

EFEITO DO CONDICIONAMENTO ATLÉTICO SOBRE O MÚSCULO GLÚTEO MÉDIO DE EQÜINOS PURO SANGUE ARABES

(EFFECT OF THE ATHLETIC CONDITIONING ON THE MIDDLE GLUTEAL MUSCLE OF ARABIAN HORSES)

(EFECTO DEL CONDICIONAMIENTO ATLÉTICO SOBRE EL MÚSCULO GLUTEO MEDIO DE EQUINOS ARABES PURA SANGRE)

C. B. MARTINS¹, C. A. G. OROZCO¹, L. M. W. GOMIDE¹, M. A. G. SILVA¹,
F. G. CHRISTOVAO², A. QUEIROZ NETO², J. C. LACERDA NETO^{1*}

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar e comparar as adaptações da musculatura esquelética de eqüinos Puro Sangue Árabe submetidos a dois tipos diferentes de treinamentos em trilha. Foram colhidas amostras do músculo glúteo médio antes e após o período de treinamento de seis semanas, as quais foram submetidas às análises histoquímicas utilizando a adenosina trifosfatase miosínica (mATPase) e a nicotinamida adenina dinucleotídeo tetrazólio redutase (NADH-TR). Determinou-se o peso e escore corporal dos animais, a área e a frequência dos diferentes tipos de fibras musculares. Os resultados demonstraram que o peso corpóreo e escore corporal não diferiram significativamente entre os grupos mesmo após o treinamento. O grupo não exerceu efeito significativo sobre a composição e tamanho fibrilar. O treinamento ocasionou diminuição na porcentagem e área das fibras tipo I e aumento no percentual e da área relativa das fibras tipo IIX.

PALAVRAS CHAVE: Biopsia muscular. Glúteo médio. Eqüinos. NADH.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate and compare the skeletal musculature adaptations of Arabian Horses submitted to two different types of trainings. Muscular samples of middle gluteal muscle were obtained before and after the six week-period of training. These samples were submitted to histochemical analysis using myosin adenosine triphosphatase (mATPase) and nicotinamide adenine dinucleotide tetrazolium reductase (NADH-TR). Body weight and corporal score of the animals, as well as the area and frequency of the different types of muscular fibres were determined. The results demonstrated that the weight and corporal score did not differ significantly among groups even after training. The group did not exert significant effect on the composition and size of fibres. The training caused decrease in the percentage and area of type I fibres and increase in the percentage and relative area of type IIX fibres.

KEY WORDS: muscular biopsy, middle gluteal muscle, equine, NADH.

1 Departamento de Clínica e Cirurgia Animal, FCAV-Unesp, *Campus* de Jaboticabal - SP - Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, km 5, 14884-900 - Jaboticabal - SP. E-mail: jlacerda@fcav.unesp.br

2 Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, FCAV-Unesp, *Campus* de Jaboticabal.

RESUMEN

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar y comparar las adaptaciones de la musculatura esquelética de caballos árabes puro sangre sometidos a dos tipos diferentes de entrenamiento en pista. Fueron colectadas muestras del músculo glúteo medio antes y después de un periodo de entrenamiento de seis semanas, las cuáles fueron sometidas a análisis histoquímico utilizando la adenosina trifosfatasa miosínica (mATPasa) y la nicotinamida adenina dinucleótido tetrazolio reductasa (NADH-TR). Se determinaron el peso y la condición corporal de los animales, el área y la frecuencia de los diferentes tipos de fibras musculares. Los resultados demostraron que el peso corporal y la condición corporal no difirieron significativamente entre grupos, ni siquiera después del entrenamiento. El grupo no ejerció efecto significativo sobre la composición ni sobre el tamaño fibrilar. El entrenamiento ocasionó disminución en el porcentaje y área de las fibras tipo I y aumento en el porcentaje y área relativa de las fibras tipo IIX.

PALABRAS-CLAVE: Biopsia muscular. Glúteo medio. Equinos. NADH.

INTRODUÇÃO

O músculo esquelético comporta-se como um tecido heterogêneo por expressar uma população miofibrilar diversa. Essa característica proporciona ao tecido muscular a capacidade de gerar forças sobre amplo tipo de atividades de contração, o qual se traduz em uma maior eficiência mecânica e termodinâmica do organismo (GOLDSPINK, 1998).

Atualmente, o sistema de classificação das fibras musculares mais comumente empregado é o histoquímico, que permite identificar de forma simples e rápida os diferentes tipos de fibras. A análise histoquímica mais utilizada baseia-se na determinação do grau de sensibilidade da atividade da enzima adenosina trifosfatase miofibrilar (mATPase) presente na fibra muscular em meio ácido ou alcalino, proposto por Padykula e Herman (1955) citado por Bottinelli e Reggiani (2000). Outra técnica histoquímica amplamente utilizada para a identificação fibrilar fundamenta-se na determinação das enzimas metabólicas e, dessa forma, proporciona informação sobre a fonte metabólica que a fibra muscular utiliza para obter energia.

A miosina, componente principal dos filamentos grossos das miofibrilas, é a proteína contrátil mais abundante do músculo esquelético e constitui a molécula motora da contração muscular (SELLERS, 2000). As fibras que possuem a isoforma de cadeia pesada de miosina tipo I são células de contração lenta, pois apresentam baixos níveis da enzima mATPase (BOTTINELLI et al., 1994), o que representa uma baixa capacidade para hidrolisar o ATP (ROSE, 1986); possuem ainda, metabolismo oxidativo, já que sua fonte de energia é a oxidação dos ácidos graxos, que estão distribuídos amplamente nos espaços miofibrilares do interior da fibra muscular. Para que ocorra esse processo de oxidação, é necessário um amplo fornecimento sanguíneo para o transporte de oxigênio e ácidos graxos (WILLIAMS, 1998). São fibras de tamanho pequeno, o que facilita a difusão rápida do oxigênio e substratos à mitocôndria para a obtenção de energia a

partir do metabolismo oxidativo. Possuem também, alta resistência à fadiga muscular, pois são dotadas estrutural e bioquimicamente para gerar força muscular durante um período prolongado de tempo, movimentos repetitivos lentos e manter força isométrica à custa da produção de alta taxa de energia a partir das rotas aeróbias (RIVERO e PIERCY, 2004).

As fibras que contém a isoforma de cadeia pesada de miosina tipo IIA apresentam tempo de contração curto ou contração rápida, unidades motoras resistentes à fadiga e metabolismo oxidativo e glicolítico; apresentam elevado conteúdo de mioglobina, o que confere às fibras uma tonalidade avermelhada. Possui capacidade para o metabolismo aeróbio devido ao seu conteúdo intermediário de mitocôndrias, o que proporciona resistência à fadiga. Apresentam uma capacidade glicolítica de moderada a baixa.

As fibras que expressam a isoforma de cadeia pesada de miosina tipo IIX possuem tempo de contração curto ou contração rápida, unidades motoras facilmente fatigáveis e metabolismo glicolítico; possuem velocidade de contração similar às fibras tipo IIA (BOTTINELLI et al., 1991). Com relação ao tamanho, são maiores que as fibras tipo I e IIA (RIVERO e PIERCY, 2004).

O tecido muscular, por sua plasticidade, é capaz de modificar suas características morfológicas e funcionais como resposta a diversos estímulos (BROCKS et al., 2000). O exercício físico, espontâneo ou induzido, dependendo da duração, frequência e intensidade podem gerar modificações na estrutura nesse tecido (RIVERO et al., 1993, SUCRE et al., 1999).

O uso combinado de diferentes técnicas de análise muscular no estudo das características do tecido muscular possibilita identificar corretamente o fenótipo fibrilar, determinar o tipo de metabolismo utilizado para obter energia química e transformá-la em mecânica, bem como determinar o tamanho dos diferentes tipos de fibras dos músculos. O glúteo médio, músculo objeto de estudo, possui grande importância na locomoção do cavalo e é bastante usado em estudos para avaliar as adaptações musculares ao treinamento. Dessa forma, este estudo

teve como objetivo avaliar as adaptações da musculatura esquelética a partir de análise histoquímica das fibras musculares do músculo glúteo médio de equínos da raça Puro Sangue Árabe submetidos a dois programas de treinamento de resistência durante seis semanas.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 12 equínos da raça Árabe, machos ou fêmeas adultos, sadios, com idades variando entre quatro e 11 anos, pertencentes ao rebanho experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, *Campus* de Jaboticabal. Os animais foram mantidos a campo em piquetes de Tifton e receberam 40% da exigência energética para trabalho moderado (NRC, 1989) através de concentrado comercial.

Teste para determinação da curva velocidade-lactato

Foi realizado um teste piloto na esteira rolante¹ visando à padronização de um protocolo com base na intensidade e duração do exercício teste a ser utilizado para a determinação da curva de lactato dos animais. O teste para determinação da curva velocidade-lactato dos animais consistiu em um aquecimento de cinco minutos a 1,7 m/s e cinco minutos a 3,5 m/s com 0% inclinação. Após o período de aquecimento a esteira foi elevada a 6% de inclinação, com velocidade inicial de 3,5 m/s e, a cada 3 minutos, a velocidade foi acrescida em 0,5 m/s. A velocidade final foi determinada pelo momento no qual o animal demonstrava sinais de fadiga, como desconcentração, sudorese intensa, abaixamento da cabeça e cansaço tendendo a não acompanhar a esteira rolante, deslocando-se para trás. Após esse período, o animal foi submetido a um desaquecimento durante 15 minutos a 1,7 m/s com 0% de inclinação, objetivando sua recuperação.

Colheita e processamento das amostras sanguíneas

Os animais tiveram a veia jugular cateterizada, utilizando cateter 14G e extensor de 60 cm. Foram colhidas amostras sanguíneas para a determinação da concentração de lactato sanguíneo, antes do teste (basal), após o aquecimento, 30 segundos antes do aumento de cada velocidade, 30 segundos antes e após o término da fase de desaquecimento. As amostras de sangue foram imediatamente diluídas em fluoreto de sódio 1% na proporção de 1:2 e mantidas em gelo até o momento da análise.

Determinação da concentração de lactato sanguíneo

As concentrações de lactato foram determinadas com a utilização de lactímetro². Os cálculos para determinação das velocidades nas quais a concentração de lactato corresponderam a 2,5 mmol/L ($V_{Lac2,5}$) e a 4 mmol/L (V_{Lac4}) foram efetuadas pela análise de regressão a partir dos va-

lores obtidos na curva velocidade-lactato (COUROUCÉ et al., 1997). O V_{Lac4} foi utilizado para avaliar o limiar de anaerobiose.

Condicionamento físico

O programa de treinamento dos animais constituiu-se de duas etapas de seis semanas de duração. Os animais do grupo 1 realizaram três sessões semanais de exercício, com duração de 45 minutos, à velocidade de 60% do V_{Lac4} . A cada duas semanas, foi acrescida uma sessão, com a mesma velocidade e duração, para equipararem-se aos números de treinamentos realizados pelo G2. O grupo 2 realizou três sessões semanais com duração de 45 minutos a 60% do V_{Lac4} , porém, a cada duas semanas, foi adicionada uma sessão com quatro horas de duração, alternando durante o percurso os andamentos passo e trote, com predomínio do passo.

Colheita e processamento das amostras musculares

Amostras do músculo estriado esquelético glúteo médio foram colhidas com os animais contidos em tronco de contenção específico para equínos, em posição quadrupedal, de acordo com a metodologia preconizada por Lindholm e Piehl (1974) e Valette et al. (1999), utilizando a agulha de biópsia percutânea do tipo Bergström nº 6.0. Realizou-se uma colheita antes do início do treinamento e outra após o seu término.

O local de inserção da agulha eleito foi preconizado por Lindholm e Piehl (1974) como o terço médio cranial de uma linha imaginária traçada entre a tuberosidade coxal e a base da cauda. Realizou-se a tricotomia de uma área de aproximadamente 5cm², correspondente à região externa do músculo glúteo médio. Foi realizada a anti-sepsia da região, utilizando solução de iodopovidine e solução de álcool iodado e o bloqueio anestésico local, mediante a infiltração de 2mL de cloridrato de lidocaína 2% sem vaso constritor³ por via subcutânea. Cerca de 3 minutos após, promoveu-se uma incisão na pele, tecido subcutâneo e fáscia glútea, utilizando lâmina de bisturi descartável nº 22. Introduziu-se a agulha acoplada ao cilindro cortante com a janela fechada, em um ângulo de 90°, na incisão promovida pela lâmina de bisturi, até aproximadamente 6 cm de profundidade, para atingir o músculo glúteo médio. Em seguida, o cilindro cortante foi suspenso, permitindo a abertura da janela de corte e procedeu-se um deslocamento lateral na agulha, pressionando lateralmente contra a massa muscular descrevendo um ângulo de 45°, então, introduziu-se o cilindro cortante para a realização do corte do fragmento muscular.

Após o procedimento da colheita de amostra, realizou-se a compressão manual da ferida cirúrgica com gaze estéril para a hemostasia local, em seguida procedeu-se o tratamento com pomada cicatrizante e repelente⁴ até a cicatrização.

As amostras musculares obtidas foram resfriadas

dois minutos após a colheita, mediante a imersão em hexano por 30 segundos, em seguida congeladas em nitrogênio líquido a -196°C e armazenadas em freezer a -70°C . Posteriormente, foram processadas para a microscopia ótica, através da realização de cortes seriados no sentido transversal das fibras na espessura de $12\mu\text{m}$, à temperatura de -20°C utilizando o criostato⁵.

Análises Histoquímicas

As análises histoquímicas foram utilizadas para identificar e distinguir os tipos de fibras musculares.

Foram realizadas oito secções transversais seriadas com 12μ de espessura em cada amostra do músculo glúteo médio em criostato a -20°C . Os cortes foram dispostos em quatro lâminas histológicas, mantidas à temperatura ambiente durante 35 minutos, para a secagem e aderência dos mesmos. Metade dos cortes foram submetidas à técnica da Adenosina Trifosfatase Miofibrilar (mATPase) e, a outra, à Nicotinamida adenina dinucleotídeo tetrazolol redutase (NADH-TR).

A técnica da atividade enzimática da mATPase utilizada foi uma adaptação do método de coloração metacromática da atividade ATPase em miofibras, descrito por Olgivie e Feedback (1990), utilizando alguns passos recomendados por Guth e Samaha (1970) e Ennion et al. (1995). Após a aderência dos cortes, foram fixados em solução de formalina tamponada a 5%, pH 7,2, durante 6 minutos, à temperatura de 22 a 24°C , segundo protocolo de Guth e Samaha (1970). Após sucessivas lavagens em solução tampão Tris base pH 7,8, os cortes foram pré-incubados em meio ácido (pH 4,52 a 4,55) contendo acetato de potássio 52mM e CaCl_2 17,7mM, durante 5 minutos, à temperatura de 22 a 24°C (OLGIVIE e FEEBACK, 1990). Em seguida foram lavados, utilizando o mesmo tampão, conforme descrito anteriormente, e incubados segundo o procedimento descrito por Ennion et al. (1995), em meio alcalino (pH 10,50 a 10,55) contendo glicina 40mM, CaCl_2 20mM e ATP 2,5mM, em estufa a 37°C , durante 25 minutos. Os cortes foram lavados rapidamente em água destilada e incubados em solução aquosa de CaCl_2 1% por três minutos. Foram novamente lavados rapidamente em água destilada, corados com azul de toluidina 1% durante 10 segundos, desidratados em série crescente de etanol (70, 80, 90, 100, 100), diafanizados em três séries de xilol 100% e montados em lâminulas contendo Entelan (OLGIVIE e FEEBACK, 1990).

A técnica de NADH-TR foi realizada para determinar o metabolismo oxidativo dos diferentes tipos de fibras musculares de equinos segundo RYAN et al. (1992). Os cortes foram incubados durante 40 minutos na estufa a 37°C no meio contendo NADH-TR, NBT e tampão Tris 0,2M pH 7,4. Em seguida, submetidos a lavagens sucessivas em água destilada. Posteriormente, foram fixados em formol 5% tamponado pH 7,0, durante cinco minutos, e lavados em água destilada, desidratados

em etanol, diafanizados em xilol e montados com Entelan, conforme descrito anteriormente.

Morfometria das fibras musculares

Os cortes histológicos, corados mediante as técnicas histoquímicas, foram digitalizados em campos idênticos a partir da realização de fotomicrografias de cada secção utilizando um sistema de processamento de imagens computadorizado equipado com um microscópio Leica DMLS^{3*} acoplado a uma câmara ICCA de alta resolução*. De acordo com a técnica utilizada, identificaram-se as fibras musculares segundo o grau de reação histoenzimática. A determinação da frequência e da área das fibras foi obtida utilizando o programa de análises de imagens^{4**}, contando entre 100 e 200 fibras por amostra.

O tamanho fibrilar foi determinado usando a medida correspondente à área de secção transversal de cada fibra muscular. A área relativa das fibras musculares determina a porcentagem da área ocupada por cada tipo de fibra em uma amostra de músculo. Essa variável foi calculada multiplicando por 100 o resultado da divisão entre a multiplicação da porcentagem do tipo de fibra pela média da área total deste tipo de fibra e a somatória resultante ao aplicar a fórmula para todos os tipos de fibras (RIVERO et al., 1993).

Análise Estatística

Realizou-se a Análise de Variância (ANOVA) mediante o programa estatístico SAS – Statistical Analysis System (SAS, 2002) para avaliar o efeito do treinamento sobre as variáveis estudadas. Utilizou-se o teste “t” de student para a comparação das médias entre os diferentes grupos de treinamento e o teste de Wilcoxon para as comparações referentes ao escore corporal. Para todas as análises estabeleceu-se o nível de significância igual a $p \leq 0,05$ (SAMPAIO, 1998).

RESULTADOS

Peso e escore corporal

Analisando os dados dispostos na Tabela 1, observa-se que os valores médios do peso corpóreo não diferiram significativamente ($P > 0,05$) após o período de treinamento. Da mesma forma, ocorreu para os valores do escore corporal.

Identificação dos tipos de fibras musculares

O músculo glúteo médio dos equinos estudados apresentou três tipos de fibras puras: I, IIA e IIX,

3 * Leica Microsistemas, Barcelona - Espanha

4 ** Visiolog 5, Noemi, Microptic - Barcelona, Espanha

segundo o grau de reatividade da enzima mATPase após a pré-incubação ácida (pH 4,5) e incubação alcalina (pH 10,5). As fibras tipo I foram consideradas ácido estáveis e alcalino lábeis, demonstrando coloração azul claro. As fibras tipo IIA foram ácido lábeis à pré-incubação ácida e alcalina resistentes à incubação alcalina, demonstrando coloração intermediária entre as fibras tipo I e IIX (azul intermediário). As fibras tipo IIX mostraram-se ácido lábeis e alcalino resistentes, corando-se fortemente quando submetidas à incubação alcalina, assumindo coloração azul escuros.

As fibras musculares foram classificadas em oxidativas e ou glicolíticas segundo a intensidade da reação mediante a técnica NADH-TR, que determina seu metabolismo energético. As fibras tipo I demonstraram reação fortemente positiva, assumindo coloração roxo intenso, indicando um metabolismo energético oxidativo. As fibras tipo IIA reagiram moderadamente à técnica NADH-TR, mostrando coloração moderada a intensa, intermediária entre as fibras tipo I e IIX. As fibras tipo IIX não reagiram com a técnica NADH-TR, assumindo coloração rosa clara, mostrando-se glicolíticas.

O músculo glúteo médio dos animais estudados foi classificado como oxidativo e glicolítico devido ao predomínio de fibras tipo IIA (45,74% e 44,25% pré e pós

o treinamento, respectivamente).

Conforme demonstrado na Tabela 2, foi observado redução significativa ($P < 0,01$) na porcentagem de fibras tipo I e aumento significativo ($P < 0,01$) na porcentagem de fibras tipo IIX, após o período de treinamento de seis semanas.

Área média de secção transversal (μm^2)

O treinamento ocasionou diminuição significativa ($P < 0,01$) na área média de secção transversal das fibras tipo I e tipo IIA após seis semanas de treinamento.

Com relação ao tamanho dos diferentes tipos de fibras, a área das fibras tipo IIX foi significativamente maior ($P < 0,01$) que a área correspondente às fibras tipo I e IIA, obedecendo a seguinte ordem da maior para a menor: IIX > IIA > I.

Área Relativa (%)

Houve redução significativa ($P < 0,01$) na área relativa das fibras tipo I e aumento significativo ($P < 0,01$) na área relativa das fibras tipo IIX após o treinamento de seis semanas. Observamos ainda nessa fase, que a área relativa ocupada pelas fibras tipo IIX foi significativamente maior que a área relativa das fibras tipo I e tipo IIA, conforme demonstrado na Tabela 4.

Tabela 1 - Médias e desvio padrão do peso e escore corporal de equínos da raça Puro Sangue Árabe (PSA), submetidos a treinamento para enduro durante seis semanas.

Grupos	Variáveis Fisiológicas	
	Peso corpóreo (Kg)	Escore corporal*
Pré (n=12)	392,33 ± 39,4	5
Pós (n=12)	402,75 ± 42,8	5

Pré: antes do treinamento, Pós: após o treinamento.

Médias na mesma coluna não diferiram significativamente ($p < 0,05$) pelo teste t de student e Wilcoxon ($p \leq 0,05$).

Tabela 2 - Frequência (%) dos tipos de fibras do músculo glúteo médio de equínos PSA, submetidos a treinamento para enduro durante seis semanas.

Grupos	Fibras tipo I	Fibras tipo IIA	Fibras tipo IIX
Pré (n=12)	25,99 ± 7,4 ^b	45,74 ± 11,3 ^c	28,27 ± 7,0 ^b
Pós (n=12)	15,49 ± 4,7 ^a	44,25 ± 14,1 ^c	40,26 ± 13,2 ^c

Pré: antes do treinamento, Pós: após o treinamento.

Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste t de student.

Tabela 3 - Média e desvio padrão da área média de secção transversal de fibras (μ^2) do tipo I, IIA e IIX do músculo glúteo médio de equínos PSA, submetidos a treinamento para enduro durante seis semanas.

Grupos	Fibras tipo I	Fibras tipo IIA	Fibras tipo IIX
Pré (n=12)	3865 ± 424,24 ^b	5140 ± 926,40 ^c	8734 ± 2087,62 ^d
Pós (n=12)	2622 ± 348,41 ^a	4021 ± 534,06 ^b	7665 ± 644,34 ^d

Pré: antes do treinamento, Pós: após o treinamento.

Médias na mesma linha seguidas de letras diferentes diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste t de student.

Tabela 4 - Média e desvio padrão da área relativa de fibras (%) do tipo I, IIA e IIX do músculo glúteo médio de equinos PSA, submetidos a treinamento para enduro durante seis semanas.

Grupos	Fibras tipo I	Fibras tipo IIA	Fibras tipo IIX
PRE (n=12)	18,27 ± 7,4 ^b	40,57 ± 11,3 ^c	57,32 ± 8,0 ^d
POS (n=12)	7,97 ± 2,6 ^a	34,70 ± 13,9 ^c	41,15 ± 13,6 ^c

Pré: antes do treinamento, Pós: após o treinamento.

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem significativamente ($p \leq 0,05$) pelo teste t de student.

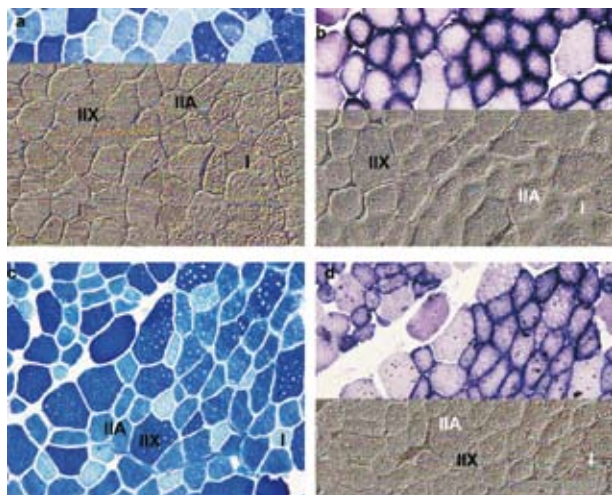


FIGURA 1 - Composição fibrilar do músculo glúteo médio de equino antes e após o período de treinamento de seis semanas, corados mediante as técnicas de mATPase com pré-incubação em pH 4,55 e incubação em pH 10,50 (a,c) e NADH-TR (b,d).

DISCUSSÃO

Conforme descrito em estudos prévios na espécie equina, os resultados obtidos a partir da técnica de mATPase em pré-incubação ácida (pH 4,52 a 4,55) e incubação alcalina (pH 10,50) proporcionaram a identificação de três tipos de fibras puras no músculo glúteo médio de equinos, I, IIA e IIX.

Os diferentes programas de treinamento não influenciaram significativamente sobre o peso, escore corporal, proporção dos diferentes tipos de fibras e área relativa do músculo glúteo médio dos animais estudados. Após as primeiras seis semanas de treinamento, observamos aumento na frequência das fibras tipo IIX em detrimento das fibras tipo I. Observou-se, ainda, diminuição na área média das fibras tipo I e IIA. Esses tipos de adaptação geralmente ocorrem em treinamentos de alta intensidade e curta duração (RIVERO et al., 2002). Dessa forma, podemos

inferir que o condicionamento aplicado não foi adequado para animais de enduro. Esse fato pode ter ocorrido, pois o teste de determinação da velocidade-lactato realizado na esteira rolante não foi adequado para delinear o condicionamento na trilha, onde há a influência de fatores, como a irregularidade do solo e o peso do cavaleiro. Conforme observado Lindner et al. (2001), treinamentos realizados a velocidades de menor intensidade com duração de 45 minutos induziram maiores alterações musculares e, conseqüentemente, efeitos positivos na capacidade de resistência, do que o treinamento a maior intensidade e menor duração (GANSEN et al., 1999).

As fibras tipo IIX mostraram tamanho significativamente maior que as fibras tipo IIA, e estas, maiores que as fibras tipo I; esses achados corroboram com Serrano e Rivero (2000). Houve predomínio das fibras tipo IIA no músculo glúteo médio dos animais estudados, portanto o metabolismo energético pode ser classificado como oxidativo-glicolítico.

Quanto à área relativa, houve diminuição para as fibras tipo I e IIX. Esses achados diferiram dos encontrados por D'Angelis et al. (2005) que observaram aumento da área relativa das fibras tipo I após o período de treinamento aeróbio por 90 dias utilizando 80% da V_{Lac4^+} .

O efeito do exercício induzido, produzido pela aplicação de treinamentos durante um período de tempo determinado, sobre a composição e área fibrilar é variável. Alguns pesquisadores relatam que o exercício de resistência, moderado e aeróbio produz um aumento da capacidade aeróbica do músculo para gerar ATP (Demirel et al., 1999) através de adaptações metabólicas fibrilares como o aumento da atividade de algumas enzimas implicadas no metabolismo oxidativo e produz um pequeno incremento na proporção de fibras oxidativas (RIVERO e SERRANO, 1999).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitiram concluir que o músculo glúteo médio de equinos submetidos a treinamento durante seis semanas apresentou uma população fibrilar heterogênea, composta por fibras tipo I, IIA e IIX, sendo as fibras de metabolismo oxidativo-glicolítico (IIA)

mais abundantes.

O tipo de treinamento não influenciou as variáveis estudadas.

O treinamento ocasionou aumento na proporção de fibras IIX em detrimento das fibras tipo I; diminuição na área média das fibras tipo I e IIA; e diminuição da área relativa das fibras tipo I e IIX.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio à pesquisa concedido e o Conselho de Pesquisa e Aperfeiçoamento de Pessoal (CAPES) pelo suporte financeiro para realização de análises por intermédio do Programa de Doutorado com Estágio no Exterior.

ARTIGO RECEBIDO: Agosto/2006
APROVADO: Julho/2007

REFERENCIAS

- BOTTINELLI, R., SCHIAFFINO, S., REGGIANI, C. Force velocity relations and myosin heavy chain isoform compositions of skinned fibres from rat skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, v.437, p.655-672, 1991.
- BOTTINELLI, R., CANEPARI, M., REGGIANI, C., STIENEN, G. J. Myofibrillar ATPase activity during isometric contraction and isomyosin composition in rat single skinned muscle fibers. **The Journal of Physiology**, v.481, p.663-675, 1994.
- BOTTINELLI, R., REGGIANI, C. Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity. **Progress in Biophysics & Molecular Biology**, v.73, p.195-262, 2000.
- BROCKS, L., KLONT, R. E., GREEF, K., TIEMAN, M., ENGEL, B. The effects of selection of pigs on growth rate vs. leanness on histochemical characteristics of different muscle. **Journal of Animal Science**, v.78, p.1247-1254, 2000.
- COUROUCÉ, A., CHATARD, J. C., AUVINET, B. Estimation of performance potential of Standardbred trotters from blood lactate concentrations measured in field conditions. **Equine Veterinary Journal**, v.29, p.365-369, 1997.
- D'ANGELIS, F. H. F., FERRAZ, G. C., BOLELI, J. C., LACERDA-NETO, J. C., QUEIROZ-NETO, A. Aerobic training, but not creatine supplementation, alters the glutus medius muscle. **Journal American Science**, v.83, p.579-585, 2005.
- DEMIREL, H. A., POWERS, S. K., NAITO, H., HUGHES, M., COOMBES, J. S. Exercise induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotype: dose response relationship. **Journal Applied Physiology**, v.86, n.3, p.1002-1008, 1999.
- ENNION, S., SANT'ANA, P. J., SARGEANT, A. J., YOUNG, A., GOLDSPINK, G. Characterization of human skeletal muscle fibres according to the myosin heavy chains they express. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v.16, p.35-43, 1995.
- GANSEN, S., LINDNER, A., MARX, S., MOSEN, H., SALLMANN, H. P. Effects of conditioning horses with lactate-guided exercise on muscle glycogen content. **Equine Veterinary Journal**, supl.30, p.329-331, 1999.
- GOLDSPINK, G. Selective gene expression during adaptation of muscle in response to different physiological demands. Review. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v.120, p.5-15, 1998.
- GUTH, L., SAMAHA, F. J. Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. **Experimental Neurology**, v.26, p.120-125, 1970.
- LINDHOLM, A., PIEHL, K. Fibre composition enzyme activity and concentrations of metabolites and electrolytes in muscle of Standardbred horses. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.15, p.287-309, 1974.
- LINDNER, A., DAG, S., KISSENBECK, S., MOSEN, H., RIVERO, J. L. L., DROMMER, W. Efecto de entrenamiento, conducido mediante la concentración de lactato sanguíneo, sobre ultraestructura del músculo glúteo medio. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE CABALLOS DE DEPORTE - CICADE, 2001, Argentina. Anales... Argentina: 2001, CD-Rom.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of horses**. Washington, 1989. 10p.
- OLGIVIE, R.W., FEEBACK, D. L. A metachromatic dye-ATPase method for the simultaneous identification of skeletal muscle fiber types I, IIA, IIB, IIC. **Stain Technology**, v.65, p.231-241, 1990.
- RIVERO, J. L. L., PIERCY, R. J. Muscle physiology: responses to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K. W., KANEPS, A. J., GEOR, J. **Equine sports medicine and surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete**. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2004. p.45-76.

RIVERO, J. L. L., SPORLEDER, H. P., QUIROZ-ROTHER, E., VERVUERT, I., COENEN, M., HARMEYER, J. Oral L-carnitine combined with training promotes changes in skeletal muscle. **Equine Veterinary Journal**, Suppl.34, p.269-274, 2002.

RIVERO, J. L. L., SERRANO, A. L. Skeletal myosin chain composition and carriage training. **Equine Veterinary Journal**, Suppl.30, p.318-323, 1999.

RIVERO, J. L. L., RUZ, M. C., SERRANO, A. L., GALISTEO, A. M. Effect of training and detraining on muscle fibre size in several horse breeds. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.25, p.127-136, 1993.

RYAN, J. M., COBB, M. A., HERMANSON, J. W. Elbow extensor muscles of the horse: postural and dynamic implications. **Acta Anatomical**, v.144, p.71-79, 1992.

ROSE, R. J. Endurance exercise in the horse: a review. **British Veterinary Journal**, v.142, p.532-552, 1986.

VALETTE, J. P., BARREY, E., JOUGLIN, M., COUROUCE, A., AUVINET, B., FLAUX, B. Standardisation of muscular biopsy of *gluteus medius* in French trotters. **Equine Veterinary Journal**, Supl.30, p.342-344, 1999.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998, 221p.

SAS INSTITUTE. **SAS User's guide**: statistics. Cary, 2002.

SELLERS, J. R. Myosins: a diverse superfamily. Review. **Biochimica et Biophysica Acta**. v.1496, p.3-22, 2000.

SERRANO, A. L., RIVERO, J. L. L. Myosin Heavy Chain profile of equine Gluteus medius following prolonged draught exercise training and detraining. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v.21, p.235-245, 2000.

SUCRE, L. E., HERNÁNDEZ, N., HECKER TORRES, S. Efecto del entrenamiento sobre las actividades enzimáticas y composición fibrilar en el M. G. Medius de Cabals Pura Sangre Venezolanos. **Revista Científica**, v. 9, n. 6, p. 489-501, 1999.

WILLIAMS, P. L. **Anatomía de Gray**. 38thed. Madrid: Harcourt Brace, 1998. p. 739-763. Tomo I.