

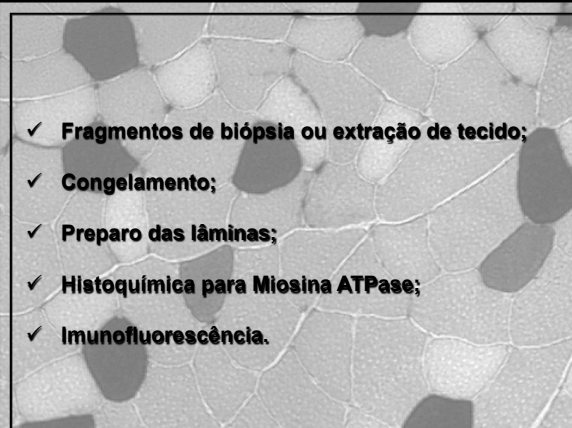
Fisiologia da Atividade Motora I - EEFESUSP  
 Laboratório de Fisiologia Celular e Molecular do Exercício



**Tipos de Fibras Musculares**



Dr. Marcelo G. Pereira

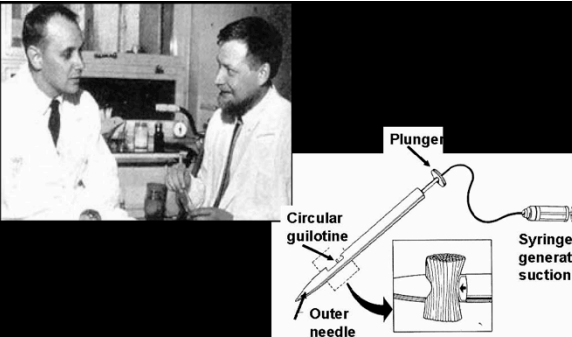


- ✓ **Fragmentos de biópsia ou extração de tecido;**
- ✓ **Congelamento;**
- ✓ **Preparo das lâminas;**
- ✓ **Histoquímica para Miosina ATPase;**
- ✓ **Imunofluorescência.**

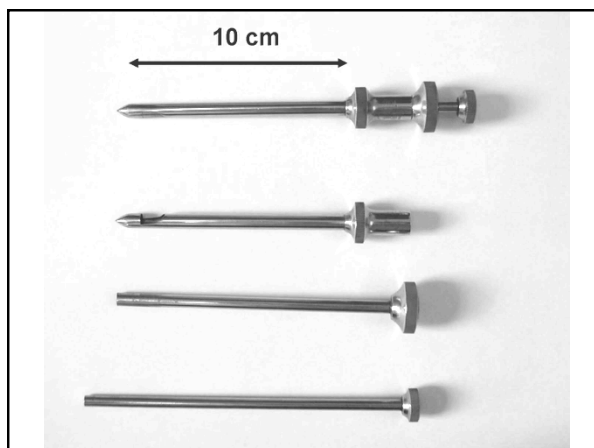
***Biópsia ou Extração do tecido***

|   |   |
|---|---|
| Humanos   | Animais de experimentação   |
|  |  |

**Bergström and Hultman (Stockholm 1962)**



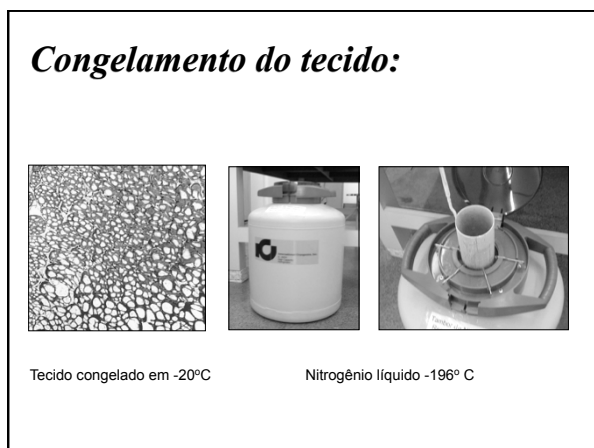
The diagram illustrates the technique: a **Plunger** is used to push a **Circular guillotine** through an **Outer needle**. A **Syringe to generate suction** is attached to the needle to pull the muscle tissue into it.



**Congelamento do tecido:**

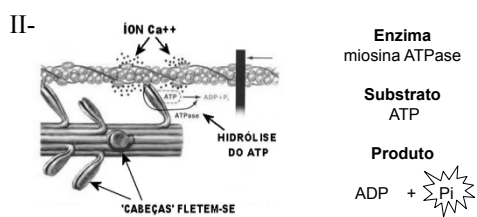


**Congelamento do tecido:**



**Histoquímica para miosina ATPase**

I- Pré tratamento com diferentes pHs



O Pi não é detectável histoquimicamente



### Histoquímica para miosina ATPase

$Pi + Ca^{++} \rightarrow CaPO_4$

Para deixá-lo menos solúvel e mais visível, o  $CaPO_4$  é convertido em Sulfato de cobalto

$CoSO_4$

pH 10.3

|          | pH 4.3 | pH 4.6 | pH 10.3 |
|----------|--------|--------|---------|
| Tipo I   | ○      | ○      | ○       |
| Tipo IIA | ○      | ○      | ○       |
| Tipo IIX | ○      | ○      | ○       |
| Tipo IIB | ○      | ○      | ○       |

Coloração para miosina ATPase com pré-incubação a pH=10.3 (A) e 4.3 (B)

### Tipagem de Fibras por Imunofluorescência

| Dye              | Laser excitation line (nm) | Maximal absorbance (nm) | Maximal emission (nm) | Fluorescence color |
|------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------|
| Alexa Fluor® 405 | 405, 407                   | 401                     | 421                   |                    |
| Alexa Fluor® 430 | 405, 407                   | 433                     | 541                   |                    |
| Alexa Fluor® 488 | 489                        | 495                     | 519                   |                    |
| Alexa Fluor® 633 | 633, 635, 647              | 632                     | 647                   |                    |
| Alexa Fluor® 647 | 633, 635, 647              | 650                     | 665                   |                    |
| Alexa Fluor® 660 | 633, 635, 647              | 663                     | 690                   |                    |
| Alexa Fluor® 680 | 633, 635, 647              | 679                     | 702                   |                    |
| Alexa Fluor® 700 | 633, 635, 647              | 702                     | 723                   | Infrared           |
| APC              | 633, 635, 647              | 650                     | 661                   |                    |
| FITC             | 488                        | 490                     | 525                   |                    |
| Pacific Blue™    | 405, 407                   | 410                     | 455                   |                    |
| PerCP            | 488                        | 490                     | 675                   |                    |
| Phycoerythrin    | 488                        | 490, 565                | 578                   |                    |

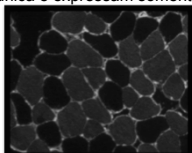
### Tipagem de Fibras por Imunofluorescência

1/slow - 2A - 2X - 2B

## ***Fibras “puras” e Fibras “híbridas”***

**Fibras puras:** fibras cuja característica é única e expressam somente um tipo de MHC

Ex: I = MHC1 $\beta$   
IIA = MHCIIa  
IIX/D = MHCIIx/IIId



**Fibras híbridas:** fibras que expressam mais de uma isoforma de MHC

% Fibras híbridas alta em músculos em transformação.

**“Natureza transitória”**

