COMPARAÇÃO DO EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO DE NATAÇÃO COM CARGA E SEM CARGA NA MUSCULATURA ESTRIADA ESQUELÉTICA DE RATOS

Comparison of the effect of physical swimming training load and off load in the striated skeletal muscle of rats

Luis Henrique Simionato[1]
Calros Henrique Fachin Bortoluci[1]
Michele Yone Fujii de Souza[2]
Thais Caroline Pereira dos Santos[3]
Marcella Nicolinni Furtado[3]
Rodrigo Leal de Paiva Carvalho[4]
Geraldo Marco Rosa Júnior[4]

[1]Professor Mestre do Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração - USC, Bauru-SP, Brasil; Doutorando do Programa de Bases Gerais da Cirurgia – Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB/UNESP.

[2]Graduada em Fisioterapia pela Universidade do Sagrado Coração – USC, Bauru-SP, Brasil

[3]Graduanda do Curso de Biomedicina da Universidade do Sagrado Coração – USC, Bauru-SP, Brasil.

[4]Professor Doutor do Centro de Ciências da Saúde e da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade do Sagrado Coração – USC, Bauru-SP, Brasil.

Recebido em: 12/03/2015
Aceito em: 16/06/2015

SIMIONATO, Luis Henrique *et al*. Comparação do efeito do treinamento físico de natação com carga e sem carga na musculatura estriada esquelética de ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 2, p. 251-263, 2015.

RESUMO

Introdução: o treinamento físico provoca diversas alterações fisiológicas e morfológicas no tecido muscular dos seres vivos. **Objetivo**: assim, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito do treinamento aeróbio e de carga sobre a massa corporal de ratos. **Método**: a amostra foi composta por 40 ratos machos da linhagem Wistar, com 80

dias de vida, pesando aproximadamente 250g, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade do Sagrado Coração (USC). Divididos em grupo controle (GC), grupo controle água (GCA), grupo de atividade sem carga (GASC) e grupo de atividade com carga (GACC). O GASC e o GACC realizaram seus respectivos treinamentos durante 13 semanas consecutivas e o GC será utilizado como grupo controle. Todos os animais foram sacrificados com 125 dias de vida. Foi realizada a análise morfométrica dos músculos Sóleo e EDL *(Extensor Digitorum Longus)* utilizando-se um microcomputador com o software de captura e análise de imagem para comparar o efeito do exercício físico com e sem carga sobre o tecido muscular. **Resultado e discussão**: na avaliação muscular, as variáveis de área e diâmetro menor da fibra muscular apresentaram resultados semelhantes nos músculos sóleos e EDL. O grupo com carga GACC apresentou resultados superiores quando comparado com o grupo GASC, comprovando a eficiência da atividade física na hipertrofia das fibras musculares. **Conclusão**: foi possível concluir, na presente pesquisa, que o exercício foi eficaz no aumento da área da fibra muscular dos músculos sóleo e EDL de ratos Wistar, potencializado pela carga associada a hidroginástica.

Palavras-Chave: Treinamento físico. Músculo esquelético. Ratos. Morfometria. Hipertrofia.

ABSTRACT

Introduction*: physical training causes several physiological and morphological changes in the muscle tissue of living organisms.* **Objective***: the aim of this study was to investigate the effect of aerobic training and workload on the body weight of rats.* **Methods***: the sample consisted of 40 male Wistar rats, 80 days old, weighing approximately 250g, provided by the Central Animal Facility of the Universidade do Sagrado Coração (USC) . Divided into control group (CG) , water control group (GCA) , group activity without load (GASC) and group activity to charge (GACC). The GASC and the GACC held their training for 13 consecutive weeks and the GC will be used as control group. All animals were sacrificed at 125 days of life. Morphometric analysis of the Soleus and EDL muscles (Extensor Digitorum Longus) using a microcomputer with the capture software and image analysis was performed to compare the effects of exercise with and without load on muscle tissue. Results and discussion: muscle evaluation variables area and smallest diameter fiber presented similar results muscle in soleus and EDL.*

The group charged GACC showed superior results when compared with the GASC group, proving the effectiveness of physical activity in hypertrophy of muscle fibers. **Conclusion***: one can conclude , in this study , that exercise was effective in increasing the area of the muscle fiber in the soleus and EDL muscles of Wistar rats , potentiated by charge associated water aerobics .*

Keywords: *Phisycal training. Skeletal muscle. Rats. Morphometry. Hypertrophy*

INTRODUÇÃO

Sabemos que exercício físico altera muito dos mecanismos homeostáticos, pois aumenta a demanda energética como conseqüência do aumento da atividade metabólica imposta pelo exercício. O treinamento de força requer uma ação muscular contra uma força de oposição, ou seja, uma resistência externa. Sabe-se atualmente, que esse tipo de treinamento é essencial dentro de um programa de condicionamento físico, favorecendo a saúde, podendo beneficiar o aumento de força, potência, hipertrofia muscular. O treinamento de força provoca um aumento na massa muscular devido a um aumento no tamanho das fibras musculares, principalmente as do tipo IIA, provocando assim um aumento na força muscular. Os métodos para se treinar, tanto de forma aeróbica quanto anaeróbica, são diferentes. O exercício aeróbico pode ser realizado tanto em piscinas, pistas, bicicletas, tapetes rolantes e etc. Já o exercício de força, geralmente é realizado com algum equipamento que propicie alguma resistência. (SILVA, 2007).

O músculo estriado esquelético é constituído por fibras musculares associadas a tecido conjuntivo, que agrupa um conjunto de células musculares em um determinado local do músculo, formando os fascículos musculares.

Durante muito tempo pensou-se que as fibras musculares fossem todas semelhantes entre si, até quando se observou que o tecido muscular dos vertebrados revelava diferentes intensidades de coloração, inter e intramuscular. (RANVIER, 1874). Esta característica macroscópica mereceu uma atenção especial, e a partir desta observação os músculos passaram a ser classificados como vermelhos e brancos.

A área de secção transversal o perímetro e o diâmetro das fibras musculares são propriedades importantes da musculatura estriada. Essas variáveis são utilizadas como parâmetro para se determinar a força máxima que um músculo pode produzir sob condições iso-

métricas (WOLEDGE *et al*., 1985; CAIOZZO, 2002). Estudos têm mostrado uma relação direta entre a área de secção transversal de uma fibra muscular e o número de mionúcleos. (ALLEN *et al*., 1976; ROSSER *et al*., 2002). Assim, a condição de hipertrofia está associada a um aumento de mionúcleos enquanto que a atrofia das fibras musculares esta associada com a perda de mionúcleos (ALLEN *et al*., 1976; SCHMALBRUCH & LEWIS, 2000).

Nos últimos anos, várias pesquisas têm evidenciado o quanto a atividade física tem sido eficiente no tratamento e prevenção de doenças, tanto em humanos quanto em animais. Destaca-se dentre os exercícios, a prática da natação, pois agrega variados benefícios e qualidade de vida para os praticantes. A maioria dos profissionais da área da saúde recomendam a prática deste tipo de exercício por ajudar na recuperação de atletas e indivíduos lesionadas ou com problemas no sistema circulatório, locomotor e respiratório (FARIA, 2009).

De acordo com Kruel *et al*. (1997), em função da imersão e conseqüente facilidade de execução dos movimentos, os exercícios de recuperação de ordem motora e fisiológica na água tornam-se menos penosos e compõem um primeiro passo na retomada do trabalho físico e muscular. Assim a natação é um tipo de atividade física que vem sendo muito utilizada também, como forma de manutenção de um bom condicionamento físico (Kruel, 1994).

Baseado no exposto, os objetivos gerais deste projeto estão centrados na possível eficácia da atividade física com e sem carga na manutenção e na alteração dos aspectos morfológicos do tecido muscular estriado.

MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade do Sagrado Coração com o protocolo 030/11.

Foram utilizados 40 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus albinus, Wistar*) com 80 dias de vida, pesando em média 250g, provenientes do Biotério Central da Universidade do Sagrado Coração/ Bauru-SP (USC). Os animais foram mantidos em gaiola com água e ração Purina oferecidas *ad libitum*, com temperatura controlada (entre 21º a 25º C) e fotoperíodo invertido de 12 horas, ou seja, claro das 19h00 às 07h00, e escuro das 07h00 às 19h00. Desse modo, os animais puderam treinar durante o ciclo escuro, onde sua atividade metabólica é maior, considerando que os ratos são animais de hábitos noturnos (CAMPOS, 2005). No primeiro dia de cada semana de trei-

namento, a sessão de exercício iniciou com 30 minutos ininterruptos de treinamento. No treinamento seguinte eram acrescidos mais 5 minutos no tempo de exercício. Esse procedimento se estendeu até o fim de cada semana, chegando com tempo final de 40 minutos de treinamento. Esse treinamento foi elaborado proporcionando uma periodização simples de treinamento, com manipulação das variáveis tempo e sobrecarga (volume x intensidade).

Tabela 1 - Treinamento progressivo de natação considerando o tempo de natação no decorrer da semana.

Dias	Primeira semana	Segunda semana	Terceira semana	Quarta semana	Quinta semana
Segunda	30 minutos	30 minutos	30 minutos	30 minutos	30 minutos
Quarta	35 minutos	35 minutos	35 minutos	35 minutos	35 minutos
Sexta	40 minutos	40 minutos	40 minutos	40 minutos	40 minutos

Tabela 2 - Treinamento progressivo de natação considerando a sobrecarga ajustada a cada semana.

Semana	Sobrecarga (% do PC)
1ª semana	5.0
2ª semana	5.5
3ª semana	6.0
4ª semana	6.5
5ª semana	7.0

Os animais foram distribuídos em quatro grupos, com 10 animais. Todos iniciaram os protocolos com 80 dias de vida e foram sacrificados com 125 dias de vida.

Os grupos experimentais foram compostos pelo Grupo de Atividade Sem Carga (GASC) e pelo Grupo de Atividade Com Carga (GACC). No grupo GASC as sessões de treinamento foram realizadas sem sobrecarga adicional e seguindo os tempos de natação determinados na Tabela 1, o GACC também seguiu os tempos de natação, entretanto as sessões de treinamento foram realizadas com sobrecarga adicional determinada pela Tabela 2.

Os grupos controle foram divididos em Grupo Controle (GC) e Grupo Controle Água (GCA). Os grupos controle não passaram por treinamento, entretanto os animais do GCA tiveram contato com a água para permitir a mesma exposição ao estresse dos animais experimentais. Utilizamos a metodologia modificada de Dal Pai e colaboradores (2005), onde os ratos foram adaptados ao meio líquido por 2 semanas, 5 dias por semana em tanques coletivos (100 X 80 X 80 cm) contendo água rasa a 30°C por 60 minutos diários.

Os animais foram pesados e submetidos à anestesia geral através de injeção intramuscular de Cloridrato de Tiletamina, associado com Cloridrato de Zolazepam (50 mg/Kg) na região dorso lateral da coxa esquerda. Foi adotada técnica asséptica em todos os procedimentos cirúrgicos, e foi realizada a tricotomia da face dorso-lateral do membro pélvico direito.

Após a retirada dos músculos, foi iniciado o protocolo de inclusão em parafina para a obtenção de cortes histológicos de dez micrômetros e posteriormente a coloração de Hematoxilina e Eosina (HE).

As observações e as morfometrias dos músculos foram realizadas utilizando-se um microcomputador com o software de captura e análise de imagem *image J*, acoplado ao microscópio óptico e a uma câmera fotográfica. Foram realizadas a contagem e a morfometria das 200 fibras de cada animal estudado.

Para análise estatística os grupos foram comparados pela técnica da análise de variância e quando essa análise detectar diferença significativa foi aplicado os testes de Tukey e Anova para as comparações múltiplas entre as médias. Foi considerado significativo um $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

A análise morfométrica mostra que existe diferença significativa nos diâmetros menores entre os valores dos grupos com carga e sem carga, sendo que o grupo GACC apresentou média superior, atingindo 45,77 µm no m. sóleo e 54,77 µm no m. EDL, quando comparado com o grupo GASC, que atingiu 39,40 µm no m. sóleo e 47,50 µm no m. EDL. Os grupos que passaram por treinamento, apresentaram valores superiores ao grupo GC, que atingiu a média de 32,44 µm no m. sóleo e 36,88 µm no m. EDL. Os valores apresentados pelo GC foram semelhantes aos valores do grupo GCA, sendo que o m. sóleo atingiu a média de 31 µm e o m. EDL o valor de 38,30 µm. A comparação dos resultados pode ser observada na figura 1 e 2.

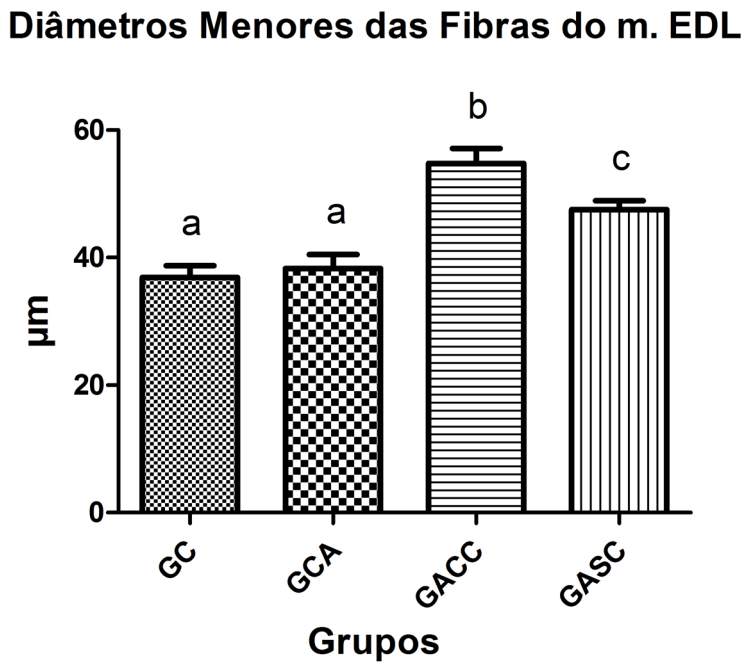

Figura 1 - Média dos diâmetros menores (µm), do músculo EDL nos quatros grupos. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

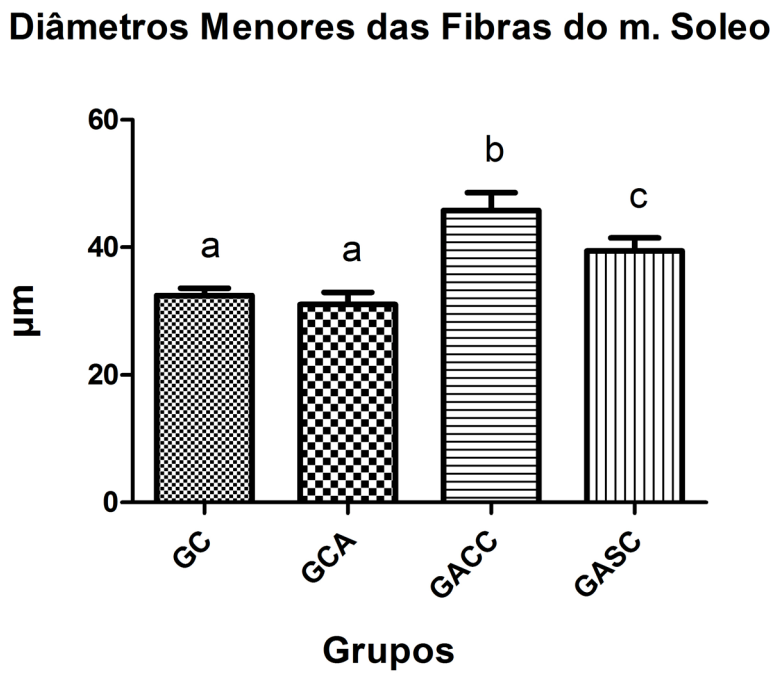

Figura 2 - Médias dos diâmetros menores (µm), do músculo Sóleo nos quatros grupos. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

Na avaliação das áreas das fibras do músculo EDL, observamos diferença significativa nos valores do grupo com carga e sem carga, sendo que o grupo GACC apresentou média superior, atingindo 2483 µm² quando comparado com o grupo GASC, que atingiu 2218 µm². Os grupos que passaram por treinamento, apresentaram valores superiores ao grupo GC, que atingiu a média de 1946 µm². Os valores apresentados pelo GC foram semelhantes aos valores do grupo GCA que apresentou a média de 1879 µm². Os resultados podem ser visualizados na figura 3.

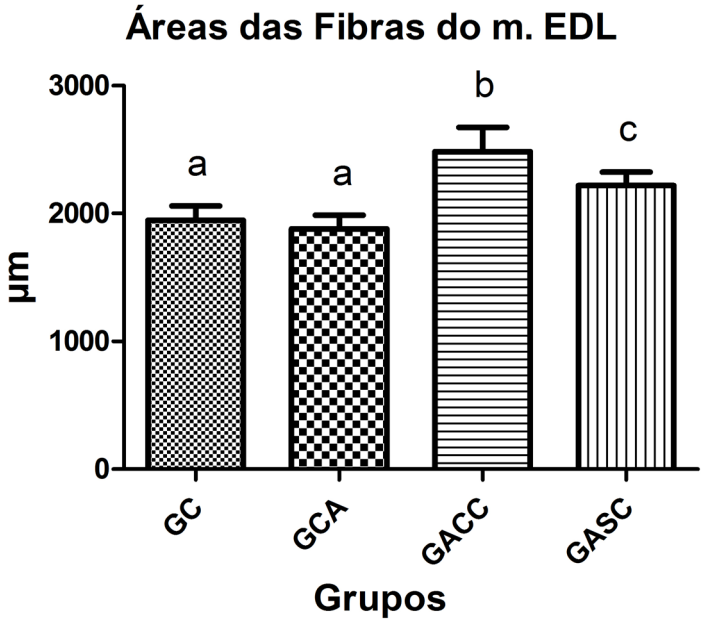

Figura 3 - Média das áreas (µm²) do músculo EDL nos quatro grupos estudados. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

Na avaliação das áreas das fibras do músculo sóleo, podemos observar diferença quando comparamos com o m. EDL, pois os grupos GC, GCA e GASC não apresentaram diferença significativa nos valores, atingindo 2846 µm², 2810 µm² e 2936 µm² respectivamente. O grupo GACC apresentou a maior média, atingindo 3151 µm². Os resultados podem ser visualizados na figura 4.

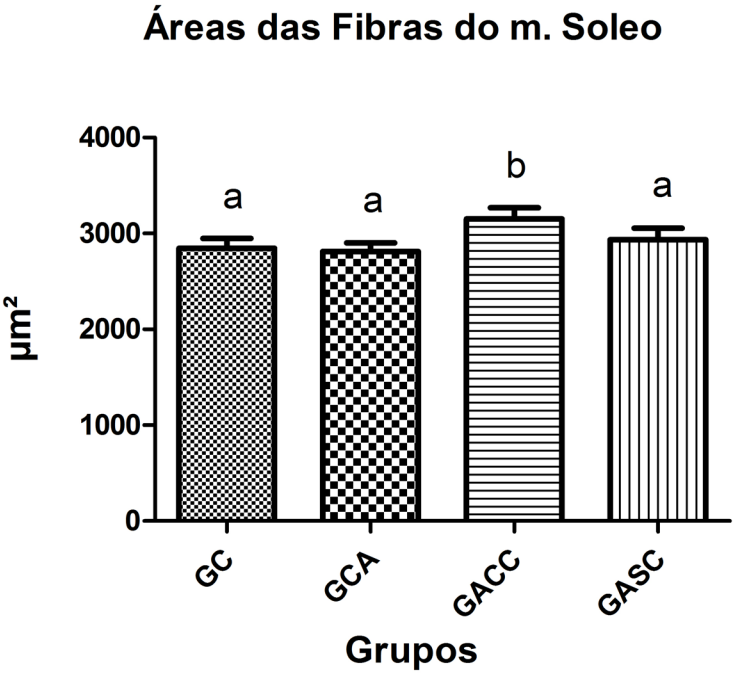

Figura 4 - Média das áreas (µm²) do músculo EDL nos quatro grupos estudados. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

DISCUSSÃO

A utilização do diâmetro médio das fibras como parâmetro de análise visa superar principalmente a variabilidade das medidas em fibras musculares com acentuado polimorfismo, em que a mensuração do menor diâmetro conduz a resultados pouco consistentes e de difícil reprodução. Conforme o critério de Dubowitz, freqüentemente é utilizado cerca de 200 fibras musculares, das quais é mensurado o menor diâmetro em uma região central ou próxima ao centro da fibra, em posição ortogonal em relação ao maior eixo da fibra. (BRITO, 2006), método utilizado nesta pesquisa.

A sobrecarga funcional induzida pelo exercício físico promove o aumento da tensão muscular e a produção de energia tornando o músculo esquelético suscetível a alterações. Durante as fases mais adiantadas do exercício, uma adaptação notável é a hipertrofia das fibras musculares, por exemplo, como aquelas que ocorrem no músculo quadríceps de indivíduos submetidos a treinamento de resistência e força. Uma das formas de se estudar as alterações das fibras musculares, como a hipertrofia, é por meio da mensura-

ção das dimensões geométricas das seções transversais das fibras (BRITO, 2006).

Nos estudos morfométricos do tecido muscular são freqüentemente avaliadas as dimensões geométricas dos cortes transversais das fibras como os diâmetros ortogonais, o perímetro da seção e a área. Seguiu-se este mesmo raciocínio metodológico para a realização deste trabalho.

O processo de hipertrofia da fibra muscular pode ser completado dentro de meses, portanto o músculo estriado esquelético pode atingir hipertrofia máxima dentro de curtos intervalos de tempo, como foi o caso observado neste trabalho.

Já foram propostos vários fatores desencadeantes de tais alterações, destacando-se entre eles o alto grau de estresse provocado pelo exercício, o estresse metabólico e as alterações da microcirculação.

No músculo EDL e no músculo sóleo, observa-se que os resultados da analise estatística referente a média das áreas, apresentaram alterações significativas entre o grupo com carga e sem carga, pois a hipertrofia amplia o número de elementos contráteis em paralelo e aumenta a tensão máxima que o músculo esquelético pode produzir em resposta ao exercício físico e são produzidas através de mudanças no metabolismo, proliferação celular e conseqüente ampliação da estrutura muscular (SILVA, 2007).

No músculo Sóleo, após a análise estatística comparando o diâmetro menor entre os grupos, nota-se diferença estatisticamente significante entre os grupos, sendo que o grupo com carga apresentou valores maiores, resultados semelhantes foram encontrados por Camargo, 2006.

Os resultados apresentados foram semelhantes ao trabalho de Brito (2006) que analisou cinco dimensões em cortes transversais das fibras do músculo EDL (diâmetros máximos, mínimos e médios, área e perímetro), sendo que todas as dimensões estudadas aumentaram em ratos submetidos a treinamento físico, em comparação aos animais do grupo controle, indicando a hipertrofia muscular.

As análises das lâminas mostraram que ocorreu aumento do diâmetro menor das fibras musculares do músculo EDL dos animais submetidos a treinamento físico com carga em relação ao grupo sem carga, indicando que houve hipertrofia muscular. Mudanças no tamanho e na quantidade de fibras musculares em animais submetidos a exercícios físicos foram também relatadas por outros autores como Camargo (2006), que relatou o aumento do diâmetro das fibras musculares dos músculos dos animais submetidos a treinamento físico.

Apesar do aumento do diâmetro das fibras musculares do músculo EDL, quando avaliamos o músculo sóleo, os valores não dife-

riram estatisticamente entre os grupos controles e treinado sem carga, o que provavelmente está relacionado ao tempo de treinamento e a manutenção da mesma intensidade de exercício durante todo o programa de treinamento físico. A hipertrofia muscular é oriunda da demanda funcional aumentada, que por sua vez é uma adaptação dos músculos à sobrecarga física e representa um mecanismo de precaução, no qual intensos estímulos de tensão, incomuns, são distribuídos pela maior porção da massa muscular, oferecendo assim uma relativa proteção contra o excesso de sobrecarga, uma vez que ocorre uma diminuição do estresse sobre cada fibra muscular individual (GARCIA, 2010).

CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que o exercício físico realizado por meio da natação induziu alterações morfométricas nas fibras do músculo sóleo e EDL. O aumento da massa muscular do músculo sóleo e EDL foi evidente no grupo GACC, pois foi associado carga no treinamento físico de natação.

Conhecendo as respostas de adaptações musculares, a comunidade clínica pode propor intervenções terapêuticas, de forma a potencializar os objetivos propostos utilizando exercícios de resistência e/ou de força, com associação de carga ao treinamento ou protocolo utilizado.

REFERÊNCIAS

ALLEN, D. L.; MONKE, S. R.; TALMADGE, R. J.; ROY, R. R.; EDGERTON, V. R. Plasticity of myonuclear number in hypertrophied and atrophied mammalian skeletal muscle fibers. **J Appl Physiol**., Bethesda, v.78, p. 1969-1976, 1995.

BRITO, M. K. M. M.; CAMARGO, J. C. S.; VANDERLEI, L. C. M.; TARUMOTO, M. H.; DAL PAI, V.; GIACOMETTI, J. A. Dimensões geométricas das fibras do músculo sóleo de ratos exercitados em esteira rolante: a importância da análise por meio de imagens digitalizadas. **Rev Bras Med Esporte,** São Paulo, v. 12, n. 2 Mar/Abr, 2006.

CAMARGO, R. C. T.; OLIVEIRA, D. A. R.; OLIVEIRA, S. A.; DAL PAI, V.; BELANGERO, W. D. Análise histológica, histoquímica e morfométrica do músculo sóleo de ratos submetidos a treinamento físico em esteira rolante. **Arq Ciênc Saúde**. Umuarama, v.12, n.3, p. 196-199, 2005.

CAIOZZO, V. J. Plasticity of skeletal muscle phenotype: mechanical consequences**. Muscle Nerve,** Hoboken, v. 26, p. 740-68, 2002.

DAVATZ, C. G.; ANDREO, J. C.; RODRIGUES, C. A.; ROSA JÚNIOR, G. M.; MORAES, R. L. H. Apoptosis in denervated skeletal muscle**. Int. J. Morphol.**, Temuco, v. 25, n. 3, p. 529-536, 2007.

GARCIA, B. C.; CAMARGO FILHO, J.C. S.; VANDERLEI, L.C.M.; PASTRE, C.M.; CAMARGO,R.C.T.; SOUZA,T.A.; HAIDAMUS, L. L.; OLIVEIRA, A.C.**,** Efeitos da dieta suplementada com ômega-3 no músculo sóleo de ratos submetidos à natação: análise histológica e morfométrica. **Rev Bras Med Esporte,** São Paulo, v. 16, n. 5 – Set/Out, 2010

KRUEL, L. F. M. **Peso Hidrostático e Freqüência Cardíaca em Pessoas Submetidas a Diferentes Profundidades de Água.** 1994. 116 f. Dissertação (Mestrado em ciência do movimento humano) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1994.

FARIA, W. M. I**nfluência do volume do treinamento de natação sobre a biometria e a homeostase metabólica em ratas. 2009. 76 f.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, área de concentração: Bioquímica Estrutural e Fisiológica) Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto,2009

KRUEL, L. F. M.; DIAS, A. B. C.; SILVA, R. C.; TARTARUGA, L. A. P.; PICANÇO, P. S.; RANGEL, A. B. Determinação da freqüên-

SIMIONATO, Luis Henrique *et al*. Comparação do efeito do treinamento físico de natação com carga e sem carga na musculatura estriada esquelética de ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 2, p. 251-263, 2015.

cia cardíaca em pessoas de diferentes idades submetidas a diferentes profundidades de água. In. Simpósio Internacional de Ciência e Tecnologia no Esporte, 1997, Porto Alegre. **Anais do Simpósio Internacional de Ciência e Tecnologia no Esporte. Porto Alegre:** Multimedia Gráfica, 1997.

PETER, J. B.; BARNARD, R. J.; EDGERTON, V. R.; GILLESPIE,C. A.; STEMDEL, K. E. Metabolic profiles of the three fiber types of the skeletal muscle in guinea pigs and rabbits**. Biochemistry,** Washington, v. 11, p. 2627 –2633, 1972.

RANVIER, L. Note sur les vaisseaus sanguins et la circulation dans les muscles rouge. **C.R. Soc. Biol**., Paris, v. 26, p. 28-31, 1874.

REICHMANN, H.; PETTE, D. **A** comparative microphotometric study of succinate dehydrogenase activity levels in type I, IIA and IIB fibres of mammalian and human muscule. **Histochem**., Berlin, v. 74, p. 27-41, 1982.

ROSSER, B.W.; DEAN, M.S.; BANDMAN, E. Myonuclear domain size varies along the lenGASChs of maturing skeletal muscle fibers. **Int J Dev Biol**., Vizcaya, v. 46, p. 747-754, 2002.

SCHMALBRUCH, H.; LEWIS, D. M. Dynamics of nuclei of muscle fibers and connective tissue cells in normal and denervated rat muscles**. Muscle Nerve,** Hoboken, v. 23, p. 617-626, 2000.

SILVA, D. A. S.; MELO, L. A.; OLIVEIRA, A. C. C, Efeito do treinamento físico na massa corporal de ratos. **Motriz,** Rio Claro, v.13, n.,1, p.43-50, jan./mar, 2007.

WOLEDGE, R. C.; CURTIN, N. A.; HOMSHER, E. Energetic aspects of muscle contraction. **Monogr Physiol Soc**., London, v. 41, p. 1-357, 1985.