

A influência do exercício de resistência associado ao esteróide anabólico sobre o perfil fenotípico da cadeia pesada de miosina do músculo de ratos

Autores

Sergio Ricardo Boff

Orientador

Rozangela Verlengia

1. Introdução

Fibras Musculares

As fibras musculares têm capacidade de alterar suas propriedades fisiológicas e bioquímicas de acordo com os estímulos a que são submetidas, com o resultado refletindo na quantidade ou tipo das proteínas musculares. Esta capacidade adaptativa envolvendo diferentes componentes da fibra diz respeito à plasticidade muscular.

O músculo de mamíferos, e especialmente o humano, é composto por uma população heterogênea de tipos de fibras musculares. Esta população de tipos de fibras é importante, pois, constitui a base da variedade e eficiência na funcionalidade do músculo.

As formas para a classificação das fibras musculares que oferecem maior fidelidade baseiam-se no perfil protéico da cadeia pesada da miosina, sendo que as técnicas mais utilizadas são: o método histoquímico através da análise da atividade da ATPase, imunohistoquímico com anticorpos específicos para a MHC e a análise eletroforética das isoformas da MHC.

O fundamento da análise histoquímica baseia-se no fato de que a enzima ATPase tem como função hidrolisar o ATP durante o processo de contração muscular, com o processo dependendo da velocidade de reação da enzima. O método histoquímico de análise da atividade da ATPase na Cadeia de Miosina Pesada em diferentes pHs: 4.3, 4.55 e 10.6, permite que as fibras sejam classificadas como sendo de contração lenta as do tipo I e contração rápida as do tipo II.

Alterações no predomínio de um ou outro tipo de fibra, servem como base fisiológica para as numerosas intervenções destinadas a aumentar o desenvolvimento da força e da sustentação do músculo, por outro lado, alterações na composição do tipo de fibra de um músculo também podem ser responsáveis por algumas das alterações ou disfunções vistas em indivíduos que ficaram sujeitos a grandes períodos de

imobilidade, inatividade, ou desnervação do músculo, indicando a capacidade de resposta muscular a um estímulo, decorrente de alterações das isoformas manifestadas pelas alterações na expressão das isoformas da Cadeia Pesada de Miosina.

São vários os estímulos que atuam sobre o músculo esquelético promovendo alterações fisiológicas e moleculares. Dentre eles temos: atividade neuromuscular, hormônios, idade, estímulo elétrico, carga ou ausência dela e exercício. Todos estes estímulos contribuem para modificar a atividade contrátil do músculo, desencadeando uma série de adaptações. Dentre as várias alterações decorrentes dos diversos estímulos aplicados sobre o músculo, temos a transição das fibras lentas (tipo I) para rápidas (tipo II). Em relação à transição das isoformas temos do IIA para IID e I para IIA.

Esteróides Anabolizantes Sintéticos

A maioria dos esteróides anabolizantes sintéticos disponíveis, originam da testosterona, a partir da manipulação de suas propriedades químicas, farmacocinética e biodisponibilidade. São usados na prática clínica ou por atletas por possuírem propriedades anabólicas.

A utilização dos esteróides anabólicos na clínica médica geralmente ocorre em situações onde o objetivo é o aumento da síntese protéica, sendo empregados no tratamento de hipogonadismo masculino, politraumatismo, queimados, pós-operatórios, anemia, osteoporose e síndrome da imunodeficiência adquirida.

Por outro lado, o uso dos esteróides anabólicos pelos atletas ou praticantes de atividades físicas, tem como objetivo melhorar a performance física, principalmente dos praticantes de modalidades que necessitam de altos níveis de força, potência e velocidade, como levantamento de peso, arremessos e lançamentos, sendo utilizado principalmente quando o objetivo é competição.

A nandrolona é a forma mais utilizada no meio esportivo pode ser administrada por via intramuscular ou oral, sendo a forma injetável a mais comum, se comparada à testosterona, a nandrolona apresenta maior atividade anabólica do que androgênica.

2. Objetivos

Objetivo Geral

Estudar a influência de diferentes doses do Decanoato de Nandrolona associado ao treinamento resistido sobre o perfil fenotípico e a área de secção transversa das fibras musculares do extensor longo dos dedos de ratos.

Objetivos Específicos

A) Quantificar as diferentes isoformas da cadeia pesada de miosina presentes no músculo extensor longo dos dedos após administração do Decanoato de nandrolona em associação ao treinamento resistido;

B) Determinar a área de secção transversa das fibras musculares do músculo extensor longo dos dedos após administração do Decanoato de Nandrolona em associação ao treinamento resistido;

3. Desenvolvimento

Foram utilizados 35 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), com 2 meses de idade e peso médio de 281,16 g \pm 21,24, obtidos no Biotério Central da Universidade Metodista de Piracicaba, subdivididos em 7 grupos (n=5)

O protocolo de treinamento com exercício de salto em água foi realizado em um cilindro de Poli Cloreto de Vinila (PVC) medindo 20 cm de diâmetro e 60 cm de altura, o volume de água foi o equivalente a duas vezes a média do tamanho dos ratos. A água utilizada no cilindro durante todo estudo foi mantida à temperatura de 30° C \pm 2° C.

O protocolo foi aplicado cinco dias por semana, no período da manhã, entre 8 e 12 horas.

Os ratos foram submetidos ao protocolo de treinamento de alta intensidade por cinco semanas. Durante as duas primeiras semanas de treinamento os animais realizaram quatro sessões de dez saltos por sessão, carregando uma carga de 50% do peso corporal amarrada no peito, com intervalo de 30 segundos entre as sessões. Na terceira e quarta semana, os animais realizaram o mesmo exercício, porém carregando uma carga de 60% do peso corporal, e na última semana, a carga foi ajustada a 70% do peso corporal, totalizando trinta e cinco sessões de treinamento.

Associado ao treinamento resistido em meio líquido, os animais receberam diferentes doses de decanoato de nandrolona (Deca Durabolin, Organon, New Jersey, USA) diluídos em propilenoglicol na concentração de 50mg/mL.

A administração do DN foi realizada via intramuscular, pós treinamento, nos músculos do quadríceps da coxa, sobre a pata traseira três vezes por semana, sendo que a administração foi realizada de forma alternada entre as patas. Os animais foram divididos em sete grupos com cinco animais em cada um. Sendo que seis grupos receberam a injeção de DN nas doses de 0,1; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0 mg/Kg. O outro grupo, grupo controle, recebeu injeções de propilenoglicol (veículo), polímero utilizado para diluir a Deca Durabolin.

Ao final do treinamento, os animais foram decaptados, e em seguida os músculos extensor longo dos dedos foram retirados e fixados em blocos de madeira sendo mantidos em nitrogênio líquido até o momento da obtenção dos cortes histológicos.

A determinação do tipo de fibra foi realizada por meio da análise histoquímica da atividade da Trifosfato de Adenosina Miofibrilar (mATPase), em incubações com pH de 4.30, 4.55 e 10.60 de acordo com Brooke (1970) e Staron (1993).

Para a contagem do número e a identificação das fibras foram feitas imagens de três campos aleatórios de cada corte em todos os pHs, mantendo sempre a mesma região do músculo e a mensuração da área de secção transversa das fibras (análise morfométrica) foi realizada a partir de imagens obtidas em três campos aleatórios feitos nos três pHs, sendo analisado pelo menos 50 fibras de cada tipo.

A análise estatística foi realizada utilizando o teste ONE-WAY ANOVA. Foi considerado o nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$). Os cálculos foram feitos utilizando o pacote estatístico SPSS-10 for Windows®.

4. Resultados

Determinação do tipo de fibra

Houve diminuição significativa nas fibras do tipo I nas doses 2, 5, 10 e 20 mg na magnitude de 8,3%, 7,6% e 9,38% e 7,66% respectivamente.

Já nas fibras tipos IC nas doses 1, 2, 5, 10 e 20 mg observamos aumento significativo de 24,39%, 73,17%, 202,34%, 82,9% e 63,41% respectivamente, já na dose de 0,1 mg houve diminuição de 8,3%; nas fibras tipo IIC aumento significativo nas doses 2 mg com 280%, 10 mg com 64% e 20 mg com 100% de aumento.

Nas fibras tipo IIA a diminuição foi de 61,62%, 63,06% 72,83%, 66,63%, 67,32% e 71,20% já nas fibras IIB ocorreu diminuição de 53,64% para as doses de 0,1 e 1,0 mg, 58,27 para 2,0 mg, 55,55% para 5 mg, 43,81% para 10 mg e 52,59% para 20 mg; nos dois grupos a diminuição foi significativa em todas as doses.

Com relação às fibras tipo IIAC os aumentos foram de 333,01%, 330,18%, 308,49%, 266,98%, 297,16% e 220,75% respectivamente; nas fibras tipo IIAD os aumentos foram de 235,25% para 0,1 mg, 245,75% para 1 mg, 293,75% para 2 mg, 293,75% para 5 mg, 263% para 10 mg e 288,5% para 20 mg ;as fibras IID aumentaram na proporção de 143,77%, 142,23%, 144,73%, 141,35%, 137,40% e 138,86% respectivamente; já nas fibras IIBD estavam com aumento de 141,29% na dose de 0,1 mg, 141,96% na dose de 1 mg, 153,53% para 2 mg, 147,47% para 5 mg, 130,93% para 10 mg e 154,60% para 20 mg; todos os aumentos foram significativos em todas as doses, caracterizando o processo de transição fenotípica conseqüente ao exercício de resistência associado ao uso de esteróide anabolizante.

Determinação da área de secção transversa da fibra

Houve aumento significativo na área das fibras do tipo I nas doses de 2 mg com 10,47%, 5 mg com 10,51% e 20 mg com 10,89%,

As fibras do tipo IC apresentaram diminuição significativa em suas áreas em todas as doses, na proporção de 9,09%, 8,4%, 9,18%, 9,11%, 9,36% e 9,37% respectivamente.

Já as fibra tipo IIC mostraram aumento significativo em suas áreas nas doses 5 mg com 10,32% e 20mg

com 10,28%.

Com relação à área das fibras tipo IIA, IIAC, IIAD, IID e IIBD, não ocorreram diferença significativa.

A área de secção transversa das fibras tipo IIB sofreu aumento significativo em todas as doses na magnitude de 10,89%, 10,98%, 11,78%, 11,89%, 11,95% e 12,01% respectivamente.

5. Considerações Finais

O treinamento de resistência em meio aquático associado ao esteróide anabolizante (Decanoato de Nandrolona) mostrou: i) ação modulatória (dose dependente) sobre a transição das fibras do músculo extensor longo dos dedos de ratos e interferência na área de seção transversa das mesmas; ii) estimulação do predomínio das fibras híbridas independente da dose administrada

Referências Bibliográficas

BALKOM, R. H. H., DEKHUIJZEN, P. N. R., VAN DER HEIJDEN, H. F. M., FOLGERING, H. T. M., FRANSEN, J. A. M.. Effects of anabolic steroids on diaphragm impairment induced by methylprednisolone in emphysematous hamsters. **Eur Respir J.** 13: 1062-1069, 1999.

BAMMAN, M. M., SHIPP, J. R., JIANG, J., GOWER, B. A. HUNTER, G. R., GOODMAN, A., McLAFFERTY, C. L., URBAN, R. J.. Mechanical load increases muscle IGF-1 and androgen receptor mRNA concentrations in humans. **Am J Endocrinol Metab.** 280: E383-E-393, 2001.

BAHRKE, M. S., YESALIS, C. E., KOPSTEIN, A. N., STEPHENS, J. A.. Risk factors associated with anabolic-androgenic steroid use among adolescents. **Sports Med.** 29 (6): 397-405, 2000.

BALDWIN, K. M., HADDAD, F., Plasticity in Skeletal, Cardiac, and Smooth MuscleInvited Review: Effects of different activity and inactivity paradigms on myosin heavy chain gene expression in striated muscle. **J Appl Physiol.** 90: 345–357,2001.

CAIOZZO, V. J., BAKER, M. J., KENNETH, M.B., Novel transitions in MHC isoforms: separate and combined effects of thyroid hormone and mechanical unloading. **J Appl Physiol.** 85(6): 2237–2248, 1998.

CAIOZZO, V. J., BAKER, M. J., HUANG, K., CHOU, H., WU, Y. Z., KENNETH, M.B. Single-fiber myosin heavy chain polymorphism: how many patterns and what proportions? **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 285:570-580, 2003.

CALVO, S., VENEPALLY, P., CHENG, J., BUONANNO, A. Fiber-Type-Specific transcription of the troponin i slow gene is regulated by multiple elements. **Molecular and Cellular Biology.** 515-525, 1999.

DAUGAARD, L., HANSEN, R.. Growth hormone induces muscle fiber type transformation in growth hormone-deficient rats. **Acta Physiol Scand.** 164:119-123, 1998.

DELP, M. D.; DUAN, C. Composition and size of type I, IIA, IID/X and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle. **Journal of Applied Physiology.** 80, 261-270, 1996.

PARSSINEN, M., KUJALA, U., VARTIANEN, E., SARNA, S., SEPPALA, T.. Increase premature mortality of competitive power lifters suspected to have used anabolic agents. **Int J Sports Med.** 21(3): 225-227, 2000.

PETTE, D., STARON, R. S.. Mammalian skeletal muscle fiber type transition. **Int Rev Cytol.** 170: 143-223, 1997.

PETTE, D.. Training effects on the contractile apparatus. **Acta Physiol Scand.** 162(3): 367-376, 1998.

PETTE, D., STARON, R. S. Myosin isoforms, muscle fiber types and e transitions. **Microscopy Research and Technique**. 50: 500-509, 2000