REGGIANI, 1994), cada uma expressando uma determinada isoforma de miosina. A isoforma lenta é denominada MHCI (Myosin Heavy Chain) e as rápidas são denominadas MHCIIa, MHCIIId e MHCIIb (PETTE and 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 isoforma de miosina dos tipos I (MHCI), IIa (MHCIIa), IId (MHCIIId) 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, IIDB e IIBD, com isoformas de miosina dos tipos IC (MHCI > MHCIIa), IIC (MHCIIa = MHCI), IIAC (MHCIIa > MHCI), IIAD (MHCIIa > MHCIIId), IIDA (MHCIIId > MHCIIa), IIDB (MHCIIId > MHCIIb) e IIBD (MHCIIb > MHCIIId), respectivamente (STARON and PETTE, 1993; PETTE and STARON, 2000). Alguns pesquisadores denominam a fibra do tipo IID (MHCIIId) como sendo IIX (MHCIIx) (SCHIAFFINO et al., 1989; DE NARDI et al., 1993; SCHIAFFINO and 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 adaptar-se a um determinado estímulo é denominada plasticidade muscular. Fatores tais como o 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 (BALDWIN and HADDAD, 2001; PETTE and STARON, 2000; 2001).

O hormônio testosterona foi descoberto em 1889 como uma possível substância rejuvenecedora (HOBERMAN and YESALIS, 1995). Sendo produzido pelas células de Leydig dos testículos (95%) e pela cortical da glândula adrenal (5%), este hormônio é o principal responsável pelos efeitos androgênicos (GUYTON, 1993) e também por efeitos anabolizantes, capaz de estimular o desenvolvimento de certos órgãos como os rins, as glândulas salivares, o fígado e os músculos (URBAN, 1999).

Alguns trabalhos comprovam que a testosterona aumenta a massa (BARDIN, 1996; HIKIM et al., 2002), a força (URBAN, 1999; ARNOLD et al., 1996; BHASIN et al., 1996; TENOVER, 1997) e a endurance dos músculos, o que tem levado atletas de elite a utilizarem-na em seus regimes de treinamento físico, embora de forma questionável (HOBERMAN and YESALIS, 1995). Outros trabalhos relatam interferências ainda mais específicas da testosterona sobre os músculos esqueléticos (BASS et al., 1969; GUTMANN et al., 1970; BOISSONNEAULT et al., 1990; D'ALBIS et al., 1993; SIDOR and BLACKBURN, 1998; NNODIM, 1999; 2001). O músculo levantador do ânus, por exemplo, desaparece durante o desenvolvimento de ratas, porém pode ser mantido pelo uso da testosterona (HANZLÍKOVÁ et al., 1970). A expressão da isoforma tônica (MHCTon) na musculatura laríngea de rãs é controlada por fatores andrógenos (CATZ et al., 1995). A testosterona também causa diminuição na porcentagem de fibras do tipo I nos músculos gastrocnêmio, extensor longo dos dedos e sóleo de ratas (HOLMÄNG et al., 1990). Já em coelhas, este hormônio causa hipertrofia das fibras e leva a um metabolismo menos oxidativo do músculo tibial anterior, mas não dos músculos extensor longo dos dedos, plantar e sóleo (SALMONS, 1992).

O envelhecimento é outro fator relacionado a alterações no sistema muscular esquelético, normalmente acompanhado por uma pronunciada perda de massa, diminuição da força e aumento da fadigabilidade dos músculos (FORBES and REINA, 1970; DUTTA and HANDLEY, 1995; BALAGOPAL et al., 1997; MORLEY et al., 2001), eventos clinicamente conhecidos como sarcopenia (NAIR, 2000). O aumento aparente do número de fibras de contração lenta também está relacionado com o avanço da idade, devido a uma redução do número de fibras de contração rápida (LEXELL et al., 1988; PETTE and STARON, 1997; ANDERSEN et al., 2000). A testosterona, sendo considerada um potente anabolizante, tem sido usada em indivíduos idosos para bloquear ou retardar as perdas

musculares conseqüentes da sarcopenia (TENOVER, 1997; SNYDER et al., 1999; NAIR, 2000; BHASIN et al., 2001).

Até o momento, não encontramos trabalhos que relacionassem os efeitos da testosterona aos tipos de fibras de músculos esqueléticos de ratos senis. Considerando que este hormônio pode causar alterações específicas em diferentes animais, músculos e tipos de fibras musculares, o objetivo do presente trabalho foi analisar os possíveis efeitos da testosterona sobre os músculos SOL e EDL de ratos jovens e senis. A idéia foi verificar se o tratamento com altas doses deste hormônio aumentaria a porcentagem de fibras de contração rápida como acontece tipicamente em músculos que apresentam diferenças entre os sexos, chamados sexualmente dimórficos (PETTE and STARON, 1997; ENGLISH and SCHWARTZ, 2002), e se este mesmo tratamento poderia reverter o possível aumento da porcentagem das fibras de contração lenta, geralmente observado em animais mais velhos.

III. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSEN, J. L.; SCHJERLING, P.; SALTIN, B. Muscle, genes and athletic performance. Sci. Am., v. 238, n.3, p.30-37, 2000.

ARNOLD, A. M.; PERALTA, J. M.; THONNEY, M. L. Ontogeny of growth hormone, insulin-like growth factor-I, estradiol and cortisol in the growing lamb: effect of testosterone. J. Endocrinol., v.150, n.3, p.391-399, 1996.

BALAGOPAL, P.; ROOYACKERS, O. E.; ADEY, D. B.; ADES, P. A.; NAIR, K. S. Effects of aging on in vivo synthesis of skeletal muscle myosin heavy-chain and sarcoplasmic protein in humans. Am. J. Physiol. Endoc. M., v.36, n.4, p.E790-E800, 1997.

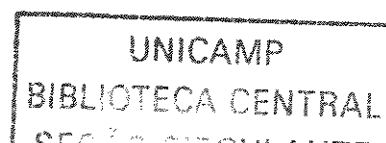
BALDWIN, K. M.; HADDAD, F. Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle invited review: effects of different activity and inactivity paradigms on myosin heavy chain gene expression in striated muscle. J. Appl. Physiol., v. 90, n. 1, p. 345-357, 2001.

BARDIN, C. W. The anabolic action of testosterone. New Engl. J. Med., v.335, n.1, p.52-53, 1996.

BASS, A.; GUTMANN, E.; HANZLÍKOVÁ, V.; HÁJEK, I.; SYROVÝ, I. Effects of castration and denervation upon contraction properties and metabolism of levator ani muscle of rat. Physiol. Bohemoslov., v.18, n.(3-4), p.177-194, 1969.

BHASIN, S.; STORER, T. W.; BERMAN, N.; CALLEGARI, C.; CLEVINGER, B.; PHILLIPS, J.; BUNNELL, T. J.; TRICKER, R.; SHIRAZI, A.; CASABURI, R. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. New Engl. J. Med., v.335, n.1, p.1-7, 1996.

BHASIN, S.; WOODHOUSE, L.; STORER, T. W. Proof of the effect of testosterone on skeletal muscle. J. Endocrinol., v. 170, n. 1, p. 27-38, 2001.



BOISSONNEAULT, G.; CHAPDELAINE, P.; TREMBLAY, R. R. Actin and creatine kinase mRNAs in rat levator ani and vastus muscle as a function of androgen status. J. Appl. Physiol., v.68, n.4, p.1548-1554, 1990.

CATZ, D. S.; FISCHER, L. M.; KELLEY, D. B. Androgen regulation of a laryngeal-specific myosin heavy chain mRNA isoform whose expression is sexually differentiated. Dev. Biol., v.171, n.2, p.448-457, 1995.

D'ALBIS, A.; COUTEAUX, R.; JANMOT, C.; MIRA, J. C. Opposite regulations by androgenic and thyroid hormones of V1-myosin expression in the two types of rabbit striated muscle skeletal and cardiac. FEBS Lett., v.318, n.1, p.53-56, 1993.

DE NARDI, C.; AUSONI, S.; MORETTI, P.; GORZA, L.; VELLECA, 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., v. 123, n. 4, p. 823-835, 1993.

DUTTA, C.; HANDLEY, E. C. The significance of sarcopenia in old age. J. Gerontol. A Biol., v.50, Sp, p.1-4, 1995.

ENGLISH, A. W.; SCHWARTZ, G. Development of sex differences in the rabbit masseter muscle is not restricted to a critical period. J. Appl. Physiol., v. 92, n. 3, p. 1214-1222, 2002.
FORBES, G. B.; REINA, J. C. Adult lean body mass declines with age: some longitudinal observations. Metabolism, v.19, n.9, p.653-663, 1970.

GUTMANN, E.; HANZLÍKOVÁ, V.; LOJDA Z. Effect of androgens on histochemical fibre type. Differentiation in the temporal muscle of the guinea pig. Histochemistry, v.24, n.4, p.287-291, 1970.

GUYTON, A. C. Funções reprodutivas masculinas, os hormônios sexuais masculinos, e a glândula pineal. In: _____. Fisiologia humana e mecanismos das doenças. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1993. 575p. p.512-519. ISBN 8527702703

HANZLÍKOVÁ, V.; SCHIAFFINO, S.; SETTEMBRINI, P. Histochemical fiber types characteristics in the normal and the persistent levator ani muscle of the rat. Histochemistry, v.22, n.1, p.45-50, 1970.

HIKIM, I. S.; ARTAZA, J.; WOODHOUSE, L.; GONZALEZ-CADAVID, N.; SINGH, A. B.; LEE, M. I.; STORER, T. W.; CASABURI, R.; SHEN, R. Q.; BHASIN, S. Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is associated with muscle fiber hypertrophy. Am. J. Physiol. Endocrinol. M., v. 283, n. 1, p. E154-E164, 2002.

HOBERMAN, J. M.; YESALIS, C. E. The history of synthetic testosterone. Sci. Am., v.272, n.2, p.60-65, 1995.

HOLMÄNG, A.; SVEDBERG, J.; JENNISCHE, E.; BJÖRNTORP, P. Effects of testosterone on muscle insulin sensitivity and morphology in female rats. Am. J. Physiol., v.259, n.4, p.E555-E560, 1990.

LEXELL, J.; TAYLOR, C. C.; SJÖSTRÖM, M. What is the cause of ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83- year-old men. J. Neurol. Sci., v.84, n.(2-3), p.275-294, 1988.

MORLEY, J. E.; BAUMGARTNER, R. N.; ROUBENOFF, R.; MAYER, J.; NAIR, K. S. Sarcopenia. J. Lab. Clin. Med., v. 137, n. 4, p. 231-243, 2001.

NAIR, K. S. Age-related changes in muscle. Mayo Clin. Proc., v.75, p.14-18, 2000.

NNODIM, J. O. Quantitative study of the effects of denervation and castration on the levator ani muscle of the rat. Anat. Rec. v. 255, n. 3, p. 324-333, 1999.

NNODIM, J. O. Testosterone mediates satellite cell activation in denervated rat levator ani muscle. Anat. Rec. v. 263, n. 1, p. 19-24, 2001.

PETTE, D.; STARON, R. S. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. Int. Rev. Cytol. v.170, p.143-223, 1997.

PETTE, D.; STARON, R. S. Myosin isoforms, muscle fiber types and transitions. Microsc. Res. Techniq. v.50, n.6, p.500-509, 2000.

PETTE, D.; STARON, R. S. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. Histochem. Cell Biol. v. 115, n. 5, p.359-372, 2001.

SALMONS, S. Myotrophic effect of an anabolic steroid in rabbit limb muscles. Muscle Nerve, v.15, n.7, p.806-812, 1992.

SCHIAFFINO, S.; GORZA, L.; SARTORE, S.; SAGGIN, L.; VIANELLO, M.; GUNDERSEN, K.; LOMO, T. Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibers. J. Muscle Res. Cell. M. v.10, n.3, p.197-205, 1989.

SCHIAFFINO, S.; REGGIANI, C. Molecular diversity of myofibrillar proteins: Gene regulation and functional significance. Physiol. Rev. v.76, n.2, p.371-423, 1996.

SCHIAFFINO, S.; REGGIANI, C. Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. J. Appl. Physiol. v.77, n.2, p.493-501, 1994.

SIDOR, C. A.; BLACKBURN, D. G. Effects of testosterone administration and castration on the forelimb musculature of male leopard frogs, *Rana pipiens*. J. Exp. Zool. v.280, n. 1, p. 28-37, 1998.

SNYDER, P. J.; PEACHEY, H.; HANNOUSH, P.; BERLIN, J. A.; LOH, L.; LENROW, D. A.; HOLMES, J. H.; DLEWATI, A.; SANTANNA, J.; ROSEN, C. J.; STROM, B. L. Effect

of testosterone treatment on body composition and muscle strength in men over 65. J. Clin. Endocrinol. Metabol., v. 84, p. 2647-2653, 1999.

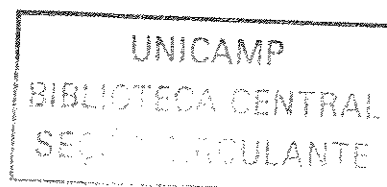
STARON, R. S.; PETTE, D. The continuum of pure and hybrid myosin heavy chain-based fiber types in rat skeletal muscle. Histochemistry, v. 100, n. 2, p. 149-153, 1993.

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., v.111, n.2, p.117-123, 1999.

TALMADGE, R. J.; ROY, R. R. Eletrophoretic separation of rat skeletal muscle myosin heavy-chain isoforms. J. Appl. Physiol., v.75, n.5, p.2337-2340, 1993.

TENOVER, J. L. Testosterone and the aging male. J. Androl., v.18, n.2, p.103-106, 1997.

URBAN, R. J. Effects of tetosterone and growth hormone on muscle function. J. Lab. Clin. Med., v.134, n.1, p.7-10, 1999.



IV. TRABALHO A SER SUBMETIDO À PUBLICAÇÃO

Efeitos da testosterona em músculos esqueléticos de ratos jovens e senis

Resumo

Os efeitos da testosterona sobre músculos esqueléticos foram avaliados em 20 ratos *Wistar* de 80 dias e 1 ano de idade. Os animais foram divididos em 4 grupos: testosterona jovem (TJ, 6), testosterona senil (TS, 6), controle jovem (CJ, 4) e controle senil (CS, 4). Os grupos TJ e TS receberam 15 aplicações subcutâneas de cipionato de testosterona (5mg/kg) em dias alternados enquanto os controles receberam apenas o veículo. Após 30 dias, os animais foram sacrificados e os músculos Sóleo (SOL) e Extensor Longo dos Dedos (EDL) analisados pela técnica histoquímica da mATPase. Os grupos TJ e TS apresentaram queda de peso corpóreo sem alteração de peso relativo dos músculos, quando comparado aos controles. Estes grupos não apresentaram mudanças significativas no padrão de distribuição das fibras musculares. Houve aumento da área de secção transversal das fibras do tipo I no músculo SOL do grupo TJ. No músculo EDL, houve aumento da área das fibras dos tipos I e IIAD do grupo TJ e diminuição da área das fibras do tipo I do grupo TS. Estes resultados revelam que a testosterona não causa alterações significativas na distribuição dos tipos de fibras em músculos esqueléticos de ratos, apenas a área de secção transversal de alguns tipos de fibras sofrem alterações.

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 existentes. A isoforma lenta é denominada MHCI (Myosin Heavy Chain) e as rápidas são denominadas MHCIIa, MHCIIc e MHCIIb. Existem também as fibras chamadas híbridas que expressam duas ou mais isoformas de miosina: IC, IIC, IIAC, IIAD, IIDA, IIDB e IIBD. 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 (3, 35).

O hormônio testosterona foi descoberto em 1889 como uma possível substância rejuvenecedora (20). Sendo produzida pelas células de Leydig dos testículos (95%) e pela cortical da glândula adrenal (5%), este hormônio possui efeito anabolizante capaz de estimular o desenvolvimento de certos órgãos como os rins, as glândulas salivares, o fígado e os músculos (43). Alguns trabalhos comprovam que a testosterona aumenta a massa (19), a força (43) e a endurance dos músculos, o que tem levado atletas de elite a utilizarem-na em seus regimes de treinamento físico, embora de forma questionável (20). Outros trabalhos relatam interferências ainda mais específicas da testosterona sobre os músculos esqueléticos (9, 39, 31, 32). O músculo levantador do ânus, por exemplo, desaparece durante o desenvolvimento de ratas, porém pode ser mantido pelo uso da testosterona (17). A expressão da isoforma tônica (MHC_{ton}) na musculatura laríngea de rãs é controlada por fatores andrógenos (9). A testosterona também causa diminuição na porcentagem de fibras do tipo I nos músculos gastrocnêmio, extensor longo dos dedos e sóleo de ratas (21). Já em coelhas, este hormônio causa hipertrofia das fibras e leva a um metabolismo menos oxidativo do músculo tibial anterior, mas não dos músculos extensor longo dos dedos, plantar e sóleo (38).

O envelhecimento é outro fator relacionado a alterações no sistema muscular esquelético. Normalmente, está acompanhado por uma pronunciada perda de massa, diminuição da força e aumento da fadigabilidade dos músculos (29), eventos clinicamente conhecidos como sarcopenia (30). O aumento aparente do número de fibras de contração lenta também está relacionado com o avanço da idade, devido a uma redução do número de fibras de contração rápida (1, 34). A testosterona, sendo considerada um potente anabolizante, tem sido usada em indivíduos idosos para bloquear ou retardar as perdas musculares conseqüentes da sarcopenia (4, 30, 40).

Até o momento, não encontramos trabalhos que relacionassem os efeitos da testosterona aos tipos de fibras de músculos esqueléticos de ratos senis. Considerando que este hormônio pode causar alterações específicas em diferentes animais, músculos e tipos de fibras musculares, o objetivo do presente trabalho foi analisar os possíveis efeitos da testosterona sobre os músculos SOL e EDL de ratos jovens e senis. A idéia foi verificar se o

tratamento com altas doses deste hormônio aumentaria a porcentagem de fibras de contração rápida, como acontece tipicamente em músculos que apresentam diferenças entre os sexos, chamados sexualmente dimórficos (15, 34), e se este mesmo tratamento poderia reverter o possível aumento da porcentagem das fibras de contração lenta, geralmente observado em animais mais velhos.

Materiais e métodos

Animais e tratamento

Foram usados ratos *Wistar* de 80 dias e 1 ano de idade, obtidos no Biotério Central da UNICAMP. Os animais foram divididos em 4 grupos: testosterona jovem (TJ, 6), testosterona senil (TS, 6), controle jovem (CJ, 4) e controle senil (CS, 4). Os grupos TJ e TS receberam 15 aplicações subcutâneas de cipionato de testosterona (Deposteron Novaquímica)(5mg/kg) em dias alternados, enquanto os grupos controles receberam apenas óleo de amendoim como veículo. Os animais foram pesados antes de cada aplicação e mantidos em temperatura controlada entre 18 e 22°C e fotoperíodo de 12 horas providos de ração e água “ad libitum”.

Procedimentos cirúrgicos

Ao final do tratamento os animais foram anestesiados (IP) com Hidrato de Cloral (10%, 2.5ml/kg) e a seguir tiveram os músculos Sóleo (SOL) e Extensor Longo dos Dedos (EDL) retirados e pesados. Após a coleta os animais foram sacrificados por aprofundamento de anestesia.

Determinação dos tipos de fibras

A porção média dos músculos foi separada, orientada em uma mistura de “Gum Tragacanth” (Sigma-G1128) e “TBS Tissue Freezing Medium” (Triangle Biomedical Sciences) e imediatamente congelada em isopentano resfriado a -156°C em nitrogênio líquido. Estas amostras foram levadas para um criostato a -24°C onde permaneceram por 1 hora antes de serem processadas. Cortes transversais de 12µm foram coletados em lâminulas que permaneceram armazenadas em freezer a -40°C até que todas as amostras fossem

processadas. Os tipos e sub tipos de fibras foram delineados utilizando-se a técnica histoquímica da mATPase (myofibrillar adenosine triphosphatase) (41) após pré incubação em pH 4.3, 4.5 (6) e 10.3 (16), como descrito pelos autores citados (Fig. 1). A seguir foi feita uma fotomontagem do corte em pH 4.5 e juntamente com os cortes em pH 4.3 e 10.3 classificou-se as fibras (I, IC, IIC, IIA, IIAD, IID, IIDB e IIB) de dois campos aleatórios de cada músculo. Para análise morfométrica foram medidas as áreas de secção transversal de até 50 fibras de cada tipo através do Software Image-Pro (versão 4.0).

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste estatístico ANOVA e Kruskal-Wallis para a comparação dos grupos e teste Post Hoc de Duncan, sendo adotado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

Peso dos animais e dos músculos

Os ratos senis foram significativamente mais pesados que os ratos jovens no início do tratamento, $468.7 \pm 29.2\text{g}$ e $302.1 \pm 22.5\text{g}$, respectivamente. Após o período experimental, o grupo TJ apresentou menor ganho de peso corpóreo ($p=0.006$) quando comparado ao controle (Fig. 2). O grupo TS apresentou queda significativa ($p=0.035$) de peso corpóreo quando comparado ao controle (Fig. 2).

Os valores absolutos do peso muscular foram significativamente maiores no grupo CS, quando comparado ao grupo CJ, $170 \pm 21\text{mg}$ e $132 \pm 5\text{mg}$ para o músculo SOL e $222 \pm 10\text{mg}$ e $147 \pm 9\text{mg}$ para o músculo EDL, respectivamente. Para tornar estes valores proporcionais calculou-se o peso relativo dos músculos (mg/g), o qual não apresentou diferença significativa ($p>0.05$) entre os grupos (Tab. 1).

Tipos de fibras musculares

Os tipos de fibras musculares (I, IC, IIC, IIA, IIAD, IID, IIDB e IIB) foram delineados (Fig. 1) e a porcentagem obtida através da contagem das fibras nos campos analisados. O músculo SOL dos grupos TJ e TS apresentou tendência ($p>0.05$) à transição

de fibras de contração lenta (tipo I) para fibras de contração rápida (tipos IIC, IIA e IIAD) quando comparado aos controles (Fig. 3A). Fibras do tipo IIAD foram encontradas apenas no músculo SOL dos grupos TJ e TS, 0.34% e 0.21%, respectivamente (Fig. 3A).

Para o músculo EDL, houve tendência ($p>0.05$) ao aumento de fibras do tipo IID e diminuição ($p>0.05$) de fibras do tipo IIB nos grupos TJ e TS, quando comparado aos controles (Fig. 3b).

Comparando-se os grupos controles, não houve diferença significativa na distribuição dos tipos de fibras no músculo SOL. O grupo CS apresentou apenas uma tendência ($p>0.05$) ao aumento de fibras do tipo I e diminuição das fibras dos tipos IIC e IIA quando comparado ao grupo CJ (Fig. 3A). Já no músculo EDL, o grupo CS apresentou maior ($P=0.022$) porcentagem de fibras do tipo IIA e, também, uma tendência ao aumento ($p>0.05$) de fibras do tipo IID com diminuição de fibras do tipo IIB, quando comparado ao grupo CJ (Fig. 3B).

Morfometria das fibras musculares

No músculo SOL, a área de secção transversal das fibras do tipo I do grupo TJ foi maior ($p=0.00001$) quando comparado ao controle (Tab. 2). Este aumento não foi observado entre os grupos senis (Tab. 2).

No músculo EDL, a área das fibras do tipo I e IIAD do grupo TJ foi maior quando comparado ao controle, $p=0.023$ e $p=0.00008$, respectivamente (Tab. 3). As fibras do tipo I no músculo EDL do grupo TS apresentaram menor área ($p=0.002$) quando comparado ao controle (Tab. 3).

Comparando-se os grupos controles, a área das fibras musculares do grupo CS foi significativamente ($p<0.05$) maior quando comparado ao grupo CJ. Os subtipos de fibras musculares (IC, IIC, IIAD e IIDB) foram submetidos aos testes estatísticos somente quando estes estiveram presentes em todos os animais.

Discussão

Peso dos animais

Alguns autores relatam inibição de crescimento em ratos jovens tratados com esteróide anabolizante (5, 18, 23, 36), contrariamente ao observado em fêmeas (5, 12, 14, 21, 27, 36). Esta inibição do crescimento ocorre quando os animais são tratados com altas doses do anabolizante, o que não acontece com baixas doses (5). Já a redução de peso corpóreo pode ser acompanhada por uma redução do volume de tecido adiposo e isto está mais relacionado com ratos senis do que com ratos jovens, por estes apresentarem menor quantidade de gordura (8). Nossos dados demonstraram que altas doses de testosterona não só reduz o crescimento de ratos jovens como também diminui o peso de ratos senis. A redução de ingestão de alimento por diminuição do apetite (23) e o aumento da metabolização de gordura, visto que a testosterona aumenta os índices de gordura circulante (4, 40) são possíveis mecanismos relacionados à inibição de crescimento e à diminuição de peso corpóreo.

Peso dos músculos

O peso de músculos de animais tratados com testosterona pode sofrer alterações, porém seus mecanismos ainda são obscuros. Alguns autores observaram que o tratamento com testosterona aumenta o peso de músculos esqueléticos de ratas, efeito possivelmente relacionado à maior concentração de receptores androgênicos (11, 21, 37). Estes receptores têm sido descritos como moduladores potenciais de massa muscular (8). Até o presente momento não encontramos trabalhos que analisassem o peso dos músculos SOL e EDL de ratos jovens e senis tratados com testosterona. Entretanto, ratos entre 5 e 25 meses de idade (tratados com nandrolone) apresentaram queda de peso corpóreo sem alteração de peso relativo dos músculos sóleo e plantar (8). Nossos resultados também demonstraram redução de peso corpóreo sem alteração de peso relativo dos músculos SOL e EDL. Portanto, a queda de peso corpóreo observada nos grupos TJ e TS poderia estar mais relacionada a alterações em outros tecidos e não nos músculos esqueléticos.

Tipos de fibras musculares

A interferência hormonal é um dos fatores relacionados à transição de fibras musculares. Músculos que apresentam dimorfismo sexual possuem tendência à transição de fibras de contração lenta para fibras de contração rápida em animais tratados com testosterona (15, 28). Entretanto, os efeitos da testosterona sobre a distribuição das fibras em músculos não dimórficos sexualmente ainda não são bem conhecidos. Nossos resultados demonstraram que este hormônio não causa alterações significativas na distribuição das fibras dos músculos SOL e EDL, assim como os resultados de outros autores ao utilizarem um anabolizante (5, 22, 33).

O envelhecimento é um outro fator que pode alterar a distribuição das fibras musculares. Alguns autores observaram aumento de fibras do tipo I (2, 13, 25, 42) e diminuição das fibras do tipo IIB com aumento das fibras do tipo IID (25, 26, 42). Por outro lado, há autores que não relatam mudanças no padrão de distribuição das fibras musculares com o avanço da idade (7, 13, 24). Comparando-se os grupos controles (CS e CJ), nossos resultados sugerem que no grupo CS há uma tendência ($p>0.05$) ao aumento de fibras do tipo I com diminuição das fibras dos tipos IIC e IIA no músculo SOL e aumento ($p>0.05$) de fibras do tipo IID com diminuição de fibras do tipo IIB no músculo EDL, quando comparados ao grupo CJ. Acreditamos que essas tendências observadas em ratos de 1 ano de idade poderiam ser estatisticamente significativas em ratos mais velhos, como relatado por outros autores (42), que compararam ratos de 5 meses com 1 e 2 anos. Também não foi observada (42) alteração significativa na porcentagem da isoforma IIA no músculo EDL, o que indiretamente pode significar que o número dessas fibras não aumentou. Entretanto, nós observamos neste músculo, um aumento significativo na porcentagem das fibras do tipo IIA do grupo CS quando comparado ao grupo CJ.

Ao considerar os efeitos do envelhecimento e da testosterona em conjunto, o achado mais interessante foi que a tendência ($p>0.05$) ao aumento de fibras do tipo IID, com diminuição de fibras do tipo IIB, observada no músculo EDL do grupo CS em relação ao grupo CJ, não foi revertida pelo tratamento com testosterona. Esta tendência, pelo contrário, foi potencializada pelo tratamento (fig. 3B). Esta resposta levanta dúvidas se o tratamento com testosterona pode reverter ou bloquear alterações na distribuição dos tipos de fibras musculares adquirido durante o processo de envelhecimento.

Morfometria das fibras musculares

Para investigar melhor um provável efeito hipertrófico nos músculos, medimos a área de secção transversal dos diferentes tipos de fibras musculares. A área das fibras nos animais senis foi significativamente ($p < 0.05$) maior do que nos animais jovens devido ao seu desenvolvimento morfológico.

Alguns trabalhos suportam a hipótese de que o tratamento com anabolizante hipertrofia mais as fibras do tipo I em relação às do tipo II (5, 14, 44), enquanto outros estudos observaram um efeito hipertrófico maior nas fibras do tipo II (27). Nossos resultados demonstraram alterações significativas na área das fibras do tipo I no músculo SOL do grupo TJ e no músculo EDL dos grupos TJ e TS, quando comparados aos seus controles. Também houve aumento da área das fibras do tipo IIAD no músculo EDL do grupo TJ. Acreditamos que as alterações de área das fibras em animais tratados com testosterona podem ser específicas para cada tipo de fibra e músculo analisado, bem como para a espécie e idade dos animais. Estudos adicionais são necessários para a compreensão das influências da testosterona sobre os músculos esqueléticos e de seus benefícios terapêuticos durante o envelhecimento.

Referências bibliográficas

1. Andersen JL, Schjerling P, and Saltin B. Muscle, genes and athletic performance. *Sci. Am.* 238: 30-37, 2000.
2. Ansved T, and Larsson L. Effects of ageing on enzyme-histochemical, morphometrical and contractile properties of the soleus muscle in the rat. *J. Neurol. Sci.* 93: 105-124, 1989.
3. Baldwin KM, and Haddad F. Effects of different activity and inactivity paradigms on myosin heavy chain gene expression in striated muscle. *J. Appl. Physiol.* 90: 345-357, 2001.
4. Bhasin S, Woodhouse L, and Storer TW. Proof of the effect of testosterone on skeletal muscle. *J. Endocrinol.* 170: 27-38, 2001.
5. Bisschop A, Gayan-Ramirez G, Rollier H, Dekhuijzen PNR, Dom R, de Bock V, and Decramer M. Effects of nandrolone decanoate on respiratory and peripheral muscles in male and female rats. *J. Appl. Physiol.* 82: 1112-1118, 1997.

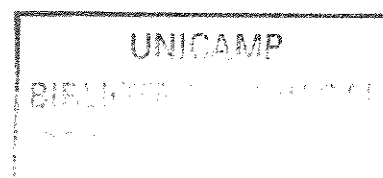
6. **Brooke MH, and Kaiser KK.** Three “myosin adenosine triphosphatase” system: the nature of their pH lability and sulfhydryl dependence. *J. Histochem. Cytochem.* 18: 670-672, 1970.
7. **Brown M, Ross TP, and Holloszy JO.** Effects of aging and exercise on soleus and extensor digitorum longus muscles of female rats. *Mech. Ageing Dev.* 63: 69-77, 1992.
8. **Carson JA, Lee WJ, McClung J, and Hand GA.** Steroid receptor concentration in aged rat hindlimb muscle: effect of anabolic steroid administration. *J. Appl. Physiol.* 93: 242-250, 2002.
9. **Catz DS, Fischer LM, and Kelley DB.** Androgen regulation of a laryngeal-specific myosin heavy chain mRNA isoform whose expression is sexually differentiated. *Dev. Biol.* 171: 448-457, 1995.
10. **D’Albis A, Couteaux R, Janmot C, and Mira JC.** Opposite regulations by androgenic and thyroid hormones of V1-myosin expression in the two types of rabbit striated muscle skeletal and cardiac. *FEBS Lett.* 318: 53-56, 1993.
11. **Dahlberg E, Snochowski M, and Gustafsson JA.** Regulation of the androgen and glucocorticoid receptors in rat and mouse skeletal muscle cytosol. *Endocrinol.* 108: 1431-1440, 1981.
12. **Danhaive PA, and Rousseau GG.** Evidence for sex-dependent anabolic response to androgenic steroids mediated by muscle glucocorticoid receptors in the rat. *J. Steroid Biochem.* 29: 575-581, 1988.
13. **Eddinger TJ, Cassens RG, and Moss RL.** Mechanical and histochemical characterization of skeletal muscles from senescent rats. *Am. J. Physiol.* 251: C421-C430, 1986.
14. **Egginton S.** Effects of an anabolic hormone on striated muscle growth and performance. *Pflüg. Arch. Eur. J. Phy.* 410: 349-355, 1987.
15. **English AW, and Schwartz G.** Development of sex differences in the rabbit masseter muscle is not restricted to a critical period. *J. Appl. Physiol.* 92: 1214-1222, 2002.
16. **Guth L, and Samaha FJ.** Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. *Exp. Neurol.* 28: 365-367, 1970.

17. **Hanzlíková V, Schiaffino S, and Settembrini P.** Histochemical fiber types characteristics in the normal and the persistent levator ani muscle of the rat. *Histochemistry* 22: 45-50, 1970.
18. **Hervey GR, and Hutchins I.** The effects of testosterone on body weight and composition in the rat. *J. Endocrinol.* 57: R24-R25, 1973.
19. **Hikim IS, Artaza J, Woodhouse L, Gonzalez-Cadavid N, Singh AB, Lee MI, Storer TW, Casaburi R, Shen RQ, and Bhasin S.** Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is associated with muscle fiber hypertrophy. *Am. J. Physiol. Endocrinol. M.* 283: E154-E164, 2002.
20. **Hoberman JM, and Yesalis CE.** The history of synthetic testosterone. *Sci. Am.* 272: 60-65, 1995.
21. **Holmång A, Svedberg J, Jennische E, and Björntorp P.** Effects of testosterone on muscle insulin sensitivity and morphology in female rats. *Am. J. Physiol.* 259: E555-E560, 1990.
22. **Joumaa WH, Serrurier B, Bigard X, and Léoty C.** Nandrolone decanoate treatment induces changes in contractile responses of rat untrained fast-twitch skeletal muscle. *Acta Physiol. Scand.* 175: 189-199, 2002.
23. **Kochakian CD, and Endahl BR.** Changes in body weight of normal and castrated rats by different doses of testosterone propionate. *P. Soc. Exp. Biol. Med.* 100: 520-522, 1959.
24. **Larsson L, and Salviati G.** Effects of age on calcium transport activity of sarcoplasmic reticulum in fast- and slow-twitch rat muscle fibers. *J. Physiol. (Lond)* 419: 253-264, 1989.
25. **Larsson L, Ansved T, Edstrom L, Gorza L, and Schiaffino.** Effects of age on physiological immunohistochemical and biochemical properties of fast-twitch single motor units in the rat. *J. Physiol. (Lond)* 443: 257-275, 1991.
26. **Larsson L, Biral D, Campione M, and Schiaffino S.** An age-related type IIB to IIX myosin heavy chain switching in rat skeletal muscle. *Acta Physiol. Scand.* 147: 227-234, 1993.
27. **Lewis MI, Horvitz GD, Clemmons DR, and Fournier M.** Role of IGF-I and IGF-binding proteins within diaphragm muscle in modulating the effects of nandrolone. *Am. J. Physiol. Endocrinol. M.* 282: E483-E490, 2002.

28. Lyons GE, Kelly AM, and Rubinstein NA. Testosterone-induced changes in contractile protein isoforms in the sexually dimorphic temporalis muscle of the guinea pig. *J. Biol. Chem.* 261: 13278-13284, 1986.
29. Morley JE, Baumgartner RN, Roubenoff R, Mayer J, and Nair KS. Sarcopenia. *J. Lab. Clin. Med.* 137: 231-243, 2001.
30. Nair KS. Age-related changes in muscle. *Mayo Clin. Proc.* 75: 14-18, 2000.
31. Nnodim JO. Quantitative study of the effects of denervation and castration on the levator ani muscle of the rat. *Anat. Rec.* 255: 324-333, 1999.
32. Nnodim JO. Testosterone mediates satellite cell activation in denervated rat levator ani muscle. *Anat. Rec.* 263: 19-24, 2001.
33. Noirez P, and Ferry A. Effect of anabolic/androgenic steroid on myosin heavy chain expression in hindlimb muscles of male rats. *Eur. J. Appl. Physiol.* 81: 155-158, 2000.
34. Pette D, and Staron RS. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int. Rev. Cytol.* 170: 143-223, 1997.
35. Pette D, and Staron RS. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochem. Cell Biol.* 115: 359-372, 2001.
36. Prezant DJ, Valentine DE, Gentry EI, Richner B, Cahill J, and Freeman K. Effects of short-term and long-term androgen treatment on the diaphragm in male and female rats. *J. Appl. Physiol.* 75: 1140-1149, 1993.
37. Rance NE, and Max SR. Modulation of the cytosolic androgen receptor in striated muscle by sex steroids. *Endocrinol.* 115: 862-866, 1984.
38. Salmons S. Myotrophic effect of an anabolic steroid in rabbit limb muscles. *Muscle Nerve* 15: 806-812, 1992.
39. Sidor CA, and Blackburn DG. Effects of testosterone administration and castration on the forelimb musculature of male leopard frogs, *Rana pipiens*. *J. Exp. Zool.* 280: 28-37, 1998.
40. Snyder PJ, Peachey H, Hannoush P, Berlin JA, Loh L, Lenrow DA, Holmes JH, Dlewati A, Santanna J, Rosen CJ, and Strom BL. Effect of testosterone treatment on body composition and muscle strength in men over 65. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 84: 2647-2653, 1999.

41. **Staron RS, and Pette D.** The continuum of pure and hybrid myosin heavy chain-based fiber types in rat skeletal muscle. *Histochemistry* 100: 149-153, 1993.
42. **Sugiura T, Matoba H, Miyata H, Kawai Y, and Murakami N.** Myosin heavy chain isoform transition in aging fast and slow muscles of the rat. *Acta Physiol. Scand.* 144: 419-423, 1992.
43. **Urban RJ.** Effects of testosterone and growth hormone on muscle function. *J. Lab. Clin. Med.* 134: 7-10, 1999.
44. **Ustunel I, Akkoyunlu G, and Demir R.** The effect of testosterone on gastrocnemius muscle fibres in growing and adult male and female rats: a histochemical, morphometric and ultrastructural study. *J. Vet. Med. Series C.* 32: 70-79, 2002.

Figuras e legendas



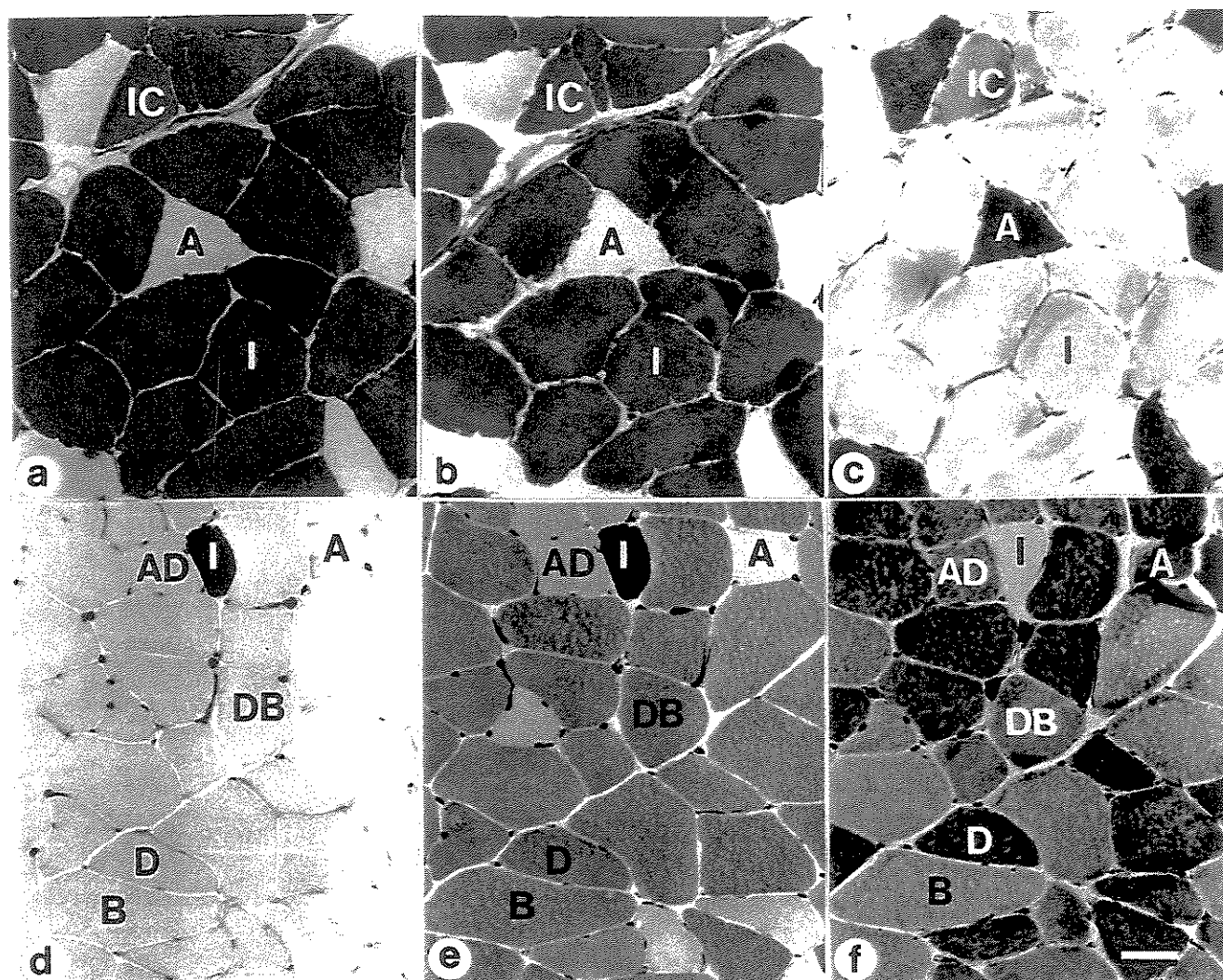


Figura 1 Reação histoquímica de mATPase em pH 4.3 (a, d), 4.5 (b, e), e 10.3 (c, f) de cortes seriados dos músculos SOL (a, b, c) e EDL (d, e, f) de ratos Wistar. I-fibra do tipo I, IC-tipo IC, A-tipo IIA, AD-tipo IIAD, D-tipo IID, DB-tipo IIIDB e B-tipo IIB. 50 μ m.

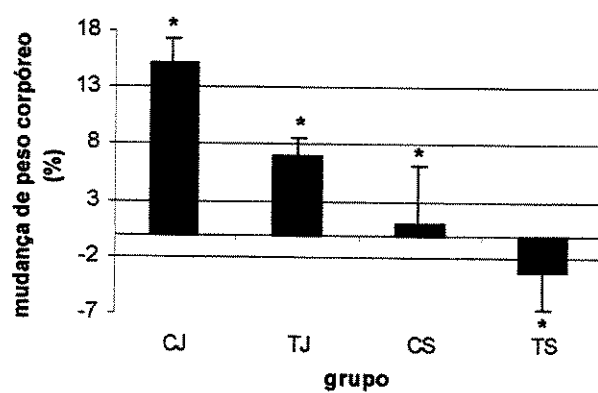


Figura 2 Alteração do peso corporal (%) dos animais dos grupos: CJ, TJ, CS e TS. Valores em média $\pm$ SD. * Estatisticamente significativo ($p < 0.05$).

Tabela 1 Peso relativo (mg/g) dos músculos SOL e EDL dos animais dos grupos: CJ, TJ, CS e TS.

	CJ	TJ	CS	TS
SOL	0.394 ± 0.01	0.396 ± 0.04	0.35 ± 0.03	0.395 ± 0.02
EDL	0.438 ± 0.03	0.415 ± 0.02	0.461 ± 0.06	0.435 ± 0.02

Valores em média ± SD / * Estatisticamente significativo ($p < 0.05$).

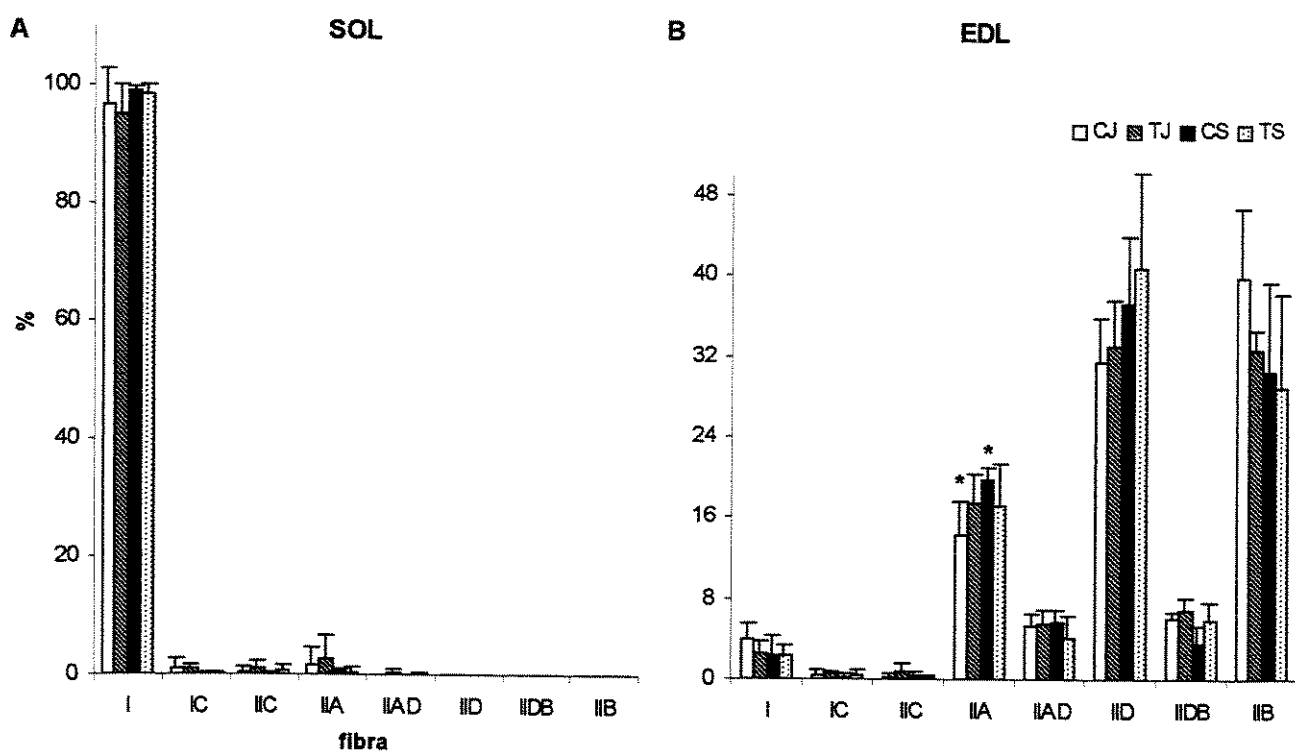


Figura 3 Distribuição dos tipos de fibras (I, IC, IIC, IIA, IIAD, IID, IIDB e IIB) (%) nos músculos SOL (A) e EDL (B) dos animais dos grupos: CJ, TJ, CS e TS. Valores em média $\pm$ SD. * Estatisticamente significativo ($p < 0.05$).

Tabela 2 Área de secção transversal (μm^2) das fibras (I, IC, IIC, IIA, IIAD, IID, IIDB e IIB) do músculo SOL dos animais dos grupos: CJ, TJ, CS e TS.

	I	IC	IIC	IIA	IIAD	IID	IIDB	IIB
CJ	2863 $\pm$ 760 **	2067 $\pm$ 256	1701 $\pm$ 160	2980 $\pm$ 615	-	-	-	-
TJ	3363 $\pm$ 1078 **	3900 $\pm$ 3628	1951 $\pm$ 921	2600 $\pm$ 763	2824 $\pm$ 81	-	-	-
CS	3357 $\pm$ 1129	2139 $\pm$ 807	1350 $\pm$ 0	1896 $\pm$ 950	-	-	-	-
TS	3451 $\pm$ 945	2015 $\pm$ 224	3230 $\pm$ 1405	2451 $\pm$ 1245	3629 $\pm$ 433	-	-	-

Valores em média $\pm$ SD / ** Estatisticamente significativo ($p < 0.001$).

Tabela 3 Área de secção transversal (μm^2) das fibras (I, IC, IIC, IIA, IIAD, IID, IIDB e IIB) do músculo EDL dos animais dos grupos: CJ, TJ, CS e TS.

	I	IC	IIC	IIA	IIAD	IID	IIDB	IIB
CJ	1008 ± 218 *	1013 ± 134	1064 ± 146	1209 ± 218	1131 ± 217 **	1637 ± 415	2442 ± 739	3273 ± 704
TJ	1205 ± 350 *	1234 ± 338	1124 ± 207	1254 ± 260	1441 ± 225 **	1808 ± 430	2337 ± 631	3158 ± 681
CS	1593 ± 266 *	1205 ± 327	968 ± 302	1346 ± 316	1736 ± 316	2370 ± 661	3074 ± 823	3770 ± 916
TS	1313 ± 236 *	1045 ± 412	1161 ± 167	1406 ± 269	1816 ± 236	2540 ± 758	3301 ± 765	3911 ± 966

Valores em média ± SD / * Estatisticamente significativo ($p < 0.05$) / ** Estatisticamente significativo ($p < 0.001$).

V. CONCLUSÕES GERAIS

O tratamento com altas doses de testosterona causa alteração de peso corporal, sem alteração do peso relativo dos músculos SOL e EDL de ratos Wistar.

A testosterona não causa alterações significativas na distribuição das fibras em músculos esqueléticos de ratos Wistar, apenas a área de secção transversal de alguns tipos de fibras sofrem alteração.

VI. ANEXOS

Peso corporal (g) dos animais dos grupos: CJ, TJ, CS e TS, durante o período experimental.

	CJ	TJ	CS	TS
1º dia	291 ± 18	310 ± 23	480 ± 32	461 ± 28
3º dia	294 ± 19	301 ± 32	484 ± 36	467 ± 27
5º dia	297 ± 21	312 ± 23	482 ± 31	463 ± 27
7º dia	302 ± 21	319 ± 23	480 ± 34	465 ± 29
9º dia	306 ± 19	323 ± 23	482 ± 32	461 ± 31
11º dia	306 ± 19	320 ± 23	484 ± 34	460 ± 29
13º dia	312 ± 17	322 ± 24	482 ± 29	459 ± 30
15º dia	313 ± 17	324 ± 23	481 ± 32	456 ± 31
17º dia	319 ± 17	327 ± 25	486 ± 35	454 ± 25
19º dia	321 ± 18	325 ± 24	485 ± 32	453 ± 26
21º dia	325 ± 18	329 ± 26	484 ± 32	450 ± 26
23º dia	328 ± 19	328 ± 24	485 ± 25	449 ± 28
25º dia	333 ± 19	332 ± 24	487 ± 27	450 ± 30
27º dia	334 ± 21	333 ± 24	485 ± 25	449 ± 30
29º dia	335 ± 19	332 ± 24	485 ± 29	446 ± 30

Valores em média ± SD

Peso absoluto (g) dos músculos SOL e EDL dos animais dos grupos: CJ, TJ, CS e TS.

	CJ	TJ	CS	TS
SOL	0.132 ± 0.005	0.135 ± 0.008	0.17 ± 0.021	0.176 ± 0.019
EDL	0.147 ± 0.009*	0.141 ± 0.007*	0.222 ± 0.018	0.193 ± 0.008

Valores em média ± SD / * Estatisticamente significativo (p<0.05).

Distribuição dos tipos de fibras (I, IC, IIC, IIA, IIAD, IID, IIDB e IIB) (%) no músculo SOL dos animais dos grupos: CJ, TJ, CS e TS.

	I	IC	IIC	IIA	IIAD	IID	IIDB	IIB
CJ	96.9 ± 5.8	1.0 ± 1.8	0.4 ± 0.9	1.6 ± 3.2	-	-	-	-
TJ	95.1 ± 5.0	0.9 ± 0.7	1.0 ± 1.3	2.6 ± 4.2	0.3 ± 0.5	-	-	-
CS	99.2 ± 0.5	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.3	0.6 ± 0.3	-	-	-	-
TS	98.4 ± 1.7	0.1 ± 0.1	0.8 ± 1.0	0.5 ± 0.8	0.2 ± 0.2	-	-	-

Valores em média ± SD / * Estatisticamente significativo (p<0.05).

Distribuição dos tipos de fibras (I, IC, IIC, IIA, IIAD, IID, IIDB e IIB) (%) no músculo EDL dos animais dos grupos: CJ, TJ, CS e TS.

	I	IC	IIC	IIA	IIAD	IID	IIDB	IIB
CJ	3.9 ± 1.7	0.4 ± 0.5	0.2 ± 0.3	14.3 ± 3.4 *	5.4 ± 1.2	31.6 ± 4.4	6.1 ± 0.5	39.9 ± 6.9
TJ	2.7 ± 1.1	0.6 ± 0.3	0.8 ± 0.8	17.4 ± 3.1	5.6 ± 1.4	33.1 ± 4.6	6.9 ± 1.3	32.8 ± 2.0
CS	2.4 ± 2.1	0.3 ± 0.4	0.5 ± 0.4	19.8 ± 1.2 *	5.7 ± 1.3	37.3 ± 6.7	3.5 ± 1.9	30.6 ± 8.9
TS	2.4 ± 1.0	0.4 ± 0.5	0.1 ± 0.3	17.3 ± 4.0	4.1 ± 2.1	40.9 ± 9.4	6.0 ± 1.9	28.9 ± 9.4

Valores em média ± SD / * Estatisticamente significativo (p<0.05).