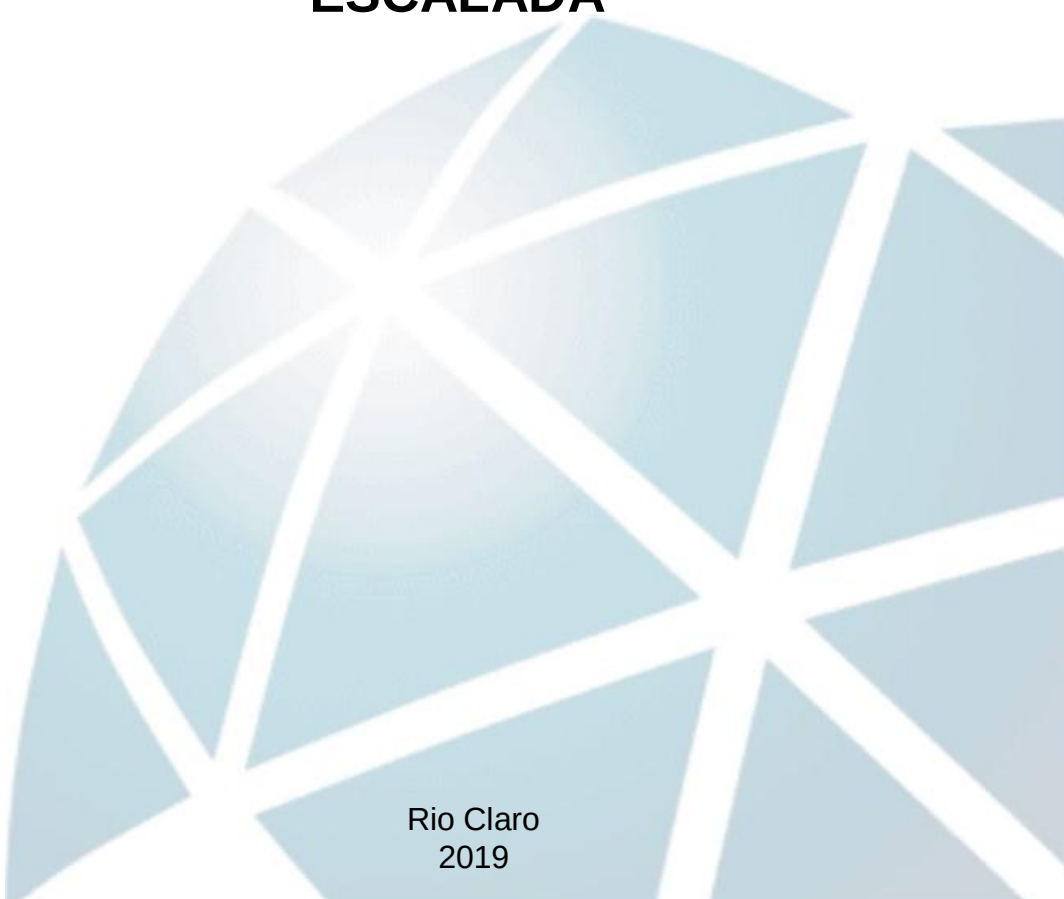

EDUCAÇÃO FÍSICA

GUSTAVO CRIVELLI

**ADAPTAÇÕES MORFOFUNCIONAIS DOS
SARCÔMEROS DA JUNÇÃO MIOTENDÍNEA
DE RATOS WISTAR APÓS PROTOCOLO DE
ESCALADA**



Rio Claro
2019

GUSTAVO CRIVELLI

ADAPTAÇÕES MORFOFUNCIONAIS DOS SARCÔMEROS DA
JUNÇÃO MIOTENDÍNEA DE RATOS WISTAR APÓS PROTOCOLO DE
ESCALADA

Orientador: Prof. Dr. Adriano Polican Ciena

Coorientadora: Lara Caetano Rocha

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 – SP

2019

C936a Crivelli, Gustavo
Adaptações morfofuncionais dos sarcômeros da junção miotendínea de ratos Wistar após protocolo de escalada / Gustavo Crivelli. -- Rio Claro, 2019
45 f. : il., fotos

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

Orientador: Adriano Polican Ciena
Coorientadora: Lara Caetano Rocha

1. Músculo esquelético. 2. Hipertrofia. 3. Microscopia eletrônica de transmissão. 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.

RESUMO

O sistema muscular esquelético é estruturado principalmente por proteínas contráteis que formam o tecido muscular, e eventualmente, possibilitam os mais variados movimentos dos segmentos corporais. Microscopicamente, cada fibra muscular é individualmente formada por estruturas ainda menores, os miofilamentos, constituídos por actina e miosina, sobrepostos para efetuarem a contração muscular, realizada pelos sarcômeros em série. O exercício físico resistido pode apresentar diversos benefícios para o indivíduo, como o ganho de força pela hipertrofia muscular, além de auxiliar na possibilidade de menores predisposições a lesões quando executado corretamente, além de alterações significantes da composição morfológica dos grupamentos musculares envolvidos. A principal região caracterizada por predisposição a lesões e alta plasticidade é denominada de junção miotendínea (JMT), a qual é funcionalmente a principal região transmissora de força do sistema muscular esquelético ao tecido tendíneo. O objetivo do presente estudo consistiu em descrever as alterações morfológicas e funcionais da região da junção miotendínea no músculo gastrocnêmio de ratos *Wistar* após a realização dos protocolos de treinamento em escada vertical. Foram utilizados 30 ratos com 90 dias de idade, originários do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu (SP), divididos em 3 grupos (n=10): C – Controle; E – Escalada; e ER – Escalada Resistida. Os animais dos grupos E e ER foram submetidos a um protocolo de exercício físico em escada vertical, onde realizaram um total de 24 sessões intervaladas, com 4-9 escaladas e 8-12 movimentos dinâmicos por sessão, durante dois meses. O grupo ER teve um adicional progressivo de carga durante as escaladas, executando cada tentativa com 50%, 75%, 90% e 100% respectivamente da massa corporal individual, com acréscimo de 30g para cada escalada subsequente. O grupo E executou o mesmo protocolo de escalada sem o acréscimo da sobrecarga. Ao término dos protocolos de treinamento, as amostras foram coletadas e processadas para a microscopia de luz, análises histoquímicas e microscopia eletrônica de transmissão. Foram evidenciadas alterações morfológicas, ultraestruturais, e morfométricas na região da junção miotendínea e no ventre muscular. Os resultados demonstraram que houve aumento significativo da densidade de fibras tipo II, aumento da carga máxima carregada e dos

comprimentos e espessuras de invaginações e evaginações, assim como a diminuição de fibras do tipo I e do comprimento dos sarcômeros do Grupo Escalada Resistida. Concluimos que o treinamento de escalada vertical promoveu remodelação estrutural da interface da junção miotendínea, possibilitando maior área de contato, com redução nos comprimentos dos sarcômeros após treinamento resistido e consequentemente maior transmissão de força.

Palavras-chave: Junção miotendínea, sarcômeros em séries, escada vertical, exercício resistido, hipertrofia.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
1.1. Músculo Estriado Esquelético	5
1.2. Tendão	7
1.3. Junção Miotendínea	8
1.4. Hipertrofia Muscular	9
1.5. Justificativa	10
2. OBJETIVO GERAL	11
2.1. Objetivos Específicos	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS	12
3.1. Animais	12
3.2. Adaptação dos animais aos protocolos de treinamento	13
3.3. Protocolos de treinamentos – escalada vertical	14
3.4. Análise Funcional	16
3.5. Microscopia de Luz	17
3.6. Análise Histoquímica – ATPase miofibrilar	18
3.7. Microscopia Eletrônica de Transmissão	19
3.8. Análises Morfométricas	21
4. RESULTADOS	22
4.1. Análise Funcional	22
4.2. Microscopia de Luz	23
4.3. Análise Histoquímica – ATPase miofibrilar	25
4.4. Microscopia Eletrônica de Transmissão	28
5. DISCUSSÃO	32
6. CONCLUSÃO	34
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
8. ANEXOS	41
8.1. Premiação	41
8.2. Participações em eventos	42
8.3. Aprovação do CEUA	44

1. INTRODUÇÃO

1.1. Músculo Estriado Esquelético

A composição estrutural do músculo estriado esquelético é primariamente de proteínas contráteis, com estreita relação com tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e nervos, que influenciam intensamente a função muscular (GILLIES; LIEBER, 2011). Seu material contrátil é composto de tecidos heterogêneos, formado por fibras musculares de diferentes características metabólicas, histoquímicas e propriedades contráteis. Em geral, as fibras musculares podem ser distinguidas por suas diferenças na velocidade de contração, oxidação, vascularização, resistência à fadiga, número e tamanho de mitocôndrias, além de sua característica histoquímica, quais são divididas em duas categorias: Tipo I (contração lenta ou oxidativa) e Tipo II, com os subtipos IIa (contração intermediárias ou mista), IIb e IIx (contração rápida ou glicolítica) (BUCCI et al., 2005; MINAMOTO, 2005; TSAI et al., 2016).

Portanto, diferentes tipos de fibras musculares reagem e se adaptam a determinados estímulos, sua tipificação e densidade normalmente são analisados para determinar a saúde e função dos músculos esqueléticos (TSAI et al., 2016). Apesar das diferenças da quantidade de mioglobinas e da atividade histoquímica, cada fibra expressa formas distintas de proteínas contráteis, que são comumente utilizadas para sua identificação (GOLOVIZNINA; KYBA, 2017).

Os sarcômeros em série formam a unidade básica funcional do tecido muscular a partir de seus filamentos proteicos sobrepostos de actina e miosina, estes filamentos se encarregam da contração, que asseguram a eficiência do sistema como um todo (AGARKOVA; PERRIARD, 2005). Os sarcômeros são definidos entre pares de linhas Z, estas linhas são encontradas medialmente em direção paralela às bandas I, enquanto na região central há a sobreposição dos filamentos de actina e miosina que formam da banda A, com a zona H no centro e a linha M do sarcômero (WAKAYAMA et al., 2000; AGARKOVA; PERRIARD, 2005).

Os sarcômeros apresentam também a característica de não-uniformidade em seus comprimentos em uma única fibra, aumenta em sua pós ativação, que gera um estado de equilíbrio que produz maior força do que a predita pela sobreposição dos

filamentos. Sarcômeros com maior resistência são passivos através da rigidez da proteína titina (RASSIER, 2017).

O músculo gastrocnêmio apresenta dois ventres musculares, medial e lateral, que possuem ponto fixo respectivamente nos côndilos medial e lateral do fêmur, e convergem junto ao tendão do músculo sóleo no tendão do calcâneo para sua inserção no ponto móvel da tuberosidade calcânea (DORAL et al., 2010; D'AGOSTINI, 2017). Nas atividades diárias o músculo gastrocnêmio possui função primordial na impulsão durante a deambulação, corrida e salto, além de produção de força e auxílio na manutenção postural e do equilíbrio. Isso se deve ao fato de que, em conjunto ao sóleo, agem na flexão plantar e formam a bomba sural de auxílio ao fluxo venoso. Como é estruturado em um músculo biarticular, auxilia durante o movimento de flexão da perna (CAMPOS; DE ALBUQUERQUE; BRAGA, 2008; KAWANO et al., 2010; D'AGOSTINI, 2017).

1.2. Tendão

O tendão é uma unidade do tecido musculoesquelético, que possui como principal função a transmissão de força do sistema muscular para o sistema esquelético, e permite que a força de contração do músculo proporcione o movimento articular, além de possuírem extrema resistência à carga (BIANCALANA; VELOSO; GOMES, 2010; ALIODOUST et al., 2014).

Em seu modelo macroscópico, os tendões possuem aspecto esbranquiçado e brilhante, que variam consideravelmente em relação à sua forma e tamanho, como mais largos e planos ou mais finos e longos, além de se apresentarem também como cilíndricos ou achatados (KANNUS, 2000; MAGNUSSON; HANSEN; KJAER, 2003; FRANCHI et al., 2007).

O tecido colágeno é o principal componente dos tendões, com cerca de 65% a 80% de seu peso total, onde o restante é dividido entre células, proteoglicanas e outras proteínas da matriz extracelular (KANNUS, 2000; FRANCHI et al., 2007; BIANCALANA; VELOSO; GOMES, 2010; MERRELL; KARDON, 2013). Em toda sua extensão são encontradas principalmente as fibras colágenas de tipo I, as mais abundantes do corpo humano, embora existam também as de tipo II, que são encontradas próximas às junções osteotendíneas, e as do tipo III, encontradas nas periferias das fibrilas colágenas (MAGNUSSON; HANSEN; KJAER, 2003; ESQUISATTO et al., 2007; BIANCALANA; VELOSO; GOMES, 2010).

Um grupo de fibrilas colágenas formam a unidade básica do tendão, a fibra colágena, estas fibras são densamente agrupadas e alinhadas paralelamente ao eixo do tendão, envoltas individualmente por uma fina camada de tecido conjuntivo, chamada endotendão (KANNUS, 2000; ALIODOUST et al., 2014).

1.3. Junção Miotendínea

O músculo e o tendão constituem uma unidade dinâmica e funcional integrada, que transmite a força de contração muscular ao tecido tendíneo (CHARVET; RUGGIERO; LE GUELLEC, 2012).

Denominada junção miotendínea, é uma estrutura complexa e altamente especializada, que forma a área de interação entre as células musculares e tendíneas, além de ser a principal área de transmissão de força entre os sistemas relacionados (KJAER, 2004; CIENA et al., 2010, 2012b), e com isso, é também caracterizada como a área que recebe maior estresse mecânico durante o exercício físico (JAKOBSEN et al., 2018).

Na região da junção miotendínea é possível identificar interdigitações formadas pelas invaginações sarcoplasmáticas das fibras tendíneas sobre as musculares, que aumentam a área de contato entre o músculo e o tendão (LUQUES, 2009). As evaginações sarcoplasmáticas constituintes da junção miotendínea são caracterizadas por protrusões arredondadas circundadas pela membrana celular, que separa o tecido muscular do tendíneo. Com o exercício físico aeróbio, é observado aumento das invaginações sarcoplasmáticas tanto em comprimento quanto em quantidade, com ramificações que promovem maior área de contato para melhor resistência na transmissão de força (CURZI et al., 2012).

Portanto, para evitar danos ao sistema por conta do estresse mecânico advindo da transmissão de força, sua taxa de reparo e força deve manter-se alta. O reparo e ajuste muscular ao treinamento é um processo complexo que acaba envolvendo diversos tipos de células, sendo as mais importantes as células satélites, como os macrófagos e fibroblastos (BENTZINGER et al., 2013; JAKOBSEN et al., 2018).

1.4. Hipertrofia Muscular

A hipertrofia se caracteriza principalmente como o aumento do tecido musculoesquelético, e com isso, busca aumentar a área de secção transversa das fibras musculares e condicionar o surgimento de novas miofibrilas. No caso, essas miofibrilas são produzidas a partir de um estresse mecânico gerado através do exercício intenso, e possibilita a ativação do RNA mensageiro para a síntese proteica, que libera as proteínas necessárias para a produção de mais miofibrilas (BUCCI et al., 2005; DIAS et al., 2005).

Ela é atingida a partir de um fenômeno denominado mecanotransdução, onde mecanosensores do sarcolema são responsáveis pela conversão da força mecânica em sinais bioquímicos que regulam a ativação das vias anabólicas e catabólicas. Quando uma sobrecarga mecânica é aplicada, os processos anabólicos prevalecem sobre os catabólicos, promovendo assim aumento na síntese proteica muscular e, com isso, o aumento da espessura das fibras (SCHOENFELD et al. 2016).

Estudos recentes confirmaram que o ponto máximo de hipertrofia muscular é atingido com regimes de treinamento que produzem um estresse metabólico significativo enquanto mantém um grau moderado de tensão muscular (SCHOENFELD, 2010). Esse estresse está intimamente relacionado com as diferentes intensidades de treinamento, onde atividades que requerem baixa disponibilidade de oxigênio nos músculos são os principais fatores do metabolismo anaeróbio em exercícios de resistência (SCHEFFER et al., 2012).

1.5. Justificativa

As lesões musculares desportivas, resultantes diretas ou indiretas, têm alta incidência em diversos ambientes desportivos. Dentre todas as complicações podemos citar casos como a dor muscular tardia (DMT) e as distensões, onde ambas podem ser desencadeadas por demasiado esforço durante uma atividade, entretanto, a distensão pode apresentar maior risco ao praticante em comparação à DMT, pois nela ocorrem rupturas parciais de fibras musculares, normalmente decorrentes de um esforço acentuado durante a atividade. A região mais predisposta a estas lesões é a junção miotendínea, a qual é reconhecida como a maior responsável pela transmissão de força direta dos músculos ao tendão.

O estudo em questão consistiu em analisar e descrever os resultados da prática de exercício físico resistido e resultante hipertrofia muscular, além das alterações na região da junção miotendínea, e, com isso, melhoras nos resultados funcionais de tempo e carga máxima carregada (CMC). Assim, diferentes modalidades de treinamento podem ser explicadas a respeito de ganho de massa muscular, e associar com os resultados obtidos sobre a morfologia e os componentes ultraestruturais da JMT, que pode inferir diretamente em maior área de contato na JMT para maior transmissão de força e menor risco de lesão nesta importante área do aparelho locomotor, assim como alterações físicas e funcionais decorrentes durante o processo.

2. OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente estudo consistiu em descrever as alterações morfológicas e funcionais da região da junção miotendínea no músculo gastrocnêmio de ratos *Wistar* após a realização dos protocolos de treinamento em escada vertical.

2.1. Objetivos Específicos

- Revelar as características estruturais da junção miotendínea do músculo gastrocnêmio através da técnica de microscopia de luz com as colorações de Hematoxilina-Eosina (HE) e Picro-Sírius (PS);
- Diferenciar os tipos de fibras musculares e realizar análises morfométricas da área de secção transversa através da ATPase miofibrilar das fibras Tipos I e II;
- Descrever as características ultraestruturais da junção miotendínea através da microscopia eletrônica de transmissão;
- Descrever a disposição e organização das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas;
- Mensurar os comprimentos e espessuras das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas;
- Mensurar os comprimentos dos sarcômeros proximais (penúltimo sarcômero) e distais (último sarcômero) na região da junção miotendínea;
- Realizar análise funcional – Carga Máxima Carregada.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais

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

- Grupo Controle (C) (n=10): os animais não foram submetidos a nenhum protocolo;
- Grupo Escalada (E) (n=10): os animais foram submetidos ao exercício físico sem sobrecarga;
- Grupo Escalada Resistida (ER) (n=10): os animais foram submetidos ao exercício físico com sobrecarga.

Todos os animais foram originários do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu, mantidos em gaiolas com 5 ratos cada no Biotério Setorial do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física do Instituto de Biociências da UNESP – Campus Rio Claro. A temperatura foi controlada (23 ± 2 °C) os animais foram alimentados com ração padrão 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 3331).

3.2. Adaptação dos animais aos protocolos de treinamento

Para os grupos E e ER, os animais foram conduzidos a um processo de adaptação por cinco dias consecutivos sem qualquer elemento adicional de peso. Na semana seguinte, a avaliação de Carga Máxima Carregada (CMC) foi aplicada apenas para o grupo ER, utilizando duas sessões de familiarização. Durante estas sessões, os animais subiram as escadas até a falha, com uma carga inicial (50% do peso corporal) e adicionando uma porcentagem de peso para cada escalada bem sucedida. A sessão foi realizada até o animal apresentar falha em duas tentativas de escalada consecutivas. Entre cada escalada, o animal teve um intervalo de 2 minutos (KRAUSE NETO et al., 2017b, 2017c).

3.3. Protocolos de treinamentos – escalada vertical

Para o treinamento, o ciclo claro/escuro foi invertido (com as luzes programadas para ficarem desligadas das 07h às 19h e ligadas das 19h às 07h) da sala onde os animais foram acomodados, para possibilitar os grupos E e ER o treinamento durante o período ativo (noturno). As sessões de treinamento foram realizadas entre as 11h às 16h dos dias programados, utilizando o equipamento de escalada. O modelo foi escolhido com base no proposto por Hornberger e Farrar (2004), com altura de 110 cm, 80° de inclinação e uma distância de 2 cm entre os degraus (KRAUSE NETO et al., 2017b, 2017c).

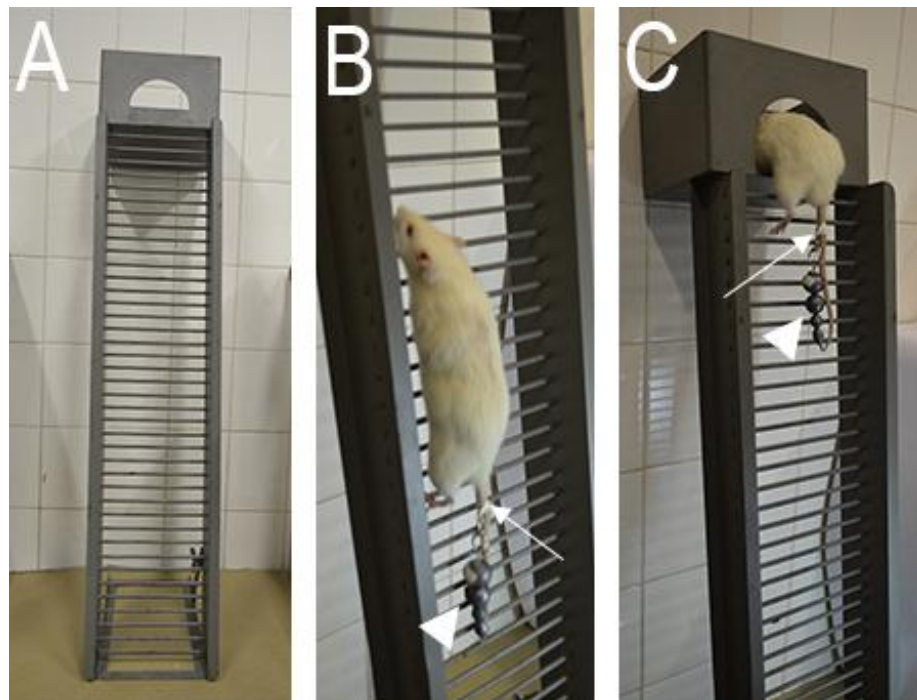


Figura 1: Modelo de escada utilizada nos protocolos (A); Animal do Grupo Escalada Resistida realizando teste de CMC (B); Animal finalizando a escalada (C). Local de fixação dos pesos (setas) e pesos (cabeças de setas).

O protocolo de treinamento resistido teve início na 3ª semana, após uma semana de adaptação e uma semana de avaliação da capacidade de carga máxima, que consistiu em 24 sessões ao longo de dois meses, com 4-9 escaladas por sessão e de 8-12 movimentos dinâmicos por escalada. Nesse período, no grupo ER utilizou sobrecarga de 50%, 75%, 90% e 100% da massa corporal dos animais, respectivamente, durante as escaladas, com adição de 30g progressiva à sobrecarga a partir da 5ª escalada. No grupo E o procedimento foi semelhante,

porém sem a sobrecarga. Ao final das 24 sessões, os animais do grupo ER foram submetidos novamente à avaliação de CMC, (HORNBERGER; FARRAR, 2004; HARRIS et al., 2010).

3.4. Análise Funcional

Foram registrados os valores das cargas sustentadas pelos animais do Grupo ER que participaram do protocolo durante a avaliação de CMC, para a comparação e análise quanto aos padrões intra e intergrupos e para a obtenção de suas respectivas médias e desvios-padrões. Os resultados foram analisados estatisticamente através do software Graph Pad 6.0, com o uso do método *Unpaired T-test*, onde o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

3.5. Microscopia de Luz

Foram utilizados 5 animais de cada grupo, eutanasiados em overdose de anestésico (Ketamina-200 mg/kg e Xilasina-50 mg/kg). Em seguida foram dissecadas amostras da junção miotendínea e do ventre do músculo gastrocnêmio de todos os grupos experimentais e criofixados em nitrogênio líquido (-196°C). Foram realizados cortes longitudinais e transversais de 8 µm de espessura (Criostato HM 505 E, MICROM), corados com a técnica de Hematoxilina-Eosina para evidencição dos componentes celulares e Picro-Sírius para identificação do tecido conjuntivo associado (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). As imagens foram obtidas através do microscópio de luz Carl Zeiss Microimaging Axioskop 40 (Göttingen, Germany) do laboratório de microbiologia do Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS), UNESP, Rio Claro-SP.

3.6. Análise Histoquímica – ATPase miofibrilar

As amostras do ventre do gastrocnêmio foram criofixadas em nitrogênio líquido e mantidas à -80°C. Posteriormente, foram realizados cortes transversais no criostato à -20°C na espessura de 8 µm, as secções foram incubadas por 30 minutos a 37°C em uma solução contendo 10 mg de ATP dissolvido em 2 gotas de água destilada com mais 10 ml de glicina/NaCl com tampão de CaCl₂ até atingir o pH de 9.4 na adição de DDT. Então, os cortes foram lavados em água destilada e incubados por 2 minutos em 2% de cloreto de cobalto, 3 vezes. Novamente, foram lavados em água destilada, desidratados em uma série ascendente de álcoois (70%, 90%, 95% e 100%) e clareados em xilol, para então serem colocados em bálsamo do Canadá. Para os métodos de pH à 4.3 e 4.6, as secções foram pré-incubadas em uma solução tampão 0.1M de acetato de sódio com 10mM de EDTA por 10 minutos a 4 °C. Elas foram lavadas em água destilada e incubadas por 2 minutos em 2% de cloreto de cobalto, 3 vezes. Foram novamente lavadas em água destilada e desidratadas em uma série ascendente de álcoois (70%, 90%, 95% e 100%) e clareadas em xilol, para obtenção das lâminas histológicas (KRAUSE NETO et al., 2017a).

3.7. Microscopia Eletrônica de Transmissão

Foram utilizados 5 animais de cada grupo experimental, eutanasiados em overdose de anestésico (Ketamina-100 mg/kg e Xilasina-50 mg/kg). As amostras da JMT do músculo gastrocnêmio (3mm³) foram dissecadas e imersas em solução de cacodilato de sódio a 0.1M, pH 7.4, durante 48 horas a 4°C. Posteriormente as amostras foram 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 à 0,5% durante 12 horas, à temperatura ambiente e na ausência de luminosidade. Em seguida, as amostras foram submetidas à desidratação em série crescente de álcoois a partir de 70%, 80%, 90% e 95% (1x), álcool etílico absoluto (4x) com banhos de 15 minutos cada, e em óxido de propileno (2x) por 15 minutos.

Após a desidratação as amostras permaneceram por 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 novamente 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.

Foi realizada a inclusão das amostras em moldes retangulares de silicone, que foram preenchidos por 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 10µm em ultramicrotomo (*Leica Ultracut UCT, Germany*), e corados com o método de azul de toluidina 1%. As imagens foram obtidas por meio do fotomicroscópio Carl Zeiss Microimaging Axiokop 40 (*Göttingen, Germany*). Após a seleção da área de interesse, foram realizados cortes ultrafinos de 60 nanômetros em ultramicrotomo, que foram coletados em telas de cobre de 200 "Mesh" (*Sigma-Aldrich®, USA*) e contrastados com a solução de acetato de uranila a 4%, por 3 minutos, lavados em água destilada, contrastados em solução aquosa de citrato de chumbo a 0.4% por 3 minutos e lavados em seguida com água destilada (CIENA et

al., 2012). As telas foram examinadas no microscópio eletrônico de transmissão Jeol 1010, NAP/MEPA, Universidade de São Paulo-USP, Piracicaba-SP.

3.8. Análises Morfométricas

Para análise morfométrica de ATPase miofibrilar, foram mensuradas (n=100) as áreas de secção transversa das fibras musculares dos Tipos I e II e a densidade volumétrica das mesmas. Posteriormente, na técnica de microscopia eletrônica de transmissão foram mensurados (n=100) os sarcômeros proximais e distais (penúltimo e último), além dos comprimentos e espessuras das invaginações e evaginações sarcomplasmáticas. Para obtenção dos dados 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 *Known 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 análises através do software Microsoft Office Excel™, e realizada a análise estatística com auxílio do software GraphPad Prism 6.0 onde foram adotados os níveis de significância estatística $p < 0,05$ e $p < 0,0001$, com uso do teste Two-Way ANOVA, pós-teste de Bonferroni.

4. RESULTADOS

4.1. Análise Funcional

Os testes de CMC foram realizados no Grupo ER em dois períodos distintos: no inicial (pré-protocolo) e ao término do protocolo de treinamento (pós-protocolo). Dessa maneira, foi possível observar aumento de 95,6% ($p < 0,0001$) na média das cargas carregadas após a realização do protocolo de treinamento resistido (Figura 2).

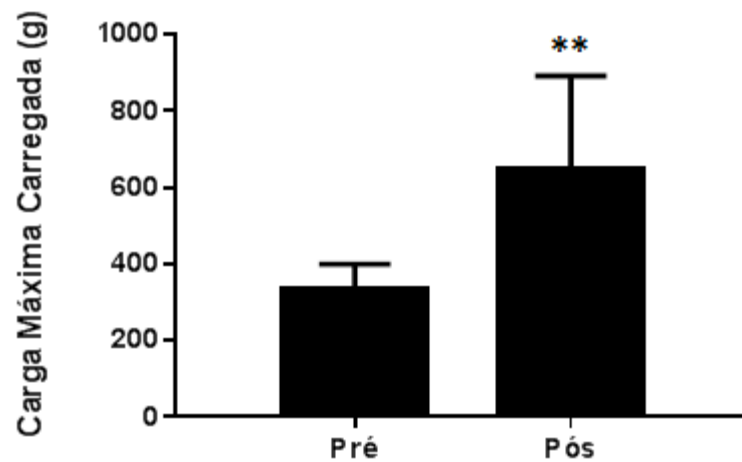


Figura 2: Média e desvio-padrão do Teste de CMC do Grupo ER nos períodos pré e pós-protocolo de treinamento resistido. (**) $p < 0,0001$.

4.2. Microscopia de Luz

No Grupo Controle, foi possível identificar as invaginações sarcoplasmáticas inferindo baixas projeções com o ventre muscular (Figura 3B) e núcleos celulares dispersos ao longo de toda a amostra, com formas indefinidas (Figura 3A).

No Grupo Escalada, os núcleos celulares apresentaram formas alongadas mais consistentes, disposição mais ordenada na região da junção miotendínea (Figura 3C), além de projeções tendíneas mais suaves na região de interação com o ventre muscular (Figura 3D).

O Grupo Escalada Resistida apresentou grande distinção entre o tecido tendíneo e o muscular, com limites bem definidos na região da JMT e leve sobreposição no ventre da amostra (Figura 3F). Houve também maior organização dos núcleos musculares na região da JMT, ainda com as mesmas características alongadas quando comparados com o Grupo Escalada (Figura 3E).

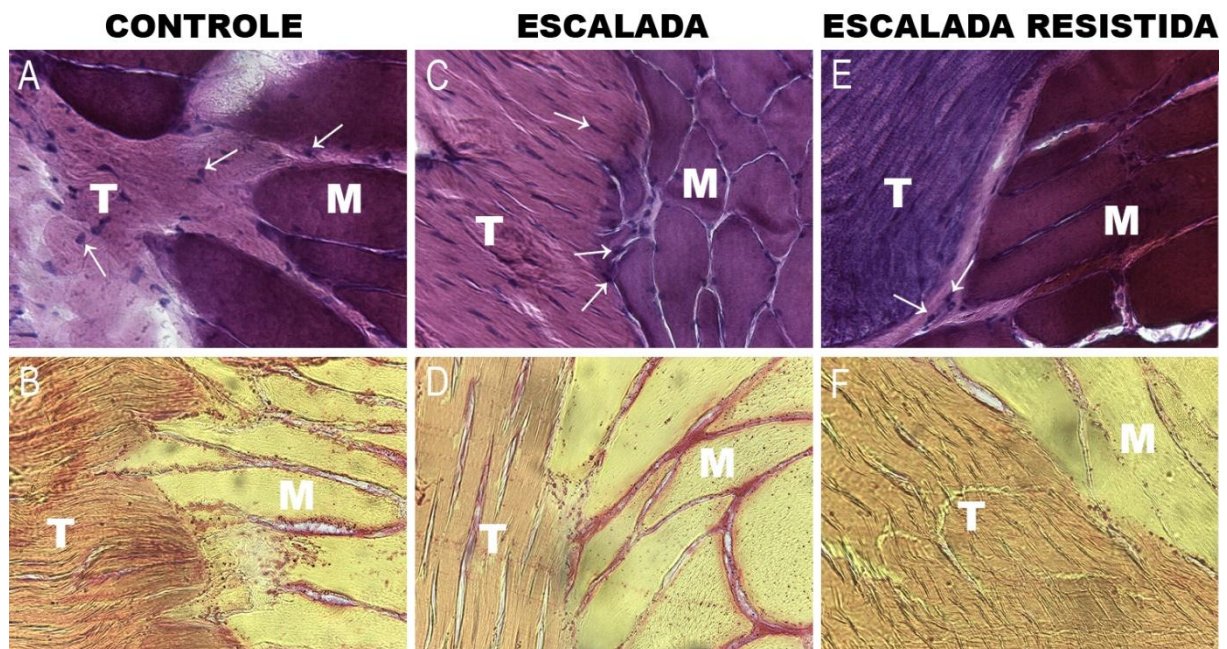


Figura 3: Microscopia de Luz da região da JMT do músculo gastrocnêmio. Grupo Controle (A, B); Grupo Escalada (C, D); Grupo Escalada Resistida (E, F). Técnicas de coloração: Hematoxilina-Eosina (A, C e E) e Picro-Sírius (B, D e F). Núcleos celulares (setas). Ampliações: 400x.

No corte transversal, foi possível constatar no Grupo Controle pouca organização tecidual em relação às células musculares, fascículos musculares com formatos variados, perímio irregular (Figura 4B), endomísio pouco definido e grandes acúmulos de núcleos celulares (Figura 4A).

O Grupo Escalada apresentou núcleos celulares mais esparsos e fascículos musculares mais definidos (Figura 4C), assim como envoltório tecidual mais organizado em relação tanto ao perimísio quanto ao endomísio (Figura 4D).

No Grupo Escalada Resistida foi evidenciada disposição nuclear mais homogênea nas fibras como um todo (Figura 4E), além da organização dos fascículos musculares, levando em conta também a estrutura conjuntiva do endomísio e perimísio muscular, que se apresentou com formato mais definido e delineado nas amostras (Figura 4F).

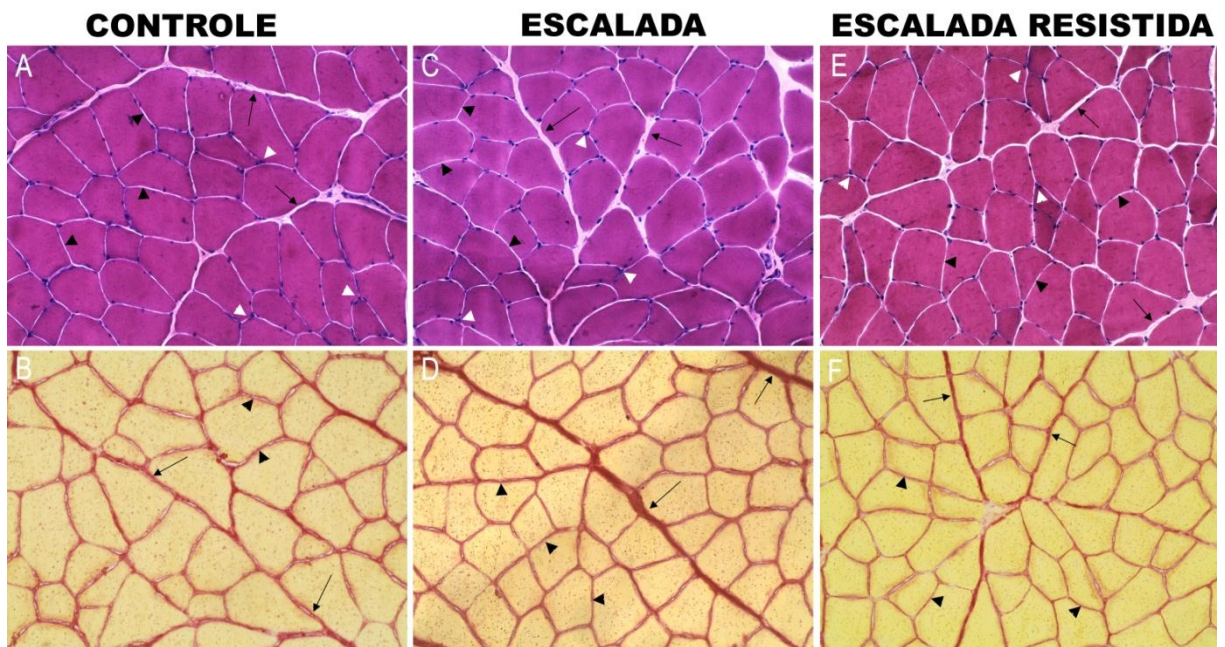


Figura 4: Microscopia de Luz do ventre do músculo gastrocnêmio. Grupo Controle (A, B); Grupo Escalada (C, D); Grupo Escalada Resistida (E, F). Perimísio (setas), endomísio (cabeças de setas pretas) e acúmulos nucleares (cabeças de setas brancas). Técnicas de coloração: Hematoxilina-Eosina (A, C e E) e Picro-Sírius (B, D e F). Ampliações: 200x.

4.3. Análise Histoquímica – ATPase miofibrilar

Os resultados da área de secção transversa para as fibras musculares do tipo I revelam que houve diminuição geral dos grupos submetidos aos protocolos de treinamento sobre o Grupo Controle, de 4,77% em relação ao Grupo Escalada para o Grupo Controle, 7,19 % do Grupo Escalada Resistida para o Grupo Controle, e de 2,54% do Grupo Escalada Resistida quando comparado ao Grupo Escalada. Entretanto, houve aumento com diferença estatística significativa apresentada nos resultados para as fibras musculares do tipo II, com aumento de 16,74% do Grupo Escalada para o Grupo Controle, 28,13% ($p < 0,0001$) do Grupo Escalada Resistida para o Grupo Controle e 9,76% ($p < 0,05$) do Grupo Escalada Resistida para o Grupo Escalada (Figura 5).

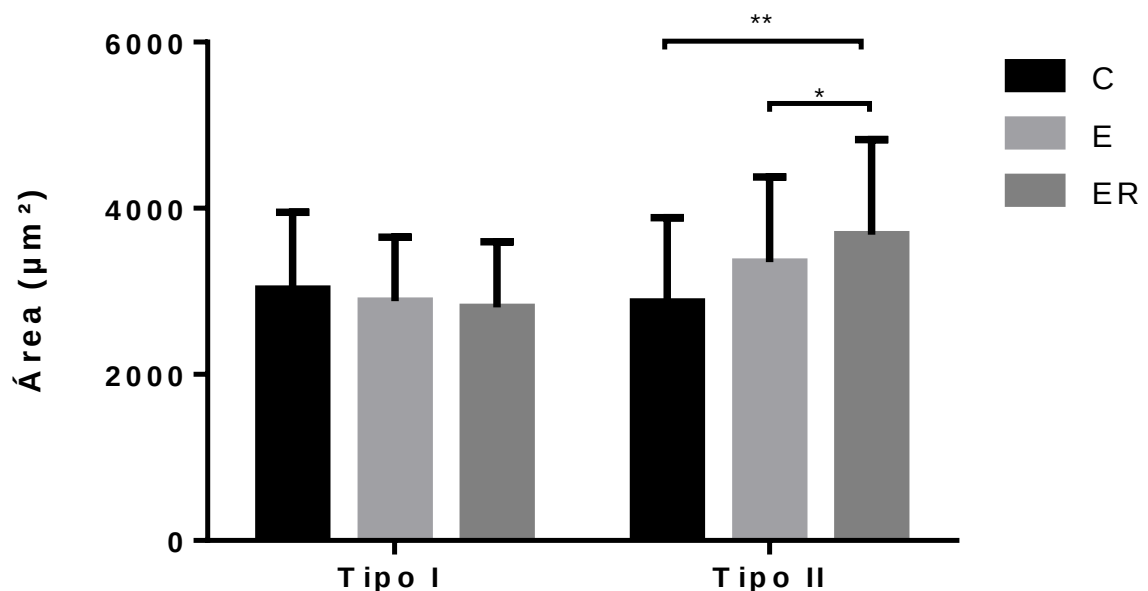


Figura 5: Médias e desvios-padrões da área de secção transversa das fibras dos Tipos I e II dos Grupos Controle, Escalada e Escalada Resistida. (*) $p < 0,05$ e (**) $p < 0,0001$.

Nós observamos que através da análise de densidade por volume foi possível constatar diminuição significativa de 10,44% ($p < 0,05$) na média das fibras tipo I do Grupo Escalada Resistida para o Grupo Controle, assim como diminuição 4,11%, embora não significativa, em relação ao Grupo Escalada para o Grupo Controle e 6,32% do Grupo Escalada Resistida para o Grupo Escalada. Em contrapartida,

houve aumento significativo de 8,83% ($p<0,05$) das fibras tipo II do Grupo Escalada Resistida para o Grupo Escalada, além de aumento de 8,95%, embora não significativo, do Grupo Escalada Resistida para o Grupo Controle. O interstício de todos os grupos não apresentou resultados de aumento ou diminuição com diferenças significativas (Figura 6).

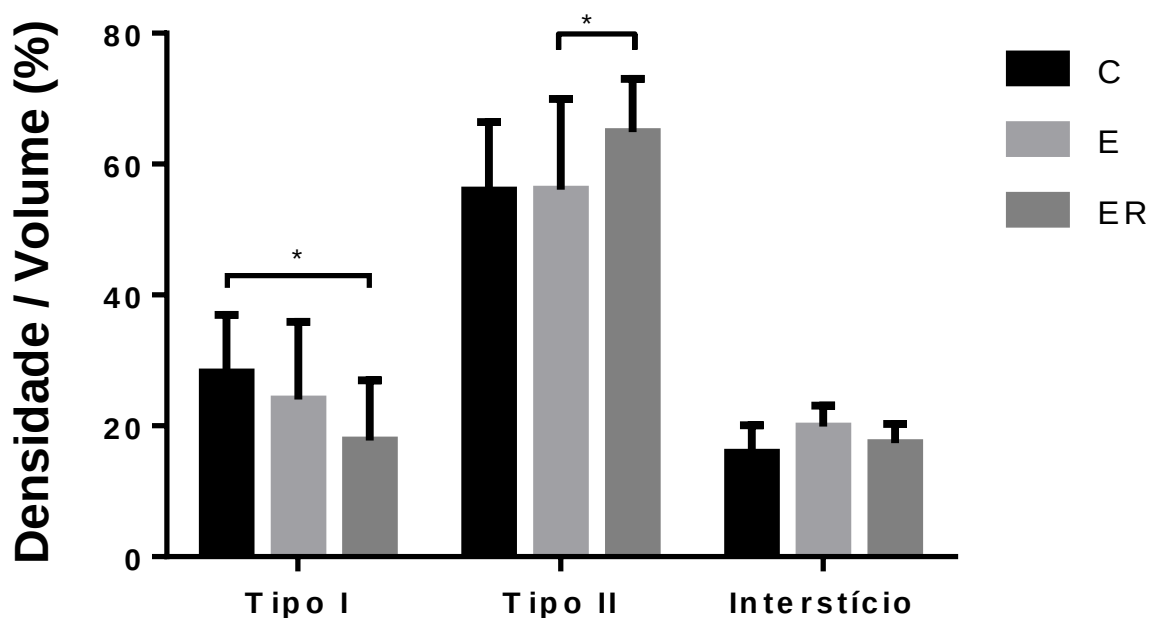


Figura 6: Médias e desvios-padrões da densidade por volume (%) para fibras musculares de Tipo I, II e interstício dos grupos Controle, Escalada e Escalada Resistida. (*) $p<0,05$.

Através da análise histoquímica de ATPase miofibrilar, foi possível verificar organização e diferenciação dos tipos de fibras musculares do Grupo Controle, além de pouca densidade de fibras do tipo II (Figura 7A). No Grupo Escalada há maior densidade das fibras musculares do tipo II, além de maior organização das células entre os feixes musculares (Figura 7B). No Grupo Escalada Resistida, revelou elevada organização celular, juntamente maior densidade de fibras musculares tipo II e a presença de vasos sanguíneos no interstício (Figura 7C).



Figura 7: Técnica histoquímica de ATPase para pH 4.3. Ampliações: 200x. Vasos sanguíneos (setas) presentes no Grupo Escalada Resistida e identificação de fibras musculares dos tipos I e II.

4.4. Microscopia Eletrônica de Transmissão

No Grupo Controle foi possível a verificação de baixa interação entre o tecido tendíneo com o muscular, com curtas invaginações e evaginações (Figura 8A), além de sarcômeros em série demonstrando baixa organização devido ao desalinhamento (Figura 8B).

O Grupo Escalada, entretanto, apresenta maiores comprimentos de invaginações tendíneas, com ramificações que estendem-se em direção ao ventre muscular (Figura 8C). Em maior ampliação, é possível notar maior organização estrutural dos sarcômeros em série, assim como seus alinhamentos (Figura 8D).

No Grupo Escalada Resistida, as projeções advindas do tecido tendíneo em direção ao ventre muscular mostraram-se mais difusas, com maiores comprimentos, espessuras e ramificações (Figura 8E). Foi possível verificar também a organização estrutural dos sarcômeros advinda após o treinamento, assim como a presença de tenócitos (Figura 8F).

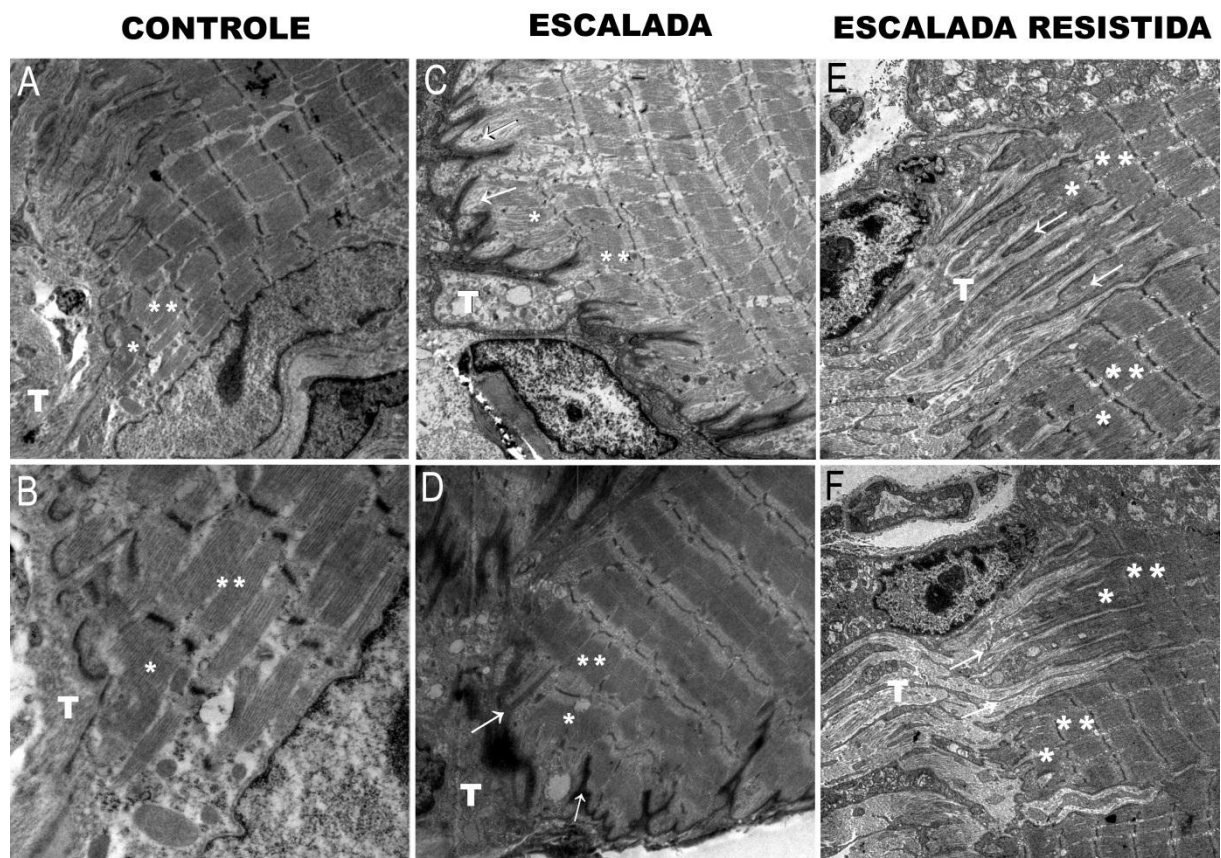


Figura 8: Microscopia Eletrônica de Transmissão da JMT do músculo gastrocnêmio. Grupo Controle (A, B); Grupo Escalada (C, D); Grupo Escalada Resistida (E, F). Invaginações e evaginações sarcoplasmáticas (setas), tecido tendíneo (T), sarcômeros distais (*) e sarcômeros proximais (**). Ampliações: 4.000x (F) 5.000x (A, C, E); 6.000x (D); 10.000x (B).

Comparando os resultados dos grupos em relação aos comprimentos encontrados nos sarcômeros proximais, foi possível evidenciar aumento de 10,7% ($p<0,0001$) do Grupo Escalada sobre o Grupo Controle, assim como aumento de 4,4% ($p<0,05$) do Grupo Escalada Resistida sobre o Grupo Controle e diminuição de 5,7% do Grupo Escalada Resistida sobre o Grupo Escalada. Já nos sarcômeros distais, houve aumento de 25,8% ($p<0,0001$) do Grupo Escalada sobre o Grupo Controle, diminuição de 9,4% ($p<0,0001$) do Grupo Escalada Resistida sobre o Grupo Controle e diminuição de 28% ($p<0,0001$) do Grupo Escalada Resistida sobre o Grupo Escalada (Figura 9).

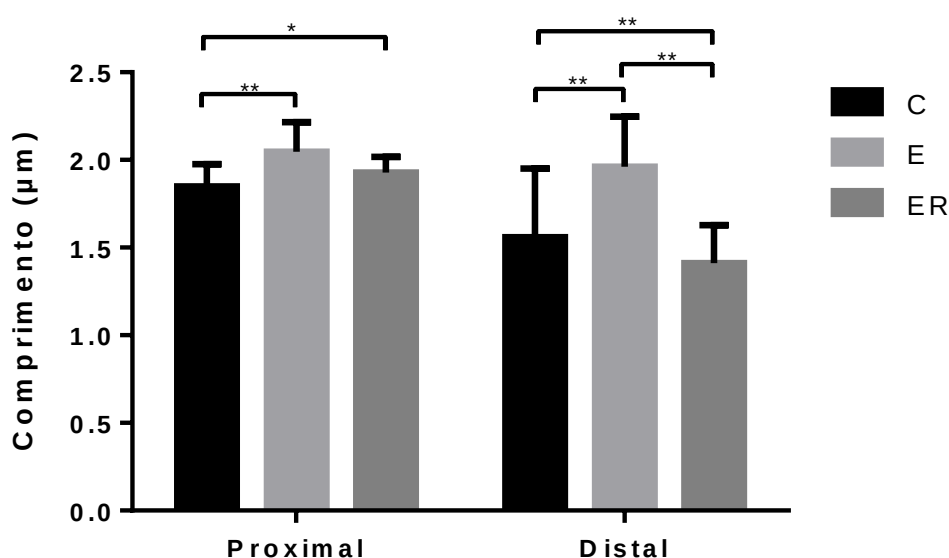


Figura 9: Médias e desvios-padrões dos comprimentos de sarcômeros proximais e distais. (*) $p<0,05$ e (**) $p<0,0001$.

Para os resultados da comparação entre os comprimentos de invaginações, foi constatado que o Grupo Controle apresentou 42,5% de comprimento menor do que do Grupo Escalada e 333,8% ($p<0,0001$) menor do que o Grupo Escalada Resistida enquanto o Grupo Escalada Resistida mostrou comprimento 204,5% ($p<0,0001$) maior do que os resultados do Grupo Escalada. Para os comprimentos das evaginações, os resultados se mantiveram consistentes em relação aos anteriores, com o Grupo Controle apresentando comprimento 76,6% menor do que o Grupo Escalada e 237,9% ($p<0,0001$) menor do que o Grupo Escalada Resistida, enquanto o Grupo Escalada Resistida demonstrou comprimento 91,7% ($p<0,0001$) maior quando comparado ao Grupo Escalada (Figura 10).

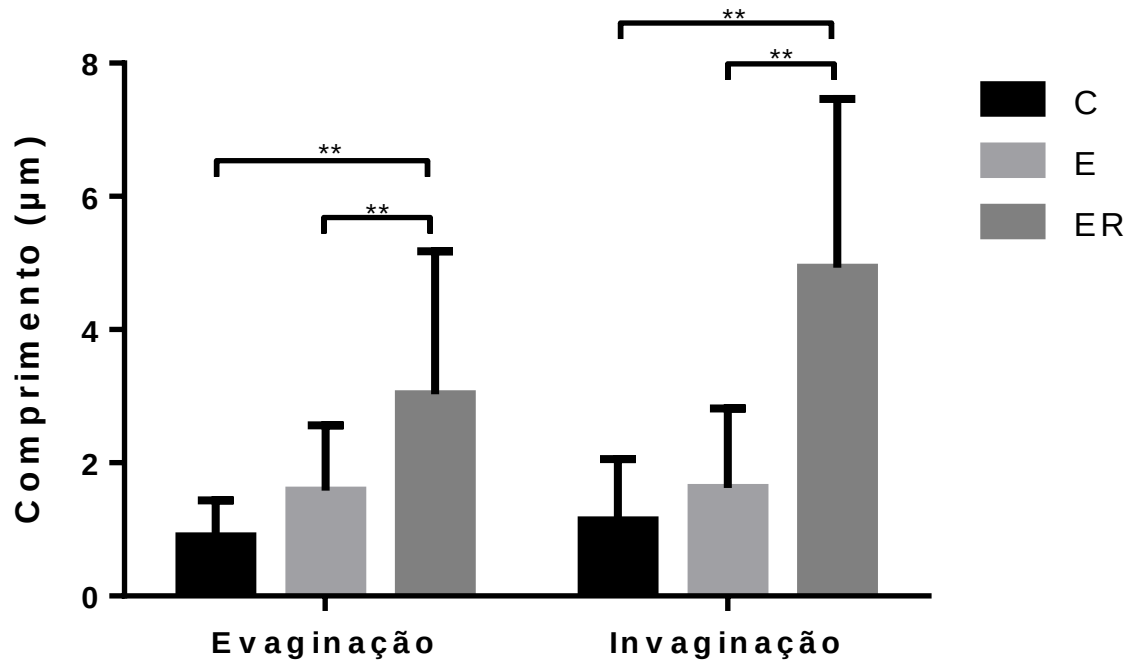


Figura 10: Médias e desvios-padrões dos comprimentos das evaginações e invaginações. (**) $p < 0,0001$.

Em relação aos resultados obtidos para a espessura das invaginações, o Grupo Controle apresentou-se 26,2% menor do que o Grupo Escalada e 132,8% ($p < 0,0001$) menor do que o Grupo Escalada Resistida, enquanto o Grupo Escalada Resistida se manteve 84,5% ($p < 0,0001$) maior quando comparado ao Grupo Escalada. Para a espessura das evaginações o resultado se alterou, com o Grupo Controle com 76,4% ($p < 0,0001$) menor espessura em relação ao Grupo Escalada e 49,8% ($p < 0,0001$) menor sobre o Grupo Escalada Resistida. O Grupo Escalada, entretanto, se demonstrou 15% ($p < 0,05$) mais espesso do que o Grupo Escalada Resistida (Figura 11).

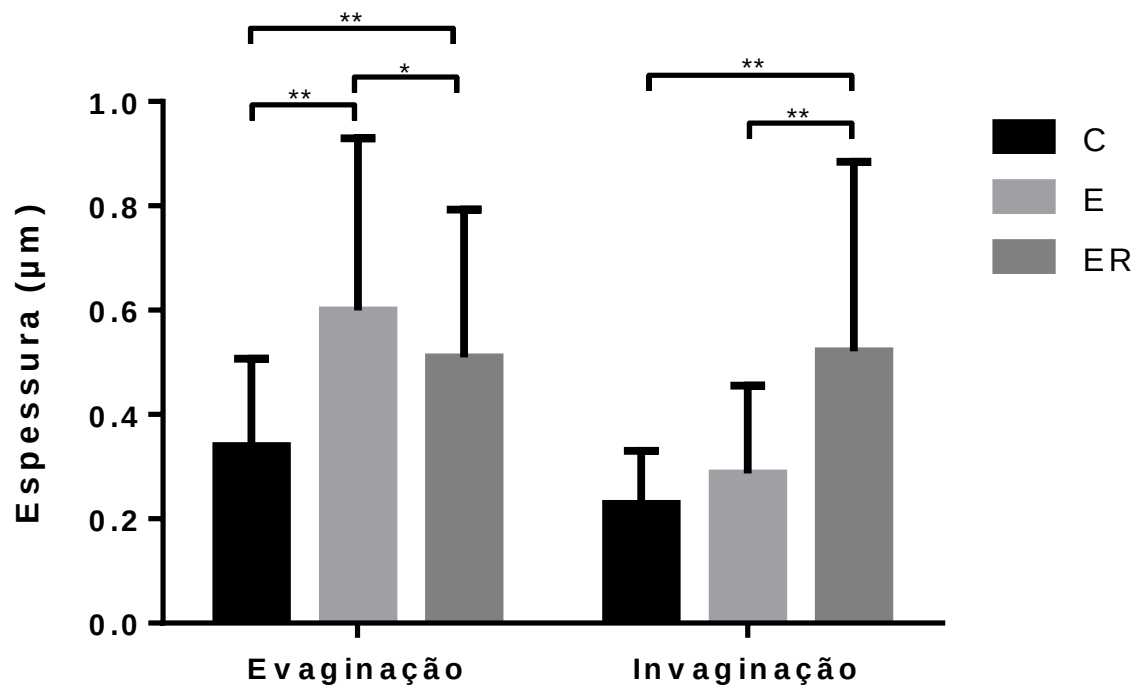


Figura 11: Médias e desvios-padrões das espessuras de evaginações e invaginações. (*) $p < 0,05$ e (**) $p < 0,0001$.

5. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo apresentaram alterações morfológicas, ultraestruturais e morfométricas da JMT do músculo gastrocnêmio de ratos submetidos ao protocolo de treinamento resistido, com isso, demonstramos a importância do exercício físico no papel da remodelação da estrutura da junção miotendínea.

No estudo conduzido por Kostrominova et al. (2009), foram analisadas amostras da junção miotendínea do músculo gastrocnêmio de ratos em período fetal. Os resultados mostraram que nesse estágio de desenvolvimento, a junção não apresenta uma arquitetura estrutural complexa em comparação a ratos em idade adulta. Em oposição a estes, Cien et al. (2012a), traz as diferenças estruturais da junção miotendínea de ratos jovens, adultos e idosos, onde elas apresentavam características específicas de acordo com a idade, colaborando positivamente com os resultados obtidos pelos estudos de Kostrominova et al., (2009). Os resultados aqui encontrados corroboram com ambos os estudos, pois demonstram as alterações sofridas na junção miotendínea de ratos adultos, tanto referente à plasticidade estrutural em protocolos de exercício físico resistido, quanto na relação do aumento de força do sistema em geral, em vista de que o Grupo Escalada Resistida apresenta maiores alterações quanto ao comprimento e a espessura das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas.

O músculo gastrocnêmio possui como sua característica principal a predominância das fibras musculares do tipo II (ação glicolítica), e com o treinamento resistido, tende a ocorrer um aumento tanto da área de secção transversa quanto da densidade por volume das fibras em questão por conta da especificidade da tarefa. No estudo de Krause Neto et al. (2017a) com ratos submetidos ao mesmo protocolo de escalada resistida, foi comprovado o aumento em ambos os fatores para as fibras musculares do tipo II, mesmo com a análise tendo sido feita no músculo sóleo, que possui predominância de fibras musculares do tipo I (ação oxidativa). Neste caso, tanto a área de secção transversa quanto a densidade volumétrica das fibras tipo II aumentaram com o treinamento resistido, corroborando com os resultados aqui encontrados.

Consequentemente, o aumento da área de secção transversa das fibras musculares do tipo II em casos de treinamento resistido gera a hipertrofia muscular, ou seja, o aumento da massa muscular do indivíduo, possibilitando com isso uma célula com maior dimensão é capaz de proporcionar maior força de contração para a realização da tarefa. Este modelo experimental de hipertrofia muscular proporciona maior força do praticante, tendo em vista a média do Grupo Escalada Resistida que realizou o último teste de CMC com quase o dobro da quantidade de carga do início do teste, validando os resultados obtidos por Krause Neto et al. (2017c).

Os sarcômeros são comumente associados como a unidade funcional de força dos músculos. Com a realização de modalidades de exercício físico é possível alterar certas características dos mesmos, como sua organização em paralelo aos demais e suas dimensões (MOO et al., 2016), e na pesquisa em questão, demonstramos sua plasticidade no aumento do comprimento dos sarcômeros proximais e distais no Grupo Escalada, entretanto, diminuição acentuada quando comparado ao Escalada Resistida, o que possibilita uma teoria de adição de novos sarcômeros entre a membrana basal e os sarcômeros já existentes.

Os resultados dos comprimentos e espessura de invaginações e evaginações e comprimentos de sarcômeros proximais e distais foram confirmados também no estudo de Sierra et al. (2018), onde por meio do treinamento aquático de ratas idosas e em modelo de menopausa, apresentaram o aumento dos comprimentos dos sarcômeros proximais e distais no treinamento, assim como o comprimento de invaginações e evaginações e espessura de evaginação. Apenas o resultado referente à espessura da invaginação se apresentou fora do padrão encontrado.

Nos resultados recentes do Grupo de Pesquisa revelados por Fávaro et al. (2018) o treinamento aquático em modelo experimental de menopausa promoveu extensas alterações com o aumento das projeções citoplasmáticas, promovendo maior área de contato da JMT. Tais achados assemelham-se aos encontrados no presente estudo, mostrando resultados significativos nos grupos que foram submetidos aos protocolos de treinamentos, com aumentos de comprimentos e espessuras de invaginações e evaginações, assim como aumento do comprimento dos sarcômeros proximais e distais.

6. CONCLUSÃO

Com o exercício resistido em escalada vertical foi possível verificar o aumento da interação miotendínea, com aumento significativo de invaginações tendíneas e evaginações musculares, promovendo maior área de contato na interface de ligação, e com isso, possibilitando maior transmissão de força, bem como promover menor predisposição a lesões desportivas futuras.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARKOVA, I.; PERRIARD, J. C. The M-band: An elastic web that crosslinks thick filaments in the center of the sarcomere. **Trends in Cell Biology**, v. 15, n. 9, p. 477–485, 2005.

ALIODOUST, M.; BAYAT, M.; JALILI, M. R.; SHARIFIAN, Z.; DADPAY, M.; AKBARI, M.; BAYAT, M.; KHOSHVAGHTI, A.; BAYAT, H. Evaluating the effect of low-level laser therapy on healing of tentomized Achilles tendon in streptozotocin-induced diabetic rats by light microscopical and gene expression examinations. **Lasers in Medical Science**, v. 29, n. 4, p. 1495–1503, 2014.

BENTZINGER, C.F.; WANG, Y. X.; DUMONT, N. A.; RUDNICKI, M. A. Cellular dynamics in the muscle satellite cell niche. **European Molecular Biology Organization reports**, v. 14, n. 12, p. 1062-1072, 2013.

BIANCALANA, A.; VELOSO, L.; GOMES, L. Obesity affects collagen fibril diameter and mechanical properties of tendons in Zucker rats. **Connective Tissue Research**, v. 51, n. 3, p. 171–178, 2010.

BUCCI, M.; VINAGRE, E. C.; CAMPOS, G. E. R.; CURI, R.; PITHON-CURI, T. C. Efeitos do treinamento concomitante hipertrofia e endurance no músculo esquelético. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 13, n. 1, p. 17–28, 2005.

CHARVET, B.; RUGGIERO, F.; LE GUELLEC, D. The development of the myotendinous junction. A review. **Muscles, Ligaments and Tendons Journal**, v. 2, n. 2, p. 53–63, 2012.

CIENA, A. P.; DE ALMEIDA, S. R. Y.; DE SOUSA BOLINA, C.; DE SOUSA BOLINAMATOS, R.; GRASSI RICCI, R. E.; DA SILVA, M. C. P.; MIGLINO, M. A.; WATANABE, I. sei. Ultrastructural features of the myotendinous junction of the sternomastoid muscle in Wistar rats: From newborn to aging. **Microscopy Research and Technique**, v. 75, n. 9, p. 1292–1296, 2012a.

CIENA, A. P.; DE ALMEIDA, S. R. Y.; DIAS, F. J.; DE SOUSA BOLINA, C.; ISSA, J. P. M.; IYOMASA, M. M.; OGAWA, K.; WATANABE, I. sei. Fine structure of myotendinous junction between the anterior belly of the digastric muscle and

intermediate tendon in adults rats. **Micron**, v. 43, n. 2–3, p. 258–262, 2012b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2011.08.009>>.

CIENA, A. P.; LUQUES, I. U.; DIAS, F. J.; DE ALMEIDA, S. R. Y.; IYOMASA, M. M.; WATANABE, I. sei. Ultrastructure of the myotendinous junction of the medial pterygoid muscle of adult and aged Wistar rats. **Micron**, v. 41, n. 8, p. 1011–1014, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2010.04.006>>.

CURZI, D. Ultrastructural study of myotendinous junction plasticity: from disuse to exercise. **Sport Sciences for Health**, v. 12, p.279-86, 2016.

CURZI, D.; SALUCCI, S.; MARINI, M.; ESPOSITO, F.; AGNELLO, L.; VEICSTEINAS, A.; BURATTINI, S.; FALCIERI, E. How physical exercise changes rat myotendinous junctions: An ultrastructural study. **European Journal of Histochemistry**, v. 56, n. 2, p. 117–122, 2012.

D'AGOSTINI, J. G. Imagem 3D de biomicroscopia ultrassônica do gastrocnêmio lateral de rato em processo de reparação após lesão por laceração. **2017**. 2017.

DIAS, R. M. R.; CYRINO, E. S.; SALVADOR, E. P.; NAKAMURA, F. Y.; PINA, F. L. C.; OLIVEIRA, A. R. de. Impacto de oito semanas de treinamento com pesos sobre a força muscular de homens e mulheres sobre a força muscular de homens e mulheres. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, n. 4, p. 224–228, 2005.

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.

ESQUISATTO, M. A. M.; JOAZEIRO, P. P.; PIMENTEL, E. R.; GOMES, L. The effect of age on the structure and composition of rat tendon fibrocartilage. **Cell Biology International**, v. 31, n. 6, p. 570–577, 2007.

FÁVARO, G.; SIERRA, L. R.; ROCHA, L. C.; DE ALMEIDA, S. R. Y., WATANABE, I. sei.; CIENA, A. P. Aquatic training in menopause experimental model promote changes in the sarcomeres of the myotendinous junctions. **European Journal of Histochemistry**, v. 63, n. 3. p. 131-135, 2018.

FRANCHI, M.; TRIRÈ, A.; QUARANTA, M.; ORSINI, E.; OTTANI, V. Collagen Structure of Tendon Relates to Function. **The Scientific World Journal**, v. 7, p.

404–420, 2007. Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2007/132725/abs/>>.

GILHUIS, H. J.; ZÖPHEL, O. T.; LAMMENS, M.; ZWARTS, M. J. Congenital monomelic muscular hypertrophy of the upper extremity. **Neuromuscular Disorders**, v. 19, n. 10, p. 714–717, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2009.07.010>>.

GILLIES, A. R.; LIEBER, R. L. Structure and function of the skeletal muscle extracellular matrix. **Muscle & Nerve**, v. 44, p. 318–331, 2011. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/mus.22094>>.

GOLOVIZNINA, N. A.; KYBA, M. Twist of fate for skeletal muscle mesenchymal cells. **Nature Cell Biology**, v. 19, n. 3, p. 153–154, 2017. Disponível em: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ncb3482>>.

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, n. 3, p. 533–540, 2010.

HENDERSON, C. A.; GOMEZ, C. G.; NOVAK, S. M.; MI-MI, L.; GREGORIO, C. C. Overview of the muscle cytoskeleton. **Comprehensive Physiology**, v. 7, n. 3, p. 891–944, 2017.

HORNBERGER, T. A. J.; FARRAR, R. P. Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat. **Canadian journal of applied physiology**, v. 29, n. 1, p. 16–31, fev. 2004.

JAKOBSEN, J. R.; JAKOBSEN, N. R.; MACKEY, A. L.; KOCH, M.; KJAER, M.; KROGSGAARD, M. R. Remodeling of muscle fibers approaching the human myotendinous junction. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 28, p. 1859-1865, 2018.

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

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. 11. ed. **Rio de Janeiro: Guanabara Koogan**, 2008.

KANNUS, P. Structure of the tendon connective tissue. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 10, n. 6, p. 312–320, 2000. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1034/j.1600-0838.2000.010006312.x>>.

KAWANO, M. M.; AMBAR, G.; OLIVEIRA, B. I. R.; BOER, M. C.; CARDOSO, A. P. R. G.; CARDOSO, J. R. Influence of the gastrocnemius muscle on the sit-and-reach test assessed by angular kinematic analysis. **Revista brasileira de fisioterapia (São Carlos (São Paulo, Brazil))**, v. 14, n. 1, p. 10–15, 2010.

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. Disponível em: <<http://physrev.physiology.org/cgi/doi/10.1152/physrev.00031.2003>>.

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.

KRAUSE NETO, W.; SILVA, W. de A.; CIENA, A. P.; ANARUMA, C. A.; GAMA, E. F. Divergent effects of resistance training and anabolic steroid on the postsynaptic region of different skeletal muscles of aged rats. **Experimental Gerontology**, v. 98, n. July, p. 80–90, 2017a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2017.08.018>>.

KRAUSE NETO, W.; SILVA, W. de A.; CIENA, A. P.; BOCALINI, D.; NUCCI, R. A. B.; ANARUMA, C. A.; GAMA, E. F. Total training load may explain similar strength gains and muscle hypertrophy seen in aged rats submitted to resistance training and anabolic steroids. **The Aging Male**, p. 1–12, 2017b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/13685538.2017.1365832>>.

KRAUSE NETO, W.; SILVA, W. de A.; CIENA, A. P.; NUCCI, R. A. B.; ANARUMA, C. A.; GAMA, E. F. Effects of strength training and anabolic steroid in the peripheral nerve and skeletal muscle morphology of aged rats. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 9, p. 1–12, 2017c.

LUQUES, I. U. Estrutura e ultraestrutura da junção miotendínea do músculo pterigóideo medial de ratos wistar com envelhecimento. **2009**. 2009.

MACHADO, M. O papel dos micro-traumas e das células satélites na plasticidade muscular. **Revista eletrônica da Escola de Educação Física e Desportos - UFRJ**, v. 3, n. 1, p. 14–25, 2002.

MAGNUSSON, S. P.; HANSEN, P.; KJAER, M. Tendon properties in relation to muscular activity and physical training. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 13, n. 4, p. 211–223, 2003.

MELONI, V. H. M. O papel da hiperplasia na hipertrofia do músculo esquelético. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 7, n. 1, p. 59–63, 2005.

MERRELL, A. J.; KARDON, G. Development of the diaphragm - A skeletal muscle essential for mammalian respiration. **FEBS Journal**, v. 280, n. 17, p. 4026–4035, 2013.

MINAMOTO, V. B. Classificação e adaptações das fibras musculares: uma revisão. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 12, n. 3, p. 50–55, 2005.

MOO, E. K.; FORTUNA, R.; SIBOLE, S. C.; ABUSARA, Z.; HERZOG, W. In vivo Sarcomere Lengths and Sarcomere Elongations Are Not Uniform across an Intact Muscle. **Frontiers in Physiology**, v. 7, n. 187, p. 1-9, 2016.

RASSIER, D. E. Sarcomere mechanics in striated muscles: from molecules to sarcomeres to cells. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 313, n. 2, p. C134–C145, 2017. Disponível em: <<http://ajpcell.physiology.org/lookup/doi/10.1152/ajpcell.00050.2017>>.

SCHEFFER, D. L.; SILVA, L. A.; TROMM, C. B.; DA ROSA, G. L.; SILVEIRA, P. C. L.; DE SOUZA, C. T.; LATINI, A.; PINHO, R. A. Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 37, n. 6, p. 1239–1246, 2012. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/h2012-115>>.

SCHOENFELD, B. J. The Mechanisms of Muscle Hypertrophy and Their Application To Resistance Training. **The Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 24, n. 10, p. 2857–2872, 2010.

SCHOENFELD, B. J.; POPE, Z. K.; BENIK, F. M.; HESTER, G. M.; SELLERS, J.; NOONER, J. L.; SCHNAITER, J. A.; BOND-WILLIAMS, K. E.; CARTER, A. S.;

ROSS, C. L.; JUST, B. L.; HENSELMANS, M.; KRIEGER, J. W. Longer Interset Rest Periods Enhance Muscle Strength And Hypertrophy In Resistance-Trained Men. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 30, n. 7, p. 1805–1812, 2016.

SIERRA, L. R., FÁVARO, G., CERRI, B. R., ROCHA, L. C., DE ALMEIDA, S. R. D. Y., WATANABE, I. sei., & CIENA, A. P. Myotendinous junction plasticity in aged ovariectomized rats submitted to aquatic training. **Microscopy Research and Technique**, v. 1, n. 7, p. 1-7, 2018.

TSAI, Y.-H.; BHANDARI, D. R.; GARRETT, T. J.; CARTER, C. S.; SPENGLER, B.; YOST, R. A. Skeletal muscle fiber analysis by atmospheric pressure scanning microprobe matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric imaging at high mass and high spatial resolution. **Proteomics**, v. 14, n. 19, p. 2179–2189, 2016.

Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26010583>%5Cn<http://doi.wiley.com/10.1002/pmic.201400013>%5Cn<http://doi.wiley.com/10.1002/pmic.201500536>>.

WAKAYAMA, J.; YOSHIKAWA, Y.; YASUIKE, T.; YAMADA, T. Atomic force microscopic evidence for Z-band as a rigid disc fixing the sarcomere structure of skeletal muscle. **Cell Struct Funct**, v. 25, n. 6, p. 361–365, 2000.

8. ANEXOS

8.1. Premiação



8.2. Participações em eventos



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



CERTIFICADO

Certificamos que **GUSTAVO CRIVELLI** participou do **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, com carga horária total de **40 horas**.


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 Hatti Cabral
Presidente da Sociedade Brasileira de Anatomia


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

APOIO

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico



UNIVERSIDADE
FEDERAL DA
PARAIBA



 **UNIPÊ**
Centro Universitário
de João Pessoa



PATROCÍNIO



Panasonic
BUSINESS

CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO

A Comissão Organizadora em parceria com o Departamento de Educação Física da Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista, certifica que

Gustavo Crivelli

apresentou o trabalho intitulado "ANÁLISES MORFOQUANTITATIVAS DOS SARCOMEROS DA JUNCÃO MIOTENDÍNEA DE RATOS WISTAR APÓS PROTOCOLO DE ESCALADA VERTICAL" na categoria pôster com os seguintes co-autores NETO, J. P.; SANT'ANA, J. S.; ROCHA, L. C.; CIENA,

Bauru, 29 de novembro de 2018



Profa. Dra. Lilian Aparecida Ferreira
Chefe do Dep. de Educação Física

Prof. Dr. Emmanuel Gomes Ciolac
Coordenador do Curso de Educação Física

Jennifer Zanetti Brandani
Comissão Organizadora



8.3. Aprovação do CEUA

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Rio Claro

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

DECISÃO CEUA Nº 18/2018

Instituição: UNESP – IB – CRC	Departamento: Educação Física
Data de Registro CEUA: 03.05.18	
CERTIFICADO	
Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "Adaptações na interface miotendínea de ratos Wistar após treinamento resistido – Análises: Morfológica, bioquímica e funcional" protocolo nº 3331, sob responsabilidade de Adriano Polican Ciena (Pesquisador Responsável) e Gustavo Crivelli (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 36ª reunião ordinária , realizada em 06.06.2018	
(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: 06/08/2018 a 06/08/2019	
Finalidade: () Ensino (x) Pesquisa Científica	
Espécie/linhagem/raça: ratos <i>Wistar</i> (<i>rattus norvegicus</i>)	
Número de animais: 30; Peso: 225g; Idade: 90 dias; Sexo: macho	
Origem dos animais (Informações sobre o fornecedor): Biotério Central da UNESP- Câmpus de Botucatu-SP	

Objetivo Acadêmico:	(x) TCC
	() Mestrado
	() Doutorado
	() Outros – (Iniciação Científica)
	() Pós- Graduação

Rio Claro, 06/06/2018

Marco Aurélio Pizo Ferreira
Prof. Dr. Marco Aurélio Pizo Ferreira
Coordenador

Orientador

Prof. Dr. Adriano Polican Ciena

Coorientadora

Lara Caetano Rocha

Graduando

Gustavo Crivelli