Recebido em: **10/3/2010** Emitido parece em: **22/3/2010** **Artigo original**

EFEITOS DO TREINAMENTO AERÓBIO E DE FORÇA SOBRE A ÁREA DE SECÇÃO TRANSVERSAL (AST) DAS FIBRAS DO MÚSCULO PLANTAR DE RATOS

Ivan José Vechetti Júnior, Andreo Fernando Aguiar, Rodrigo Wagner Alves de Souza, Maeli Dal-Pai-Silva

RESUMO

Pesquisas recentes procuram elucidar os possíveis efeitos de diferentes modelos de treinamento físico sobre as adaptações morfológicas do músculo esquelético. Embora seja relativamente fácil estudar os efeitos do treinamento físico em humanos, tal investigação torna-se limitada devido à natureza invasiva das biopsias musculares e ao risco inerente a utilização de sujeitos humanos. Assim, a aplicação de modelos animais de treinamento vem sendo considerada uma estratégia adequada para o estudo das adaptações musculares em resposta ao exercício físico. **Objetivo:** Este estudo utilizou um modelo roedor para verificar os possíveis efeitos do treinamento aeróbio e de força sobre a AST das fibras do músculo plantar. **Métodos:** 24 ratos Wistar machos (80 a 120 dias, 250 a 400 g), foram aleatoriamente divididos em 3 grupos: treinamento aeróbio (TA, n=8), treinamento de força (TF, n=8) e controle (CO, n=8). Os animais dos grupos TA e TF foram submetidos a 8 semanas de treinamento, enquanto os animais do grupo CO permaneceram sem qualquer estímulo do início ao fim do período de treinamento. Ao término do experimento, os animais foram sacrificados e o músculo plantar direito dissecado e removido. Para a análise morfológica e morfométrica das fibras musculares foi realizada a coloração H.E. **Resultados:** Não houve diferença significante do peso corporal inicial entre os grupos experimentais. Após 8 semanas de treinamento, o grupo TA apresentou redução significante do peso corporal final, comparado aos grupos CO e TF. Com relação à AST das fibras do músculo plantar, não houve diferença significante entre os grupos CO e TA. Por outro lado, o treinamento de força promoveu aumento significante na AST do grupo TF em relação aos grupos CO e TA. **Conclusão:** O treinamento de força utilizado no presente estudo promoveu aumento na AST das fibras do músculo plantar. Por outro lado, os animais submetidos ao treinamento aeróbio não apresentaram alterações na AST das fibras, entretanto houve redução do PC dos animais. Os dados fortemente sugerem a utilização do modelo animal de treinamento de força empregado no presente estudo como uma estratégia adequada para o estudo da resposta hipertrófica do músculo esquelético.

Palavras- chave: Músculo estriado esquelético, treinamento de força, treinamento aeróbio.

EFFECTS OF AEROBIC AND STRENGHT TRAINING ON CROSS-SECTIONAL ÁERA (CSA) OF RATS PLANTARIS MUSCLE FIBERS

ABSTRACT

Recent research seeking to elucidate the possible effects of different types of physical training on the morphological adaptations of skeletal muscle. Although it is relatively easy to study the effects of exercise training in humans, such research becomes limited due to the invasive nature of the biopsies and the risk inherent in the use of human subjects. Thus, the application of animal models of training has been considered an appropriate strategy for the study of muscular adaptations in response to exercise. **Objective:** This study used a rodent model to determine the possible effects of aerobic and strength training on the CSA of fibers of the plantaris muscle. **Methods:** 24 male Wistar rats (80 to 120 days, 250 to 400 g) were randomly divided into 3 groups: aerobic training (TA, n = 8), strength training (ST, n = 8) and control (CO, n = 8). The animals in groups TA and TF were subjected to 8 weeks of training, while the animals of group C remained without any stimulus from start to finish the training period. At the end of the experiment, the animals were sacrificed and right plantar muscles dissected and removed. For morphological and morphometric analysis of muscle fibers was performed staining was performed H.E. **Results:** There was no significant difference in initial body weight between experimental groups. After 8 weeks of training, the TA group showed a significant

reduction in final body weight, compared to CO and TF groups. With respect to the CSA of fibers of the plantaris muscle, no significant difference between the groups CO and TA. On the other hand, the strength training promoted a significant increase in AST of the group TF in compared with the groups CO and TA. **Conclusion:** Strength training used in this study promoted an increase in CSA of fibers of the plantaris muscle. On the other hand, animals submitted to aerobic training showed no changes in the CSA of the fibers, however, there was reduction in PC animals. The data strongly suggest the use of animal model of strength training used in this study as an appropriate strategy for studying the hypertrophic response of skeletal muscle.

Keywords: Skeletal muscle, strength training, aerobic training.

INTRODUÇÃO

O músculo estriado esquelético é um tecido altamente plástico, que pode se adaptar em resposta a diferentes estímulos, tais como o treinamento aeróbio e de força. Tradicionalmente, o treinamento de força tem sido divulgado como um potente estímulo, capaz de promover substancial aumento da força, potência e área de secção transversal (AST) das fibras musculares, além de induzir a modulação das fibras do tipo IIX para IIA (CAMPOS et al., 2002; BICKEL et al., 2005; BEZERRA et al., 2009). Por outro lado, o treinamento aeróbio conduz a pequenas mudanças na AST das fibras musculares, entretanto, promove o aumento do número de mitocôndrias, da atividade das enzimas do metabolismo oxidativo (HAWLEY, 2002) e da captação de oxigênio em exercício submáximo (TRAPPE et al., 2006).

Embora seja relativamente fácil estudar os efeitos do exercício físico em humanos, torna-se difícil determinar as adaptações musculares fenotípicas em resposta aos diferentes modelos de treinamento físico. Esta limitação é primariamente devido à natureza invasiva das biopsias musculares e ao risco inerente a utilização de sujeitos humanos. Considerando a heterogeneidade das fibras musculares em diferentes regiões musculares, uma pequena amostra poderia não refletir acuradamente a resposta muscular total. Além disso, estudos em humanos podem ser influenciados pela motivação, técnica de movimento durante o treinamento, testes físicos e estilo de vida dos sujeitos. Para evitar estes problemas inúmeros modelos animais têm sido utilizados para induzir o aumento da AST das fibras musculares, tais como a remoção de músculos sinergistas (BALDWIN et al., 1977), a carga contínua dos músculos (LAURENT et al., 1978) e a pressão da barra de sobrecarga para obter alimento (GONYEA e ERICSON, 1976).

A utilização de um modelo animal garante um método de treinamento independente da motivação dos sujeitos e garante total controle sobre as condições ambientais, consumo alimentar e técnica de movimento durante o treinamento. Além disso, os músculos dos animais podem ser inteiramente coletados para análises morfofuncionais, bioquímicas, histofisiológicas e molecular. Embora a utilização de um modelo animal permita um maior controle sobre as variáveis que podem afetar o fenômeno investigado, uma potencial limitação desses modelos é a incompatibilidade com os modelos e protocolos de treinamento físico utilizados em humanos (CAMPOS et al., 2002; RATAMESS et al., 2009). Considerando a especificidade das adaptações morfofuncionais e bioquímicas do músculo esquelético de acordo com o estímulo de treinamento, os modelos e protocolos animais de treinamento resistido atualmente empregados para induzir adaptações musculares, poderão não predizer os resultados obtidos em protocolos utilizados por humanos. Em adição, poucos estudos animais procuraram investigar os efeitos do treinamento aeróbio sobre a resposta hipertrófica muscular, especificamente sobre as alterações na AST das fibras musculares. Assim, o presente estudo teve como objetivo utilizar um modelo roedor para verificar os possíveis efeitos do treinamento aeróbio e de força sobre a AST das fibras do músculo plantar.

Até o momento a maioria dos estudos animais de treinamento utilizou medidas indiretas (relação peso do músculo/peso corporal e peso úmido do músculo) para determinar a hipertrofia muscular, além de aplicarem modelos e protocolos de treinamento que divergem dos tradicionalmente praticados por humanos. Dentre as principais limitações destes estudos incluem: 1- a utilização de modelos de treinamento (por exemplo: o treinamento de escalada e salto na água com sobrecarga) que não garantem uma biomecânica de movimento similar aos exercícios praticados por humanos, 2- uma frequência (5x/semana) de sobrecarga muscular superior ao normalmente utilizado em treinamento periodizado (3x/semana) para humanos, 3- a utilização de amplos períodos de repouso entre as séries e

exercícios, que contradizem a ótima resposta hipertrófica em bodybuilders, 4- a utilização de sobrecarga de treinamento relativa ao peso corporal dos animais, fato que poderia subestimar ou superestimar a força máxima individual durante as séries de exercício. A vantagem do nosso estudo comparado a prévias investigações desta área inclui um protocolo de treinamento resistido (4 séries de 12 repetições a 75% de 1RM) e aeróbio (máxima fase estável de lactato) que transcrevem a sobrecarga e modelo tradicionalmente recomendados para humanos. Além disso, a hipertrofia foi determinada por meio da mensuração direta da AST das fibras musculares.

METODOLOGIA

Animais e grupos experimentais

Neste estudo foram utilizados 24 ratos *Wistar* machos (120 dias, 250 a 400g), provenientes do Centro de Bioterismo da Unicamp (CEMIB), Campinas, SP. Os animais foram mantidos em gaiolas (4 animais por gaiola), no Biotério de Pequenos Mamíferos do Departamento de Morfologia, em ambiente com temperatura controlada (23°C ± 1) e ciclo de luminosidade claro/escuro invertido (12/12h), onde receberam ração e água *ad libitum*.

Para a realização do experimento foram utilizados 3 grupos experimentais:

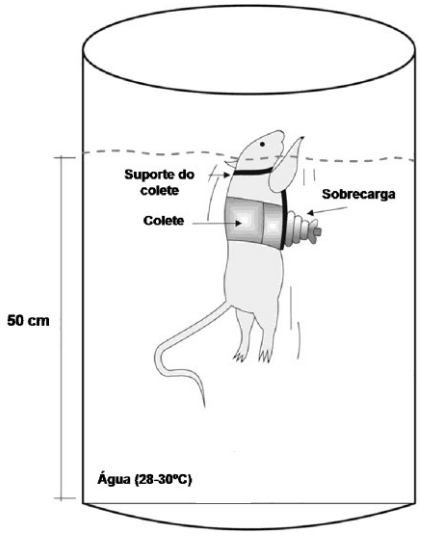
- TA (n=8): Animais submetidos ao treinamento aeróbio
- TF (n=8): Animais submetidos ao treinamento de força
- CO (n=8): Animais controles

Protocolos de treinamento

Treinamento aeróbio

O grupo TA foi submetido a um programa de treinamento de natação durante 8 semanas (5 dias/semana), semelhante ao proposto por Gobatto et al.,(2001). O treinamento foi realizado em um aquário subdivido em compartimentos individualizados, contendo água a 28-30ºC e 50 cm de profundidade. Durante o treinamento os animais utilizaram uma jaqueta de couro posicionada na região torácica, na qual foram alocadas as anilhas de sobrecarga (figura 1). O volume (tempo) e intensidade (sobrecarga) de treinamento foram progressivos, sendo equivalente a 10 min, sem sobrecarga (1ª sem); 20 min, 1% (2ª sem); 25, 30, 35 e 40 min, 3% (do início ao final da 3ª sem); 45, 50, 55 e 60 min, 5% (do início ao final da 4ª sem) e 60 min, 5% (5ª a 8ª sem). Os animais do grupo CO permaneceram sem qualquer estímulo durante todo o período do experimento. As sessões de treinamento foram realizadas sempre no mesmo período do dia, entre 14h às 16h.

Figura 1. Figura representativa do treinamento de natação.



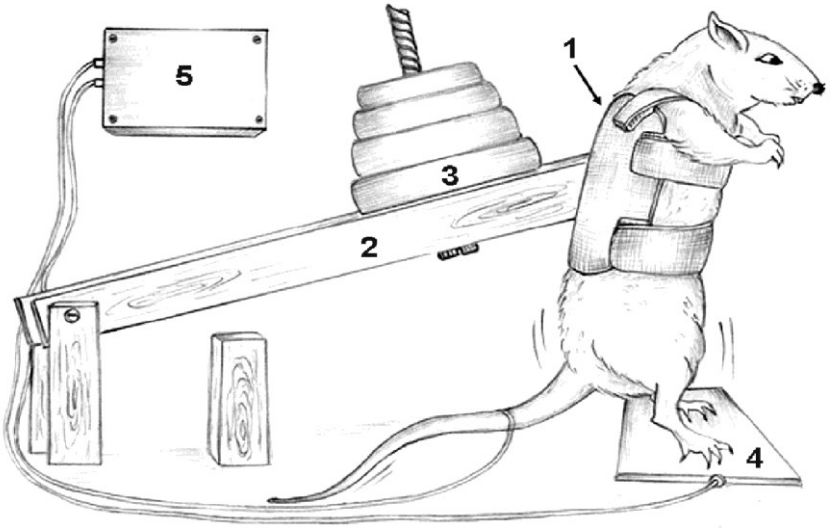
Treinamento de força

O grupo TF foi submetido a um programa de treinamento físico resistido (TR), conforme o modelo de agachamento proposto por Tamaki et al. (1992) (figura 2). Para a realização do treinamento, os animais utilizaram uma jaqueta de couro (1), conectada a uma barra de madeira móvel de 35 cm (2), na qual foram alocadas as anilhas de sobrecarga (3). Os ratos acoplados a jaqueta permaneceram na posição sentada com suas pernas traseiras flexionadas e apoiadas na base de sustentação (4). Utilizando-se um estimulador elétrico (5) (modelo Dualpex 961, Quarker), foi realizada a estimulação elétrica, por meio de eletrodos autoadesivos (marca ValuTrode, modelo CFE200 e tamanho 3,2 cm) posicionados na cauda dos ratos.

Os parâmetros utilizados na eletroestimulação Foram: frequência 1Hz, duração 1 milisegundo (ms), ciclo ativo 2:4 segundos (s) e a intensidade de corrente ajustada de modo que o animal executasse o movimento, variando de 4 a 15 miliampéres (mA) (SILVA et al., 2007). Como resultado da eletroestimulação, os ratos realizaram, repetidamente, a extensão dos joelhos, levantando a sobrecarga fixada ao aparato. A fim de garantir a mesma intensidade de treinamento do início ao final do experimento, foram realizados ajustes semanais de sobrecarga, por meio do teste de uma repetição máxima (1RM), definido como a máxima carga suportável pelo animal para realizar um único movimento completo. Para tanto, os animais foram estimulados eletricamente a realizar o máximo de repetições com uma sobrecarga pré-definida e, com base no número de repetições alcançadas por cada rato, foram adicionadas novas cargas, até que o animal realizasse uma única repetição máxima completa (1RM). Os intervalos de descanso entre os incrementos de carga foram de 5 minutos, a fim de garantir uma completa recuperação metabólica muscular. O protocolo de TR consistiu da realização de 4 séries de 12 repetições, três vezes por semana, com sobrecarga de 65-75% de 1RM e intervalo de 40 segundos entre as séries. O programa de treinamento teve início após 2 semanas de familiarização com o ciclo de luminosidade invertido, com o aparato e com a execução do exercício. Na primeira semana desta fase, os ratos utilizando a jaqueta, foram fixados ao aparato durante 20 minutos diários, sem a estimulação elétrica. Na segunda semana foi permitida a realização dos exercícios, utilizando-se para tanto, 2 séries de 5 a 10 repetições com carga entre 40 e 60 % do PC.

Os animais utilizados como controle não receberam qualquer estímulo de treinamento ou estimulação elétrica. Esta padronização foi feita com base no estudo de Barauna et al., (2005), que demonstraram não haver qualquer influência do estímulo elétrico nas adaptações musculares a este modelo de treinamento. As sessões de treinamento também foram realizadas entre 14 e 16h.

Figura 2. Aparato utilizado para o treinamento resistido. (Adaptado de TAMAKI et al., 1992).

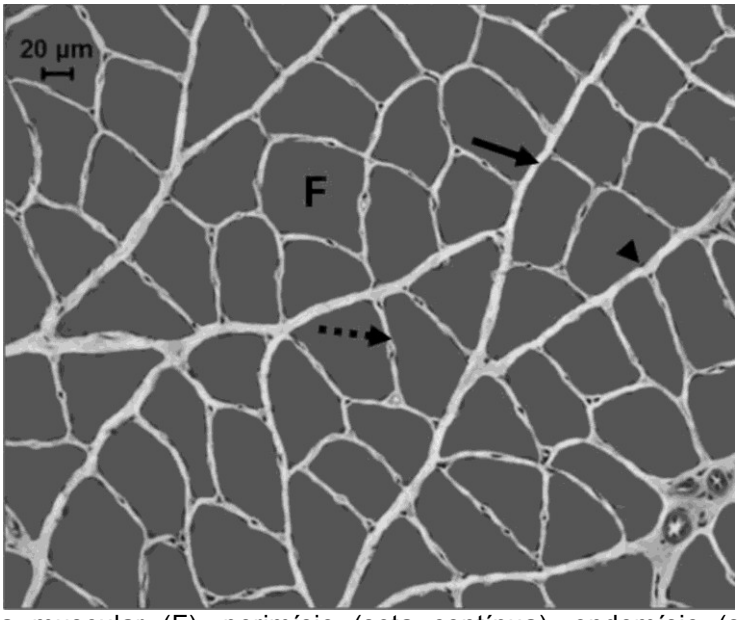


Dados anatômicos e análise morfológica

Durante todo o experimento foram monitorados, em dias específicos, o peso corporal (PC) e o consumo de ração dos animais. Ao final do experimento os animais foram pesados, anestesiados com pentobarbital sódico (40mg/kg, i.p) e sacrificados por decapitação. A seguir, o músculo plantar (PL) direito foi dissecado e uma amostra da porção medial imediatamente separada e congelada em n-Hexano resfriado em nitrogênio líquido a -156°C. As amostras foram armazenadas em freezer a –80ºC para posterior análise morfológica. Cortes histológicos (10 μm) foram obtidos em um criostato a –20ºC e as lâminas submetidas à coloração HE para a análise da morfologia geral das fibras musculares (figura 3).

Utilizando-se um Sistema de Análise de Imagens (Leika Qwin) foi mensurada a AST de aproximadamente 200 fibras (quatro campos aleatórios de cada músculo) de cada animal.

Figura 3. Corte transversal do músculo plantar de um animal representativo do grupo CO.



Coloração HE. Fibra muscular (F), perimísio (seta contínua), endomísio (seta descontínua) e mionúcleo (ponta da seta). Barra 20µm.

Análise estatística

Para análise da AST das fibras musculares foi utilizada a análise de variância para o modelo com dois fatores (ZAR, 1999), complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey ($p < 0,05\%$). Os valores referentes à AST das fibras foram expressos em média e desvio padrão.

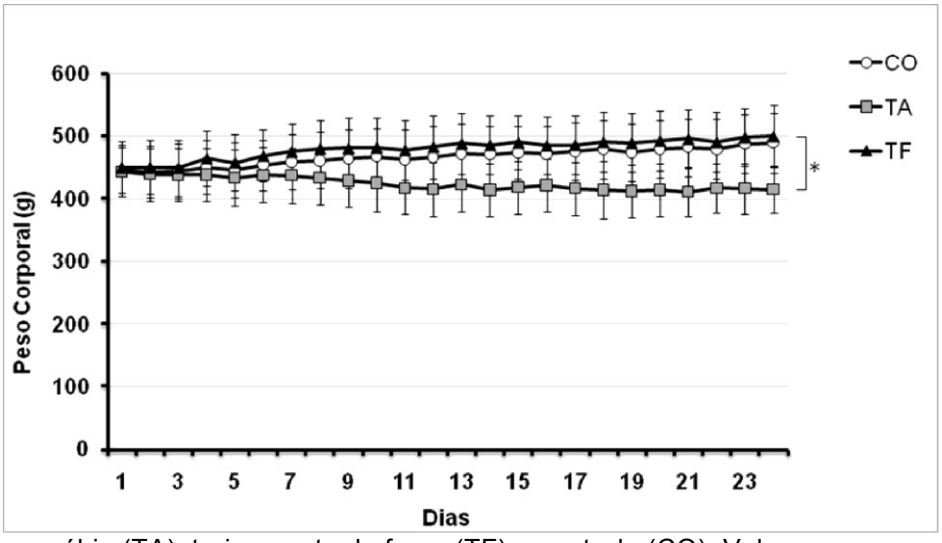
RESULTADOS

Peso corporal, área de secção transversal (AST) e consumo alimentar

Não houve diferença significante do peso corporal inicial (PI) entre os grupos experimentais. Após 8 semanas de treinamento, o grupo TA apresentou redução significante do peso corporal final (PF), comparado aos grupos CO e TF (figura 4). Por outro lado, ambos os grupos CO e TF apresentaram progressão do PC do início ao término do período de treinamento. Esta progressão refletiu apenas o crescimento somático dos animais, visto que nenhuma diferença significante foi observada entre os grupos CO e TF. Ao término do experimento, a variação percentual (Δ%) do PC foi de 10%, -6,5% e 21,7% nos grupos CO, TA e TF, respectivamente (dados não mostrados).

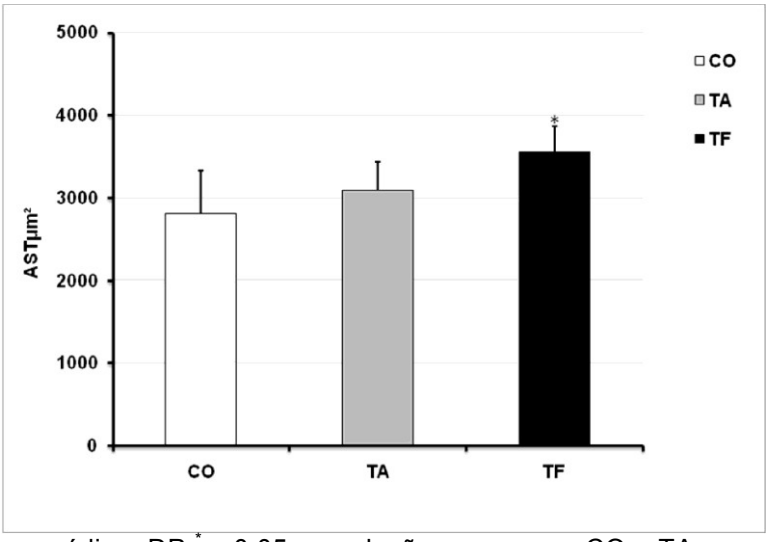
O consumo alimentar não foi estatisticamente diferente entre os grupos (figura 6). Com relação à AST das fibras do músculo plantar, não houve diferença significante entre os grupos CO e TA. Por outro lado, o treinamento de força promoveu aumento significante na AST do grupo TF em relação aos grupos CO e TA (figura 5). Interessantemente, o aumento de 21% na AST das fibras musculares do grupo TF não foi suficiente para promover o aumento do PC em relação ao grupo CO. Em adição, a redução do PC observada no grupo TA possivelmente ocorreu devido à diminuição do percentual de gordura corporal, visto que nenhuma alteração foi encontrada na AST das fibras musculares (figuras 3 e 4).

Figura 4. Progressão do peso corporal dos grupos experimentais (n=8 por grupo):



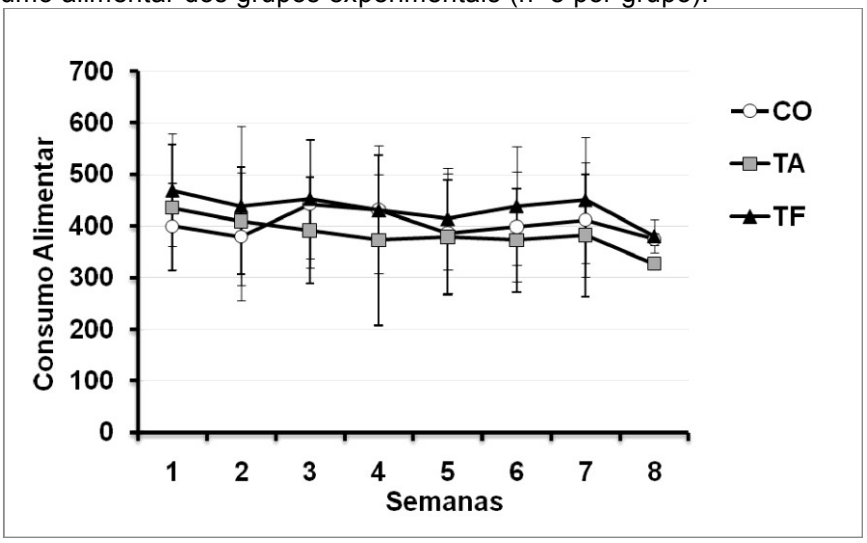
Treinamento aeróbio (TA), treinamento de força (TF) e controle (CO). Valores expressos em média ± DP. * p<0,05 em relação ao PF dos grupos TF e CO.

Figura 5. Área de secção transversal (AST) das fibras do músculo plantar, dos grupos CO, TA e TF.



Valores expressos em média ± DP. * p<0,05 em relação aos grupos CO e TA.

Figura 6. Consumo alimentar dos grupos experimentais (n=8 por grupo):



Treinamento aeróbio (TA), treinamento de força (TF) e controle (CO). Valores expressos em média ± DP.

CONCLUSÃO

O treinamento de força utilizado no presente estudo promoveu aumento na AST das fibras do músculo plantar. Por outro lado, os animais submetidos ao treinamento aeróbio não apresentaram alterações na AST das fibras, entretanto houve redução do PC dos animais. Interessantemente, estas adaptações foram similares às observadas em sujeitos humanos submetidos a ambos os modelos de treinamento.

Os dados fortemente sugerem a utilização do modelo animal de treinamento de força empregado no presente estudo como uma estratégia adequada para o estudo da resposta hipertrófica do músculo esquelético.

REFERÊNCIAS

BALDWIN, K.M.; CHEADLE, W.G.; MARTINEZ, O.M.; COOKE, D.A. Effect of functional overload on enzyme levels in different types of skeletal muscle. **J Appl Physiol** 42:312-317, 1977.

BARAUNA, V.G.; JUNIOR, M.L.B.; ROSA, L.F.B.P.C.; CASARINI, D.E.; KRIEGER, J.E.; OLIVEIRA, E.M. Cardiovascular adaptations in rats submitted to a resistance-training model. **Clin Exp Pharmacol Physiol.** 32:249-254, 2005.

BEZERRA, P.; ZHOU, S.; CROWLEY, Z.; BROOKS, L.; HOOPER, A. Effects of unilateral electromyostimulation superimposed on voluntary training on strength and cross-sectional area. **Muscle Nerve.** 40: 430–437, 2009.

BICKEL, C.S.; SLADE, J.; MAHONEY, E.D.; HADDAD, D.; DUDLEY, A.; ADAMS, G.R. Time course of molecular responses of human skeletal muscle to acute bouts of resistance exercise. **J Appl Physiol.** 98:482–488, 2005.

CAMPOS, G.E.; LUECKE, T.J.; WENDELN, H.K.; TOMA, K.; HAGERMAN, F.C.; MURRAY, T.F.; RAGG, K.E.; RATAMESS, N.A.; KRAEMER, W.J.; STARON, R.S. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. **Eur J Appl Physiol.** 88:50–60, 2002.

GOBATTO, C.A.; MELLO, M.A.; SIBUYA, C.Y.; AZEVEDO, J.R.; SANTOS, L.A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.** 130(1):21-7, 2001.

GONYEA, W.J.; ERICSON, G.C. An experimental model for the study of exercise-induced skeletal muscle hypertrophy. **J Appl Physiol** 40(4):630-633, 1976.

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

LAURENT, G.J.; SPARROW, M.P.; MILLWARD, D.J. Turnover of muscle protein in the fowl. Biochem. J. 176: 407-417,197&of muscle protein in the fowl. **Biochem J** 176: 407-417, 1978.

RATAMESS, N.A.; ALVAR, B.A.; EVETOCH, T.K.; HOUSH, T.J.; KIBLER, W.B.; KRAEMER, W.J.; TRIPLETT, N.T. (American College of Sports Medicine position stand). Progression models in resistance training for healthy adults. **Med Sci Sports Exerc** 41(3):687-708, 2009.

SILVA, D.A.S.; MELO, L.A.; OLIVEIRA, A.C.C. Efeito do treinamento físico na massa corporal de ratos. **Motriz** 13(1):43-50, 2007.

TAMAKI, T.; UCHIYAMA, S.; NAKANO, S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. **Med Sci Sports Exerc.** 24(8):881-886, 1992.

TRAPPE, S.; HARBER, M.; CREER, A.; GALLAGHER, P.; SLIVKA, D.; MINCHEV, K.; WHITSETT, D. Single muscle fiber adaptations with marathon training. **J Appl Physiol.** 101(3): 721-727, 2006.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**, 4thed. Prentice-Hall New Jersey, 633p, 1999.

Departamento de Morfologia, UNESP, Botucatu, 18618-000, Distrito de Rubião Junior, SP, Brasil.