
EDUCAÇÃO FÍSICA

Johann Simon Hoffmann

**ANÁLISE MORFOLÓGICA DA JUNÇÃO
MIOTENDÍNEA E VENTRE DOS MÚSCULOS
TIBIAL ANTERIOR E SÒLEO DE RATAS
OVARIECTOMIZADAS SUBMETIDAS A UM
TREINAMENTO DE NATAÇÃO**

Johann Simon Hoffmann

ANÁLISE MORFOLÓGICA DA JUNÇÃO MIOTENDÍNEA E VENTRE DOS
MÚSCULOS TIBIAL ANTERIOR E SÒLEO DE RATAS
OVARIECTOMIZADAS SUBMETIDAS A UM TREINAMENTO DE
NATAÇÃO

Orientador: Prof. Dr. Adriano Polican Ciena

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharel em Educação Física.

Rio Claro

2016

796.022 Hoffmann, Johann Simon
H699a Análise morfológica da junção miotendínea e ventre dos músculos tibial anterior e sòleo de ratas ovariectomizadas submetidas a um treinamento de natação / Johann Simon Hoffmann. - Rio Claro, 2016
58 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Educação Física) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Adriano Polican Ciena

1. Cinesiologia. 2. Exercício físico. 3. Ovariectomia. 4. Músculo esquelético. I. Título.

DEDICATÓRIA

*Aos meus Pais Laury
Hoffmann e Marcia
Helena Albieiro Hoffmann
e irmã Marília Katerine
Hoffmann*

Agradecimentos

Agradeço a meu pai, Laury, minha mãe Marcia e minha irmã Marília, pela paciência e incentivo durante esta etapa de minha formação.

Agradeço ao meu estimado amigo Gabriel Teixeira por todo apoio e força prestado durante esses anos.

Agradeço ao meu prezado amigo e colega de laboratório Bruno Rubin Cerri e Gabriel Fávaro por toda a explicação e companheirismo durante esses anos de laboratório.

Saudações para meus estimados amigos Wanglares Pedro Nandin Neto, Pedro Antônio Pennacchioni Filho

Um imenso obrigado a minha companheira, amiga e namorada Mirian Hirumi Silva Kumisaki por toda a paciência e colaboração.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Adriano Polican Ciena por todas as oportunidades oferecidas, a grande paciência e os ensinamentos passados.

Obrigado aos técnicos Eduardo Custódio e José Roberto Rodrigues da Silva pela ajuda.

Um grande obrigado a técnica de histologia do Departamento de Anatomia do ICB-III, USP, Sonia Regina Yokomizo de Almeida e Marta da Silva Righetti por toda a ajuda.

Agradeço aos meus colegas do LAMAF pelo companheirismo, amizade e disposição.

Epígrafe

“Toda a nossa vida
na medida em que tem forma definida
não é nada além de uma massa de hábitos”
(William James)

It matters not how strait the gate,
How charged with punishments the scroll,
I am the master of my fate,
I am the captain of my soul.
(William Ernest Henley - *Invictus*)

Resumo

Nas extremidades do músculo esquelético onde o tendão e músculos se comunicam localiza-se a junção miotendínea (JMT). A ovariectomia é o processo de remoção bilateral dos ovários. Este procedimento reduz a quantidade dos hormônios sexuais e pode acarretar alterações ao sistema muscular. As alterações na junção miotendínea após a ovariectomia podem comprometer a transmissão de força e a organização dos feixes de fibras, que possivelmente serão atenuadas com a aplicação de um protocolo de treinamento. O objetivo do presente estudo consistiu em analisar as alterações morfológicas na junção miotendínea e ventre dos músculos tibial anterior e sóleo de ratas submetidas à ovariectomia e ao protocolo de treinamento. Foram utilizadas 40 ratas Wistar divididas em 4 Grupos: Sedentário (S), Treinado (T), Ovariectomizado (O), Ovariectomizado Treinado (OT). Após o término do protocolo experimental amostras foram coletadas e preparadas para microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão. A mensuração da massa corporal através das médias e desvio padrão da massa corporal dos 4 grupos foram divididas em 3 períodos específicos. No músculo tibial anterior evidenciaram no Grupo S, tenócitos nas extremidades das fibras tendíneas, projeções com extremidades arredondadas e predominância do colágeno Tipo I, fibras tendíneas adjacentes ao endomísio, sarcômeros alinhados em série, invaginações e evaginações. No Grupo T aumento nas projeções das fibras do tendão, aumento no número de tenócitos entre os tecidos, padrão pontiagudo e prevalência de colágeno Tipo III, aumento na espessura e número de projeções do tendão, sarcômeros alinhados em série e aumento das invaginações e evaginações. No Grupo O aumento na projeção das fibras do tendão e tenócitos alongados nas extremidades dos tecidos, predomínio do colágeno Tipo III, sarcômeros em série desalinhados, número reduzido de fibras do tendão e aumento das invaginações e evaginações. No Grupo OT aumento significativo nas projeções e espessamento do tecido conjuntivo, aumento no número de tenócitos, aumento do colágeno Tipo III nas células musculares e Tipo I no tendão, sarcômeros alinhados em série, grande número de fibras tendíneas e aumento das invaginações e evaginações. No músculo Sóleo observa-se no Grupo S as fibras do tendão dispostas paralelamente às células musculares com a presença de tenócitos, projeções das fibras tendíneas paralelas ao endomísio, sarcômeros alinhados em série e invaginações e evaginações. No Grupo T aumento da projeção das fibras tendíneas e número de tenócitos, aumento na quantidade de fibras tendíneas, sarcômeros alinhados em série e aumento nas invaginações e evaginações. No Grupo O poucas projeções de fibras do tendão e tenócitos, número reduzido de projeções tendíneas e tamanho reduzido dos sarcômeros alinhados em série e menores invaginações e evaginações. No Grupo OT aumento nas projeções das fibras tendíneas e tenócitos, aumento de fibras tendíneas paralelas ao endomísio e de invaginações e evaginações. Concluímos que a área de contato na interface músculo tendão aumentou em espessura e comprimento das invaginações sarcoplasmáticas, portanto, promoveu o fortalecimento da junção miotendínea no grupo treinado, demonstrou ser benéfica e eficiente, amenizando o quadro de sarcopenia induzido pela ovariectomia que a torna menos propensa a lesão.

Palavras Chave: Tibial Anterior, Sóleo, Junção Miotendínea, Exercício Físico, Microscopia de Luz, Microscopia Eletrônica.

Lista de Figuras

- Figura 1** - Região ventral do abdome após a tricotomia e assepsia do local (**A**). Exposição do útero bicornado pra a remoção dos ovários localizados em sua extremidade (**B**).....**25**
- Figura 2** - Tubo de PVC utilizado para individualização (**A**). Centro de treinamento com os tanques utilizados (**B**). Execução do protocolo de treinamento. (**C**)..... **26**
- Figura 3** - Microscopia de Luz da junção miotendínea do músculo tibial anterior. Grupo Sedentário (**A**), Grupo Treinado (**B**), Ovariectomizado (**C**), Ovariectomizado Treinado (**D**). A região da junção miotendínea (**Seta**) apresenta a comunicação entre a célula muscular (**M**) e as fibras do tendão (**T**). Os tenócitos estão localizados nas extremidades dos tecidos (**Cabeça de Seta**). HE. 40x.....**33**
- Figura 4** - Microscopia de Luz da junção miotendínea do músculo sóleo. Grupo Sedentário (**A**), Grupo Treinado (**B**), Ovariectomizado (**C**), Ovariectomizado Treinado (**D**). A região da junção miotendínea (**Seta**) revela a comunicação entre a célula muscular (**M**) e as fibras do tendão (**T**). Os tenócitos localizam-se entre os tecidos (**Cabeça de Seta**). HE. 40x..... **34**
- Figura 5** - Microscopia de Luz do ventre muscular do músculo tibial anterior de ratas Wistar. Grupo Sedentário (**A**), Grupo Treinado (**B**), Ovariectomizado (**C**), Ovariectomizado Treinado (**D**). Apresenta o Perimísio (**Seta**) envolvendo o feixe de fibras musculares (**M**). Os tenócitos localizam-se no endomísio (**Cabeça de Seta**). HE.20x..... **35**
- Figura 6** - Microscopia de Luz do ventre muscular do músculo sóleo de ratas Wistar. Grupo Sedentário (**A**), Grupo Treinado (**B**), Ovariectomizado (**C**), Ovariectomizado Treinado (**D**). Apresenta o Perimísio (**Seta**) envolvendo o feixe de fibras musculares (**M**). Os tenócitos localizam-se no endomísio e perimísio (**Cabeça de Seta**). HE. 20x..... **36**
- Figura 7** - Microscopia de Luz da junção miotendínea do músculo tibial anterior de ratas Wistar. Grupo Sedentário (**A**), Grupo Treinado (**B**), Ovariectomizado (**C**), Ovariectomizado Treinado (**D**). A região da junção miotendínea (**Seta**) apresenta a interação entre a célula muscular (**M**) e as fibras do tendão (**T**). PS. 40x.....**37**
- Figura 8** - Microscopia de Luz da junção miotendínea do sóleo de ratas Wistar. Grupo Sedentário (**A**) Ampliação 20x. Grupo Treinado (**B**) 40x, Ovariectomizado (**C**) 40x, Ovariectomizado Treinado (**D**) 20x. A região da junção miotendínea (**Seta**) apresenta a interação entre a célula muscular (**M**) e as fibras do tendão (**T**). PS..... **38**

Figura 9 - Microscopia de Luz da junção miotendínea do músculo tibial anterior de ratas Wistar. Grupo Sedentário (**A**), Grupo Treinado (**B**), Ovariectomizado (**C**), Ovariectomizado Treinado (**D**). A região da junção miotendínea (**Seta**) apresenta comunicação entre a célula muscular (**M**) e as fibras do tendão (**T**). PS sob luz polarizada. 40x.....**39**

Figura 10 - Microscopia Eletrônica de Varredura da junção miotendínea do músculo tibial anterior de ratas Wistar. Grupo Sedentário (**A**), Grupo Treinado (**B**), Ovariectomizado (**C**), Ovariectomizado Treinado (**D**). A região da junção miotendínea (**Seta**) apresenta o encontro entre a célula muscular (**M**) e as fibras do tendão (**T**). Endomísio reveste os feixes de fibras (**Cabeça de Seta**)..... **40**

Figura 11 - Microscopia Eletrônica de Varredura da junção miotendínea do músculo sóleo de ratas Wistar. Grupo Sedentário (**A**), Grupo Treinado (**B**), Ovariectomizado (**C**), Ovariectomizado Treinado (**D**). A região da junção miotendínea (**Seta**) apresenta o encontro entre a célula muscular (**M**) e as fibras do tendão (**T**). Endomísio reveste os feixes de fibras (**Cabeça de Seta**).....**41**

Figura 12 - Microscopia Eletrônica de Transmissão da junção miotendínea do músculo tibial anterior de ratas Wistar. Grupo Sedentário (**A**) ampliação de 7500x. Grupo Treinado (**B**) ampliação de 6000x. Ovariectomizado (**C**) ampliação de 6000x. Ovariectomizado Treinado (**D**) Ampliação 6000x. Observam-se as invaginações sarcoplasmáticas (**Setas**), os Tipos variados de feixes de fibras colágenas (*) e a célula muscular (**M**).....**42**

Figura 13 - Microscopia Eletrônica de Transmissão da Junção miotendínea do músculo sóleo de ratas Wistar. Grupo Sedentário (**A**) ampliação de 5000x. Grupo Treinado (**B**) Ampliação 4000x. Grupo Ovariectomizado (**C**) ampliação de 5000x Ovariectomizado Treinado (**D**) ampliação de 5000x. Observam-se as invaginações sarcoplasmáticas (**Setas**), os feixes de fibras colágenas (*) e a célula muscular (**M**).....**43**

Lista de Tabelas

Tabela 1- Média e Desvio Padrão dos Grupos S, T, O e OT em períodos distintos. (p<0,05) *O ≠ S; O ≠ T; • O ≠ T; # OT ≠ S; OT ≠ T).....**31**

Tabela 2 – Média e desvio padrão da invaginação, evaginação, espessura da invaginação e espessura da evaginação dos grupos S, T, O e OT do tibial anterior.....**45**

Tabela 3 - Média e desvio padrão da invaginação, evaginação, espessura da invaginação e espessura da evaginação dos grupos S, T, O e OT do sóleo.....**46**

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Média da massa corporal dos Grupos S, T, O e OT nos períodos. ($p < 0,05$)
* $O \neq S$; $O \neq T$; • $O \neq T$; # $OT \neq S$; $OT \neq T$).....**32**

Sumário

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Tecido Muscular Esquelético.....	13
2.2 Tecido Conjuntivo (Tendão).....	14
2.3 Junção Miotendínea.....	16
2.4 Ovariectomia.....	18
3. OBJETIVO GERAL	22
3.1 Objetivos Específicos.....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 Animais.....	24
4.2 Procedimento Cirúrgico Ovariectomia.....	24
4.3 Protocolo de Treinamento Natação.....	25
4.4 Mensuração Massa Corporal.....	26
4.5 Microscopia de Luz.....	27
4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	27
4.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	28
4.8 Análise Morfométrica.....	29
5. RESULTADO	31
5.1 Massa Corporal.....	31
5.2 Microscopia de Luz.....	32
5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	39
5.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	40
5.5 Análise Morfométrica.....	44
6. DISCUSSÃO	48
7. CONCLUSÃO	53
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1. INTRODUÇÃO

O tecido muscular esquelético é responsável pela locomoção, postura e respiração. Constitui-se por células com alta capacidade de contração alongadas e estreitas nomeadas de fibras musculares estriadas esqueléticas. São multinucleadas e seus núcleos permanecem na região do tecido conjuntivo. Seu diâmetro é variado de 10 a 100µm (SILVA; CARVALHO, 2007).

Os tendões são estruturas morfológicas macroscópicas, interpostos entre os músculos e os ossos, transmitem a força gerada pelas fibras musculares para o osso, que promove os movimentos articulares (KANNUS, 2000). Por meio de funções biomecânicas e biológicas os tendões atuam na homeostasia do organismo, função realizada através de uma relação recíproca entre os elementos celulares tendíneos e extracelulares (BUTLER; JUNCOSA e DRESSLER, 2004).

O ponto de encontro entre o músculo e o tendão é denominado de junçãomiotendínea (JMT). Região complexa do sistema músculo esquelética muito especializada e que evidencia delimitações apresentando dobras no sarcolema (TIDBALL, 1991).

Os ovários são órgãos pares, com cerca de 4 cm de comprimento, fixados ao útero através do ligamento largo e permanecem fixados nas paredes laterais da pelve. (DANGELO e FATTINI, 2011). Eles produzem ovócitos secundários que podem se desenvolver em óvulos maduros e função endócrina com a produção dos hormônios Estrógeno e Progesterona (TORTORA e DERRICKSON, 2012).

A atividade física traz inúmeros benefícios em todas as idades, como a melhora do perfil lipídico e metabólico, redução da incidência de doenças cardiovasculares e crônico-degenerativas, um indivíduo jovem ativo fisicamente tem grandes chances de se tornar um adulto ativo. A massa corporal é diretamente ligada a regulação do balanço energético, é dependente de 2 componentes básicos: energia adquirida e energia despendida, ao consumir maiores quantidade de energia que a que se gasta a alteração no balanço energético resulta em aumento da massa corporal, o exercício físico tem papel fundamental na regulação do balanço energético (LAZZOLI et al., 1998; IGNACIO et al., 2009).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tecido Muscular Esquelético

As fibras musculares são envolvidas por tecido conjuntivo, epimísio, endomísio e perimísio. O endomísio envolve cada fibra muscular, separando-as umas das outras, o perimísio envolve um feixe de fibras musculares e o epimísio um conjunto de feixe de fibras musculares (MCARDLE, 1992).

Os sarcômeros são unidades dispostas paralelamente por toda a extensão da miofibrila, e a actina e miosina alterna-se na extensão do sarcômeros e torna-se padronizado através da ordenação de filamentos espessos de miosina e de filamentos finos de actina entre as linhas Z (WATANABE, 1998; MOTOYAMA et al., 2009).

As fibras musculares são formadas por segmentos intermitentes de coloração clara denominada de Banda I e escura denominada de Banda A. Transversalmente à Banda I pode ser observada uma linha escura denominada de linha Z. Os filamentos de actina e miosina estão interligados na Banda A, os filamentos de miosina se estendem até o final da Banda A. Já os filamentos de actina originam-se de cada linha Z, percorrem cerca de 1 micrometro em direções opostas e formam a banda I e parte da banda A (GENESER, 1999; TAJSHARGHI, 2008).

Os músculos são compostos por fibras que se diferenciam, em relação ao metabolismo, entre oxidativas, oxidativo-glicolíticas e glicolíticas. Músculos com capacidade de reação mais rápida são compostos por grande quantidade de fibras glicolíticas, que apresentam maior quantidade de miofibrilas e diâmetro, menor número de mitocôndrias e mioglobina. Com menor diâmetro, as fibras oxidativas apresentam maior quantidade de mioglobina, vascularização e grupamentos mitocôndrias, com capacidade de permanecer por mais tempo em estado contráctil. Fibras oxidativo-glicolíticas apresentam diâmetro intermediário em relação aos outros Tipos de fibras, assim como as fibras glicolíticas, que possuem grande quantidade de mioglobina, no entanto, apresenta quantidade maior de mitocôndrias. As fibras musculares também são definidas de acordo com suas propriedades histoquímicas, divididas em três Tipos: Tipo I, e duas variações do Tipo II, Tipo IIa e Tipo IIb, e ainda um subtipo Tipo IIc. Há ao todo sete tipos de fibras identificadas nos ser humano, são elas: I, Ic, IIc, IIac, IIa, IIab e IIb (BROOKE; KAISER, 1970; HÄMÄLÄINEN; PETTE,

1993; SCOTT; STEVENS; MACLEOD, 2001; GUYTON; HALL, 2006; TORTORA; DERRICKSON, 2012;).

A unidade responsável por acionar a contração de um músculo esquelético é a placa motora, constituída de um grupo de fibras musculares que atuam simultaneamente através do neurônio motor somático por um potencial de ação, e contrai as fibras musculares (SILVERTHORN, 2010).

O músculo tibial anterior está localizado na região anterior da tíbia e tem seu ponto fixo no côndilo lateral da tíbia, parte superior da face lateral da tíbia, membrana interóssea e fáscia da perna, seu ponto móvel no osso cuneiforme e no primeiro metatarso, realiza a ação de dorsiflexão através da articulação talocrural, e a ação de inversão plantar, através da articulação talocalcaneonavicular (LIBERANO, 2002).

O músculo sóleo localiza-se profundamente em relação aos gastrocnêmios, é um extenso músculo plano fusiforme, tem origem, através de fibras tendíneas, da superfície posterior da cabeça da fíbula, do terço proximal da superfície posterior do corpo do osso, da linha poplítea e do terço médio da borda medial da tíbia e se inserem em uma aponeurose que recobre a face posterior do músculo, que aos poucos passam a ser mais densas e afuniladas, agregam-se à inserção do gastrocnêmio na parte inferior, para formar o tendão calcâneo (BLITZ; ELIOT, 2007, HÉBERT-LOSIER et al., 2011).

2.2 Tecido Conjuntivo (Tendão)

Os músculos localizados no esqueleto apendicular podem apresentar tendões nas regiões distal e proximal, a região em que o músculo se une ao tendão é denominada junçãomiotendínea, e do músculo com o osso de junção osteotendínea. A região proximal onde o tendão é inserido no osso denomina-se ponto fixo, a parte distal é chamada de ponto móvel (MOORE; DALLEY e AGUR, 2011).

As fibras tendíneas do músculo esquelético são formadas por fibras colágenas equidistantes, difundidas através da matriz extracelular que possibilita aos tendões suportar e conduzir imensas forças através dos músculos e dos ossos (LIN; CARDENAS e SOSLOWSKY, 2004; TOZER; DUPREZ, 2005).

Os tendões apresentam coloração esbranquiçada, reluzente e textura fibro-elástico, revelam alta resistência à cargas mecânicas e variam em sua forma e disposição uma vez que são fixados aos ossos, assim como na largura e na espessura, tendões cilíndricos, em forma de “leque” e “fita” (KJAER, 2004).

Os tendões são envolvidos por bainhas sinoviais em superfícies ósseas ou proeminências anatômicas que podem gerar atrito, geralmente são localizadas nos tendões das mãos e dos pés. Formadas por duas finas e serosas camadas denominadas visceral e parietal, as camadas fibrosas formam uma estrutura fechada que inclui o fluído peritendíneo para lubrificação, em alguns tendões que não apresentam a bainha sinovial, podem exibir uma camada peritendínea sobre a face externa para redução de atritos entre o epitendão e o líquido peritendíneo (MAFFULLI; BARRASS e EWEN, 2000).

A camada peritendínea é formada por tecido fibrilar frouxo, que funciona como envoltório elástico que concede ao tendão a liberdade contra os tecidos adjacentes. As bursas tendíneas constituem uma das principais estruturas extratendíneas que atuam na redução dos atritos. As bursas estão localizadas em regiões em que saliências ósseas podem vir a comprometer o deslizamento do tendão, há ainda formações conjuntas denominadas extratendíneas, responsáveis pelo controle dos movimentos, estabilização das articulações e prevenção de atrito (KANNUS, 2000).

Em nível microscópico, as células tendíneas denominadas de tenócitos e tenoblastos, constituem cerca de 90-95% dos componentes celulares do tendão. Os outros componentes celulares presentes são os condrócitos, localizados nas extremidades principalmente na região de inserção muscular e células sinoviais oriundas das bainhas tendíneas (DORAL et al., 2010).

Os tenoblastos apresentam comprimento variado de 20µm a 70µm e largura de 8µm a 20µm. O formato de seus núcleos variam de ovóides para alongados com características fusiformes. Os retículos endoplasmáticos rugosos e complexos de Golgi são bem desenvolvidos e contêm poucas mitocôndrias em seu citoplasma. Nos tenoblastos as vesículas pinocíticas e os poucos lisossomos encontram-se localizados perifericamente no citoplasma. São perceptíveis vários processos delgados e longos no decorrer da matriz. Os tenoblastos possuem grandes números de organelas

citoplasmáticas e comunica-se com outros tenoblastos através de junções desmossomiais ou do Tipo “gap” (WAGGETT; BENJAMIN; RALPHS, 2006). Os tenoblastos se diferem em tenócitos e, por vezes pode acontecer o inverso, tornam-se alongados com cerca de 80µm a 300µm de diâmetro. O núcleo aumenta em relação ao citoplasma e os processos celulares tornam-se longos e delgados a partir do corpo celular. A sequência celular longa é necessária para manter o estreito contato entre as células e os componentes da matriz, para igualar a diminuição das células e aumentar expressivamente a matriz tendínea durante o envelhecimento (MOORE; DE BEAUX, 1987).

Os tenócitos são constituições celulares primárias encontradas no tendão. Também são conhecidas por células tendíneas fusiformes, estas células possuem um complexo sistema microvascular que lhes permite permanecer em seu ambiente extracelular (AMIEL et al., 1984; KNOBLOCH, 2008). Possuem núcleos alongados e volumosos, que ocupa quase completamente a célula. A cromatina condensada nuclear esta localizada à margem da membrana nuclear. Os filamentos de actina e miosina intracitoplasmática, e as vesículas pinocitóticas talvez possam ser identificadas nos tenócitos, ainda que esses elementos sejam mais observados nos tenoblastos (JÓZSA et al., 1979).

Os elementos bioquímicos da matriz extracelular do tendão evidenciam colágeno Tipo I, juntamente com as glicoproteínas. O colágeno Tipo I constitui cerca de 95% de todos os colágenos presentes, 65-80% da massa seca do tendão (AMIEL et al., 1984).

O colágeno Tipo III aumenta a síntese de colágeno durante a reparação precoce, porém, acredita-se que à medida que o colágeno Tipo I é sintetizado, o Tipo III diminui (NIYIBIZI et al., 2000).

2.3 Junção Miotendínea

O limite das fibras musculares que se unem ao tecido tendíneo é caracterizado por apresentar profundas invaginações nas membranas das células musculares, em que a área da superfície da célula muscular apresenta-se alargada (AJIRI et al., 1978).

A JMT tem como função transmitir a força gerada nas contrações musculares, através das proteínas contráteis, para as proteínas do tecido conjuntivo extracelular localizado no tecido tendíneo (KANNUS et al., 2000). Também tem função de auxiliar o controle dos movimentos, posição e estabilidade da articulação, age na força motriz, sinérgico ou antagônico, além de armazenar e liberar energia elástica (TROTTER, 2002).

Após atividades físicas, e ou o crescimento, o tecido muscular se especializa e os sarcômeros são adicionados ou excluídos (WILLIAMS; GOLDSPINK, 1973). A junção miotendínea é a região que apresenta maior incidência de lesões desportivas excessivas e contrações excêntricas (TIDBALL; SALEM; ZERNICKE, 1993).

No período de desenvolvimento a JMT sofre influência direta pela interação entre os mioblastos e os componentes da matriz extracelular, bem como, a regularização através da sinalização local pela distribuição heterogênea do ácido retinóico. Na miogênese dos músculos dos membros das aves a taxa relativa de tecido tendíneo e muscular é comediada através da síntese, equilíbrio e degradação do ácido retinóico. O ácido retinóico tem função de enviar o sinal apoptótico para o tecido muscular e manutenção do tecido tendíneo, portanto, o desenvolvimento da JMT dá-se através de interações entre células musculares esqueléticas precursoras e elementos da matriz extracelular.(RODRIGUEZ-GUZMAN et al., 2007).

Quanto a sua formação, a JMT é influenciada pela tensão das contrações musculares nas fases embrionárias finais e neonatais iniciais, que apresenta evolução gradual e contínua (BENJAMIM; RALPHS, 2000; YAMASHITA et al., 2007; KOSTROMINOVA et al., 2009).

Recentes estudos evidenciaram novas características morfológicas da JMT, como estruturas adjacentes as projeções, que recebem o nome de invaginações sarcoplasmáticas também conhecidas por “interdigitações” analisadas no músculo pterigoideo medial de ratos Wistar. Estas invaginações possuem características longas e delgadas oriundas da matriz extracelular, constituída de tecido conjuntivo, que tem o papel de aumentar a área de contato de fixação do tecido tendíneo ao muscular (CIENA et al., 2011).

Foi revelado recentemente que as adaptações e evoluções da JMT no músculo estriado esquelético, ocorrem de acordo com sua sintopia, função, disposição, topografia, e composição histoquímica de suas fibras (KOSTROMINOVA et al., 2009).

Estudos tem demonstrado grande interesse nessa área do sistema muscular esquelético, devido a presença de alto nível de plasticidade tecidual, isto é, adaptações morfológicas foram evidenciadas na da junção miotendínea dos músculos tibial anterior e gastrocnêmios, posteriormente a influência de exercício aeróbio em esteiras durante longos períodos, neste músculos que apresentam funções e composições bioquímicas miofibrilares diferentes. As adaptações iniciais observadas na JMT, após exercício físico, apresentaram grande aumento das invaginações sarcoplasmáticas e profundidade de seus respectivos níveis (KOJIMA et al., 2008).

A aplicação do protocolo de exercícios intermitentes associado à aplicação do hormônio do crescimento (GH) evidenciou aumento da área de interação entre os tecidos muscular e tendíneo, que promove a preservação dos componentes da JMT em indivíduos com lesões crônicas ou agudas. Animais com 1 dia de vida demonstraram interface tênue e regular, invaginações pouco perceptíveis e sarcômeros desorganizados, entretanto em animais com 30 dias de vida as invaginações apresentam-se numerosas e profundas (CURZI,et al., 2013).

2.4 Ovários

O córtex do ovário é recoberto por tecido fibroso denominado túnica albugínea, revestida por apenas uma camada de epitélio superficial, agregada ao tecido que recobre outros órgãos da cavidade abdominal chamado de mesotélio. O córtex possui ovócitos, que são envolvidos em folículos com tamanhos variados, denominados de corpos lúteos, corpos albicantes e células do estroma (RHOADES; TANNER, 2005).

A camada que reveste a superfície do ovário é chamada de epitélio germinativo, ele é encontrado no córtex do ovário, área onde se encontra o tecido conjuntivo denso, que apresenta grande número de folículos ováricos. O folículo ovárico é um ovócito que apresenta diferentes números de células circundantes, que nutre o ovócito em desenvolvimento e secreta estrógeno de acordo com a evolução

do folículo, após a maturação deste folículo, ele irá se romper e liberar um ovócito secundário, o restante se desenvolve em corpo lúteo. (TORTORA; DERRICKSON, 2012).

O estrógeno tem como função básica controlar o desenvolvimento das características sexuais secundárias da mulher, por exemplo, os pelos pubianos e axilares, aumento de tecido adiposo, desenvolvimento das mamas. A progesterona influencia no desenvolvimento do embrião e na implantação do ovócito fecundado (DANGELO; FATTINI, 2011). A progesterona é gerada pelo corpo lúteo, uma estrutura glandular proveniente de um folículo que recentemente liberou seu óvulo, o corpo lúteo pode produzir progesterona por aproximadamente onze dias depois da ovulação. A progesterona atua simultaneamente com o estrógeno para iniciar o ciclo menstrual na puberdade (TIBODEAU; PATTON, 2002). O útero e ovário são vascularizados através união dos ramos tubários da artéria uterina e ovárica, e drenados através das tributárias: veia íliaca interna e da veia cava inferior (HANKIN; MORSE; BENNETT-CLARKE, 2015).

A ovariectomia é o procedimento cirúrgico de remoção dos ovários, esta remoção ocasiona mudanças que vão desde diminuição do tamanho do útero, atrofia uterina, até alterações hormonais (CHANG et al., 2010). Em modelos experimentais foi observado aumento significativo do peso corporal e atrofia uterina em comparado com ratas que não foram ovariectomizadas (HØEGH-ANDERSEN et al., 2004). A diminuição dos hormônios provenientes da remoção dos ovários ocasiona a diminuição da área de secção transversa dos músculos, que causa a sarcopenia (YWAZAKI, 2012).

Em jovens mulheres que exercem atividade física intensa, o ciclo menstrual pode sofrer alterações e conseqüentemente, os hormônios responsáveis pelo desenvolvimento muscular, estrógeno e progesterona, sofrem variações em seus níveis de concentração. Esse decréscimo hormonal provoca alterações no sistema muscular esquelético, conseqüentemente, no ventre muscular e conseqüentemente na junção miotendínea com prováveis adaptações nos componentes estruturais e funcionais, além de serem os principais músculos recrutados durante a atividade aquática o tibial anterior e sóleo também são antagonistas estas alterações hormonais podem ser atenuadas com a aplicação de um protocolo de treinamento aeróbio.

Para analisar os efeitos que a atividade física regular exerce sobre a morfologia do ventre muscular e junção miotendínea de animais submetidos à ovariectomia, será ministrado o protocolo de treinamento de natação.

OBJETIVO

3. OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente estudo consistiu em analisar o ventre muscular e a junção miotendínea dos músculos Tibial Anterior e Sóleo de ratas Wistar adultas ovariectomizadas e submetidas a um protocolo de treinamento de natação.

3.1 Objetivos Específicos

- Descrever os elementos estruturais das fibras musculares e da junção miotendínea dos músculos Tibial Anterior e Sóleo, através da microscopia de luz utilizando as colorações de Hematoxilina-Eosina (HE) e Picro-Sírius.

- Descrever as características tridimensionais da junção miotendínea por meio de microscopia eletrônica de Varredura.

- Descrever as características ultraestruturais da junção miotendínea através da microscopia de transmissão.

MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizadas 40 ratas *Wistar* adultas, com idade de 90 dias, oriundas do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu – SP. Mantidas em gaiolas coletivas no Biotério do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física do Instituto de Biociências da UNESP – Campus Rio Claro. Distribuídas aleatoriamente em 4 diferentes Grupos: Sedentárias (S) n=10, os animais permaneceram dentro das gaiolas e não foram submetidas ao protocolo de treinamento e cirurgia; Treinadas (T) n=10, os animais foram submetidos ao protocolo de natação; Ovariectomizadas (O) n=10 os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico para remoção dos ovários; Ovariectomizadas/Treinadas (OT) n=10 submetidas ao procedimento cirúrgico e ao protocolo de treinamento. Os animais receberam ração balanceada padrão (Purina) e água “*ad libitum*” via bebedouro, alocados 5 animais por gaiola, com temperatura ambiente controlada $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ e ciclo claro/escuro de 12 horas. Todos os procedimentos adotados neste estudo foram previamente submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animal CEUA do Instituto de Biociências da UNESP – Rio Claro – SP, protocolo número: 6658.

4.2 Procedimento Cirúrgico – Ovariectomia

Os animais dos Grupos O e OT foram anestesiados com Ketamina (50mg/kg) e Xilazina (10mg) via intraperitoneal, em seguida foi realizada a tricotomia e a assepsia da pele da região ventral do abdome. Com auxílio de um bisturi a parede abdominal foi seccionada através de uma incisura vertical para que os ovários pudessem ser expostos e dissecados (Figura 1 A e B). Após este procedimento, a abertura da parede abdominal foi suturada em camadas, com linha de sutura de nylon nº 6.0 (Figura 3) (FERRETTI et al., 2014). Após a assepsia do local, os animais permaneceram em gaiolas e foi administrado paracetamol (300mg/kg) diluído em água, via bebedouro, durante uma semana no período pós-operatório.

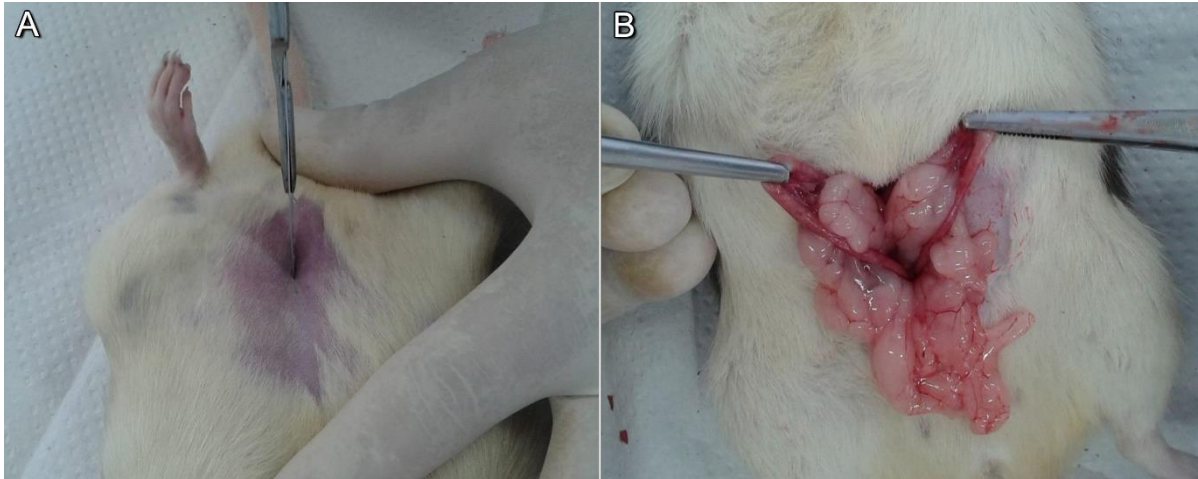


Figura 1 – Região ventral do abdome após a tricotomia e assepsia do local (A). Exposição do útero bicornado pra a remoção dos ovários localizados em sua extremidade (B).

4.3 Protocolo de Treinamento – Natação

Os animais dos Grupos T e OT realizaram o protocolo de treinamento e no 30º dia pós operatório iniciaram a adaptação ao meio líquido com 2 sessões diárias de 15min, 2 de 30min e 1 sessão de 60min. O Treinamento consistiu em sessões de 60min, 5 dias por semana, por 4 semanas ao total de 20 sessões (CIABATTARI et al., 2005). Os animais foram alocados individualmente em tubos de PVC (cloreto de polivinila) com 24 cm de diâmetro, 50 cm de comprimento, para que não houvesse aglomeração e dispersão, mergulhadas tanques com 40 cm de água aquecida a 31°C (Figura 2 A, B e C) (PESTANA et al., 2012). Para a obtenção das sobrecargas de treinamento, utilizaram-se pesos de chumbo equivalentes a 5 % da massa corporal, afixados ao tórax dos animais ao iniciar o protocolo de treinamento e retirados ao término da sessão, através de uma cinta elástica e realizada a correção dos pesos semanalmente.



Figura 2 – Tubo de PVC utilizado para individualização (A). Centro de treinamento com os tanques utilizados (B). Execução do protocolo de treinamento. (C)

4.4 Mensuração da Massa Corpórea

A mensuração da massa corporal foi realizada semanalmente com auxílio da balança semi-analítica e posteriormente ao sacrifício as amostras foram mensuradas em balança analítica. Para a análise da massa corporal foram selecionados 3 períodos: 1º período, antes do procedimento cirúrgico – ovariectomia; 2º período, ao fim do 1º mês pós-operatório e ao início do protocolo de treinamento; 3º período, ao término do protocolo de treinamento. Para a obtenção da média e desvio padrão dos 3 períodos foi utilizado o programa *Microsoft Office Excel*, e realizado o tratamento estatístico através da análise de variância *ANOVA two way*, pós teste de *Bonferroni* com auxílio do software *Graph Pad 5.0*, o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

4.5 Microscopia de luz

Foram utilizados 5 animais de cada grupo experimental, eutanasiados em câmara de dióxido de carbono. Em sequência foram dissecadas amostras do músculo tibial anterior e sóleo e então separadas as respectivas junções miotendíneas dos ventres musculares de ambos os grupos experimentais. As amostras foram dispostas em superfície de cortiça e estabilizadas com cola biológica e untadas em talco neutro para prevenir artefatos, para então serem criofixadas em nitrogênio líquido e posteriormente mantido em freezer -90°C . Nas amostras da junção miotendínea e ventre muscular foram realizados cortes longitudinais e transversais de $10\mu\text{m}$ de espessura respectivamente, ambos corados com coloração de Hematoxilina-Eosina para destaque dos componentes celulares e Picro-sírius (PS) para identificação do tecido conjuntivo, sob luz polarizada destacou-se o colágeno Tipo I e Tipo III (JUNQUEIRA; BIGNOLAS e BRENTANI, 1979; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para a microscopia eletrônica de varredura foram utilizados 3 animais de cada grupo experimental, após serem eutanasiados em câmara de dióxido de carbono, as amostras da junção miotendínea do tibial anterior e sóleo foram imersas em solução de *Karnovsky* modificada (glutaraldeído 2.5%, paraformaldeído 2%, e em solução de Cacodilato de sódio a 0.1M, pH 7.4) durante 24 horas, a 4°C . Todas as amostras foram submetidas à técnica de criofratura, mediante ao congelamento em nitrogênio líquido. As amostras criofraturadas foram lavadas de 12 a 24 horas em solução tampão fosfato de sódio e, pós-fixadas em solução de tetróxido de ósmio, desidratadas em serie crescente de álcoois (70% ao 100%) seguida de imersão em solução de acetato de isoamila 3h, a 4°C , e secas em aparelho ponto-crítico Balzers CPD-30, utilizando CO_2 líquido (BOLINA et al., 2013). As amostras foram montadas em bases metálicas apropriadas e cobertas com íons de ouro em aparelho Balzers SCD-040, examinadas em microscópio eletrônico de varredura TM 3000-Hitachi, do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista-UNESP, campus Rio Claro-SP.

4.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Foram utilizados 2 animais de cada grupo experimental, após serem eutanasiados em câmara de dióxido de carbono (CO₂ durante 5 minutos), as amostras do tibial anterior e sóleo e sua respectiva junção miotendínea, foram imersas em solução de *Karnovsky* modificada. Posteriormente as amostras foram por três vezes lavadas com solução de tampão fosfato de sódio e fixadas com glutaraldeído 2.5% a 4°C por 2 horas e pós-fixadas com solução de tetróxido de ósmio a 1% durante 2 horas, à 4°C (CIENA et al., 2010), novamente lavadas com solução Salina 0,9% por três vezes e fixadas com a solução de acetato de uranila à 0.5% durante 12 horas, à temperatura ambiente e na ausência de luminosidade. Em seguida, as amostras foram submetidas a desidratação em série crescente de álcoois a partir do 70%, 80%, 90% e 95% (1x), álcool etílico absoluto (4x) com banhos de 15 minutos cada, e óxido de propileno (2x) por 15 minutos.

Após a desidratação as amostras permaneceram 1 hora em uma mistura de resina (Low Viscosity Embedding Media Spurr's Kit Electron Microscopy Sciences, USA) e óxido de propileno na proporção de 1:1, sob agitação, em temperatura ambiente. Após esse período, a resina foi trocada para proporção de 3:1 durante 1 hora e 30 minutos, posteriormente em resina pura durante 12 horas em temperatura ambiente com ausência de luminosidade. Após essa etapa as amostras foram aquecidas por 1 hora em estufa a 37°C, com frasco aberto para total evaporação de líquidos das amostras.

Para a inclusão as amostras foram alocadas em moldes retangulares de silicone, que foram preenchidos com resina pura e mantidos por 3 dias em estufa a 60°C para concretizar-se a polimerização do bloco.

Os blocos foram trimados para a realização de cortes semifinos de 350µm em ultramicrótomo (Leica Ultracut UCT, Germany), e corados com o método de azul de toluidina 1%. As imagens para trimagem serão obtidas por meio do fotomicroscópio Carl Zeiss Microimaging (Axiokop 40, Göttingen, Alemanha).

Após selecionada a área de interesse, será realizado cortes ultrafinos de 60 nanômetros em ultramicrótomo, que foram coletados em telas de cobre de 200 "mesh" (Sigma-Aldrich, USA) e, contrastados com a solução de acetato de uralina à 4%, por

3 minutos, lavados em água destilada, contrastados em solução aquosa de citrato de chumbo à 0.4% por 3 minutos e lavados em seguida com água destilada (WATANABE; YAMADA; CIENA et al., 2012). As telas foram examinadas através do microscópio eletrônico de transmissão Philips CM 100, laboratório de microscopia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista-UNESP, campus de Rio Claro-SP.

4.8 Análise Morfométrica

Para a análise morfométrica foram mensuradas 50 comprimentos de invaginações e evaginações, 80 para a espessura das invaginações e evaginações. Para obtenção dos dados foi utilizado o software ImageJ® e adotado padrão de ampliação de 12.000x nas imagens de microscopia eletrônica de transmissão do tibial anterior e 5000x para o sóleo. Após definir o tamanho da barra em pixels com a ferramenta “Straight Line” foi determinada a escala da imagem na aba “Analyze” posteriormente em “Set Escala” e então substituído o valor na caixa “Know Distance” para o valor na barra e informado que a unidade da escala era em *nm* na caixa “Unit of Length”. Após coletadas as mensurações, foi realizada a média e desvio padrão com o software Excel™ e realizada o tratamento estatístico através do software GRAPH PAD PRISM 5.0 e realizada a análise de variância ANOVA TWO WAY com pós teste de *Bom Ferroni*.

5. RESULTADOS

5.1 Massa Corporal

Os resultados da mensuração da massa corpórea dos animais estão representados respectivamente na Tabela 1 e Gráfico 1.

GRUPOS	MASSA CORPORAL		
	PERÍODOS		
	1º Período	2º Período	3º Período
Sedentário	237,8±12,6	272,9±16,7	284,6±19,3
Treinado	225,8±21,9	262,3±21,3	268,3±38,1
Ovariectomizado	229,6±14,5	294,7±20,2 *	317,1±22,4 •
Ovariectomizado Treinado	242,6±15,2	300,8±29,6	296,8±29,6 #

Tabela 1. Média e Desvio Padrão dos Grupos S, T, O e OT em períodos distintos. ($p < 0,05$) *O ≠ S; O ≠ T; • O ≠ T; # OT ≠ S; OT ≠ T)

A tabela 1 apresenta as médias e desvio padrão da massa corporal dos 4 grupos em 3 períodos específicos; primeiro período (pré operatório) segundo período (pós operatório e pré treinamento) e terceiro período (pós treinamento). O primeiro período não apresentou diferenças significantes entre os grupos. O segundo período demonstrou aumento significativo na massa corporal em relação ao primeiro período, o Grupo O apresentou aumento expressivo na massa corpórea em relação aos Grupos S e T. O terceiro período revelou diferenças estatísticas significantes entre os Grupos: O e T, a disparidade entre estes 2 Grupos foi maior em relação aos outros, e o Grupo OT em relação aos grupos S e T. A massa corporal entre os Grupos S e T entre o 1º e 2º período revelou aumento de 16,44% e 15,84% respectivamente. Este aumento possivelmente é decorrido pelo processo maturacional dos animais que estavam no início da fase adulta. O Grupo T manteve-se no mesmo patamar de peso, possivelmente pelo acréscimo de tecido muscular proveniente do treinamento. O Grupo O apresentou aumento de 27,59% em sua massa corporal e o Grupo OT aumentou 19,34%, entretanto, entre o 2º e 3º período reduziu 1,34% de sua massa corporal.

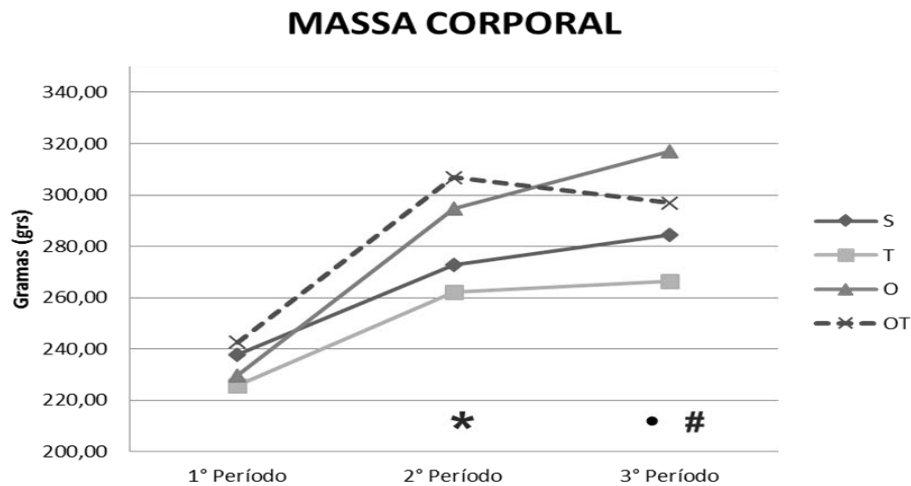


Gráfico 1. Média da massa corporal dos Grupos S, T, O e OT nos períodos. ($p < 0,05$) * O \neq S ; O \neq T ; • O \neq T ; # OT \neq S ; OT \neq T)

O gráfico 1 demonstra de modo linear a massa corporal dos animais dos Grupos S, T, O e OT, gerados através dos dados da tabela 1. Do primeiro período ao segundo período é evidente o aumento expressivo da massa corpórea de todos os animais, além do aumento acentuado dos animais submetidos à ovariectomia em relação aos não submetidos. Os Grupos S, T e OT não apresentaram diferenças estatísticas relevantes do segundo período ao terceiro período, entretanto o Grupo O continuou a aumentar. O terceiro período demonstra haver diferenças entre os Grupos O e T, e entre o Grupo OT em relação aos Grupos S e T. mesmo com o grande declínio do Grupo OT no terceiro período, a diferença não revelou ter significância em relação aos outros Grupos.

5.2 Microscopia de Luz

Os aspectos estruturais da região da junção miotendínea evidenciaram as fibras musculares e os feixes de fibras do tendão. No Grupo S (Fig. 3A), observaram-se a densidade do colágeno na extremidade do tendão que atenuam-se, se dispersam e aderem-se ao endomísio, os tenócitos revelaram formato circular e estão localizados nas extremidades das fibras musculares e tendíneas. No Grupo T (Fig. 3B) apresentaram maior dispersão do colágeno na extremidade do tendão que se projeta ao centro da fibra muscular e maior número de tenócitos circulares em suas extremidades em relação ao Grupo S. No Grupo O (Fig. 3C) demonstraram aumento na projeção das fibras do tendão e tenócitos alongados nas extremidades dos tecidos e relação aos Grupos S e T. No Grupo OT (Fig. 3D) demonstraram a projeção do

tendão com grande número de tenócitos em sua extremidade em relação aos Grupos S, T e O (Figura 3).

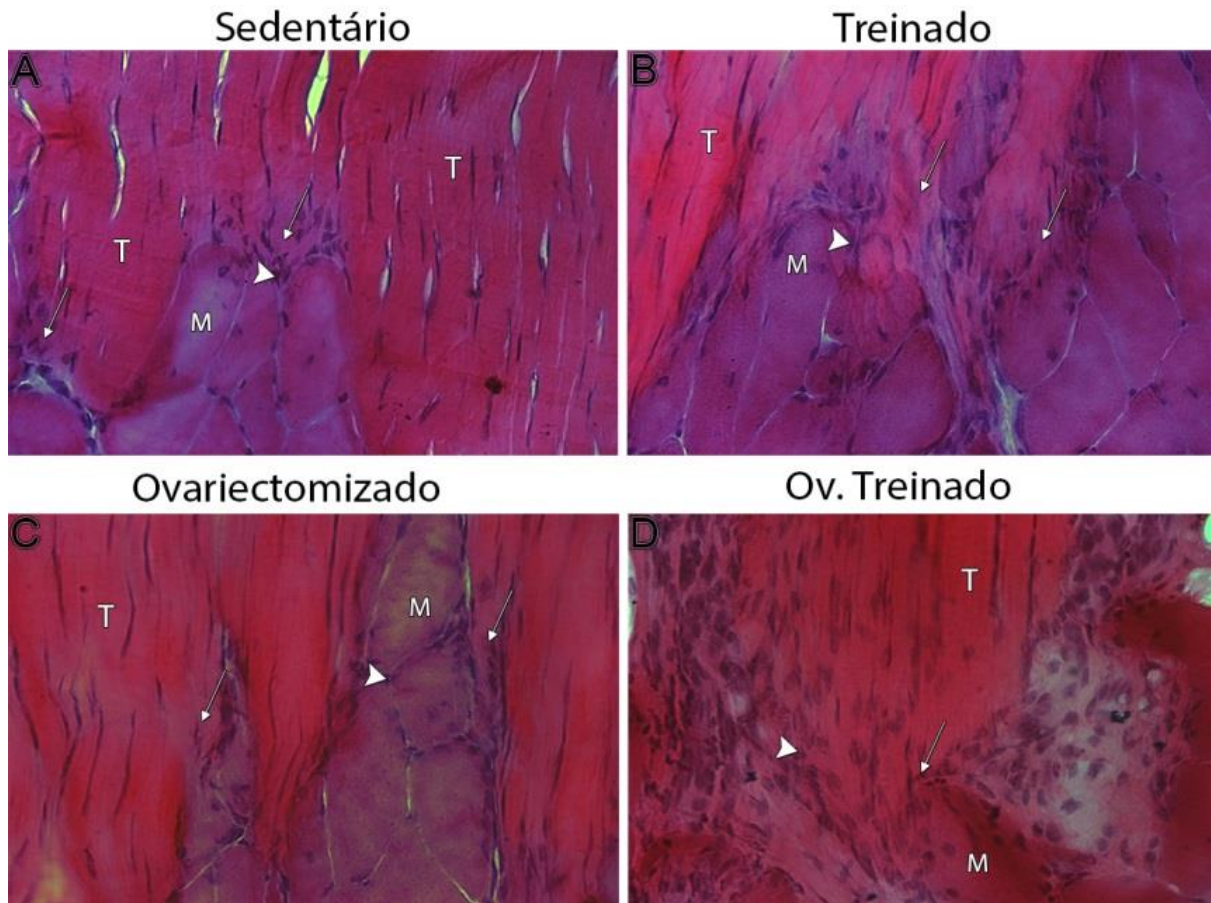


Figura 3 - Microscopia de Luz da junção miotendínea do músculo tibial anterior. Grupo Sedentário (A), Grupo Treinado (B), Ovariectomizado (C), Ovariectomizado Treinado (D). A região da junção miotendínea (**Seta**) apresenta a comunicação entre a célula muscular (M) e as fibras do tendão (T). Os tenócitos estão localizados nas extremidades dos tecidos (**Cabeça de Seta**). HE. 40x.

Nas amostras da junção miotendínea do músculo sóleo através da coloração de Hematoxilina-Eosina (HE) foi evidenciada a região de encontro entre as fibras musculares e as fibras do tendão. No Grupo S (Fig. 4A) identificaram-se as fibras do tendão que se projetam para a célula muscular, de modo que a fibra do tendão está lateral à fibra muscular e apresenta tenócitos em sua extremidade. No Grupo T (Fig. 4B) observaram-se o aumento da projeção das fibras tendíneas para a célula muscular, que percorre o endomísio e projeta-se para a célula, nota-se grande quantidade de tenócitos em formato longilíneo presentes na extremidade da fibra do tendão e em forma circular no perimísio e endomísio da célula muscular. No Grupo O (Fig. 4C) apresentaram-se reduzidas projeções das fibras tendíneas e menor número de tenócitos presentes nas extremidades das fibras musculares e tendíneas. No

Grupo OT (Fig. 4D) evidenciaram as fibras tendíneas aumentadas em sua projeção em relação ao Grupo O e S e menor projeção em relação ao Grupo T, maior número de tenócitos em relação ao Grupo S e O, porém, em relação ao Grupo T apresenta redução (Figura 4).

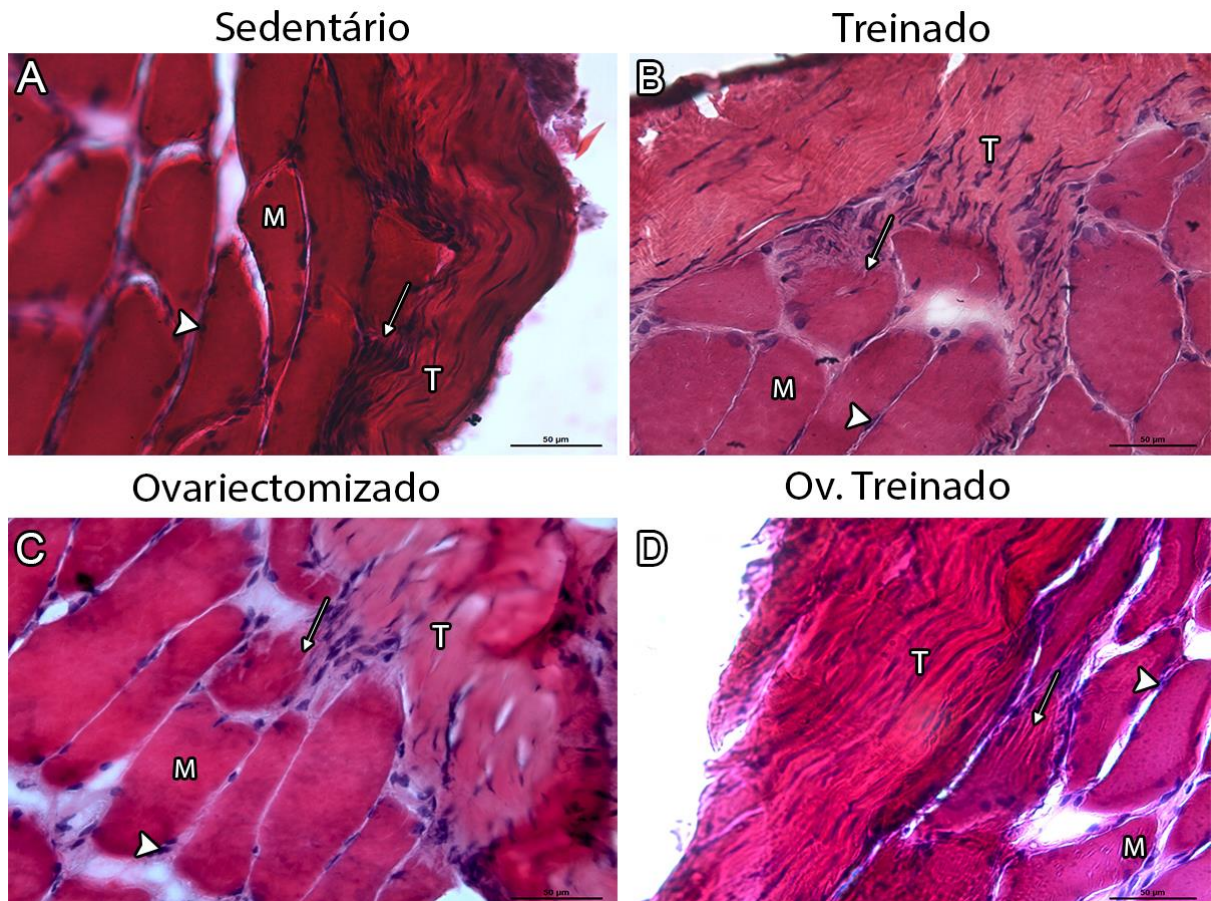


Figura 4 - Microscopia de Luz da junção miotendínea do músculo sóleo. Grupo Sedentário (A), Grupo Treinado (B), Ovariectomizado (C), Ovariectomizado Treinado (D). A região da junção miotendínea (Seta) revela a comunicação entre a célula muscular (M) e as fibras do tendão (T). Os tenócitos localizam-se entre os tecidos (Cabeça de Seta). HE. 40x.

O ventre muscular das amostras dos 4 Grupos, Sedentário (S), Treinado (T), Ovariectomizado (O) e Ovariectomizado Treinado (OT), coradas com Hematoxilina-Eosina. No Grupo S (Fig. 5A) apresentaram o perímio delgado e quantidade reduzida de tenócitos presentes no endomísio. No Grupo T (Fig. 5B) demonstraram maior espessamento do perímio com presença de capilares e macrófagos e maior número de tenócitos no endomísio e presença de fusos extracelulares no perímio. No Grupo O (Fig. 5C) observaram espessamento do perímio e diminuição no número de tenócitos no endomísio, apresenta a presença de capilar no perímio. No Grupo OT (Fig. 5D) apresentaram espessamento do perímio e aumento no número de tenócitos presente no endomísio (Figura 5).

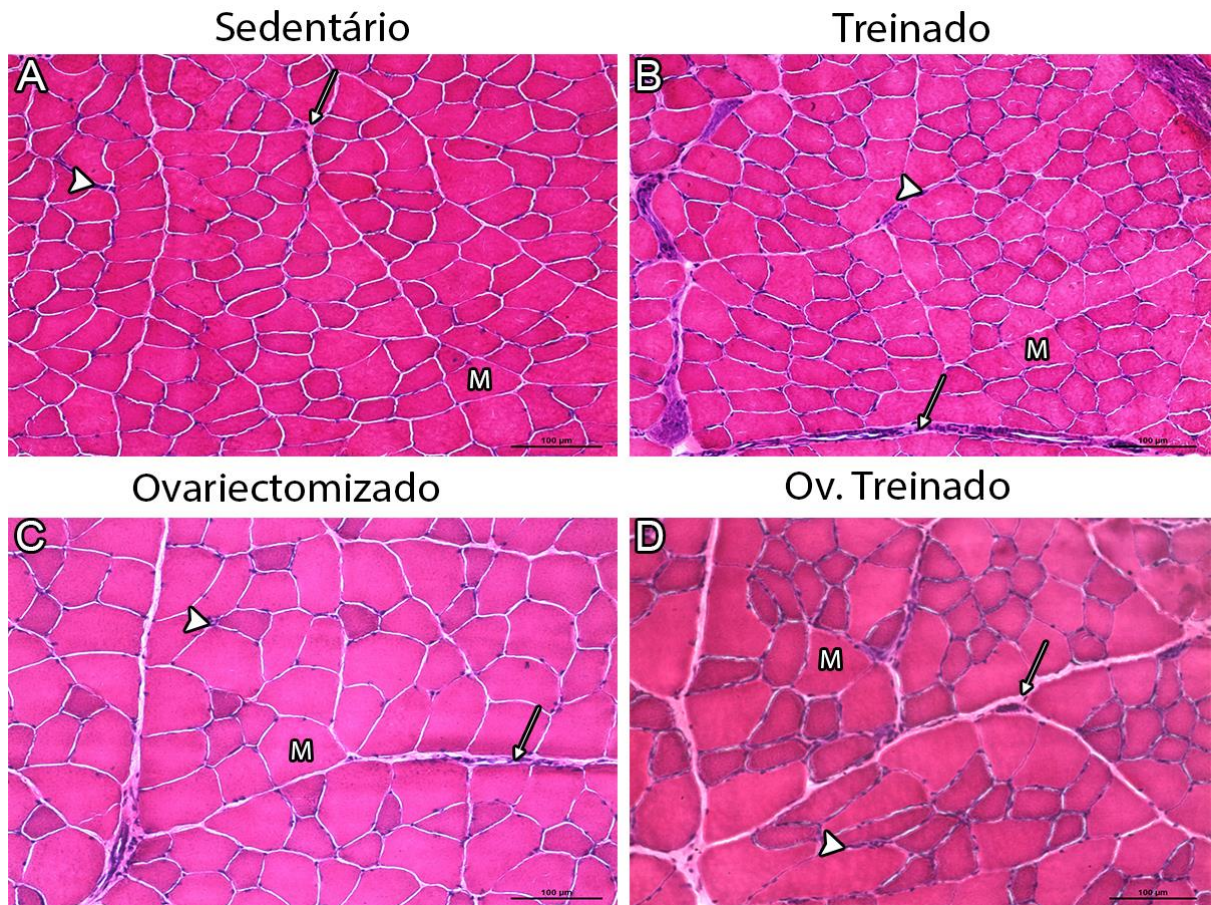


Figura 5 - Microscopia de Luz do ventre muscular do músculo tibial anterior de ratas Wistar. Grupo Sedentário (A), Grupo Treinado (B), Ovariectomizado (C), Ovariectomizado Treinado (D). Apresenta o Perimísio (**Seta**) envolvendo o feixe de fibras musculares (**M**). Os tenócitos localizam-se no endomísio (**Cabeça de Seta**). HE. 20x.

O ventre muscular do músculo Sóleo dos grupos Sedentário (S), Treinado (T), Ovariectomizado (O) e Ovariectomizado Treinado (OT). No Grupo S (Fig. 6A) observaram o perimísio revestindo um conjunto de fibras, enquanto o endomísio apenas uma fibra, os tenócitos estão localizados no endomísio e perimísio e a presença de capilar no perimísio. No Grupo Treinado (Fig. 6B) apresentaram o perimísio em melhor evidencia, as células musculares apresentam maior variação e poucos tenócitos. No Grupo O (Fig. 6C) apresentaram o perimísio atenuado e maior número de tenócitos. No Grupo OT (Fig. 6D) observaram o perimísio em maior destaque, tenócitos presentes no endomísio e perimísio (Figura 6).

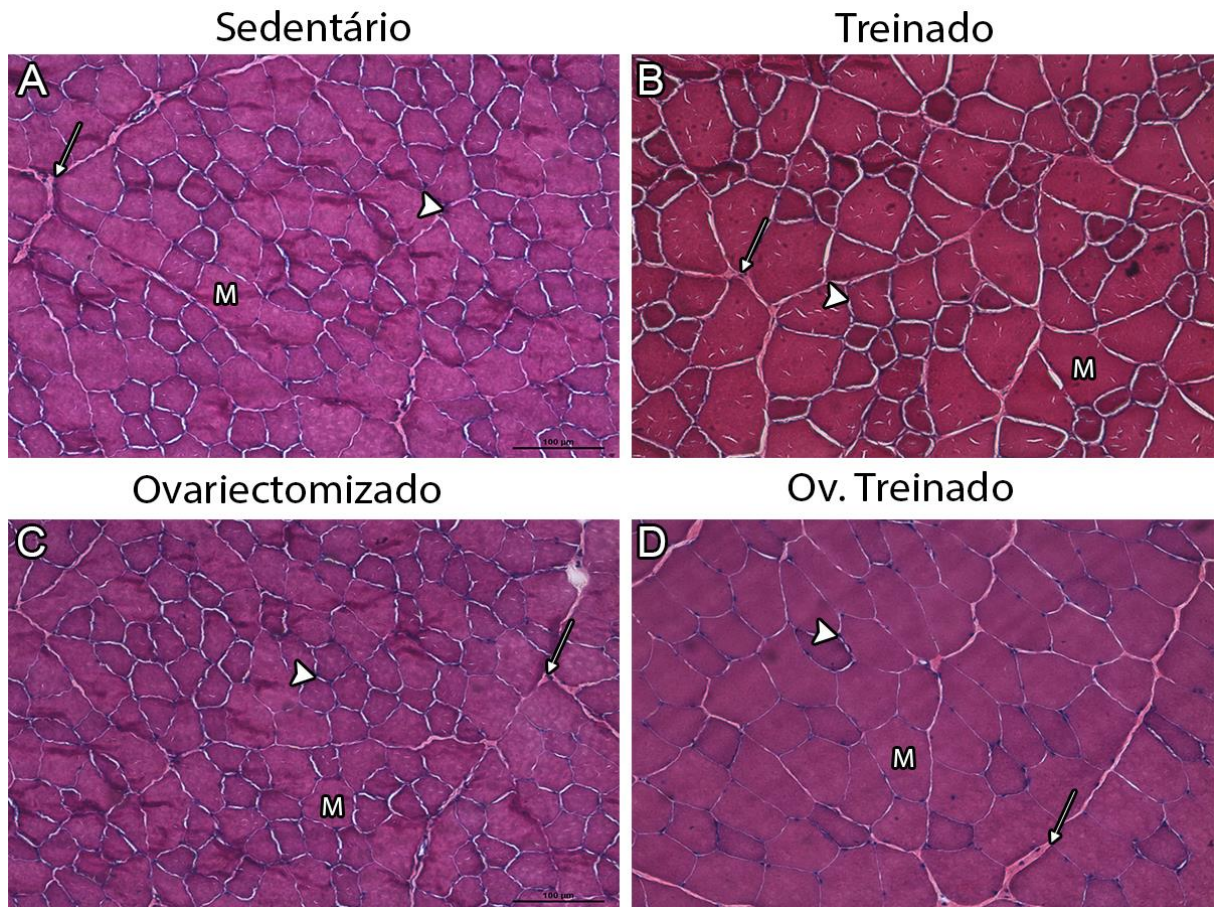


Figura 6 - Microscopia de Luz do ventre muscular do músculo sóleo de ratas Wistar. Grupo Sedentário (A), Grupo Treinado (B), Ovariectomizado (C), Ovariectomizado Treinado (D). Apresenta o Perimísio (**Seta**) envolvendo o feixe de fibras musculares (M). Os tenócitos localizam-se no endomísio e perimísio (**Cabeça de Seta**). HE. 20x.

Para identificação do tecido conjuntivo dos Grupos foi realizado corte longitudinal de 10µm e a corado com Picro-sírius que apresentaram a tonalidade amarelada para as fibras musculares e avermelhada para o tecido tendíneo (e tecidos conjuntivos associados como o endomísio e perimísio). No grupo S (Fig. 7A), as extremidades das fibras dos tendões demonstraram formato arredondado e paralelo, direção distinta e variada. No Grupo T (Fig. 7B) as fibras tendíneas apresentaram extremidade pontiaguda, orientadas paralelamente e com direção uniforme. No Grupo O (Fig. 7C), as fibras do tendão projetaram-se espaçadas, com sua extremidade arredondada e direção variada. No Grupo OT (Fig. 7D), apresentaram diminuição no espaçamento das fibras tendíneas e direção paralela e alinhada (Figura 7).

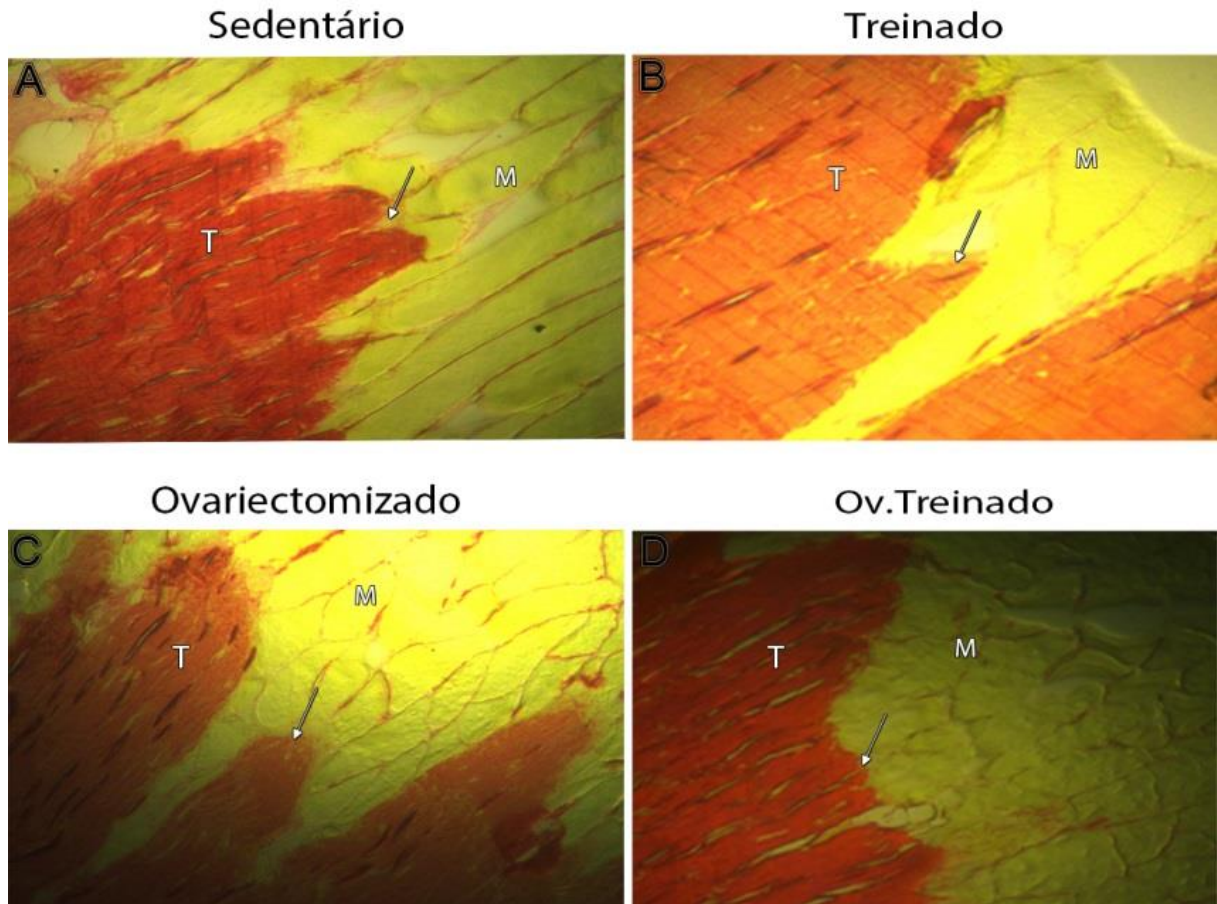


Figura 7 - Microscopia de Luz da junção miotendínea do músculo tibial anterior de ratas Wistar. Grupo Sedentário (A), Grupo Treinado (B), Ovariectomizado (C), Ovariectomizado Treinado (D). A região da junção miotendínea (Seta) apresenta a interação entre a célula muscular (M) e as fibras do tendão (T). PS. 40x.

As amostras foram cortadas longitudinalmente com 10 μ m de espessura e utilizada à coloração de Picro-Sírius para destacar os componentes do tecido conjuntivo das da junção miotendínea do sóleo, em tonalidade amarelada revelou-se a fibra muscular e em tonalidade vermelho alaranjada o tecido conjuntivo. No Grupo S (Fig. 8A) demonstraram as projeções das fibras do tendão lateralmente à fibra muscular. No Grupo T (Fig. 8B) apresentaram maiores projeções, não apenas laterais como também centralizadas em relação à fibra. No Grupo O (Fig. 8C) revelaram o tecido conjuntivo em maior dispersão e projeções das fibras do tendão menores. No Grupo OT (Fig. 8D) observaram maiores projeções do tecido tendíneo em direção ao tecido muscular, que percorrem o endomísio e projetam-se para a célula muscular (Figura 8).

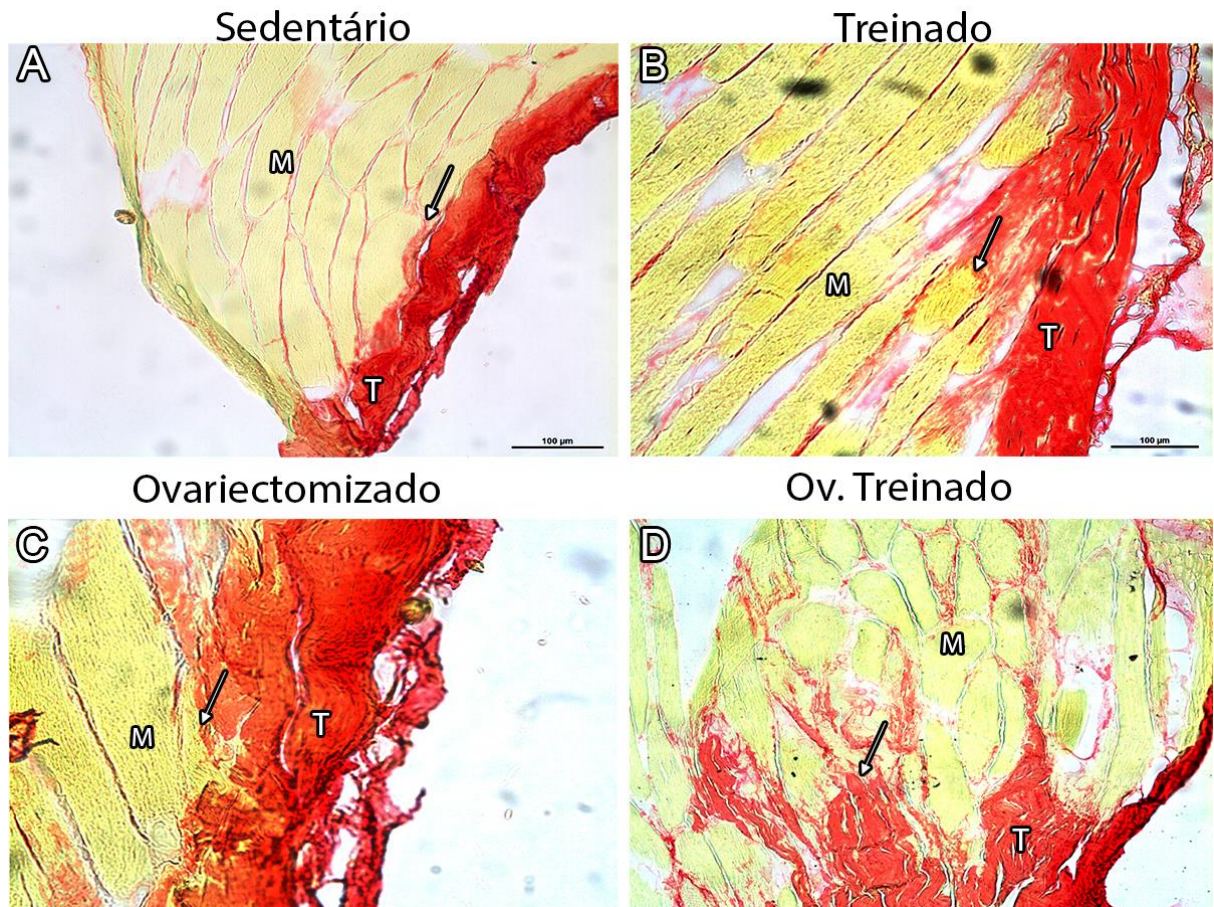


Figura 8 - Microscopia de Luz da junção miotendínea do sóleo de ratos Wistar. Grupo Sedentário (A) Ampliação 20x. Grupo Treinado (B) 40x, Ovariectomizado (C) 40x, Ovariectomizado Treinado (D) 20x. A região da junção miotendínea (Seta) apresenta a interação entre a célula muscular (M) e as fibras do tendão (T). PS.

A análise da coloração de PS sob a luz polarizada revelou o colágeno Tipo I em tonalidade alaranjada e Tipo III esverdeada. No Grupo S (Fig. 9A) as projeções do tendão apresentaram arredondadas nas extremidades e predominância de colágeno Tipo I. No Grupo T (Fig. 9B) apresentaram as projeções das fibras do tendão pontiagudas, com predominância de colágeno Tipo III em relação ao grupo S. No Grupo O (Fig. 9C) as fibras do tendão revelaram morfologia arredondada na extremidade e com espaçamentos, apresenta predominância do colágeno Tipo III adjacentes às células musculares em relação aos grupos S e T. No Grupo OT (Fig. 9D) apresentaram projeções da fibra do tendão pontiagudas, com aumento do colágeno Tipo III nas células musculares, e predominância do Tipo I no tendão em relação aos Grupos S, T e O. (Figura 9)

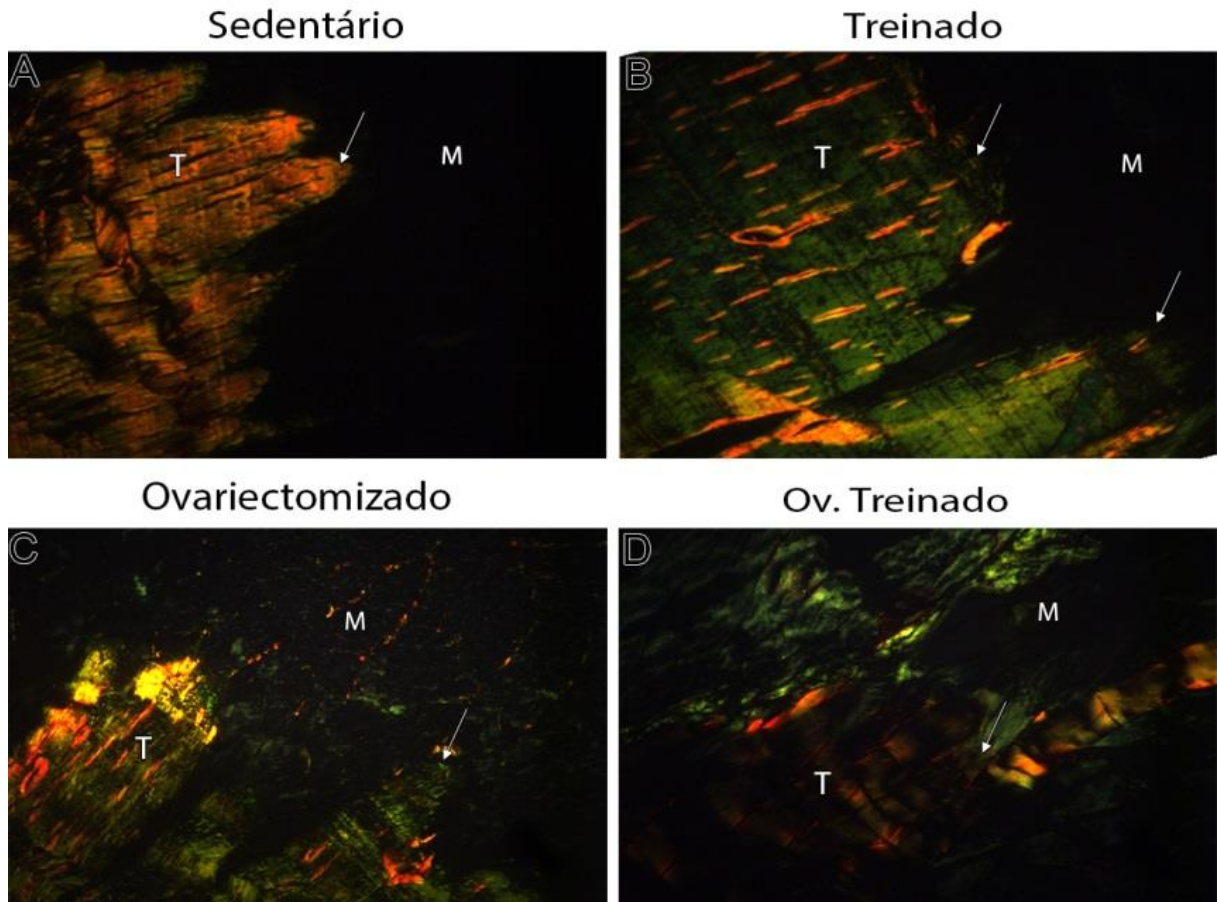


Figura 9 - Microscopia de Luz da junção miotendínea do músculo tibial anterior de ratas Wistar. Grupo Sedentário (A), Grupo Treinado (B), Ovariectomizado (C), Ovariectomizado Treinado (D). A região da junção miotendínea (Seta) apresenta comunicação entre a célula muscular (M) e as fibras do tendão (T). PS sob luz polarizada. 40x.

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para descrever as características morfológicas tridimensionais do músculo tibial anterior foi empregada a técnica de microscopia eletrônica de varredura. No grupo S (Fig. 10A) evidenciaram o feixe de miofibrilas da célula muscular revestida pelo endomísio, feixes de fibras colágenas tendíneas percorrem adjacientemente o endomísio e projetam-se no sarcolema, as fibrilas dispostas paralelamente e os sarcômeros alinhados em série. No Grupo T (Fig. 10B) apresentaram maior quantidade de fibras tendíneas e projeção para o sarcolema as fibrilas organizadas paralelamente e os sarcômeros alinhados em série. No Grupo O (Fig. 10C) apresentaram maior aumento de fibras tendíneas em relação ao grupo S, endomísio revelou características atenuadas e os sarcômeros apresentam-se desalinhados. No Grupo OT revelaram grande número de fibras colágenas do tecido tendíneo que percorrem o endomísio e se projetam para o sarcolema, fibrilas dispostas em sentido paralelo e sarcômeros alinhados. (Figura 10).

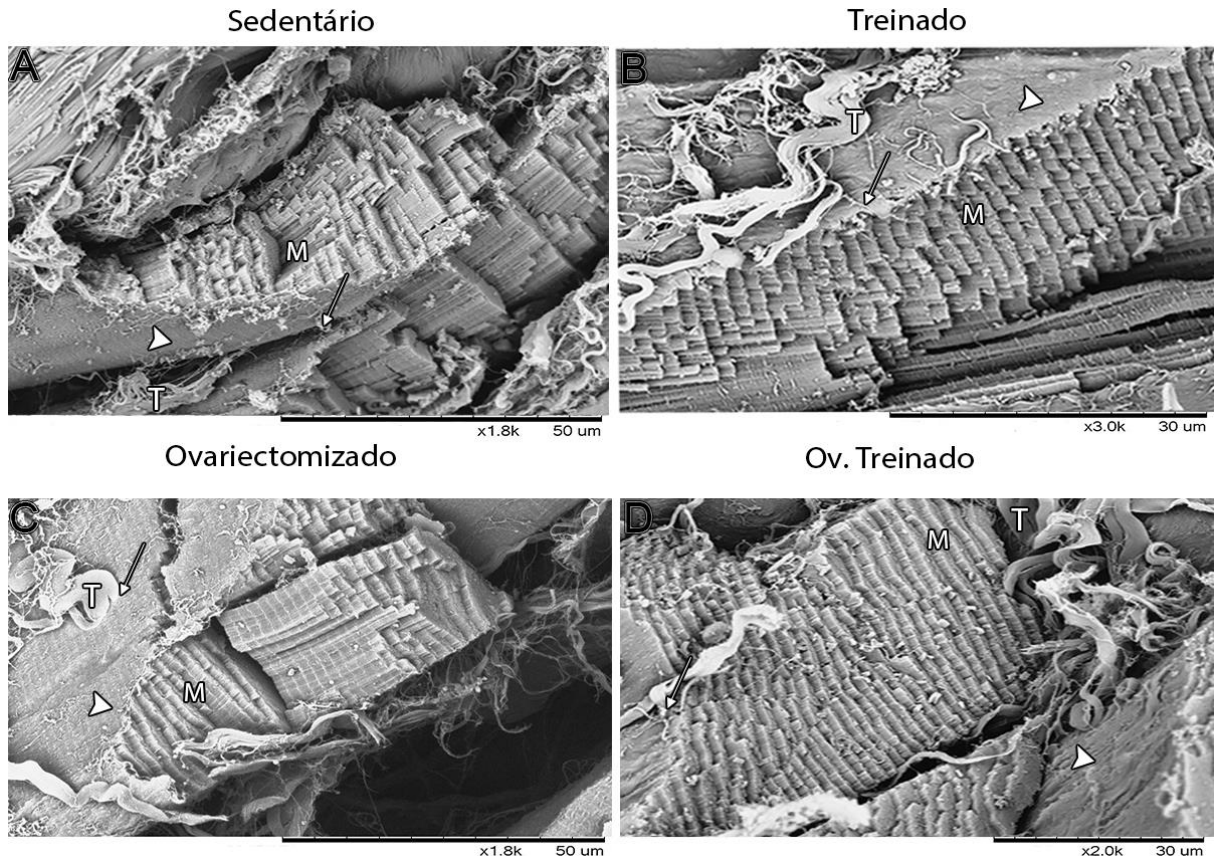


Figura 10 - Microscopia Eletrônica de Varredura da junção miotendínea do músculo tibial anterior de ratos Wistar. Grupo Sedentário (A), Grupo Treinado (B), Ovariectomizado (C), Ovariectomizado Treinado (D). A região da junção miotendínea (Seta) apresenta o encontro entre a célula muscular (M) e as fibras do tendão (T). Endomísio reveste os feixes de fibras (Cabeça de Seta).

Através da técnica de microscopia eletrônica de varredura foi possível evidenciar as características tridimensionais da junção miotendínea do músculo sóleo. No Grupo S (Fig. 11A) observaram o tecido conjuntivo recobrindo a fibra muscular, em sua superfície nota-se as fibras tendíneas projetando-se para o sarcolema. No Grupo T (Fig. 11B) apresentaram duas fibras musculares distintas, envoltas pelo tecido conjuntivo que apresenta grande quantidade de fibras tendíneas em sua superfície e se projetam para o sarcolema. No Grupo O (Fig. 11C) observaram as fibras tendíneas em maior quantidade que no Grupo S menor que o Grupo T e OT. No Grupo OT (Fig. 11D) apresentaram o tecido conjuntivo recoberto por fibras tendíneas e em maior quantidade em relação aos grupos S e O, porém, menor quantidade em relação ao Grupo T (Fig. 15).

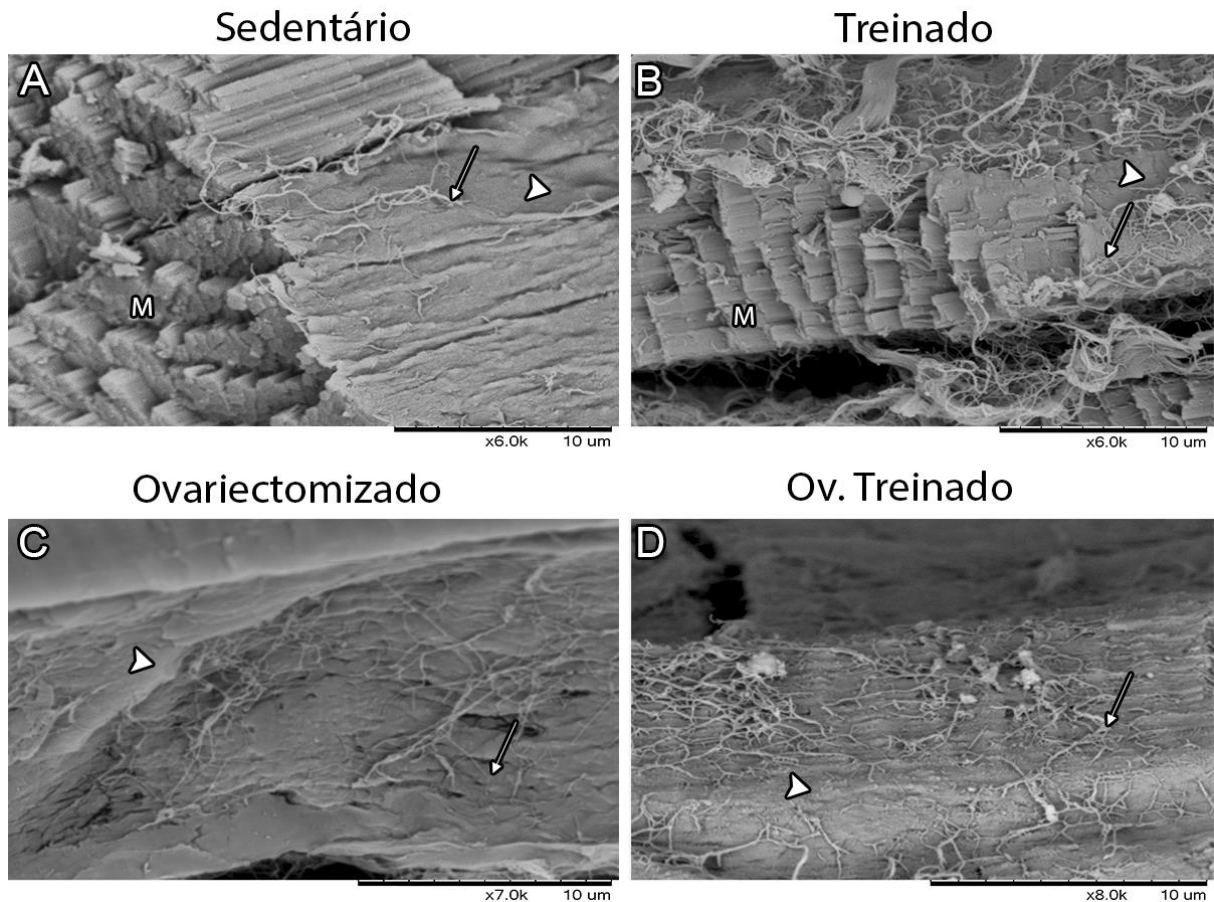


Figura 11 - Microscopia Eletrônica de Varredura da junção miotendínea do músculo sóleo de ratas Wistar. Grupo Sedentário (A), Grupo Treinado (B), Ovariectomizado (C), Ovariectomizado Treinado (D). A região da junção miotendínea (Seta) apresenta o encontro entre a célula muscular (M) e as fibras do tendão (T). Endomísio reveste os feixes de fibras (Cabeça de Seta).

5.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão

A análise ultraestrutural da junção miotendínea do tibial anterior através da microscopia eletrônica de transmissão revelou as invaginações sarcoplasmáticas das fibras tendíneas no músculo esquelético. No Grupo S (Fig. 12A), observaram as invaginações oriundas da matriz extracelular que apresenta diversos Tipos de colágeno. No Grupo T (Fig. 12B), apresentaram as invaginações aumentadas consideravelmente e se ramificam em diversos níveis e provocam o desalinhamento das linhas Z. No Grupo O (Fig. 12C), revelaram menor comprimento da invaginação em relação ao grupo T e menor número de digitações, porém o desalinhamento dos sarcômeros em serie também é presente próximo à junção. No Grupo OT (Fig. 12D) apresentaram redução acentuada das invaginações em relação aos Grupos S e T, porém, em relação ao Grupo O apresenta maior número de invaginações, notou-se os sarcômeros desalinhados (Fig. 12)

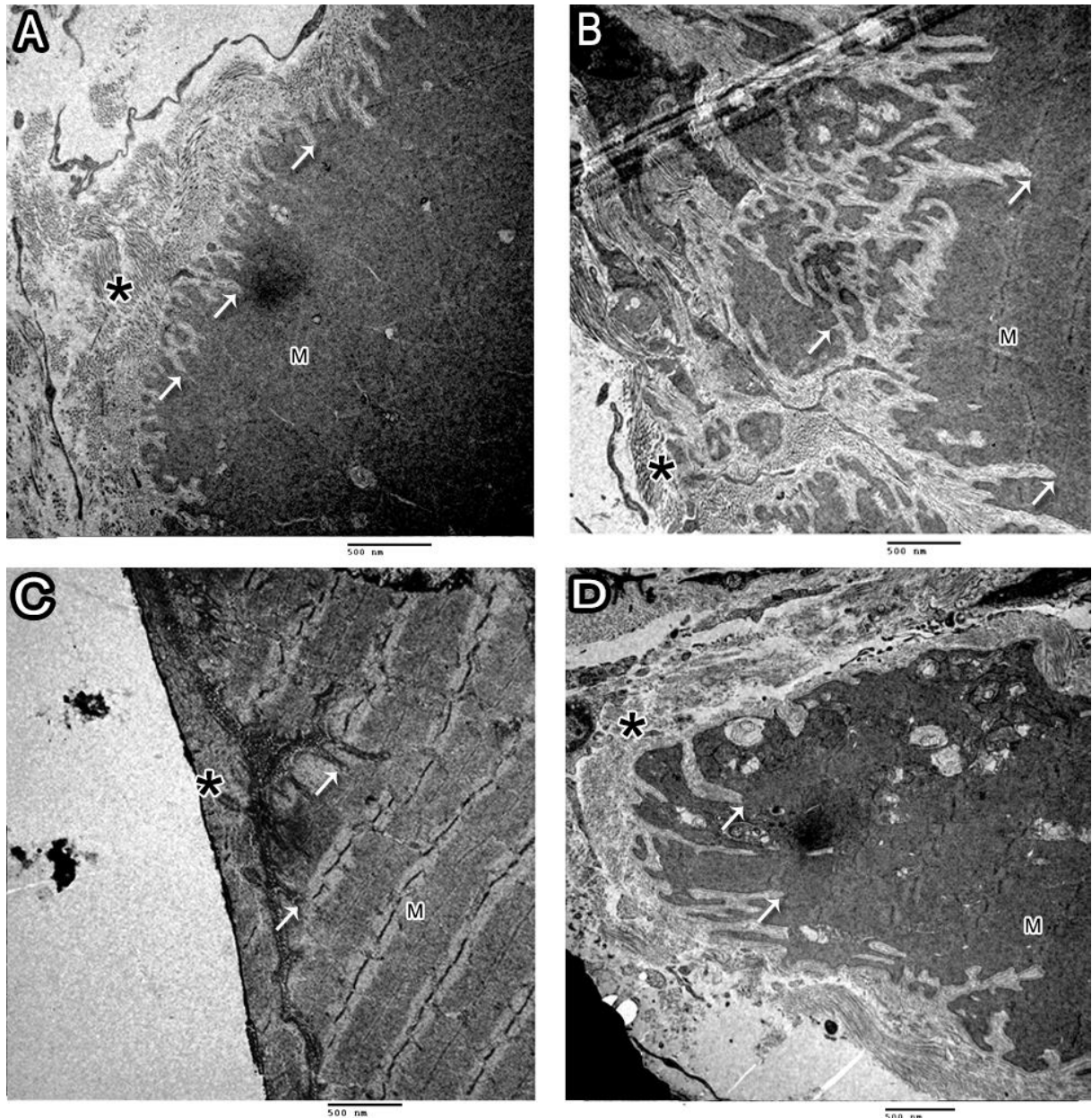


Figura 12 - Microscopia Eletrônica de Transmissão da junção miotendínea do músculo tibial anterior de ratas Wistar. Grupo Sedentário (A) ampliação de 7500x. Grupo Treinado (B) ampliação de 6000x. Ovariectomizado (C) ampliação de 6000x. Ovariectomizado Treinado (D) Ampliação 6000x. Observam-se as invaginações sarcoplasmáticas (Setas), os Tipos variados de feixes de fibras colágenas (*) e a célula muscular (M).

Através da microscopia eletrônica de transmissão foi possível analisar ultraestruturalmente a junção miotendínea do músculo sóleo. No Grupo S (Fig. 13A), observam invaginações provenientes da matriz extracelular, diferentes Tipos de colágeno e linhas Z desalinhadas, o sub nível da invaginação que transpassa a linha Z da célula muscular e a presença de mitocôndrias paralelas aos sarcômeros alinhados em série. No Grupo T apresentam grande acúmulo de invaginações que ao se unirem formaram microtendões e as invaginações são provenientes deles. No

Grupo O (Fig. 13C), apresentaram leve aumento nas invaginações em relação ao grupo S, há pouca variação no colágeno presente na matriz extracelular, linhas Z desalinhadas e observa-se um agrupamento de mitocôndrias presentes na matriz extracelular. No Grupo OT (Fig. 13D) as invaginações unem-se formando microtendões, entretanto, diferentemente do Grupo T eles possuem extremidade pontiaguda e invaginações partem desses microtendões (Fig. 13).

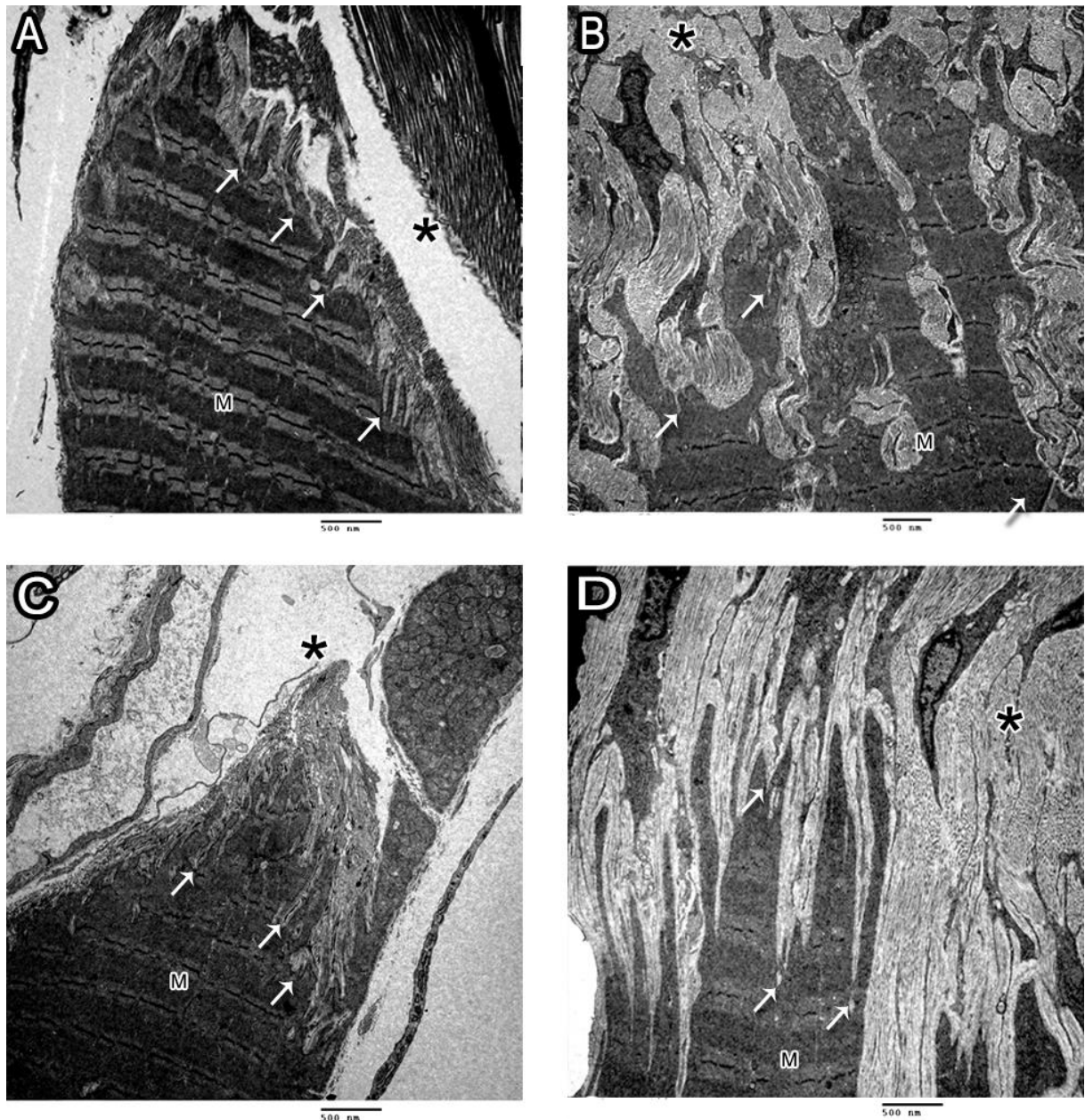


Figura 13 - Microscopia Eletrônica de Transmissão da Junção miotendínea do músculo sóleo de ratos Wistar. Grupo Sedentário (A) ampliação de 5000x. Grupo Treinado (B) Ampliação 4000x. Grupo Ovariectomizado (C) ampliação de 5000x Ovariectomizado Treinado (D) ampliação de 5000x. Observam-se as invaginações sarcoplasmáticas (**Setas**), os feixes de fibras colágenas (*) e a célula muscular (**M**).

5.5 Análise Morfométrica

Os resultados da análise morfométrica estão apresentados na tabela 2 e 3.

A Tabela 2 indica a média e desvio padrão do comprimento e espessura das invaginações e evaginações do músculo tibial anterior. No Grupo sedentário apresentaram as invaginações menores que os demais grupos, entretanto possui maior espessamento que os grupos treinado e ovariectomizado. No Grupo treinado apresentaram invaginações com maior comprimento em relação aos grupos sedentário e ovariectomizado treinado, entretanto a espessura menor que ambos. No Grupo ovariectomizado apresentaram o maior comprimento das invaginações entre os quatro grupos, entretanto sua espessura é a menor entre os quatro grupos. No Grupo ovariectomizado treinado apresentaram invaginações maiores que o grupo sedentário e espessura maior que os demais grupos.

As evaginações do Grupo sedentário apresentaram o menor comprimento em relação aos demais grupos, entretanto a espessura é maior que o Grupo treinado e ovariectomizado treinado. No Grupo treinado apresentaram evaginações com comprimento maior que os grupos sedentário e ovariectomizado treinado, porém sua espessura é menor que os grupos sedentário e ovariectomizado. No Grupo ovariectomizado apresentaram o maior comprimento e espessura da evaginação entre todos os grupos. No Grupo ovariectomizado treinado apresentaram o comprimento maior que o grupo sedentário e a menor espessura entre todos os grupos.

Através da análise estatística podemos notar que a relação entre a invaginação do tibial anterior dos Grupos S e T apresentou significância e aumento no comprimento para o Grupo T, entre os Grupos S e O apresentou significância e grande aumento do comprimento para o Grupo O, entre os Grupos T e OT não apresentou diferença significativa, entre os Grupos O e OT apresentou significância e maior invaginação no grupo O. A Evaginação do Grupo S em relação ao Grupo T apresentou significância e aumentou o comprimento no Grupo T, os Grupos S e O apresentaram significância e maiores invaginações no Grupo O, os Grupos T e OT não apresentaram significância, os grupos O e OT apresentaram significância e evaginações maiores no grupo O. A relação da espessura da invaginação entre os Grupos S e T não

apresentou significância, entre os Grupos S e O não houve significância, entre os Grupos T e OT houve significância e aumento na invaginação do Grupo OT, entre os Grupos O e OT houve significância e aumento na espessura da invaginação no Grupo OT. A relação da espessura da evaginação entre os Grupos S e T não apresentou significância, entre os Grupos S e O não apresentou significância, entre os Grupos T e OT não apresentou significância, entre os Grupos O e OT apresentou significância e aumento da espessura da evaginação no Grupo OT.

Mensuração/Grupo	Sedentário	Treinado	Ovariectomizado	Ovariectomizado Treinado
Invaginação	358.520 ± 144.487	464.313 ± 145.914	639.483 ± 277.483	425.736 ± 126.377
Espessura da Invaginação	127.917 ± 53.319	110.285 ± 147.403	104.272 ± 32.646	136.158 ± 47.435
Evaginação	304.187 ± 130.883	450.984 ± 137.376	567.446 ± 307.593	377.591 ± 139.938
Espessura da Evaginação	135.353 ± 50.810	119.445 ± 55.250	155.338 ± 75.112	108.314 ± 35.012

Tabela 2 – Média e desvio padrão da invaginação, evaginação, espessura da invaginação e espessura da evaginação dos grupos S, T, O e OT do tibial anterior.

A tabela 3 indica a média e desvio padrão das invaginações e evaginações do músculo sóleo. No Grupo sedentário a invaginação possui comprimento e espessura maior que o grupo treinado, entretanto menor que os grupo ovariectomizado e ovariectomizado treinado. No Grupo treinado apresentaram comprimento e espessura das evaginações menores que os demais grupos. No Grupo ovariectomizado apresentaram comprimento e espessura das invaginações maiores que os grupos sedentário e treinado. No Grupo ovariectomizado treinado apresentaram o comprimento e espessura das invaginações maiores que os demais grupos.

As evaginações no Grupo sedentário apresentaram o comprimento maior que os grupos treinado e ovariectomizado, entretanto a espessura é a menor em relação aos demais grupos. No Grupo treinado apresentaram o menor comprimento das evaginações entre todos os grupos, entretanto a espessura é maior que o grupo sedentário e menor que os demais grupos. No Grupo ovariectomizado o comprimento é maior que os grupos sedentário e treinado e menor que o grupo ovariectomizado treinado, entretanto a espessura é maior que o grupo sedentário, muito semelhante ao grupo treinado e menor que o grupo ovariectomizado treinado. No Grupo

ovarietomizado treinado apresentaram o comprimento e espessura das evaginações maiores que todos os grupos.

Através da análise estatística podemos notar que a relação entre a invaginação do sóleo do Grupo S em relação ao Grupo T foi maior para o Grupo S e não possui significância. A evaginação do Grupo S com o Grupo T foi maior para o Grupo S e não apresentou significância. Entre os Grupos S e O a invaginação é maior em O que em S, entretanto a evaginação é maior em S, em ambas as relações não houve significância. A relação da invaginação entre os Grupos T e OT é maior para OT e apresenta significância. A relação da evaginação nos grupos T e OT é maior para OT e apresenta significância. A relação da invaginação dos Grupos O e OT é maior para OT com significância. A relação da evaginação entre os Grupos O e OT é maior para OT e apresenta significância. A relação da espessura da invaginação dos Grupos S e T é maior no S e não apresenta significância. A relação da espessura da evaginação é maior em T e apresenta significância. A espessura da invaginação de S é menor que em O e não apresenta significância. A espessura da evaginação de S é menor que em O e apresenta significância. A relação da espessura da invaginação entre os Grupos T e OT é maior para OT e apresenta significância. A relação da espessura da evaginação é maior em OT e apresenta significância. A relação da espessura da invaginação entre os Grupos O e OT é maior em OT e apresenta significância. A relação da espessura da evaginação entre os Grupos O e OT é maior em OT e possui significância.

Mensuração/Grupo	Sedentário	Treinado	Ovariectomizado	Ovariectomizado Treinado
Invaginação	404,04 ± 136,48	361,48 ± 119,69	487,12 ± 137,91	555,620 ± 169,98
Espessura da Invaginação	0,112 ± 0,030	0,102 ± 0,027	0,122 ± 0,043	0,166 ± 0,051
Evaginação	403,64 ± 128,09	332,72 ± 85,51	348,56 ± 109,58	572,64 ± 130,19
Espessura da Evaginação	0,123 ± 0,039	0,146 ± 0,061	0,147 ± 0,069	0,178 ± 0,084

Tabela 3 - Média e desvio padrão da invaginação, evaginação, espessura da invaginação e espessura da evaginação dos grupos S, T, O e OT do sóleo.

6. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo apresentam previamente as características da região miotendínea e ventre muscular do tibial anterior e sóleo em aspectos tridimensionais, estruturais e ultraestruturais.

A mensuração da massa corporal no 3º período indicou que os Grupos S e O demonstraram possuir maior massa que os grupos T e OT, entretanto, o Grupo O apresentou maior disparidade em relação a todos ou outros Grupos, esta alteração é proveniente da redução dos níveis hormonais provocados pela ovariectomia, com a aplicação do protocolo de treinamento realizado no Grupo OT notamos que a massa corporal dos animais reduziu e ficou próxima a do Grupo S. Aumento no peso corporal de ratas ovariectomizadas foram descritos por Vasconcellos et al (2004) e Henriques (2010) que corroboram com a mensuração realizada neste estudo.

Os elementos estruturais da junção miotendínea foram revelados na região em que as fibras do tendão encontram-se com as fibras musculares, observamos que as densidade do colágeno diferente nos Grupo S, T, O e OT no Grupo O as fibras colágenas atenuam-se e no Grupo OT demonstram características mais densas, observamos que as fibras do tendão se projetam para as fibras musculares através do endomísio constatado através da coloração de HE e PS, demonstramos que os Tipos de colágeno presentes na região da JMT alternam-se em Tipo I e Tipo III de acordo com a presença ou não de atividade física como observado nos Grupo S e T onde o colágeno Tipo I é predominante no Grupo S e Tipo III predominante no Grupo T, entretanto, nos Grupo O e OT o Colágeno Tipo III recobre as fibras musculares. os aspectos tridimensionais foram evidenciados nos músculos tibial anterior e sóleo o ponto de encontro entre as fibras do tendão e as fibras musculares que é denominada junção miotendínea (JMT) que de acordo Tidball (1991) é uma região complexa e especializada do sistema músculo esquelético. Demonstramos que as fibras tendíneas projetam-se a matriz extracelular para as células musculares e variam em seu tamanho e espessura de acordo com a atividade exercida, no Grupo T e OT a presença das fibras aumenta e conseqüentemente a JMT se torna fortalecida. A função da JMT é transmitir a força gerada nas contrações musculares, para as proteínas do tecido conjuntivo extracelular localizadas no tecido tendíneo como demonstrado por Kannus et al. (2000). Nos aspectos ultraestruturais identificamos que

a JMT possui um padrão de fortalecimento determinado pela aplicação do treinamento indicados nos Grupos T e OT em que seus níveis aumentam e se diferenciam em subníveis e sua espessura e comprimento aumentam em relação aos Grupos S e O que não realizaram um protocolo de treinamento Kojima et al. (2008) observou padrões parecidos em seu protocolo de treinamento com esteira.

O aumento e organização das projeções dos Grupos T e OT indicados no tibial anterior e sóleo através da microscopia de luz e coloração HE e PS revelam-nos adaptações mediante ao treinamento assim como os resultados encontrados por Curzi et al. (2016) que descreveu adaptações do extensor longo dos dedos mediante protocolo de treinamento em esteiras com diferentes intensidades e relatou que as interdigitações aumentam seus níveis e subníveis de acordo com a intensidade do exercício, resultados semelhantes foram evidenciados por Kojima et al. (2008) ao analisar o tibial anterior e gastrocnêmicos com protocolo de corrida com alta intensidade em esteira.

Tozer e Duprez (2005) relataram que o desenvolvimento da JMT é influenciado pela interação entre o tecido muscular e o tecido tendíneo. As contrações musculares exigidas para que o animal mantenha-se na superfície da água durante o treinamento de natação, produz intensa e contínua contração do sistema muscular, que produz tração nas fibras tendíneas e acarreta em adaptações na JMT, ocasiona o aumento nas fibras musculares como relatado por Willians e Goldspink (1973) e aumento nas fibras tendíneas como observamos neste estudo. Os resultados apresentados do ventre muscular, como o aumento do espessamento do epimísio corrobora com os resultados encontrados por Moreira et al. (2005) que evidenciaram o espaçamento interfibrilar no músculo reto femoral de ratas adultas ovariectomizadas.

Demonstrou-se que as fibras colágenas analisadas sob luz polarizada no Grupo S houve predominância do colágeno Tipo I, entretanto, nos Grupos T e OT houve prevalência do colágeno Tipo III, que demonstra alteração nas fibras colágenas do tendão e redução da predisposição de lesões conforme descrito por Tidball, Salem e Zernicke (1993). O Grupo O revelou grande quantidade de colágeno Tipo III, o que sugere a adaptação da JMT. Segundo Niyibizi et al. (2000) e Ciena et al. (2013), a

síntese de colágeno Tipo III produzido nas fases iniciais de desenvolvimento diminui de acordo com o aumento proporcional na produção do colágeno Tipo I.

No presente estudo observamos as características tridimensionais da região da junção miotendínea através da microscopia eletrônica de varredura e evidenciamos que as fibras tendíneas percorrem a matriz extracelular e a superfície do tecido conjuntivo que recobre a fibra muscular, onde realizam diversas projeções, para o interior da célula muscular e unirem-se ao tendão.

Além disso, Ciena et al. (2012) revelaram recentemente que as adaptações e evoluções da JMT no músculo estriado esquelético, ocorrem de acordo com sua sintopia, função, disposição, topografia, e composição histoquímica de suas fibras. As infiltrações das fibras tendíneas além do endomísio e perimísio revelados nos Grupos S, T, O e OT indicam que a célula muscular se adapta as invaginações realizadas através do tendão que corrobora com os resultados encontrados por Ciena et al. (2011) onde revelaram adaptações na JTM em que as fibras tendíneas oriundas da matriz extracelular invaginam-se na fibra muscular, apresentam características longas e delgadas, constituída de tecido conjuntivo, que tem o papel de aumentar a área de contato de fixação do tecido tendíneo ao muscular que corroboram com os resultados evidenciados nos Grupos S, T, O e OT. Resultados semelhantes foram relatados por Curzi et al. (2015) mediante o treinamento físico aeróbio realizado em esteira, houve aumento das invaginações no Grupo T em relação ao Grupo S, além de bifurcação das interdigitações e aumento de níveis, no nosso estudo observamos que entre os grupos ovariectomizado o comportamento da junção miotendínea tende a ser semelhante aos Grupos S e T, o que resulta em possíveis benefícios para a saúde provenientes desse fortalecimento.

A relação entre o comprimento da invaginação e evaginação do tibial anterior demonstrou que a invaginação no Grupo S, T, O e OT possui maior comprimento que a evaginação. A diferença das invaginações e evaginações entre os Grupos S e T é maior no Grupo T para ambas. Entre os Grupos S e O o aumento das Invaginações e evaginações no Grupo O foi maior. Entre os Grupos T e OT houve maior aumento nas invaginações e evaginações no Grupo T que em OT. Houve diferença entre os Grupos O e OT em que as invaginações e evaginações no Grupo O são maiores que no Grupo OT.

Houve aumento na espessura da invaginação do tibial anterior no Grupo S em relação ao Grupo T, aumento expressivo no Grupo S em relação ao Grupo O. No Grupo OT houve aumento em relação ao Grupo T. O aumento na espessura da invaginação no Grupo OT é maior em relação ao Grupo O. Houve aumento na espessura da evaginação do Grupo S em relação ao Grupo T, e nos Grupos S e O é maior em O. Dos Grupos T e OT é maior em T e nos Grupos O e OT houve aumento da espessura da evaginação em O. Houve aumento na relação da espessura da evaginação em comparação com a invaginação. No Grupo T apresenta aumento de na espessura da evaginação em relação à espessura da invaginação. No Grupo O houve aumento da espessura da evaginação em relação à espessura da invaginação e o Grupo OT apresentou a espessura da invaginação maior que a espessura da evaginação.

Houve diferença no comprimento da invaginação e evaginação do sóleo entre os Grupos S e T onde S é maior que T em ambas. Houve aumento na relação do comprimento da invaginação entre o Grupo S e Grupo O em que é maior no Grupo O, entretanto, a relação do comprimento da evaginação é maior para o Grupo S. Houve grande aumento da relação do comprimento da invaginação entre os Grupos T e OT que possui maior comprimento. A diferença do comprimento da invaginação e evaginação entre os Grupos O e OT é maior para o Grupo OT.

Houve diferença na espessura da invaginação nos Grupos S e T em que S é maior que T e a relação da espessura da evaginação é maior para o Grupo T. Houve aumento na relação da espessura da invaginação e evaginação entre os Grupos S e O onde o Grupo O é maior. A relação da espessura da invaginação e evaginação aumentou significativamente para o Grupo OT. Houve aumento na espessura da invaginação e evaginação no Grupo OT em relação ao Grupo O.

A diferença encontrada no músculo sóleo em quem o Grupo T possui menor comprimento e espessura das invaginações e evaginações é devida ao grande número de ramificações, níveis, subníveis e das pequenas projeções a partir do microtendão. As ramificações, níveis e subníveis corroboram com resultados encontrados por Curzi et al. (2015) e Kojima et al. (2008). Os microtendões revelados nos Grupos T e OT do músculo sóleo indicam alta atividade proveniente do treinamento aeróbio, onde as invaginações presentes agregam-se e formam interdigitações maiores, com pequenas invaginações que se ramificam desses

microtendões. Apesar de estas invaginações serem menores que os grupos sedentário e ovariectomizado, quando provenientes destes microtendões possuem maior área de contato com o tecido muscular, que aumenta a área de tração e consequentemente a transmissão de força.

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

Concluimos no presente estudo através dos diferentes métodos empregados que:

- ❖ O protocolo de treinamento foi efetivo para a redução da massa corporal do Grupo OT e para a regulação massa corporal do Grupo T;
- ❖ Houve maior área de contato entre as projeções das fibras tendíneas com as fibras musculares com menor risco de lesões;
- ❖ Houve maior atividade do tecido conjuntivo denso modelado (tendão) identificado pelo aumento no número de tenócitos;
- ❖ Os Grupos T e OT apresentaram alteração no colágeno do Tipo I para Tipo III com maior flexibilidade e conseqüentemente menor possibilidade de lesão derivadas de movimentos mecânicos súbitos;
- ❖ Houve predomínio de junções laterais no músculo sóleo em relação ao músculo tibial anterior derivada da disposição do tendão;
- ❖ Apresentaram aumento no comprimento, espessura e sub-níveis das fibras tendíneas;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. Referências Bibliográficas

- AJIRI, T.; KIMURA, T.; ITO, R.; INOKUCHI, S. Microfibrils in the myotendon junctions. **Acta Anatomica**, v. 102, p. 433-439, 1978.
- AMIEL, L.; FRANK, C.; HARWOOD F.; FRONEK J.; AKESON W. Tendons and ligaments: a morphological and biochemical comparison, **Journal of Orthopaedic Research**, v. 1, p. 257-265, 1984.
- BENJAMIN, M.; RALPHS, J.R. The cell and developmental biology of tendons and ligaments. **International Review of Cytology**, v. 196, p. 85-130, 2000.
- BLITZ, N.M; ELIOT, D.J. Anatomical aspects of the gastrocnemius aponeurosis and its insertion: A cadaveric study. **The Journal of Foot & Ankle Surgery**, v. 46, n. 2, p. 101-108, 2007.
- BOLINA, C.S; BOLINA-MATOS, R.S; ALVES, P.H.M; CURY, D.P; CIENA, A. P.; WATANABE, I. Three-dimensional aspects of the structural characteristics and kidney angioarchitecture of adult and aged Wistar rats: a scanning electron microscopy study. **Microscopy Research and Technique**, v. 76, n. 5, p. 538-544, 2013.
- BROOKE, M. H.; KAISER, K. K. Muscle fiber types: How many and what kind?. **Archieve Neurological**. V. 23 pp. 369-397, 1970.
- BUTLER, D.L.; JUNCOSA, N.; DRESSLER, M.R. FUNCTIONAL EFFICACY OF TENDON REPAIR PROCESSES **annual review of biomedical engineering**, v. 6, 303-329, 2004.
- CIABATTARI O.; DAL PAI, A.; DAL PAI, V. Efeito da natação associado a diferentes dietas sobre o músculo tibial anterior do rato: estudo morfológico e histoquímico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, n. 2, p. 121-125, 2005.
- CIENA, A.P.; ALMEIDA, S. R.Y.; ALVES, P.H.; BOLINA-MATOS, R. S.; DIAS, F. J.; ISSA, J. P.; IYOMASA, M. M.; WATANABE, I. Histochemical and ultrastructural changes of sternomastoid muscle in aged Wistar rats. **Micron**, v. 42, n. 8, p. 871-876, 2011.
- CIENA, A.P.; LUQUES, I. U.; DIAS, F.J.; ALMEIDA, S.R.Y.; IYOMASA, M.M.; WATANABE, I. Ultrastructure of the myotendinous junction of the medial pterygoid muscle of adult and aged Wistar rats, **Micron**, v.41, p. 1011-1014, 2010.
- CURZI, D.; BALDASSARRI, V.; MATTEIS, R.; SALAMANNA, F.; BOLOTTA, A.; FRIZZIERO, A.; FINI, M.; MARINI, M.; FALCIERI, E. Morphological adaptation and protein modulation of myotendinous junction following moderate aerobic training. **Histology and Histopathology**. v. 30. p. 456-472, 2015
- CURZI, D.; Patrizia AMBROGINI, P.; FALCIERI, E.; BURATTINI, S. Morphogenesis of rat myotendinous junction. **Muscles, Ligaments and Tendons Journal**, v. 3, n. 4, p. 275, 2013.
- DANGELO, J.G.; FATTINI, C.A. **Anatomia Humana: Sistêmica e Segmentar**. 3 ed. revista. São Paulo: Atheneu, 2011. 757p.
- DORAL, M. N.; ALAM, M.; BOZKURT, M.; TURHAN, E.; ATAY, O. A.; DÖNMEZ, G.; MAFFULLI, N. Functional anatomy of the Achilles tendon. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 18, n. 5, p. 638-643, 2010.

FERRETTI, M.; CAVANI, F.; MANNI, P.; CARNEVALE, G.; BERTONI, L.; ZAVATTI, M.; PALUMBO, C. Ferutinin dose-dependent effects on uterus and mammary gland in ovariectomized rats. **Histology and Histopathology**, v. 29, p. 1027-1037, 2014.

GENESER, F. **Histologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

HÄMÄLÄINEN, N.; PETTE, D. The Histochemical Profiles of Fast Fiber Types IIB, IID and IIA in Skeletal Muscles of Mouse, Rat and Rabbit. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 41, p. 733-743, 1993.

HANG, T.; HUANG, C.; HUANG, C.; CHEN, H.; CHENG, C. The influence of long-term treadmill exercise on bone mass and articular cartilage in ovariectomized rats. **BMC Musculoskeletal Disorders**. v. 11, p. 185, 2010.

HANKIN, M. H.; MORSE, D. E.; BENNETT-CLARKE, C. A. **anatomia clinica: uma abordagem por estudos de casos**. 1 ed. Porto Alegre: AMGH. p.432, 2015.

HÉBERT-LOSIER, K.; SCHNEIDERS, A.G.; GARCÍA, J.A.; SULLIVAN, S.J.; SIMONEAU, G.G. Peak triceps surae muscle activity is not specific to knee flexion angles during MVIC. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 21, n. 5, p. 819-826, 2011.

HENRIQUES, H. N.; CÂMARA, N. R.; CARVALHO, A. C. B; PANTALEÃO, J. A. S.; GUZMÁN-SILVA, M. A. Efeito de doses elevadas de tibolona sobre o peso corporal e perfil lipídico de ratas ooforectomizadas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 32, n 2, pag. 88-93, 2010.

HØEGH-ANDERSEN, P.; TANKÓ, L. B.; ANDERSEN, T. L.; LUNDBERG, C. V.; MO, J. A.; HEEGAARD, A.; DELAISSÉ, J.; CHRISTGAU, S. Ovariectomized rats as a model of postmenopausal osteoarthritis: validation and application. **Arthritis Research Therapy. Denmark**, v.6 pag. 169-80, 2004.

JÓZSA, L., REFFY, A., BALINT, J.B. Polarization and electron microscopic studies on the collagen of intact and ruptured human tendons, **Acta Histochemica**, V. 74, , P. 209-215, 1984.

JÓZSA, L.; BÁLINT, J.B.; RÉFFY, A.; DEMEL, Z. Histochemical and ultrastructural study of adult human tendon. **Acta Histochemical**, v. 65, n. 2, p. 250-257, 1979.

JUNQUEIRA L.C; CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto/atlas**. 11. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

JUNQUEIRA, L.C; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R.R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissues sections. **The Histochemical Journal**, v. 11, n. 4, p. 447-455, 1979.

KANNUS, P. Structure of the tendo connective tissue. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 10, n. 6, p. 312-320, 2000.

KJAER, M. Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. **Physiological Reviews**, v. 84, n. 2, p. 649-698, 2004.

KNOBLOCH, K. The role of tendon microcirculation in Achilles and patellar tendinopathy. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, v. 3, n. 18, p. 1-13, 2008.

KOJIMA, H.; SAKUMA E.; MABUCHI, Y. MIZUTANI, J.; HORIUCHI, O.; WADA, I.; HORIBA, M.; YAMASHITA, Y.; HERBERT D. C.; SOJI, T.; OTSUKA, T. Ultrastructural changes at the myotendinous junction induced by exercise. **Journal of Orthopaedic Science**, v. 13, p.233-238, 2008.

- KOSTROMINOVA, T. Y.; CALVE, S.; ARRUDA, E. M.; LARKIN, L. M. Ultrastructure of myotendinous junctions in tendon-skeletal muscle constructs engineered *in vitro*. **Histology and Histopathology**, v. 24, n. 5, p. 541-550, 2009
- KOSTROMINOVA, T. Y.; CALVE, S.; ARRUDA, E. M.; LARKIN, L. M.; Ultrastructure of myotendinous junctions in tendon-skeletal muscle constructs engineered *in vitro*. **Histology and histopathology**. v. 24, n. 5, p. 541-550, 2009.
- LIBERANO, D. .J. A. **Tratado de anatomia sistêmica aplicada**, 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 288p.
- LIN, T. W.; CARDENAS, L.; SOSLOWSKY, L. J. Biomechanics of tendon injury and repair, **Journal of Biomechanics**, v. 37, p. 865-877, 2004.
- MAFFULLI, N.; BARRASS, V.; EWEN, S.W. Light microscopic histology of achilles tendon ruptures. A comparison with unruptured tendons. **American Journal Sports Med**, v.28, pag.857–863, 2000.
- MOORE, KL.; DALLEY.; AGUR. **Anatomia orientada para a clínica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.
- MOORE, M. J. BEAUX, A. A quantitative ultrastructural study of rat tendon from birth to maturity. **Journal of Anatomy**, v. 153, pag. 163-169, 1987.
- MOREIRA, M. A.; BRITO, M. V. H.; BRITO, N. M. B.; FREIRE FILHO, M. S. L. Estudo histomorfométrico do músculo esquelético de ratos em anestro. **Acta Cirúrgica Brasileira** v. 20 n. 4 p. 329. 2005
- MOTOYAMA, A.A.; WATANABE, I.; IYOMASA, M.M.; SILVA, M.C.P.; SOSTHINES, M. C. K.; OGAWA, K.; LOPES, M. G. O.; KFOURY, J. R. Ultrastructure of motor nerve terminals in the anterior third of Wistar rat tongue. **Microscopy Research and Technique**, v. 72, n. 6, p. 464-470, 2009.
- NIYIBIZI, C.; SMITH, P.; SHULER, F.D.; GERGESCU, H. I.; GHIVIZZANI, S. C. JOHNSTONE, B.; ROBBINS, P.D.; EVANS, C.H. Genetic enhancement of matrix synthesis by articular chondrocytes: Comparison of different growth factor genes in the presence and absence of interleukin-1. **Arthritis & Rheumatism**, v.43, p. 1156-1164, 200.
- PESTANA, P.R.D.; ALVES, A.N.; FERNANDES, K.P.S.; JUNIOR, J.A.S.; FRANCA, C.M.; BUSSADORI, S.K.; MESQUITA-FERRARI, R.A. Efeito da natação na expressão de fatores regulatórios miogênicos durante o reparo do músculo esquelético de rato. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 18, n.6, p. 419-722, 2012.
- RODRIGUEZ-GUZMAN M, M. A. J.; SANTESTEBAN, E.; GAÑAN, Y.; MACIAS, D.; HURLE, J. M. Tendon-muscle crosstalk controls muscle bellies morphogenesis, which is mediated by cell death and retinoic signaling. **Developmental Biology**, v. 302, n. 1, p. 267-280, 2007.
- SAAD, P. C. B.; GUIMARÃES, A.; DAL PAI, V.; KROLL, L. B. Análise histológica e histoquímica das fibras dos músculos reto do abdome e intercostal paraesternal de ratos submetidos ao exercício da natação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte** v. 8 n. 4, p. 144-150, 2002.
- SCOTT, W.; STEVENS, J.; MACLEOD, S. A. B. Human skeletal muscle fiber type classifications. **ychal Therapy**, v. 81, p.1810-1816, 2001.

- SILVA, M. D.; CARVALHO, R. F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, supl. p. 21-31, 2007
- SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada**. 5 ed. São Paulo: Artmed, 2010. p.959.
- TAJSHARGHI, H. Thick and thin filament gene mutations in striated muscle diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 9, n. 7, p. 1259-1275, 2008.
- THUBODEAU, G. A.; PATTON K. T. **Estrutura e funções do corpo humano**. 11 ed. São
- TIDBALL, J. G. Force transmission across muscle cell membranes. **Journal of Biomechanics**, V. 24, n.1, p.43-52, 1991
- TIDBALL, J.G.; SALEM, G.; ZERNICK, R. Site and mechanical conditions for failure of skeletal muscle in experimental strain injuries. **Journal of applied physiology**, v.74, n.3, p. 1280-1286, 1993.
- TORTORA, G.J.; DERRICKSON, B. **Corpo Humano: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. p.684
- TOZER, S.; DUPREZ, D. Tendon and ligament: development, repair and disease. **Birth Defects Research. Part C, Embryo Today, reviews**, v. 75, n. 3, p. 226-236, 2005.
- TROTTER, J. A. Structure-function considerations of muscle-tendon junctions. **Comparative biochemistry and physiology – Part A: molecular & Integrative Physiology**, v.133 n.4, p. 1127-1133, 2002.
- VASCONCELLOS, L. S.; LEITE, J. M.; SABINO, K. R. PETROIANU, A. Influência da Ooforectomia na Variação Ponderal em Ratas Jovens e Adultas. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**. v. 48, n 2, pag. 299-304, 2004.
- WAGGETT, A. D.; BENJAMIN, M. RALPHS, J. R. Connexin 32 and 43 gap junctions differentially modulate tenocyte response to cyclic mechanical load, **European journal of Cell Biology**, v. 85, pag. 1145-1154, 2006
- WATANABE, I. **Scanning electron microscopy atlas of cells and tissues of the oral cavity**. São Paulo. [s/n]:1998, 196p.
- WILLIAMS, P. E.; GOLDSPINK, G. The effects of immobilization on the longitudinal growth of striated muscles. **Journal of Anatomy**, v. 116, p. 45-55, 1973.
- YAMASHITA, S.; MCGRATH, K. F.; YUKI, A.; TAMAKI, H.; KASUGA, N.; TAKEKURA, H. Assembly of transverse tubule architecture in the middle and myotendinous junctional regions in developing rat skeletal muscle fibers., v. 28, n. 2-3, p. 141-151, 2007.
- YWAZAKI, J.L. O efeito do exercício resistido e do alongamento no músculo sóleo de ratas osteopênicas. 2012. 76 F, Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Departamento de Educação Física, Curitiba, 2012.