

MORFOMETRIA DOS TIPOS HISTOENZIMOLÓGICOS DE FIBRAS MUSCULARES DO MÚSCULO RETO ABDOMINAL DE RATOS (*RATTUS NORVEGICUS*) ALCOOLIZADOS

Nícolas Bertolaccini dos Santos¹

Jesus Carlos Andreo⁴

Luis Henrique Rapucci Moraes¹

Matheus Bermejo Andreo²

¹Alunos do Curso
de Ciências Biológicas
da Universidade do
Sagrado Coração
– USC.

²Alunos do Curso
de Fisioterapia da
Universidade do
Sagrado Coração
– USC.

³Aluna do Curso
de Medicina
Veterinária da
Universidade
de Marília
– UNIMAR.

⁴Professor Livre
Docente – Curso de
Pós Graduação
em Biologia Oral
– USC.

Recebido em: 23/01/2004
Aceito em: 16/10/2004

SANTOS, Nícolas Bertolaccini dos, et al. Morfometria dos tipos histoenzimológicos de fibras musculares do músculo reto abdominal de ratos (*Rattus norvegicus*) alcoolizados. *Salusvita*, Bauru, v. 23, n. 2, p. 183-195, 2004.

RESUMO

Considerando que os usuários do álcool representam uma boa parcela da população humana, que o uso prolongado do álcool em excesso causa multiplicidade de anormalidades, tanto bioquímicas, como morfológicas, resolveu-se estudar o efeito desta droga em uma mistura onde o álcool representa mais de 50% das calorias usadas diariamente pelo rato, que apresenta uma atrofia seletiva das fibras do tipo II, semelhante à que ocorre no ser humano. Para isso foi retirada amostra do músculo reto abdominal de cinco animais de cada grupo Controle (C), Alcoolizado (A) e Isocalórico (I). As amostras foram submetidas às reações de m-ATPase (com pré-incubações ácida e alcalina) e NADH-TR, para classificar as fibras de acordo com os resultados obtidos nestas reações. Os resultados mostraram uma diferença significativa, tanto na frequência das fibras do tipo FG, como nas do tipo FOG entre os grupos estudados. Quanto a área, os resultados apontaram uma diferença significativa apenas nas fibras do tipo FG, sendo menor nos animais do grupo A e maior nos do grupo C. Baseado nestes dados pode-se con-

chuir que a alcoolização alterou o tamanho das fibras do tipo FG e a frequência das fibras FG e FOG.

PALAVRAS-CHAVE: alcoolismo; tipos de fibras musculares; ratos-*Rattus norvegicus*; reto abdominal

INTRODUÇÃO

O alcoolismo é considerado uma doença farmacodependente pela Organização Mundial da Saúde (OMS), segundo Fortes e Cardo (1991).

Na literatura consultada não foram encontrados dados referentes à percentagem de alcoólatras no Brasil, mas em alguns países, como nos Estados Unidos, esse número chega a ser preocupante, correspondendo a sete por cento da sua população, o que equivale dizer que nove milhões de americanos consomem álcool. Com relação ao número de consumidores de álcool, vale a pena lembrar ainda, que muitos indivíduos são usuários desta substância, mas negam o fato quando respondem formulários a respeito deste assunto, portanto a percentagem de indivíduos que utilizam esta substância é sempre maior do que as pesquisas indicam.

O uso prolongado de álcool em excesso causa multiplicidade de anormalidades bioquímicas e eletrofisiológicas, que estão associadas às doenças do fígado, sistema neuromuscular, coração e cérebro (SPENCER, 1986). Segundo Preedy et al. (1990), pode-se dizer que inúmeras vias metabólicas são alteradas e todos os órgãos são afetados, pela exposição crônica ou aguda ao etanol.

O sistema muscular esquelético é um sistema que tem despertado grande interesse dos pesquisadores, por se constituir no maior sistema orgânico do corpo humano, e por responder rapidamente a alterações como demanda funcional, estado nutricional, inervação e irrigação (PREEDY et al., 1990; SPENCER, 1986).

Os músculos esqueléticos dos consumidores de etanol podem produzir mudanças agudas ou crônicas. O mecanismo fisiopatológico para tais mudanças está provavelmente relacionado às alterações na fluidez das membranas, nas bombas iônicas, depressão da contratibilidade, síntese de proteínas e problemas genéticos (FERNANDEZ-SOLA et al., 1996).

O efeito do álcool sobre os músculos tem sido estudado em vários animais, principalmente, seres humanos (FERRAZ et al., 1989; SHARMA et al., 1990; CHEN et al., 1991; PREEDY

SANTOS, Nicolas Bertolaccini dos et al. Morfometria dos tipos histoenzimológicos de fibras musculares do músculo reto abdominal de ratos (*Rattus norvegicus*) alcoolizados. *Salusvita*, Bauru, v. 23, n. 2, p. 183-195, 2004.

SANTOS, Nicolas Bertolaccini dos et al. Morfometria dos tipos histoenzimológicos de fibras musculares do músculo reto abdominal de ratos (*Rattus norvegicus*) alcoolizados. *Sahsvita*, Bauru, v. 23, n. 2, p. 183-195, 2004.

et al., 1994; SESTOFT et al., 1994; FERNANDEZ-SOLA et al., 1995) e ratos (PREEDY et al., 1990; TROUNCE et al., 1990; SALYSBURY et al., 1992).

A miopatia alcoólica ocorre de 1/3 a 1/2 das pessoas que abusam do uso do álcool, e ela caracteriza-se por atrofia seletiva das fibras do tipo II, enquanto que as do tipo I não são afetadas (REILLY et al., 1998).

A atrofia seletiva das fibras do tipo II, produzida pelo uso do etanol tem sido estudada em alguns músculos como tibial anterior (SHARMA et al., 1990), sóleo (PREEDY et al., 1990), plantar (PREEDY et al., 1990), gastrocnêmio (PREEDY et al., 1990), que na maioria das vezes são músculos com o predomínio de um tipo de fibra.

O músculo reto abdominal tem sido considerado um bom músculo controle, porque ele contém os três tipos de miosina – I, IIA e IIB (SCIOTE et al., 1994).

A histoenzimologia e a morfometria tem sido considerados dois excelentes métodos de estudo para avaliar as alterações que possam ocorrer no sistema muscular estriado.

A literatura consultada mostra que o músculo reto do abdome, apesar de ter grande importância na postura de alguns animais, de ser indicado como um bom padrão por alguns pesquisadores, e ser de fácil acesso para retirada de biópsias, não apresenta muitos dados sobre as suas características histoenzimológicas, principalmente em animais submetidos ao alcoolismo, sobre os quais não foi encontrado nenhum trabalho científico na literatura consultada.

Considerando-se o exposto acima, resolveu-se realizar estudo, com a finalidade de observar-se histoenzimologicamente o efeito desta substância na área e frequência, dos diferentes tipos de fibra neste músculo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram retiradas amostras do músculo reto abdominal de 15 ratos (*Rattus norvegicus*), machos adultos com aproximadamente três meses de idade, da linhagem Wistar, com peso médio de 200 g, fornecidos pelo Biotério da Universidade de São Paulo – Campus de Bauru – SP.

Os animais, 90 dias após seu nascimento, foram criados em gaiolas individuais de aço inoxidável, com comedouros e bebedouros individuais, para melhor controlar o consumo de sólido e líquido. A sala teve iluminação artificial comandada por “timer”, que

controlou o ciclo claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram separados em 3 grupos de cinco animais cada um, da seguinte maneira:

- Grupo Controle Normal (N) – os animais que receberam água de torneira como dieta líquida.
- Grupo Alcoolizado (A) – (animais submetidos ao alcoolismo crônico) os animais que receberam álcool etílico 25% diluído com água de torneira.
- Grupo Controle Nutricional Pareado – isocalórico (I) – os animais que receberam água com sacarose como dieta líquida.

Os animais dos três grupos receberam sempre a mesma dieta sólida (ração Nuvilab CR 1, da NUVITAL), durante todo o experimento.

O álcool utilizado nesta pesquisa foi o etílico absoluto, do laboratório MERCK ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$).

Após este período de tratamento, os animais foram sacrificados para retirada das amostras do músculo reto abdominal.

As amostras retiradas foram mantidas à temperatura ambiente por 15 minutos, a seguir os fragmentos foram imersos em n-hexana congelada a -70°C , em nitrogênio líquido, durante dois minutos. As amostras musculares foram armazenadas em botijões contendo nitrogênio líquido, até o momento do processamento das mesmas.

De cada amostra muscular foram obtidos vários cortes de 10 mm de espessura, transversais ao eixo longitudinal das fibras, os quais foram colhidos em lâminas histológicas. Estes cortes foram utilizados nas reações de m-ATPase (com pré-incubações ácida e alcalina), seguindo a metodologia de Werneck (1981) e NADH-Diaforase Pearse, (1968) modificado por Dubowitz e Brooke (1973) e coloração de eosina e hematoxilina (HE) (BEHMER et al., 1976).

Baseado nos resultados obtidos nas reações de m-ATPase e NADH-TR as fibras foram classificadas segundo Peter et al. (1972), como fibras rápidas glicolíticas (FG), fibras rápidas oxidativas-glicolíticas (FOG) e fibras lentas oxidativas (SO).

Foram escolhidos ao acaso, vários campos microscópicos e o número de fibras identificadas e classificadas foi de 300. O número de fibras que tiveram a área calculada foi de 40 de cada tipo, para cada lâmina, de cada animal.

A contagem das fibras e o cálculo das suas áreas foram feitos com auxílio de sistema de análise de imagem, modelo Image-Pro Plus versão 4.1 acoplado a um microcomputador Pentium III.

Os dados obtidos com relação à frequência e área, dos diferentes tipos de fibras foram submetidos à análise de variância, para

SANTOS, Nícolas Bertolaccini dos et al. Morfometria dos tipos histoenzimológicos de fibras musculares do músculo reto abdominal de ratos (*Rattus norvegicus*) alcoolizados. *Salusvita*, Bauru, v. 23, n. 2, p. 183-195, 2004.

SANTOS, Nicolas Bertolaccini dos et al. Morfometria dos tipos histoenzimológicos de fibras musculares do músculo reto abdominal de ratos (*Rattus norvegicus*) alcoolizados. *Saüsvita*, Bauru, v. 23, n. 2, p. 183-195, 2004.

observar a existência ou não de diferença significativa entre elas, nos vários grupos estudados. Onde a análise de variância acusou alguma diferença significativa foi aplicado o Teste Tukey, para identificar estas diferenças.

RESULTADOS

O peso dos animais, em gramas, no início do experimento e no momento do sacrifício, e ganho de peso, em porcentagem, estão representados na TABELA 1.

TABELA 1 – Peso médio dos animais, em gramas, no início do experimento e no momento do sacrifício, e ganho de peso, em porcentagem, nos grupos N, A e I.

	Normal		Alcoolizado		Isocalórico	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
Peso Inicial	271,2	28	258,3	18,6	276,68	27,2
Peso Final	413,9	39	282,5	48,4	345,88	28,3
Ganho de Peso em%	53,3	14,8	9,36	18	25,4	9,8

centagem, nos grupos N, A e I.

A quantidade de calorias ingerida diariamente está representada na TABELA 2.

TABELA 2 – Média das calorias ingeridas diariamente pelos animais dos Grupos N, A e I.

	Normal		Alcoolizado		Isocalórico	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
Ração Ingerida-g	23,26	1,43	10,49	1,53	9,34	1,57
Calorias Produzidas	63,97		28,80		25,69	
Líquido Ingerido-ml	49,65	4,82	22,84	3,70	21,41	4,03
Calorias Produzidas	0,0		32,44		30,71	
Total Calorias consumidas	63,97		61,24		56,4	

mais dos Grupos N, A e I.

O balanço do nitrogênio, feito nas fezes e urina, acusou os seguintes valores: Grupo N = 1,24 Grupo A = -3 e grupo I = -3,5.

O exame de sangue acusou presença de álcool apenas nos elementos Grupo A, numa média de 0,221g/l de sangue (índice para humanos).

SANTOS, Nícolas Bertolaccini dos et al. Morfometria dos tipos histoenzimológicos de fibras musculares do músculo reto abdominal de ratos (*Rattus norvegicus*) alcoolizados. *Salusvita*, Bauru, v. 23, n. 2, p. 183-195, 2004.

TABELA 3 – Resultados das reações de m-ATPase e NADH-Tr a

Fibras	m-ATPase pH 10.6 Fig. 1	m-ATPase pH 4.5 Fig. 2	m-ATPase pH 4.4 Fig. 3	NADH-Tr Fig. 4
1 Tipo FG	+++	++	+	+
2 Tipo FOG	+++	+	+	++
3 Tipo SO	+	+++	+++	+++

que foram submetidas as amostras do músculo reto abdominal dos animais dos grupos N, A e I.

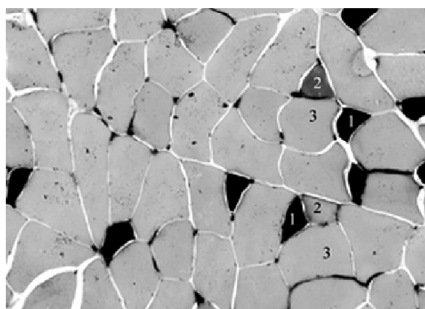


FIGURA 1 – Músculo reto abdominal submetido à reação de m-ATPase ácida (ph 4,4). 1 = fibra FG; 2 = fibra FOG e 3 = fibra SO.



FIGURA 2 – Músculo reto abdominal submetido à reação de m-ATPase ácida (ph 4,5). 1 = fibra FG; 2 = fibra FOG e 3 = fibra SO.

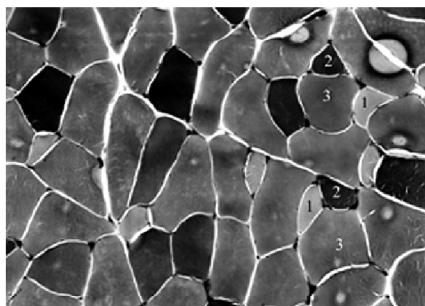


FIGURA 3 – Músculo reto abdominal submetido à reação de m-ATPase alcalina (ph 10,4). 1 = fibra FG; 2 = fibra FOG e 3 = fibra SO.

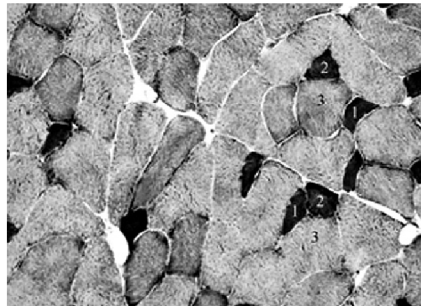


FIGURA 4 – Músculo reto abdominal submetido à reação de NADH. 1 = fibra FG; 2 = fibra FOG e 3 = fibra SO.

SANTOS, Nicolas
Bertolaccini dos et al.
Morfometria dos tipos
histoenzimológicos
de fibras musculares
do músculo reto
abdominal de ratos
(*Rattus norvegicus*)
alcoholizados.
Sahevita, Bauru,
v. 23, n. 2,
p. 183-195, 2004.

Fibras	Normal		Alcoholizado		Isocalórico		F	P
	Média	dp	Média	dp	Média	dp		
FG	6,43 a	0,91	3,31 b	0,91	4,77 c	0,38	20,40	0,000*
FOG	2,72	0,82	1,87	0,46	1,90	0,19	3,78	0,053
SO	0,93	0,14	0,69	0,15	0,83	0,32	1,60	0,241

TABELA 4 – Área, em μm^2 dos diferentes tipos de fibras encontradas no m. reto abdominal dos animais dos Grupos N, A e I.

Com relação aos dados das áreas dos diferentes tipos de fibras encontradas no músculo reto abdominal, nota-se que os valores são maiores no Grupo N e menores no Grupo A, em todos os tipos de fibras. A ANOVA acusou diferença estatisticamente significativa entre os grupos apenas nas fibras do tipo FG. Porém, os valores das fibras do tipo FOG estiveram próximos de uma diferença estatisticamente significativa. O teste Tukey mostrou, que a diferença encontrada na área da fibra do tipo FG estavam entre os grupos N e A, N e I e entre A e I.

Fibras	Normal		Alcoholizado		Isocalórico		F	P
	Média	dp	Média	dp	Média	dp		
FG	63,6 ^a	1,84	60,9 ^{ab}	4,09	57,7 ^b	5,59	4,04	0,045*
FOG	22,3 ^a	3,84	23,7 ^{ab}	2,18	28,3 ^b	5,16	4,08	0,044*
SO	14,1	2,98	15,4	3,80	14,1	5,93	0,13	0,873

TABELA 5 – Frequência, em porcentagem, dos diferentes tipos de fibras encontradas no músculo reto abdominal dos animais dos Grupos N, A e I.

Grupos com a mesma letra não apresentam diferenças estatisticamente significantes entre si.

Quanto aos dados sobre a frequência dos diferentes tipos de fibras encontradas no m. reto abdominal, a ANOVA encontrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, tanto nas fibras do tipo FG, como nas do tipo FOG. O teste “Tukey” mostrou que esta diferença estava entre os Grupos N e I, tanto nas fibras do tipo

FG, como nas do tipo FOG.

Os dados mostraram, por meio da correlação de Pearson, a existência de uma correlação entre a área das fibras do tipo FG e o peso dos animais.

DISCUSSÃO

A literatura consultada mostra poucos artigos sobre a histoenzimologia do músculo reto abdominal.

Martin (1985) estudando histoenzimologicamente o músculo reto abdominal de ratos observou que os tipos de fibra mais frequentes eram o FG, seguido pelo FOG e finalmente pelo SO. Estes dados coincidiram com os desta pesquisa.

Haggmark e Thorstensson (1979) estudaram os músculos da parede abdominal de humanos (músculos reto abdominal, oblíquos externo e interno e transversos abdominais), classificando as fibras como I, IIA, IIB e IIC. Segundo estes pesquisadores a frequência dos diferentes tipos de fibras não variou entre os músculos da parede abdominal, sendo as fibras do tipo I as mais frequentes, seguidas por IIA, IIB e IIC. Sobre o tamanho das fibras eles afirmaram que o diâmetro menor foi similar para todos os músculos. Estes dados divergem dos desta pesquisa.

O músculo reto abdominal humano foi estudado também por Sciote et al. (1994), que identificaram as fibras dos tipos I, IIA e IIB, onde as do tipo IIB eram as maiores, seguidas pela IIA e I. Estes resultados são semelhantes aos encontrados neste trabalho.

Ito (1998) estudou o músculo reto abdominal do macaco japonês (*Macaca fuscata*), onde ele encontrou que o tipo de fibra mais frequente foi o tipo IIB, seguido pelos tipos I e IIA. Estes resultados diferem dos encontrados nesta pesquisa.

Na literatura existem vários estudos sobre efeito do álcool na musculatura estriada. Alguns foram realizados em seres humanos e outros em animais, e dentre eles o rato é o que tem sido sempre indicado como o modelo experimental ideal, por apresentar uma atrofia seletiva das fibras do tipo II, semelhante à que ocorre no homem (TROUNCE et al., 1990; PREEDY et al., 1990; SALISBURY et al., 1992; PREEDY et al., 1994).

Sobre a atrofia, ou a alteração do crescimento das fibras do tipo II, que são de contração rápida, nesta pesquisa este fato também foi observado, uma vez que o crescimento da área das fibras dos tipos FG e FOG foi menor nos Grupo A e I do que no Grupo N.

SANTOS, Nicolas Bertolaccini dos et al. Morfometria dos tipos histoenzimológicos de fibras musculares do músculo reto abdominal de ratos (*Rattus norvegicus*) alcoolizados. *Salusvita*, Bauru, v. 23, n. 2, p. 183-195, 2004.

No caso das fibras do tipo FG a diferença chegou ser significativa entre os Grupo estudados.

Com relação ao efeito do álcool sobre as fibras de contração lenta, ou tipo I, a literatura mostra dados conflitantes. Alguns pesquisadores consideram que este tipo de fibra não é afetado pelo consumo do álcool (MARTIN et al., 1985; FERNÁNDEZ-SOLÁ et al., 1995; REILLY et al., 1998), outros consideram que as fibras do tipo I podem até sofrer uma ligeira hipertrofia (PREEDY et al., 1989; SALISBURY et al., 1992; PREEDY; PETER, 1994). Segundo Preedy et al., (1994) em circunstâncias excepcionais um alcoólatra de muito tempo pode apresentar atrofia das fibras do tipo I, mas sempre de menor magnitude do que as do tipo II. Nesta pesquisa observou que o crescimento das fibras de contração lenta (SO) também foi menor no Grupo A, do que nos outros dois Grupos, mas esta diferença não foi significativa.

O efeito preferencial de atrofia das fibras de contração rápida pelo alcoolismo é considerado por alguns pesquisadores, como similar ao que ocorre em outras miopatia metabólicas comuns, como a caquexia, portanto o mecanismo que atinge este tipo de fibra pode ter uma semelhança entre si (PREEDY et al., 1994).

Este efeito seletivo de atrofia das fibras de contração rápida em pacientes alcoólatras tem sido considerada independente do estado nutricional por alguns pesquisadores (MARTIN et al., 1985; SALISBURY et al., 1992). Contudo, Carpenter; Karpati, (1984) consideram que em pacientes alcoólatras crônicos o desenvolvimento da atrofia das fibras do tipo II pode ser devido a outras causas como a coexistência de má nutrição. Estes pesquisadores relatam ainda, que em experimentos anteriores, a atrofia das fibras do tipo II estava presente em aproximadamente 30% dos pacientes alcoólatras crônicos, sendo mais freqüente naqueles pacientes com coexistência de má-nutrição, neuropatia periférica e outras doenças relacionadas com o etanol.

Nesta pesquisa, uma consideração importante deve ser feita, quanto aos ratos do grupo isocalórico, que é considerado como controle em algumas pesquisas. Os animais deste grupo tiveram um desenvolvimento menor, quando comparado aos ratos de alimentação livre do grupo N, semelhante aos de Preedy et al., (1988), e segundo estes pesquisadores este aspecto pode afetar as fibras musculares esqueléticas.

Deve ser lembrado ainda que, segundo Bunout et al. (1987), a miopatia alcoólica pode ser atribuída em parte ao balanço negativo de nitrogênio em pacientes alcoólatras e que nesta pesquisa, o

balanço de nitrogênio tanto do grupo alcoolizado como do isocalórico foi negativo.

Em humanos o abuso crônico do etanol causa redução na excreção de creatina na urina, sugerindo que a massa muscular como um todo é reduzida (DUANE; PETER, 1988). No rato também existe uma redução do peso, como resultado de alimentação prolongada com etanol (seis semanas) (PREEDY; PETER, 1988 a e b; PREEDY et al., 1989; TROUNCE et al., 1990). Nesta pesquisa os animais do grupo alcoolizado tiveram um ganho médio de peso de 9,36% do peso corporal, mas dois dos cinco animais deste grupo tiveram uma perda de peso, como nas pesquisas citadas anteriormente.

Outro fato que não pode ser esquecido nesta pesquisa é que as fibras de contração rápida do tipo FG, que apresentaram maior índice de atrofia, apresentaram uma correlação positiva com o peso dos animais no músculo estudado.

Observou-se também nesta pesquisa, que o grupo isocalórico, mesmo recebendo uma taxa média diária de calorias menor do que a do grupo alcoolizado (56,4 e 61,24 respectivamente) teve um ganho de peso maior, apesar da diferença não ser estatisticamente significativa.

Os pesquisadores consideram que as fibras de contração rápida que mais são afetadas pelo álcool, produzindo um decréscimo maior no seu tamanho são as do tipo IIB (fibras de contração rápida anaeróbias glicolíticas) (TROUNCE et al., 1990; CHEN et al., 1991; PREEDY et al., 1994; SESTOFT et al., 1994; REILLY et al., 1998) o que coincide com os dados encontrados neste trabalho, no qual as fibras do tipo FG foram as que apresentaram maior redução no seu tamanho, em todos os músculos estudados.

A dúvida que permaneceu é até onde a desnutrição afeta o crescimento da fibra muscular. Isso porque os animais do Grupo I receberam uma quantidade menor de calorias diária do que os animais do Grupo A (56,4 e 61,2 respectivamente), o balanço nitrogenado teve um valor negativo maior também no Grupo I do que no Grupo A (-3,5 e -3,0, respectivamente) e mesmo assim a atrofia das fibras do tipo FG foi menor nos animais do Grupo I do que no Grupo A, apresentado inclusive um valor significante.

CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos pode-se concluir que ratos submetidos à alcoolização, onde o álcool representa mais de 50% das ca-

SANTOS, Nícolas Bertolaccini dos et al. Morfometria dos tipos histoenzimológicos de fibras musculares do músculo reto abdominal de ratos (*Rattus norvegicus*) alcoolizados. *Salusvita*, Bauru, v. 23, n. 2, p. 183-195, 2004.

SANTOS, Nicolas
Bertolaccini dos et al.
Morfometria dos tipos
histoenzimológicos
de fibras musculares
do músculo reto
abdominal de ratos
(*Rattus norvegicus*)
alcoolizados.
Sahevita, Bauru,
v. 23, n. 2,
p. 183-195, 2004.

lorias usadas diariamente pelos animais, altera o tamanho das fibras do tipo FG, causando uma atrofia seletiva deste tipo de fibra nos animais do Grupo A e alteração na frequência das fibras dos tipos FG e FOG.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS NETO, A. G. *Manual de técnicas para histologia e patologia*. São Paulo: EDART, 1976.
2. BUNOUT, D. et al. Nitrogen economy in alcoholic patients without liver disease. *Metab. Clin Exp.* 36, p. 651-653, 1987.
3. CARPENTER, S.; KARPATI, G. Major general pathological reactions and their consequences on skeletal muscle cells. *Pathology of skeletal muscle, Churchill Livingstone*. New York, p.101-112, 1984.
4. CHEN, S. S.; PENG, M. J.; CHEN, T. J. Study of myopathy in chronic alcoholic with neurological complication. *Kao Hsiung I Hsueh Tsa Chih*, v. 7, n. 6, p. 269-306, 1991.
5. DUBOWITZ, V.; BROOKE, M. *Muscle biopsy: a modern approach*. London: Saudres, 1973
6. DUANE, P.; PETERS, T. J. Nutritional status in alcoholic with and without chronic skeletal muscle myopathy. *Alcohol and Alcoholism*, n. 23, p. 271-277, 1988.
7. FERNANDEZ-SOLA, J. et al. Significance of type II fiber atrophy in chronic alcoholic myopathy. *J Neurol Sci.*, v. 130, n.1, p. 69-76, 1995.
8. FERNANDEZ-SOLA, J.; JUNYENT, J. M.; URBANO-MARQUEZ, A. Alcoholic myopathies. *Curr Opin Neurol.*, v. 9, n. 5, p. 400-5, 1996.
9. FERRAZ, M. L. et al. Histochemical study of the skeletal muscle in chronic alcoholism. *Arq Neuropsiquiatr*, v. 47, n. 2, p. 139-49, 1989.
10. FORTES, J. R. A.; CARDO, W. N. Alcoolismo e distúrbios carenciais In: *Alcoolismo: diagnóstico e tratamento*. São Paulo: Sarvier, 1991, cap. 12, p. 129-139.
11. HÄGGMARK, T.; THORSTENSSON, A. Fibre types in human abdominal muscle. *Acta Physiol. Scand.*, v. 107, p. 319-325, 1979.

12. ITO, J. Fiber type composition of abdominal muscles in Japanese macaques (*Macaca fuscata*). *Okajimas Folia Anat. Jpn.*, v. 74, p. 199-206, 1998.
13. MARTIN, F. et al. Alcoholic skeletal myopathy a clinical and pathological study. *Quart. J. Med.*, n. 55, p. 233-251, 1985.
14. PEARSE, A. G. E. *Histochemistry: Theoretical and applied*. 2. ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1968.
15. PREEDY, V. R.; PETER, T. J. The effect of the chronic ethanol ingestion on protein metabolism in Type I and Type II fibre-rich skeletal muscle of the rat. *Biochem J*, n. 254, p. 631-639, 1988a.
16. PREEDY, V. R.; PETER, T. J. The effect of the chronic ethanol feeding on body and plasma composition and rates protein turnover in the rat. *Alcohol and Alcoholism*, n. 23, p. 217-224, 1988b.
17. PETER, J. B. et al. Metabolic profiles of the three fibre types of the skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry*, v. 11, p. 2627-77, 1972.
18. PREEDY, V. R. et al. Ethanol-induce skeletal muscle myopathy: biochemical and histochemical measurements on type I and type II fibre-rich muscles in the young rat. *Alcohol Alcohol*, v. 24, n. 6, p. 533-9, 1989.
19. PREEDY, V. R. et al. Liver histology, blood biochemistry and RNA, DNA and subcellular protein composition of various skeletal muscle of rats with experimental cirrhosis: implications for alcoholic muscle disease. *Alcohol*, v. 25, n. 6, p. 641-9, 1990.
20. PREEDY, V. R.; SALISBURY, J. R.; PETERS, T. J. Alcoholic muscle disease: features and mechanisms. *J. Pathol.*, v. 173, n. 4, p. 309-15, 1994.
21. REILLY, M. E.; ERYLMAZ, E. I.; AMIR, A.; PETERS, T. J.; PREEDY, V. R. Skeletal muscle ribonuclease activities in chronically ethanol-treated rats. *Alcohol Clin Exp Res.*, v. 22, n. 4, p. 876-83, 1998.
22. RUBIN, E. et al. Muscle damage produce by chronic alcohol consumption. *Am J Phatol.*, v. 83, p. 499-516, 1976.
23. SALISBURY, J. R. et al. Ethanol-induced chronic myopathy in the young rat: a light and electron microscopic study in type I or type II fibre-rich skeletal muscles. *Alcohol*, v. 27, n. 5, p. 493-500, 1992.

SANTOS, Nicolás Bertolaccini dos et al. Morfometria dos tipos histoenzimológicos de fibras musculares do músculo reto abdominal de ratos (*Rattus norvegicus*) alcoolizados. *Salusvita*, Bauru, v. 23, n. 2, p. 183-195, 2004.

SANTOS, Nicolas
Bertolaccini dos et al.
Morfometria dos tipos
histoenzimológicos
de fibras musculares
do músculo reto
abdominal de ratos
(*Rattus norvegicus*)
alcoolizados.
Sahevita, Bauru,
v. 23, n. 2,
p. 183-195, 2004.

24. SCIOTE, J. J. et al. Fibre type classification and myosin isoform in the human masseter muscle. *J. Neurol Sienc*, n. 126, p. 15-24, 1994.
25. SESTOFT, L. et al. Working capacity and expression of myosin heavy chain isoforms in skeletal muscle of chronic alcoholic men with liver disease after 1 day and 4 week of alcohol abstinence. *Clin Scin Colch.*, v. 86, n. 4, p. 433-40, 1994.
26. SHARMA, S. C. et al. Chronic muscle wasting in alcoholics: a histochemical and biochemical study. *Indian J Pathol Microbiol.*, v. 33, n. 3, p. 244-9, 1990.
27. SPENCER, H. Chronic alcoholism-frequently overlooked cause of osteoporosis in men. *Am J Med.*, v. 80, p. 393-7, 1986.
28. TROUNCE, I.; BYRNE, E.; DENNETT, X. Biochemical and morphological studies of skeletal muscle in experimental chronic alcoholic myopathy. *Acta Neurol Scand*, v. 82, n. 6, p. 386-91, 1990.
29. WERNECK L. C. O valor da biopsia muscular em neurologia (Análise de 290 exames a fresco pela histoquímica). *Ver Brasil Clin Terap.*, v. 10, p. 2-24, 1981.

