

Efeito do alongamento e do exercício contra-resistido no músculo esquelético de rato

Effect of stretching and resistive exercise on skeletal muscles in rats

Secchi KV¹, Morais CP¹, Cimatti PF¹, Tokars E¹, Gomes ARS²

Resumo

Objetivo: Analisar o efeito do alongamento e do exercício resistido no músculo sóleo de rato. **Materiais e métodos:** Foram avaliados 24 ratos Wistar (380±50g) divididos em quatro grupos (n=6): C, controle-intacto; Along, alongamento do músculo sóleo esquerdo durante 40 minutos; ER, exercício resistido, quatro séries de dez saltos; ER+Along, exercício resistido e alongamento. Após oito semanas, foi realizada a eutanásia dos animais e os músculos sóleos foram avaliados quanto ao peso muscular, área de secção transversa das fibras musculares (ASTFM), comprimento muscular, número de sarcômeros em série, comprimento dos sarcômeros e porcentagem de tecido conjuntivo. A análise estatística foi realizada pela comparação entre grupos, por meio do teste de análise de variância (ANOVA) post hoc Tukey, com significância $\leq 0,05$. **Resultados:** As ASTFM dos grupos ER e Along aumentaram quando comparadas ao grupo C. O comprimento muscular e o número de sarcômeros em série do ER+Along foram inferiores aos dos grupos Along e ER. O número de sarcômeros em série do Along foi superior ao C. Não foram encontradas alterações no comprimento dos sarcômeros e na porcentagem de tecido conjuntivo. **Conclusões:** O exercício resistido associado ao alongamento causou diminuição no comprimento muscular e no número de sarcômeros em série, provavelmente devido à frequência diária de exercícios. A realização isolada do alongamento, duas vezes por semana, ou do exercício resistido, três vezes por semana, foi suficiente para induzir hipertrofia muscular.

Palavras-chave: exercícios de alongamento muscular; exercício; sistema musculoesquelético; ratos.

Abstract

Objective: To analyze the effect of stretching and resistive exercise on the soleus muscle in rats. **Methods:** Twenty-four Wistar rats (380±50g) were evaluated, divided into four groups (n=6): C, intact controls; S, left soleus muscle stretched for 40 minutes twice a week; RE, resistive exercise consisting of four series of ten jumps three times a week; and RE+S, resistive exercise plus stretching. After eight weeks, the animals were sacrificed and their soleus muscles were evaluated regarding muscle weight, muscle fiber cross-sectional area (MFCSA), muscle length, number of sarcomeres in series, sarcomere length and percentage of connective tissue. The statistical analysis consisted of comparisons between the groups using the analysis of variance (ANOVA) post-hoc Tukey tests, with a significance level set at ≤ 0.05 . **Results:** The MFCSA in RE and S were greater than in C. Muscle length and the number of sarcomeres in series in RE+S were less than in S and RE. The number of sarcomeres in series in S was greater than in C. No changes were found in sarcomere length or percentage of connective tissue. **Conclusions:** Resistive exercise associated with stretching caused a decrease in muscle length and in the number of sarcomeres in series, probably due to the daily frequency of exercises. Stretching alone, performed twice a week, or resistive exercise performed three times a week, was sufficient to induce muscle hypertrophy.

Key words: muscle stretching exercises; exercise; musculoskeletal system; rats.

Recebido: 16/08/2007 – **Revisado:** 14/12/2007 – **Aceito:** 08/04/2008

¹ Curso de Fisioterapia, Universidade Tuiuti do Paraná (UTP), Curitiba (PR), Brasil

² Curso de Fisioterapia, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Setor Litoral, Matinhos (PR), Brasil

Correspondência para: Anna Raquel Silveira Gomes, Curso de Fisioterapia, Universidade Federal do Paraná, Setor Litoral, Rua Jaguariaíva, 512, CEP 83260-000, Matinhos (PR), Brasil, e-mail: annaraquelsg@gmail.com

Apoio financeiro: UTP, Faculdade Evangélica do Paraná (Fepar) e Programa de Pós-graduação em Biologia Celular da UFPR (Curitiba)

Introdução ::::

Os programas de treinamento desportivo e de reabilitação normalmente são constituídos por um conjunto de exercícios, os quais incluem alongamento antes e/ou após a série de exercícios contra-resistidos^{1,2}.

Muitos protocolos de alongamento são recomendados para aumentar a amplitude de movimento (ADM), prevenir e tratar lesões musculoesqueléticas. Vários estudos, em humanos, avaliaram as adaptações musculares induzidas por diferentes protocolos de alongamento aplicados em músculos normais e/ou encurtados^{1,3-8}.

Bandy e Iron⁵ testaram o efeito de sessões de alongamentos mantidos por 15, 30 e 60 segundos realizadas uma vez por dia em humanos. Os resultados desse estudo mostraram que 30 segundos de alongamento diário realizado apenas uma vez por dia foi suficiente para aumentar a ADM nos músculos isquiotibiais de adultos jovens⁵. Não se observou diferença significativa quando foi realizado duas vezes ao dia⁶. Grady e Saxena⁷ também mostraram que 30 segundos de alongamento, realizado uma vez ao dia, em humanos, foi suficiente para aumentar e manter a ADM. Em humanos idosos submetidos a cinco sessões semanais de alongamento dos músculos isquiotibiais, com duração de 60 segundos, repetindo-se quatro vezes em cada sessão, durante seis semanas, foi observado aumento na ADM⁴. No entanto, quando foram testados tempos de alongamento inferiores a 60 segundos, os ganhos e a manutenção da ADM foram menos efetivos⁴.

Para uso clínico, tem sido proposto que, para ocorrer aumentos mais significativos de ADM, o alongamento deve ser realizado cinco vezes por semana⁸. Entretanto, duas a três sessões semanais são suficientes para gerar ganhos de ADM⁸. Após o ganho, uma sessão de alongamento semanal é eficiente para sua manutenção⁸.

Já o modelo animal, no qual é possível a análise das fibras musculares, mostrou que 30 minutos de alongamento passivo diário foram suficientes para prevenir a perda do número de sarcômeros em série e a atrofia muscular em músculos encurtados por imobilização⁹. Coutinho et al.¹⁰ mostraram que sessões de alongamento mantidas por 40 minutos, realizadas três vezes por semana no músculo sóleo de rato, foram suficientes para aumentar o comprimento muscular, o número de sarcômeros em série e a área de secção transversa das fibras musculares (ASTFM) de músculos não encurtados.

Outro método freqüentemente utilizado para o ganho de massa muscular, com conseqüente hipertrofia, é o exercício contra-resistido, tanto em humanos como em animais¹¹. A hipertrofia muscular conseqüente da prática de exercício contra-resistido pode ser traduzida como um aumento na área de secção transversa das fibras musculares (crescimento radial)

assim como um aumento no número de sarcômeros em série (crescimento longitudinal), decorrente de um incremento na síntese protéica^{11,12}. Também tem sido demonstrado que o ganho de força muscular pode não envolver um aumento na ASTFM, mas apenas um ganho dos sarcômeros em série ou ainda somente uma adaptação neural^{12,13}.

Tanto em humanos quanto em animais, dependendo da intensidade, duração e freqüência, os exercícios de alongamento e o resistido ativam mecanismos hipertróficos. No entanto, não se sabe qual é a resposta do músculo esquelético a esta combinação, tanto para potencializar o treinamento desportivo como para acelerar o processo de reabilitação. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo investigar a adaptação das fibras musculares após a associação do exercício resistido com o alongamento.

Materiais e métodos ::::

Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 24 ratos albinos da linhagem Wistar, com idade de seis meses (380±50g), obtidos no Biotério Central e mantidos em biotério próprio do laboratório de Farmacologia da Universidade Tuiuti do Paraná (UTP). Os animais foram agrupados e mantidos em gaiolas plásticas padrão, em condições ambientais controladas (luminosidade: 12 horas de ciclo claro/escuro), com livre acesso à água e ração peletizada. O projeto foi conduzido segundo as normas internacionais de ética na experimentação animal¹⁴ e aprovado pelo Comitê de Ética da UTP, sob número 019/2005. Para se efetuar o alongamento passivo, a dissecação do músculo sóleo e a eutanásia, os animais foram previamente pesados e anestesiados com injeção intraperitoneal de ketamina (Dopalen, Sespo, Jacareí, São Paulo), 95mg/kg de peso corporal, e xylazina (Anasedan, Sespo, Jacareí, São Paulo), 12 mg/kg de peso corporal.

Os animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos: 1) controle (C, n=6): os ratos não foram submetidos a nenhum procedimento; 2) alongamento (Along, n=6): os ratos foram submetidos ao alongamento do músculo sóleo esquerdo; 3) exercício resistido (ER, n=6): os ratos foram submetidos a um protocolo de treinamento contra-resistido; 4) exercício resistido e alongamento (ER+Along, n=6): os ratos foram submetidos ao alongamento muscular duas vezes por semana (terças e quintas) e ao exercício contra-resistido três vezes por semana (segundas, quartas e sextas), durante oito semanas consecutivas.

Os protocolos de alongamento e exercício resistido eram realizados a partir das 13h30 de cada dia, em ordem crescente do rato 1 ao 6, para o grupo ER+Along. No grupo Along, todos

os ratos eram anestesiados e colocados em posição de alongamento concomitantemente.

Protocolo de alongamento

Os animais tiveram a articulação tibia-társica esquerda posicionada manualmente em flexão dorsal máxima, mantendo-se o músculo sóleo alongado por meio de uma fita adesiva, por um período de 40 minutos¹⁰. O protocolo foi realizado com o animal sob anestesia, duas vezes por semana (terças e quintas), durante oito semanas consecutivas.

Protocolo de treinamento de exercício contra-resistido¹⁵

O exercício contra-resistido foi realizado como descrito por Renno et al.¹⁵. O protocolo de treinamento foi constituído por quatro séries de dez saltos, com intervalo de 60 segundos (cronômetro Cal. H545, Tokyo, Japan) entre cada série. Os treinamentos foram realizados três vezes por semana (segundas, quartas e sextas-feiras), durante oito semanas consecutivas.

Posteriormente, ambos os músculos sóleos direito e esquerdo, do grupo ER+Along, e somente o músculo sóleo esquerdo dos demais grupos foram retirados e pesados em balança (Mark Bell Engineering, Italy) isoladamente. Em seguida, foram divididos longitudinalmente em duas partes iguais: uma parte foi submetida aos procedimentos de rotina para avaliação do número de sarcômeros em série¹⁰ e a outra parte foi fixada em Zenker para posterior avaliação morfológica e morfométrica.

Identificação do número de sarcômeros em série

As fibras musculares foram isoladas e fixadas como descrito por Coutinho et al.¹⁰. Em cada fibra muscular, o número de sarcômeros em série foi identificado ao longo de 300µm, em microscópio de luz (Nikon, Tokyo, Japan), em objetiva de 100x em imersão. A quantificação foi realizada em monitor de vídeo (14") com sistema de vídeo-imagem (Adler CCTV) acoplado ao microscópio (Nikon, Tokyo, Japan), com auxílio do contador (Veeder-Root, Washington, USA) no laboratório de Patologia da Faculdade Evangélica do Paraná (Fepar).

O número total de sarcômeros e o comprimento dos sarcômeros em cada fibra muscular isolada foram estimados pela correlação entre o número de sarcômeros identificados ao longo de 300µm da fibra e o comprimento total do músculo, como descrito por Williams et al.¹⁶. Apesar de haver controvérsias na literatura, nesse estudo, o comprimento dos sarcômeros ao longo das fibras musculares foi considerado homogêneo (para revisão, ver Coutinho et al.¹⁰).

Procedimentos para análise morfológica

O fragmento retirado da metade medial do ventre de cada músculo sóleo foi corado com hematoxilina de Harris e eosina (H&E) para análise histomorfológica da ASTFM. Em outras lâminas histológicas, outros cortes foram corados com tricrômio de Mallory para avaliação da porcentagem do tecido conjuntivo (perímísio e endomísio).

As fotomicrografias dos cortes histológicos foram realizadas em microscópio de luz (Axyophot, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) e capturadas em sistema de vídeo-imagem (Applied Spectral Imaging, Migdal Ha'emek, Israel) por meio do Programa Case Data Manager Expo (Applied Spectral Imaging, Migdal Ha'emek, Israel, versão 4.0) no Departamento de Pós-graduação em Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Curitiba. Em cada músculo, foi medida a ASTFM e a porcentagem de tecido conjuntivo, com o auxílio do software UTHSCSA Image Tool 3.0 (desenvolvido na University of Texas Health Science Center at San Antonio, Texas, e disponível no endereço <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>).

Foi mensurada a área de secção transversa de cem fibras musculares de cada músculo, escolhidas de modo aleatório da região do ventre muscular da secção histológica, como descrito por Coutinho et al.¹⁰.

A análise da porcentagem da área do tecido conjuntivo foi realizada primeiramente pela seleção de toda a área do corte corado com tricrômio de Mallory e fotografado em objetiva de 10x equivalente a 100%. Em seguida, era excluída a área de secção transversa de todas as fibras musculares, isolando-se somente o tecido conjuntivo, isto é, o perímísio e o endomísio. Após essa leitura, os resultados foram expressos em porcentagem¹⁷.

Análise estatística

Para testar se cada variável possuía normalidade, foi efetuado o teste Shapiro Wilks. A conclusão do teste se deu segundo o p-valor associado, para um nível de confiança de 99%.

Após a confirmação da normalidade, foram comparados os valores do peso corporal inicial com o peso no final das oito semanas de experimento, em cada grupo experimental (intra-grupo), por meio do teste *t* pareado.

No grupo ER+Along, foi realizado o teste *t* pareado para a comparação entre as patas direita (exercício resistido) e esquerda (submetida ao alongamento e exercício resistido).

Os resultados de todas as variáveis analisadas (peso corporal, peso muscular, comprimento muscular, número e comprimento dos sarcômeros, ASTFM e porcentagem de tecido conjuntivo)

foram comparados entre os grupos experimentais (intergrupos), por meio da análise de variância (ANOVA), *post hoc* Tukey.

Os valores foram considerados significativos quando $p \leq 0,05$.

Resultados

Peso corporal e muscular

O grupo ER+Along aumentou o peso corporal final quando comparado com o peso inicial ($p=0,007$). O peso corporal final foi superior no grupo ER, quando comparado com o C ($p=0,002$) e com o ER+Along ($p=0,002$; Figura 1A).

O peso do músculo sóleo esquerdo do grupo submetido ao exercício resistido (ER) apresentou aumento (Figura 1B) quando comparado com os demais grupos: C ($p=0,003$); Along ($p=0,01$); ER+Along ($p=0,0003$).

ASTFM

Foi notado um aumento na ASTFM no grupo Along ($p=0,037$) e no ER ($p=0,02$) quando comparado com o C (Figura 1C).

Porcentagem de tecido conjuntivo

Não foram encontradas diferenças significativas na porcentagem de tecido conjuntivo em todos os grupos avaliados (Figura 1D).

Comprimento muscular

Foi observada diminuição no comprimento do músculo sóleo esquerdo do ER+Along quando comparado com os demais grupos: C ($p=0,04$); Along ($p=0,005$) e ER ($p=0,0003$). Observou-se também aumento no grupo exercício resistido (ER) em relação ao controle (C) ($p=0,05$) conforme Figura 2A.

Número total de sarcômeros em série e comprimento dos sarcômeros

O número total de sarcômeros em série do grupo Along foi superior quando comparado ao C. Ainda, ER+Along foi inferior aos grupos Along ($p=0,002$) e ER ($p=0,001$), conforme Figura 2B.

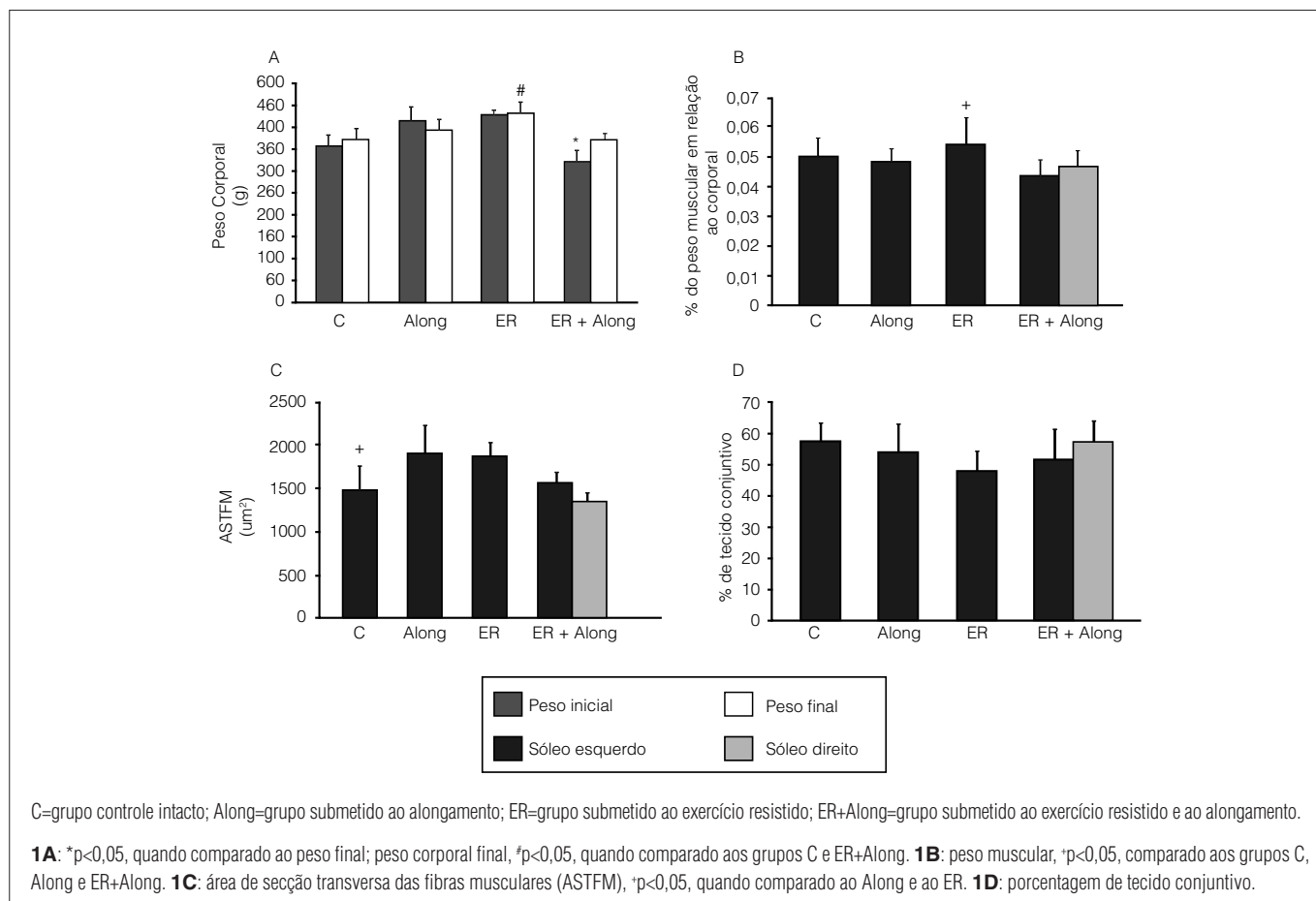


Figura 1. Efeito do alongamento e do exercício resistido no peso corporal e na análise radial do músculo sóleo de rato.

Não se observaram diferença nos valores do comprimento dos sarcômeros do músculo sóleo em todos os grupos analisados (Figura 2C).

Discussão

O presente estudo mostrou que tanto o protocolo de alongamento, realizado duas vezes por semana, quanto o exercício contra-resistido, realizado três vezes por semana, aplicados isoladamente por oito semanas consecutivas, foram suficientes para induzir hipertrofia muscular, visto que foi observado um aumento na ASTFM.

Coutinho et al.¹⁰ testaram o efeito do alongamento em músculo sóleo de rato, com comprimento normal, isto é, não encurtado, realizado três vezes por semana, durante 40 minutos, e constataram aumento na área de secção transversa, isto é, crescimento radial, além de aumento no número de sarcômeros em série (sarcomerogênese), crescimento longitudinal, sem alterar o peso muscular. Assim, pode ser sugerido que, mesmo quando a frequência do alongamento foi reduzida para apenas duas vezes por semana, como se realizou no presente

estudo, também é possível induzir hipertrofia muscular radial e longitudinal.

Russel, Motlagh e Ashley¹⁸ têm sugerido que a direção do crescimento muscular, tanto longitudinal (em série) quanto radial (em paralelo), não é controlada pela transcrição, mas por um mecanismo pós-transcricional – como a tradução. Estudos demonstram que o crescimento longitudinal ocorre pelo aumento na síntese protéica, principalmente nas extremidades distais da fibra muscular^{19,20}. Já o crescimento muscular em paralelo, que ocorre nas regiões mais densas do músculo, se dá por meio da difusão de proteínas neo-sintetizadas, por intermédio dos microtúbulos¹⁸. Apesar desses indícios, ainda permanecem desconhecidos os mecanismos que regulam o crescimento muscular em série e em paralelo.

No presente trabalho, o alongamento realizado duas vezes por semana, em músculos normais não alterou a porcentagem de tecido conjuntivo. Assim como já foi observado por outros autores, o músculo esquelético responde ao exercício diferentemente de acordo com a disfunção, como por exemplo, lesão²¹, diminuição do uso²², imobilização¹¹ e sarcopenia¹⁵. Como demonstrado por Williams et al.¹⁶, que avaliou o efeito do alongamento por 15 minutos, a cada dois dias, em músculos

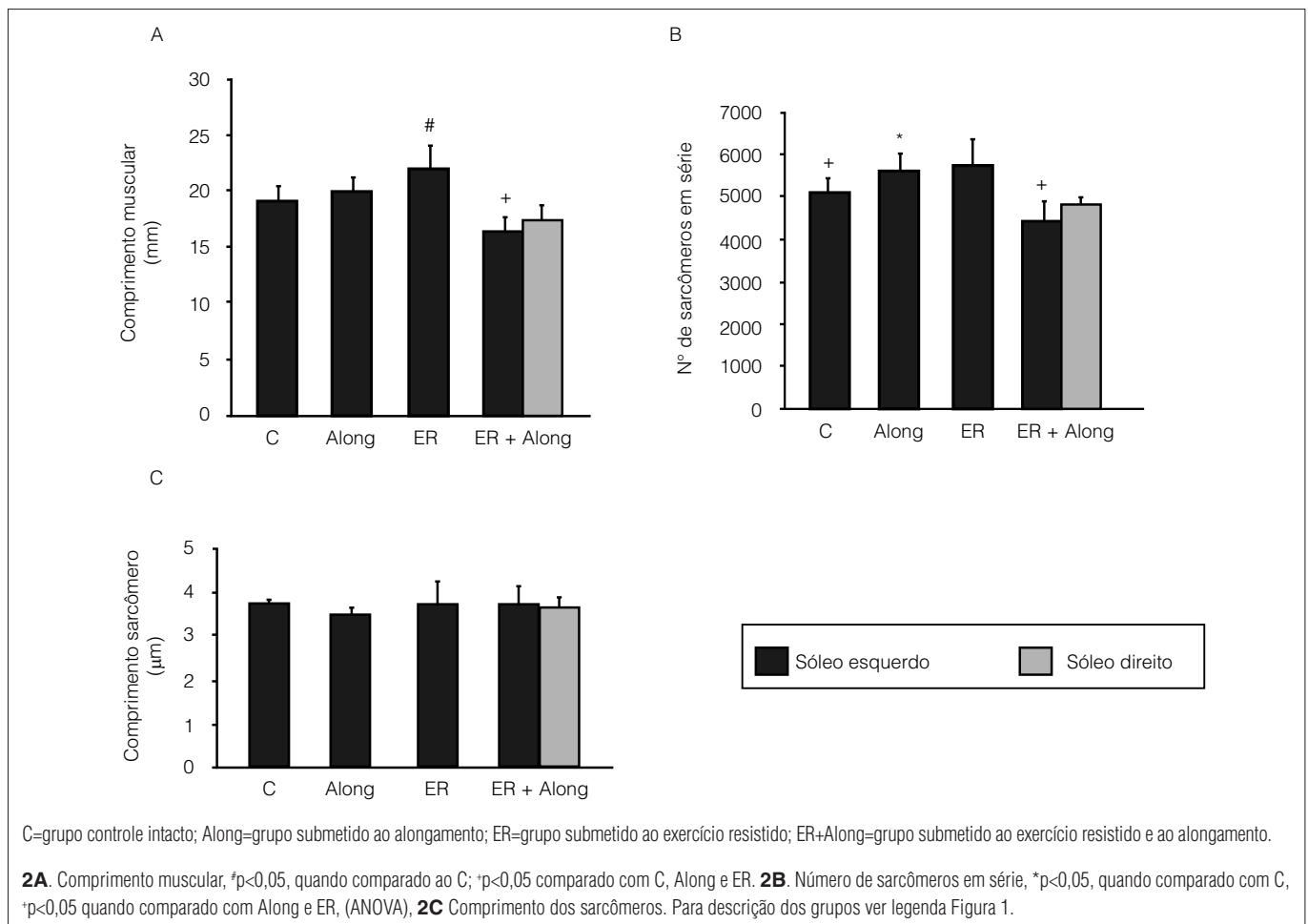


Figura 2. Efeito do alongamento e do exercício resistido na análise longitudinal do músculo sóleo de rato.

encurtados, não foi observado aumento no número de sarcômeros em série. No entanto, a porcentagem de tecido conjuntivo foi inferior, quando comparado com músculos somente encurtados por imobilização¹⁶. Isso nos sugere que o músculo normal e o músculo encurtado possuem plasticidades diferentes.

Hornberger e Farrar²³ realizaram treinamento resistido com ratos por um período de oito semanas e observaram aumento na massa muscular e na quantidade de proteína do músculo flexor longo do hálux (FLH) e nenhuma alteração no sóleo. Os autores atribuem a hipertrofia específica do FLH ao tipo de treinamento (escalada) realizado, que exigia mais deste músculo²³. Recentemente, foi observado ainda que ratas ovariectomizadas e submetidas ao mesmo protocolo de treinamento resistido do presente estudo apresentaram um aumento de peso muscular, tanto no tibial anterior quanto no sóleo, e nenhuma diferença na ASTFM de ambos os músculos¹⁵. Portanto, pode-se propor que o aumento do peso muscular e da ASTFM do grupo ER pode estar relacionado com os hormônios sexuais, uma vez que os animais do presente estudo eram machos, e também com o tipo e a frequência de treinamento realizados. E ainda, que o aumento na massa muscular não é diretamente proporcional ao aumento na ASTFM, visto que, no grupo Along, não foi observado aumento no peso muscular, somente na ASTFM e que o tipo de músculo (se tem predomínio de fibras rápidas ou lentas) também interfere na adaptação ao exercício.

Tanto o protocolo de treinamento aplicado neste estudo quanto os níveis de hipertrofia observados nos músculos submetidos apenas ao exercício resistido (27% superior ao controle) são comparáveis aos observados em humanos²⁴.

Surpreendeu a observação de que ocorreu uma diminuição no comprimento muscular e no número de sarcômeros em série quando foi realizada a associação do exercício resistido e do alongamento. Este resultado sugere que a frequência com que foram realizados os protocolos, isto é, diariamente, diminuiu a sarcomerogênese. No entanto, quando o alongamento foi realizado isoladamente, duas vezes por semana, ocorreu aumento no número de sarcômeros. Outros autores também relataram a influência da frequência do alongamento na plasticidade muscular^{10,25}. Pode-se propor ainda que a associação do alongamento com o exercício resistido regula o número de sarcômeros em série e a ASTFM por diferentes mecanismos, porque nenhuma mudança foi observada na ASF. O óxido nítrico, derivado da isoforma neuronal do óxido nítrico-sintase, é um modulador positivo da adição de sarcômeros em série^{26,27}. Enquanto a calcineurina, uma proteína fosfatase Ca^{+2} /calmodulina dependente e o fator de crescimento semelhante a insulina I (IGF-I) ativando a fosfatidil-inositol 3-quinase (PI3K)-AKT (uma quinase serina treonina) parece regular a hipertrofia muscular^{28,29}.

Assim, a diminuição do número de sarcômeros em série e nenhuma modificação na ASTFM no ER+Along corroboram com alguns autores que sugerem um intervalo entre os treinamentos de, pelo menos, 36 a 48 horas, visto que este é o período de pico de síntese protéica após o exercício².

Outro aspecto importante, que teve que ser levado em conta, foi a manipulação diária dos animais do grupo ER+Along. Isso pode ter contribuído para o estresse do animal, podendo, assim, ter colaborado com a perda de sarcômeros. Desta forma, a frequência de realização do exercício deve ser enfatizada na sua prescrição, em especial o período de repouso entre os treinos, para que não aumente o catabolismo.

O presente estudo apresenta algumas limitações, como o protocolo de alongamento aplicado, poderia ter sido mantido por um tempo mais utilizado clinicamente, mantendo-se apenas alguns segundos, apesar de existirem técnicas fisioterapêuticas, como a reeducação postural global (RPG), que preconiza aumentos na ADM, de forma gradual, durante 20 a 30 minutos³⁰. Mais estudos serão necessários para elucidar os mecanismos celulares, moleculares e funcionais do efeito da associação dos exercícios de alongamento e resistido, tão largamente usados na prática clínica da Fisioterapia. Sugere-se, ainda, que sejam realizados estudos clínicos randomizados, com avaliação por meio de ressonância magnética e/ou biópsias, para mensuração da área de secção transversa do músculo e das fibras, além de análises da performance muscular funcional, por meio de dinamômetro isocinético, eletromiógrafo e plataforma de força.

Conclusões : : : .

A associação do exercício de alongamento com o exercício resistido causou diminuição no comprimento muscular e no número de sarcômeros em série, provavelmente devido à frequência diária de exercícios. Os protocolos de alongamento ou exercício resistido, aplicados isoladamente, foram suficientes para induzir hipertrofia muscular.

Agradecimentos : : : .

Agradecemos ao apoio técnico de Elisângela Poppin, para a confecção das lâminas histológicas, e de Carlos Barbosa, para a realização dos procedimentos experimentais. Contamos com o apoio de Rosinei Valle, Carolina Portella e Priscilla Franco Cimatti, da Fepar, para a contagem do número de sarcômeros em série.

Referências bibliográficas

1. Gajdosik RL. Passive extensibility of skeletal muscle: review of the literature with clinical implications. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 2001;16(2):87-101.
2. Kraemer WJ, Adams K, Cafarelli E, Dudley GA, et al. Progression models in resistance training for health adults. *American College of sports medicine. Med Sci Sports Exercise*. 2002;34(2):364-80.
3. Wallin D, Ekblom B, Grahn R, Nordenborg T. Improvement of muscle flexibility: a comparison between two techniques. *Am J Sports Med*. 1985;13(4):263-8.
4. Feland JB, Myrer JW, Schulthies SS, Fellingham GW, Measom GW. The effect of duration of stretching of the hamstring muscle group for increasing range of motion in people age 65 years or older. *Phys Ther*. 2001;81(5):1110-7.
5. Bandy WD, Iron JM. The effect of time on static stretch on the flexibility of hamstring muscles. *Phys Ther*. 1994;74(9):845-52.
6. Bandy WD, Iron JM, Briggler M. The effect of time and frequency of static stretching on flexibility of the hamstring muscles. *Phys Ther*. 1997;77(10):1090-6.
7. Grady JF, Saxena A. Effects of stretching the gastrocnemius muscle. *J Foot Ankle Surg*. 1991;30(5):465-9.
8. Frontera WR, Dawson DM, Slovick DM, editors. *Exercise in rehabilitation medicine*. USA: Human Kinetics; 1999.
9. Williams PE. Use of intermittent stretch in the prevention of serial sarcomere loss in immobilised muscle. *Ann Rheum Dis*. 1990;49(5):316-7.
10. Coutinho EL, Gomes ARS, França CN, Oishi J, Salvini TF. Effect of passive stretching on the immobilized soleus muscle fiber morphology. *Braz J Med Biol Res*. 2004;37(12):1853-61.
11. Timson BF. Evaluation of animal models for the study of exercise-induced muscle enlargement. *J Appl Physiol*. 1990;69(6):1935-45.
12. Koh TJ. Do adaptations in serial sarcomere number occur with strength training? *Hum Mov Sci*. 1995;14:61-77.
13. Wilmore JH, Costill DL, editores. *Fisiologia do esporte e do exercício*. 2ª ed. Barueri: Manole; 2001.
14. National Research Council. *Guide for the care and use of laboratory animals*. Washington (DC): National Academy Press; 1996.
15. Renno AC, Gomes ARS, Nascimento RB, Salvini T, Parizoto N. Effects of a progressive loading exercise program on the bone and skeletal muscle properties of female osteopenic rats. *Exp Gerontol*. 2007;42(6):517-22.
16. Williams PE, Catanese T, Lucey EG, Goldspink G. The importance of stretch and contractile activity in the prevention of connective tissue accumulation in muscle. *J Anat*. 1988;158:109-14.
17. Mattiello-Sverzut AC, Carvalho LC, Cornachione A, Nagashima M, Neder L, Shimano AC. Morphological effects of electrical stimulation and intermittent muscle stretch after immobilization in soleus muscle. *Histol Histopathol*. 2006;21(9):957-64.
18. Russel B, Motlagh D, Ashley WW. Form follows function: how muscle shape is regulated by work. *J Appl Physiol*. 2000;88(3):1127-32.
19. Williams PE, Goldspink G. The effect of immobilization on the longitudinal growth of striated muscle fibres. *J Anat*. 1973;116(Pt 1):45-55.
20. Dix DJ, Eisenberg BR. Myosin mRNA accumulation and myofibrillogenesis at the myotendinous junction of stretched muscle fibers. *J Cell Biol*. 1990;111(5 Pt 1):1885-94.
21. Hwang JH, Ra YJ, Lee KM, Lee JY, Ghil SH. Therapeutic effect of passive mobilization exercise on improvement of muscle regeneration and prevention of fibrosis after laceration injury of rat. *Arch Phys Med Rehabil*. 2006;87(1):20-6.
22. Trappe S, Trappe T, Gallagher P, Harber M, Alkner B, Tesch P. Human single muscle fiber function with 84 day bed-rest and resistance exercise. *J Physiol*. 2004;557(Pt 2):501-13.
23. Hornberger TA, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol*. 2004;29(1):16-31.
24. Widrick JJ, Stelzer JE, Shoepe TC, Garner DP. Functional properties of human muscle fibers after short-term resistance exercise training. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002;283(2):R408-16.
25. Gomes ARS, Coutinho EL, França CN, Polonio J, Salvini TF. The effect of one stretch a week applied to the immobilized soleus muscle on rat muscle fiber morphology. *Braz J Med Biol Res*. 2004;37(10):1473-80.
26. Tidball JG, Lavergne E, Lau KS, Spencer MJ, Stull JT, Wehling M. Mechanical loading regulates NOS expression and activity in developing and adult skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1998;275(1 Pt 1):C260-6.
27. Koh TJ, Tidball JG. Nitric oxide synthase inhibitors reduce sarcomere addition in rat skeletal muscle. *J Physiol*. 1999;519 Pt (1):189-96.
28. Dunn SE, Burns JL, Michel RN. Calcineurin is required for skeletal muscle hypertrophy. *J. Biol. Chem*. 1999;274(31):21908-12.
29. Glass DJ. Molecular mechanisms modulating muscle mass. *Trends Mol Med*. 2003;9(8):344-50.
30. Souchard PE. *Reeducação postural global: método do campo fechado*. São Paulo: Ícone; 1998.