

ADAPTAÇÃO MUSCULAR APÓS CONTUSÃO: ANÁLISE DA ÁREA E TIPOS DE FIBRAS

Muscular Adaptation After Contusion: Analyse of Area and Fibres Types

Thais Helena Itao Sestare¹
Viviane Balisardo Minamoto²

Resumo

A contusão muscular é freqüente na prática desportiva, sendo assim o objetivo deste estudo foi analisar a incidência e área das fibras musculares após contusão no músculo tibial anterior (TA). Quatorze ratos foram divididos em grupos: Controle (C) e Contusão (CO). Os animais, previamente anestesiados, foram posicionados em decúbito lateral com flexão plantar máxima e submetidos à contusão (carga de 284 g liberada de altura de 30 cm) no músculo TA. Após 28 dias, cortes foram obtidos e submetidos à reação miosina ATPase; a área das fibras foram analisadas por software. Teste estatístico: T-Student (5%). O TA do grupo CO apresentou diminuição do peso muscular quando comparado ao contralateral e ao TA do grupo C ($0,19 \pm 0,03\%$; $0,22 \pm 0,02\%$; $0,22 \pm 0,02\%$, respectivamente, $p \leq 0,05$). Quando comparado ao grupo C, o grupo CO apresentou diminuição na incidência das fibras tipo II ($95,83 \pm 2,22\% \times 90,4 \pm 4,56\%$) e aumento das híbridas ($0,5 \pm 0,74\% \times 5 \pm 1,58\%$, respectivamente; $p \leq 0,05$). Não foi observada diferença na área dos diferentes tipos de fibras. A alteração do tipo de fibra, observada após contusão muscular, pode comprometer a *performance* do indivíduo; sendo assim deve-se trabalhar na reabilitação o gesto esportivo específico, visto que o músculo pode adaptar-se quando frente a um estímulo de exercício, alterando a composição das fibras musculares. **Palavras-chaves:** Contusão muscular; Tipos de fibras; Área das fibras.

¹ Aluna de Iniciação Científica do Curso de Fisioterapia, Universidade Metodista de Piracicaba.

² Docente do PPG Fisioterapia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba. Curso de Mestrado em Fisioterapia, FACIS – UNIMEP. Rodovia do Açúcar, km 156, CEP 13400-911, Piracicaba/SP. Telefone: (19) 3124 1558 / Fax: (19) 3124 1659
e-mail: vbminamo@unimep.br

Abstract

Muscle contusion is common during sport activities, thus the aim of this study was analyze the incidence and area of muscle fiber types after contusion in the tibialis anterior (TA) muscle. Fourteen rats were divided into control (C) and contusion (CO) groups. The animals, submitted to anesthesia and held in lateral position, with the ankle in the flexion position were submitted to the contusion (load of 284 g delivered from a height of 30 cm). After 28 days, the serial cross-sections were submitted to m.ATPase reaction; the area of the muscle fibers was obtained by software. Statistic Test: Student-t (5%). The TA of the CO group showed a decrease in the weight when compared to the contralateral and to the C group ($0,19 \pm 0,03\%$; $0,22 \pm 0,02\%$; $0,22 \pm 0,02\%$, respectively, $p \leq 0,05$). When compared to the C, the CO group showed a smaller incidence of the type II ($95,83 \pm 2,22\% \times 90,4 \pm 4,56\%$) and an increase in the hybrid fiber type ($5 \pm 0,74\% \times 5 \pm 1,58\%$, respectively; $p \leq 0,05$). There was no difference in the area of muscle fibers. The alteration of the muscle fiber type, observed after contusion, might impair the performance of the individuals. Then, it is important that during the rehabilitation, the individuals are submitted to a specific training, related to their sport activities, since the muscle is able to adapt after an exercise stimuli, changing the muscle fiber type.

Keywords: Muscle contusion; Muscle fiber type; Muscle fiber area.

Introdução

As lesões musculares são muito frequentes na prática desportiva, tanto no profissional como no recreacional. Elas podem ocorrer por diversos mecanismos, abrangendo desde trauma direto como lacerações e contusões, até trauma indireto como distensão, isquemia e disfunção neurológica (1).

Morbidade significativa, assim como déficits estrutural e funcional, reincidência de lesão, atrofia muscular, contratura e dor, frequentemente ocorre seguida da lesão muscular, resultando em tempo perdido para treinamento e competição (2).

A contusão muscular, a qual está entre as lesões musculares mais comuns, é produzida por impacto abrupto de um objeto não perfurante. Estudos têm mostrado que a contusão muscular pode alterar a área e a incidência dos diferentes tipos de fibras (3), o que pode comprometer a *performance* muscular.

Minamoto et al. (3) observaram aumento das fibras híbridas e diminuição da área das fibras do tipo I e II após um mês da contusão muscular periódica no músculo tibial anterior. Outros estudos também demonstram aumento do número das fibras híbridas e uma diminuição das fibras do tipo II em lesões musculares induzidas por miotoxina nos músculos sóleo e gastrocnêmio (4) e no tibial anterior (5) e por corrida no músculo sóleo (6). Ou seja, esses resultados sugerem uma transformação de fibras

rápidas para lentas, via fibras híbridas, após lesões musculares.

Apesar da adaptação muscular observada pela transição dos tipos de fibras após lesões induzidas por injeção de miotoxina (7), exercício (8) e contusão muscular periódica (3), não foi encontrado na literatura se essas adaptações ocorrem após lesão por contusão muscular única.

Deste modo, esse trabalho teve como objetivo analisar a incidência e área dos diferentes tipos de fibras musculares após contusão única no músculo tibial anterior.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 14 ratos machos Wistar com peso corporal entre 290 e 333 g. Os animais foram mantidos em grupo de três em gaiolas de polietileno e submetidos a um ciclo de 12 horas claro/12 horas escuro, sendo a temperatura do biotério controlada. Todos os animais tiveram livre acesso à água e à ração peletizada e foram divididos aleatoriamente em grupos controle ($n = 7$) e contusão ($n = 7$). Os animais deste último grupo foram submetidos à contusão única no músculo tibial anterior direito (TAD) e sacrificados após 28 dias.

A escolha da análise após 28 dias baseia-se na literatura, pois segundo Fisher et al. (9), Crisco et al. (1) e McBride et al. (10), os músculos já se encontram regenerados nesse período.

Protocolo de contusão muscular

Todos os animais foram previamente anestesiados por meio de injeção de Ketalar, (50 mg/mL) e Rompum, (2g/100mL), na proporção 1:1, na dose de 0,3 mL/300 g no músculo tríceps sural do membro posterior esquerdo.

Antes da contusão os animais foram tricotomizados na parte anterior do membro posterior direito, na região do músculo tibial anterior, sendo a área delimitada com o auxílio de caneta. Os animais foram imobilizados manualmente, pelo mesmo manipulador, em decúbito lateral, com o membro posterior a ser traumatizado voltado para cima em completa extensão de joelho e flexão plantar máxima.

Os animais do grupo submetido à contusão sofreram impacto no músculo TAD (dois impactos na região proximal-média e dois na região média-distal), produzido por um equipamento que consiste de um tubo de alumínio, por onde corre livremente carga de aço inoxidável, e um dispositivo que trava a carga e gradua a altura em que ela é liberada. O tubo é fixado perpendicularmente à plataforma de madeira, a qual possui quatro centímetros de altura e 14° de inclinação, pois segundo Minamoto (11), quando o membro posterior é posicionado de forma elevado e inclinado, a lesão muscular no TAD é mais evidente.

O músculo tibial anterior foi escolhido para o procedimento experimental por ser um músculo superficial, facilitando desta forma a realização da contusão muscular. Além disso, sua arquitetura composta por fibras longitudinais permite a análise delas em um único corte histológico (12).

Processamento dos Músculos e Cortes Histológicos

Os animais foram previamente anestesiados e sacrificados por meio de deslocamento cervical, e os seus músculos TAD e TAE retirados e pesados. A região distal dos músculos TAD foi colada com “gum tragacanth” em pedaços de madeira, sendo posteriormente resfriada em isopentano e congelada em nitrogênio líquido. As amostras permaneceram em nitrogênio líquido até o processamento delas. Durante a retirada, os músculos foram gotejados com solução salina, para

evitar o seu ressecamento. Optou-se pela região distal por ter sido, segundo o grupo piloto, a região que mais apresentou lesão.

Cortes histológicos transversais seriados de 10 mm foram obtidos por meio do Micrótomo Criostato (Ancap, modelo 300), sendo submetidos à demonstração da atividade enzimática miosina ATPase (m.ATPase), pré-incubada em meio ácido (ac-m.ATPase, pH 4.3; 13) e alcalino (alc-m.ATPase, pH 10.3; descrito por Guth et al. (14), e modificado por Butler et al. (15), o que permitiu a classificação em fibras do tipo I, II e híbrida, sem os subtipos das duas últimas.

Análise da incidência e área dos diferentes tipos de fibras musculares

Foi analisado um corte por lâmina, e deste foram obtidos um ou dois campos para fotomontagem nos diferentes pHs, realizada por meio de um sistema de vídeo impressão (microscópio óptico Olympus acoplado à câmera e ao Monitor Samsung), a fim de se determinar o número e a porcentagem de cada um dos tipos de fibras musculares. Para a mensuração das áreas de secção transversa de cada tipo de fibra muscular foi utilizado um sistema de análise de imagem (software Mod. Image-Proplus versão 4.0).

Análise estatística

O procedimento estatístico utilizado foi o teste T-Student, significativo quando $p \leq 0.05$.

Resultados

Não houve diferença do peso muscular quando comparado o TAD com TAE do grupo controle. Por outro lado, quando comparado o TAD (músculo contundido) com o TAE do grupo contusão houve diminuição no TAD ($p \leq 0.05$). Do mesmo modo, o peso muscular foi menor no TAD do grupo contusão quando comparado com o grupo controle ($p \leq 0.05$) conforme demonstra a Tabela 1.

Em relação à área das fibras musculares, não foi observada diferença na área dos diferentes tipos de fibras quando comparado os grupos controle e contusão (Tabela 1).

Tabela 1. Média do peso muscular e área de seção transversa dos diferentes tipos de fibras musculares nos grupos controle e contusão

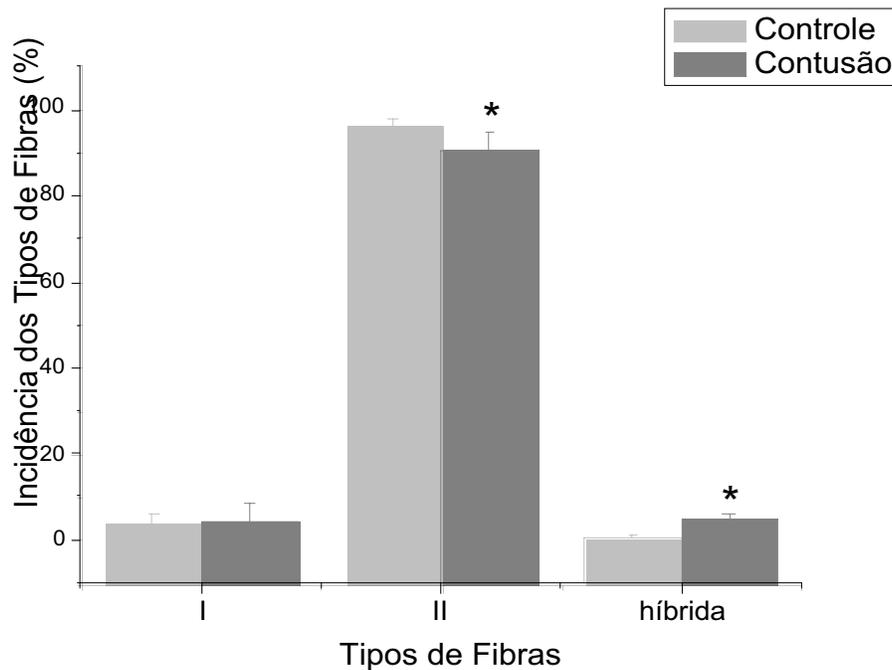
Grupos	Peso Muscular Relativo (%)		Área das fibras do TAD (mm ²)		
	TAD	TAE	Tipo I	Tipo II	Híbridas
Controle	0,22 ± 0,02	0,21 ± 0,02	4,367 ± 1,586	5,652 ± 1,146	3,250 ± 0,992
Contusão	0,19 ± 0,03*	0,22 ± 0,02	4,247 ± 0,972	5,237 ± 0,714	3,495 ± 0,672

* diferença estatisticamente significativa quando comparado com o TAD do grupo controle e com o músculo contralateral ($p \leq 0.05$)

Não houve diferença estatisticamente significativa da incidência das fibras do tipo I quando comparados os grupos controle e contusão ($3,75 \pm 2,31\% \times 4,5 \pm 3,9\%$, respectivamente). Por outro lado, quando comparado ao controle, o grupo

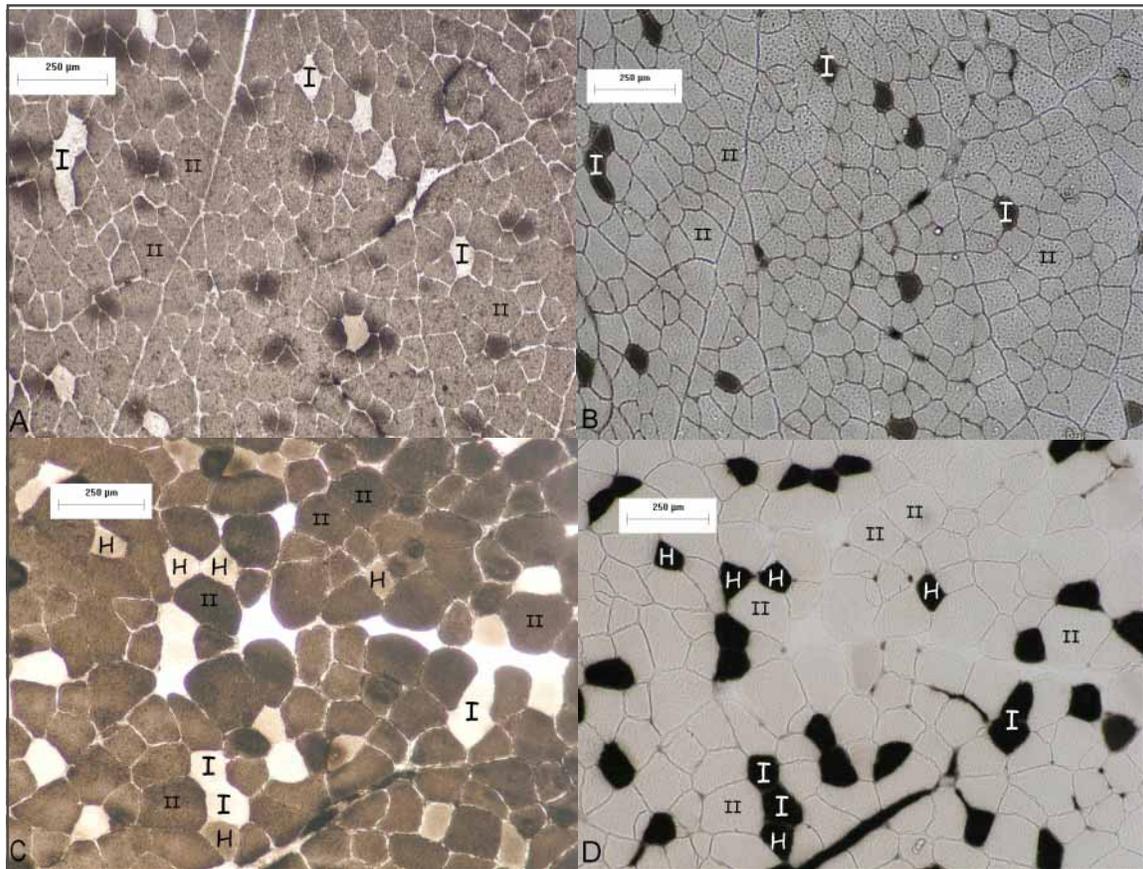
contusão apresentou menor incidência de fibras do tipo II ($95,83 \pm 2,22\% \times 90,4 \pm 4,56\%$, respectivamente) e maior das híbridas ($0,5 \pm 0,74\% \times 5 \pm 1,58\%$, respectivamente; $p \leq 0.05$), conforme demonstrado nas figuras 1 e 2.

Figura 1. Incidência dos diferentes tipos de fibras musculares nos grupos controle e contusão.



* diferença estatisticamente significativa quando comparado com o grupo controle ($p \leq 0.05$)

Figura 2. Cortes histológicos transversais seriados dos grupos controle (A e B) e contusão (C e D), submetidos à reação da m.ATPase em pHs 10.3 (A e C) e 4.3 (B e D). Observam-se fibras dos tipos I, II e híbridas. 100x



Discussão

A diminuição da massa, observada nos músculos contundidos, pode ter ocorrido devido à alteração no metabolismo protéico muscular. Esses dados sugerem que a lesão leva à atrofia muscular, podendo esta estar relacionada com a diminuição da síntese ou aumento da degradação protéica (16). Além disso, a diminuição da massa no músculo contundido poderia estar associada à hipertrofia do membro contralateral (17), como consequência de uma sobrecarga compensatória pela menor solicitação do membro traumatizado. No entanto, não pudemos confirmar essa hipótese, uma vez que não foi analisada a área de secção transversa do músculo contralateral.

Não foi observada relação entre massa muscular e área dos tipos de fibras, uma vez que a alteração de massa muscular não foi acompanhada por alteração da área das fibras. Outros fatores, além da área das fibras podem estar envolvidos na determinação da massa muscular, tais como proliferação de tecido conjuntivo e diminuição do número de fibras. Entretanto, essas variáveis não foram analisadas no presente trabalho.

Trabalho prévio relata que após um mês de contusão semanal ocorre diminuição da área de secção transversa das fibras dos tipos I e II (3). Assim, como os resultados do presente estudo não mostram alteração da área dos diferentes tipos de fibras, conclui-se que o músculo

responde de maneira diferenciada quando comparada a contusão única com a contusão periódica.

A alteração na incidência das fibras musculares após a contusão, como encontrado neste estudo, demonstra a ocorrência de adaptação muscular posteriormente a ela. A diminuição da porcentagem das fibras do tipo II e o aumento das híbridas sugerem uma transformação de fibras rápidas para lentas, via fibras híbridas, após lesões musculares.

Estudos prévios também relatam transição de fibras musculares pela lesão. Segundo Minamoto et al. (3), a lesão por contusão muscular periódica no músculo tibial anterior causou aumento de fibras híbridas após um mês do trauma. Outros estudos também demonstram aumento do número de fibras híbridas e uma diminuição das fibras do tipo II em lesões musculares induzidas por miotoxina nos músculos sóleo e gastrocnêmio (4) e no tibial anterior (5) e por corrida no músculo sóleo (6) em ratos.

Entretanto, o aumento da incidência das fibras do tipo I não foi evidenciado nesse trabalho, provavelmente devido o tempo de análise (28 dias) não ter sido suficiente para se observar completa transição. Estudo anterior relata que é necessário longo período de tempo para que ocorra a transição entre os tipos I e II (18), possivelmente porque essa transição implica em alteração do gene de miosina, aumento na produção de mitocôndria e alteração na atividade do motoneurônio (19).

Essa alteração de fibra no sentido II para I sugere maior resistência muscular a lesões posteriores, pois se sabe que as fibras do tipo I são mais resistentes a lesões após contrações musculares (10, 12, 20).

Os mecanismos envolvidos na maior resistência das fibras do tipo I às lesões ainda não estão totalmente definidos. Por algum tempo, acreditou-se que esta resistência estava relacionada ao metabolismo das fibras, sendo a diminuição da capacidade oxidativa um fator para a vulnerabilidade das fibras glicolíticas (12, 21). Entretanto, estudo mais recente rejeita esta hipótese, pois o aumento da capacidade oxidativa nos músculos extensor digital longo dos dedos e tibial anterior de coelhos, por meio de treinamento aeróbio, não preveniu a diminuição da tensão tetânica máxima nestes músculos após lesão por contração excêntrica (20).

Uma hipótese mais sustentável para a resistência às lesões das fibras do tipo I está relacionada à diferente estrutura da linha Z entre os diferentes tipos de fibras. As fibras de contração lenta (tipo I) apresentam maior espessura das linhas Z, entre 100-130 nm, enquanto que esta espessura é de aproximadamente 50 nm nas fibras de contração rápida (tipo II) (22, 23). Devido ao fato de que a linha Z está envolvida com a transmissão de tensão entre os sarcômeros durante a atividade muscular, as fibras que apresentam menor espessura da linha Z seriam as mais susceptíveis às lesões.

Independente do mecanismo envolvido na maior resistência das fibras do tipo I, o presente estudo sugere que a adaptação decorrente da contusão possa tornar o músculo mais resistente à lesão causada por contração.

Conclusão

A adaptação muscular pôde ser observada em músculo lesado por contusão muscular única, por meio da alteração na incidência dos tipos de fibras, evidenciada pela diminuição das do tipo II e aumento das híbridas. Uma vez que a velocidade de contração muscular é dependente dos tipos de fibras que compõem o músculo, a contusão pode implicar em alteração da *performance* do indivíduo, comprometendo desta forma o desempenho do atleta. Por esta razão, deve-se trabalhar na reabilitação o gesto esportivo específico, visto que o músculo pode adaptar-se quando frente a um estímulo de exercício, alterando a composição das fibras musculares.

Agradecimentos

FAPESP (02/07171-0), FAP-UNIMEP (314-02), Bolsa FAPIC-UNIMEP (15503); aos colegas Leonardo Duarte Picchi pelo auxílio na contusão dos animais e Renato Benatti Neto pela confecção do equipamento.

Referências

1. Crisco JJ, Jokl P, Heinen GT, Connell MD, Panjabi MM. A muscle contusion injury model: biomechanics, physiology, and histology. *Am J Sports Med* 1994; 22(5): 702-710.

2. Ryan JB, Wheeler JH, Hopkinson WJ, Arciero RA, Kolakowski KR. Quadriceps contusions-west point update. *Am J Sports* 1991; 19: 299-304.
3. Minamoto VB, Bunho SR, Salvini TF. Regenerated rat skeletal muscle after periodic contusions. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 1447-1452.
4. Morini CC, Pereira ECL, Selistre de Araújo HS, Ownby CL, Salvini TF. Injury and recovery of fast and slow skeletal muscle fibers affected by ACL myotoxin isolated from *Agkistrodon contortrix laticinctus* (broad-banded copperhead) venom. *Toxicon* 1998; 36: 1007-1024.
5. Salvini TF, Selistre de Araújo HS, Ownby CH. Long-term regeneration of fast and slow murine skeletal muscles after induced injury by ACL myotoxin isolated from *Agkistrodon contortrix laticinctus* (broad-banded copper-head) venom. *Anat Rec* 1999; 254(4): 521-533.
6. Wernig A, Salvini TF, Irintchev A. Axonal sprouting and changes in fibre types after running-induced muscle damage. *J Neurocytol* 1991; 20(11): 903-913.
7. Devor ST, Faulkner JA. Regeneration of new fibers in muscles of old rats reduces contraction-induced injury. *J Appl Physiol* 1999; 87(2): 750-756.
8. Nosaka K, Newton M. Concentric or eccentric training effect on eccentric exercise-induced muscle damage. *Med Sci Sport Exerc* 2002; 34(1): 63-69.
9. Fisher BD, Baracos VE, Shnitka TK, Mendryk SW, Reid DC. Basic sciences/regulatory physiology original investigations: ultrastructural events following acute muscle trauma. *Med Sci Sports Exerc* 1989; 22(2):185-193.
10. McBride TA, Gorin FA, Carlsen RC. Prolonged recovery and reduced adaptation in aged rat muscle following eccentric exercise. *Mech Ageing Dev* 1995; 83(3): 185-200.
11. Minamoto VB. Características morfológicas do músculo tibialis anterior do rato após traumas periódicos. [Tese de Doutorado]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2000.
12. Lieber RL, Woodburn TM, Fridén J. Muscle damage induced by eccentric contractions of 25% strain. *J Appl Physiol* 1991; 70(6): 2498-2507.
13. Brooke MH, Kaiser KK. Muscle fiber types: how many and what kind? *Arch Neurol* 1970; 23: 369-397.
14. Guth L, Samaha FL. Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. *Exp Neurol* 1969; 25(1): 138-152.
15. Butler J, Cosmos E. Enzymic markers to identify muscle-nerve formation during embryogenesis: modified myosin ATPase and silver-cholinesterase histochemical reactions. *Exp Neurol* 1981; 73: 813-816.
16. Houston ME. Gaining weight: The scientific basis of increasing skeletal muscle mass. *Can J Appl Physiol* 1999; 24(4): 305-316.
17. Irintchev A, Draguhn A, Wernig A. Reinnervation and recovery of mouse soleus muscle after long-term denervation. *Neuroscience* 1990; 30(1): 231-243.
18. Pette D, Staron RS. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int Rev Cytol* 1997; 170: 143-223.
19. Goldspink G. Gene expression in muscle in response to exercise. *J Mus Res Cell Motil* 2003; 24: 121-126.
20. Lieber RL. *Skeletal Muscle, Function, and Plasticity*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott; 2002.
21. Lieber RL, Friden J. Selective damage of fast glycolytic muscle fibers with eccentric contraction of the rabbit tibialis anterior. *Acta Physiol Scand* 1988; 133: 587-588.
22. Luther PK, Barry JS, Squire JM. The three-dimensional structure of a vertebrate wide (slow muscle) Z-band: lessons on Z-band assembly. *J Mob Biol* 2002; 315: 9-20.
23. Luther PK. Three-dimensional structure of a vertebrate muscle Z-band: implications for titin and alpha-actinin binding. *J. Struct. Biol* 2000; 129: 1-16.

Recebido em: 21/06/2005
Received in: 06/21/2005

Aprovado em: 12/05/2006
Approved in: 05/12/2006