
EDUCAÇÃO FÍSICA

Bruno Naidhig Quirino

**LESÃO INDUZIDA POR EXERCÍCIO EXCÊNTRICO E SUAS
ADAPTAÇÕES NA ULTRAESTRUTURA DA JUNÇÃO MIOTENDÍNEA:
ANÁLISES DAS FIBRAS TIPO I E II**

Rio Claro - SP
2025

Bruno Naidhig Quirino

**LESÃO INDUZIDA POR EXERCÍCIO EXCÊNTRICO E SUAS
ADAPTAÇÕES NA ULTRAESTRUTURA DA JUNÇÃO MIOTENDÍNEA:
ANÁLISES DAS FIBRAS TIPO I E II**

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

Orientador(a): Prof. Dr. Adriano Polican Ciena

Coorientador(a): Prof. Dr. Jurandyr Pimentel Neto

Rio Claro - SP
2025

Q8I

Quirino, Bruno Naidhig

Lesão induzida por exercício excêntrico e suas adaptações na ultraestrutura da junção miotendínea: análises das fibras tipo I e II / Bruno Naidhig Quirino. -- Rio Claro, 2025

35 f. : tabs., fotos

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

Orientador: Adriano Polican Ciena

Coorientador: Jurandyr Pimentel Neto

1. Junção miotendínea. 2. Fibras musculares esqueléticas. 3. Microscopia eletrônica de transmissão. I. Título.

Bruno Naidhig Quirino

**LESÃO INDUZIDA POR EXERCÍCIO EXCÊNTRICO E SUAS
ADAPTAÇÕES NA ULTRAESTRUTURA DA JUNÇÃO MIOTENDÍNEA:
ANÁLISES DAS FIBRAS TIPO I E II**

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

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Jurandyr Pimentel Neto

Profa. Dra. Paula Oliveira Camargo

Profa. Dra. Lara Caetano Rocha-Braga

Aprovado em: 04 de Novembro de 2025

Assinatura do discente

Assinatura do orientador

Assinatura do coorientador

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, não posso deixar de agradecer minha mãe, meu pai e meu irmão, eles foram mais do que simplesmente responsáveis por me permitir e auxiliar durante esse processo, antes de sequer começar o curso, eles já haviam se planejado para meia década no futuro, para assim garantir todas essas experiências que tive até o momento, nada seria possível sem eles.

A minha companheira, Bárbara, que não apenas fez os meus dias nesta cidade desconhecida e longe de casa menos solitários, mas tornou-se uma parceira de estudos e de vida. Aproveito para agradecer minha família postiça, minha sogra e cunhado, que fizeram sentir-me como em casa ao longo dos últimos anos.

Aos amigos que fiz no primeiro ano deste curso e que levo-os comigo até os últimos dias, não foram muitos amigos, mas a qualidade sobressai.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Adriano Polican Ciena, pela contribuição ao longo dessa jornada, a qual me acompanhou desde o início, com suas histórias, orientações, sua dedicação e contribuição para o desenvolvimento não apenas deste trabalho, mas da minha formação. Aproveito expressar meus sinceros agradecimentos ao meu coorientador, Prof. Dr. Jurandyr Pimentel Neto, que por muito tempo seguirá sendo um exemplo para mim, se um dia eu puder estar na posição dele, quero ser para os futuros alunos o que o Jura foi para mim.

Aos colegas do Laboratório de Morfologia e Atividade Física (LAMAF), pelos momentos de confraternização, orientação, conversas, conselhos...

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica da ESALQ/USP por disponibilizar o uso do microscópio eletrônico de transmissão e permitir a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Pró-Reitoria de Pesquisa (PROPe), pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Unesp, processo nº 15912.

RESUMO

A junção miotendínea (JMT) é uma região altamente especializada que conecta o músculo esquelético ao tendão e desempenha um papel essencial na transmissão de força durante a contração muscular. O músculo esquelético é composto por diferentes tipos de fibras musculares, sendo as fibras do tipo I caracterizadas por metabolismo oxidativo e resistência à fadiga, enquanto as fibras do tipo II apresentam metabolismo glicolítico e rápida contração. O objetivo do presente estudo foi identificar as adaptações ultraestruturais na junção miotendínea após lesão induzida por exercício e revelar suas características nos diferentes tipos de fibras musculares. Foram utilizados 10 ratos *Wistar* (60 dias) divididos em grupo controle (n=5) e grupo downhill (n=5), submetido a um protocolo de corrida excêntrica (18 séries em esteira com inclinação de -16° a 16 m/min) para indução de lesão muscular. Amostras da JMT do músculo tríceps braquial foram processadas para microscopia eletrônica de transmissão (MET). As imagens foram analisadas quantitativamente (*ImageJ*) para mensuração de parâmetros ultraestruturais da JMT (240 medições/variável/grupo). As imagens capturadas foram analisadas quanto à espessura da linha Z e sua correlação com os tipos de fibras musculares previamente descritos na literatura; os componentes ultraestruturais da JMT e sua correlação com os diferentes tipos de fibra pré e pós lesão. A JMT apresentou alterações morfológicas após exercício excêntrico, com redução da espessura das evaginações em ambos os tipos de fibra. Fibras intermediárias mostraram aumento na densidade de invaginações e evaginações, sugerindo uma adaptação precoce ao estímulo. Fibras IIb apresentaram menos alterações estruturais. Conclui-se que, apesar da maior robustez estrutural das fibras IIb, as fibras intermediárias demonstraram maior plasticidade e capacidade de remodelação imediata na JMT após o exercício excêntrico, revelando respostas diferenciais com implicações para a vulnerabilidade tecidual.

Palavras-chave: Junção Miotendínea; Fibras Musculares Esqueléticas; Microscopia Eletrônica de Transmissão.

ABSTRACT

The myotendinous junction (MTJ) is a highly specialized region that connects skeletal muscle to tendon and plays an essential role in force transmission during muscle contraction. Skeletal muscle is composed of different types of muscle fibers, with type I fibers characterized by oxidative metabolism and fatigue resistance, while type II fibers exhibit glycolytic metabolism and rapid contraction. The objective of the present study was to identify ultrastructural adaptations in the myotendinous junction after exercise-induced injury and to reveal its characteristics in the different types of muscle fibers. Ten Wistar rats (60 days old) were used and divided into a control group (n=5) and a downhill group (n=5), which was submitted to an eccentric running protocol (18 series on a treadmill with a -16° incline at 16 m/min) to induce muscle injury. Samples of the MTJ from the triceps brachii muscle were processed for transmission electron microscopy (TEM). Images were quantitatively analyzed (ImageJ) to measure ultrastructural MTJ parameters (240 measurements/variable/group). The captured images were analyzed for Z-line thickness and its correlation with muscle fiber types previously described in the literature; the ultrastructural components of the MTJ and their correlation with the different fiber types pre- and post-injury. The MTJ exhibited morphological alterations after eccentric exercise, with a reduction in the thickness of evaginations in both fiber types. Intermediate fibers showed an increase in the density of invaginations and evaginations, suggesting an early adaptation to the stimulus. IIb fibers exhibited fewer structural alterations. We concluded that, despite the greater structural robustness of type IIb fibers, intermediate fibers demonstrated higher plasticity and immediate remodeling capacity at the MTJ following acute eccentric exercise, revealing differential responses with implications for tissue vulnerability.

Keywords: Myotendinous Junction; Skeletal Muscle Fibers; Transmission Electron Microscopy.

Title in english: Eccentric Exercise-Induced Injury and Its Adaptations in the Ultrastructure of the Myotendinous Junction: Analyses of Type I and II Muscle Fibers

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
1.1 Organização Ultraestrutural da Junção Miotendínea	7
1.2 Lesões na Junção Miotendínea	9
1.3 Tipo de fibra.....	10
2 OBJETIVO GERAL.....	14
2.1 Objetivos Específicos	14
3 MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Animais.....	15
3.2 Protocolo Downhill.....	16
3.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão	16
3.4 Mensuração dos componentes da JMT.....	17
3.5 Determinação dos tipos de Fibra.....	18
3.6 Análise Estatística	19
4 RESULTADOS.....	20
5 DISCUSSÃO	24
6 CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

1.1 Organização Ultraestrutural da Junção Miotendínea

A junção miotendínea (JMT) é a interface altamente especializada entre as fibras musculares esqueléticas e o tendão, sendo responsável pela transmissão de força do músculo para o tecido conjuntivo (Cien *et al.*, 2010). Sua organização ultraestrutural e composição molecular são adaptadas para suportar cargas mecânicas significativas, garantindo a eficiência na transmissão de força e a prevenção de lesões. Estudos recentes têm demonstrado que a JMT é capaz de se adaptar a diferentes estímulos mecânicos, como o exercício físico, que pode induzir alterações morfológicas e moleculares que contribuem com a plasticidade de sua interface e consequentemente com a resistência quanto a predisposição a lesões (Curzi *et al.*, 2012; Pimentel Neto *et al.*, 2022).

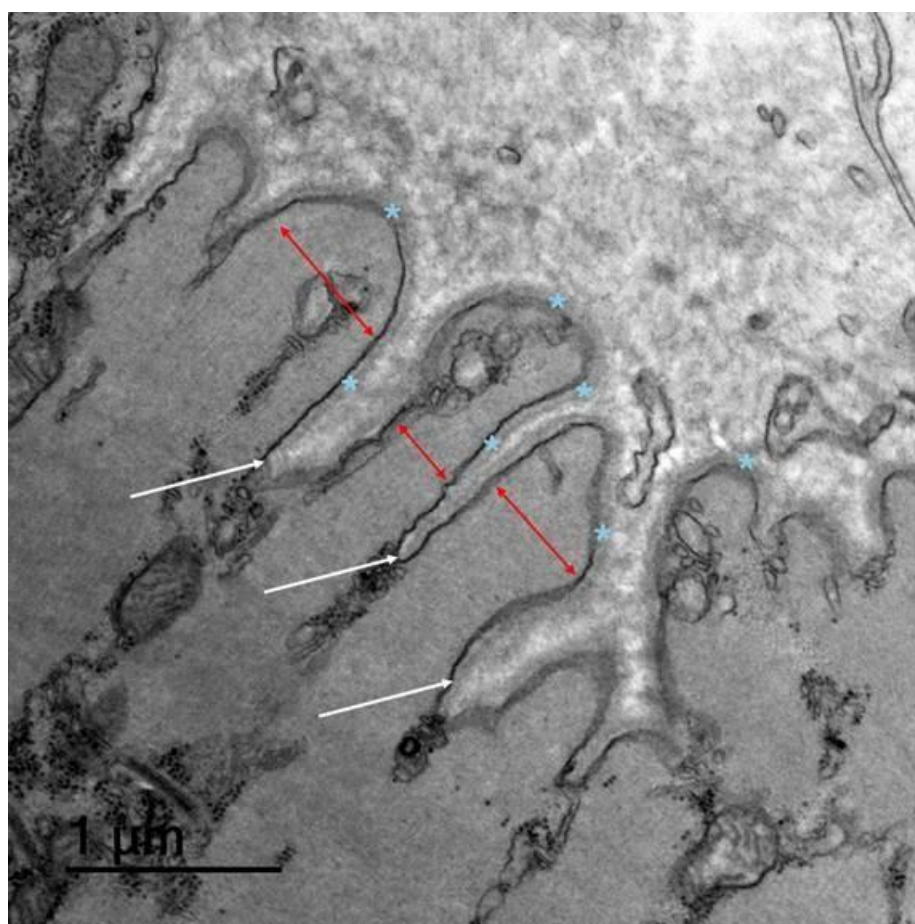
Na região distal da fibra muscular se encontram os sarcômeros proximais (penúltimo sarcômero da fibra muscular) e distais (últimos sarcômeros da fibra muscular, onde ocorrem as junções miotendíneas) (Rocha *et al.*, 2020). No sarcômero distal, a JMT é caracterizada por uma complexa interdigitação entre as fibras musculares e o tecido tendíneo, formando projeções digitiformes que aumentam significativamente a área de contato entre os dois tecidos. Essas projeções são formadas a partir da matriz extracelular, formando invaginações que invadem o tecido muscular (Knudsen *et al.*, 2015; Jakobsen *et al.*, 2023; Cien *et al.*, 2012). Essa combinação de invaginações e evaginações contribuem para a expansão da interface entre os tecidos, aumentando-a por aproximadamente 10–20 vezes em comparação com uma superfície retilínea. Este aumento na área de interface reduz efetivamente o estresse, uma vez que o estresse é determinado pela força dividida pela área (VanDusen; Larkin, 2015).

A nível molecular, a JMT é composta por uma série de proteínas especializadas que conectam o citoesqueleto das fibras musculares à matriz extracelular do tendão. Os filamentos de actina, que se estendem a partir dos discos Z das fibras musculares, ancoram-se à membrana plasmática através de proteínas subsarcolemais, como a distrofina e a vinculina (Tong *et al.*, 2024).

Essas proteínas, por sua vez, interagem com integrinas, que se ligam a componentes da matriz extracelular, como o colágeno tipo XXII, um marcador específico da JMT (Rocha-Braga *et al.*, 2025; Jakobsen *et al.*, 2017; Knudsen *et al.*, 2015). Essa complexa rede de interações garante a transmissão eficiente de forças geradas pela contração muscular para o tendão.

Estudos com microscopia eletrônica demonstram que a região terminal das fibras musculares apresenta um aumento significativo na densidade mitocondrial, sugerindo uma alta demanda energética para a manutenção da integridade celular e dos processos de reparo mecânico (Eisenberg; Milton, 1984; Ciená *et al.*, 2012).

Figura 1. Organização Ultraestrutural da JMT.



Fonte: Elaborado pelo autor. Na JMT as projeções de colágeno, denominadas invaginações sarcoplasmáticas (setas brancas), adentram o tecido muscular. Para isso, os últimos sarcômeros se doblam formando evaginações sarcoplasmáticas (setas duplas vermelhas). Além disso, na porção do tecido conjuntivo, é possível visualizar uma área esbranquiçada que serve como uma camada de suporte de colágeno, origem das invaginações. Nessa camada de suporte, é possível visualizar uma sombra mais escura que contorna toda região de contato com o tecido muscular, a lâmina basal (asteriscos), é nessa região que se localizam as proteínas de ancoragem. Barra: 1 µm.

1.2 Lesões na Junção Miotendínea

As lesões musculares decorrentes do exercício estão fortemente associadas a contrações excêntricas, caracterizadas pelo alongamento do músculo sob tensão, condição que excede a capacidade adaptativa do tecido (Choi, 2016). A análise por microscopia eletrônica de transmissão (MET) possibilita identificar com precisão os padrões de dano, envolvendo desde a ruptura de sarcômeros até alterações em membranas e organelas (Dong; Lv; Li, 2014).

No tecido muscular em geral, o dano estrutural mais intenso ocorre por volta de 48 horas pós-exercício excêntrico, com evidências de desorganização e desaparecimento de sarcômeros, rupturas da linha Z e degradação de miofilamentos (Hirabayashi *et al.*, 2011; Dong; Lv; Li, 2014). No interior da célula, mitocôndrias apresentam perda de integridade da membrana entre 24 e 48 horas, enquanto o retículo sarcoplasmático mostra redução na captação de Ca^{2+} e aumento da sulfonilação da SERCA, comprometendo a função contrátil (Handegard *et al.*, 2025). Associadas a esses eventos, ocorrem respostas inflamatórias e ultraestruturais visíveis por MET.

Apesar de sua complexidade estrutural e adaptabilidade funcional, a junção miotendínea (JMT) é altamente vulnerável a lesões durante atividades que envolvem alongamento rápido ou contrações excêntricas, quando a força transmitida pelo tendão excede a resistência da interface músculo-tendão (Narayanan; Calve, 2021; Tidball, 1991; Tidball; Salem; Zernicke, 1993). Nessas condições, ocorrem rupturas localizadas na lâmina basal e destacamento de miofibrilas na porção distal das fibras musculares, evidenciando a JMT como ponto estrutural crítico (Tidball, 1991; Tidball; Salem; Zernicke, 1993). A microscopia eletrônica de transmissão (MET) permite a visualização detalhada dessas alterações, incluindo desorganização sarcomérica, ruptura de membranas e mudanças na matriz extracelular, fornecendo informações sobre o dano que não são acessíveis por exames clínicos ou de imagem convencional (Narayanan; Calve, 2021; Tidball, 1991). Músculos frequentemente submetidos a estiramentos bruscos, como isquiotibiais, reto femoral, adutores do quadril e tríceps sural, apresentam maior predisposição a essas lesões (Mueller-Wohlfahrt *et al.*, 2013).

As lesões na JMT podem ser classificadas de acordo com a gravidade e extensão do destacamento muscular, variando desde edema local sem ruptura de fibras (grau 0) até destacamento com retração tendínea significativa (grau 3) (Mueller-Wohlfahrt *et al.*, 2013; Hall *et al.*, 2020; Fernandes; Pedrinelli; Hernandez, 2011). Lesões leves (graus 1 e 2) geralmente respondem bem a protocolos conservadores, enquanto rupturas de grau 3 frequentemente necessitam de reparo cirúrgico, embora o tecido cicatricial formado possa comprometer a biomecânica da interface e aumentar o risco de recidiva (Cooper *et al.*, 2021; Lionello *et al.*, 2015). A MET continua sendo a principal ferramenta para compreender os mecanismos ultraestruturais de lesão e reparo na JMT, permitindo correlacionar alterações morfológicas finas com a evolução funcional do músculo e orientar estratégias de tratamento (Tidball, 1991; Tidball; Salem; Zernicke, 1993).

A observação por MET é central para compreender tais fenômenos, permitindo visualizar diretamente rupturas sarcoméricas, danos à sarcolema, alterações organelares e modificações na JMT (Handegard *et al.*, 2025; Dong; Lv; Li, 2014; Hirabayashi *et al.*, 2011). Esses achados confirmam que o dano induzido por exercício excêntrico é mais severo do que em lesões traumáticas agudas, acometendo sobretudo fibras de contração rápida e regiões da JMT (Choi, 2016; Maffulli; Del Buono; Silvestri, 2015).

1.3 Tipo de fibra

O músculo estriado esquelético é um tipo de tecido heterogêneo formado por células denominadas fibras musculares (Bloemberg, Quadrilatero 2012). Essa heterogeneidade se deve ao fato de que as fibras musculares apresentam composição bioquímica distinta, que pode ser refletida em sua coloração. As fibras conhecidas como vermelhas ou *slow-twitch* (principalmente do tipo I) possuem alta concentração de mioglobina, maior densidade capilar e abundância de mitocôndrias, o que lhes confere um perfil oxidativo (processo metabólico mais demorado) predominante e a coloração avermelhada característica. Por outro lado, as fibras brancas (tipicamente do tipo IIx e IIb) apresentam menor teor de mioglobina e reduzida densidade mitocondrial, sendo mais dependentes do

metabolismo glicolítico, o que resulta em aspecto mais pálido do tecido (Jansson; Sylvén, 1983; Listrat *et al.*, 2016).

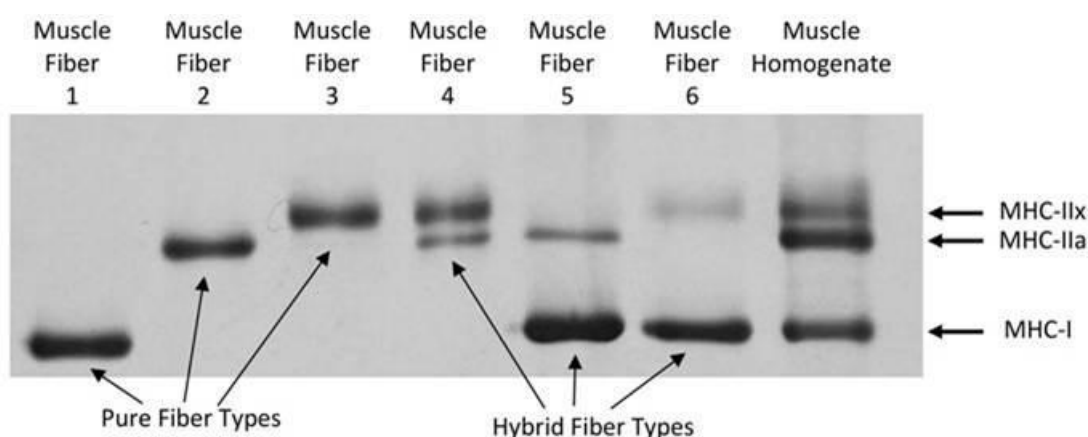
A caracterização inicial das fibras musculares esqueléticas fundamentou-se em análises histoquímicas, especialmente pela atividade da ATPase e pela coloração da succinato desidrogenase (SDH), que permitiram distinguir fibras do tipo I, do tipo IIA (rápidas oxidativo-glicolíticas, com forte SDH) e do tipo IIB (rápidas glicolíticas, com fraca SDH e alto α -GPD), relacionando-as respectivamente a unidades motoras *slow-twitch*, *fast-resistant* e *fast-fatigable* (Burke; Levine; Zajac 1971). Contudo, com o avanço das técnicas imunohistoquímicas e a aplicação de anticorpos específicos para isoformas de cadeia pesada de miosina (MyHC), identificou-se em roedores um novo subtipo de fibra rápida, denominado tipo IIX, com propriedades contráteis semelhantes às fibras rápidas clássicas, mas resistência à fadiga e metabolismo oxidativo intermediários (Schiaffino; Reggiani 2011).

De modo geral, a caracterização dos tipos de fibras ocorre de acordo com seu fenótipo (com técnicas de histoquímica: ATPase, SDH, α -GPD) ou seu genótipo (técnicas de imunomarcacão). Contudo, as diferentes técnicas podem ocasionar em conflitos, principalmente devido às fibras “híbridas”: nem todas as fibras são puramente tipo I ou algum subtipo II, muitas fibras coexpressam mais de uma isoforma de MyHC, podendo encontrar as híbridas I/IIA, IIAX, IIXB (Bloemberg; Quadrilatero 2012; Pette; Staron 2000). Estudos como o de Linnane; Serrano; Rivero (1999) reportaram, em cavalos, grande conflito de classificação entre as técnicas quando observaram fibras híbridas rápidas (IIAX), sendo classificadas por histoquímica como IIX, com os conflitos aumentando conforme a profundidade da região. Algo semelhante ocorreu no estudo de Serrano *et al.*, (2019) com atletas de levantamento de peso. Com análise por SDS-PAGE a partir de duas técnicas, *single fiber* (SF) e *Homogenate* (HG), a técnica de HG, quando comparada à SF, superestimou a quantidade fibras tipo I e IIX, devido à presença das híbridas I/IIA e IIA/IIX respectivamente.

A técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) é amplamente utilizada para identificar os diferentes tipos de fibras musculares esqueléticas por meio da separação de isoformas da MyHC.

Esse método pode ser conduzido a partir da análise de fibras individuais (*single fibre* SDS-PAGE), permitindo determinar com precisão o perfil de cada fibra, inclusive aquelas híbridas que coexpressam duas isoformas distintas. Alternativamente, a técnica pode ser aplicada em amostras homogeneizadas de tecido muscular (homogenate SDS-PAGE), possibilitando quantificar a proporção relativa de cada isoforma no músculo como um todo (Serrano *et al.*, 2025).

Figura 2. Single fibre SDS-PAGE.



Fonte: Serrano *et al.*, 2025. Exemplo de um gel corado mostrando as diferentes isoformas da cadeia pesada da miosina humana (MHC) em fibras musculares individuais.

No tríceps braquial de ratos *Wistar* observa-se uma clara regionalização na distribuição dos tipos de fibra, com implicações diretas para sua função. As fibras do tipo I estão restritas à região profunda do músculo e representam apenas $\approx 3,7\%$ do total, sendo uma fração modesta mesmo dentro dessa região ($\approx 18,4\%$), que é amplamente dominada por fibras do tipo IIa ($\approx 81,6\%$). Nas regiões intermediária e superficial, verifica-se aumento progressivo da participação das fibras do tipo IIb, de modo que a porção mais externa é quase exclusivamente composta por esse subtipo ($\approx 75\%$), evidenciando um perfil fortemente glicolítico e de maior calibre (FUENTES; COBOS; SEGADE, 1998). Complementarmente, Matsumoto *et al.*, (2007) demonstraram que, apesar da predominância numérica das fibras IIb nas regiões superficiais, existe heterogeneidade metabólica dentro de um mesmo subtipo: fibras IIb localizadas na região profunda apresentam maior atividade de enzimas oxidativas do que as superficiais, sugerindo adaptações locais que modulam a capacidade oxidativa independentemente da classificação histoquímica. Em conjunto, os achados indicam que o tríceps braquial contém

poucas fibras do tipo I e que, mesmo entre fibras rápidas, há variações metabólicas regionais relevantes para compreender a organização funcional do músculo.

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) permitiu a caracterização morfológica dos tipos de fibra a partir da correlação entre padrões ultraestruturais e perfis metabólicos definidos previamente por histoquímica. Estudos pioneiros evidenciaram que fibras lentas (tipo I) possuem linhas Z espessas, maior volume e densidade mitocondrial, abundância de lipídios e retículo sarcoplasmático/tríades pouco desenvolvidos, enquanto fibras rápidas (II) apresentam linhas Z estreitas, retículo mais organizado, acúmulo de glicogênio e menor conteúdo mitocondrial (Schiaffino; Hanzlitzkova; Pierobon, 1970; Wroblewski; Jansson, 1975). Análises morfométricas observaram que as diferenças podiam ser quantificadas estereologicamente, revelando relações significativas entre largura da linha Z, densidade mitocondrial e atividade enzimática oxidativa/glicolítica (Sjöström *et al.*, 1982). Posteriormente, verificou-se que fibras do mesmo tipo, mas de músculos distintos, exibem variações ultraestruturais específicas à função contrátil, reforçando a plasticidade muscular e a utilidade da MET como método complementar para tipagem e análise da heterogeneidade intrínseca das fibras (Takekura; Yoshioka, 1990).

Os achados do presente estudo poderão contribuir para o entendimento da organização estrutural e morfológica da JMT, caracterizadas por tipo de fibras através da técnica de microscopia eletrônica de transmissão. Além de revelar dados relevantes e inéditos quanto às adaptações desta região com relação aos diferentes tipos de fibras musculares. Os resultados poderão ter implicações em áreas como treinamento esportivo, reabilitação e estudos sobre adaptações musculares.

2 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a ultraestrutura da JMT do tríceps braquial por meio da mensuração das variáveis de interesse, e além disso, identificar e classificar os diferentes tipos de fibra frente ao protocolo de *downhill*.

2.1 Objetivos Específicos

- Caracterizar qualitativamente a JMT frente às adaptações ocasionadas pelo exercício excêntrico;
- Identificar os tipos de fibras a partir de características morfológicas e ultraestruturais das miofibrilas observadas por imagens de MET;
- Analisar e mensurar as variáveis ultraestruturais da JMT: comprimento e espessura das invaginações e evaginações; espessura da lâmina basal; perímetro de contato da interface músculo-tendínea;
- Relacionar os achados morfológicos da JMT com os tipos de fibra por meio das comparações intra e intergrupos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

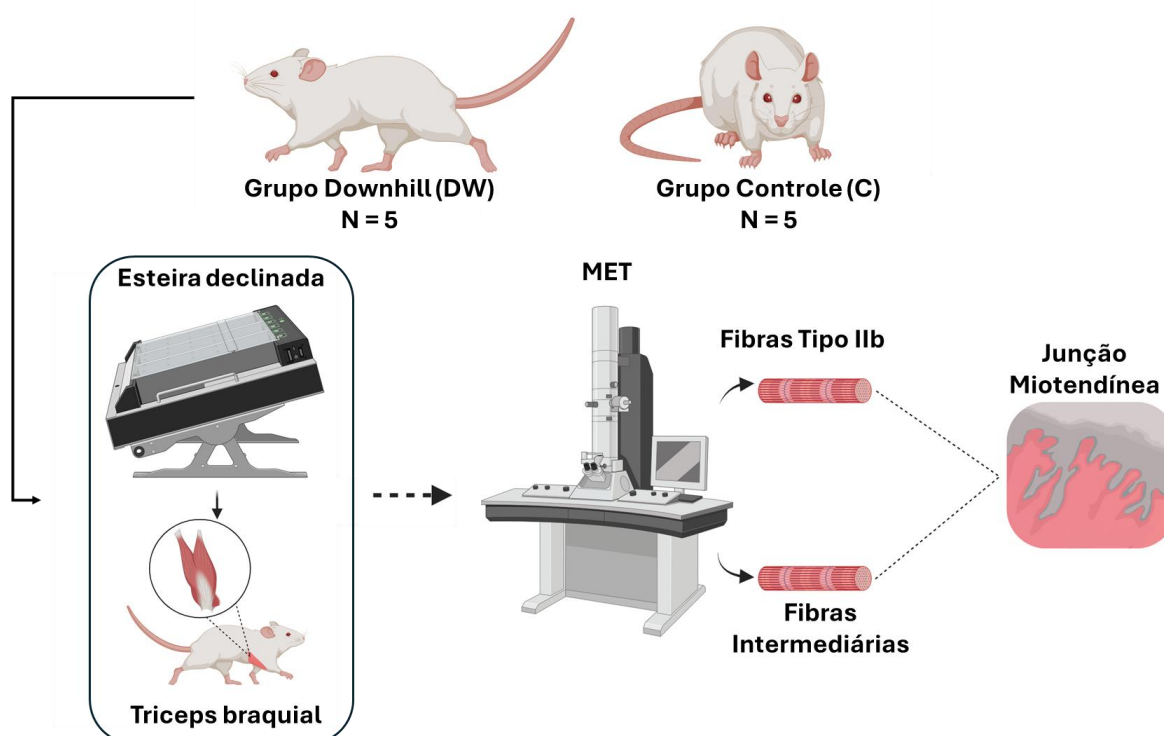
3.1 Animais

Foram utilizados 10 ratos *Wistar* com 60 dias de idade:

- **Controle:** (n=5) Animais não foram submetidos ao protocolo de lesão muscular;
- **Downhill (DW):** (n=5) Animais foram submetidos ao modelo de lesão por contração excêntrica.

Os animais foram alocados no Biotério da UNESP Campus Rio Claro - SP, e alojados em gaiolas coletivas, receberam ração balanceada padrão (Purina®) e água “ad libitum”, com temperatura ambiente controlada à $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo claro/escuro de 12h. O protocolo foi previamente enviado ao Comitê de Ética e Uso Animal da UNESP Campus Rio Claro - SP e aprovado (CEUA N° 20/2025).

Figura 3. Esquema do delineamento experimental.



Delineamento experimental. Os animais foram alocados em dois grupos experimentais: Controle (C; $n = 5$) e Downhill (DW; $n = 5$). O grupo DW foi submetido a uma única sessão de exercício excêntrico em esteira inclinada, e o músculo tríceps braquial foi coletado imediatamente após o protocolo. As amostras foram processadas para microscopia eletrônica de transmissão (MET), em seguida, as JMT fotografadas receberam a classificação em fibras do tipo IIb e intermediárias. Posteriormente, foram realizadas as

análises morfológicas da JMT. Criado com BioRender®.

3.2 Protocolo Downhill

O protocolo consiste em um único bloco de 18 séries de corrida, cada série com 5 minutos de duração. As corridas foram realizadas no modelo downhill (*i.e.* corrida em inclinação negativa $[-16^\circ]$, favorecendo contrações excêntricas) com velocidade de 16 m/min (Kanazawa *et al.*, 2021). Os animais passaram por uma sessão de familiarização ao protocolo. Após o treinamento os animais ($n=10$) foram levados ao processo de eutanásia para coleta imediata do tríceps braquial. O ambiente foi controlado nas mesmas condições ao grupo Controle, com acesso livre à ração e água.

3.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Os animais de cada grupo experimental foram anestesiados utilizando Ketamina (50 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) administrados por via intraperitoneal. Em seguida, foram perfundidos com uma solução fixadora composta por Karnovsky modificada contendo 2,5% de glutaraldeído e 2% de paraformaldeído em uma solução tampão fosfato de sódio 0,1M com pH 7,3. Foram coletadas amostras JMT do músculo tríceps braquial, com dimensões de 3 mm³, que foram fixadas na mesma solução por 3 horas a temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram lavadas e pós-fixadas com solução de tetróxido de ósmio a 1% e ferrocianeto de potássio a 1,5% em uma solução tampão cacodilato de sódio 0,1M (Nielsen *et al.*, 2025).

Posteriormente, as amostras foram incluídas em resina (Low Viscosity Embedding Media Spurr's Kit Electron Microscopy Sciences, USA) e foram obtidos cortes ultrafinos de 90 nm, que foram coletados em telas de cobre de 200 "mesh" (Ciená *et al.*, 2012; Bolina *et al.*, 2013). Os cortes foram contrastados com soluções de acetato de uranila a 4% e citrato de chumbo a 0,4%. As amostras foram analisadas utilizando um Microscópio Eletrônico de Transmissão JEOL 1010, disponibilizado pelo Laboratório de Microscopia Eletrônica da ESALQ/USP.

3.4 Mensuração dos componentes da JMT

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram analisadas quantitativamente utilizando o software ImageJ (NIH, EUA), conforme protocolos previamente utilizados (Jacob *et al.*, 2019; Pimentel Neto *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2020). Para cada grupo experimental (Controle e DW), foram realizadas 100 medições independentes por variável. As estruturas analisadas incluirão: (1) comprimento (μm) e espessura (μm) das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas (medidas da base à extremidade); (2) espessura (nm) da lâmina basal (mensurada em pontos aleatórios por imagem); e (3) perímetro de contato (μm) da JMT, para o perímetro, foi utilizado um recorte de $5 \mu\text{m}^2$ na região de interface e posteriormente realizada a mensuração deste perímetro. Para imagens que apresentarem interfaces superiores ao tamanho do recorte, foi realizado novo(s) recorte(s) (mesmas proporções) que cobrirá as regiões de interfaces não mensuradas e, posteriormente, realizado a média entre os recortes.

Tabela 1. Parâmetros morfológicos analisados na JMT

Componentes JMT	Unidade	Descrição de Medida	Número de Medições	Número de JMT's	Número de Imagens
Comprimento de invaginação	μm	Medido da base até a extremidade da invaginação	240 por grupo		
Espessura de invaginação	μm	Espessura transversal da invaginação	240 por grupo		
Comprimento de evaginação	μm	Medido da base até a extremidade da evaginação	240 por grupo		
Espessura de evaginação	μm	Espessura transversal da evaginação	240 por grupo	12 por grupo	1-2 imagens por JMT
Lâmina basal	nm	Medido em pontos ao longo da interface	240 por grupo		
Perímetro de Contato	μm	Medido em recortes de $5 \mu\text{m}^2$ na interface	12 por grupo		
Densidade	n	Quantidade de invaginações e evaginações em um recorte de $5 \mu\text{m}^2$ na JMT	12 por grupo		

Parâmetros morfológicos analisados na JMT de fibras do tríceps braquial por microscopia eletrônica de transmissão. As variáveis mensuradas incluíram comprimento e espessura de invaginações e evaginações, espessura da lâmina basal, perímetro de contato e densidade. O número de medições, JMTs analisadas e imagens obtidas por grupo também estão descritos.

3.5 Determinação dos tipos de Fibra

A caracterização dos tipos de fibra foi realizada a partir da análise morfológica em micrografias eletrônicas, utilizando o software ImageJ. O critério inicial de classificação baseou-se na espessura da linha Z, conforme descrito por Nielsen *et al.*, (2017), Sjöström *et al.*, (1982) e Wroblewski; Jansson (1975). Para cada imagem, foram efetuadas em média 10 mensurações em sarcômeros distintos de uma mesma miofibrila, bem como em miofibrilas adjacentes.

A princípio, foram visualizadas 22 fibras no grupo C e 28 fibras no grupo DW. A seleção das fibras foi realizada a partir da identificação da junção miotendínea (JMT). Para a determinação dos tipos de fibra, foi necessária a análise de características morfológicas específicas, realizada a uma distância entre 20–50 μm da JMT. As fibras cuja região da JMT não permitiu adequada visualização nessa condição, principalmente em decorrência de limitações no preparo das amostras na malha, foram excluídas da análise. Após esses critérios, permaneceram 18 fibras no grupo C e 23 fibras no grupo DW.

Os valores obtidos foram organizados em três tercís: fibras no tercil inferior (linhas Z mais finas) foram inicialmente atribuídas ao grupo tipo IIb, fibras no tercil intermediário classificadas como “intermediárias” e fibras no tercil superior (linhas Z mais espessas) como tipo I.

Após essa classificação preliminar, procedeu-se a uma etapa de validação multifatorial, considerando outros parâmetros morfológicos relevantes: (I) volume mitocondrial, avaliado pela densidade de organelas em grid; (II) quantidade de glicogênio, observada tanto pela abundância de grânulos quanto pelo padrão de distribuição; (III) presença de gotículas lipídicas, quantificadas como poucas (<6) ou numerosas (≥ 6) por imagem; e (IV) grau de desenvolvimento das tríades, definidas como desenvolvidas quando apresentavam retículo sarcoplasmático uniforme e túbulos T bem definidos, sem irregularidades de calibre (Wroblewski; Jansson, 1975).

A classificação definitiva das fibras resultou, portanto, da integração desses parâmetros. Fibras com linha Z espessa, maior volume mitocondrial, maior número de gotículas lipídicas, menor quantidade de glicogênio e tríades menos

desenvolvidas foram classificadas como tipo I. Por outro lado, fibras com linha Z fina, menor volume mitocondrial, menor número de gotículas lipídicas, maior acúmulo de glicogênio e tríades mais desenvolvidas foram classificadas como tipo II. As fibras intermediárias foram mantidas nessa categoria por apresentarem características mistas, situando-se entre os perfis das fibras tipo I e II.

No grupo Controle, foram analisadas 18 fibras, das quais 8 foram classificadas como do tipo IIb, 8 como intermediárias e 2 como do tipo I. No grupo DW, foram avaliadas 23 fibras, sendo 15 do tipo IIb, 6 intermediárias e 2 do tipo I.

3.6 Análise Estatística

Inicialmente, foi realizada uma análise descritiva para cada variável, em cada tipo de fibra e grupo experimental. Em seguida, a normalidade e homogeneidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk e Levene, aplicado separadamente para cada combinação de grupo e tipo de fibra, desde que o tamanho amostral fosse suficiente ($n \geq 5$).

As comparações intra-grupo (entre os tipos de fibra dentro de um mesmo grupo experimental) foram realizadas apenas entre as fibras Tipo IIb e Intermediárias, considerando o baixo número de fibras Tipo I observadas. De modo análogo, as comparações inter-grupos (entre os grupos Controle e DW) também foram restritas às fibras Tipo IIb e Intermediárias. Em ambas as situações, foi aplicado o teste t de Student para amostras independentes quando os pressupostos de normalidade e homogeneidade foram atendidos. Caso contrário, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann–Whitney.

4 RESULTADOS

A caracterização inicial dos tipos de fibra muscular foi realizada a partir da espessura da linha Z. No grupo Controle, as médias observadas foram de 62 ± 9 nm para as fibras IIb, 65 ± 7 nm para as fibras intermediárias e 67 ± 18 nm para as fibras tipo I. No grupo DW, os valores médios corresponderam a 65 ± 10 nm, 70 ± 9 nm e 88 ± 2 nm, respectivamente.

Embora tenhamos adotado um método baseado em tercis e observação individual dos pesquisadores (sem análise de concordância inter-avaliadores ou testes estatísticos), ele reflete compromissos práticos de acurácia dentro dos recursos disponíveis e ampara-se em referências clássicas de tipificação morfológica por MET. Reconhecemos que a ausência de análises estatísticas formais e de validação cruzada com métodos enzimáticos ou histoquímicos pode ampliar o intervalo de confiança, mas enfatizamos que a combinação de múltiplos parâmetros morfológicos reforça a robustez qualitativa da tipagem realizada.

A análise morfológica da junção miotendínea (JMT) revelou diferenças significativas em alguns parâmetros estruturais, tanto nas comparações intragrupo quanto intergrupo, envolvendo os tipos de fibras musculares IIb e Intermediárias nos grupos Controle e DW.

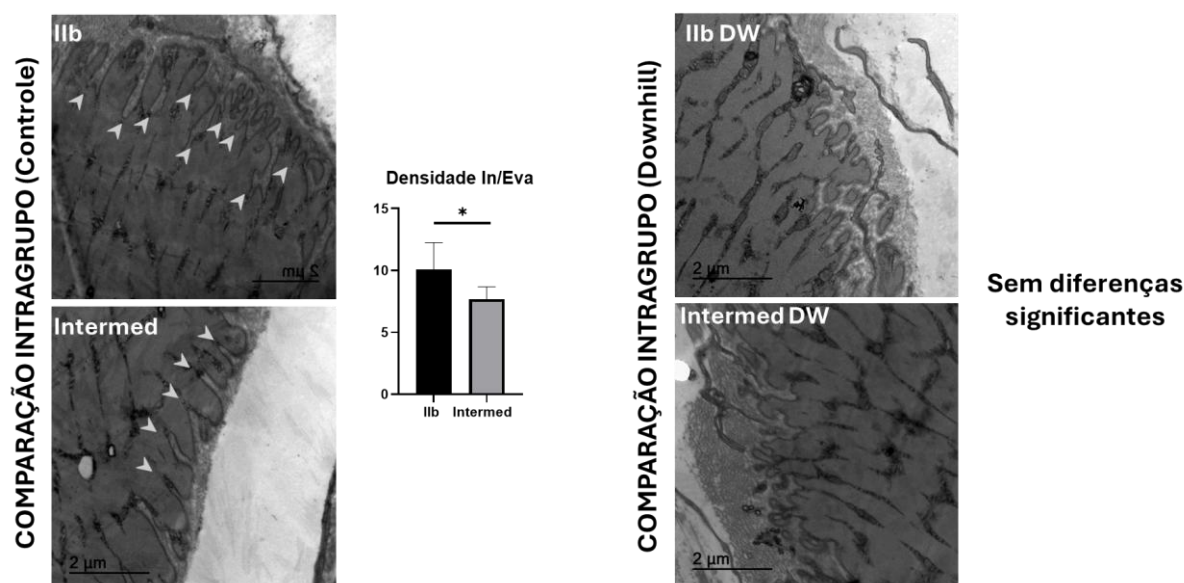
Tabela 2 - Resumo dos resultados das comparações entre tipos x grupos.

Comparação	Variável Afetada	Alteração Observada
IIb vs Intermediária - Controle	Densidade de Invag./Evag.	↑ em IIb
IIb vs Intermediária - DW	—	Sem diferença
Controle vs DW - Intermediária	Espessura das Evaginações	↓ em DW
	Densidade de Invag./Evag.	↑ em DW
Controle vs DW - IIb	Espessura das Evaginações	↓ em DW

No grupo Controle, a comparação entre os tipos de fibra mostrou que as fibras IIb apresentaram maior densidade de invaginações e evaginações em relação às fibras Intermediárias ($p < 0,05$). Nenhuma diferença significativa foi observada entre os tipos de fibra quanto ao comprimento e à espessura das invaginações e evaginações,

espessura da lâmina basal ou perímetro de contato da JMT.

Figura 4 - Comparação intragrupo entre fibras musculares do tipo IIb e Intermediárias no grupo Controle e DW.

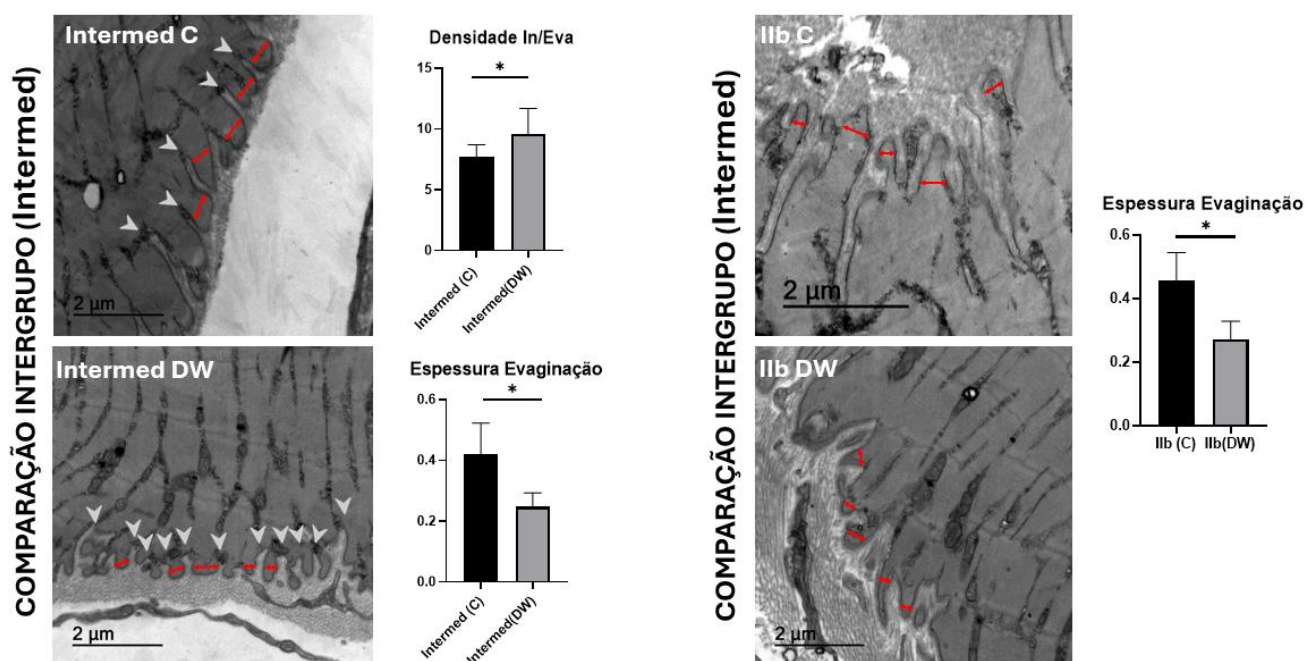


Comparação intragrupo entre fibras musculares do tipo IIb e Intermediárias no grupo Controle (esquerda) e DW (Direita). A densidade de invaginações e evaginações foi a única variável que apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) no grupo controle. Nenhuma diferença significativa no grupo DW.

No grupo DW, observou-se que a espessura das evaginações foi significativamente reduzida em ambos os tipos de fibra em comparação ao grupo Controle ($p < 0,05$), sugerindo um achatamento das projeções musculares na interface com o tendão. Além disso, as fibras Intermediárias demonstraram aumento significativo na densidade de invaginações e evaginações em relação às mesmas fibras do grupo Controle ($p < 0,05$), enquanto as fibras IIb não apresentaram variações significativas nesse parâmetro.

Na comparação intergrupos, as fibras tipo IIb submetidas ao downhill apresentaram apenas uma redução significativa na espessura das evaginações, sem alterações na densidade ou nos demais parâmetros estruturais avaliados. Por outro lado, as fibras Intermediárias do grupo DW não só reduziram a espessura das evaginações, como também aumentaram a densidade de invaginações e evaginações, reforçando uma possível adaptação precoce da JMT nesse subtipo de fibra frente ao estímulo excêntrico.

Figura 5. Comparação intergrupo entre fibras tipo IIb nos grupos Controle e DW.

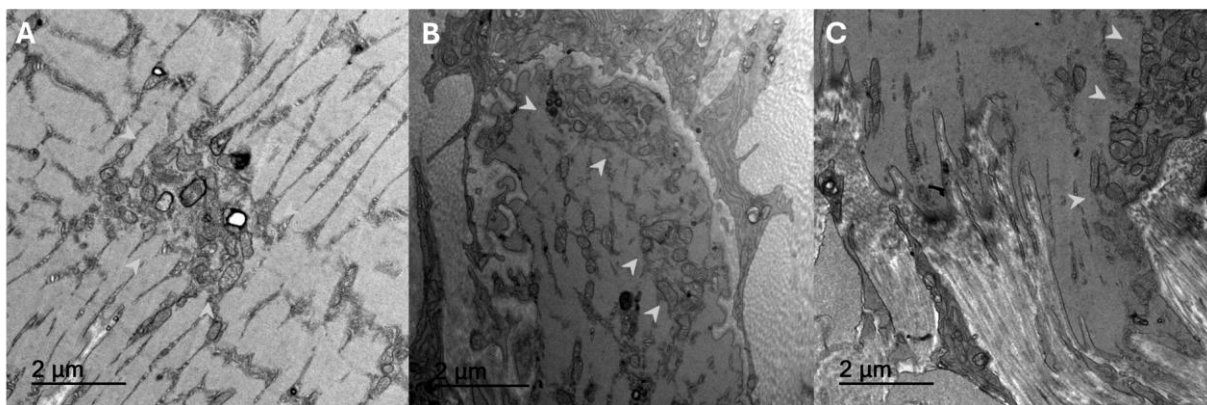


Comparação intergrupo entre as fibras do tipo IIb nos grupos Controle e DW. Foi observada redução significativa na espessura das evaginações nas fibras IIb do grupo DW em relação ao Controle ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa nas demais variáveis. Comparação intergrupo entre as fibras Intermediárias nos grupos Controle e DW. As fibras Intermediárias do grupo DW apresentaram aumento significativo na densidade de invaginações e evaginações, bem como redução na espessura das evaginações em comparação ao grupo Controle ($p < 0,05$). As demais variáveis não mostraram diferenças estatísticas significativas.

O critério adotado para a obtenção de imagens no microscópio eletrônico de transmissão foi, primeiramente, a identificação de regiões contendo JMTs. Cada JMT observada está associada a uma fibra muscular específica; no entanto, devido às limitações impostas pela malha (mesh) utilizada na preparação das amostras, não é possível acompanhar essa fibra por extensões muito longas. Assim, a análise morfológica foi restrita a uma faixa entre aproximadamente 20 a 50 μm de distância da JMT. Dentro desse intervalo, não foram identificados sinais evidentes de desorganização miofibrilar no tecido muscular. Contudo, no grupo DW, observou-se qualitativamente “pools” de mitocôndrias, especialmente próximas à região da JMT — achado ausente nas amostras do grupo controle. Importante destacar que essa característica não esteve presente em todas as imagens obtidas, sendo observada apenas em algumas regiões analisadas. Ainda assim, essa maior proximidade mitocondrial junto à JMT pode sugerir uma

elevação localizada na demanda energética e/ou metabólica, possivelmente em resposta ao estresse mecânico induzido pelo exercício excêntrico.

Figura 6. Agrupamento de mitocôndrias na JMT.



Agrupamento de mitocôndrias, chamados *pools* de mitocôndrias em (A) região próxima à JMT < 50 micrômetros e (B e C) imediatamente na JMT.

5 DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi caracterizar as adaptações morfológicas da JMT em fibras musculares tipo IIb e Intermediárias submetidas a exercício excêntrico prolongado. A maioria dos estudos prévios focou em modelos de exercício crônico (Pimentel Neto *et al.*, 2022; Pimentel Neto *et al.*, 2020; Jacob *et al.*, 2019; Curzi *et al.*, 2012) para observação das adaptações morfológicas da JMT, no entanto, trazemos uma nova perspectiva para a região observando o impacto agudo de um protocolo de downhill.

A literatura tem demonstrado diferenças estruturais, no entanto, contraditórias entre os tipos de fibra: Trotter; Baca (1987), em camundongos, demonstraram que fibras de contração rápida apresentam maior área de interface JMT. Em humanos, Jakobsen *et al.*, (2023) utilizaram reconstrução tridimensional por microscopia confocal para demonstrar que fibras tipo I possuem uma área de interface cerca de 22 % maior que as fibras do tipo II. Essa divergência pode refletir diferenças interespecies e/ou metodológicas.

Neste estudo, observou-se que, no grupo Controle, as fibras tipo IIb apresentaram densidade de invaginações e evaginações significativamente superior às fibras Intermediárias ($p < 0,05$). Após o protocolo excêntrico (grupo Downhill, 0 h), as fibras IIb reduziram de forma significativa a espessura média das evaginações ($p < 0,05$), sem alteração na densidade, enquanto as fibras Intermediárias exibiram tanto redução da espessura das evaginações quanto aumento da densidade de projeções na JMT ($p < 0,05$). Essa dissociação sugere que as fibras intermediárias responderam com remodelação compensatória precoce, enquanto as fibras IIb apresentaram-se incapazes de iniciar uma resposta adaptativa imediata, ou apenas não houve estímulo e/ou magnitude o suficiente. As adaptações estruturais musculares (hipertrofia e reorganização ultraestrutural) dependem de um estímulo mecânico dose-dependente e, frequentemente, de aplicações repetidas ao longo de semanas. Portanto, um único protocolo curto pode não ser suficiente para desencadear remodelação detectável (Jorgenson; Phillips; Hornberger, 2020)

A proposta de recrutamento progressivo das fibras IIb ao longo do protocolo excêntrico encontra respaldo em estudos que relatam alterações no padrão de recrutamento de unidades motoras em exercícios prolongados. Adam; De Luca (2003) sugerem que, com o acúmulo de fadiga em unidades de limiar mais baixo, unidades de maior limiar podem ser recrutadas para manter a produção de força, especialmente em tarefas intermitentes de longa duração. Contudo, a ausência de evidências funcionais diretas (como dados eletromiográficos ou marcadores moleculares de dano e regeneração) impede que se afirme com certeza que as fibras IIb foram mais exigidas funcionalmente ou sofreram esgotamento precoce.

Esse achado ganha relevância clínica se considerarmos os resultados de Lievens *et al.*, (2022), que observaram, em jogadores de futebol profissional, que populações musculares com predominância de fibras rápidas apresentavam risco até 5,3 vezes maior de sofrer lesões por estiramento dos isquiotibiais. Embora esse estudo tenha utilizado espectroscopia por ressonância magnética (¹H-MRS) e não tenha analisado diretamente a morfologia da JMT, seus dados sugerem que a baixa adaptabilidade estrutural das fibras rápidas, como as do tipo IIb, pode estar associada a uma maior vulnerabilidade funcional, especialmente em contextos de sobrecarga excêntrica, condição recorrente para os isquiotibiais durante a fase de desaceleração dos sprints (Schache *et al.*, 2012; Pietraszewski *et al.*, 2025).

É relevante considerar que as evaginações correspondem a formações derivadas do sarcolema, enquanto as invaginações representam projeções de colágeno. A redução observada imediatamente após o protocolo de *downhill* dificilmente pode ser explicada por processos proteolíticos como causa primária, estudos de ultraestrutura indicam que danos miofibrilares mais expressivos e reorganizações sarcoméricas tendem a se manifestar em janelas temporais de 24-48h pós-exercício (Newham *et al.*, 1983). Essa temporalidade explica também nossa observação de relativa preservação estrutural próxima à JMT: na escala imediata, a ultraestrutura geralmente sofre poucas alterações (Yu; Carlsson; Thornell, 2004) e a redução das evaginações provavelmente reflete ajustes transitórios do volume celular (e não uma destruição estrutural).

Uma interpretação mais plausível envolve a redistribuição de fluidos decorrente da depleção de glicogênio: a literatura descreve que cada grama de glicogênio está associada a três gramas de água intracelular, de modo que a depleção rápida de glicogênio durante exercício prolongado reduz o conteúdo hídrico intramuscular e o turgor celular, o que poderia tornar as evaginações do sarcolema aparentemente mais finas (Fernández-Elías *et al.*, 2015).

A maior plasticidade observada nas fibras Intermediárias, expressa pelo aumento da densidade de invaginações e evaginações, pode representar um mecanismo morfológico de reforço da interface sarcolema–tendão, visando preservar a integridade da transmissão de força frente à sobrecarga excêntrica. Essa resposta estrutural precoce, contudo, deve ser interpretada com cautela, já que o tempo de coleta (0 h) pode não ter sido suficiente para capturar o pico ou o fim do processo adaptativo, o mesmo vale para as fibras do tipo IIb. Em conjunto, os dados indicam respostas morfológicas específicas entre os tipos de fibra que refletem diferenças estruturais de base e capacidade de adaptação aguda da JMT. Estudos futuros com múltiplos tempos pós-exercício e análises moleculares imediatas são necessários — por exemplo, mensurar fosforilações rápidas (p-p38, p-JNK, p-AMPK) e transcritos inflamatórios (IL-6) por abordagem single-fiber ou LCM em janelas 0–3 h e 24–72 h — para validar as hipóteses e esclarecer se as IIb estavam em sobrecarga limite ou simplesmente não receberam estímulo adaptativo suficiente (Egan; Sharples, 2023)

Ressaltamos que o presente estudo apresenta limitações a serem consideradas. Primeiramente, nossas comparações entre os tipos de fibra ficaram restritas às fibras IIb e intermediárias, uma vez que, conforme descrito por Fuentes; Cobos; Segade (1998) e Matsumoto *et al.*, (2007), a proporção de fibras do tipo I é muito reduzida, inviabilizando análises quantitativas mais robustas. Além disso, não foi possível distinguir as fibras intermediárias em IIa e IIx de forma qualitativa, visto que a literatura não oferece suporte consistente para essa diferenciação baseada apenas em características morfológicas. Também não consideramos a presença de fibras híbridas, o que pode ter influenciado na distribuição final dos tipos de fibra. Por fim, o tempo reduzido de execução limitou a implementação de técnicas adicionais de caracterização

baseadas em genótipos e/ou fenótipos, que poderiam complementar as análises morfológicas realizadas.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que as fibras musculares do tipo IIb e as fibras intermediárias apresentam diferenças morfológicas intrínsecas na JMT, mesmo em condições basais, as fibras IIb exibem estrutura aparentemente mais robusta e especializada para suportar altas demandas tensionais. No entanto, frente ao protocolo excêntrico agudo, observou-se uma maior capacidade de resposta adaptativa imediata nas fibras intermediárias, sugerindo elevada plasticidade estrutural. Esse comportamento indica que, embora menos especializadas para tensão máxima, as fibras intermediárias podem mobilizar mecanismos compensatórios mais antecipadamente do que as fibras IIb, cuja arquitetura robusta parece não se traduzir em remodelação precoce/direto da interface JMT. Tais achados contribuem para a compreensão das diferenças morfológicas funcionais entre os tipos de fibra e suas implicações para a vulnerabilidade tecidual frente ao exercício excêntrico realizados de forma inédita no presente estudo.

REFERÊNCIAS

ADAM, A.; DE LUCA, C. J. Recruitment Order of Motor Units in Human Vastus Lateralis Muscle Is Maintained During Fatiguing Contractions. **Journal of Neurophysiology**, [s. l.], v. 90, n. 5, p. 2919–2927, 2003. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/jn.00179.2003>. Acesso em: 28 set. 2025.

BLOEMBERG, D.; QUADRILATERO, J. Rapid Determination of Myosin Heavy Chain Expression in Rat, Mouse, and Human Skeletal Muscle Using Multicolor Immunofluorescence Analysis. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. e35273, 2012. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0035273>. Acesso em: 28 set. 2025.

BURKE, R. E. *et al.* Mammalian Motor Units: Physiological-Histochemical Correlation in Three Types in Cat Gastrocnemius. **Science**, [s. l.], v. 174, n. 4010, p. 709–712, 1971. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.174.4010.709>. Acesso em: 28 set. 2025.

CHOI, S.-J. Age-related functional changes and susceptibility to eccentric contraction-induced damage in skeletal muscle cell. **Integrative Medicine Research**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 171–175, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213422016300348>. Acesso em: 29 set. 2025.

CIENA, A. P. *et al.* Ultrastructural features of the myotendinous junction of the sternomastoid muscle in Wistar rats: From newborn to aging. **Microscopy Research and Technique**, [s. l.], v. 75, n. 9, p. 1292–1296, 2012. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jemt.22063>. Acesso em: 28 set. 2025.

CIENA, A. P. *et al.* Ultrastructure of the myotendinous junction of the medial pterygoid muscle of adult and aged Wistar rats. **Micron**, [s. l.], v. 41, n. 8, p. 1011–1014, 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968432810000703>. Acesso em: 28 set. 2025.

COOPER, J. *et al.* Surgical Treatment of Medial Gastrocnemius Tear. **Arthroscopy Techniques**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. e519–e523, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212628720303169>. Acesso em: 28 set. 2025.

CURZI, D. *et al.* How physical exercise changes rat myotendinous junctions: an ultrastructural study. **European Journal of Histochemistry**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 19, 2012. Disponível em: <http://ejh.it/index.php/ejh/article/view/ejh.2012.19>. Acesso em: 28 set. 2025.

DONG, G. J.; LV, C. X.; LI, K. F. The Changes of Ultrastructure and Proteome Induced by Repeated Eccentric Exercise on of Rat Skeletal Muscle. **Applied Mechanics and Materials**, [s. l.], v. 472, p. 792–800, 2014. Disponível em: <https://www.scientific.net/AMM.472.792>. Acesso em: 29 set. 2025.

EGAN, B.; SHARPLES, A. P. Molecular responses to acute exercise and their relevance for adaptations in skeletal muscle to exercise training. **Physiological**

Reviews, [s. l.], v. 103, n. 3, p. 2057–2170, 2023. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00054.2021>. Acesso em: 29 set. 2025.

EISENBERG, B. R.; MILTON, R. L. Muscle fiber termination at the tendon in the frog's sartorius: A stereological study. **American Journal of Anatomy**, [s. l.], v. 171, n. 3, p. 273–284, 1984. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/aja.1001710304>. Acesso em: 28 set. 2025.

FERNANDES, T. L.; PEDRINELLI, A.; HERNANDEZ, A. J. MUSCLE INJURY – PHYSIOPATHOLOGY, DIAGNOSIS, TREATMENT AND CLINICAL PRESENTATION. **Revista Brasileira de Ortopedia (English Edition)**, [s. l.], v. 46, n. 3, p. 247–255, 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2255497115301907>. Acesso em: 28 set. 2025.

FERNÁNDEZ-ELÍAS, V. E. *et al.* Relationship between muscle water and glycogen recovery after prolonged exercise in the heat in humans. **European Journal of Applied Physiology**, [s. l.], v. 115, n. 9, p. 1919–1926, 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00421-015-3175-z>. Acesso em: 28 set. 2025.

FUENTES, I.; COBOS, A. R.; SEGADE, L. A. G. Muscle fibre types and their distribution in the biceps and triceps brachii of the rat and rabbit. **Journal of Anatomy**, [s. l.], v. 192, n. 2, p. 203–210, 1998. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1469-7580.1998.19220203.x>. Acesso em: 29 set. 2025.

HALL, T. *et al.* A case series of recurrent myotendinous rotator cuff tears repaired and augmented with dermal allograft: clinical outcomes at two years. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, [s. l.], v. 29, n. 11, p. 2264–2271, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1058274620302810>. Acesso em: 28 set. 2025.

HANDEGARD, V. *et al.* Myofiber structure, sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} handling, and contractile function after muscle-damaging exercise in humans. **Physiological Reports**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. e70204, 2025. Disponível em: <https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.14814/phy2.70204>. Acesso em: 29 set. 2025.

HIRABAYASHI, S. *et al.* A Constitutive Model of Skeletal Muscle Damaged by Nonmonotonic Stretch and Application of the Model to Three-Dimensional Analyses. **TRANSACTIONS OF THE JAPAN SOCIETY OF MECHANICAL ENGINEERS Series A**, [s. l.], v. 77, n. 778, p. 916–924, 2011. Disponível em: http://www.jstage.jst.go.jp/article/kikaia/77/778/77_778_916/_article/-char/ja/. Acesso em: 29 set. 2025.

JACOB, C. D. S. *et al.* Effects of physical training on sarcomere lengths and muscle-tendon interface of the cervical region in an experimental model of menopause. **European Journal of Histochemistry**, [s. l.], v. 63, n. 3, 2019. Disponível em: <https://www.ejh.it/index.php/ejh/article/view/3038>. Acesso em: 29 set. 2025.

JAKOBSEN, J. R. *et al.* Composition and adaptation of human myotendinous junction and neighboring muscle fibers to heavy resistance training. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, [s. l.], v. 27, n. 12, p. 1547–1559, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/sms.12794>. Acesso em: 29 set. 2025.

JAKOBSEN, J. R. *et al.* Larger interface area at the human myotendinous junction in type 1 compared with type 2 muscle fibers. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 136–145, 2023. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/sms.14246>. Acesso em: 29 set. 2025.

JANSSON, E.; SYLVÉN, C. Myoglobin concentration in single type I and type II muscle fibres in man. **Histochemistry**, [s. l.], v. 78, n. 1, p. 121–124, 1983. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF00491118>. Acesso em: 29 set. 2025.

JORGENSEN, K. W.; PHILLIPS, S. M.; HORNBERGER, T. A. Identifying the Structural Adaptations that Drive the Mechanical Load-Induced Growth of Skeletal Muscle: A Scoping Review. **Cells**, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 1658, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/7/1658>. Acesso em: 29 set. 2025.

KANAZAWA, Y. *et al.* Basement membrane recovery process in rat soleus muscle after exercise-induced muscle injury. **Connective Tissue Research**, [s. l.], v. 62, n. 5, p. 519–530, 2021. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03008207.2020.1791839>. Acesso em: 29 set. 2025.

KNUDSEN, A. B. *et al.* The human myotendinous junction: An ultrastructural and 3 D analysis study. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, [s. l.], v. 25, n. 1, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/sms.12221>. Acesso em: 29 set. 2025.

LIEVENS, E. *et al.* Muscle Fibre Typology as a Novel Risk Factor for Hamstring Strain Injuries in Professional Football (Soccer): A Prospective Cohort Study. **Sports Medicine**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 177–185, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s40279-021-01538-2>. Acesso em: 29 set. 2025.

LINNANE, L.; SERRANO, A. L.; RIVERO, J. L. L. Distribution of fast myosin heavy chain-based muscle fibres in the gluteus medius of untrained horses: mismatch between antigenic and ATPase determinants. **Journal of Anatomy**, [s. l.], v. 194, n. 3, p. 363–372, 1999. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1469-7580.1999.19430363.x>. Acesso em: 29 set. 2025.

LIONELLO, G. *et al.* Suturing the myotendinous junction in total hip arthroplasty: A biomechanical comparison of different stitching techniques. **Clinical Biomechanics**, [s. l.], v. 30, n. 10, p. 1077–1082, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268003315002442>. Acesso em: 28 set. 2025.

MAFFULLI, N.; DEL BUONO, A.; SILVESTRI, E. Muscle Injuries: Pathophysiology and New Classification Models. *In*: SILVESTRI, E.; MUDA, A.; ORLANDI, D.

Ultrasound Anatomy of Lower Limb Muscles. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 33–38. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-319-09480-9_6. Acesso em: 29 set. 2025.

MATSUMOTO, A. *et al.* Cell Size and Oxidative Enzyme Activity of Rat Biceps Brachii and Triceps Brachii Muscles. **The Journal of Physiological Sciences**, [s. l.], v. 57, n. 5, p. 311–316, 2007. Disponível em: http://www.jstage.jst.go.jp/article/physiolsci/57/5/57_5_311/_article. Acesso em: 29 set. 2025.

MUELLER-WOHLFAHRT, H.-W. *et al.* Terminology and classification of muscle injuries in sport: The Munich consensus statement. **British Journal of Sports Medicine**, [s. l.], v. 47, n. 6, p. 342–350, 2013. Disponível em: <https://bjsm.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bjsports-2012-091448>. Acesso em: 28 set. 2025.

NARAYANAN, N.; CALVE, S. Extracellular matrix at the muscle – tendon interface: functional roles, techniques to explore and implications for regenerative medicine. **Connective Tissue Research**, [s. l.], v. 62, n. 1, p. 53–71, 2021. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03008207.2020.1814263>. Acesso em: 28 set. 2025.

NEWHAM, D. J. *et al.* Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. **Journal of the Neurological Sciences**, [s. l.], v. 61, n. 1, p. 109–122, 1983. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022510X83900588>. Acesso em: 28 set. 2025.

NIELSEN, J. *et al.* Increased contact between lipid droplets and mitochondria in skeletal muscles of male elite endurance athletes. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, [s. l.], v. 329, n. 1, p. C1–C16, 2025. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajpcell.00123.2025>. Acesso em: 29 set. 2025.

NIELSEN, J. *et al.* Plasticity in mitochondrial cristae density allows metabolic capacity modulation in human skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, [s. l.], v. 595, n. 9, p. 2839–2847, 2017. Disponível em: <https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1113/JP273040>. Acesso em: 29 set. 2025.

PETTE, D.; STARON, R. S. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. **Microscopy Research and Technique**, [s. l.], v. 50, n. 6, p. 500–509, 2000. Disponível em: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0029\(20000915\)50:6<500::AID-JEMT7>3.0.CO;2-7](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0029(20000915)50:6<500::AID-JEMT7>3.0.CO;2-7). Acesso em: 29 set. 2025.

PIETRASZEWSKI, P. *et al.* Muscle Activity and Biomechanics of Sprinting: A Meta-Analysis Review. **Applied Sciences**, [s. l.], v. 15, n. 9, p. 4959, 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3417/15/9/4959>. Acesso em: 29 set. 2025.

PIMENTEL NETO, J. *et al.* Myotendinous junction adaptations to ladder-based resistance training: identification of a new telocyte niche. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 14124, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-70971-6>. Acesso em: 29 set. 2025.

PIMENTEL NETO, J. *et al.* Myotendinous Junction: Exercise Protocols Can Positively Influence Their Development in Rats. **Biomedicines**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 480, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9059/10/2/480>. Acesso em: 29 set. 2025.

ROCHA-BRAGA, L. C. *et al.* Myotendinous junction: a microenvironment favorable for short-term adaptations to resistance training following gastrocnemius muscle atrophy. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 16, p. 1493820, 2025. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2025.1493820/full>. Acesso em: 29 set. 2025.

SCHACHE, A. G. *et al.* Mechanics of the Human Hamstring Muscles during Sprinting. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, [s. l.], v. 44, n. 4, p. 647–658, 2012. Disponível em: <https://journals.lww.com/00005768-201204000-00011>. Acesso em: 29 set. 2025.

SCHIAFFINO, S.; HANZLÍKOVÁ, V.; PIEROBON, S. RELATIONS BETWEEN STRUCTURE AND FUNCTION IN RAT SKELETAL MUSCLE FIBERS. **The Journal of Cell Biology**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 107–119, 1970. Disponível em: <https://rupress.org/jcb/article/47/1/107/17585/RELATIONS-BETWEEN-STRUCTURE-AND-FUNCTION-IN-RAT>. Acesso em: 29 set. 2025.

SCHIAFFINO, S.; REGGIANI, C. Fiber Types in Mammalian Skeletal Muscles. **Physiological Reviews**, [s. l.], v. 91, n. 4, p. 1447–1531, 2011. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00031.2010>. Acesso em: 29 set. 2025.

SERRANO, N. *et al.* Extraordinary fast-twitch fiber abundance in elite weightlifters. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. e0207975, 2019. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0207975>. Acesso em: 29 set. 2025.

SERRANO, N. *et al.* Optimizing the methodology for precise estimation of skeletal muscle fiber type proportions in humans. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 30006, 2025. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-025-15163-w>. Acesso em: 29 set. 2025.

SJÖSTRÖM, M. *et al.* Morphometric analyses of human muscle fiber types. **Muscle & Nerve**, [s. l.], v. 5, n. 7, p. 538–553, 1982. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mus.880050708>. Acesso em: 29 set. 2025.

TAKEKURA, H.; YOSHIOKA, T. Ultrastructural and metabolic characteristics of single muscle fibres belonging to the same type in various muscles in rats. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 98–104, 1990. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF01766488>. Acesso em: 26 set. 2025.

TIDBALL, J. G. Force transmission across muscle cell membranes. **Journal of Biomechanics**, [s. l.], v. 24, p. 43–52, 1991. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/002192909190376X>. Acesso em: 28 set. 2025.

TIDBALL, J. G.; SALEM, G.; ZERNICKE, R. Site and mechanical conditions for failure of skeletal muscle in experimental strain injuries. **Journal of Applied Physiology**, [s. l.], v. 74, n. 3, p. 1280–1286, 1993. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/jappl.1993.74.3.1280>. Acesso em: 28 set. 2025.

TONG, S. *et al.* A Comprehensive Review of Muscle–Tendon Junction: Structure, Function, Injury and Repair. **Biomedicines**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 423, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9059/12/2/423>. Acesso em: 29 set. 2025.

TROTTER, J. A.; BACA, J. M. A stereological comparison of the muscle-tendon junctions of fast and slow fibers in the chicken. **The Anatomical Record**, [s. l.], v. 218, n. 3, p. 256–266, 1987. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ar.1092180306>. Acesso em: 29 set. 2025.

VANDUSEN, K. W.; LARKIN, L. M. Muscle–tendon interface. *In*: REGENERATIVE ENGINEERING OF MUSCULOSKELETAL TISSUES AND INTERFACES. [S. l.]: Elsevier, 2015. p. 409–429. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781782423010000173>. Acesso em: 29 set. 2025.

WROBLEWSKI, R.; JANSSON, E. Fine structure of single fibres of human skeletal muscle. **Cell and Tissue Research**, [s. l.], v. 161, n. 4, 1975. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF00224137>. Acesso em: 29 set. 2025.

YU, J.-G.; CARLSSON, L.; THORNELL, L.-E. Evidence for myofibril remodeling as opposed to myofibril damage in human muscles with DOMS: an ultrastructural and immunoelectron microscopic study. **Histochemistry and Cell Biology**, [s. l.], v. 121, n. 3, p. 219–227, 2004. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00418-004-0625-9>. Acesso em: 28 set. 2025.