
Educação Física

Jurandyr Pimentel Neto

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS NA JUNÇÃO MIOTENDÍNEA DO MÚSCULO PLANTAR DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS AO PROTOCOLO DE EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO

JURANDYR PIMENTEL NETO

**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS NA JUNÇÃO MIOTENDÍNEA DO MÚSCULO
PLANTAR DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS AO PROTOCOLO DE EXERCÍCIO
FÍSICO RESISTIDO**

Orientador: Prof. Dr. Adriano Polican Ciena

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

Rio Claro
2018

P644a Pimentel Neto, Jurandyr

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS NA JUNÇÃO MIOTENDÍNEA DO MÚSCULO PLANTAR DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS AO PROTOCOLO DE EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO / Jurandyr Pimentel Neto. -- Rio Claro, 2018

42 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Educação Física) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientador: Adriano Polican Ciena

1. junção miotendínea. 2. exercício escada vertical. 3. treinamento resistido. 4. morfometria. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Dedico o presente trabalho aos meus pais que sempre estiveram ao meu lado e me apoiaram diante de todas as dificuldades, e aos companheiros de laboratório que contribuíram com a evolução deste estudo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todos os momentos de dificuldade e superação que me fizeram crescer como aluno e principalmente como pessoa, que me mostraram o quão forte uma pessoa pode ser e quantos feitos podem ser realizados com força de vontade e com gosto pelo estudo.

Aos meus pais Mereli Siqueira Antônio Pimentel e José Luiz Pimentel dedico esta simples conquista, incomparável a todo esforço realizado por vocês durante toda minha vida, permanecendo ao meu lado, contribuindo de todas as formas possíveis, me apoiando, entendendo que diante de tanto trabalho e tempo dedicado ainda estava com vocês em meu coração, jamais poderei compensar toda a ajuda e esforço e continuarei na batalha principalmente por vocês serem minha maior inspiração.

Aos companheiros de LAMAF, agradeço por cada momento vivido, por cada lembrança seja ela boa ou ruim que ajudaram com cada tijolo diante da construção deste trabalho e da pessoa que me tornei, ainda em construção, mas totalmente evoluído em comparação com aquele que entrou em 2015. Especialmente ao meu "irmão" Jossei Soares de Sant'Ana, agradeço pela dedicação e companheirismo em toda jornada concluída mesmo em dias de desespero, a Lara Caetano Rocha por toda paciência e bom humor mesmo em situações difíceis em que tudo parecia desabar, a Carolina do Santos Jacob por toda parceria que se iniciou e ainda está por vir neste futuro acadêmico, a Gabriela Klein Barbosa por toda alegria e determinação diante de todos os intempéries da vida, que continue assim durante toda sua trajetória.

Aos companheiros que estão iniciando novos trabalhos e passarão por todas as etapas já vividas por mim, desejo força e espero poder ajudar com toda experiência adquirida, meu queridos Isabella Gomes, Bruna Aléxia Christofolleti, Vinícius Braggatto, Gabriel Zanardo, Marcela Viliod e Giovana Zerbo.

Aos companheiros que buscaram novos horizontes e de alguma forma contribuíram repassando suas experiências Bruno Rubin Cerri, Gabriel Fávaro, Johann Simon Hoffmann, Luis Roberto Bueno, especialmente ao meu amigo e irmão que deixou saudades Luan Rissatto Sierra.

Ao professor Adriano Polican Ciena por toda orientação, paciência, amizade, companheirismo, por ser um pai em diversos momentos, por todas as discussões

que nos levaram a soluções inesperadas e realizadoras, eu agradeço e espero continuar esta jornada acadêmica ao seu lado, seguindo seus passos e seu exemplo.

Agradeço aos companheiros de graduação por toda caminhada percorrida e que a distância não seja um obstáculo ao término da graduação.

Aos funcionários da UNESP, principalmente aos professores que dedicaram todo seu tempo e conhecimento para nossa formação, aos técnicos do LAMAF que contribuíram com este trabalho da melhor maneira possível.

A FAPESP pelo apoio financeiro dedicado a este estudo, demonstrando sua importância para a ciência.

RESUMO

O tecido muscular apresenta plasticidade em relação a diferentes estímulos, este possui alta capacidade de regeneração, e sua unidade contrátil básica é denominada sarcômero. A junção miotendínea (JMT) consiste em uma região anatômica altamente complexa e especializada onde ocorre a conexão entre células musculares e as fibrilas de colágeno, e representa a maior área de transferência de força do aparelho locomotor, além de ser considerada uma das principais áreas de predisposição a lesões desportivas. O exercício físico resistido promove adaptações metabólicas e funcionais ao organismo humano, desta forma o exercício de escada vertical com sobrecarga irá revelar as possíveis adaptações que ocorrem na JMT. O objetivo do presente estudo consistiu em descrever as adaptações morfofuncionais na junção miotendínea do músculo plantar de ratos *Wistar* adultos submetidos ao exercício resistido. Foram utilizados 30 ratos *Wistar* (90 dias) divididos em 3 Grupos: Controle (C): não submetidos aos protocolos; Treinamento (T): submetidos ao protocolo sem sobrecarga; Treinamento Resistido (TR): submetidos ao protocolo com sobrecarga. Os treinamentos foram divididos em 24 sessões, realizados 3x/semana, utilizou-se a escada vertical onde os animais realizaram 9 escaladas no Grupo T sem adição de sobrecarga e no Grupo TR de 4 a 9 escaladas com adição de sobrecarga em 3 tentativas por escalada. Para análise funcional foram registrados os movimentos realizados e o tempo por escalada. Um teste de capacidade de carga máxima carrega (CMC) foi realizado nos períodos: pré e pós-protocolo no Grupo TR. Para análise microscópica de luz foram utilizadas as colorações de Hematoxilina-Eosina (HE) e Picro-Sirius (PS). A análise morfométrica dos comprimentos das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas da JMT foi realizada a partir das imagens de microscopia eletrônica de transmissão. Desta forma foi possível evidenciar a melhora funcional, principalmente do Grupo TR que aumentou sua força em 95,6% (teste CMC) e sua performance durante as escaladas diante do teste de quantidade de movimentos realizados por tempo de escalada. Concluímos que a JMT apresentou ampla adaptação morfológica, com aumento do comprimento da invaginações sarcoplasmáticas em ambos os Grupos (T e TR), desta forma, promoveu aumento da interface músculo-tendínea benéfica no suporte estrutural desta região de transmissão de força e consequentemente diminui o risco de lesões desportivas.

Palavras-chave: Junção Miotendínea. Exercício Escada Vertical. Treinamento Resistido. Morfometria.

ABSTRACT

The muscular tissue presents plasticity in relation to different stimuli, this has high capacity for regeneration, and its basic contractile unit denominated sarcomere. The myotendinous junction (MTJ) consists in a highly complex anatomic and specialized where there is a connection between muscle cells and collagen fibrils and represents the largest area of transfer of strength of the locomotor apparatus, besides being considered one of the major areas of predisposition to sports injuries. The resistance exercise promotes functional and metabolic adaptation to the human body, in this way the exercise of vertical ladder with overload will reveal the possible adaptations that occur in the MTJ. The objective of this study was to describe the morphofunctional adaptations in the myotendinous junction of the plantar muscle of rats *Wistar* rats submitted to exercise. Were used 30 *Wistar* rats (90 days) were divided into 3 groups: Control (C): not subject to protocols; Training (T): submitted to the protocol without overload; Resistance Training (RT): submitted to the protocol with overload. The trainings were divided into 24 sessions, performed 3x/week, we used the vertical ladder where the animals underwent 9 climbing in T Group without adding overload and in RT Group of 4 to 9 climbing with addition of overload in 3 attempts by climbing. For functional analysis were recorded the movements performed and the time for climbing. A test of maximum load capacity was performed in the periods: Pre and post-protocol RT Group. For microscopic analysis of light were used for the colorations of Hematoxylin-Eosin (HE) and Picro-Sirius (PS). The morphometric analysis of the lengths of the invaginations and sarcoplasmatrics evaginations from MTJ was performed from the images of transmission electron microscopy. In this way it was possible to demonstrate the functional improvement, mainly from the RT Group which increased their strength in 95.6% (CMC) and test their performance during the climbing before the test of quantity of movements performed by the time of climbing. We conclude that the MTJ presented large morphological adaptation with an increase in the length of the invaginations sarcoplasmatrics in both groups (T and RT), in this way, promoted an increase of muscle-tendon interface beneficial in structural support in this region of transmission of force and consequently reduces the risk of sports injuries

Keywords: Myotendinous junction. Vertical ladder exercise. Resistance training. Morphometry.

LISTA DE ABREVIATURAS

JMT – Junção miotendínea

C – Grupo Controle

T – Grupo Treinamento

TR – Grupo Treinamento Resistido

HE – Hematoxilina – Eosina

PS – Picro-Sirius

CMC – Teste de Carga Máxima Carregada

P1 – 1ºPeríodo

P2 - 2ºPeríodo

P3 - 3ºPeríodo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Escada vertical utilizada durante os protocolos de treinamento dos Grupos T e TR.....	19
Figura 2. Adaptação aos protocolos de treinamento na escada vertical: Grupos T (A) e TR (B).	20
Figura 3. Sobrecarga de chumbo utilizados pelo Grupo TR.....	21
Figura 4. Microscopia de Luz da JMT do músculo plantar dos grupos Controle (A,B), Treinamento (C,D) e Treinamento Resistido (E,F).	28
Figura 5. Microscopia eletrônica de transmissão da JMT do músculo plantar dos Grupos Controle (A), Treinamento (B), Treinamento Resistido (C)....	29

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Médias e desvios-padrões da massa corporal (g) dos grupos Controle (C), Treinamento (T), Treinamento Resistido (TR).....	25
Gráfico 2. Médias e desvios-padrões da massa muscular dos grupos..	26
Gráfico 3. Médias e desvios-padrões da quantidade de movimentos realizados e tempo de escalada durante os protocolos de treinamento e treinamento resistido	26
Gráfico 4. Média e desvio-padrão do Teste de CMC do Grupo TR nos Pré e Pós-protocolo.....	27
Gráfico 5. Médias e desvios-padrões do comprimento das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas dos Grupos C, T, TR.....	30

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	Músculo Estriado Esquelético	11
1.2	Músculo Plantar	12
1.3	Junção Miotendínea	13
1.4	Exercício Físico - Resistido.....	14
2	OBJETIVO GERAL	17
2.1	Objetivos Específicos.....	17
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1	Mensuração da Massa Corporal e Massa Muscular	18
3.2	Protocolo de Escada Vertical.....	19
3.3	Avaliação Funcional.....	21
3.4	Teste de Capacidade de Carga Máxima Carregada.....	22
3.5	Microscopia de Luz.....	22
3.6	Microscopia Eletrônica de Transmissão	22
3.7	Análise Morfométrica	24
4	RESULTADOS	25
4.1	Massa Corporal	25
4.2	Massa Muscular.....	26
4.3	Avaliação Funcional.....	26
4.4	Teste de Carga Máxima Carregada.....	27
4.5	Microscopia de Luz.....	27
4.6	Microscopia Eletrônica de Transmissão	29
5	DISCUSSÃO	31
6	CONCLUSÃO.....	34
	REFERÊNCIAS.....	35
	ANEXO A - Comitê de Ética de Uso de Animais	39
	ANEXO B - Menções Honrosas	40

1 INTRODUÇÃO

1.1 Músculo Estriado Esquelético

O músculo estriado esquelético é o tecido mais abundante encontrado em mamíferos, representa de 40% a 45% da massa corporal em humanos e é composto por células alongadas, cilíndricas e multinucleadas denominadas fibras musculares, estas formadas por miofibrilas, compostas por miofilamentos que contém proteínas utilizadas durante a atividade muscular, são elas: actina, miosina, troponina, tropomiosina e tinina que compõe a estrutura dos sarcômeros (unidade contrátil do músculo estriado esquelético) (FRONTERA; OCHALA, 2014).

O tecido muscular apresenta grande plasticidade e adaptação a diversos estímulos, inclusive as adversidades que envolvem a atividade física, em adultos tem a capacidade de regeneração integral após certos tipos de lesões. Esta propriedade regenerativa é realizada pelas células-tronco, também denominadas células satélite, estas são ativadas durante e em decorrência de microlesões que seguem um programa de diferenciação miogênica para formar novas fibras musculares e assim restaurar o tecido muscular, desta forma é capaz de realizar a recuperação funcional completa após uma lesão através do processo de regeneração muscular, o parênquima é regenerado e consequentemente a funcionalidade muscular é recuperada (LE MOAL et al., 2017).

O ciclo de contração e relaxamento no músculo necessita de energia (ATP) gerada por aerobiose nas mitocôndrias, particularmente abundante em fibras musculares adultas. A contração é estimulada através de neurônios motores presentes na medula espinal, conectados as fibras musculares por sinapses, esta junção entre neurônio motor e músculo é denominada junção neuromuscular. A acetilcolina liberada na fenda da junção neuromuscular interage com receptores específicos e gera um potencial de ação através da superfície da célula muscular que difunde rapidamente dentro do músculo através de uma rede de túbulos especializados chamados túbulos T. O potencial de ação ativa a abertura do receptor de dihidropiridina que permite o influxo de cálcio (Ca^{2+}) no citoplasma e estimula os receptores de ryanodina a liberar mais Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático. O Ca^{2+} , por sua vez, desencadeia a interação entre as proteínas contráteis e provoca um encurtamento da fibra muscular (contração). Tal

complexidade estrutural e funcional é refletida pelo grande repertório de proteínas encontradas no músculo esquelético (GONZALEZ-FREIRE et al., 2016).

As fibras musculares esqueléticas humanas são caracterizadas por sua velocidade de contração ou velocidade metabólica, divididas em três tipos de fibras elas se denominam: fibras de tipo I (oxidativas lentas), de tipo IIa (glicolíticas oxidativas) rápidas e tipo IIb (glicolíticas rápidas). A aparente característica estriada das fibras musculares pode ser observada por microscopia eletrônica de transmissão, as bandas “I” aparentam mais clareza e as bandas “A” são mais escuras nas amostras (TAJSHARGHI, 2008).

1.2 Músculo Plantar

O músculo plantar é um pequeno músculo, localizado na região posterior da perna. Tem sua junção ósteo-tendínea proximal (ponto fixo), localizada na linha supracondilar lateral e no ligamento oblíquo poplíteo do fêmur, e sua junção distal geralmente fundida ao tendão calcâneo, ocasionalmente insere-se diretamente no lado mediano do calcâneo (ponto móvel) (SZARO et al., 2009). Os anexos indicam que o músculo é tanto um flexor do joelho, quanto flexor plantar, no entanto, é considerado comumente um vestígio de um músculo que uma vez teve ligação à aponeurose plantar, como é visto em alguns primatas quadrúpedes (KEITH, 1929) para auxiliar no agarramento semelhante ao músculo palmar longo, como músculo acessório contribui com a estabilização articular do joelho (DASELER; ANSON, 1943; KWINTER et al., 2010).

Anatomicamente o músculo plantar tem característica fusiforme, seu ventre muscular chega a medir de 5 a 10 cm de comprimento. Segundo Simpson et al. (1991) acreditavam-se que este era um músculo acessório e apenas vestigial em seres humanos, por estar ausente em cerca de 7 a 20% dos cadáveres analisados no período de estudo, dentre a população em geral acredita-se que 10% da mesma não possuam o músculo plantar (SUGAVASI et al., 2013).

O desenvolvimento no uso de imagens de métodos diagnósticos tem permitido o uso crescente do tendão do M. Plantar para a reconstrução dos ligamentos tendíneos do tornozelo e para reparos nas valvas atrioventriculares (ARAGÃO et al., 2010).

O músculo plantar está presente em uma região de grande suscetibilidade de lesões desportivas, inserido no osso calcâneo, no presente estudo foi possível analisar as adaptações e os benefícios do exercício físico neste importante músculo.

1.3 Junção Miotendínea

A divisão macroscópica da região associada aos tendões apresenta três distinções, a junção miotendínea (JMT) que representa a região entre as extremidades musculares-tendíneas, o tendão propriamente dito e a região entre o tendão e o tecido ósseo, denominada de junção ósteo-tendínea (JOT) (BALDINO et al., 2016). A junção miotendínea (JMT) consiste em uma área anatômica altamente especializada entre as fibras musculares onde ocorre a conexão entre as membranas sarcoplasmáticas e as fibras colágenas da matriz extracelular (CIENA et al., 2010).

Morfológicamente a JMT apresenta interdigitações onde o tendão penetra na massa muscular, paralela e na direção das miofibrilas em músculos fusiformes. As interdigitações aumentam o contato da superfície entre o tecido e a JMT o que permite a força contrátil do músculo, medida e expressada na faixa de 1.8 a 3.5×10^4 N/m² (TIDBALL; CHAN, 1989; KOJIMA et al., 2008).

A JMT representa a maior área de transferência de força do músculo esquelético e seu desenvolvimento é principalmente influenciado por interações entre mioblastos e elementos da matriz extracelular e é provavelmente regulada por sinalização local via distribuição heterogênea através do ácido retinóico (TIDBALL, 1991; RODRIGUEZ GUZMAN et al., 2007).

O ponto mais susceptível a lesões é a JMT, por ser a região que possui menor capacidade à absorção de energia, nesta área a possibilidade de traumas é relativamente maior do que em qualquer músculo ou tendão isolado (TANEJA et al., 2013). Assim, como na JOT, a JMT as consequências de lesões acarretam uma diminuição funcional das propriedades destas regiões além de aumentarem o risco de lesões provenientes de atividades desportivas recorrentes (BALDINO et al., 2016).

A JMT apresenta uma interface dinâmica que é modificada por diversas condições fisiológicas e patológicas (ROFFINO et al., 2006; BAUDRY et al., 2012). Em pesquisas anteriores foi evidenciado que o treinamento aeróbio moderado também provoca alterações na estrutura da JMT, esta alteração pode ser observada

superficialmente onde o músculo e tendão se conectam, consequência do maior número de bifurcações e de interdigitações ramificadas do tendão (CURZI et al., 2012). Segundo demonstra CURZI et al. (2013), a JMT pode ser modificada também pelo exercício de resistência, e demonstra que o treinamento anaeróbio previne a perda generalizada desta interface, ou seja, o mesmo previne a atrofia e aumenta a extensão do processo tendíneo que se insere no músculo. Esta região anatômica (JMT) permanece sobre investigação particularmente sobre suas características, seu envolvimento em diversas patologias (miopatias e distrofias) e lesões musculares. Alguns traumas musculares como rompimentos e tensões estão diretamente relacionados à área da JMT decorrentes de diversas atividades desportivas. O risco de tensões musculares é provavelmente uma confluência de numerosos fatores ligados a arquitetura da JMT (BLANKENBAKER et al., 2004; FIORENTINO, 2012; CHARVET et al., 2013; GUERINI et al. 2015).

Nesse estudo foi possível identificar os principais benefícios nas adaptações mediante ao protocolo de exercício resistido, na região da JMT que é importante área anatômica do aparelho locomotor e que apresenta maior suscetibilidade a lesões desportivas.

1.4 Exercício Físico - Resistido

O treinamento de força resulta em um observável desenvolvimento no tamanho dos músculos, com maior eficiência em homens pós-púberes, como estímulo para este desenvolvimento muscular considera-se a testosterona circulante. A força pode ser mantida ou aumentada como consequência de treinamentos de resistência (HAYWOOD; GRETCHELL, 2010).

A resposta adaptativa ao treinamento resistido depende de diversas variáveis que configuram este tipo de atividade física, tais como a magnitude de carga, número de séries e repetições, tipo de exercício, tempo de repouso, duração e velocidade dos movimentos. A perda de velocidade e estresse metabólico diferem consideravelmente do número real de repetições realizado em um conjunto de exercícios (SPIERING et al., 2008; SÁNCHEZ-MEDINA; GONZÁLEZ-BADILLO, 2011).

A fim de maximizar os resultados do treinamento induzido por exercícios de resistência, a prescrição adequada e periodização de cargas de treinamento são necessários, assim como o monitoramento do treinamento é crucial para avaliar

se as cargas destinadas ao protocolo foram efetivas como planejado, independente do público alvo (população em geral e atletas) (LODO et al., 2012).

Os mecanismos que evidenciam os efeitos benéficos da atividade física sobre a saúde muscular são múltiplos. O recrutamento de células musculares (células satélite) é uma das adaptações mais evidentes promovidas pelo exercício físico. De fato, o treinamento de resistência e força provoca danos musculares ultraestruturais e a liberação subsequente de citocinas inflamatórias e fatores de crescimento como o crescimento semelhante à insulina Factor-1 (IGF-1), fator de crescimento de fibroblastos e fator de crescimento mecânico, estimulam a diferenciação e proliferação de células satélites. A incorporação de novos núcleos de células satélites em fibras musculares existentes aumenta o número de "domínios mionucleares" (unidade anatômica e funcional composta por um mionúcleo e por certo volume circundante de sarcoplasma) e, por conseguinte, a área em secção transversal da fibra muscular (MARZETTI et al., 2017).

O exercício físico tem sido de grande importância para a sociedade atual, jovens, adultos e idosos buscam na atividade física métodos para prevenção de patologias, manutenção do seu físico, hipertrofia muscular, método preventivo a sarcopenia especificamente com o envelhecimento, além da reabilitação em casos de lesões musculoesqueléticas, de sedentários à atletas de alto rendimento, que podem ser reabilitados através do exercício físico.

A articulação do joelho tem como uma de suas principais funções a estabilização dos membros inferiores diante de impactos gerados direta e indiretamente, desta forma a prática de atividades física incorreta, ou a falta da mesma, podem ocasionar diversas lesões que comprometam a estabilização corpórea, a mobilidade e a prática de qualquer atividade física comprometendo o aspecto psíquico-social.

Desta forma a região da junção miotendínea (área de maior transmissão de força entre os tecidos muscular e tendíneo) do músculo plantar, pode apresentar adaptações benéficas como consequência do exercício físico, seja ele resistido ou aeróbio, tal região contribui com o padrão morfofuncional na estabilização articular, aumento da resistência muscular e na manutenção e promoção da força muscular, fatores estes priorizados por praticantes do exercício físico, indiretamente a contribuição ocorre através da manutenção de todos os sistemas complementares no ser humano. A compreensão destes fatores tem sido de grande importância para

melhorias durante a prática e implementação de exercícios funcionais e de resistência, principalmente ao evidenciar a área da Saúde na Educação Física.

Através desta proposta de pesquisa foi possível identificar as principais adaptações nos comprimentos referentes as estruturas que formam a junção miotendínea em decorrência do protocolo de exercício resistido, com a proposta de relacionar e diferenciar sua organização celular em aspectos estrutural e ultraestrutural e seus aspectos funcionais.

2 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente estudo consistiu em descrever as adaptações morfofuncionais na junção miotendínea do músculo plantar de ratos *Wistar* adultos submetidos ao exercício resistido.

2.1 Objetivos Específicos

- Descrever as características estruturais da junção miotendínea do músculo plantar, através da técnica de microscopia de luz com as colorações de Hematoxilina-Eosina (HE) e Picro-Sirius (PS);
- Descrever as características ultraestruturais da junção miotendínea do músculo plantar através da microscopia eletrônica de transmissão;
- Mensurar os comprimentos invaginações e evaginações da junção miotendínea;
- Realizar análises funcionais durante o protocolo de escada vertical.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 30 ratos *Wistar* adultos, com 90 dias de idade, divididos aleatoriamente em 3 Grupos distintos:

- **Controle (C):** os animais não foram submetidos aos protocolos de exercício físico;
- **Treinamento (T):** os animais foram submetidos ao exercício físico em escada vertical sem sobrecarga;
- **Treinamento Resistido (TR):** os animais foram submetidos ao exercício físico em escada vertical com sobrecarga.

Todos os animais originários do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu foram mantidos em gaiolas com 5 ratos cada no Biotério Setorial do Laboratório de Morfologia e Atividade Física do Departamento de Educação Física do Instituto de Biociências da UNESP – Campus Rio Claro - SP. A temperatura foi controlada à $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ em períodos claro/escuro de 12h, todos alimentados com ração e água “*ad libitum*”. Os procedimentos apresentados nesse estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista – Campus Rio Claro/SP (nº 0080/2018).

3.1 Mensuração da Massa Corporal e Massa Muscular

3.1.1 Massa Corporal

As massas corporais dos animais dos grupos foram semanalmente mensuradas (balança digital SF-400) durante o período experimental, e aferidos das sobrecargas utilizadas no grupo TR. As mensurações das massas corporais ocorreram em três Períodos: o **1º Período (P1)** correspondeu mensuração na 1ª semana de protocolos após adaptação, o **2º Período (P2)** realizado na 4ª semana do protocolo e o **3º Período (P3)** na 8ª semana. Com os dados obtidos foram realizadas as análises estatísticas através do Software Graph Pad 6.0®, com uso do método ANOVA *Two-Way* e pós-teste de Bonferroni, o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

3.1.2 Massa Muscular

As massas do músculo plantar foram mensuradas e obtidas às médias e desvio padrão de cada grupo. Com os dados obtidos foram realizadas as análises estatísticas através do Software Graph Pad 6.0®, com uso do método ANOVA *One-Way* e pós-teste de Bonferroni, o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

3.2 Protocolo de Escada Vertical

Os protocolos de treinamentos dos grupos T e TR foram realizados na escada vertical (Figura 1), confeccionada nas medidas: 110 cm de altura, 2 cm de espaçamento entre os degraus, com 80° de inclinação vertical em relação ao solo. Na extremidade superior havia um suporte (20 cm³) destinado a permanência temporária dos animais durante os intervalos entre as escaladas, e a base onde os animais iniciavam a escalada próxima ao solo (KRAUSE et al., 2017).



Figura 1: Escada vertical utilizada durante os protocolos de treinamento dos Grupos T e TR.

3.2.1 Adaptação aos Protocolos

A adaptação foi realizada durante 7 dias consecutivos e previamente aos protocolos efetivos dos Grupos T e TR foram adaptados ao protocolo (Figura 2). A adaptação do Grupo T consistiu na realização da escalada com ponto de partida definido na região central da escada e intervalo de 1 min entre as escaladas, após 5

tentativas concluídas os animais iniciaram a escalada a partir da base da escada. Para o Grupo TR o procedimento foi semelhante, com período de intervalo de 2 min e sobrecarga afixada à cauda com ajuda de um mosquete e esparadrapo autocolante. Os animais foram estimulados à realização das escaladas através de auxílio manual (KRAUSE et al., 2017).

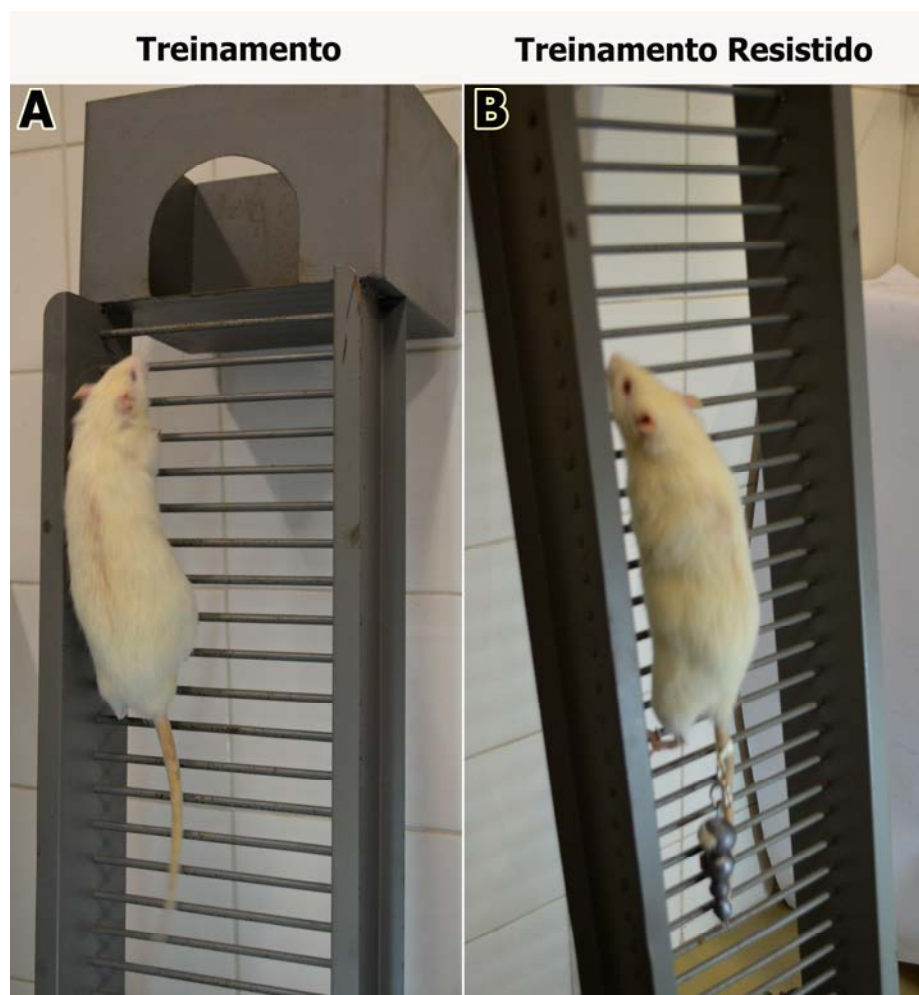


Figura 2. Adaptação aos protocolos de treinamento na escada vertical: Grupos T (A) e TR (B).

3.2.2 Protocolos de Treinamentos

Para o grupo treinamento os animais realizaram 9 escaladas sem sobrecarga com intervalos de 1 min, 3 tentativas para cada escalada com auxílio manual. Este protocolo foi repetido 3x/semana durante o período de 8 semanas, com um total de 24 sessões de treinamento ao final do protocolo.

Para o grupo treinamento resistido os animais realizaram de 4 a 9 escaladas com sobrecargas referentes a massa corporal de cada animal que representavam 50%, 75%, 90%, e 100% de sobrecarga adicional (Figura 3),

respectivamente durante as 4 primeiras escaladas, a partir da 5ª escalada foram adicionados 30g de sobrecarga extra progressivamente até a exaustão ou até que se completassem as 9 escaladas. Este protocolo foi repetido 3x/semana durante o período de 8 semanas, com um total de 24 sessões de treinamento ao final do protocolo. A 1ª e a 24ª foram utilizadas para aplicação do teste de potência muscular (KRAUSE et al., 2017).



Figura 3. Sobrecarga de chumbo utilizados pelo Grupo TR, estas foram afixadas a cauda dos animais com auxílio de esparadrapo e um mosquete.

3.3 Avaliação Funcional

Para avaliação funcional foram registrados os movimentos realizados e o tempo total de escalada de cada animal durante os protocolos de treinamento. Os movimentos realizados eram contados no momento em que o animal iniciava a escalada a partir da base da escada ao agarrar o degrau, apenas o membro anterior direito foi utilizado como padrão para contagem e esta foi realizada visualmente sempre pelo mesmo avaliador. O tempo de escalada total foi registrado através do cronômetro (segundos), a partir do momento em que o animal iniciava os movimentos colocando-se no primeiro degrau da escada, iniciava-se a marcação do tempo até alcançarem (membro anterior) o suporte na extremidade superior da escada. As variáveis citadas foram documentadas nos intervalos de cada escalada, analisadas e comparadas intra e intergrupos e obtidas as médias e desvios-padrões. Foi realizada a análise estatística através do software Graph Pad 6.0®, com uso do método *Unpaired T-test*, o nível de significância estabelecido foi de $p < 0,05$.

3.4 Teste de Capacidade de Carga Máxima Carregada

Os animais do Grupo TR realizaram o teste de carga máxima carregada, que consistiu em dois testes com objetivo de definir a carga máxima que o animal suportou durante a escalada. O teste pré-protocolo foi realizado antes da primeira sessão de treinamento e envolveu uma escalada inicial com transporte de carga de 50% da massa corpórea do animal, após a conclusão, com 120 segundos de descanso, uma sobrecarga e 30g foi adicionada progressivamente a partir da 2ª escalada, este procedimento foi progressivamente repetido até que o animal não conseguisse concluir a escalada (exaustão) mesmo após 3 tentativas com estímulo.

A maior sobrecarga obtida durante a última escalada foi considerada a capacidade de sobrecarga máxima carregada do animal, um teste pós-protocolo foi realizado com o sobrecarga pré-treino, adquirido após os treinos da última semana de protocolo, 50% do sobrecarga do animal foi adicionado a sobrecarga fixada a cauda, o mesmo procedimento do teste 1 foi realizado no teste 2 (pós-protocolo) e a capacidade de sobrecarga máxima foi registrada. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente onde adotou-se o método *Unpaired T-test*, e nível de significância estabelecido de $p < 0,05$ (KRAUSE et al., 2017).

3.5 Microscopia de Luz

Os animais de cada grupo experimental ($n=5$) foram eutanasiados através de overdose de anestésico (Ketamina-100 mg/kg e Xilasina-50 mg/kg). As amostras da JMT do músculo plantar foram dissecadas e criofixadas em nitrogênio líquido à -196°C , alocadas em superfície de cortiça e estabilizadas com cola biológica untadas em talco neutro (Tragacanth, SIGMA®), após esta etapa as amostras foram armazenadas em Freezer -80°C . Foram realizados cortes e longitudinais de 10 μm , coradas com as técnicas de Hematoxilina-Eosina para descrição dos elementos estruturais e Picro-Sirius para identificação do tecido conjuntivo associado (BHUTDA et al., 2017; CARDIFF et al., 2014).

3.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Os animais de cada grupo experimental ($n=5$) foram eutanasiados em overdose de anestésico (Ketamina-100 mg/kg e Xilasina-50 mg/kg), as amostras da JMT do músculo plantar (3mm³) foram dissecadas e imersas em solução de

Cacodilato de sódio a 0.1M, (pH 7.4), durante 48 horas a 4°C, pós-fixadas com solução de tetróxido de ósmio a 1% durante 2 horas, a 4°C (CIENA et al., 2010), lavadas com solução Salina 0,9% por três vezes e fixadas com a solução de Acetato de Uranila 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 e Óxido de Propileno (2x) por 15 minutos.

As amostras permaneceram em uma mistura de resina (Spurr's) e Óxido de Propileno, sob agitação em temperatura ambiente, posteriormente em resina durante 12 horas com ausência de luminosidade. Após essa etapa as amostras foram aquecidas em estufa a 37°C, com frasco aberto para total evaporação de líquidos.

A inclusão das amostras ocorreu em moldes retangulares de silicone, preenchidos com resina pura e mantidos por 3 dias em estufa a 60°C para a polimerização do bloco. Os blocos foram trimados, corados com o método de azul de toluidina 1%. As imagens foram obtidas por meio do fotomicroscópio Carl Zeiss Microimaging (Axiokop 40, Göttingen, Alemanha). Após a seleção da área de interesse, foram realizados cortes ultrafinos (60nm), coletados em telas de cobre de 200 "mesh" (Sigma-Aldrich, USA) e contrastados com a solução de acetato de uranila 4%, por 3 minutos, lavados em água destilada, contrastados em solução aquosa de citrato de chumbo 0.4% por 3 minutos e lavados em seguida com água destilada (CIENA et al., 2012).

As telas foram examinadas e descritas através do microscópio eletrônico de transmissão Philips CM 100 do Laboratório de Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ) da Universidade de São Paulo – Campus Piracicaba/SP.

3.7 Análise Morfométrica

Para análise morfométrica foram mensurados 100 comprimentos das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas da junção miotendínea. Para as mensurações foi utilizado o software ImageJ®. A configuração utilizada para a medida de cada imagem seguiu o seguinte processo: definição do tamanho da barra em micrômetros por pixels na opção *Straight Line*, determinação da escala da imagem na opção *Analyze* em seguida clicar em *Set Scale*, substituir o valor na caixa *Know Distance* pelo valor encontrado na mensuração da barra, por fim substituir o valor da caixa *Unit Length* por “ μm ”. Após a coleta das medidas foram estabelecidas a média e desvio padrão em cada uma das variáveis, e realizada a análise estatística com auxílio do software Graph Pad Prism 6.0®, com uso do teste ANOVA *One-Way*, pós teste de Bonferroni, o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Massa Corporal

A massa corporal demonstrou entre P1 e P2 no Grupo C houve aumento de 8,8% na média das massas, no Grupo T aumento de 14 % e no Grupo TR aumento de 13,8%. Na comparação entre P1 e P3 o Grupo C aumentou 23%, o Grupo T 20% e o Grupo TR 26,1%. Por fim, entre os períodos P2 e P3 os resultados apresentados foram o aumento no Grupo C de 13%, no Grupo T de 5,7% e no Grupo TR 10,6% (Gráfico 1).

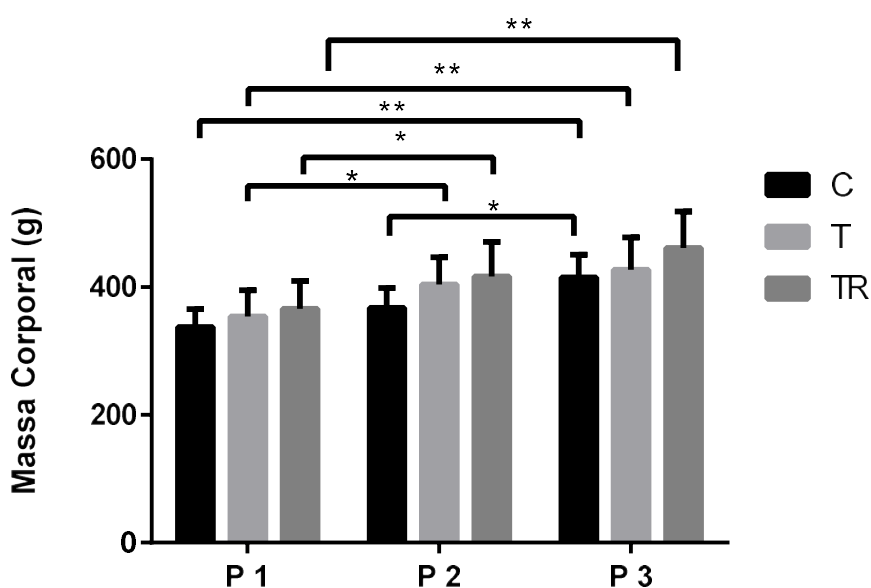


Gráfico 1. Médias e desvios-padrões da massa corporal (g) dos Grupos Controle (C), Treinamento (T), Treinamento Resistido (TR). Grupo C: P2≠P3; Grupo T: P1≠P2, Grupo TR: P1≠P2; $p < 0,05^*$; Grupo C: P1≠P3; Grupo T: P1≠P3 e Grupo TR: P1 ≠ P3 $p < 0,005^{**}$.

4.2 Massa Muscular

A massa muscular apresentou na comparação entre os Grupos C e T aumento de 13,7%, entre os Grupos C e TR o aumento foi de 20,1% e entre os Grupos T e TR ocorreu aumento de 5,5% (Gráfico 2).

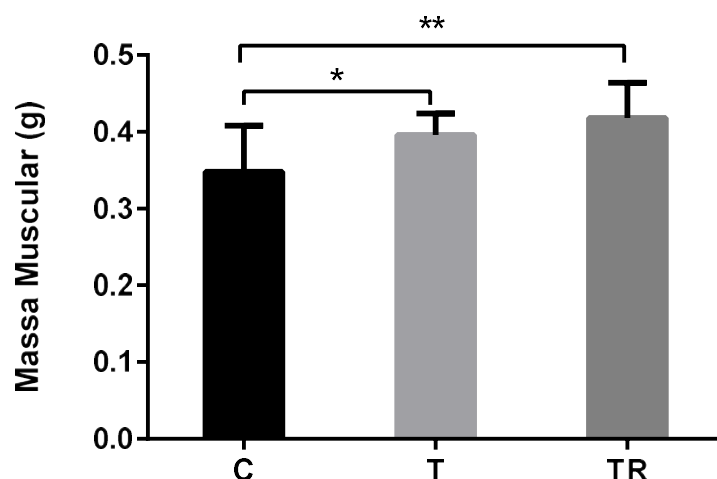


Gráfico 2. Médias e desvios-padrões da massa muscular dos grupos. C≠T $p<0,05^*$; C≠TR $p<0,005^{**}$.

4.3 Avaliação Funcional

Durante o protocolo de treinamento foi analisado a quantidade de movimentos realizados pelos animais e o tempo total de escalada de realização de cada escalada, através dos dados obtidos revelaram que o Grupo T e o Grupo TR apresentaram $8,2\pm0,3$ e apresentou $8,1\pm0,6$ movimentos por escalada respectivamente. Na medida do tempo por escalada foi constatado que o Grupo T e o Grupo TR apresentaram $14,7\pm4,9$ e $7,9\pm2,7$ segundos por escalada, respectivamente (Gráfico 3), desta forma os animais do Grupo T realizaram cada movimento em aproximadamente 1,8 segundos, e no Grupo TR os animais obtiveram aproximadamente uma média de 1 movimento a cada 0,97 segundos.

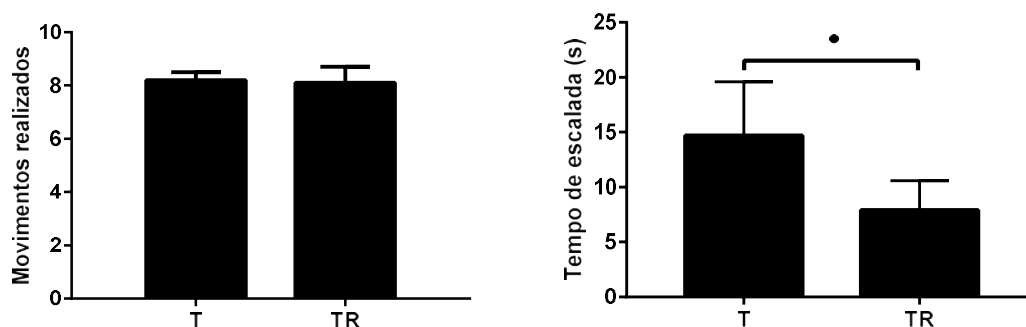


Gráfico 3. Médias e desvios-padrões da quantidade de movimentos realizados e tempo de escalada durante os protocolos de treinamento e treinamento resistido. T≠TR ($p<0,005$) •.

4.4 Teste de Carga Máxima Carregada

O teste CMC pré-protocolo (Grupo TR) apresentou $332,6 \pm 66,6\text{g}$, média entre os animais, o pós-protocolo apresentou aumento de 95,6% na média das cargas carregadas, resultante da média de $650,8 \pm 241,1\text{g}$ no Grupo TR ($p < 0,0001$) (Gráfico 4).

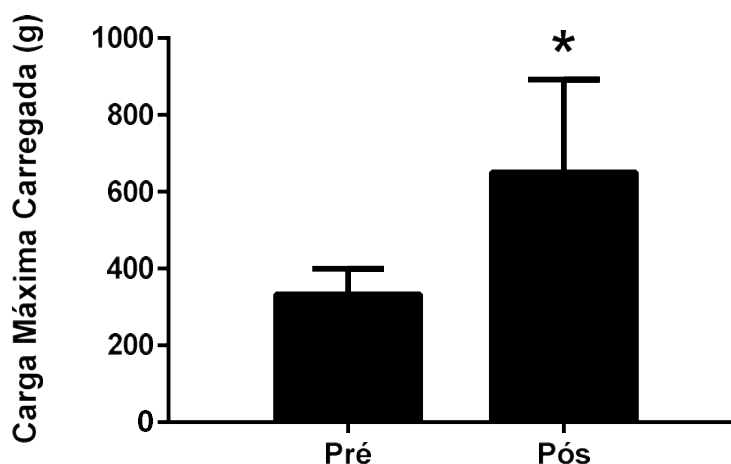


Gráfico 4. Média e desvio-padrão do Teste de CMC do Grupo TR nos Pré e Pós-protocolo. ($p < 0,0001$) *.

4.5 Microscopia de Luz

Através da análise microscópica de luz foi possível evidenciar e descrever os núcleos celulares presentes na JMT do músculo plantar através da técnica histológica de HE e foi possível visualizar as diferenciações quanto ao colágeno presente no tecido tendíneo da região da JMT através da técnica histológica de OS.

4.5.1 Junção Miotendínea

No Grupo C identificou-se a interação na interface da JMT, onde foram reveladas as fibras musculares longitudinais dispostas paralelamente e delimitadas pelo endomísio, nesta região encontram-se núcleos celulares com formato oval localizados em maior densidade próximo a sua delimitação, periféricos as miofibrilas. Na região tendínea, notaram-se os tenócitos com formatos alongados dispostos espaçadamente com distribuição heterogênea (Figura 4A). Foi possível identificar a interação das fibras musculares e do tecido conjuntivo demarcado na região da JMT (Figura 4B).

No Grupo T observou-se a interface miotendínea, com elevada atividade celular composta por tenócitos na região da matriz extracelular e núcleos celulares localizados na periferia das miofibrilas. A disposição dos tenócitos revelou homogeneidade, aglomerados de forma linear, por sua vez os núcleos celulares apresentam-se agrupados na periferia, ambos foram observados em maior concentração (Figura 4C). Foram identificadas as fibras musculares longitudinais associadas ao tecido tendíneo de forma a evidenciar a interação da JMT (Figura 4D).

No Grupo TR revelou elevada atividade celular, a JMT apresentou inúmeros núcleos celulares. As características aparentes identificadas na região do tecido conjuntivo demonstram formatos irregulares e alongados dos tenócitos, observados em maior densidade e dispostos de forma agrupada, com direcionamento no sentido da JMT (Figura 4E). Na JMT, identificou o tecido conjuntivo em associação as fibras musculares longitudinais dispostas. Observa-se a interação entre os fascículos do tecido muscular compostos e segmentados pelo endomísio (Figura 4F).

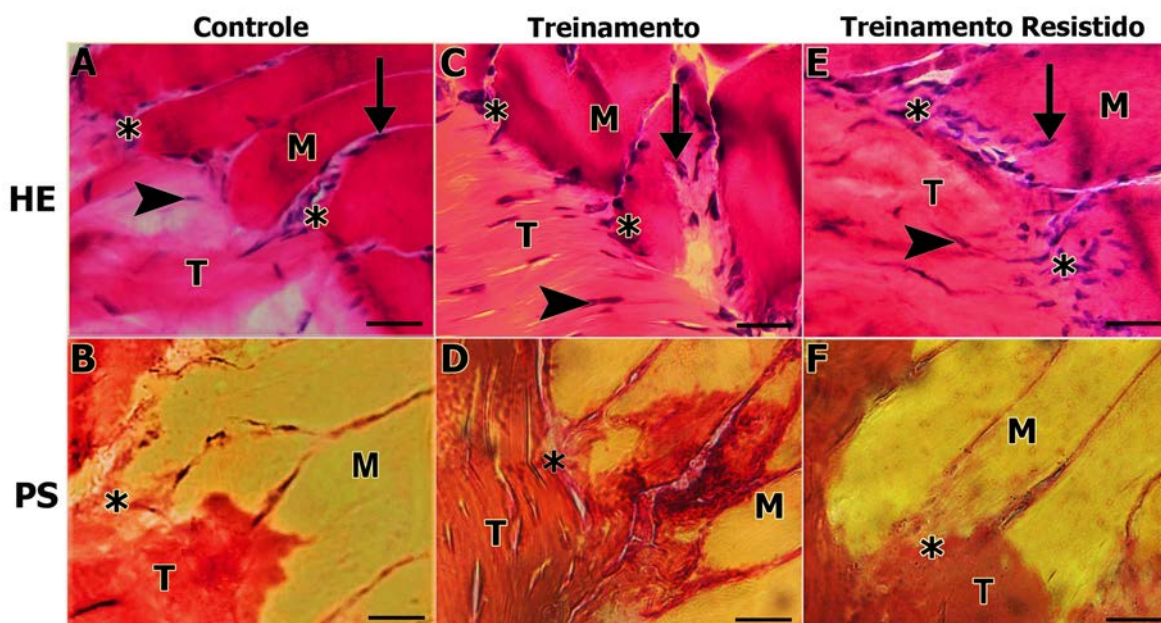


Figura 4. Microscopia de Luz da JMT do músculo plantar dos grupos Controle (A,B), Treinamento (C,D) e Treinamento Resistido (E,F). Fibras musculares (M); tecido tendíneo (T); e região da JMT (*) tenócitos (cabeça de seta) e núcleos celulares (setas). Coloração: HE (A,C,E); e OS (B,D,F); Barras: 50 μ m.

4.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão

No Grupo C, foi possível observar a região de transição entre as células musculares e o tecido conjuntivo da matriz extracelular, denominada JMT onde se apresentam delgadas invaginações sarcoplasmáticas delimitando as evaginações sarcoplasmáticas, constituídas por feixes de miofilamentos proteicos. As evaginações apresentaram em suas extremidades formato cônico, quanto à invaginações suas apresentaram formato pontiagudo denominado interdigitações ambos constituem a região da JMT como um todo (Figura 5A).

No Grupo T observaram-se espessos e longo feixes de fibras colágenas postados longitudinalmente onde evidenciou-se ampla densidade fibroblástica próxima a região periférica da JMT na matriz extracelular, foi possível identificar as organelas em formato oval nesta região de elevada atividade celular. Na extremidade da célula muscular composta por miofilamentos que constituem os sarcômeros em série formam-se na extremidade distal as evaginações sarcoplasmáticas (dobras do sarcolema) (Figura 5B).

No Grupo TR demonstram as características da JMT com os feixes longitudinais que compõem as invaginações sarcoplasmáticas advindos do tecido colágeno em interação com os sarcômeros formadores das evaginações compostos por miofilamentos em processo de desenvolvimento na região da JMT (Figura 5C).

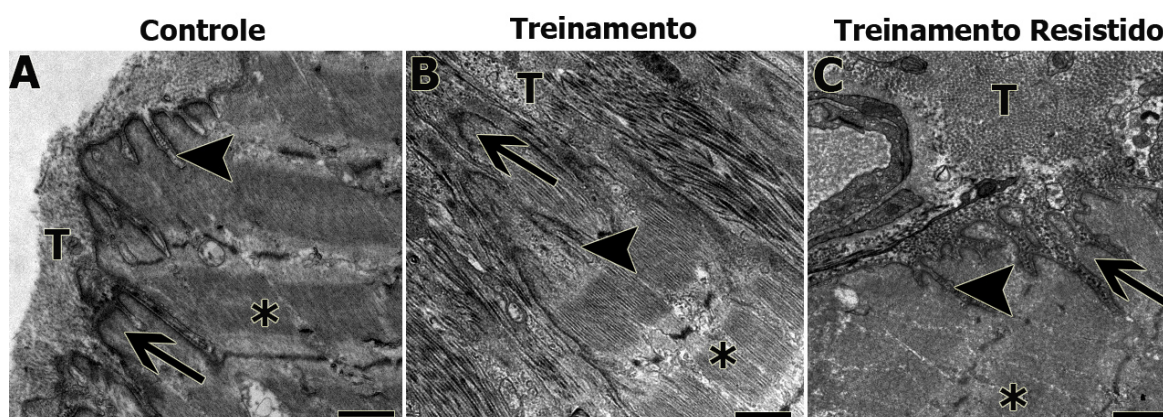


Figura 5. Microscopia eletrônica de transmissão da JMT do músculo plantar dos Grupos Controle (A), Treinamento (B), Treinamento Resistido (C). Na interface da JMT revelam-se as evaginações sarcoplasmáticas compostas por miofilamentos (seta) em interação com as invaginações sarcoplasmáticas (cabeça de seta) e o tecido tendíneo (T). Barras: 1 μ m.

Os resultados morfométricos dos comprimentos das evaginações sarcoplasmáticas revelaram entre os Grupos C e T redução de 14,6% ($p>0,05$), entre C e TR aumento de 23,7% ($p<0,05$) e entre T e TR aumento de 45% ($p<0,0001$).

Os resultados obtidos no comprimento das invaginações sarcoplasmáticas em comparação entre os Grupos C e T revelou aumento de 32,5% ($p<0,0005$), entre C e TR aumento de 29,7% ($p<0,05$) e entre T e TR redução de 2,1% ($p>0,05$) (Gráfico 5).

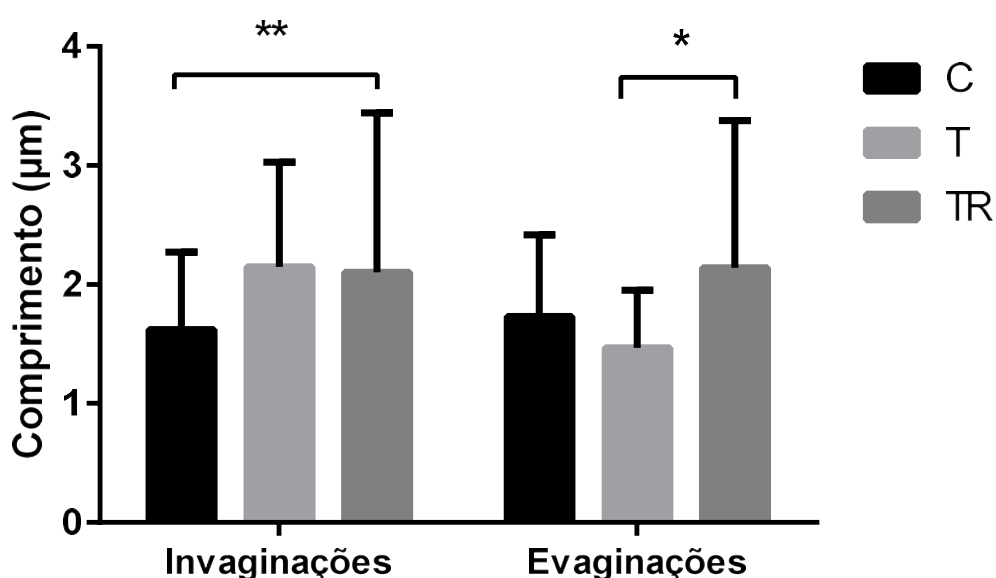


Gráfico 5. Médias e desvios-padrões do comprimento das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas dos Grupos C, T, TR. Evaginações Sarcoplasmáticas: C≠TR $p<0,05$, T≠TR $p<0,0005^*$; Invaginações Sarcoplasmáticas: C≠T $p<0,0005^{**}$, C≠TR $p<0,05$.

5 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo evidenciaram as características teciduais, as diversas alterações morfológicas estruturais e ultraestruturais da junção miotendínea do músculo plantar em ratos adultos submetidos ao protocolo experimental de treinamento resistido.

Através dos dados da massa corpórea dos animais observaram-se aumento progressivo no Grupo TR, resultante da hipertrofia muscular mediante ao exercício físico resistido, no Grupo T obteve aumento da massa até P2 (12ª sessão de protocolo) e entre P2 e P3 (última semana de protocolo) observaram-se discreta progressão da massa devido as adaptações metabólicas referentes ao exercício aeróbio. Ao demonstrar aumento da massa no Grupo TR, conforme descrições do estudo de Harris (2009), demonstraram discrepância nas alterações consequentes do exercício resistido, no mesmo estudo a massa corpórea dos animais diminuiu em ambos os Grupos de ratos idosos como nos adultos, no estudo presente as alterações promoveram aumento da massa total, que demonstra o princípio de hipertrofia nos maiores grupos musculares e nos acessórios utilizados no exercício de escalada.

O Grupo T apresentou aumento de 13,7% na massa do músculo plantar já o Grupo TR apresentou 20,1%, demonstrando que os exercícios aeróbios podem induzir a hipertrofia, porém em menor intensidade que os exercícios de alta carga, os dados obtidos desta comparação entre tipos de exercício corroboram com os dados de Tamaki et al. (1992), que utilizaram comparação semelhante entre exercício resistido (agachamento) e aeróbio (corrida em esteira) e obteve aumento considerável da massa do músculo plantar principalmente no grupo que realizou o agachamento.

Entre os Grupos treinados não ocorreu diferença significativa, com resultado diferencial de 5,5% entre o Grupo T e Grupo TR, porém houve um aumento da massa do músculo plantar em ambos os grupos assim como evidenciado pelo estudo de Schoenfeld et al. (2016), que verificaram aumento da massa muscular em membros superiores com exercícios de intensidades diferentes, comprovando que ambos os exercícios possuem benefícios ao ganho muscular em músculos que realizam trabalho durante sua prática.

Após a realização do teste de carga máxima carregada, no Grupo TR, observou aumento de força consequente da prática de exercícios físicos resistidos, que recrutam fibras de contração rápida em altas cargas, e contribuem no desempenho metabólico e estrutural do músculo estriado esquelético de forma a adaptá-lo ao treinamento proposto, proporcionando hipertrofia e o aumento exponencial da força. O aumento promovido pelo protocolo de treinamento proposto foi de 95,6%, valor este com diferença significativa. Além disso, pesquisas recentes realizadas por Santos et al. (2016) também demonstraram aumento (280%) entre a primeira e a última semana de teste de carga máxima, tal resultado ocorreu devido a aplicação semanal do teste, onde o mesmo era realizado para correção da carga de protocolo diferente do utilizado no protocolo da atual pesquisa baseada na massa corpórea do animal, outro estudo de Krause et al. (2017), demonstra aumento (180%) para o grupo de treinamento resistido, a diferença se deve a aplicação do protocolo em ratos idosos em maior tempo de protocolo, da mesma forma correspondeu a uma melhora no trabalho realizado.

Os resultados no teste de carga máxima carregada indicam implicitamente a melhora no desempenho diante do treinamento, consequência da adaptação motora e da melhora estrutural dos tecidos exigidos para execução dos movimentos indicam ainda que a padronização dos animais na execução das atividade, em decorrência do tempo de prática, evoluíram com a combinação de diversos fatores envolvidos: volume de exercício controlado, carga específica para cada animal, velocidade de repetição, quantidade de treinos semanais. Estes em conjunto contribuíram com a hipertrofia muscular e no desempenho, corroborando assim com a proposta de treinamento necessária indicada por Garber et al. (2011).

Os Grupos treinados apresentaram diversas particularidades em relação ao Grupo C. O Grupo T demonstrou ampla ramificação de suas invaginações corroborando com estudos desenvolvidos por Kojima et al. (2008) e Curzi et al. (2012), em ambos os estudos experimentais foram submetidos a exercícios que priorizavam a capacidade aeróbia, assim como no Grupo T, os achados se complementam ao evidenciar a formação de amplas ramificações formadas pelas invaginações sarcoplasmáticas, que envolvem as evaginações de forma a proporcionar maior resistência da área de interação músculo-tendínea.

Os dados evidenciados em relação ao comprimento das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas especificamente no Grupo T corroboram com os

dados encontrados por Sierra et al. (2017), este demonstrou maior aumento do comprimento das invaginações do que das evaginações em treinamento de natação, ambos os estudos apresentam significância em relação ao Grupo C, ou seja, a JMT demonstra adaptação positiva de suas estruturas mesmo em exercício sem sobrecarga.

No Grupo TR evidenciou-se elevada atividade celular na região próxima a JMT, e o aumento do comprimento tanto das invaginações como das evaginações sarcoplasmáticas, estas características na região da JMT promoveram maior área de contato, consequentemente menor suscetibilidade a lesões, que no músculo plantar, ao atuar na estabilização articular do joelho o qual apresenta maior incidência de lesões articulares desportivas, demonstraram amplas modificações que incidem diretamente em benefícios na principal região anatômica do aparelho locomotor.

6 CONCLUSÃO

Concluimos que o exercício físico em escada vertical promove adaptações morfológicas distintas de acordo com a modalidade do exercício, demonstradas pelo aumento das invaginações e evaginações que promoveu aumento da interface músculo-tendínea benéfica no suporte estrutural desta região de transmissão de força e consequentemente diminui o risco de lesões desportivas.

REFERÊNCIAS

- ARAGÃO, J.A.; REIS, F.P.; GUERRA, D.R.; CABRAL, R.H. The occurrence of the plantaris muscle and its muscle- tendon relationship in adult human cadavers, **International Journal of Morphology**, v.28, n.1, p.255-258, 2010.
- BALDINO, L.; CARDEA, S; MAFFULLI, N; REVERCHON, E. Regeneration techniques for bone-to-tendon and muscle-to-tendon interfaces reconstruction. **British Medical Bulletin**, v.117, p.25–37, 2016.
- BAUDRY, S.; LECOEVRE, G.; DUCHATEAU, J. Age-related changes in the behavior of the muscle-tendon unit of the gastrocnemius medialis during upright stance. **Journal of Applied Physiology**, v.112, p.296-304, 2012.
- BHUTDA, S; SURVE, M.V.; ANIL, A.; KAMATH, K; SINGH, N; MODI, D; BANERJEE, A. Histochemical Staining of Collagen and Identification of Its Subtypes by Picrosirius Red Dye in Mouse Reproductive Tissues, **Bio-protocol**, v.7, p.1-10, 2017.
- BLANKENBAKER, D.G.; DE SMET, A. MR imaging of muscle injuries. **Applied Radiology** v. 33, n.4, p.14–26, 2004.
- CARDIFF, R.D.; MILLER, C. H.; MUNN, R.J. Manual Hematoxylin and Eosin Staining of Mouse Tissue Sections. **Cold Spring Harbor Protocols**, p.655–658, 2014.
- CHARVET, B.; GUIRAUD, A.; MALBOUYRES, M.; ZWOLANEK, D.; GUILLON, E.; BRETAUD, S.; MONNOT, C.; SCHULZE, J.; BADER, H.L.; ALLARD, B.; KOCH, M.; RUGGIERO, F.S. Knockdown of col22a1 gene in zebrafish induces a muscular dystrophy by disruption of the myotendinous junction. **Development**, v.140, n.22, p.4602–4613, 2013.
- 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.
- CIENA, A.P.; ALMEIDA, S.R.Y.; BOLINA, C.S.; BOLINA-MATOS, R.S.; RICE, R.E.G.; DA SILVA, M.C.P.; MIGLINO, M.A.; WATANABE, I. Ultrastructural Features of the Myotendinous Junction of the Sternomastoid Muscle in *Wistar* Rats: From Newborn to aging. **Microscopy Research and Technique**, v. 75, p. 1292-1296, 2012.
- CURZI, D.; SALUCCI, S.; MARINI, M.; ESPOSITO, F.; AGNELLO, L.; VEICSTEINAS, A.; BURATTINI, S.; FALCIERI, E. How physical exercise changes rat myotendinous junctions. **European Journal of Histochemistry**, v.56, p.117-122, 2012.
- CURZI, D.; AMBROGINI, P.; BURATTINI, S.; FALCIERI, E. Morphogenesis of rat myotendinous junction. **Muscles, Ligaments and Tendons Journal**, v.3, n.4, p.275-280, 2013.

DASELER, E. H.; ANSON, B. J. The plantaris muscle: an anatomical study of 750 specimens, **Journal of Bone & Joint Surgery**, v.25, e.4, p.822 – 827, 1943.

FIORENTINO, N.M.; EPSTEIN, F.H.; BLEMKER, S.S. Activation and aponeurosis morphology affect in vivo muscle tissue strains near the myotendinous junction. **Journal of Biomechanics**, v.45, n.4, p.647–652, 2012.

FRONTERA, W.R.; OCHALA, J. Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. **Calcified Tissue International**. 2014.

GARBER C.E.; BLISSMER, B.; DESCHENES, M.R.; FRANKLIN, B.A.; LAMONTE, M.J.; LEE, I.M.; NIEMANR, D.C.; SWAIN, D.P. Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory, Musculoskeletal, and Neuromotor Fitness in Apparently Healthy Adults: Guidance for Prescribing Exercise. **American College of Sports and Medicine**, p.1334-1359, 2011.

GUERINI, H.; PLUOT, E.; PESSIS, E.; THEVENIN, F.; CAMPAGNA, R.; FEYDY, A.; GAUDIN, P.; DRAPE, J.L. Tears at the myotendinous junction of the infraspinatus: ultrasound findings. **Diagnostic Interventional Imaging**, v.96, n.4, p.349–356, 2015.

HARRIS, M.B.; SLACK, K.N.; PRESTOSA, D.T.; HRYVNIAK, D.J. Resistance training improves femoral artery endothelial dysfunction in aged rats. **European Journal of Applied Physiology**. v.108, p.533-540, 2009.

KEITH, A., The history of the human foot and its bearing on orthopaedic practice. **Journal of Bone & Joint Surgery**, v.11, p.10-32, 1929.

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 Orthopedic and Science**, v.13, n.3, p.233–239, 2008.

KRAUSE, W.N.; SILVA, W.; CIENA, A.P.; BOCALINI, D.; NUCCI, R.; ANARUMA, C.; GAMA, E. Effects of strength training and anabolic steroid in peripheral nerve and skeletal muscle morphology of aged rats. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v.5, p.1-12, 2017.

KRAUSE, W.N.; SILVA, W.; CIENA, A.P.; BOCALINI, D.; NUCCI, R.; ANARUMA, C.; GAMA, E. Total training load may explain similar strength gains and muscle hypertrophy seen in aged rats submitted to resistance training and anabolic steroids., v., n., p., 2017.

KRAUSE, W.N.; SILVA, W.; CIENA, A.P.; BOCALINI, D.; ANARUMA, C.; GAMA, E. Divergent effects of resistance training and anabolic steroid on the postsynaptic region of different skeletal muscles of aged rats, **Experimental Gerontology**, v., n., p.80-90, 2017.

KWINTER, D.M.; LAGREW, J.P.; KRETZER, J.; LAWRENCE, C.; MALIK, D.; MATER, M.; BRUECKNER, J.K. Unilateral double plantaris muscle: a rare anatomical variation. **International Journal of Morphology**, v.28, n.4, p.1097-1099, 2010.

LE MOAL, E.; PIALOUX, V.; JUBAN, G.; GROUSSARD, C.; ZOUHAL, H.; CHAZAUD, B.; MOUNIER, R. Redox control of Skeletal Muscle Regeneration. **Antioxidants & Redox Signaling**, p.1-35, 2017.

LODO, L.; MOREIRA, A.; ZAVANELA, P.M.; NEWTON, M.J.; MCGUIGAN, M.R.; AOKI, M.S. Is there a relationship between the total volume of load lifted in bench press exercise and the rating of perceived exertion? **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v.52, n.5, 483-488, 2012.

MARZETTI, E.; CALVANI, R.; TOSATO, M.; CESARI, M.; DI BARI, M.; CHERUBINI, A.; BROCCATELLI, M.; SAVERA, G.; D'ELIA, M.; PAHOR, M.; BERNABEI, B.; LANDI, F.; Physical activity and exercise as countermeasures to physical frailty and sarcopenia. **Aging Clinical and Experimental Research**, v.1, p. 35-42, 2017.

RODRIGUEZ-GUZMAN, M.; MONTERO, A.J.; SANTESTEBAN, E.; SANTESTEBAN, E.; GANAN, 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, p. 267–280, 2007.

ROFFINO, S.; CARNINO, A.; CHOPARD, A.; MUTIN, M.; MARINI, J.F. Structural remodeling of unweighted soleus myotendinous junction in monkey. **Comptes Rendus Biologies**, v.329, p.172-179, 2006.

SÁNCHEZ-MEDINA, L.; GONZÁLEZ-BADILLO, J.J. Velocity loss as an indicator of neuromuscular fatigue during resistance training. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, p. 1725-1734, 2011.

SANTOS, J.A; FERREIRA, D.J.S; COSTA, G.L.G; MATOS, R.J.B; TOSCANO, A.E; CASTRO, R.M; LEANDRO, C.G. Resistance training alters the proportion of skeletal muscle fibers but not brain neurotrophic factors in young adult rats. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v.30, n.12, p.3531-3538, 2016.

SCHOENFELD, B.J.; CONTRERAS, B.; VIGOTSKY, A.D.; PETERSON, M. Differential Effects of Heavy versus Moderate Loads on Measures of Strength and Hypertrophy in Resistance-Trained Men. **Journal of Sports Science and Medicine**. v.15, p. 715-722, 2016.

SIERRA, L.R.; FÁVARO, G.; CERRI, B.R.; ROCHA, L.C.; ALMEIDA, S.R.Y.; WATANABE, I.; CIENA, A.P. Myotendinous junction plasticity in aged ovariectomized rats submitted to aquatic training. **Microscopy Research & Technique**, p.1-7, 2017.

SPIERING, B.A.; KRAEMER, W.J.; ANDERSON, J.M.; ARMSTRONG, L.E.; NINDL, B.C.; VOLEK, J.S.; MARESH, C.M. Resistance exercise biology: manipulation of resistance exercise programme variables determines the responses of cellular and molecular signaling pathways. **Sports Medicine**, v. 38, p. 527-540, 2008.

SUGAVASI, R.; LATHA, K.; INDIRA D.; JETTI, R.; SIRASANAGANDLA, S.R.; GORANTLA, V. R.; A case report of variant insertion of plantaris muscle and its morphological and clinical implications. **Journal of Morphology and Science**, 2013, n.4, p. 304-305, 2013.

SZARO, P.; WITKOWSKI, G.; SMIGIELSKI, R.; KRAJEWSKI, P.; CISZEK, B. Fascicles of the adult human Achilles tendon an anatomical study. **Annals of Anatomy**, v.191, p. 586- 593, 2009.

TAMAKI, T.; UCHIYAMA, S. NAKANO, S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, p.881-886, 1992.

TANEJA, A.K.; KATTAPURAM, S.V.; CHANG C.Y.; SIMEONE, F.J.; BREDELLA, M.A.; TORRIANI, M. MRI Findings of Rotator Cuff Myotendinous Junction Injury. **American Journal of Roentgenology** v. 203, p. 406-411, 2013.

TIDBALL, J.G.; CHAN, M. Adhesive strength of single muscle cells to basement membrane at myotendinous junctions. **Journal of Applied Physiology**, v.67, p.1063- 1109, 1989.

TIDBALL, J.G. Force transmission across muscle cell membranes. **Journal of Biomechanics** v. 24, p. 43–52, 1991.

ANEXO A - Comitê de Ética de Uso de Animais

COMISSÃO DE ÉTICA
NO USO DE ANIMAL
CEUA – IB – UNESP - CRC



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro
Seção Técnica Acadêmica

**DECISÃO CEUA Nº 03/2018**

Instituição: UNESP – IB – CRC	Departamento: Educação Física
Data de Registro CEUA: 05.01.2018	
CERTIFICADO	
Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "Adaptações nos comprimentos dos sarcômeros na região da junção miotendínea do músculo plantar associado ao exercício físico", protocolo nº 0080, sob responsabilidade de Adriano Polican Ciena (Pesquisador Responsável) e Jurandyr Pimentel Neto (Orientando) que envolve a produção, manutenção e/ou a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).	
Subprojeto(s) vinculado(s): ==,==	
Colaboradores: -----	
A Comissão de Ética no Uso de Animal - CEUA do Instituto de Biociências da UNESP – Campus de Rio Claro, em sua 35ª reunião ordinária, realizada em 07.03.2018	
☒ (x)	Aprovou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
☐ ()	Desde que atendidas as pendências apontadas na reunião (vide anexo), aprova o Projeto de Pesquisa acima citado (prazo máximo de 30 dias).
☐ ()	Referendou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
☐ ()	Aprovou retornar ao interessado para atendimento das pendências encontradas (prazo máximo de 30 dias).
☐ ()	Não Aprovou.
☐ ()	Retirou , devido à permanência das pendências.
Vigência da autorização: 05.03.2018 a 07/12/2018 Finalidade: ☐ () Ensino ☒ (x) Pesquisa Científica Espécie/linhagem/raça: Ratos Wistar Número de animais: 30 Peso: 225 g Idade: 90 dias Sexo: masculino Origem dos animais (Informações sobre o fornecedor): Biotério Central da UNESP- Botucatu	
Objetivo Acadêmico:	☐ () TCC ☐ () Mestrado ☐ () Doutorado ☒ (x) Outros – (Iniciação Científica) ☐ () Pós- Graduação

Rio Claro, 07/03/2018

Prof. Dr. José Paulo Leite Guadanucci
Coordenador

ANEXO B - Menções Honrosas



XXVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA
XXXIX CONGRESSO CHILENO DE ANATOMIA
IV ENCONTRO DAS LIGAS ESTUDANTIS DE MORFOLOGIA



CERTIFICADO

Certificamos que VINÍCIUS CORREA BUENO BRAGATTO, JURANDYR PIMENTEL NETO, LARA CAETANO ROCHA, JOSSEI SOARES DE SANT'ANA, CAROLINA DOS SANTOS JACOB e ADRIANO POLICAN CIENA receberam MENÇÃO HONROSA pelo trabalho intitulado DIFERENÇAS NO COMPRIMENTO DE SARCÔMEROS NOS MÚSCULOS SÓLEO E PLANTAR EM RATOS SUBMETIDOS AO TREINAMENTO AERÓBIO E RESISTIDO apresentado no XXVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA, XXXIX CONGRESSO CHILENO DE ANATOMIA e IV ENCONTRO DAS LIGAS ESTUDANTIS DE MORFOLOGIA, promovido pela Sociedade Brasileira de Anatomia, realizado entre os dias 18 e 21 de julho de 2018, no Centro de Convenções de João Pessoa-PB, Brasil, na modalidade PÔSTER.

Dr. Eulámpio José da Silva Neto
Presidente do XXVIII Congresso Brasileiro de Anatomia

Dr. Pablo José Lizana Arce
Presidente da Sociedade Chilena de Anatomia

Dr. Richard Haldi Cabral
Presidente da Sociedade Brasileira de Anatomia

Dra. Jákina Guimarães Vieira Gutemberg
Presidente da Comissão Científica do XXVIII CRA



APOIO



PATROCÍNIO



XXVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA
XXXIX CONGRESSO CHILENO DE ANATOMIA
IV ENCONTRO DAS LIGAS ESTUDANTIS DE MORFOLOGIA



CERTIFICADO

Certificamos que Jossei Sant'Ana, Jurandyr Pimentel Neto, Carolina Jacob, Walter Krause Neto, Ii-sei Watanabe e Adriano Polican Ciena receberam MENÇÃO HONROSA pelo trabalho intitulado ADAPTAÇÕES SARCOMÉRICAS DA JUNÇÃO MIOTENDÍNEA DEVIDO A ESPECIFICIDADE DO PROTOCOLO DE EXERCÍCIOS FÍSICOS apresentado no XXVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA, XXXIX CONGRESSO CHILENO DE ANATOMIA e IV ENCONTRO DAS LIGAS ESTUDANTIS DE MORFOLOGIA, promovido pela Sociedade Brasileira de Anatomia, realizado entre os dias 18 e 21 de julho de 2018, no Centro de Convenções de João Pessoa-PB, Brasil, na modalidade PÔSTER.

Dr. Eulámpio José da Silva Neto
Presidente do XXVIII Congresso Brasileiro de Anatomia

Dr. Pablo José Lizana Arce
Presidente da Sociedade Chilena de Anatomia

Dr. Richard Haldi Cabral
Presidente da Sociedade Brasileira de Anatomia

Dra. Jákina Guimarães Vieira Gutemberg
Presidente da Comissão Científica do XXVIII CRA



APOIO



PATROCÍNIO



Graduando
Jurandyr Pimentel Neto

Orientador
Prof. Dr. Adriano Polican Ciena