

UNIVERSIDADE METODISTA DE PIRACICABA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

**A INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO DE RESISTÊNCIA ASSOCIADO AO ESTERÓIDE
ANABÓLICO SOBRE O PERFIL FENOTÍPICO DA CADEIA PESADA DE MIOSINA
DO MÚSCULO DE RATOS**

SÉRGIO RICARDO BOFF

**PIRACICABA
2006**

UNIVERSIDADE METODISTA DE PIRACICABA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

A INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO DE RESISTÊNCIA ASSOCIADO AO ESTERÓIDE ANABÓLICO SOBRE O PERFIL FENOTÍPICO DA CADEIA PESADA DE MIOSINA DO MÚSCULO DE RATOS

SÉRGIO RICARDO BOFF

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Educação Física da Universidade Metodista de Piracicaba na área de concentração em Performance Humana, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Educação Física.

ORIENTADORA: Profa. Dra. ROZANGELA VERLENGIA

**PIRACICABA
2006**

A Banca Examinadora abaixo assinada avaliou a Dissertação: A INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO DE RESISTÊNCIA ASSOCIADA AO ESTERÓIDE ANABÓLICO SOBRE O PERFIL FENOTÍPICO DA CADEIA PESADA DE MIOSINA DO MÚSCULO DE RATOS, elaborada por Sérgio Ricardo Boff, como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Educação Física, área de concentração Performance Humana, sob orientação da Professora Doutora Rozangela Verlengia.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Rozangela Verlengia (Orientadora)

Prof. Dr. Ídico Luiz Pelegrinotti

Prof. Dr. Leonardo dos Reis Silveira

Profa. Dra. Cláudia Regina Cavaglieri (Suplente)

30 de julho de 2006
Piracicaba

DEDICATÓRIA

A meus pais por serem o alicerce de cada etapa sonhada e atingida em minha vida.

A Simone, Leonardo e Luiza, que muito me incentivaram e onde em diversos momentos busquei força e apoio para a realização deste trabalho, pois, ao mesmo tempo em que incentivaram demonstraram muita paciência para suportar os momentos de ausência, distância e outras privações a que nossa família se submeteu durante este período.

AGRADECIMENTOS

A conquista de mais uma etapa da minha vida, faz parte de um sonho em que diversas pessoas contribuíram para a realização deste trabalho. Agradeço especialmente:

À Professora Doutora Rozangela Verlengia pela orientação firme e segura demonstrada na elaboração deste trabalho, e também pelo incentivo, confiança, amizade e conhecimento transmitidos neste tempo de convivência.

À diretoria e aos colegas da Faculdade de Educação Física de Sorocaba – FEFISO, pelo incentivo e colaboração.

Ao Instituto de Biologia da UNICAMP, permitindo a execução das técnicas de análise, em especial ao Prof. Dr. Gerson Eduardo Ribeiro de Campos e ao técnico de laboratório Marco Aurélio R. de Paula.

Aos amigos de trabalho da Clínica Municipal de Fisioterapia de Itu que ao longo do curso proporcionaram grande colaboração.

À Professora Adelina Terezinha Grillo Cordeiro e à acadêmica Simone Cordeiro Boff, pelas inúmeras leituras e correções realizadas.

Aos companheiros Maurício, Wagner e Eduardo, pelos momentos agradáveis e alguns difíceis que passamos durante a execução deste trabalho.

À Marylia pela ajuda com os artigos.

À Deus por “dar serenidade para aceitar as coisas que não posso mudar, coragem para mudar aquilo que posso e a sabedoria para saber a diferença”.

Alguém escreveu: “A vida não é tudo o que se espera, pena de quem não se considera um aprendiz, tudo vale nada se até o fim da estrada não se chega a ser feliz”, como valeu a pena, gostaria de agradecer a todos que direta ou indiretamente participaram desta etapa.

“...” talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito [...] Não somos o que deveríamos ser, mas somos o que iremos ser. Mas graças a Deus, não somos o que éramos.

Martin Luther King

RESUMO

O músculo esquelético de mamíferos é composto por diferentes tipos de fibras que podem alterar seu fenótipo de acordo com diferentes estímulos aplicados, tais como desnervação, exercício físico, envelhecimento e hormônios; estes causam alterações nas características estruturais e metabólicas do músculo, promovendo alteração nas cadeias pesadas de miosina, além de evitar a atrofia. Este estudo teve como objetivo analisar os possíveis efeitos do hormônio esteróide anabolizante (Nandrolona) em associação ao exercício de resistência realizado em meio líquido sobre as características fenotípicas e morfométricas do músculo extensor longo dos dedos (EDL) de ratos. Para isso, foram utilizados Ratos Wistar (n=35), com 2 semanas, e peso médio de 200 g, os quais receberam diferentes doses de hormônio, sendo divididos em 07 grupos (n=5): o grupo controle (G1) recebeu apenas injeções de propilenoglicol, o grupo G2 recebeu dose de 0,2 mg/Kg, o G3 recebeu dose de 1,0 mg/Kg, o grupo G4 recebeu dose 2,0 de mg/Kg, o G5 recebeu dose de 5 mg/Kg, o G6 recebeu dose de 10 mg/Kg e o grupo G7 recebeu dose de 20 mg/Kg. O treinamento foi realizado por cinco semanas, onde os animais realizavam quatro sessões com dez saltos com intervalos de trinta segundos, nas duas primeiras semanas utilizaram carga de 50% do peso corporal, na terceira e quarta semana 60% do peso corporal e na quinta semana utilizaram 70% do peso corporal. Ao final do treinamento, os animais foram decaptados, o músculo EDL foi retirado e congelado, obtendo-se cortes transversais para análise histoquímica da ATPase e morfométrica. A análise bioquímica e morfométrica mostrou que o treinamento de resistência associado ao esteróide anabolizante levou ao aumento percentual das fibras IIAC, IIAD, IID e IIBD em todas as doses e aumento na área de secção transversa das fibras do tipo IIB em todas as doses. Conclui-se que o hormônio anabolizante produz ação modulatória (dose dependente) sobre a transição das fibras do músculo extensor longo dos dedos de ratos, interfere na área de secção transversa das mesmas e estimula o predomínio das fibras híbridas independente da dose administrada.

PALAVRAS CHAVE: Exercício de resistência, hormônio anabolizante, fibra muscular.

ABSTRACT

Mammals skeletal muscle is composed by different kinds of fibers which may alter its phenotypic according to the different stimulus, such as denervation, physical activity, age and hormones, they may cause alterations on the structural and metabolic characteristics of the muscle, causing alterations on the heavy chain of the myosin, also avoiding atrophy. This paper has as its objective to analyze the possible effects of the steroid anabolic hormone (nandrolone) linked to the endurance exercise done in liquid means over the phenotypics and morphometrics characteristics of the digitory longus extensor of the rats. To this purpose, 2 week rats Wistar (n=35) were used, weighing $281,16 \text{ g} \pm 21,24$, wich received different doses of hormone, being divided into 7 groups (n=5); the contol group, G1, received only injections of propilenoglicol, group G2, received doses of 0,1 mg/Kg, G3 received doses of 1,0 mg/Kg, group G4 received 2,0 mg/Kg, group G5 received doses of 5 mg/Kg, group G6 received doses of 10 mg/Kg and the group G7 received doses of 20mg/Kg. The training was done for five weeks, where 50% of the body weight was used, on the 3 and 4 week 60% and on the 5 week 70%. In the end of the training, the animals were decapitated, the EDL muscle were removed and frozen, having transversal cuts to analyze histochemical of ATPase and morphometric. The biochemical and morphometric analyzes showed that the endurance training associated with steroid anabolic hormone raised the percentage of IIAC fibers, IIAD, IID, and IIBD in all the dosages and an increased on the transversal area of the fibers type IIB in all dosagens. It was concluded that the anabolic hormone modulates action (dependable dose) the transition of the fibers of the digitory longus extensors of the rats, interfering on the area of the transversal section, and stimulating the predominancy of the hibride fibers.

Key words: endurance exercise, anabolic hormone, muscle fiber

LISTA DE ABREVIATURAS:

G1 – Grupo controle

G2 – Grupo treinado com dose de 0,1 mg de hormônio

G3 – Grupo treinado com dose de 1,0 mg de hormônio

G4 – Grupo treinado com dose de 2,0 mg de hormônio

G5 – Grupo treinado com dose de 5,0 mg de hormônio

G6 – Grupo treinado com dose de 10,0 mg de hormônio

G7 – Grupo treinado com dose de 20,0 mg de hormônio

MRF – Fatores reguladores miogênicos

MyoD – Fator de diferenciação miogênica

Myf5 – Fator miogênico 5

DNA – Ácido desoxirribonucléico

MHC – Cadeia pesada de miosina (Myosin heavy chain)

MRF-4 – Fator regulador miogênico 4

TnC – Troponina C

TnI – Troponina I

TnT – Troponina T

ATPase – Trifosfatase de adenosina

ATP – Trifosfato de adenosina

EDL – Extensor longo dos dedos

PFK – Fosfofrutoquinase

GH – Hormônio de crescimento (hormone growth)

IGF-1 – Fator de crescimento insulínico 1

GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofina

FSH – Hormônio folículo estimulante

LH – Hormônio Luteinizante

DHEA – Dihidroepiandrosterona

RNApolimerase – Ácido ribonucléico polimerase

RNAm – Ácido ribonucléico mensageiro

DHT – Dihidrotosterona

DHEAS – Dihidroepiandrosterona sulfatada

DN – Decanoato de nandrolona

Ca⁺⁺ - Íons cálcio

LDL – Lipoproteína de baixa densidade (Low density lipoprotein)

HDL – Lipoproteína de alta densidade (High density lipoprotein)

PVC – Poli cloreto de vinila

mATPase – Trifosfatase de adenosina miofibrilar

IP3 – Inositol trifosfato

MEF2 – Fator de miócito (Myocyte enhance factor)

TGF- α – Fator de crescimento alfa

TGF- β – Fator de crescimento beta

SUMÁRIO

1 REVISÃO DA LITERATURA.....	10
1.1 FIBRA MUSCULAR	10
1.2 ADAPTAÇÕES DA FIBRA MUSCULAR	16
1.3 ESTERÓIDES ANABÓLICOS E EXERCÍCIO.....	21
1.3.1. Esteróides anabolizantes sintéticos.....	25
1.3.2. Esteróides anabolizantes e IGF-1.....	28
1.3.3. Efeitos colaterais dos esteróides anabolizantes sintéticos	30
2 OBJETIVOS	33
2.1 Objetivo Geral	33
2.2 Objetivos Específicos	33
3 MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 Animais	34
3.2 Adaptações dos animais ao protocolo de treinamento	34
3.3 Protocolo de treinamento	35
3.4 Administração do esteróide anabólico associado ao protocolo de treinamento.....	35
3.5 Monitoramento do peso corporal dos animais.....	36
3.6 Obtenção do músculo EDL e dos cortes histológicos.....	36
3.7 Determinação histoquímica das isoformas da cadeia pesada de miosina (MHC).....	37
3.8 Determinação da área de secção transversa da fibra muscular.....	38
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
5 RESULTADOS.....	41
5.1 Monitoramento do peso dos animais	41
5.2 Determinação do tipo de fibra.....	41
5.3 Determinação da área de secção transversa da fibra.....	43
6 DISCUSSÃO.....	44
7 CONCLUSÃO.....	52
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 FIBRA MUSCULAR

O músculo esquelético é um dos tecidos mais ativos metabolicamente, sendo importante para locomoção, e tem sua origem a partir de células mesodermiais.

A diferenciação, maturação e desenvolvimento do tecido muscular são controlados por um grupo de fatores de transcrição chamados de Fatores Miogênicos Reguladores (MRF), incluindo MyoD (Fator de Diferenciação Migênica), Myf5 (Fator Miogênico 5), myogenin entre outros. Uma vez ativados, estes fatores de transcrição ligam-se a regiões específicas do DNA (ácido desoxirribonucléico), que subsequentemente interagem com a região promotora, estimulando a transcrição de genes sob o controle da mesma, esse mecanismo é importantes para expressar o fenótipo da fibra muscular, pois, controlam a expressão das proteínas miofibrilares, entre elas a Cadeia Pesada de Miosina (MHC - Myosin heavy chain), regulando a diversidade, plasticidade e especialização do músculo esquelético (OLSON, 1994; CALVO, 1999, HAWKE, 2001; WILLOUGHBY, 2002; RAVE, 2006).

Neste contexto os fatores de transcrição MyoD e Myf5, transformam as células mesodermiais em mioblastos, estes por ação do Myogenin e MRF-4 transformam-se em miócitos, uma célula mononucleada, a seguir, essas células se unem caracterizando a fibra muscular multinucleada. A partir de uma população não diferenciada de mioblastos formam-se as células satélites, que permanecem na periferia da célula, sendo importantes para crescimento e regeneração muscular. Quando necessário estas células são ativadas, fixando-se às fibras já existentes (HAWKE, 2001; CHARGE, 2004).

Estímulos constantes entre os quais a regeneração e o exercício físico, permitem que as células satélites sejam ativadas, diferenciando-se e participando na formação de novas miofibrilas e fibras maduras. Essa mobilização tem como objetivo promover a manutenção e adaptação das estruturas musculares frente às demandas funcionais (SEALE, 2000; HAWKE, 2001).

No corpo humano existem três variedades de tecido muscular, o músculo liso, o músculo cardíaco e o músculo estriado esquelético; sendo que o músculo esquelético é o que está presente em maior quantidade, perfazendo entre 40 e 45%

do peso corporal com aproximadamente 660 músculos com diferentes localização e função (JUNQUEIRA, 2004).

Estruturalmente e morfologicamente, os músculos esqueléticos são constituídos pelas fibras envoltas uma a uma por tecido conjuntivo fibroso, o endomísio (figura 1A). Em seqüência, estas são agrupadas em feixes de até 150 fibras formando um fascículo, o qual está envolto pelo perimísio (figura 1B), vários fascículos juntos, são envolvidos pelo epimísio (figura 1C), formando o músculo como um todo.

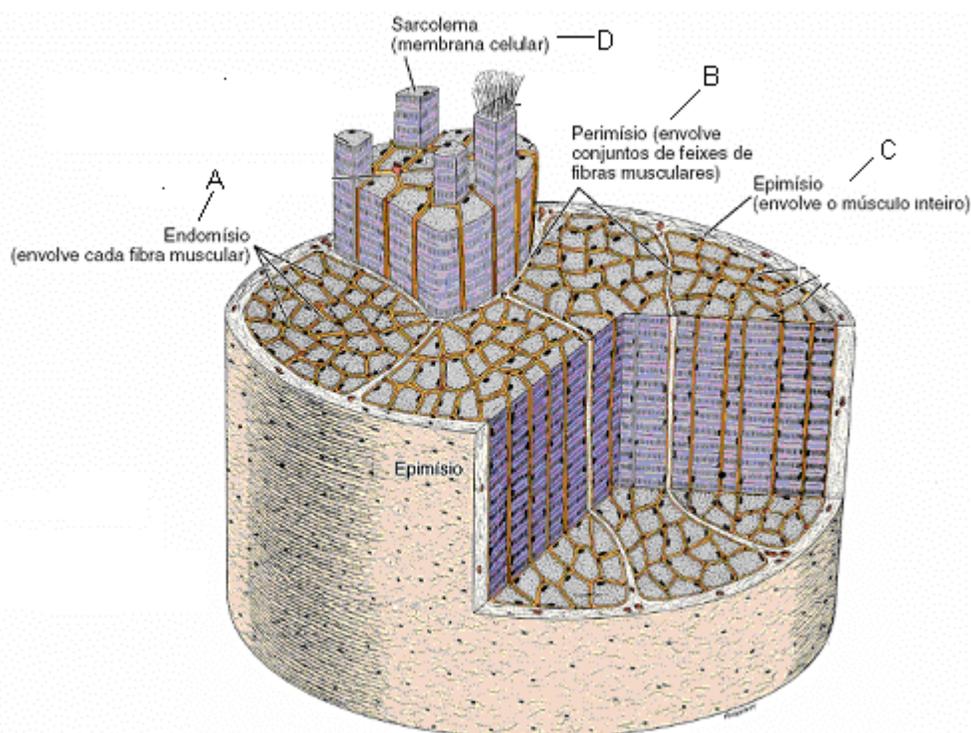


Figura 1: Organização do músculo estriado esquelético. A) mostrando internamente o endomísio revestindo a fibra muscular; B) conjunto de fibras musculares envolvidos pelo perimísio; C) externamente o epimísio, revestindo todo o músculo; D) sarcolema, membrana celular (JUNQUEIRA, 2004).

Histologicamente as fibras musculares são envolvidas pela membrana plasmática, o sarcolema (figura 1D), formada por dupla camada lipídica, responsável pela condução da onda de despolarização através da fibra. Abaixo do sarcolema existe a membrana basal, formada por proteínas e filamentos de colágeno. Entre as duas membranas localizam-se as células satélites.

No interior da fibra temos o sarcoplasma, onde se localiza as organelas especializadas, entre elas o retículo sarcoplasmático, constituído por uma rede de canais tubulares que permitem a propagação da onda de despolarização por toda a fibra, regulando o fluxo de cálcio (FLUCK, 2003).

Estruturalmente as fibras musculares esqueléticas são constituídas pelos sarcômeros, unidades iguais e repetidas delimitadas pelas linhas Z (figura 2A), dentro dos quais se localizam os filamentos protéicos finos e grossos, denominado complexo protéico do sarcômero (figura 2), além de permitir a contração, esta relacionado à organização e coesão da fibra.

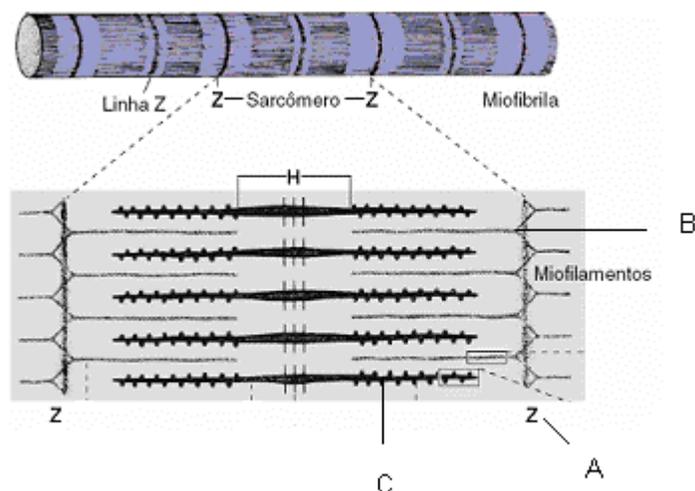


Figura 2: Estrutura do sarcômero. A) mostrando as linhas Z delimitando os sarcômeros; B) disposição da actina, representada no esquema pelas linhas finas; C) miosina, representada pelas linhas grossas, localizadas entre as linhas finas (JUNQUEIRA, 2004).

Segundo Schiaffino (1996), os filamentos finos são formados por actina (figura 2B), tropomiosina, troponina e tropomodulina. A actina é formada por um polímero longo a actina F, e por duas cadeias de monômeros globulares, as actina G, torcidas uma sobre a outra. A tropomiosina é uma molécula longa e fina, formada por duas cadeias polipeptídicas com arranjo em dupla hélice, em orientação paralela, localizada ao longo do sulco entre os filamentos de actina F. Duas isoformas são encontradas, a tropomiosina α com variação rápida e lenta, e a tropomiosina β . A troponina é um complexo protéico formado por três subunidades no músculo esquelético (TnC, TnI e TnT), com funções específicas, sendo que a troponina C (TnC), é a subunidade em que o cálcio se liga, sendo essencial para a ligação com a

miosina, possui duas isoformas TnC rápida, com quatro ligações para o cálcio, a TnC lenta, com uma ligação para o cálcio, a troponina I (TnI) que inibe a ação da actina e a atividade da ATPase, no músculo esquelético temos duas isoformas a TnI rápida e a lenta. A troponina T (TnT) faz a ligação com a tropomiosina, também tendo duas isoformas presentes no músculo esquelético, a TnI rápida e lenta. Temos ainda a tropomodulina, proteína que mantém os filamentos de actina em seu comprimento, não havendo evidências de isoformas.

De acordo com Schiaffino (1996) o filamento grosso representado pela miosina (Figura 2C), e pelas proteínas (proteína C, proteína H, proteína M e miomesina) que encontram-se ligadas a essas, servindo de apoio e contribuindo para a integridade do sarcômero.

A miosina é formada por duas cadeias pesadas de proteínas denominadas Cadeia Pesada de Miosina, (figura 3 A) e um filamento fino com duas cadeias leves de proteínas que enrolam-se entre si (figura 3 B). Na extremidade amino (figura 3 C), essas cadeias formam estruturas globulares denominadas cabeça, onde existe um domínio motor contendo ligações para o ATP (Trifosfato de Adenosina) e locais de ligação com a actina (Figura 3).

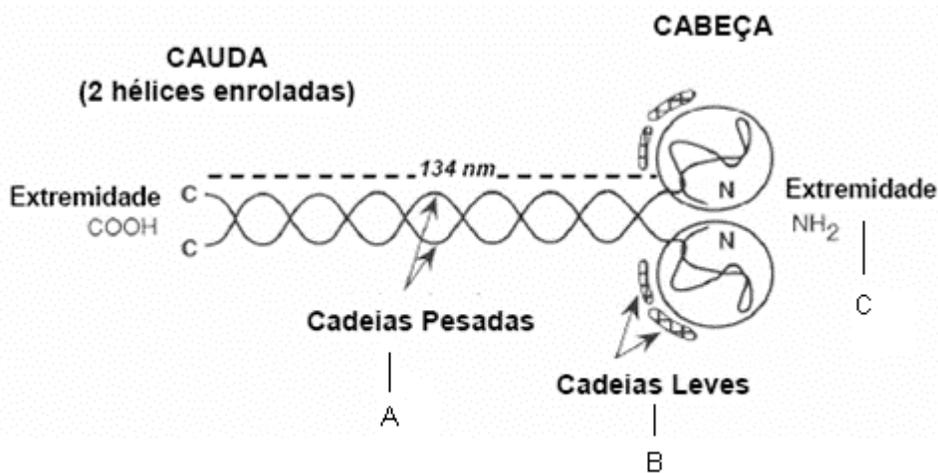


Figura 3: Modelo esquemático da molécula de miosina. A) Cadeias pesadas enoveladas; B) duas cadeias leves, que na C) extremidade amino, compõem cada cabeça da miosina (BARREY, 1995).

Existe ainda a titina, desmina e nebulina. A titina é um filamento elástico que promove a ligação da miosina à extremidade do sarcômero; a desmina está relacionada com a manutenção dos filamentos de actina e miosina, unidos a parede do sarcômero, fazendo a conexão entre dois sarcômeros, e por último a nebulina

localizada próxima a actina, controlando o número de ligações entre troponina e a tropomiosina.

Diferente dos aspectos histológicos e morfológicos que são iguais para todas as fibras do músculo esquelético, as respostas fisiológicas e bioquímicas podem ser diferentes permitindo que as mesmas sejam diferenciadas quanto a sua função (FLUCK, 2003).

Gregory (2005) mostra que as fibras também podem ser classificadas por suas características fisiológicas e bioquímicas, evidenciando a atividade enzimática, potencial oxidativo, e determinando o tipo de exercício mais próximo à característica da fibra.

Nesta perspectiva as fibras de contração lenta (tipo I) geram energia utilizando o sistema aeróbico com menor velocidade de propagação do cálcio, e grande número de mitocôndrias, sendo muito resistente à fadiga. Recebe maior vascularização e contém altos níveis de mioglobina, tem baixa velocidade de contração, relaxamento e baixa capacidade de gerar força. As fibras lentas (tipo I) apresentam longo tempo de contração apresentando predomínio das enzimas oxidativas incluindo a citrato sintetase e a succinato desidrogenase. As fibras rápidas têm pouco tempo de contração e predomínio das enzimas glicolíticas incluindo fosfofrutoquinase (PFK) e lactato desidrogenase (LDH), tendo ainda as fibras consideradas intermediárias, ficando entre lentas e rápidas. As fibras de contração rápida (Tipo II) geram energia anaeróbica com maior velocidade de contração. Apresentam características como alta capacidade de condução do potencial de ação, rápida propagação de cálcio, com alta velocidade de contração e relaxamento, grande capacidade de gerar força, pouca resistência, pouca capilarização, baixo número de mitocôndrias e reduzida quantidade de mioglobina, tendo alta atividade da ATPase.

A proporção de reservas energéticas como o ATP, glicogênio e ácidos graxos são diferentes para cada tipo de fibra. Nas fibras do tipo I, a quantidade de glicogênio é aproximadamente 16% maior do que em fibras do tipo II, a concentração de lipídios é maior em fibras do tipo I, sendo que a concentração de ATP é similar nos dois tipos de fibras (VOLLESTAD, 1984).

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 (PETTE, 2000).

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 (GUTH, 1969; BROOKE, 1970).

Baseado no perfil protéico da Cadeia de Miosina Pesada (MHC), existe fibras puras e híbridas.

Assim as fibras puras, são formadas por MHC específicas, são as dos tipos I, IIA, IID (também chamada de IIX) e IIB, e as fibras híbridas, tipos IC, IIC, IIAC, IIAD, IIDA, IIBD e IIDB, formadas pela expressão de duas ou mais isoformas da MHC. (PETTE, 2000; STARON, 1993).

As fibras híbridas resultam da coexpressão de pares específicos de isoformas da MHC. No músculo esquelético de mamíferos adultos foram identificadas onze isoformas, além destas, algumas só se expressam em músculos específicos como diafragma, masseter, tensor do tímpano, músculos mastigatórios, oculares e da laringe; outras são distribuídas em vários músculos esqueléticos (PETTE, 2000).

A quantidade de fibras é variável para cada músculo, com a população de fibras puras e híbridas juntas, influenciando na dinâmica do tecido. Assim, ao avaliar músculos de ratos, Delp (1996) e Staron (1999), mostram que o sóleo é um músculo com predomínio de fibras tipo I, tibial anterior, extensor longo dos dedos e gastrocnêmico, tem predomínio de fibras tipo II, puras e híbridas, tendo o extensor longo dos dedos (EDL) 38% de fibras IID, 38% do tipo IIB, 20% do tipo IIA e apenas 4 % de fibras tipo I. Por outro lado à quantidade de proteínas também interfere na área da fibra, além disso Delp (1996), mostra que a área de secção transversa das fibras musculares do EDL em ratos normais apresenta diferença: IIB> IID> IIA> I, diferentemente do sóleo que apresentou a seguinte sequência em sua área de secção transversa: IIB> I> IIA>IID.

1.2 ADAPTAÇÕES DA FIBRA MUSCULAR

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 (PETTE, 1998; PILEGAARD, 2000; BALDWIN, 2001; KENETH, 2001).

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 (PETTE, 1998). 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 (ITO, 2005), 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 (VOLLESTAD, 1984; STARON, 1993; PETTE, 1998; TRAPPE, 2004).

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 sua ausência e o exercício (PETTE, 2001; FLUCK, 2003; GREGORY, 2005). Todos estes estímulos contribuem para modificar a atividade contrátil do músculo, desencadeando uma série de adaptações que envolvem: o número de mitocôndrias, as enzimas, o tipo de miofibrilas, o número de capilares, tipo e quantidade de nervos periféricos e quantidade de núcleos. As alterações ocorrem a partir da reorganização de eventos celulares, relacionados a fatores metabólicos e contráteis, envolvendo respostas da fibra e de estruturas associadas (PETTE, 2000; FLUCK, 2003; KIM, 2005).

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 (STARON, 1999; KENETH, 2001).

Segundo McClung (2005) e Kosek (2006) este processo é decorrente da ativação de fatores de transcrição, tais como o miogenin que quando estimulado atua na determinação das fibras tipo I e MyoD para a determinação das fibras tipo II.

Neste sentido, a atividade neuromuscular é importante para alterar o fenótipo muscular, podendo interferir na adaptação do músculo. Fato este observado pela ausência de atividade nervosa que irá determinar mudanças na fibra muscular onde os efeitos mais evidentes, promovem a transição das fibras lentas, do tipo I para rápidas do tipo II. A transição das isoformas segue IIA para IID e I para IIA (STARON, 1999; KENETH, 2001).

Por outro lado, as alterações fenotípicas promovidas pelo estímulo elétrico artificial estão relacionadas com os parâmetros que incluem amplitude e duração do estímulo; frequência, duração e intervalo do pulso, podendo o estímulo elétrico minimizar os efeitos da atrofia gerada pela desnervação; entretanto segundo Dow (2005) existem controvérsias entre os autores sobre qual o melhor padrão de estimulação a fim de interferir no fenótipo muscular. Assim, estímulos de alta frequência e intensidade levam à predominância de fibras rápidas e estímulos de baixa frequência e intensidade induzem o predomínio de fibras lentas (PETTE, 1998; ASMUSSEN, 2003). A estimulação elétrica crônica de baixa frequência no músculo de contração rápida promove transição na expressão das miofibrilas rápidas para lentas, alterando os tipos de fibras e as propriedades contráteis do músculo (ASMUSSEN, 2003).

Para Short (2005) e kosek (2006) a idade avançada causa mudanças nas fibras pela interferência de fatores como, degeneração do sistema nervoso central, perda de motoneurônios alfa ou inatividade física, promovendo as mudanças onde prevalecem à diminuição de fibras rápidas (tipo II) com o aumento de fibras lentas (tipo I). Como conseqüência o músculo entra em condições de atrofia, proporcionando fraqueza muscular, aumento da fadiga e diminuição na velocidade de contração, fenômeno conhecido como sarcopenia. Nesta situação a atrofia é mais evidente nas fibras do tipo II (rápidas), provocando conseqüente predomínio das fibras lentas do tipo I (PETTE, 1998; SHORT, 2005).

Ainda relacionado com a idade, Short (2005) avaliou a influência do treinamento de resistência por 16 semanas, por 45 minutos em bicicletas ergométricas, três vezes por semana em indivíduos com idade entre 21 e 87 anos, divididos em grupos: de jovens (21 a 37), meia idade (40 a 56) e idosos (60 a 87).

Todos foram submetidos à biópsia muscular antes do treinamento, onde foi observada a diminuição em média 14% e 10% por década nas fibras tipo IIA e tipo IID respectivamente; as fibras tipo I aumentaram, quando comparados os resultados obtidos entre os grupos estudados. Após a realização de treinamento, foi feita nova biópsia onde observou-se um aumento de 6% nas fibras do tipo I, com diminuição de 5% em média nas fibras tipo IIA e IID em todos os grupos (jovens, meia idade e idosos). Assim os autores concluem que ocorrem mudanças no fenótipo muscular com o avanço da idade, podendo o exercício interferir nestas mudanças atenuando os efeitos da sarcopenia.

Dentre os vários hormônios presentes no organismo, à testosterona, hormônios tireoideanos, hormônio de crescimento, a insulina, são os que mais promovem adaptações nas fibras musculares (PETTE, 2000; FLUCK, 2003).

Desta forma, a testosterona sendo um hormônio anabólico ao ser usado por idosos, tem condições de retardar ou diminuir os sintomas do envelhecimento sobre o sistema muscular. Neste contexto, Isayama (2003), ministrou quinze doses de 5mg/kg de cipionato de testosterona por trinta dias a grupos de ratos jovens e senis, observou aumento na área de secção transversa das fibras tipo I e IIAD dos ratos senis, onde também observou que não houve alteração na distribuição das fibras.

Os hormônios da tireóide (triiodotireonina e tiroxina) tem grande influência sobre alterações no fenótipo das fibras musculares. A diminuição destes hormônios leva às mudanças de fibras rápidas para lenta, ocorrendo o contrário quando os níveis estão aumentados, além disso, os níveis de enzimas oxidativas e a densidade capilar também sofrem alteração (KADI, 1999; PETTE, 2001). Assim, Caiozzo (1998), avaliou o efeito do hormônio triiodotironina ou T3, sintetizado na tireóide em dois grupos de ratos. O primeiro grupo recebeu hormônio e o outro grupo recebeu hormônio e permaneceu em suspensão, com o objetivo de tirar a ação da gravidade, ambos os grupos receberam injeções intramuscular de hormônio triiodotireonina, sendo administrado três vezes na semana, durante quatro semanas. No grupo tratado apenas com hormônio houve aumento das fibras tipo IID (rápidas) e no grupo tratado com hormônio com a suspensão houve aumento das fibras tipo IIB (rápidas) concluindo assim que estes hormônios são potentes moduladores da plasticidade muscular, interferindo diretamente na população de fibras do músculo.

Vários autores mostram o efeito da insulina sobre a alteração do padrão fenotípico da fibra muscular, principalmente em estudos realizados com indivíduos

com diabetes tipo II (Nyholm, 1997; Venojarvi, 2005; Oberbach, 2006). De acordo com os autores a diminuição deste hormônio, situação de doença, promove diminuição nas fibras tipo I (lenta) e aumento nas fibras tipo II (rápida), além de aumento nas enzimas glicolíticas, sugerindo que ocorre um mecanismo compensatório na captação da glicose pelo músculo em virtude da alteração no metabolismo da glicose. Neste contexto, Venojarvi (2005) encontrou resultados iguais quando submeteu grupos de diabéticos a treinamento de resistência, consistindo de 10 a 15 repetições com carga variando entre 50 e 70% de 1RM, sendo realizado por quatro vezes na semana, durante seis meses, após foram feitas as biópsia para análise das fibras musculares, concluindo que o metabolismo da glicose tem grande interferência sobre alterações ocorridas nas fibras musculares em virtude de adaptações metabólicas.

A ação do hormônio de crescimento (GH, do inglês Hormone growth) sobre a alteração fenotípica das fibras musculares tem sido documentada por vários autores (Daugaard, 1998; Syrotuik, 2000; Hannedessey, 2001; Weber, 2002), os quais indicam que este hormônio induz um aumento da concentração e do tamanho das fibras tipo II, da capilarização e da força muscular. A ação do GH sobre o músculo esquelético tem sido observada em casos onde há deficiência patológica deste hormônio, ou quando é utilizado por indivíduos saudáveis em associação ao exercício resistido.

O uso do GH em indivíduos que apresentam deficiência hormonal, os quais apresentam redução da massa muscular e força, obtiveram a reversão do quadro quando da suplementação com o hormônio (Wu, 1997). Considerando, o fato do GH mostrar estimular adaptações musculares quanto ao fenótipo Lange (2002), investigou a ação do hormônio em associação ao exercício físico sobre as fibras musculares quando submeteu um grupo de homens a exercício de resistência, onde executavam os exercícios três vezes na semana, por doze semanas, realizando 3 a 5 sessões com repetições entre 8 e 12. Em associação ao exercício eram administradas injeções intramusculares de GH humano recombinante a um grupo; o outro grupo recebeu apenas hormônio representando o grupo controle do experimento. Após a biópsia feita no quadríceps, observou que houve aumento nas fibras tipo IID e diminuição das fibras tipo IIA, além de aumento nos níveis de IGF-1, em ambos os grupos mostrando neste caso que o GH atua de forma independente sobre o músculo podendo ter sua ação intensificada em associação ao exercício.

O exercício físico por si, também pode promover mudanças nas fibras musculares alterando as propriedades funcionais do músculo. Diferentes tipos de treinamento podem alterar a quantidade de fibras lentas, rápidas e as isoformas, as mudanças acontecem de acordo com a especificidade do treinamento (Staron, 1993; Pette, 1997). De forma geral, o treinamento físico promove mudanças nas proteínas musculares e nos tipos de fibra, permitindo a transição no sentido lento para rápido, I→IIA→IID→IIB, ou rápido para lento, IIB→IID→IIA→I (STARON, 1993; PETTE, 1997).

Com relação ao treinamento de resistência com múltiplas séries de exercícios, observam-se alterações no padrão das fibras musculares, aumentando seu conteúdo protéico e aumento de recrutamento de unidades motoras. Fatores estes que repercutem no entendimento da hipertrofia ou na melhora da habilidade, importantes respostas adaptativas do músculo ao treinamento de resistência (RHEA, 2003; MUNN, 2005; SHORT, 2005).

Quando aplicamos um treinamento de baixa intensidade e longa duração, podemos induzir a conversão de fibras rápidas em fibras lentas, por outro lado, um treinamento de alta intensidade e curta duração, leva a um resultado oposto, ou seja, conversão de fibras lentas em rápidas (CAMPOS, 2002). Conclusões estas obtidas a partir da resposta de três grupos submetidos a três diferentes formas de treinamento de resistência, o primeiro grupo realizou quatro sessões com 3 a 5 repetições, o segundo três sessões com 9 a 11 repetições e o último duas sessões com 20 a 28 repetições, todos os exercícios foram feitos com 60% da carga máxima, em leg press, mesa extensora e agachamento, sendo feitos duas vezes na semana nas primeiras quatro semanas e três vezes na semana nas quatro semanas subsequentes. Observou que as diferentes formas de exercício provocaram alterações na população de fibras com diminuição no percentual de fibras IIB e aumento no percentual de fibras do tipo IIAB, com hipertrofia presente apenas no grupo que executou baixo número de repetições, tendo aumento da área das fibras tipo I, IIA e IIB.

Os saltos verticais, forma de treinamento utilizada neste estudo, representam uma forma importante de exercício físico para a realização de treinamento de resistência, sendo muito utilizados em diferentes modalidades esportivas, pois, estes têm como característica a possibilidade de rápida execução, levando a grande produção de força pelos grupos musculares envolvidos (BAKER, 1996).

1.3 ESTERÓIDES ANABÓLICOS E EXERCÍCIO

Classicamente, hormônios são substâncias químicas produzidas pelas glândulas endócrinas, liberadas na corrente sanguínea para agirem em células alvo distante do local de sua secreção. Desempenham papel de grande importância no desenvolvimento dos organismos, pois controlam o crescimento, a reprodução e o metabolismo. Possuem diferentes estruturas químicas, podendo ser originados de proteínas (peptídeos); e os esteróides originários do colesterol (DOUGLAS, 2002).

No músculo alguns destes hormônios exercem ação anabólica, a exemplo da testosterona, o estrogênio e o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) que regulam processos metabólicos como a modulação positiva da síntese proteica por influenciar a expressão de fatores de transcrição da família MyoD, bem como regulam as vias metabólicas como a insulina que exerce importante papel no controle da glicólise e gliconeogênese. Ao passo que a ação catabólica no músculo é mediada pela miostatina e glicocorticóides, permitindo que ele possa executar as respostas a um estímulo gerando adaptações locais, produzindo mudanças nas características do tecido.

A testosterona é um hormônio esteróide, originado do colesterol, sendo o principal hormônio androgênico para o homem, tendo também importante papel anabólico. Cerca de 95% é secretada pelas células de Leydig, localizadas nos testículos, e 5% pela cortical da glândula adrenal (DOUGLAS, 2002).

Sua secreção depende do controle hipotalâmico que, por meio da secreção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) estimula a hipófise anterior a liberar o hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), que induzem a diferenciação e maturação das células de Leydig, após interagirem com seus receptores de membrana específicos, processo este que induz a produção do hormônio testosterona. Por outro lado o excesso de testosterona suprime a secreção dos hormônios gonadotróficos diminuindo a secreção do mesmo (AIRES, 1999).

Outro importante hormônio no controle da secreção da testosterona é a prolactina, que controla a entrada do colesterol na mitocôndria onde ele será transformado em pregnenolona, o principal precursor dos hormônios esteróides. Esta por sua vez difunde-se ao citosol indo até o retículo endoplasmático liso onde por ação de enzimas será convertida, subsequentemente, em Δ -5 pregnenolona, 17α hidroxipregnenolona, dihidroepiandrosterona (DHEA), androstenediol e

finalmente pela ação da enzima 17 β hidroxisteróide desidrogenase, em testosterona.

A testosterona circulante nos homens varia entre 0,5 e 1,0 $\mu\text{g}/100$ mL de sangue e nas mulheres variando entre 0,03 e 0,07 $\mu\text{g}/100$ mL. Diferentemente dos homens onde a testosterona é produzida nos testículos, nas mulheres é produzida pela glândula supra-renal (AIRES, 1999).

Após sua liberação, a testosterona, pode circular livremente no plasma (2 a 5%), ou conjugada às proteínas transportadoras (95 a 98%), sendo a albumina responsável por 35 a 38% do transporte e a Globulina Fixadora de Esteróides Sexuais por 60%. Por ser lipossolúvel, a testosterona difunde-se livremente através da membrana plasmática para o interior das células, fixando-se em receptores citoplasmáticos, formando o complexo hormônio-receptor (Figura 4). Este complexo migra para o núcleo da célula e liga-se a seqüências específicas do DNA, denominadas de “Elementos Responsivos a Hormônios” que ao interagir com a região promotora, estimula a síntese dos genes sob controle. Como resultado desta união, ocorre à estimulação da RNA polimerase com formação de RNA mensageiro iniciando a síntese protéica (DOUGLAS, 2002).

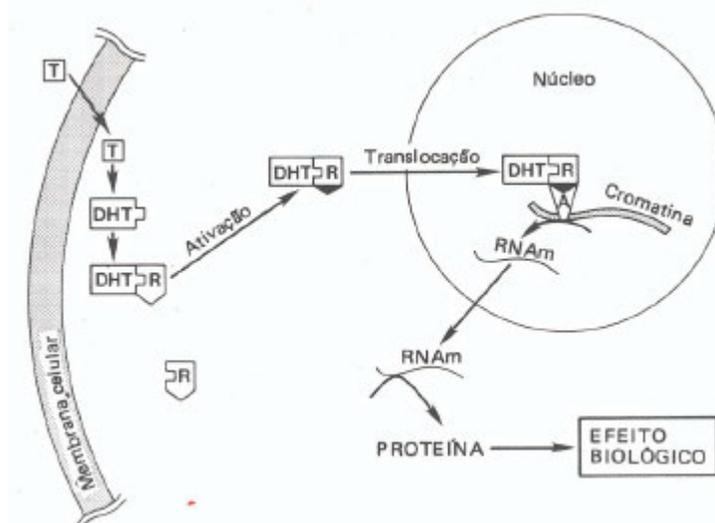


Figura 4: Desenho esquemático da via de ação da testosterona. Após entrar na célula, a testosterona (T) sofre ação enzimática sendo transformada em Dihidrotestosterona (DHT), esta se liga ao receptor citoplasmático (R), difundindo-se para o núcleo da célula onde desencadeia o início da síntese protéica. (HEDGE, 1988).

Segundo Berne (1998), a testosterona tem diferentes efeitos, anabólicos e ou androgênico, dependendo da necessidade do tecido alvo. No caso dos tecidos que compreendem o sistema reprodutor possuem efeito androgênico, estimulando

eventos relacionados à função reprodutora, como a espermatogênese e desenvolvendo caracteres sexuais secundários, por outro lado, os efeitos anabólicos estimulam o processo de síntese, atuando sobre diferentes tecidos como músculo, tecido ósseo, tecido adiposo, fígado e rins.

A ação da testosterona ocorre à distância, quando ativa mecanismos de respostas específicos em cada órgão, podendo agir de forma direta ou indireta, neste último caso o hormônio é convertido por ação da enzima 5α redutase, em Dihidrotestosterona (DHT) ou 5α androstenediol, porém no músculo a enzima tem pouca ação mostrando que existe ação direta da testosterona sobre o tecido muscular (WU, 1997; SHEFFIELD-MOORE, 2000).

Segundo Silva (2002), na espécie humana existem algumas formas de andrógenos circulantes: a testosterona, Dihidrotestosterona (DHT), 5α androstenediol, androstenediona, dihidroepiandrosterona (DHEA), dihidroepiandrosterona sulfatada (DHEAS), sendo a dihidrotestosterona a forma mais ativa em tecidos alvo, tendo maior afinidade ao receptor.

Em indivíduos do sexo masculino, com gônadas em funcionamento normal, os receptores androgênicos estão saturados pelos níveis fisiológicos de testosterona, neste contexto segundo Wu (1997) e Kadi (2000), doses supra-fisiológicas de esteróides anabolizantes, podem estimular o aumento de receptores androgênicos, favorecendo a expressão de suas funções. O aumento de receptores também sofre interferência do exercício (SHEFFIELD-MOORE, 2000).

Uma das formas de avaliar a ação dos anabolizantes faz-se por meio das análises da ligação do hormônio ao seu receptor. Após administrar por três semanas, doses de 6 mg/Kg decanoato de nandrolona em ratos mantidos em suspensão para induzir a atrofia muscular, Lee (2003), observou que houve aumento na ordem de 106% nos receptores após 7 dias e 279% de aumento após 21 dias de administração da droga. Como conclusão o autor aponta este aumento como representativo, uma vez que indica a interferência da droga na diferenciação muscular, pois, o esteróide anabolizante sozinho atua modulando o número de receptores hormonais. Podendo desta forma, interferindo diretamente na expressão das proteínas (LEE, 2003)

Neste sentido, Sinha-Hikin (2004), avaliou a expressão dos receptores androgênicos no músculo após a administração de testosterona em indivíduos do sexo masculino, saudáveis e com níveis hormonais normais, observou-se um

aumento de RNAm e da expressão protéica dos receptores androgênicos nas fibras musculares e em células satélites, concluindo que as fibras musculares e as células satélites são alvos diretos da ação androgênica, estando sujeitas ao aumento da expressão de receptores, mostrando que a testosterona tem papel importante na regulação destes, modulando assim a síntese protéica e controlando a hipertrofia.

Segundo Chen (2005), a testosterona induz a hipertrofia da fibra muscular pela fusão de células satélites com as fibras musculares, resultando em um aumento no número de mionúcleos e hipertrofia das fibras musculares, conclusões semelhantes às de Sheffield-Moore (2004), que diz existir uma correlação positiva entre a administração de doses terapêuticas de testosterona e seus derivados e a capacidade de melhorar a força em adultos jovens envolvidos com programa de treinamento de resistência.

Neste sentido Ferrando (2002), mostrou o efeito isolado da testosterona sobre o tecido muscular, quando estudou o seu efeito em homens idosos saudáveis e sedentários, com média de idade de 60 anos e diminuição fisiológica dos níveis de testosterona. Durante seis meses ministrou doses semanais de testosterona, variando entre 100 e 300mg, foram feitas avaliações de força muscular, composição corporal, níveis de receptores hormonais e de IGF-1 no primeiro e no sexto mês. Observou aumento de todos os parâmetros avaliados após seis meses de tratamento, tendo aumento da força muscular e do tamanho do músculo, aumento da composição corporal e aumento na quantidade de receptores, concluindo que a administração do hormônio incrementa as mudanças anabólicas ocorridas no músculo, diminuindo a perda protéica.

A resposta hormonal ao exercício depende de vários fatores como intensidade, duração, tipo e tempo de treinamento. Comparando exercício de corrida com exercício de força em humanos, Tremblay (2005), observou declínio nos níveis de testosterona nos indivíduos que foram submetidos à corrida prolongada, fato não observado nos indivíduos que realizaram treinamento de força, segundo o autor, esta redução se justifica sendo uma adaptação benéfica em corredores de longa distância, que necessitam da limitação no desenvolvimento da massa muscular e consequentemente redução na síntese protéica, pois a hipertrofia seria limitante em suas performances, esta situação também foi vista por Hackney (2003), que observou diminuição de 20% nos níveis de testosterona na primeira hora, após a corrida de oitenta minutos em indivíduos treinados.

1.3.1. 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 (KUHN 2002).

Os esteróides anabolizantes sintéticos são manipulados para produzir maiores efeitos anabólicos que androgênicos. Contudo estes efeitos não podem ser separados totalmente devido ao fato de que o mecanismo de ação tanto anabólica quanto androgênica envolvem a ligação com receptores comuns que, interagem com o DNA e ativam a expressão gênica, assim a resposta anabólica ou androgênica dependente do tecido alvo, não existindo um esteróide anabolizante considerado exclusivamente anabólico.

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 (STRAWFORD, 1999, HARTGENS, 2001; SATTLER, 1999).

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 (FRANKE, 1997; STRAUSS, 1991). Esta prática teve início em 1954, em um campeonato de levantamento de pesos, onde atletas buscavam melhorar seu desempenho, por meio do uso destas substâncias, em 1989 foi introduzido o controle anti-doping pelo Comitê Olímpico Internacional, dentre as muitas substâncias que foram proibidas estavam incluindo os derivados de testosterona (FRANK, 1997).

Segundo Kuhn (2002), a partir da molécula de testosterona, temos as seguintes formas de esteróides anabolizantes:

- a) Testosterona 17 β -esterificada: undecanoate, proprionato, enantato e cipionato de testosterona. Apresentam maior solubilidade lipídica possibilitando liberação lenta e ação prolongada em virtude da esterificação.

- b) 17 α -derivados: Resistentes ao metabolismo hepático, sendo encontrados na forma oral. Metiltestosterona, metandrostenolona, nortandrolona, fluoximesterona, danazol, oxandrolona e estanozol.
- c) Modificações nos anéis A, B ou C da testosterona: Mesterolona, nortestosterona, metenolona, fluoximesterona, metandrostenolona, nortandrolona, danazol, nandrolona, estanozol. Estas modificações permitem lenta metabolização e afinidade aumentada ao receptor androgênico.

Destes 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, normalmente é utilizada em ciclos que duram de 6 a 12 semanas com as doses sendo aumentadas em forma de pirâmide de acordo com o ciclo, podendo atingir doses 10 a 40 vezes maiores que as indicadas para o tratamento clínico, na tentativa de maximizar o número de receptores (SHAHIDI, 2001).

Segundo Celotti (1992), a nandrolona, se comparada à testosterona, apresenta maior atividade anabólica do que androgênica. Ao entrar na célula esta também sofre ação da 5 α redutase originando o metabólito 7 α -19-nortestosterona que possui maior afinidade ao receptor anabólico.

Neste sentido Tamaki (2001), mostrou o efeito ergogênico da nandrolona associada ao exercício de resistência onde administrou uma única dose de 3,75 mg/Kg em ratos. Depois de uma semana realizou exercícios de salto até a exaustão sendo uma única sessão com séries de 10 exercícios e intervalos de um minuto entre as séries; utilizou resistência inicial de 500g progredindo em 100g a cada série de dez saltos. Passados 14 dias foi feita a análise do músculo EDL, e notou-se o aumento da capacidade de trabalho do músculo e da resistência à fadiga, com aumento da síntese protéica dos componentes contráteis e não contráteis do músculo.

Ao aplicar nandrolona em doses de 15mg/kg, uma vez por semana, em associação ao exercício de resistência feitos em esteira com intensidade de 75% do VO₂max em ratos, Joumaa (2001), observou mudanças no mecanismo de excitação e contração muscular, dos músculos sóleo e EDL. Esta associação aumentou as respostas contráteis gerando mudanças nos canais de voltagem dependente de íons de potássio, isto envolvendo a regulação intracelular de cálcio levando ao aumento no pico de tensão de forças, ocorrendo assim à manutenção da contração por mais tempo.

Estudando o efeito da nandrolona sobre músculos imobilizados e não imobilizados, Taylor (1999) observou que o hormônio limitou a atrofia nos músculos EDL e tibial anterior em ambos os grupos, mantendo a capacidade contrátil e o ganho de massa corporal ocorrendo também aumento de tecido conectivo, justificando a resposta anabólica pelo aumento da sensibilidade da célula satélite muscular ao IGF-1 e Fator de crescimento do fibroblasto.

Ao administrar doses supra-fisiológicas de nandrolona (4,5 mg/kg) sem associar exercício, Lewis (1999), avaliou o diafragma de ratos, e observou aumento significativo da função contrátil do músculo ao avaliar a força isométrica do músculo *in vitro* através de estimulação elétrica, constatando ainda hipertrofia de todas as fibras com o aumento da área de secção transversa e redução do espaço intersticial entre as fibras, com aumento das fibras tipo IIA. Efeitos semelhantes ao encontrado por Balkom (1999), após ministrar diariamente 1 mg/kg de nandrolona, por três meses em ratos com enfisema, observando aumento na área de secção transversa das fibras IIA e IID do diafragma, concluindo que o hormônio contribui para diminuir a atrofia muscular gerada pela patologia.

Konishi (2001) ministrou 1 mg/kg de nandrolona em ratos e avaliou somente o efeito do hormônio sobre o EDL, constatando aumento na distribuição das fibras tipo IIB bem como aumento na sua área de secção transversa, a distribuição das fibras tipos I estava diminuída.

Bisschop (1997) ministrou doses semanais de nandrolona em dois grupos, onde um recebeu doses de 1,5 mg/kg e outro recebeu doses de 7,5 mg/kg. Após o período realizou análise histoquímica e morfométrica do diafragma e do gastrocnêmio, comparando com o grupo controle, que não recebeu hormônio, observou aumento na quantidade e na área de secção transversa das fibras tipo IIB e IID, com melhora nas propriedades contrateis em ambos os músculos, concluindo que houve uma grande mudança no perfil das fibras tipo II, além da hipertrofia e melhora na função ao melhorar a contratilidade do músculo, mostrando os efeitos diretos do hormônio sobre o tecido muscular.

Schroeder (2003) avaliando a área de seção transversa e o fenótipo da fibra muscular em jovens humanos do sexo masculino frente à administração de 600 mg de nandrolona por doses semanais, associado ao treinamento de resistência progressiva por doze semanas (três vezes na semana com quatro séries de exercícios feitos com carga inicial de 60% da carga máxima e terminando com 80%

da carga máxima), observou alteração na arquitetura muscular com aumento de força em 38,8%, aumento de 6,5% na área de secção transversa do músculo e aumento na proporção de fibras do tipo II.

Em estudo realizado por Kadi (1999), com atletas de levantamento de peso, que utilizavam semanalmente 600mg de nandrolona associada ao exercício de força realizado entre quatro e seis vezes por semana, num período de dez semanas, promoveu um aumento da força muscular, aumento da área de secção transversa das fibras e aumento das fibras do tipo IIB e IIAB, com diminuição das fibras do tipo IA.

Ferry (1999) avaliou o efeito da nandrolona na regeneração do músculo EDL e sóleo de ratos. Para induzir a lesão muscular administrou 2 µg de veneno de cobra. Durante a regeneração muscular (25 dias) os animais foram divididos em grupos: um controle, um tratado com 2 mg/kg de nandrolona e outro recebeu a mesma dose de hormônio junto com exercício de resistência e observou aumento da proteína da MHC IID no músculo EDL em ambos os grupos, porém no grupo exercitado houve um aumento de 63% na área de secção transversa da fibra muscular, desta forma o autor conclui que combinando o hormônio ao exercício ocorre a potencialização dos efeitos de ambos, com a maturação de células satélites e intensificação da síntese protéica.

1.3.2. Esteróides Anabolizantes e IGF-1

O IGF-1 tem dupla função sobre o músculo, exercendo função semelhante ao GH e a insulina, sendo um importante mediador da função muscular participando do crescimento muscular, por interferir na miogênese, pois faz parte do processo de sinalização intracelular das respostas miogênicas, e exerce papel anabólico, principalmente durante o exercício quando acontece aumento se sua secreção, com os níveis circulantes sendo direcionado para o músculo.

A ação anabólica do IGF-1 foi observada quanto a sua diminuição, o que resulta na interferência do desenvolvimento muscular; neste contexto, Fournier (2000) interrompeu a seqüência de códigos genéticos relacionados à expressão de IGF-1 em ratos analisou o diafragma dos animais. Observou a diminuição na expressão IGF-1 como conseqüência ocorre à atrofia muscular pela redução no número de fibras e capilares, redução do efeito anabólico refletindo em reduzida

taxa de manutenção do crescimento muscular com redução no tamanho da fibra, associado à redução no tamanho da unidade motora e conseqüente diminuição na produção de força.

Os níveis circulantes de IGF-1 são regulados pela insulina, hormônio de crescimento e hormônios sexuais, desta forma a nandrolona sendo um dos anabolizantes derivados da testosterona, exerce diversos efeitos anabólicos, como o aumento da massa muscular, por aumento da síntese protéica acompanhado por uma maior retenção de nitrogênio e da diminuição do catabolismo protéico, promovendo o aumento do peso corporal. Estas alterações proporcionadas pelo aumento nos níveis de nandrolona, pois esta também ira proporcionar um aumento na expressão do gene para o IGF-1, aumentando sua secreção e exercendo importante ação sobre a hipertrofia do músculo, quando associada ao exercício (BAMMAN, 2001; SHAHIDI, 2001; KAMANGA-SOLO, 2004).

A testosterona é capaz de mediar o aumento na massa muscular, pois, tem ação sobre a secreção de IGF-1, isso mostra que existe também uma ação indireta do hormônio sobre o tecido muscular (SHEFFIELD-MOORE, 2000; FERRANDO, 2002).

O uso de esteróides sintéticos como a nandrolona, resulta em significativo aumento nos níveis de IGF-1 no músculo, estimulando síntese protéica demonstrando efeito hipertrófico sobre fibras musculares.

Lewis (2001) avaliou o efeito nandrolona sobre os níveis de IGF-1 em ratos adultos. Os resultados mostram que a administração de nandrolona, por um período de 17 dias, com doses iniciais de 1,2 mg/kg e doses finais de 0,9 mg/kg, estimulou a hipertrofia de fibras musculares com aumento de 20% na área de secção transversa das fibras tipo IIA e aumento de 30% nas fibras do tipo IIB do diafragma, paralelo a estes dados observou aumento em 50% nos níveis do IGF-1 circulante, assim o autor conclui que o IGF-1 é um importante mediador das mudanças ocorridas. Já Kamanga-Solo (2004), tratou células satélites bovinas com esteróide anabólico e também observou aumento da secreção de IGF-1 na cultura celular, ambos mostrando a ação deste hormônio em diferentes estágios da fibra muscular.

Sendo assim, Psilander (2003), estudou os efeitos do IGF-1 sobre o músculo após a realização de exercício de resistência. Foram avaliados seis indivíduos do sexo feminino, os quais realizaram uma única sessão, com quatro séries de exercício com repetições variando entre seis e doze, os exercícios foram feitos em

leg pres e mesa extensora de quadríceps. Os níveis de IGF-1 foram medidos entre 1 e 24 horas após a realização do exercício. Em todas as medições os níveis estavam aumentados, mostrando que este hormônio é importante para a regulação e controle de eventos musculares ligados à recuperação do exercício de resistência.

1.3.3. Efeitos Colaterais dos Esteróides Anabolizantes Sintéticos

O consumo de esteróides anabólicos com a finalidade de proporcionar vantagem física ao atleta em competições esportivas é condenado, pois, pode proporcionar vários efeitos colaterais.

Vários autores (Wu, 1997; Sattler, 1999; Barke, 2000; Parnissen, 2000; Shahidi, 2001), listaram os possíveis efeitos colaterais sobre os diferentes órgãos e sistemas como o músculo-esquelético, hepático, reprodutor e cardiovascular em humanos.

Os riscos de complicações tendem a aumentar, pois geralmente o usuário associa vários agentes anabólicos combinados, proporcionando diferentes respostas pela interação entre os diferentes agentes, além disso, a prevalência dos efeitos colaterais está diretamente relacionada ao tipo de esteróide, a idade e sexo do usuário, ao uso prolongado associado a altas doses (WU, 1997; BARKE, 2000; PARSSINEN, 2000; SILVA, 2002).

Dentre os efeitos colaterais citados sobre o sistema reprodutor, destacam-se nos homens a redução da produção de espermatozóides, atrofia dos testículos, impotência, dificuldade ou dor para urinar, ginecomastia, priapismo, hipertrofia prostática e carcinoma prostático. Em mulheres observa-se a virilização, manifestando-se com diminuição da gordura corporal e tamanho dos seios, voz mais grave, irregularidades menstruais, aumento do clitóris, alteração na libido. Já do ponto de vista endócrino observa-se alteração do metabolismo de carboidratos, com resistência a insulina e intolerância á glicose, alteração do perfil dos hormônios da tireóide com a diminuição na liberação de seus hormônios (T3 ou triiodotironina e T4 ou tiroxina), além da diminuição na liberação de hormônio estimulante da tireóide pela hipófise. (MOURA, 1984; HATFIELD, 1986; LABREE, 1996; LISE, 1999; DAWSON, 2002).

O uso abusivo e continuado de esteróides anabólicos em humanos, também pode causar severos efeitos adversos à saúde mental como: euforia, irritabilidade, hiperatividade, tensão nervosa, mudança na libido, psicose (Martinez-Sanchis, 1998; Lindqvist, 2002). Também está relacionado ao uso indevido de esteróides o aumento da excitabilidade, da euforia sexual, mudanças dramáticas no humor, distração, problemas cognitivos relacionados com a memória e orientação, e agressividade com suas manifestações mais graves podendo gerar de fúria com possibilidade de suicídio e assassinato (VENTULANI, 2001).

De acordo com Evans (2004), são severos os efeitos adversos induzidos pelos esteróides anabólicos sobre o sistema cardiovascular, incluindo a hipertensão, hipertrofia no ventrículo esquerdo, pressão diastólica alterada, arritmias, eritropoiese, perfil das lipoproteínas alterado e trombose. Entretanto, parece que a incidência de eventos cardiovasculares não é bem conhecida, sugerindo que os riscos podem ser ainda maiores. Além destes efeitos, o abuso de esteróides anabólicos gera outros eventos cardiovasculares adversos, como predisposição ao mecanismo de hipercoagulabilidade, o aumento da agregação plaquetária e a diminuição da fibrinólise; alargamento da parede ventricular esquerda, aumento da espessura do septo interventricular, trombose ventricular e embolismo sistêmico; cardiomiopatia dilatada, infarto agudo do miocárdio por oclusão da artéria descendente anterior (SILVA, 2002).

Os efeitos dos esteróides anabólicos na estrutura e função arterial também tem sido evidenciados, como as implicações pró-aterogênicas. Evidências sugerem que os andrógenos provocam adesão de monócitos em células endoteliais, além de alterações na parede de artérias (SADER, 2001).

A retenção hídrica é um mecanismo freqüente na utilização de anabolizantes, pois provocam uma redução da eliminação urinária de sódio, potássio, cloro e água. Os efeitos desta retenção causam hipertensão arterial e a insuficiência cardíaca sendo esta última certamente favorecida por uma fibrose miocárdica induzida (HATFIELD, 1986; TAKAHASHI, 2004).

A estrutura do fígado e sua função também podem ser alteradas pela administração de anabólicos incluindo icterícia colestática, peliose hepática, hiperplasia hepatocelular e adenoma hepatocelular (Labree, 1991; Lise, 1999; Bahrke, 2004), também podem induzir um aumento das enzimas no fígado como a aspartato-aminotransferase, podem ser observadas necrose hepática, o índice

tumoral aparece com o aumento da duração da exposição à droga (PAVLATOS, 2001).

São relatados efeitos sobre o sistema musculosquelético, sendo observado o fechamento prematuro das epífises ósseas, necrose avascular da cabeça do fêmur e aumento de lesões musculotendíneas (LISE, 1999; DAWSON, 2001; EVANS, 2004).

Miles (1992) mostrou a ocorrência de displasia de colágeno de tendões tratados com esteróide anabólico tendo um tendão mais rígido e com menos alongamento. Já Mottran (2000) mostra que o esteróide anabólico pode inibir a síntese de colágeno tanto em ligamentos quanto em tendões, e produzir mudanças no arranjo das fibrilas de colágenos nestes últimos, levando a alterações críticas da plasticidade tendínea, resultando em um desenvolvimento insuficiente destes com relação ao rápido aumento de força do músculo. Ruptura de tendões tem sido evidenciada nas extremidades superiores e inferiores de atletas usuários de esteróide anabólico, sugerindo que o risco de lesão nos tendões está associado ao aumento da massa e força muscular gerando um aumento da sobrecarga sobre os tendões (MILES, 1992).

2 OBJETIVOS

2.1 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.

2.2 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. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados 35 ratos da linhagem Wistar (*Rathus 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).

Os animais foram mantidos durante todo o período experimental no laboratório de pesquisa da UNIMEP, e receberam água e ração da marca Purina, ad libitum, sendo mantidos em gaiolas coletivas (em número de cinco), em ambiente com temperatura constante de 23° C \pm 2° C, ciclo claro/escuro de 12/12 horas com luz acesa a partir das 6 horas da manhã. Antes de iniciar o período experimental, os animais permaneceram por 48 horas em adaptação às condições do biotério de pesquisa.

3.2 Adaptação dos animais ao protocolo de treinamento

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 (Harri, 1986). 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.

Para reduzir o nível de estresse dos animais e condicioná-los ao protocolo de treinamento, durante as duas primeiras semanas que antecederam o treinamento, os animais passaram por um período de adaptação aos exercícios a serem realizados. Nesta etapa, os ratos foram condicionados a fazer pelo menos duas séries de repetições. Desta forma, a adaptação foi realizada com número de séries incrementais entre duas e quatro séries e cinco e dez repetições com intervalos de trinta segundos entre cada série. Os animais carregaram uma carga de 50% do peso corporal amarrada ao peito por meio de um colete. No último dia do período de adaptação os animais foram capazes de realizar quatro séries de dez repetições.

3.3 Protocolo de treinamento

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 conforme descrito por Oliveira (2002). 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.

3.4 Administração do esteróide anabólico associado ao protocolo de treinamento

Associado ao treinamento resistido em meio líquido, os animais receberam diferentes doses (Tabela 1) 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 (Tabela 1). O outro grupo, grupo controle, (Tabela 1) recebeu injeções de propilenoglicol (veículo), polímero utilizado para diluir a Deca Durabolin, constituindo o grupo controle do experimento.

Tabela 1: Descrição dos grupos do experimento e as respectivas doses administradas de Deca Durabolin (DD).

Grupo de Estudo	Doses administradas em cada grupo
G1 - Grupo controle	Dose de 0,2ml/kg de propilenoglicol
G2	Dose de 0,1mg/Kg de Deca Durabolin
G3	Dose de 1,0 mg/Kg de Deca Durabolin
G4	Dose de 2,0 mg/Kg de Deca Durabolin
G5	Dose de 5,0 mg/Kg de Deca Durabolin
G6	Dose de 10,0 mg/Kg de Deca Durabolin
G7	Dose de 20,0 mg/Kg de Deca Durabolin

3.5 Monitoramento do peso corporal dos animais

Durante todo o experimento, os ratos foram pesados diariamente antes do início do treinamento, utilizando a balança digital do modelo E 7.5-2, da marca Fillizola, São Paulo-SP, Brasil.

3.6 Obtenção do músculo EDL e dos cortes histológicos

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.

Para o preparo histoquímico das amostras foram feitos cortes transversais do músculo, estes foram realizados utilizando criostato (Mícron® HM505) à temperatura de -24° C, na espessura de 12µm. Após cada corte estes foram colocados imediatamente em lamínulas de vidro e armazenadas em freezer até a realização da análise histoquímica.

3.7 Determinação histoquímica das isoformas da cadeia pesada de miosina (MHC)

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).

A análise fundamenta-se na reação da mATPase frente a diferentes pHs, 4.3, 4.5 e 10.6, permitindo a distinção e classificação das MHC e suas isoformas por meio da intensidade da cor proporcionada pela reação (STARON, 1999). Assim, a tonalidade das fibras puras segue um padrão específico para cada tipo, ou seja, no pH ácido (4.3 e 4.5), as fibras tipo I apresentam-se escuras, as IIB e IID com coloração intermediária, entre o claro e o escuro, e as IIA brancas; no pH alcalino (10.6) as fibras tipo I são claras, as IIB e IID tons intermediários, com a IIB sendo mais clara e as IIA mais escuras (Tabela 2).

Já as fibras híbridas, nos pHs ácidos (4.3 e 4.5) seguem o seguinte padrão: a IC apresenta uma coloração intermediária mais escura e a IIAC mais clara, a IIC aparece escura nos três pHs, as IIAD e IIDA estão claras no pH 4.30, e um padrão intermediário no pH 4.55, sendo que, a IIDA está um pouco mais escura, as fibras IIDB e IIBD têm padrão semelhante, no pH 4,55 intermediárias, no pH 4.30 brancas e no 10.6 escuras, com as IIDB levemente mais claras (Tabela 2).

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 para isso, foi utilizado microscópio Nikon acoplado a uma câmara fotográfica. As imagens capturadas foram transferidas para o computador e analisadas por meio do sistema de análise de imagens “Imagem Pró Plus 4.0 Média Cybernetics”.

Tabela 2: Esquema representativo da coloração das fibras musculares resultante da incubação nos pHs de 4.3, 4.55 e 10.6.

Tipo de Fibra	4.3	4.55	10.6
I			
IC			
IIC			
IIAC			
IIA			
IIAD			
IIDA			
IID			
IIDB			
IIBD			
IIB			

Adaptado de Staron, 1999.

3.8 Determinação da área de seção transversa da fibra muscular

A mensuração da área de seção 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, utilizando o sistema de análise de imagens "Imagem Pró Plus 4.0 Média Cybernetics".

A área de seção transversa das fibras musculares foi obtida em micrômetros quadrados (μm^2), circundando-se com o mouse todo o contorno da fibra.

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando o teste ONE-WAY ANOVA e a verificação dos grupos que apresentaram diferenças, pelo teste de múltiplas comparações de Turkey-Kramer. Foi considerado o nível de significância estatística de 5% ($p \leq 0,05$).

Os cálculos foram feitos utilizando o software estatístico SPSS-10 for Windows®.

5 RESULTADOS

5.1 Monitoramento do peso dos animais

O peso médio dos animais na fase inicial e ao final do treinamento pode ser observado na Tabela 3. A média de ganho de peso foi de 82 g \pm 7,58 para o grupo G1, 79 g \pm 7,58 para o grupo G2, 104 g \pm 13,00 para o grupo G3, 60 g \pm 7,90 para o grupo G4, 53 g \pm 19,70 para o grupo G5, 47 g \pm 24,01 para o grupo G6 e 42 g \pm 25,45 para o grupo G7 (Tabela 3).

Tabela 3: Determinação do peso médio dos animais, no primeiro, no último dia e a média do ganho de peso. Valores expressos em gramas.

	Média de peso inicial (1 ^o dia)	Média de peso final (35 ^o dia)	Média do ganho de peso
G1	270 g \pm 31,03	352 g \pm 20,28	82 g \pm 7,58
G2	278 g \pm 21,96	357 g \pm 25,14	79 g \pm 7,58
G3	267 g \pm 16,04	371 g \pm 19,81	104 g \pm 13,00
G4	291 g \pm 6,51	351 g \pm 12,94	60 g \pm 7,90
G5	286 g \pm 11,40	339 g \pm 20,43	53 g \pm 19,70
G6	301 g \pm 10,24	348 g \pm 17,88	47 g \pm 24,01
G7	285 g \pm 22,63	327 g \pm 25,64	42 g \pm 25,45

5.2 Determinação do tipo de fibra

Na Tabela 4 podemos observar os resultados encontrados em relação à porcentagem dos tipos de fibras nos diferentes grupos deste estudo.

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.

Tabela 4: Determinação das isoformas de cadeia pesada (MHC) do músculo extensor longo dos dedos (EDL) de ratos Wistar submetidos ao treinamento resistido (salto em meio líquido) associado a administração de diferentes doses de decanoato de nandrolona. Valores expressos em porcentagem

TIPO DE FIBRA	GRUPOS						
	GC	GT 0,1	GT 1,0	GT 2,0	GT 5,0	GT 10,0	GT 20,0
I	4,14±1,22	4,03±0,81	4,02±0,707	3,45±0,76*	3,17±1,26*	3,89±1,41*	3,18±0,81*
IC	0,40±0,707	0,34±1	0,51±0,707*	0,71±0,93*	0,83±1,78*	0,75±1*	0,67±1,15*
IIC	0,25±0,707	0,34±1,58	0,34±0,707	0,7±0,76*	0,25±1,54	0,41±1*	0,5±0,81*
IIAC	1,06±1,58	3,53±1,58*	3,5±1,34*	3,27±1,85*	2,83±0,63*	3,15±1,78*	2,34±0,81*
IIA	15,97±1,67	6,13±1*	5,9±1*	4,34±1,41*	5,33±0,89*	5,22±0,70*	4,6±2,44*
IIAD	4±1,48	9,41±1,58*	9,83±1,41*	10,8±1,45*	11,75±1,26*	10,52±2,23*	11,54±1,6*
IID	27,94±1,22	40,17±1,22*	39,74±1,87*	40,40±1,60*	39,5±2,28*	38,36±2*	38,8±0,81*
IIBD	14,80±1,22	21,01±1,58*	21,11±1,22*	22,83±0,93*	21,92±1,89*	19,47±1,41*	22,99±1,41*
IIB	31,44±1,58	15,04±0,70*	15,05±1,22*	13,50±2,0*	14,42±0,63*	18,23±1*	15,38±2,82*

Os dados representam a média e o DP de 3 experimentos com n= 5.

* $p < 0,05$ comparado com o controle.

5.3 Determinação da área de secção transversa da fibra

Na Tabela 5 observamos os resultados referentes à área de secção transversa das fibras nos diferentes grupos.

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.

Tabela 5: Determinação da área de secção transversa do músculo extensor longo dos dedos (EDL) de ratos Wistar submetidos ao treinamento resistido (salto em meio líquido) associado a administração de diferentes doses de decanoato de nandrolona. Valores expressos em μm^2 .

TIPO DE FIBRA	GRUPOS						
	GC	GT 0,1	GT 1,0	GT 2,0	GT 5,0	GT 10,0	GT 20,0
I	1467±230	1478±310	1476±320	1537±222*	1542±320*	1498±222	1548±346*
IC	1440±234	1309±3248*	1298±324*	1322±234*	1312±160*	1348±273*	1350±412*
IIC	1269±285	1298±248	1282±349	1269±285	1310±204*	1298±385	1305±340*
IIAC	1123±312	1213±213	1215±385	1285±285	1232±248	1265±231	1272±238
IIA	1625±412	1638±212	1611±424	1650±394	1683±412	1690±309	1679±394
IIAD	1770±320	1788±320	1798±380	1785±309	1799±230	1785±485	1793±380
IID	1953±251	1990±278	1989±238	1993±380	1985±241	1995±318	1989±254
IIBD	1342±248	1348±302	1342±203	1403±210	1358±320	1367±273	1389±309
IIB	2208±254	2405±310*	2426±341*	2602±254*	2626±341*	2640±254*	2652±290*

Os dados representam a média e o DP de 3 experimentos com n= 5.

* $p < 0,05$ comparado com o grupo controle

6 DISCUSSÃO

Ao final de 35 sessões de treinamento de resistência (em meio líquido) observamos a diminuição das fibras tipo I e aumento das fibras tipo IIC quando associado a administração do DN nas doses 2, 5, 10 e 20 mg (Tabela 4) e das fibras IIAC, IIAD, IID e IIBD, em todas as doses (Tabela 4) no músculo EDL de ratos. Em relação a área de secção transversa houve um aumento na área das fibras tipo I nas doses 2, 5, 10 e 20 mg (Tabela 4), nas fibras IIC nas doses 5 e 20 mg (Tabela 5) e nas fibras IIB em todas as doses (Tabela 5).

Delp (1996) e Staron (1999) mostraram que o músculo EDL de ratos apresenta 38% de fibras tipo IID, 38% do tipo IIB, 20% do tipo IIA e apenas 4% do tipo I. Em nosso estudo, o grupo controle apresentou as fibras tipo IID com 27,94%, as do tipo IIB com 32,44%, tipo IIA com 15,97% e I com 4,15%. A comparação destes resultados mostra que o treinamento de resistência proposto por nós induziu alterações, pois, as fibras do tipo IID foram as que apresentaram maior aumento no seu percentual em todas as doses, com diminuição no percentual das fibras IIB, IIA e com as fibras tipo I mantendo a mesma proporção nas doses 1 e 0,1 mg, com diminuição nas outras doses, mantendo valores próximos. Já a área de secção transversa do EDL, Delp (1996) mostra que segue a seguinte seqüência de tamanho: IIB> IID> IIA>I. A comparação de resultados mostra que o padrão foi o mesmo por nós encontrado, pois, a área de secção transversa das fibras tipo IIB foi maior que as outras fibras em todas as doses, respeitando a seqüência proposta por Delp (1996).

O padrão de mudança nas fibras lenta (tipo I) para rápidas (tipo II), promovido pelo treinamento segundo Pette (1997), segue a seguinte seqüência I→ IIA→ IID→ IIB. Em nosso trabalho observamos que este padrão se mostrou presente apenas no grupo controle, não ocorrendo este padrão de transição nos outros grupos, pois, observamos o aumento na quantidade de fibras tipo IID e diminuição na quantidade de fibras tipo IIB em todas as doses, quando comparamos com o grupo controle.

De modo geral estes dados estão em concordância com uma série de trabalhos onde descrevem que o treinamento de resistência promove alterações nas fibras musculares (STARON, 1993; PETTE, 1997; BALDWIN, 2001; WILLOUGHBY, 2002).

Willoughby (2002) realizou treinamento de resistência por oito semanas com séries de dez repetições utilizando entre 75 e 80% da carga máxima e observou aumento de 74,24% nas fibras tipo IID do músculo EDL de ratos, estes dados assemelham-se aos encontrados por Kim (2005), onde também avaliou o EDL de ratos após exercício de resistência realizado por oito semanas, com séries de 12 repetições e resistência entre 60 e 80% da carga máxima; seus achados também mostram um predomínio das fibras tipo IID. Estes achados estão de acordo com os nossos resultados, provavelmente devido a semelhança dos protocolos utilizados.

Os diferentes tipos de treinamento de resistência podem induzir uma transição das fibras do tipo II por conversão das isoformas presentes nas fibras, proporcionando um melhor aproveitamento da energia, pois, a quantidade de ATP produzido e utilizado por uma fibra do tipo II é maior em proporção ao tempo de exercício, porém, em termos absolutos a fibra tipo I produz mais ATP, resultando assim numa melhora da performance, de acordo com o tipo de treinamento escolhido. Isto nos leva a acreditar que o treinamento aplicado pode ter induzido mudanças nos níveis de MHC dentro das fibras do músculo através de alterações na manifestação dos genes que expressam essas proteínas (SCHIAFFINO, 1996; STARON, 1999, RHEA, 2003, SHORT, 2005), promovendo transição das fibras musculares em direção àquelas que utilizam a via metabólica mais adequada para obtenção de energia para suprir a necessidade de acordo com o estímulo dado, estas alteração nas fibras se justificam para promover a adaptação aos exercícios executados (KRAEMER, 1996; KIM, 2005).

As diferenças observadas no fenótipo muscular dos grupos analisados, presumidamente poderiam ter sido induzidas pelo exercício, estas diferenças estão em concordância com estudos que analisam o efeito do treinamento de resistência sobre a fibra muscular, isto pode ser observado nos trabalhos feitos por Baker (1996), Jakubiec-Puka (1999), Rhea (2003) e Munn (2005), onde estes autores demonstram que após o treinamento houve aumento do percentual de fibras tipo II, com predomínio das fibras tipo IID e diminuição nas fibras tipo I, IIA e IIAD. Dentro deste contexto, outros autores (KRAEMER, 1996; TRAPPE, 2004; KIM, 2005) também chegam a resultados semelhante em seus estudos onde submeteram os animais ao treinamento de resistência, que ocorre um aumento na porcentagem relativa de fibras rápidas oxidativas e glicolíticas (tipo II), enquanto que, a porcentagem relativa das fibras lentas oxidativas (tipo I) diminui.

Desta forma, observamos os achados de Trappe (2004), quando treinou indivíduos jovens por 84 dias, três vezes por semana, com quatro sessões de sete repetições feitas com a carga máxima, após o treinamento realizou a biópsia do músculo vasto lateral, obtendo aumento na quantidade de fibras tipo IID e aumento na área das fibras tipo IIB, ao mesmo tempo em que observou uma diminuição das fibras tipo I. Além disso, alguns autores também descrevem a ocorrência de um aumento na porcentagem relativa de fibras híbridas, como ocorreu neste estudo, onde houve aumento nas fibras híbridas do tipo IIAC, IIAD e IIBD, o que se correlaciona positivamente com a interconversão miofibrilar, estas alterações encontradas nas fibras híbridas foram também observadas por Sheffield-Moore (2000) e Caiozzo (2002).

Mudanças na área de secção transversa das fibras musculares são percebidas durante um determinado treinamento físico, o que caracteriza um aumento na síntese das proteínas contráteis, entre elas as miosinas (Staron, 1993; Pette 2001; Kim 2005). Nesse trabalho, houve um expressivo aumento da área das fibras tipo IIC e IIB, o que pode ser visto como uma hipertrofia nas fibras representantes do grupo de contração rápida, levantando a hipótese de que houve aumento na síntese desta miosina, indo ao encontro dos estudos anteriores, onde as fibras mais recrutadas em exercícios de curta duração são as de contração rápida, o que poderia induzir uma alta produção das proteínas de algumas dessas fibras, causando hipertrofia das mesmas (BOTTINELLI, 2000; SHAHIDI, 2001).

As alterações proporcionadas pelo uso de hormônio esteróide anabolizante sobre a área de secção transversa das fibras musculares são divergentes no que dizem respeito ao tipo de fibra que sofre a alteração. Alguns autores mostram um maior aumento nas fibras do tipo I (Bisschop, 1997; Ferry, 1999; Farrel, 2003) e outros mostram que o aumento é mais evidente sobre as fibras do tipo II, (Urban, 1999; Farrel, 2003; Short 2005), sendo a que maioria dos autores sugere uma tendência do aumento nas fibras tipo IID e IIB, o que vai ao encontro ao observado neste trabalho, onde obtivemos aumento na área das fibras tipo II, sendo mais evidente no tipo IIC, híbrida, (dose 2 e 20mg) e IIB em todas as doses. Mais uma vez as alterações estariam diretamente ligadas ao tipo de exercício utilizado (KRAEMER, 1996; KIM, 2005).

As mudanças ocorridas pelo uso dos dois estímulos associados, promovidas neste estudo também vão de encontro aos achados na literatura (KRAEMER, 1996;

BOTTINELI, 2000; SHAHIDI, 2001). Os resultados obtidos mostram que houve aumento da área de secção transversa das fibras tipo II em todas as doses.

O uso dos hormônios esteróides anabolizantes leva ao aumento da massa muscular e da resistência, levando atletas a utilizá-los em regimes de treinamento questionáveis. Vários trabalhos indicam que a testosterona e seus derivados como a nandrolona interferem diretamente no músculo esquelético, o músculo levantador do ânus desaparece no desenvolvimento de ratas, porém é mantido pelo uso do hormônio (SILVA, 2000; SCHROEDER, 2003; SEFFIELD-MOORE, 2004).

A transição entre os tipos de fibras sofre interferência hormonal (Bisschop, 1997, Joumaa 2002), alguns músculos apresentam tendência à transição de fibras de contração lentas (tipo I) para fibras de contração rápida (tipo II) em animais tratados com testosterona. Bisschop (1997) utilizou doses de 1,5 mg/Kg e 7,5 mg/Kg em injeções semanais de nandrolona, por cinco semanas, encontrando aumento das fibras do tipo IIB no diafragma de ratos; Joumaa (2002) utilizou 15 mg/Kg de nandrolona em injeções semanais, por 6 semanas, também obtendo aumento das fibras IIB. Nossos resultados são semelhantes aos encontrados por estes autores, pois observamos a diminuição na quantidade de fibras lentas (tipo I) e aumento nas fibras rápidas (tipo II). Esta transição também é observada quando associamos o treinamento de resistência ao esteróide anabolizante, tendo ocorrido aumento das fibras tipo II em algumas de suas isoformas e diminuição das fibras do tipo I de acordo com o observado por Calvo (1999), Ferry, 1999 e Asmussen (2003).

Para Sinhá-Hikim (2001) e Schroeder (2003) a ação hormonal é um dos fatores que interfere na transição das fibras musculares, apresentando a tendência de mudança de fibra lenta (tipo I) para fibra rápida (tipo II) quando tratados com testosterona, estes autores mostram resultados semelhantes aos encontrados em nosso trabalho, onde também encontramos este padrão de mudança. Esta tendência de mudança foi observada por Sinha-Hikim (2001) quando ministrou doses de 25, 50, 125, 300 e 600 mg de nandrolona semanalmente por vinte semanas para homens com idade entre 18 e 35 anos, ao final deste período realizou biópsia do músculo vasto lateral encontrando aumento das fibras tipo IIB e IID, diminuição das fibras tipo I; com relação à área de secção transversa houve aumento na área das fibras tipo IIB.

Ao considerar o efeito do exercício associado ao esteróide anabolizante este estudo seguiu a tendência dos achados na literatura onde observamos o aumento

nas fibras tipo IID, com diminuição das fibras tipo IIB, resposta possivelmente potencializada pelo tratamento hormonal (KONISHI, 2001; LEE, 2003; GIORGIEVA, 2004).

A nandrolona sendo um potente anabolizante, aparentemente esta associada a um aumento na quantidade e no tamanho das fibras musculares, podendo retardar a atrofia e potencializar o aumento da massa muscular (KONISHI, 2001; KUHN, 2002; KINDLUNDH, 2003). A interferência hormonal da nandrolona sobre o músculo onde se observa a diminuição das fibras tipo I nos músculos gastrocnêmio, extensor longo dos dedos e sóleo de ratos, ao mesmo tempo em que causa hipertrofia das fibras destes músculos, interferindo de forma direta no fenótipo muscular (SHEFFIELD-MOORE, 2000; SINHA-HIKIN, 2004). Esta interferência também ficou evidente ao analisarmos os efeitos do hormônio sobre as fibras musculares deste estudo, onde observamos a mesma transição fenotípica encontradas na literatura.

O treinamento em associação ao esteróide anabolizante, causou alterações das fibras musculares do EDL, de acordo com o que foi observado por Taylor (1999), Konishi (2001) e Todd (2003). Houve transição das fibras no sentido de IIB para IID em todas as doses como foi avaliado nos estudos de Ferry (1999), Kadi (1999) Taylor (1999) e Todd (2003), onde todos obtiveram os mesmos resultados com relação a mudança no tipo de fibra. Observou-se uma diminuição das fibras do tipo IIB, e um aumento significativo das híbridas IIAC, IIAD, IIDB e um aumento das fibras IID, principalmente nas doses 2, 10 e 20mg, nota-se também uma diminuição das fibras IIA, podendo levantar a hipótese de que as fibras neste músculo estejam sendo induzidas à transição, pela composição de estímulos a que o músculo foi submetido. As mudanças seguem em direção daquelas fibras que utilizam à via oxidativa como meio para obtenção de energia.

O exercício pode potencializar a capacidade de ligação dos hormônios aos seus receptores citoplasmáticos. Deschenes (1994) analisou os efeitos do treinamento sobre a afinidade e capacidade de ligação do hormônio ao seu receptor no músculo esquelético analisando a curva de saturação. Observou que o treinamento de resistência aumentou a capacidade de ligação da nandrolona ao receptor muscular e foi aumentada em 33% no EDL. Isso ajuda a explicar as alterações no fenótipo muscular já que o treinamento promove mudanças nos receptores androgênicos do músculo esquelético, justificando as alterações no fenótipo encontradas neste trabalho (KADI, 2000; BAMMAN, 2001, TAMAKI, 2001).

Não há consenso sobre as doses, existindo várias respostas, muitas relacionadas às diferenças no tipo de exercício e treinamento, forma de aplicação e tipo de músculo analisado. Vários autores estudaram o efeito de anabolizantes sobre músculos e verificaram que pequenas doses (1 e 4 mg/Kg) de nandrolona aumentaram a síntese protéica, enquanto dose maior (10mg/Kg) não alterou a síntese de proteínas em ratos (BISSCHOP, 1997; FERRY, 1999; SATTLER, 1999; KONISHI, 2001; JOUMAA, 2001). Esta falta de padrão nas doses e conseqüente variação nos resultados, também foi observado por nós neste estudo, porém vale lembrar que os efeitos começaram a ser intensificados a partir da dose de 2 mg/Kg.

Os diferentes efeitos das doses usadas neste trabalho também mostraram ser diversificados, como sugerido nos trabalhos feitos por Bisschop (1997), Ferry (1999) Lewis (2001) e Todd (2003). Encontramos maior efeito das doses 2, 10 e 20 mg com respeito ao aumento de fibras (Ferry, 1999; Konishi, 2001) e as doses de, 5 e 20 mg sendo mais efetivas para o aumento da área das fibras, por um possível aumento na síntese protéica, tudo em acordo com o encontrado por Bisschop (1997), Lewis (1999); Taylor (1999), Tamaki (2001).

Vários trabalhos (Shahidin, 2001; Kunh, 2002; Marques 2003), tem demonstrado os efeitos positivos dos esteróides anabolizantes frente ao tamanho e força do músculo esquelético, principalmente quando associado a programas de treinamento adequado e uma dieta bem elaborada. Estes efeitos estariam associados diretamente à retenção de nitrogênio, com isso interfere diretamente na síntese protéica, este efeito parece estar mais acentuado em fibras rápidas.

Receptores de hormônio associados a sinalizadores celulares são importantes mecanismos que regulam a expressão gênica influenciando no metabolismo celular. Os andrógenos induzem alterações no ciclo celular a partir do momento em que se liga a seus receptores citoplasmáticos e potencializam a ação destes sinalizadores. A expressão dos receptores de andrógenos é sensível aos níveis de hormônio circulante (CARSON, 2002). Sendo o cálcio, um destes sinalizadores, ele pode influenciar na ação de fatores de transcrição, variações na concentração intracelular deste íon durante a atividade contrátil levando à ativação de um segundo mensageiro, o inositol trifosfato (IP3), este irá agir no receptor de IP3, promovendo as respostas celulares, entre elas a ativação de fatores de transcrição que irão desencadear a ativação de genes gerando adaptações na fibra muscular (JORDAN, 2005; KAUMOUN, 2006).

Jordan (2005) inibiu os receptores de IP3 em mioblastos isolados e observou aumento na expressão do MEF2 (Myocyte enhance factor) com aumento da expressão dos genes MyHCII, sendo também responsável pela interconversão de fibras rápidas em fibras lentas. Desta forma o influxo de cálcio sendo variado nos diferentes tipos de fibra e também diferente no que se refere aos tipos de exercício, poderia interferir no fenótipo da fibra muscular, pois seria importante fator para ativar os diferentes fatores de transcrição (JORDAN, 2005).

Vários trabalhos mostram a relação entre fatores de transcrição da família MRF e tipo de fibra, (Calvo, 1999; Willoughby, 2002) ficando evidente a relação entre MyoD e fibras do tipo II (rápida) e Myogenin e fibras tipo I (lenta), tendo inclusive interferência sobre a hipertrofia muscular, pois Kosek (2006) diz que o aumento da transcrição e dos níveis de proteínas é regulado pelo aumento de fatores de transcrição, dentre eles myogenin, MyoD, Myf5, tendo também aumento de RNAm.

Os ciclos celulares são alvos de andrógenos que potencializam a hipertrofia, interferindo na expressão de receptores das fibras rápidas e lentas. Os receptores interagem com fatores de transcrição, interagindo com o DNA e ativando a síntese protéica e células satélites. A nandrolona junto do treinamento potencializa a ação do MyoD, Myogenin aumentando a quantidade de RNAm, isso acarreta aumento da matriz extracelular, crescimento do músculo pelo aumento de fibras (McCLUNG, 2005; KOSEK, 2006), além da regulação da síntese protéica. Esses autores sugerem que ocorre uma proliferação de células satélites nos músculos envolvidos.

O estresse mecânico causado pela contração muscular durante o exercício estaria relacionado à produção de micro traumas na fibra muscular. Um importante mecanismo por onde o exercício causa adaptações hipertróficas, é através da ativação e fusão de células satélites as fibras já existentes. O exercício produz micro traumas nas fibras estimuladas, desencadeando como resposta a ativação de macrófagos, que entre várias ações locais, liberam citocinas e fatores de crescimento, entre eles o TGF- α , TGF- β que regulam a ativação e fusão das células satélites, favorecendo a hipertrofia muscular (HAWKE, 2001; McCLUNG, 2005; MUNN, 2005).

Além disso, vários autores citam que o músculo tem condições de modificar sua composição molecular como resposta ao estímulo gerado pelo exercício (Lowe, 1998; Pette, 1998; Pilegaard, 2001; Munn, 2005), podendo aumentar a quantidade

de RNAm, aumentando a velocidade de tradução, levando ao aumento da síntese protéica, aumentando a quantidade de material celular e diminuindo o catabolismo protéico, e conseqüentemente observa-se o aumento da área de secção transversa da fibra muscular. Essa adaptação é uma característica induzida, principalmente pelo exercício resistido, onde, geralmente observamos um espessamento da fibra muscular na medida em que aumenta a síntese protéica (SCHIAFFINO, 1996; PETTE, 2001; PILEGAARD, 2001; MUNN, 2005).

7 CONCLUSÃO

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) a estimulação leva ao predomínio das fibras híbridas independente da dose administrada.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

AIRES, M. M. **Fisiologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1999.

ASMUSSEN, G.; SCHUMALBRUCH, I.; SOUKUP, T.; PETTE, D. Contractile properties, fiber types, and myosin isoforms in fast and slow muscles of hyperactive Japanese waltzing mice. **Experimental Neurology**, v. 184, p. 758 -766, 2003.

BALKOM, R. H. H. et al. Effects of anabolic steroids on diaphragm impairment induced by methylprednisolone in emphysematous hamsters. **Eur Respir J**, v. 13, p. 1062 -1069, 1999.

BAMMAN, M. M. et al. Mechanical load increases muscle IGF-1 and androgen receptor mRNA concentrations in humans. **Am J Endocrinol Metab**, v. 280, p. E383 - E-393, 2001.

BAHRKE, M. S. et al. Risk factors associated with anabolic-androgenic steroid use among adolescents. **Sports Med**, v. 29, n. 6, p. 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**, v. 90, p. 345 - 357, 2001.

BARREY E. et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for myosin chains in the horse. **Reproduction and Nutrition Developmen**, v. 35, p. 619 - 628, 1995.

BAKER, D. Improving vertical jump performance through general, special and specific strength training: a brief review. **J Strength and Cond Res**, v. 10, n. 2, p. 131 -136, 1996.

1 – Referências bibliográficas de acordo com a norma NBR 6023, ABNT, 2002.

BAHRKE, M. S.; YESALIS, C. Abuse of androgenic steroids and related substances in sport and exercise. **Curr. Opin. Pharmacol**, v. 4, p. 614 - 620, 2004.

BELL, G. J. et al. Effect of concurrent strength and endurance training on skeletal muscle properties and hormone concentrations in humans. **Eur J Appl Physiol**, v. 81, n. 54, p. 18 - 27, 2000.

BENJAMIN, D. P. Combined Cardiac Effects of Cocaine and the Anabolic Steroid, Nandrolone, in the Rat. **Europ. Journal of Pharmacology**, v. 398, p. 263 - 272, 2000.

BERNE, R. M., LEVY, M. N. **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1998.

BISSCHOP, A. et al. Effects of nandrolone decanoato on respiratory and peripheral muscle in male and female rats. **J Appl Physiol**, v. 82, n. 4, p. 112 -118, 1997.

BOTTINELLI, R.; REGGIANNI, C. Human skeletal muscle fibers: molecular and functional diversity. **Prog Biophys Mol Bio**, v. 73, p. 195 - 262, 2000.

BROOKE, M. H.; KAISER, K. K. Three "myosin ATPase" systems: the nature of their ph lability and sulfhydryl dependence. **J Histochem Cytochem**, v.18, p. 670 - 672, 1970.

BURGER, M. E.; BURGER, T. A. Neuromuscular and hormonal adaptations to resistance training: implications for strength development in female athletes. **J Strength and Cond Res**, v. 24, n. 3, p. 51 - 59, 2002.

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**, v. 85, n. 6, p. 2237 - 2248, 1998.

CAIOZZO, V. J. et al. Single-fiber myosin heavy chain polymorphism: how many patterns and what proportions? **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 285, p. 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**, v. p. 515 - 525, 1999.

CAMPOS, G. E. R. et al. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. **Eur j Appl Physiol**, v. 88, p. 50 - 60, 2002.

CARSON J. A. et al. Steroid receptor concentration in aged rat hindlimb muscle: effect of anabolic steroid administration. **J Appl Physiol**, v. 93, p. 242 - 250, 2002.

CELOTTI, F.; CESI, P. N. Anabolic Steroids: A review of their effects on the muscle of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. **J. Steroid Biochem Molec. Biol**, v. 43, n. 5, p. 469 - 477, 1992.

CHARGE, S. P.; RUDNICKI, M. A. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. **Physiol Rev**, v. 84, p. 209 - 238, 2004.

CHEN, Y.; ZAJAC, J. D.; MACLEAN, H. E. Androgen regulation of satellite cell function. **Journal of Endocrinology**, v. 186, p. 21 - 30, 2005.

CUNHA, T. S. et al. Influence of high-intensity exercise training and anabolic androgenic steroid treatment on rat tissue glycogen content. **Life Sciences**, v. 77, p. 1030 -1043, 2005.

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

DAWSON, R. T. Hormones and sport: drugs in sport – the role of the physician. **J. Endocrinol**, v. 170, p. 55 - 61, 2001.

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**, v. 80, p. 261-270, 1996.

DOUGLAS, C. R. **Tratado de Fisiologia Aplicado à Saúde**. 2. ed. São Paulo: Ed. Robe, 2002.

DOW, D. E.; DENNIS, R. G.; FAULKNER, J. A. Electrical stimulation attenuates denervation and age-related atrophy in extensor digitorum longus muscles of old rats. **The Journal of Gerontology**, v. 4, p. 416 - 424, 2005.

DESCHENES, M. R. et al. Endurance and resistance exercise induce muscle fiber type specific response in androgen binding capacity. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 50, p. 175 -179, 1994.

EVANS, N. A., Current concepts in anabolic-androgenic steroids. **Am J Sport Med**, v. 32, p. 534 - 538, 2004.

FARREL, S. et. al. Effects of Pubertal Anabolic-Androgenic Steroid Administration on Reproductive and Aggressive Behaviors in Male Rats. **Behavioral Neuroscience**, v. 117, n. 5, p. 904 - 911, 2003.

FERRÁNDEZ, M.D. et. al. Anabolic Steroids and Lymphocyte Function in Sedentary and Exercise-Trained Rats. **Journal Steroid Biochem Molec Biol**, v. 59, n. 2, p. 225 - 232, 1996.

FERRANDO, A. A. et al. Testosterone administration to older men improves muscle function: molecular and physiological mechanisms. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 282, p. E601 - E607, 2002.

FERRY, A. et al. Effects of anabolic/androgenic steroids on regenerating skeletal muscle in the rat. **Acta Physio Scand**, v. 166, n. 2, p. 105 -110, 1999.

FLUCK, M.; HOPPELER, H. Molecular basis of skeletal muscle plasticity-from gene to form and function. **Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol**, v. 146, p. 159 - 216, 2003.

FOURNIER, M.; LEWIS, M.I. Influence of IGF-1 gene disruption on the cellular profile of the diaphragm. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 278, p. E707 - E715, 2000.

FRANKE, W. W.; BERENDONK, B. Hormonal doping and androgenization of athletes: a secret program of the German Democratic Republic government. **Clin Chem**, v. 43, n. 7, p. 1262 - 1279, 1997.

GIORGIEVA, K. N., et al. Effects of Nandrolone Decanoate on VO_2^{\max} Running Economy, and Endurance in Rats. **Medicine Science Sports Exercise**, v. 36, n. 8, p. 1336 -1341, 2004.

GREGORY, C. M. et al. Metabolic and phenotypic characteristics of human skeletal muscle fibers as predictors of glycogen utilization during electrical stimulation. **Eur J Appl Physiol**, v. 95, p. 276 - 282, 2005.

GUTH, L.; SAMAHA, F. J. Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. **Experimental Neurology**, v. 25, p. 138 - 152, 1969.

HACKNEY, A C; SZCZEPANOSKA, E; VIRU, A M. Basal testicular testosterone production in endurance-trained men is suppressed. **Eur J Appl Physiol**, v. 89, n. 2, p. 198 - 201, 2003.

HARRI, M.; KUUSELA, P. Is swimming exercise or cold exposure for rats? **Acta Physiol Scand**, v. 126, n. 2, p. 189 - 197, 1986.

HATFIELD, F. C. Esteróides anabólicos. **Sprint**, v. 4, n. 6, p. 246 - 256, 1986.

HAWKE, R. C.; GARRY, D. J. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. **J Appl Physiol**, v. 9, n. 2, p. 534 - 51, 2001.

HEDGE, G.A.; COLBY, H.D.; GOODMAN, R. L. **Fisiologia Endócrina Clínica**. São Paulo: Interlivros Edições Ltda, 1988.

HENNESSEY, J. V. et al. Growth hormone administration and exercise effects on muscle fiber type and diameter in moderately frail older people. **J Am Geriatr Soc**, v. 49, p. 852 - 858, 2001.

HUBLEY, C.; WELLS, R. A Work-energy approach to determine individual joint contributions to vertical jump performance. **Eur J Appl Physiol**, v. 50, p. 247 - 254, 1983.

HUGHES, S. M. et al. Selective accumulation of MyoD and myogenin in fast and slow adult skeletal muscle is controlled by innervation and hormones. **Development**, v. 118, p. 1137 - 1147, 1993.

ISAYAMA, R. N., Efeitos da testosterona em músculo esquelético de ratos jovens e senis. Dissertação de mestrado, Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, 2003.

ITO, A. C., Expressão da óxido nítrico sintase em músculo esquelético de ratos cronicamente tratados com L-NAME: um estudo histoenzimológico, bioquímico e imunohistoquímico. Dissertação de mestrado. Instituto de Biologia, Unicamp, Campinas, 2005.

JAKUBIEC-PUKA, A. et al. Contents of myosin heavy chains in denervated slow and fast rat leg muscles. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Great Britain, v. 122-B, p. 355 - 362, 1999.

JORDAN, T. et al. Regulation of skeletal muscle fiber type and slow myosin heavy chain 2 gene expression by inositol triphosphate receptor. **J Cell Sci**, v. 118, p. 2295 - 2302, 2005.

JOUMAA, W. H.; LEOTY, C. Differential effects of nandrolone decanoate in fast and slow skeletal muscle. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 3, p. 397 - 403, 2001.

JOUMAA W. H. et al. Nandrolone decanoate treatment induces changes in contractile responses of rat untrained fast-twitch skeletal muscle. **Acta Physiol Scand**, v. 175, p. 189 -199, 2002.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Ed Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004.

KADI, F. et al. Effects of anabolic steroids on the muscle cells of strength-trained athletes. **Med Sci Sports Exerc**, v. 31, n. 11, p. 1528 -1534, 1999.

KADI, F. et al. The expression of androgen receptors in human neck and limb muscles: effects of training and self-administration of androgenic-anabolic steroids. **Histochem Cell Biol**, v. 113, n. 1, p 25 - 29, 2000.

KALSBECK, A. et al. The diurnal modulation of hormonal response in the rat varies with different stimuli. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 15, p. 1144 - 1155, 2003.

KAMANGA-SOLLO, E. et al. IGF-I mRNA Levels in Bovine Satellite Cell Cultures: Effects of Fusion and Anabolic Steroid Treatment. **J Cell Physiol**, v. 201, p. 181 - 189, 2004.

KAMOUN, P.; LAVOINNE, A.; VERNEUIL, H. **Bioquímica e biologia molecular**. Rio de Janeiro: Ed Guanabara Koogan, 2006.

KIM, P. L.; STARON, R. S.; PHILLIPS, S. M. Fasted-state skeletal muscle protein synthesis after resistance exercise is altered with training. **J Physiol**, v. 568, n. 1. p. 283 - 290, 2005.

KINDLUNDH, A. M. et al, The Anabolic-Androgenic Steroid Nandrolone Induces Alterations in The Density of Serotonergic 5HT1A and 5HT2 Receptors in The Male Rat Brain. **Neuroscience**, v. 119, p. 113 - 120, 2003.

KOSEK, D. J. et al. Efficacy of 3 D/WK resistance training on myofiber hypertrophy and myogenic mechanisms in young versus older adults. **J Appl Physiol**, v. 100, p. 1109 - 1116, 2006.

KONISHI, M.; TOKUHARA, N.; IWAMOTO, S. The effect of anabolic steroid on the distribution of muscle fiber in rat hindlimb. **Ital J Anat Embryol**, v. 106, n. 2, p. 175 - 83, 2001.

KRAEMER, W. J.; FLECK, S. J.; EVANS, W. J. Strength and power training: physiological mechanisms of adaptations. **Exerc Sports Sci Rev**, v. 24, p. 363 - 398, 1996.

KUHN, C. M. Anabolic steroids. **Recent Prog Horm Res**, v. 57, p. 411 - 34, 2002.

LABREE, M. A. A review of anabolic steroids: uses and effects. **J Sport Med Phys Fit**, v. 31, n. 4, p. 618 - 626, 1991.

LANGE, K. H. W. et al. GH administration changes myosin heavy chain isoforms in skeletal muscle but does not augment muscle strength or hypertrophy, either alone or combined with resistance exercise training in healthy elderly men. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 87, p. 513 - 523, 2002

LEE, W. J. et al. Regulation of androgen receptor expression at the onset of functional overload in rat plantaris muscle. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 285, p. R1076 - R1085, 2003.

LEWIS, M.I. et al. Alterations in diaphragm contractility after nandrolone administration: An analysis of potential mechanisms. **J Appl Physiol**, v. 86, n. 3, p. 985 - 992, 1999.

LEWIS, M. I. et al. Role of IGF-1 and IGF- binding proteins within diaphragm muscle in modulating the effects of nandrolone. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 283. p. E283 - E483, 2001.

LINDBLOM, J. et al., Anabolic Androgenic Steroid Nandrolone Decanoate Reduces Hypothalamic Proopiomelanocortin RNAm Levels. **Brain Research**, v. 986, p. 139 - 147, 2003.

LISE, M. L. Z. et al. O abuso de esteróides anabólicos androgênicos em atletismo. **Rev Ass Med Brasil**, v. 45, n. 4, p 364 - 370, 1999.

LINDQVIST, A. S. et al. Anabolic androgenic steroids affects competitive behaviour, behavioural response to ethanol and brain serotonin levels. **Behav Brain Res**, v. 133, p. 21 - 29, 2002.

LIU, Y. et al. Different effects on human skeletal myosin heavy chain isoform expression: strength vs. combinations training. **J Appl Physiol**, v. 94, p. 2282 – 2288, 2003.

LOWE, D. A.; LUND, T.; ALWAYS, S. E. Hipertrophy-stimulated myogenic regulatory factor Mrna increases are attenuated in fast muscle of aged quails. **Am. J. Physiol Cell Physiol**, v. 275, p. C155 - C162, 1998.

MARTINEZ-SANCHIS, S. et al. Effects of chronic treatment with testosterone propionate on aggression and hormonal levels in intact male mice. **Psychoneuroendocrino**, v. 23, p. 275 - 293, 1998.

MARQUES, M. A. S.; PEREIRA, H. M. G.; AQUINI NETO, F. R. Controle de dopagem de anabolizantes: O perfil esteroidal e suas regulações. **Rev Bras Med Esporte**, v. 9, n. 1, p. 15 - 24, 2003.

McCLUNG J. M. et al. Nandrolone decanoate modulates cell cycle regulation in functionally overloaded rat soleus muscle. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 288, p. 1543 -1552, 2005.

MILES, J. W. The effect of anabolic steroids on the biomechanical and histological properties of rat tendon. **J Bone Joint Surg**, v. 74, p. 411 - 422, 1992.

MOURA, N. A. Esteróides anabólicos androgênicos e esportes: uma breve revisão. **Rev. Bras. Ciências do Esporte**, v. 6, n. 1, p. 101 - 109, 1984.

MUNN, J. et al. Resistance training for strength: effect of number of sets and contraction speed. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 9, p. 1622 - 1626, 2005.

NYHOLM B. et al. Evidence of an increased number of type IIb muscle fibers in insulin-resistant first-degree relatives of patients with NIDDM. **Diabetes**, v. 46, n. 11, p. 1822 - 1828.

OBERBACH A. et al. Altered fiber distribution and fiber-specific glycolytic and oxidative enzyme activity in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 29, p. 895 - 900, 2006.

OLIVEIRA, C. A. M.; ROGATTO, G. P.; LUCIANO, E. Effects of high intensity physical training on the leukocytes of diabetics rats. **Brazilian J Sports Med**, v. 8, n. 6, p. 219 - 224, 2002.

OLSON, E.N.; KLEIN, W.H. bHLH factors in muscle development: dead lines and commitments, what to leave in and what to leave out. **Genes Dev**, v. 8, p. 1 - 8, 1994.

PARSSINEN, M. et al. Increase premature mortality of competitive power lifters suspected to have used anabolic agents. **Int J Sports Med**, v. 21, n. 3, p. 225 - 227, 2000.

PAVLATOS, A. M. et al. Review of oxymetholone: a 17 α -alkylates anabolic-androgenic steroids. **Clin Ther**, v. 23, n. 6, p. 789 - 801, 2001.

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

PETTE, D. Training effects on the contractile apparatus. **Acta Physiol Scand**, v. 162, n. 3, p. 367 - 376, 1998.

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

PETTE, D. Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle. Historical perspectives: plasticity of mammalian skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v. 90, p. 1119 - 1124, 2001.

PETTE, D.; STARON, R. S. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 115, p. 359 - 372, 2001.

PILEGAARD, H. et al. Transcriptional regulation of gene expression in human skeletal muscle during recovery from exercise. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab**, v. 279, p. E806 - E814, 2000.

PISLANDER, N.; DAMSGAARD, R.; PIELEGAARD, H. Resistance exercise alters MRF and IGF-I mRNA content in human skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v. 95, p. 1038 - 1044, 2003.

RAVE, U. et al. Myogenic gene expression at rest and after bout of resistance exercise in young (18-30yr) and old (80-89yr) women. **J Appl Physiol**, v. 101, p. 53 - 59, 2006.

RHEA, M. R. et al. A meta-analysis to determine the dose response for strength development. **Med Sci Sport Exerc**, v. 35, p. 456 - 488, 2003.

SADER, M. A. et al. Androgenic anabolic steroids and arterial structure function in male bodybuilders. **J Am Coll Cardiol**, v. 37, n. 1, p. 224 - 230, 2001.

SATTLER, F. et al. Effects of Pharmacological Doses of Nandrolone Decanoate and Progressive Resistance Training in Immunodeficient Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus. **Journal Clinical Endocrinology Metabolism**, v. 84, n. 4, p. 1268 - 1276, 1999.

SCHIAFFINO, S.; REGGIANI, C. Molecular Diversity of Myofibrillar Proteins: Gene Regulation and Functional Significance. **Physiological Reviews**, v. 76, n. 2, p. 371 - 423, 1996.

SEALE, P. ; RUNICKI, M. A. A new look at the origin, function and “stem cells” status of muscle satellite cells. **Develop Biol**, v. 218, p. 115 - 124, 2000.

SHAHIDI, N. T. A review of chemistry, biological action and clinical applications of anabolic androgenic steroid. **Clin. Ther**, v. 23, p. 1355 - 90, 2001.

SHEFFIELD-MOORE, M. Androgens and the control of skeletal muscle protein synthesis. **Annals of medicine**. v. 32, n. 3, 181 - 186, 2000.

SHEFFIELD-MOORE, M.; URBAN, R. J. An overview of the endocrinology of skeletal muscle. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 15, n. 3, p. 110 -115, 2004.

SHORT, K. R. et al. Changes in myosin heavy chain mRNA and protein expression in human skeletal muscle with age and endurance exercise. **J Appl Physiol**, v. 99, p. 95 - 102, 2005.

SILVA, P. R. P.; DANIELSKI, R.; CZEPIELEWSKI, M. A. Esteróides Anabolizantes no Esporte. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 8, n. 6, p. 235 - 243, 2002.

SINHA-HIKIM, I. et al. Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is associated with muscle fiber hypertrophy. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 283, p. E154 - E164, 2002.

SINHA-HIKIN, I. et al. Androgen receptor in human skeletal muscle and cultured muscle satellite cells: Up-regulation by androgen treatment. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 10, p. 5245 - 5255, 2004.

SCHROEDER, E. T.; TERK, M.; SATTLER, F. R. Androgen therapy improves muscle mass and strength but not quality: results from two studies. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 285, p. E16 - E24, 2003.

STARON, R. S.; PETTE, D. The continuum of pure and hybrid myosin heavy chain the based fiber types in rat skeletal muscle. **Histochemistry**, v. 100, p. 149 - 153, 1993.

STARON, R. Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in single human muscle fibers. **Histochemistry**, v. 96, p. 21 - 24, 1999a.

STARON, R. et al. Fiber type composition of four hindlimb muscle os adult fisher 344 rats. **Histochem cell biol**, v. 111, p. 117 - 123, 1999.

STRAUSS, R. H.; YESALIS, C. E. Anabolic steroids in the athlete. **Annu Rev Med**, v. 42, p. 449 - 457, 1991.

STRAWFORD, A. et al. Effects of Nandrolone Decanoate Therapy in Borderline Hypogonadal Men With HIV-Associated Weight Loss. **J. Arquiv Immune Defic Syndr Hum Retrovirol**, v. 20. n. 2, p. 137 - 46, 1999.

TAKAHASHI, M.; TATSUGI, Y.; KOHNO, T. Endocrinological and pathological effects of anabolic-androgenic steroid in male rats. **J Endocr**, v. 51, n. 4, p. 425 - 434, 2004.

TALMADGE, R.J. Myosin heavy chain isoform expression following reduced neuromuscular activity: potential regulatory mechanisms. **Muscle Nerve**, v. 23, p. 661 - 679, 2000.

TAMAKI, T. et al. Anabolic steroids increase exercise tolerance. **Am J Physiol Endocrinol Met**, v. 280, p. E973 - E981, 2001.

TAYLOR, D. C.; BROOKS, D. E.; RYAN, J. B. Anabolic androgenic steroid administration cause hypertrophy of immobilized and nonimmobilized skeletal muscle in a sedentary rabbit model. **Am J Sports Med**, v. 27, n. 6, p. 718 - 726, 1999.

TRAPPE, S. et al. Human single muscle fiber function with 84 day bed-rest and resistance exercise. **J Physiol**, v. 557, p. 501 - 513, 2004.

TREMBLAY, M. S.; COPELAND J. L.; VAN HELDER, W. Influence of exercise duration on post-exercise steroid hormone responses in trained males. **Eur J Appl Physiol**, v. 94, n. 9, p. 506 - 513, 2005.

VANDERBORNE, K. et al. Energy-rich phosphates in slow and fast human skeletal muscle. **Am J Physiol**, v. 268, n. 37, p. C869 - C876, 1995.

VENTULANI, J. Drug addiction. Part 1. Psychoactive substances in the past and presence. **Pol J Pharmacol**, v. 53, p. 201 - 214, 2001.

VENOJARVI M. et al. Role of skeletal muscle-fiber type in regulation of glucose metabolism in middle-aged subjects with impaired glucose tolerance during a long-term exercise and dietary intervention. **Diabetes Obes Metab**, v. 7, n. 6, p. 745 - 754, 2005.

VOLLESTAD, N. K.; VAAGE, O.; HERMANSEN, L. Muscle glycogen depletion patterns in type I and subgroups of type II fibers during prolonged severe exercise in man. **Acta Physiol Scand**, v. 122, n. 4, p. 433 - 441, 1984.

VOYTIK, S. L. et al. Differential expression of muscle regulatory factor genes in normal and denervated adult rat hindlimb muscle. **Dev. Dynam**, v. 98, p. 214 - 224, 1993.

WEBER, M. M. Effects of growth hormone on skeletal muscle. **Hormone Research**, v. 58, n. 3, p. 43 - 48, 2002.

WILLOUGHBY, D. S.; NELSON, M. J. Myosin heavy-chain RNAm expression after a single session of heavy-resistance exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 8, p. 1262 - 1269, 2002.

WINDISCH, A. Fast to slow transformation of denervated and electrically stimulated rat muscle. **Journal of Physiology**, v. 510, n. 2, p. 623 - 632, 1998.

WU, F. C. W. Endocrine aspects of anabolic steroids. **Clinical Chemistry**, v. 43, n. 7, p. 1289 -1292, 1997.