

MORFOMETRIA DAS FIBRAS MUSCULARES DO MÚSCULO RETO FEMORAL DE RATOS SUBMETIDOS À NICOTINA E AO TREINAMENTO AERÓBIO

Larissa Costa Olarte¹, José Eduardo Ramos Carvalho¹
 Armando Ribeiro Florido Neto², Giovana Teixeira Rampazzo²
 Patrícia Monteiro Seraphim², Ludimila Canuto Faccioni¹

RESUMO

A musculatura estriada esquelética apresenta plasticidade fenotípica e pode se alterar mediante o tabagismo e o exercício físico. O objetivo desse estudo foi investigar os efeitos do tratamento crônico de nicotina associado ao treinamento aeróbio sobre o Músculo Reto Femoral (mRF). Para tanto, foram utilizados 16 ratos jovens machos Wistar, divididos em 4 grupos: Grupo Controle (GC, N=4); Grupo Fumante (GF, N=4); Grupo Exercício (GE, N=4); Grupo Fumante Exercício (GFE, N=4). Os animais foram submetidos a um sistema de inalação de nicotina e protocolo de exercício em esteira por 60 dias. Os animais foram pesados e eutanasiados, o mRF dissecado, pesado, fixado em formol 10% e submetido à coloração Hematoxilina e Eosina. Imagens de campos aleatórios do aspecto transversal do músculo foram capturadas e aproximadamente 200 fibras musculares de cada animal analisadas quanto à área da seção transversal (AST) e submetidas à ANOVA seguida pelo Teste de Fisher, $p < 0,05$. Somente o GE apresentou ganho de peso superior ao GC ($p = 0,0037$), $p > 0,05$. O GFE apresentou maior peso muscular em relação ao GC, $p = 0,0019$. Na análise da AST das fibras musculares totais do mRF, o GFE apresentou diferença significativa em relação ao GC ($p = 0,0189$). Em relação à região superficial, o GE obteve valor de AST superior ao GC ($p = 0,0502$), bem como o grupo GFE ($p = 0,0038$). Concluímos que as fibras musculares do GFE apresentaram-se hipertrofiadas e que pode existir correlação entre o exercício aeróbio e o consumo da nicotina na alteração dessas fibras.

Palavras-chave: Nicotina. Exercício. Músculo Esquelético

1-Laboratório de Plasticidade Tecidual-UFMS, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

ABSTRACT

Morphometry of muscle fibers of the rectus femoris muscle of rats submitted to nicotine and to aerobic training

The skeletal striated muscle tissue presents phenotypic plasticity and it can be altered with cigarette smoke and physical exercise. The aim of this study was to investigate the effects of the nicotine chronic treatment associated with aerobic training about rectus Femoral Muscle (rFM). Four groups of young male Wistar rats were studied (N=16): Control Group (CG, N=4); Smoking Group (SG, N=4); Exercise Group (EG, N=4); Smoking Exercise Group (SEG, N=4). The animals were submitted to nicotine inhalation system and treadmill exercise protocol during 60 days. The animals were weighed and euthanized, the rFM dissected, weighed, fixed in 10% formol and it submitted to Hematoxylin and Eosin coloration. Random images with approximately 200 muscular fibers of each animal were captured in the transversal aspect of the muscle, analyzed cross-sectional area (CSA) and submitted to ANOVA followed by Fisher's Test, $p < 0,05$. Only the EG presented weight gain superior to CG ($p = 0,0037$), $p > 0,05$. The SEG presented a higher weight muscular in relation to CG, $p = 0,0019$. On the CSA analysis of the rFM total muscle fibers, the SEG presented significant difference in relation to GC ($p = 0,0502$), the same occurred with SEG group ($p = 0,0038$). In conclusion, the muscular fibers SEG became hypertrophied and can be correlation between aerobic exercise and cigarette smoke about muscle fibers.

Key words: Smoke. Physical Exercise. Skeletal Muscle.

2-Laboratório de Fisiologia Celular do Exercício-UNESP, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

O tecido muscular estriado esquelético é um tecido contrátil que possui características peculiares de adaptação morfológica, metabólica e funcional frente aos mais variados estímulos (Pette e Staron, 2000).

O músculo esquelético é formado por células alongadas, multinucleadas e ricas em proteínas contráteis altamente organizadas em unidades funcionais denominadas sarcômeros, células designadas como fibras musculares (Mastaglia e Detchant, 1992).

Existem três tipos principais de fibras musculares: tipo I (lentas/oxidativas), IIa (intermediárias) e IIb (rápidas/glicolíticas), anteriormente descritas como vermelhas, intermediárias e brancas, respectivamente (Ranvier, 1875; Ogata, 1958).

Além das fibras musculares, o tecido muscular é formado por tecido conjuntivo altamente organizado em perímísio, epimísio e endomísio, o qual permite que a força de contração gerada por cada fibra individualmente atue sobre o músculo inteiro (Robinson e colaboradores, 1983; Craig, 1994; Sanes, 1994).

Quando observadas individualmente, as fibras musculares possuem diferenças na velocidade de contração devido a atividade da ATPase da porção globular da cadeia pesada da miosina (ATPase miofibrilar ou m-ATPase), oxidação, capilarização, resistência à fadiga, número e tamanho de mitocôndrias (Brooke e Kaiser, 1970; Crowther e colaboradores, 2002). Em função da proporção de tipos de fibras musculares, o músculo apresentará propriedade contrátil e metabólica característica (Crowther e colaboradores, 2002).

O músculo estriado esquelético apresenta alta plasticidade fenotípica e altera características morfológicas, metabólicas e funcionais em respostas a mudanças do meio (Pette e Staron, 2000).

Tem sido demonstradas alterações em resposta a estímulos, como exercício aeróbico (Camargo Filho e colaboradores, 2011), treinamento de força (Psilander e colaboradores, 2003; Magauda e colaboradores, 2004), estimulação elétrica (Stevens e colaboradores, 2004), desnervação (Walters e colaboradores, 2000; Dow e colaboradores, 2004), imobilização (Jackman

e Kandarian, 2004), nutrição (Spiller e colaboradores, 2002; Matsaka e Patel, 2009), restrição gestacional (Cabeço e colaboradores, 2011), envelhecimento e exposição a nicotina (Orlander e colaboradores, 1979; Larsson e colaboradores, 1988; Nakatani e colaboradores, 2008).

Durante um período contínuo e prolongado de treinamento aeróbico, ocorrem modificações quanto ao perfil das fibras musculares. As fibras de contração lenta (tipo I) do músculo quadríceps femoral tornam-se 7% a 22% maiores que as de contração rápida (tipo IIb). A proporção de fibras musculares do tipo I aumenta com o treinamento de endurance crônico (Andersen e colaboradores, 2000).

Já no treinamento de força intenso sabe-se que ocorre um aumento na síntese proteica, resultando em um aumento de proteínas contráteis e hipertrofia muscular. O estresse oxidativo, promovido pelo treinamento de endurance, causa um estímulo adverso ao treinamento de força, degradando as proteínas miofibrilares (Kraemer e colaboradores, 1995).

Esse tipo de treinamento resulta em aumento da atividade das enzimas oxidativas musculares, elevação no número, tamanho, tipo de mitocôndrias e vascularização (Hunter e colaboradores, 1987).

O condicionamento aeróbico eleva tanto o número de capilares por fibra quanto o número de capilares de determinada área transversa do músculo, conseqüentemente, eleva as trocas gasosas e a utilização de substratos pelo tecido muscular (Mccall e colaboradores, 1996).

Há aumento da mioglobina com o treinamento aeróbico, do número e tamanho de mitocôndrias, bem como da atividade de enzimas oxidativas (Fleck e Kraemer, 1999).

Dolezal e Potteiger (1998) também demonstraram a influência positiva do treinamento, sendo excelente para a redução do tecido adiposo e aumento do metabolismo basal. Portanto, o exercício longo prazo aumenta a resistência física e conseqüentemente é um grande aliado no desempenho e saúde corporal.

A exposição à nicotina tem demonstrado afetar a musculatura estriada esquelética (Orlander e colaboradores, 1979; Larsson e colaboradores, 1988; Nakatani e

colaboradores, 2008; Camargo Filho e colaboradores, 2011).

Sabe-se que ocorre a redução da massa muscular esquelética principalmente pela diminuição da secção transversal das fibras do tipo I em músculo Sóleo de ratos hipertensos que foram expostos à nicotina (Nakatani e colaboradores, 2002) e a redução na proporção de fibras tipo IIB, em ratos nessas mesmas condições, no músculo Extensor Digital Longo (EDL) (Nakatani e colaboradores, 2003).

Orlander e colaboradores (1979) identificou que fumantes apresentavam menos percentual de fibras do tipo I, porém esse percentual era maior em fibras do tipo IIB no músculo Vasto Lateral do que o grupo de não-fumantes.

A exposição crônica à nicotina não afetou propriedades bioquímicas, histoquímicas e contráteis de fibras musculares dos músculos Sóleo e EDL (Larsson e colaboradores, 1988).

Sabendo-se que a exposição à nicotina pode afetar tipos específicos de músculos e que o exercício pode promover modulação do tecido, o objetivo desse trabalho é avaliar os efeitos da nicotina e do exercício aeróbio sobre as fibras musculares do músculo Reto Femoral. Esse estudo poderá contribuir para práticas terapêuticas futuras.

MATERIAIS E MÉTODOS

Procedimento Experimental

Para a realização do presente trabalho foram utilizados 16 ratos jovens-adultos machos da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central da UNESP, Campos de Botucatu-SP.

Os animais foram mantidos em caixas de polietileno de fundo sólido (40x30x15cm) forradas com substrato de maravalha, sob condições controladas de luminosidade (12h de claro e 12h de escuro) e temperatura de (20 a 25°C), sendo fornecida água filtrada e ração Labina de Purina – Alisul Ind. Alimentos LTDA ad libitum.

O projeto experimental adotou as normas e princípios éticos de experimentação com a utilização de animais, adotada pelo comitê de ética para pesquisa com animais FCT/UNESP-Campus Presidente Prudente, Protocolo 1/2012.

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: Grupo Controle (GC, n=4) os quais receberam apenas água e ração ad libitum durante todo o tratamento; Grupo Fumante (GF, n=4); que foram submetidos a inalação de fumaça e água ad libitum; Grupo Exercício (GE, n=4); que foram submetidos apenas ao protocolo de exercício físico; Grupo Fumante (GFE, n=4); que foram submetidos a inalação de fumaça + protocolo de exercício físico.

Protocolo de Exposição à Fumaça

Aos 60 dias de idade os animais do grupo experimental foram submetidos ao protocolo de exposição à fumaça de cigarro compreendido por duas fases: adaptação e experimental.

Na fase de adaptação compreendida pelos cinco primeiros dias de experimentos, os animais dos grupos fumantes foram expostos à fumaça de 2 cigarros por 10 minutos, uma vez ao dia.

A fase experimental consistiu na exposição dos animais dos grupos fumantes à fumaça de combustão de 4 cigarros, durante 30 minutos, duas vezes ao dia, cinco dias por semana, durante 60 dias corridos.

Esta dose, que totaliza 8 cigarros ao dia, foi determinada a partir de experimentos prévios que relataram ser esta a dose suportada pelos animais (Paiva e colaboradores, 2003; Castardeli e colaboradores, 2005).

O sistema de inalação que foi utilizado é o mesmo descrito por Cendon Filho (1994), com adequações do espaço para gaiola e válvulas, realizadas pelo Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI) de Presidente Prudente-SP.

Como câmara de inalação foi utilizada uma caixa, com estrutura de alumínio e vidro (100 x 44 x 44 cm), hermeticamente fechada e dividida em dois compartimentos por um tabique de vidro escuro com cinco pertuitos de uma polegada de diâmetro.

Um dos compartimentos foi utilizado para a colocação de cigarros acesos em um suporte e o outro, destinado à exposição de 5 animais dentro de uma gaiola.

Na câmara de queima de cigarros, foi conectada uma fonte de ar comprimido com um fluxo de 10 l/min permitindo a combustão de cigarros e a condução de fumaça para a

câmara de exposição, que contém um orifício de drenagem de ar, por onde foi feita a exaustão da mistura. Desta forma, o arranjo experimental aproxima-se de uma situação de fumo passivo.

Protocolo Experimental de Treinamento Físico

Aos 60 dias de idade os grupos submetidos ao protocolo de treinamento em esteira rolante iniciaram a fase de adaptação ao exercício que foi realizado em 5 dias com sessões de treinamento físico aeróbio de duração de 15, 30, 45, 60 minutos de crescimento progressivo por sessão.

Nas cinco semanas subsequentes os animais realizaram cinco sessões de treinamento físico de 60 minutos 5 vezes por semana.

A esteira foi construída pelo SENAI de Presidente Prudente, baseada no modelo de Andrew (1965). A esteira apresenta dois roletes com distância definida entre si, onde por eles deslizarão em uma manta de algodão impermeável provocando assim, o movimento induzido do animal em estudo.

Os eixos são acionados por um motor de 12 volts com rotação variável a fim de atribuir uma velocidade ajustável entre 0 a 10m/min. Oito pistas foram elaboradas para utilização, a metade anterior de cada uma das pistas tem suas laterais pintadas de preto, sendo cobertas por madeira, fazendo com que essa região fique completamente escura.

Essa medida é necessária, pois os animais tendem a fugir procurando locais escuros (Camargo Filho e colaboradores, 2005), cada pista possui 100mm de largura por 600mm de comprimento, independentes umas das outras.

Análises Antropométricas

Os animais foram submetidos a mensurações no início, meio e fim do experimento, para futuras comparações e análises. O peso corporal foi aferido através de balança eletrônica (marca Shimadzu, modelo BL32000H, com precisão de 0,01g).

Para avaliação do percentual de ganho de peso, utilizamos o cálculo do ganho de massa corporal (%) através da fórmula: $\Delta = P_{final} - P_{inicial}$ (Novelli e colaboradores, 2007).

Microscopia de Luz

Os animais foram anestesiados com solução de quetamina e xilasina via intramuscular. Em seguida, foi realizada a dissecação para retirada do músculo reto femoral, o qual foi pesado, fixado em formol 10% neutro e tamponado por 48 horas e mantidas em álcool 70%. As amostras foram processadas e analisadas na Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, em Campo Grande-MS.

No laboratório do Setor de Histologia do Centro de Ciências Biológicas da UFMS (Campo Grande-MS), as amostras foram reduzidas, desidratadas e diafanizadas. O material foi emblocado em parafina e submetido a microtomia para obtenção de cortes transversais do músculo com 5µm de espessura. Em seguida, as lâminas histológicas foram submetidas à coloração de Hematoxilina e Eosina (H.E).

A arquitetura morfológica foi analisada a fim de se detectar a preservação das fibras musculares em aspecto transversal, localização dos núcleos e presença de vasos.

Em seguida, foram capturadas imagens de campos aleatórios das regiões superficiais, média e profunda, em aumento de 20X, para obtenção de 200 fibras musculares. Também foi feita a captura de imagens apenas da região superficial do músculo.

A captura de imagens foi realizada por meio do sistema computadorizado LAS 3.8 (Lite Qwin Leica). A análise da área da seção transversal da fibra (AST) foi obtida utilizando-se o programa Motic Images Plus 2.0.

Análise Estatística

O peso do animal e do músculo foi analisado por ANOVA, seguido de teste de comparações múltiplas de Tukey. A AST das fibras musculares foi submetida à ANOVA seguida pelo Test de Fisher.

RESULTADOS

Em relação ao ganho de peso dos animais durante toda a fase experimental, o GE apresentou valor médio superior ao GC ($p=0,0037$), e os demais grupos não foram diferentes estatisticamente, $p>0,05$ (Figura 1).

Na análise do peso absoluto do músculo Reto Femoral, os grupos não

apresentaram valores médios estatisticamente diferentes ($P > 0,05$), como pode ser observado na Figura 2.

Na análise da área da secção transversal (AST) das fibras musculares do Músculo Reto Femoral, considerando a somatória dos campos das regiões superficial, média e profunda, o GFE apresentou diferença significativa em relação ao GC ($p = 0,0189$) e também em relação ao GF ($p = 0,0072$) (Figura 3).

A análise da AST das fibras musculares do Músculo Reto Femoral presentes na região superficial do músculo Reto femoral revelou que o GE exibiu valor médio de AST superior ao GC ($P = 0,0507$), bem como em relação ao GFE ($P = 0,0038$) (Figura 4).

Os aspectos da AST dos grupos analisados são mostrados na Figura 5.

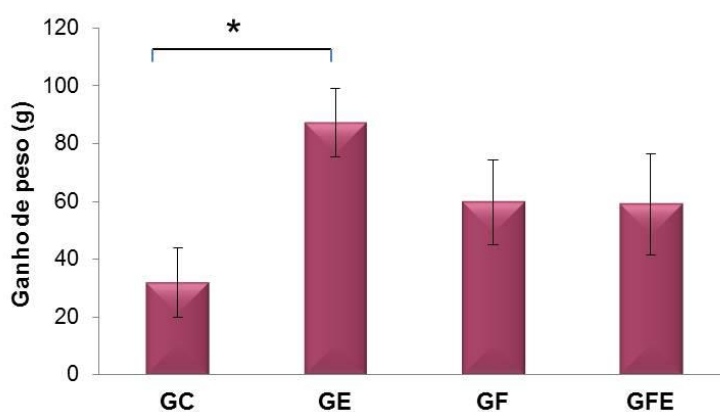


Figura 1. Ganho médio de peso dos grupos experimentais. GC (Grupo Controle, $n=4$), GE (Grupo Exercício, $n=4$); GF (Grupo Fumante, $n=4$); GFE (Grupo Fumante Exercício, $n=4$). ANOVA, seguido de Test Tukey, * $p < 0,05$.

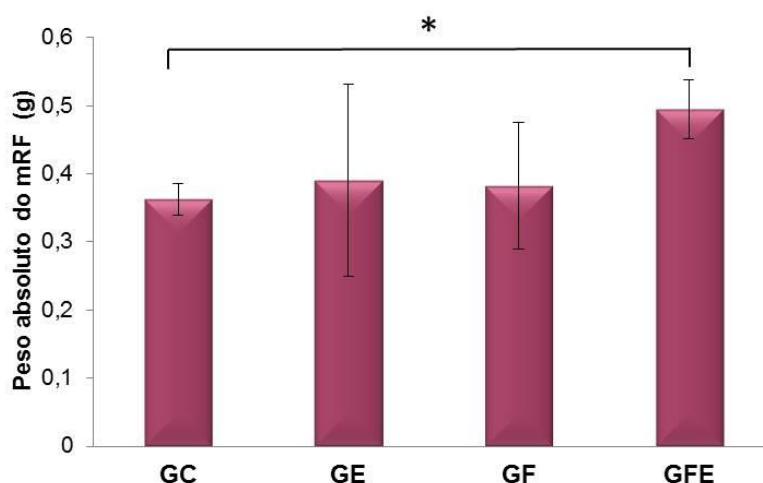


Figura 2. Peso absoluto médio do músculo Reto Femoral (mRF). GC (Grupo Controle, $n=4$), GE (Grupo Exercício, $n=4$); GF (Grupo Fumante, $n=4$); GFE (Grupo Fumante Exercício, $n=4$). ANOVA, seguido de Test Fisher, * $p < 0,05$.

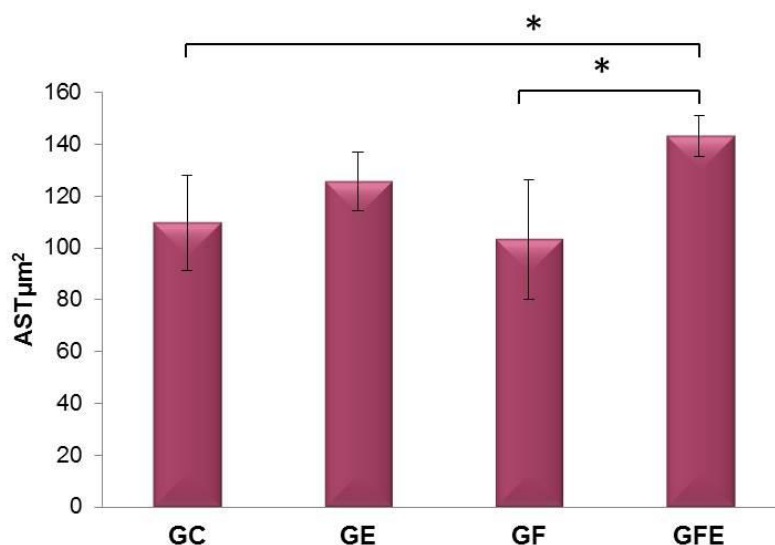


Figura 3. Área da secção transversal (AST) das fibras musculares do músculo Reto Femoral. GC (Grupo Controle, n=4), GE (Grupo Exercício, n=4); GF (Grupo Fumante, n=4); GFE (Grupo Fumante Exercício, n=4). ANOVA, seguido de Test Fisher, *p<0,05.

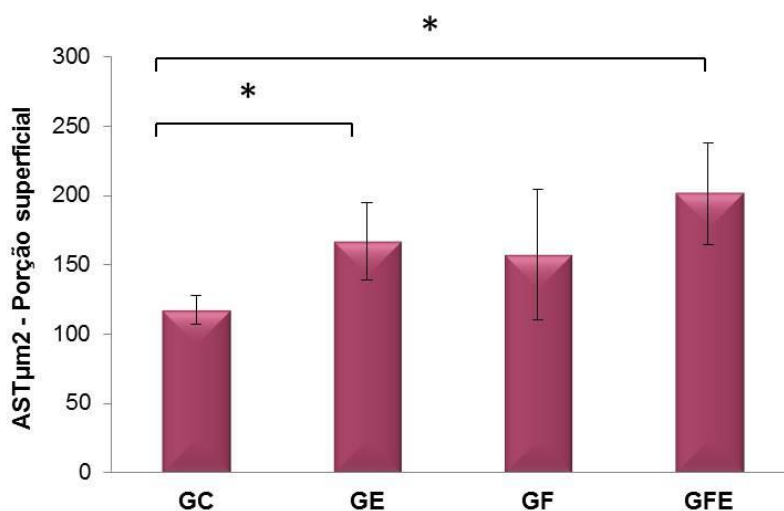


Figura 4. Área da secção transversal (AST) das fibras musculares da porção superficial do músculo Reto Femoral. GC (Grupo Controle, n=4), GE (Grupo Exercício, n=4); GF (Grupo Fumante, n=4); GFE (Grupo Fumante Exercício, n=4). ANOVA, seguido de Test Fisher, *p<0,05.

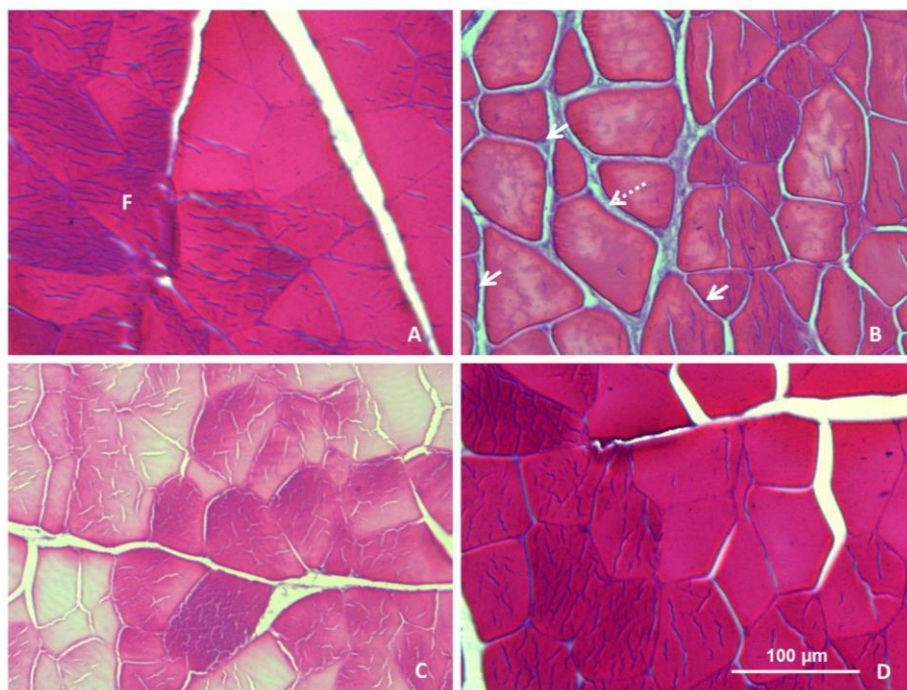


Figura 5 - Área da secção transversal das fibras musculares (F) do músculo Reto Femoral nos grupos controle (A), exercício (B), fumante (C), fumante e exercício (D). A seta branca contínua indica os mionúcleos das fibras musculares, a seta branca pontilhada indica o endomísio. A barra representa.

DISCUSSÃO

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da nicotina e do exercício aeróbio sobre as fibras musculares do músculo Reto Femoral, tendo como resultado relevante a diferença significativa da AST das fibras musculares do GFE em relação ao GC.

O músculo Reto femoral compõe juntamente com vasto lateral, vasto medial e vasto intermédio um grupo muscular denominado quadríceps femoral, situado na face anterior da coxa. Apresenta grandes proporções de fibras do tipo II (Johnson e colaboradores, 1973), o que o torna mais suscetível a fadiga durante o esforço físico intenso (Kouzaki e colaboradores, 1999).

Suas fibras apresentam contornos poligonais bem definidos e sarcoplasma homogêneo. Os núcleos são nítidos e evidentes, com forma arredondada e localizados na periferia das fibras. Em relação ao perfil metabólico das fibras, esse tipo muscular é composto por fibras oxidativas (SO), oxidativas glicolíticas (FOG) e glicolíticas (FG) (Romano, 2004).

Quando analisadas a região superficial, média e profunda, observamos diferenças na distribuição dos tipos de fibras musculares. Armstrong (1984) relatou em seu estudo que as porções mais profundas do músculo são tipicamente compostas de altas proporções de fibras SO e FOG e as regiões mais superficiais, de fibras do tipo FG.

Assim como os demais tipos musculares, o músculo Reto femoral também pode alterar suas fibras musculares, tanto no aspecto metabólico e contrátil (Moraes e colaboradores, 2003; Campos e colaboradores, 2002), quanto em relação ao seu diâmetro ou área da secção transversal (AST) (Romano, 2004; Soto-Dominguez e colaboradores, 2013).

A hipertrofia do músculo esquelético pode ser considerada um aumento do número de miofibrilas que compõem a fibra muscular, aumentando o diâmetro muscular e gerando uma maior capacidade de produção de força contrátil. Ocorre durante o crescimento do músculo e em resposta a exercícios intensos. (Minamoto e Salvini, 2001).

As células satélites são as responsáveis por esse processo (Mauro, 1961; Dal-Pai e Carvalho, 2007).

Descritas pela primeira vez por Mauro (1961), as células satélites (CS) foram caracterizadas como células miogênicas quiescentes, localizadas entre o sarcolema e a lâmina basal.

Essas células possuem capacidade de se diferenciarem em mioblastos, tendo como principal função a regeneração da fibra muscular.

Nagata e colaboradores (2006), também relata que as CS são capazes de modificar sua atividade celular, se diferenciar, multiplicar e migrar, proporcionando o crescimento do tecido muscular. Essas modificações nas condições das CS dependem de vários estímulos externos. Tanto a diferenciação, quanto a migração e a proliferação são incentivadas por variações de citocinas, que aumentam em concentração induzidas pelo exercício e contribuem para um aumento da fosforilação da cascata miogênica, responsável pela ativação das CS (Hawke e Garry, 2001; Vitello e colaboradores, 2004; Solomon e Bouloux, 2006).

Quando a fusão da célula satélite à fibra muscular ocorre, o efeito que este acontecimento gera é o aumento da capacidade de hipertrofia (Svezut e Chimelli, 1999; Foschini e colaboradores, 2004; Bucci e colaboradores, 2005; Nagata e colaboradores, 2006; Dal-Pai e Carvalho, 2007).

No presente estudo, as fibras musculares do GEF apresentaram a condição de aumento da AST, caracterizando hipertrofia das fibras muscular no músculo como um todo. Quando as fibras musculares foram analisadas apenas na região superficial, o GE também revelou hipertrofia celular.

Existe trabalho que demonstra que a região superficial do músculo Reto Femoral é mais afetada mediante os estímulos. No estudo realizado por Romano (2014), com o músculo Reto Femoral e estimulação elétrica neuromuscular (EENM), observou que não há alteração significativa nas regiões média e profunda quando este músculo foi submetido à EENM com modulação em 10 Hz e 100 Hz. Mantendo sua adaptação metabólica e volume das fibras SO, FOG e FG o mesmo. Entretanto, observou que há alteração nas fibras da AST superficial quando submetidas em estimulações elétricas neuromusculares

com correntes alternadas de média frequência em 2500 Hz moduladas em 10 Hz, o que também gera o aumento de vascularização na região estimulada. Esse resultado corrobora com o fato de que a região superficial é mais propensa a sofrer modulação nesse tipo muscular.

É interessante ressaltar que o peso absoluto do músculo Reto Femoral foi maior no GFE. Nesse caso, existe uma correlação positiva entre o aumento de AST do músculo e peso absoluto muscular, indicando que houve não somente aumento das fibras musculares como do músculo como um todo, o que caracteriza hipertrofia muscular. Esse fenômeno não foi observado no músculo do GE, uma vez que o mesmo não teve seu peso absoluto alterado, bem como significativo aumento de AST no músculo como um todo.

Em nosso trabalho, o grupo experimental que inalou nicotina não apresentou diferença significativa na AST considerando a somatória dos campos das regiões superficial, média e profunda e também na análise da AST superficial. Existem alguns trabalhos mostrando que alguns tipos musculares são afetados pela nicotina (Orlander e colaboradores, 1979; Larsson e colaboradores, 1988; Nakatani e colaboradores, 2008; Camargo Filho e colaboradores, 2011) porém outros não alteram as propriedades bioquímicas, histoquímicas e contráteis das fibras musculares quando submetidos a protocolos similares.

Segundo Larsson e colaboradores (1988), os músculos Sóleo e EDL, ao serem expostos à nicotina não apresentam diferenças significativas no peso muscular. Com relação ao tamanho da AST, ao número total de fibras e ao tipo de fibras, tanto o EDL (contração rápida), quanto o Sóleo (contração lenta), não foram afetados pela inalação de nicotina. Entretanto, quando analisadas as atividades enzimáticas de lactato desidrogenase, β -oxidação e o ciclo do ácido cítrico, o EDL não se alterou, enquanto o músculo Sóleo teve uma maior atividade enzimática, evidenciando que músculos diferentes embora morfológicamente não afetados, responderam a parâmetros metabólicos de forma distinta (Larsson e colaboradores, 1988).

O músculo Reto Femoral apresenta similaridades metabólicas e contráteis ao

músculo EDL. Segundo Mitchell (2004), o músculo EDL também é composto por fibras de contração rápida e tipo IIB. Dessa maneira, é possível que se estabeleça uma relação entre ambos os músculos e suas possíveis respostas ao serem expostos à nicotina.

Segundo Kaninuma e colaboradores (2014), células satélites do músculo quadriceps apresentam receptores para nicotina e quando este músculo é submetido a atrofia muscular mediada pela isquemia, níveis de nicotina atua aumentando as fibras musculares. Ou seja, a nicotina parece atuar nesse músculo com funções inibidoras na perda muscular e acelerar o processo de angiogênese por meio do fator de crescimento vascular produzido tanto pelas células endoteliais quanto pelas próprias células satélites.

CONCLUSÃO

Em conclusão, nossos resultados indicam que o músculo Reto Femoral não apresenta aspectos morfológicos afetados pela exposição à nicotina.

Porém, a inalação de nicotina parece intervir positivamente na hipertrofia muscular mediada pelo exercício físico, uma vez que o exercício físico por si só não afetou o músculo Reto Femoral como um todo.

REFERÊNCIAS

- 1-Andersen, J. L.; Schjerling, P.; Saltin, B. Muscle, genes and athletic performance. *Sci. Am.* Vol. 283. Núm. 3. p.48-55. 2000.
- 2-Andrew, R. J. Treadmill for small laboratory animal. *J. Appl. Physiol.* Vol. 20. Núm. 3. p.572-574. 1965.
- 3-Armstrong, R. B.; Phelps, R. O. Muscle fiber type composition of the rat hindlimb. *The American Journal of Anatomy.* Vol. 171. p.259-272. 1984.
- 4-Bucci, M.; Vinagre, E. C.; Campos, G. E. R.; Curi, R.; Pithon-Curi, T. C. Efeitos do treinamento concomitante hipertrofia e endurance no músculo esquelético. *R. bras. Ci e Mov.* Vol. 13. Núm. 1. p.17-28. 2005.
- 5-Brooke, M. H.; Kaiser, K. K. Three "myosin adenosine triphosphatase" Systems: The Nature of Their pH Lability and Sulphydryl dependence. *J. Histochem Cytochem.* Vol. 18. p.670-672. 1970.
- 6-Cabeço, L. C. Caracterização morfológica, expressão dos fatores de regulação miogênica (MRFS) e dos receptores nicotínicos (NACHRS) no músculo estriado de ratos submetidos à restrição proteica materna. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista (UNESP). 95p. 2011.
- 7-Camargo Filho, J. C. S.; Vanderlei, L. C. M. Camargo, R. C. T.; Oliveira, D. A. R.; Oliveira Júnior, 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.* Vol. 12. Núm. 4. p.196-199. 2005
- 8-Camargo Filho, J. C. S.; e colaboradores. Efeitos do exercício aeróbio no músculo esquelético de ratos expostos à fumaça de cigarro. *Rev. bras. med. Esporte.* Vol. 17. Núm. 6. p.416-419. 2011.
- 9-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.* Vol. 88. p.50-60. 2002.
- 10-Casterdali, E.; Paiva, S. A. R.; Matsubara, B. B.; Matsubara, L. S.; Minicucci, M. F.; Azevedo, P. S.; Campana, A. O.; Zornoff, L. A. M. A. Exposição crônica à fumaça do cigarro resulta em remodelação cardíaca e prejuízo da função ventricular em ratos. *Arq. Bras. Cardiol.* Vol. 84. Núm. 4. p.320-324. 2005.
- 11-Craig, R. The structure of the contractile filaments. In: Engel AG, Franzini-Armstrong C. *Myology.* New York: McGraw-Hill. p.134-175. 1994.
- 12-Cendon Filho, S. P. Efeitos do fumo passivo no aparelho mucociliar de ratos. 1994. 101f. Tese (Doutorado em Medicina-Pneumologia). Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1994.

- 13-Crowther, G. J.; Jubrias, S. A.; Gronka, R. K.; Conley, K. A. A "functional biopsy" of muscle properties in sprinters and distance runners. *Med. Sci. Sports Exerc.* Vol. 34. Núm. 11. p.1719-1724. 2002.
- 14-Dal-Pai, M. S.; Carvalho, R. F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. Cellular and molecular mechanisms that control muscular development and growth. *Revista Brasileira de Zootecnia.* Vol. 36. 2007.
- 15-Dolezal, B. A.; Potteiger, J. A. Concurrent resistance and endurance training influence basal metabolic rate in nondieting individuals. *J. Appl. Physiol.* Vol. 85. Núm. 2. p.695-700. 1998.
- 16-Dow, D. E.; Cederna, P. S.; Hasset, C. A.; Kostrominova, T. Y.; Faulkner, J. A. Number of contractions to maintain mass and force of a denervated rat muscle. *Muscle Nerve.* Vol. 30. Núm. 1. p.77-86. 2004.
- 17-Fleck, S. J.; Kraemer, W. J. Fundamentos do Treinamento de Força Muscular. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 1999.
- 18-Foschini, R. M. S. A.; Ramalho, F. S.; Bicas, H. E. A. Células satélites musculares. *Arq. Bras. Oftalmol.* Vol. 67. Núm. 4. p.681-867. 2004.
- 19-Hawke, T. J.; Garry, D. J. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985).* Vol. 91. Núm. 2. p.534-551. 2001.
- 20-Hunter, G., Demment, R.; Miller, D. Development of strength and maximum oxygen uptake during simultaneous training for strength and endurance. *J. Sports Med.* Vol. 27. p.269-275. 1987.
- 21-Jackman, R. W.; Kandarian, S. C. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *Am J Physiol Cell Physiol.* Vol. 287. p.834-843. 2004.
- 22-Jonhson, M. A.; Polgar, J.; Weightman, D.; Appleton, D. Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles. An autopsy study. *Journal of the Neurological Sciences, Amsterdam.* Vol. 18. Núm. 1. p.111-129. 1973.
- 23-Kakinuma, Y.; Noguchi, T.; Okazaki, K.; Oikawa, S.; Iketani, M.; Kurabayashi, M.; Sato, T. Antimuscle atrophy effect of nicotine targets muscle satellite cells partly through an $\alpha 7$ nicotinic receptor in a murine hindlimb ischemia model. 2014.
- 24-Kouzaki, M.; Shinohara, H.; Fukunaga, T. Nonuniform mechanical activity of quadriceps muscle during fatigue by repeated maximal voluntary contraction in humans. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology, New York.* Vol. 80. Núm. 1. p.9-15. 1999.
- 25-Kraemer, W. J.; Hakkinen, K.; Newton, R. U.; Nindl, B. C.; Volek, J. S.; McCormick, M.; Gotshalk, L. A.; Gordon, S. E.; Fleck, S. J.; Campbell, W. W.; Putukian, M.; Evans, W. J. Effects of heavy-resistance training on hormonal response patterns in younger vs. older men. *J. Appl. Physiol.* Vol. 87. Núm. 3. p.982-992. 1999.
- 26-Larsson, L.; Orlander, J.; Asnved, T.; Edstrom, L. Effects of chronic nicotine exposure on contractile enzyme-histochemical and biochemical properties of fast- and slow-twitch skeletal muscles in the rat. *Acta Physiologica Scand.* Vol. 134. p.519-527. 1988.
- 27-Magaudda, L.; Mauro, D. D.; Triarchi, e colaboradores. Effects of physical exercises on skeletal muscle fiber: ultrastructural and molecular aspects. *Basic Appl myol.* Vol. 14. Núm. 1. p.17-21. 2004.
- 28-Mastaglia, F. L. Skeletal muscle pathology. WB Saunders Company, 1992.
- 29-Matsaka, A.; Patel, K. Skeletal muscle fibre plasticity in response to selected environmental and physiological stimuli *Histol Histopathol.* Vol. 24. p.611-629. 2009.
- 30-Mauro, A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology.* Vol. 9. p.493-495. 1061.
- 31-MCCall, G. E.; Byrnes, W. C.; Dickinson, A.; Pattany, P. M.; Fleck, S. J. Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training. *J.*

- Appl. Physiol. Vol. 81. Núm. 5. p.2004-2012. 1996.
- 32-Minamoto, V. B.; Bunho, S. R.; Salvini, T. F. Regenerated rat skeletal muscle after periodic contusions." Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Vol. 34. Núm. 11. p.1447-1452. 2001.
- 33-Mitchell, P. O.; Pavlath, G. K. Skeletal muscle atrophy leads to loss and dysfunction of muscle precursor cells. Am J Physiol Cell Physiol. Vol. 287. Núm. 6. p.C1753-C1762. 2004.
- 34-Moraes, A. C.; Bankoff, A. D. P.; Okano, A. H.; Simões, E. C.; Rodrigues, C. E. B. Análise eletromiográfica do músculo reto femoral durante a execução de movimentos do joelho na mesa extensora. R. Bras. Ci. e Mov. Vol. 11. Núm. 2. p.19-23. 2003.
- 35-Nakatani, T.; Nakashina, T.; Kita, T.; Ishihara, A. Effects of exposure to cigarette smoke at different dose levels on extensor digitorum longus muscle fibres in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. Vol. 30. p.671-677. 2008.
- 36-Nagata, Y.; Partridge, T. A.; Matsuda, R.; Zammit, P. S. Entry of muscle satellite cells into the cell cycle requires sphingolipid signaling. The Journal of Cell Biology. Vol. 197. Núm. 2. p.245-253. 2006.
- 37-Novelli, E. L. B.; Diniz, Y. S.; Galhardi, C. M.; Ebaid, G. M. X.; Rodrigues, H. G.; Mani, F.; Fernandes, A. A. H.; Cicogna, A. C.; Novelli Filho, J. L. V. B. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. Laboratory Animals. Vol. 41. Núm. 1. p.111-119. 2007.
- 38-Ogata, T. A. Histochemical study of the red and white muscle fibres. Part III. Activity of the diphosphopyridine nucleotide diaphorase and thiphosphopyrine nucleotide diaphorase in muscle fibres. Acta Med Okayama. Vol. 12. p.233-240. 1958.
- 39-Orlander, J.; Kiessling, K.-H.; Larsson, L. Skeletal muscle metabolism, morphology and function in smokers and non-smokers, Acta Physiol Scand. Vol. 107. p.39-46. 1979.
- 40-Paiva, S. A. R.; Zornoff, L. A. M.; Okoshi, M. P.; Okoshi, K.; Cicogna, A. C.; Campana, A. O. Comportamento de variáveis cardíacas em animais expostos à fumaça de cigarro. Ar. Bras. Cardiol. Vol. 81. p.221-224. 2003.
- 41-Pette, D.; Robert S. S. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. Microscopy research and technique. Vol. 50. Núm. 6. p.500-509. 2000.
- 42-Psilander, N.; Damsgaard, R.; Pilegaard, H. Resistance exercise alters MRF and IGF-I mRNA content in human skeletal muscle. J Appl Physiol. Vol. 95. p.1038-1044. 2003.
- 43-Ranvier, L. Traite technique d'histologie. Paris: F. Savey. 1875.
- 44-Robinson, T. F.; Cohen-Gould, L.; Stephen M. F. Skeletal framework of mammalian heart muscle. Arrangement of inter-and pericellular connective tissue structures. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. Vol. 49. Núm. 4. p.482-498. 1983.
- 45-Romano, E. M. Estudo morfológico e modulações dos tipos de fibras do m. reto femoral de ratos wistar, após a estimulação com corrente russa. 2004. x, 111 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2004.
- 46-Sanes, J. R. The extracellular matrix. In: Engel, A. G.; Franzini-Armstrong, C. Myology. New York: McGraw-Hill. p.242-243. 1994.
- 47-Solomon, A. M.; Bouloux, P. M. G. Modifying muscle mass—the endocrine perspective. Journal of Endocrinology. Vol. 191. Núm. 2. p.349-360. 2006.
- 48-Soto-Dominguez, A.; e colaboradores. Las Células TC-1 Implantadas Invaden a las Fibras Musculares Esqueléticas Adyacentes en un Modelo Murino de Cáncer. Int. J. Morphol. Vol. 31. Núm. 2. p.520-527. 2013.
- 49-Spiller, M. P.; e colaboradores. The myostatin gene is a downstream target gene of basic helix-loop-helix transcription factor MyoD. Molecular and cellular biology. Vol. 22. Núm. 20. p.7066-7082. 2002.

50-Stevens, J. E.; Ryan, L. M.; Snyder-Mackler, L. Neuromuscular electrical stimulation for quadriceps muscle strengthening after bilateral total knee arthroplasty: a case series. *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*. Vol. 34. Núm. 1. p.21-29. 2004.

51-Sverzut, A. C. M.; Chimelli, L. O papel das células satélites nas respostas adaptativas do tecido muscular esquelético. *Rev. Fisioter. Univ. São Paulo*. Vol. 6. Núm. 2. p.132-139. 1999.

52-Vitello, L.; e colaboradores. Enhancing Myoblast Proliferation by Using Myogenic Factors: A Promising Approach for Improving Fiber Regeneration in Sport Medicine and Skeletal Muscle Diseases. *Basic and Applied Myologi*. Vol. 14. Núm. 1. p.45-51. 2004.

53-Walters, E. H.; Stickland, N. C.; Loughna, P. T. The expression of the myogenic regulatory factors in denervated and normal muscles of different phenotypes. *J Muscle Res Cell Motil*. Vol. 21. Núm. 7. p.647-653. 2000.

Recebido para publicação 18/04/2016

Aceito em 13/06/2016