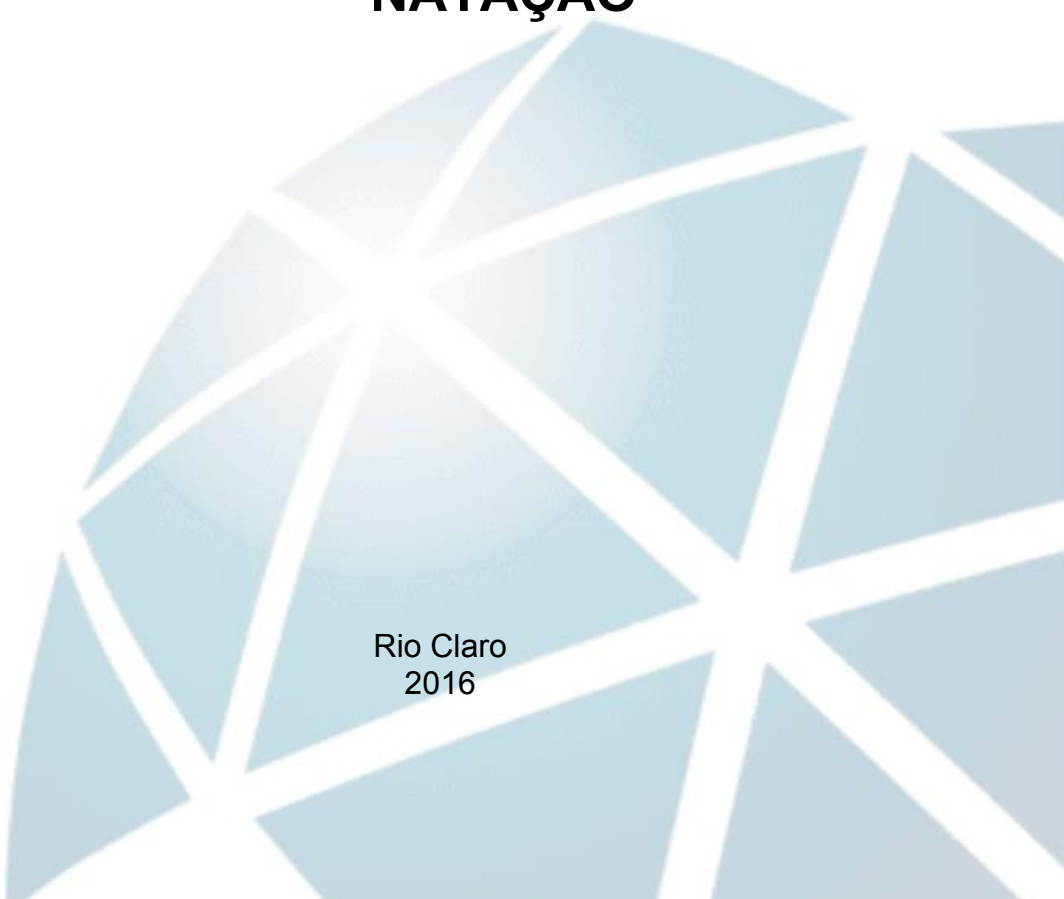

EDUCAÇÃO FÍSICA

GABRIEL FÁVARO

**CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DA
JUNÇÃO MIOTENDÍNEA DO TIBIAL
ANTERIOR DE RATAS WISTAR IDOSAS
OVARIECTOMIZADAS SUBMETIDAS À
NATAÇÃO**



Rio Claro
2016

GABRIEL FÁVARO

**CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DA JUNÇÃO MIOTENDÍNEA
DO TIBIAL ANTERIOR DE RATAS WISTAR IDOSAS
OVARIECTOMIZADAS SUBMETIDAS À NATAÇÃO**

Orientador: Prof. Dr. Adriano Polican Ciena

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

Rio Claro
2016

617.1027 Fávoro, Gabriel

F272c Características morfológicas da junção miotendínea do
tibial anterior de ratas wistar idosas ovariectomizadas
submetidas à natação / Gabriel Fávoro. - Rio Claro, 2016
46 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Educação
física) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências de Rio Claro

Orientador: Adriano Polican Ciena

1. Medicina esportiva. 2. Microscopia eletrônica de
transmissão. 3. Ovariectomia. I. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Antônio José Fávaro Neto e Érika Porrelli Drigo, pois tudo o que sou e tenho resultou de muito esforço por parte deles.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Primeiramente à Deus, por tudo que Ele me concede, pelas bênçãos, saúde, sabedoria e determinação para concluir o projeto.

Ao meu orientador Prof. Dr. Adriano Polican Ciena pelos ensinamentos, confiança, orientação, força, respeito e amizade.

À minha família em geral, pais, irmãos, avós, tias, namorada e agregados, por toda a confiança, respeito e fé depositados em mim nesta fase tão importante em minha vida. Sem vocês nada disso faria sentido algum.

Aos meus amigos do LAMAF Johann Simon Hoffmann, Bruno Rubin Cerri, Lara Caetano Rocha, Luan Sierra, Luis Roberto Bueno e Luis Felipe Marinotti por todos os momentos de alegria, companheirismo e apoio.

A todos os meus amigos e colegas de longa data e também aos que fiz e conheci durante a graduação.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, pela oportunidade de aprimoramento científico e profissional.

Ao professor Dr. Flávio Henrique Caetano pela confiança e por disponibilizar o uso do Laboratório de Histologia da UNESP de Rio Claro.

Aos técnicos do Laboratório de Morfologia José Roberto Rodrigues da Silva e Eduardo Custódio pelo suporte prestado.

Às técnicas do Laboratório de Histologia da Universidade de São Paulo, Sônia Regina Yokomizo de Almeida e Marta Maria da Silva Righetti pelos ensinamentos, paciência e todo suporte prestado.

Aos funcionários do Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro.

Aos funcionários da Biblioteca da UNESP de Rio Claro por todo suporte prestado.

RESUMO

O processo de retirada bilateral dos ovários denomina-se ovariectomia, ato cirúrgico que ocasiona drástica diminuição na produção de hormônios como Estrógeno e Progesterona que promove alterações como aumento de tecido adiposo. A junção miotendínea é a principal área de transmissão de força entre a musculatura esquelética e o tecido ósseo, está diretamente associada ao exercício físico e gera alterações morfológicas nos tecidos muscular e tendíneo. A fim de analisar os possíveis benefícios do exercício físico na adaptação tecidual da principal região de lesões no aparelho locomotor, foi realizado protocolo de treinamento de natação com intuito de minimizar efeitos do envelhecimento na junção miotendínea. O objetivo do presente estudo foi analisar as características estruturais e ultraestruturais da junção miotendínea do músculo tibial anterior de ratas Wistar idosas ovariectomizadas submetidas a um protocolo de natação. Foram utilizadas 40 ratas com 1 ano e 2 meses de idade divididas aleatoriamente em quatro Grupos, (n=10): Grupo Sedentário (GS); Grupo Treinado (GT); Grupo Ovariectomizado (GO) e Grupo Ovariectomizado Treinado (GOT). O protocolo de treinamento consistiu em 40 sessões, durante uma hora diária e sobrecarga de 5% da massa corporal dos animais, com mensuração semanal para realização de ajustes, estas foram divididas em três períodos: 1º Período - antes da ovariectomia; 2º Período - 4 meses após a ovariectomia/ pré-treinamento; 3º Período - término do protocolo de treinamento. A partir destas mensurações, os dados foram organizados e obtidas médias e desvio padrão, posteriormente, foram tratados estatisticamente através do software Graph Pad Prism 5.0 ® e do método estatístico ANOVA *two way* com pós teste Bonferroni ao nível de significância $p < 0,05$. As imagens histológicas foram analisadas em microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão, de maneira a evidenciar características estruturais, morfométricas, aspectos tridimensionais e ultraestruturais dos componentes ao nível celular. O resultado das mensurações da massa corporal dos animais apresentou dados relevantes: O grupo GS obteve aumento significativo durante as mensurações devido à inatividade física, o grupo GT evidenciou grande aumento da massa corporal antes do treinamento, após o mesmo demonstrou grande atenuação. O grupo GO apresentou drástico aumento na massa corporal devido à inatividade física associada à suspensão dos níveis hormonais, o grupo GOT comprovou os benefícios do treinamento aeróbio como controlador do peso corporal. Os resultados de microscopia de luz evidenciaram alterações nos grupos treinados, apresentando maior superfície de contato entre o tecido muscular e o tendíneo, maior depósito de fibras colágenas e tenócitos em relação aos grupos GS e GO. A partir dos resultados obtidos por microscopia eletrônica de transmissão observaram-se adaptações ultraestruturais na região da JMT. Os grupos GS e GO demonstraram desorganização tecidual, menor densidade e comprimento das invaginações sarcoplasmáticas. Os grupos GT e GOT evidenciaram maior densidade, comprimento e organização tecidual, além de apresentarem subníveis e comunicações entre as projeções sarcoplasmáticas. Conclui-se que a região da JMT apresentou adaptações em relação ao exercício físico durante o envelhecimento associado à ovariectomia, de modo eficaz e positivo na qualidade de vida por aprimorar a resistência e a transmissão de força na principal área de lesões.

Palavras-chave: Junção Miotendínea, Tibial Anterior, Natação, Ratas Wistar Idosas, Ovariectomia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Microscopia de Luz da Junção Miotendínea do tibial anterior.31

Figura 2 – Microscopia Eletrônica de Varredura da Junção Miotendínea do tibial anterior. 32

Figura 3 – Microscopia Eletrônica de Transmissão da Junção Miotendínea do tibial anterior. 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média $\pm$ Desvio Padrão da massa corporal em três diferentes períodos ao longo do experimento. 28

Tabela 2 – Média $\pm$ Desvio Padrão do comprimento das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas. 34

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Massa corporal dos animais durante o experimento.	29
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1.Músculo Estriado Esquelético	12
1.2.Tendão.....	14
1.3.Junção Miotendínea.....	15
1.4.Envelhecimento	17
1.5.Natação	18
2. OBJETIVO GERAL.....	20
2.1.Objetivos Específicos	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1 Animais	22
3.2 Procedimento Cirúrgico - Ovariectomia	22
3.3 Protocolo de Treinamento - Natação	23
3.4 Mensuração da Massa Corporal.....	23
3.5 Microscopia de Luz.....	23
3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	24
3.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	24
3.8 Análise Morfométrica.....	25
4. RESULTADOS	28
5. DISCUSSÃO.....	36
6. CONCLUSÃO.....	40
7. REFERÊNCIAS	42

1. INTRODUÇÃO

1.1 Músculo Estriado Esquelético

O tecido muscular tem a função de movimentar o corpo e suas partes e pelas alterações no tamanho e forma dos órgãos internos. Os músculos estriados esqueléticos são constituídos por feixes de células alongadas, multinucleadas e cilíndricas, com seu diâmetro entre 10 a 100µm, são os principais constituintes do tecido muscular, este, recoberto por tecido conjuntivo. Apresentam grande número de filamentos denominados miofibrilas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

O crescimento muscular ocorre de duas maneiras, um como hipertrofia, que é o aumento no volume da célula muscular e hiperplasia, que é aumento no número de células musculares. Na hiperplasia, novas fibras se desenvolvem pelas células satélite sobre as fibras existentes e se fundem, de modo a formar miotubos multinucleados. Durante a hipertrofia, as fibras musculares absorvem núcleos das células satélite para manter uma proporção do núcleo para o citoplasma (ROWLERSON; VEGGETTI, 2001).

O músculo estriado esquelético é um tecido que possui grande capacidade para adaptações como anatômicas e fisiológicas, tais como aumento na área de seção transversa, maior quantidade de fibras tipo I ou II e isto tudo se deve ao tipo de treinamento, intensidade e as respostas individuais (MACDOUGALL, 1992).

Para que ocorra a contração do músculo estriado, há uma dramática e precisa coligação de aspectos moleculares através de um citoesqueleto, que traduz as interações entre os filamentos de actina e miosina em cada sarcômero em um macroscópico movimento de contração muscular (CLARK et al., 2002).

O tecido muscular esquelético é recoberto por tecido conjuntivo, sua camada mais superficial é denominada epimísio, recobre o músculo inteiro. Do epimísio partem finos septos de tecido conjuntivo indo ao interior do músculo, separando os feixes, estes septos constituem o perimísio. Cada fibra muscular, individualmente, é envolvida pelo endomísio, estrutura esta que apresenta escassa população celular formada por algumas células do conjuntivo, principalmente os fibroblastos. Além de unir as células e os fascículos musculares, as bainhas de tecido conjuntivo permitem a cada um deles um movimento independente (LIGHT; CHAMPION, 1984).

Um grupamento de sarcômeros alinhados em série compõe uma miofibrila, esta estrutura é paralela ao eixo das fibras musculares e medem aproximadamente 1 a 2µm de diâmetro.

O sarcômero consiste na unidade contrátil tanto dos músculos estriados esqueléticos quanto do músculo estriado cardíaco, tal estrutura é composta por dois tipos de filamentos, grosso (nebulina/miosina) e, finos (titina/actina). A contração muscular necessita de um preciso alinhamento entre os filamentos de actina e miosina, e isto é caracterizado pois existem proteínas acessórias, como α -actina, miomesina, titina, proteína -H, proteínas desmina e miosina de ligação (MyBP) , -C e -H, que ligam os diferentes componentes e os mantém alinhados entre si (TAJSHARGHI, 2008).

Os túbulos T são invaginações do sarcolema, ligam-se com o meio extracelular. São nestas estruturas (Túbulos T) que os potenciais de ação passam do sarcolema para às miofibrilas e ao retículo sarcoplasmático, proporcionando a liberação de íons de cálcio e consequentemente a contração da fibra muscular (SAWADA; ISHIKAWA; YAMADA, 1978).

Para que ocorra a contração muscular, as miofibrilas são despolarizadas como consequência da ativação do nervo, este, resulta na liberação de cálcio no retículo sarcoplasmático que ocasiona a ligação da miosina à actina e consequentemente a contração muscular (GREFTE, 2007).

A estrutura de contração básica de um músculo esquelético é a unidade motora, composta por um grupo de células musculares que atuam simultaneamente através do neurônio motor somático, este, envia o potencial de ação e então há a contração muscular, cada fibra muscular é inervada por um neurônio, apesar de um neurônio motor somático inervar diversas fibras (SILVERTHORN, 2010).

O músculo tibial anterior, responsável pelas ações de dorsiflexão e inversão do pé, está localizado paralelo e lateralmente à tibia, em sua face anterior. Têm origem na face lateral da tibia e na membrana interóssea e inserção na base do primeiro metatarsal e no cuneiforme medial. Pode ser considerado um músculo supinador pois como seu tendão de inserção segue medialmente ao eixo da articulação talocalcaneonavicular, comparado aos músculos flexores dorsais é um supinador, mesmo que fraco (SOBOTTA, 2013; DANGELO; FATTINI, 2011).

1.2 Tecido Tendíneo

O tecido tendíneo é constituído de tecido conjuntivo denso responsável por conduzir a força gerada pelo músculo ao osso, tornando possível o movimento articular. (ARRUDA; RODRIGUES; TACIRO; PARIZOTTO, 2007).

Os tendões demonstram pigmentação esbranquiçada, reluzente e textura fibro-elástica, tornando-o muito resistente a cargas mecânicas. Diferenciam em sua forma e disposição uma vez que são fixados principalmente aos ossos (KJAER, 2004). Quando as extremidades do ventre muscular são cilíndricas ou em forma de fita, são denominados tendões, quando laminares, são chamadas de aponeuroses (DANGELO; FATTINI, 2011).

Cerca de 90-95% dos elementos celulares do tendão é composto por tenócitos e tenoblastos. Os outros 5-10% compõe-se de células sinoviais, condrócitos, células vasculares como capilares endoteliais no músculo liso e arteríolas no endo e epitendão. Em condições patológicas, componentes celulares inflamatórios, macrófagos e miofibroblastos podem ser encontrados no tecido tendíneo (JOZSA; KANNUS, 1997).

Em conferência com os músculos, os tendões demonstram relativamente, limitado suprimento vascular, que corresponde a 2% de vasos sanguíneos na matriz extracelular. Estes vasos cursam o epitendão e, longitudinalmente, movem-se para o endotendão, de maneira que, o fornecimento proveniente de artérias e arteríolas percorre o perímio na região da JMT e dos demais vasos sanguíneos na junção osteotendínea (KJAER, 2004).

A maioria dos tendões é composta de tecido conjuntivo denso modelado, constituído de feixes paralelos de fibras colágenas e fibroblastos, também componentes dos ligamentos e aponeuroses (TORTORA; DERRICKSON, 2012). O principais constituintes dos tendões são os colágenos tipo I e III e elastina, embebidas na matriz de proteoglicanos com a quantidade de colágeno e elastina de 65-80%, aproximadamente e de 1-2% de massa seca. Esses elementos na matriz extracelular são produzidos pelos tenoblastos e tenócitos, que são os fibroblastos e fibrócitos alongados presentes entre as fibras de colágeno do tendão (KANNUS, 2000). Os tenócitos também são denominados de células tendíneas fusiformes, que são os tipos celulares primários encontrados no tendão. Estas células são supridas

por uma intrincada rede microvascular que lhes permite preservar seu ambiente extracelular (AMIEL et al., 1984; KNOBLOCK, 2008).

Fibrilas de colágeno constituem uma fibra de colágeno, unidade básica do tendão. Cada fibra de colágeno é revestida por uma fina bainha denominada endotendão. Um grupo de fibras de colágeno constitui um feixe primário de fibras, um grupo de fibras primárias compõe um feixe de fibras secundárias, contudo, um grupo de fibras secundárias forma um feixe terciário, e então, constroem um tendão (KANNUS, 2000).

Em determinados tendões, como aqueles que não possuem uma real bainha sinovial, podem apresentar uma camada peritendínea (“paratenon”), disposta externamente para diminuir atritos entre o fluido peritendíneo e o epitendão, sendo que este envolve o tendão (MAFFULLI; BARRASS; EWEN, 2001).

A matriz extracelular responde dinamicamente a cargas mecânicas, consequentemente, há maior síntese de colágeno (KJAER, 2006).

O tecido muscular e o tecido conjuntivo respondem de maneiras variadas à diferentes estímulos de exercício físico. A matriz extracelular responde de diversas formas a exercícios de endurance, agudos ou compensatórios de hipertrofia, aumentando a expressão, síntese e depósito de colágeno no tecido muscular (KJAER, 2004).

1.3 Junção Miotendínea

A Junção Miotendínea (JMT) é uma área de transição especializada e complexa entre o tecido muscular e o tecido tendíneo, com função de transmitir a força gerada pela contração intracelular nos músculos esqueléticos para os ossos e então desenvolver o movimento, a junção miotendínea também atua na estabilização e posicionamento articular (CIENA, 2012; KANNUS et al., 1992; TROTTER, 2002).

A JMT é a principal área de predisposição à lesões no músculo esquelético, principalmente em esforços excessivos e contração excêntrica (TIDBALL; SALEM; ZERNICKE, 1993).

O desenvolvimento da JMT ocorre por ligações entre o músculo esquelético e os elementos da matriz extracelular. Ratos com 1 dia de vida apresentaram a interface suave e regular, as invaginações sarcoplasmáticas são pouco evidentes ou ausentes e além disto há desorganização dos sarcômeros. Ratos com 15 dias de

vida evidenciaram JTM mais complexa e compacta revelando maior comunicação entre os tecidos muscular e tendíneo. Animais com 1 mês de idade demonstraram numerosas e profundas invaginações sarcoplasmáticas, aumentando a superfície de contato entre músculo/tendão, bem como maior organização dos sarcômeros em série nas regiões próximas e distantes da JMT (CURZI; AMBROGINI; FALCIERI; BURATTINI, 2013).

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

O desenvolvimento e formação da JMT é gradual, inicia-se durante a embriogênese e continua durante o período neonatal (BENJAMIN; RAPHS, 2000).

Existem profundas invaginações nas membranas das células musculares, estas formam-se entre o tecido muscular e tendíneo, deixando a área da extremidade da fibra muscular muito alargada (AJIRI et al., 1978).

Projeções sarcoplasmáticas na extremidade da fibra muscular, com direção no sentido da matriz extracelular aumentam a superfície de contato na fixação das fibras musculares para o tecido conjuntivo do tendão (DECONINCK et al., 1997; HUIJING, 1999).

Na região da JMT, estudos têm demonstrado outras características como estruturas adjacentes às projeções, denominadas invaginações sarcoplasmáticas. Estas, longas e delgadas estruturas derivadas da matriz extracelular, composta de tecido conjuntivo e que aumentam a área de superfície de fixação entre os tecidos tendíneo e muscular (CIENA et al., 2010). Recentes pesquisas evidenciaram que a JMT apresenta evoluções e/ou adaptações nos músculos esqueléticos, tais como: sintopia, topografia, funções, disposição e composição histoquímica das fibras musculares (CIENA et al., 2011).

Pesquisas recentes evidenciaram que o exercício intermitente associado à aplicação do hormônio do crescimento (GH) demonstrou melhor e maior área de

interação entre os tecidos muscular e tendíneo, promovendo conservação da JMT em indivíduos com lesões crônicas ou agudas no músculo (CURZI, et al., 2013).

Recentes estudos demonstraram que exercício aeróbio moderado induzem alterações morfológicas na JMT e estão relacionados à síntese de proteínas estruturais na lâmina basal e também no citoesqueleto. A plasticidade da JMT parece estar diretamente relacionada à intensidade do exercício aeróbio e alterações moleculares (CURZI et al., 2015; CURZI et al., 2016).

1.4 Envelhecimento

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), devido ao crescimento da expectativa de vida, a quantidade de pessoas classificadas como idosos tem aumentado progressivamente. A Sarcopenia é uma mudança morfológica típica do envelhecimento, é caracterizada por progressivo e crônico processo de 3 a 8% de perda de massa muscular após os 30 anos de idade, o que afeta 30 % dos indivíduos acima de 60 anos e 50% dos indivíduos com mais de 80 anos de idade (BAUMGARTNER; KOELHER; GALLAGHER et al., 1998; MATSUDO, 2001; JANSSEN; HEYMSFIELD; PADDON-JONES; RASMUSSEN, 2009; OMS, 2010).

Com o envelhecimento, há perda progressiva do volume muscular esquelético e consequente diminuição da força e resistência muscular, condição esta denominada de Sarcopenia, resultando dependências, fragilidade, perda funcional, gastos elevados com a saúde e morte prematura (LANG et al., 2009).

São muitos os mecanismos celulares e moleculares que causam a sarcopenia, tais como desnutrição, estresse oxidativo, inflamação, alterações endócrinas (diminuição da secreção do hormônio de crescimento – GH) e inatividade (MENG; YU, 2010).

Outra possível causa da significativa diminuição da massa muscular associada com a queda na eficiência regenerativa do músculo esquelético em indivíduos idosos é a diminuição da quantidade e diferenciação das células satélites (VERDIJK et al., 2007).

1.5 Natação

Os exercícios aquáticos, como a natação, por exemplo, por não promoverem sustentação do peso e da gravidade tem pouca ou nenhuma influência sobre formação óssea (CUNHA et al., 2007).

Para utilizar o método de treinamento de natação, é preciso levar em consideração inúmeros fatores, tais como tipo de tanque, estrutura que separará os animais, qual a sobrecarga a ser utilizada, tempo de sessão, número de sessões por semana e total de sessões para determinar as alterações que deseja analisar.

A natação é uma atividade física que pode ser praticada por diversos grupos, de jovens a idosos, cardiopatas ou com patologias de atrofia muscular, sem que agrave seu respectivo quadro clínico. Recentes pesquisas mostraram que o treinamento de natação tem menor incidência de fatalidade quando comparado com grupos sedentários, que realizam caminhada ou corrida (LAZAR et al, 2013).

Diante de uma expectativa de vida cada vez mais alta, aumentam também as taxas de pessoas em envelhecimento e conseqüentemente na menopausa, ocorre então significativa diminuição da massa muscular além de aumento do tecido adiposo causado pelas alterações hormonais e sarcopenia – atrofia muscular.

Após a cirurgia de retirada dos ovários (Ovariectomia) constata-se interrupção da produção dos hormônios Estrógeno e Progesterona, estes, responsáveis pelas características sexuais secundárias e pelo crescimento de tecidos orgânicos. Tais alterações podem interferir nos tecidos muscular e tendíneo e fomentar alterações morfológicas na Junção Miotendínea. A fim de analisar estes possíveis benefícios que o exercício físico proporciona, foi ministrado o protocolo de treinamento de natação, com intuito de minimizar estes efeitos do envelhecimento nos elementos estruturais e ultraestruturais da JMT, proporcionando uma melhor qualidade de vida e melhor adaptação tecidual na principal região de lesões do aparelho locomotor e de transmissão de força muscular.

2. OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente estudo consistiu em analisar as características estruturais e ultraestruturais da junção miotendínea do músculo tibial anterior de ratas Wistar idosas ovariectomizadas submetidas a um protocolo de natação.

2.1 Objetivos Específicos

- Analisar os elementos estruturais da junção miotendínea do músculo tibial anterior através da microscopia de luz utilizando as colorações de Hematoxilina-Eosina (HE) e Picro-Sírius (PS).
- Observar as características tridimensionais da junção miotendínea por meio de microscopia eletrônica de varredura.
- Descrever os elementos ultraestruturais da junção miotendínea através da microscopia eletrônica de transmissão.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizadas 40 ratas idosas da linhagem Wistar, com 1 ano e 2 meses de idade, distribuídas aleatoriamente em 4 diferentes grupos.

- **Grupo Sedentário (GS)** n=10: os animais não foram submetidos a nenhum protocolo ou procedimento;

- **Grupo Treinado (GT)** n=10: os animais foram submetidos ao protocolo de natação;

- **Grupo Ovariectomizado (GO)** n=10: os animais foram submetidos à ovariectomia e não realizaram o protocolo de natação;

- **Grupo Ovariectomizado/Treinado (GOT)** n=10: foi realizada a ovariectomia e o protocolo de natação.

Os animais foram oriundos do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu-SP e mantidos em gaiolas coletivas no Biotério do Laboratório de Morfologia e Atividade Física - (LMAF), do Departamento de Educação Física do Instituto de Biociências da UNESP – Campus Rio Claro. Foram todas alimentadas com ração balanceada padrão (Purina) e água “ad libitum”, alocadas 5 ratas em cada gaiola, à temperatura ambiente controlada a $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ e foto período claro/escuro de 12 horas. Todos os procedimentos deste estudo foram previamente submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista Campus de Rio Claro – SP (Protocolo nº: 9376).

3.2 Procedimento Cirúrgico – Ovariectomia

Os animais dos grupos GO e GOT foram anestesiados com Ketamina (50mg/kg) e Xilazina (10mg/kg) via intraperitoneal, em seguida foi realizada tricotomia e assepsia da pele, na região ventral do abdome. Com auxílio de um bisturi a parede abdominal foi seccionada através de uma incisura longitudinal para que os ovários fossem expostos e dissecados. Após este procedimento, as paredes abdominais foram suturadas em camadas, com linha de sutura de nylon nº 6.0 (FERRETTI et al., 2014), posteriormente foi realizada assepsia do local e administrado Paracetamol (300mg/kg) diluído em água, via bebedouro, durante uma semana no período pós-operatório.

3.3 Protocolo de Treinamento - Natação

Os animais dos grupos GT e GOT foram submetidos ao protocolo de treinamento (natação), 4 meses após o procedimento cirúrgico, em tanques durante 60 minutos, individualmente separados por tubos de PVC (Cloreto de Polivinila) com 24 cm de diâmetro, 50 cm de comprimento, para que não houvesse aglomeração e dispersão, mergulhados em 40 cm de água aquecida a 31°C (PESTANA et al., 2012), os animais foram pesados semanalmente em uma balança semi-analítica, para a avaliação da massa corporal, durante todo o experimento. Para a obtenção das sobrecargas de treinamento, foram utilizados pesos de chumbo equivalentes a 5% da massa corporal, fixados ao tórax dos animais ao iniciar o protocolo de treinamento, através de uma cinta elástica. Estes pesos foram aferidos e corrigidos semanalmente. Foram realizadas 5 sessões semanais de 60 minutos cada, durante 8 semanas, totalizando 40 sessões de treinamento (CIABATTARI; DAL PAI e DAL PAI, 2005)

3.4 Mensuração da Massa Corporal

Foram realizadas mensurações semanais nos quatro grupos distintos, nos grupos GT e GOT além de acompanhamento, para realização dos ajustes nas cargas de treinamento. As mensurações foram divididas em três períodos distintos: 1º - período de chegada dos animais, ovariectomia nos grupos GO e GOT até início do treinamento; 2º - início do treinamento até final do treinamento; 3º - último dia de treinamento e eutanásia. Os dados das mensurações foram trabalhados no software Microsoft Excel® e obtidos média e desvio padrão, posteriormente foram tratados estatisticamente no software GraphPad Prism 5® com o two-way ANOVA.

3.5 Microscopia de Luz

Foram utilizados 5 animais de cada grupo experimental, eutanasiados com overdose de Ketamina (100 mg/kg) e Xilazina (20 mg/kg) via intraperitoneal. Em seguida foram dissecadas amostras da junção miotendínea do músculo tibial anterior, de ambos os grupos experimentais e criofixados em nitrogênio líquido, através da alocação das amostras em superfície de cortiça estabilizadas com cola biológica e untadas em talco neutro (Tragacanth, SIGMA) para prevenir artefatos, após esta etapa as amostras foram armazenadas em Freezer -80° C. Foram

realizados cortes longitudinais de 10 µm de espessura (Criostato HM 505 E, MICROM), coradas com a técnica de Hematoxilina-Eosina para destaque dos componentes celulares e Picro-Sírius para identificação do tecido conjuntivo associado (JUNQUEIRA; BIGNOLAS e BRENTANI, 1979). Posteriormente as lâminas foram desidratadas em séries crescentes de álcoois (do 70% ao absoluto) e diafanizadas em xilol, bem como montadas com Bálsamo do Canadá sintético. As imagens foram obtidas através do microscópio de luz. (Carl Zeiss Microimaging, Axiokop 40, Göttingen, Germany).

3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura

Foram utilizados 3 animais de cada grupo experimental, eutanasiados com overdose de Ketamina (100 mg/kg) e Xilazina (20 mg/kg) via intraperitoneal, as amostras da junção miotendínea do músculo tibial anterior foram imersas em solução de *Karnovsky* modificada (glutaraldeído 2.5%, paraformaldeído 2%, em solução de Cacodilato de sódio a 0.1M, pH 7.4) durante 24 horas, a 4°C, de acordo com o método relatado por Watanabe e Yamada (1983). As amostras da junção miotendínea, após fixação, foram submetidas à técnica de criofratura, mediante ao congelamento em nitrogênio líquido. As amostras criofraturadas foram lavadas de 12 a 24 horas em solução tampão fosfato de sódio e, pós-fixadas em solução de tetróxido de ósmio, sendo desidratadas em séries crescente de álcoois (60% ao 100%) seguida de imersão em solução de acetato de isoamila 3h, a 4°C, e secas em aparelho ponto crítico Balzers CPD-30, utilizando CO₂ líquido (DURO et al., 2012; BOLINA et al., 2013). As amostras foram montadas em bases metálicas apropriadas e cobertas com íons de ouro em aparelho Balzers SCD-040, e examinadas em microscópio eletrônico de varredura TM 3000-Hitachi, do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista-UNESP, campus Rio Claro-SP.

3.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Foram utilizados 2 animais de cada grupo experimental, eutanasiados com overdose de Ketamina (100 mg/kg) e Xilazina (20 mg/kg) via intraperitoneal, as amostras da JMT (3mm³) do músculo tibial anterior foram dissecadas e imersas em solução de Cacodilato de sódio a 0.1M, pH 7.4), durante 48 horas à 4°C.

Posteriormente as amostras foram pós-fixadas com solução de tetróxido de ósmio a 1% durante 2 horas, à 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 a desidratação em séries crescentes de álcoois a partir do 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 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.

Para 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, Alemanha). Após selecionada a 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 uralina à 4%, por 3 minutos, lavados em água destilada, contrastados em solução aquosa de citrato de chumbo à 0.4% por 3 minutos e lavados em seguida com água destilada (CIENA et al., 2012). As telas foram examinadas através do microscópio eletrônico de transmissão - Philips CM 100, Laboratório de Microscopia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista-UNESP, Campus de Rio Claro-SP.

3.8 Análise Morfométrica

Para a análise morfométrica foram mensurados 60 comprimentos e espessuras das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas. Para obtenção dos dados foi utilizado o software ImageJ®. Após definir o tamanho da barra em pixels com a ferramenta "Straight Line" foi determinada a escala da imagem na aba

“Analyze” posteriormente em “Set Escala” e então substituído o valor na caixa “Know Distance” para o valor na barra e informado que a unidade da escala era em nm na caixa “Unit of Length”. Após coletadas as mensurações, foi realizada a média e desvio padrão com o software Excel™ e realizada o tratamento estatístico através do software *Graph Pad Prism 5.0* e realizada a análise de variância ANOVA Two-Way com pós teste de Bom Ferroni.

4. RESULTADOS

Massa Corporal

Os resultados da mensuração das massas corporais dos animais estão representados na Tabela 1 e Gráfico 1, respectivamente.

MASSA CORPORAL

GRUPOS	MENSURAÇÕES		
	1 ^a	2 ^a	3 ^a
Sedentário	350,11 ± 37,15	368,42 ± 30,7	377 ± 42,44 #
Treinado	343,6 ± 36,03	374 ± 39,18	336,57 ± 40,75
Ovariectomizado	345,3 ± 19,38	408 ± 21,78 *	404,8 ± 28,33 •
Ov. Treinado	317,3 ± 26,35	370,77 ± 35,69	322 ± 15,84

Tabela 1. Média ± Desvio Padrão da massa corporal em três diferentes períodos ao longo do experimento. (p < 0,05) * O ≠ S; OT; # S ≠ OT (p < 0,05); e • O ≠ T; OT (p < 0,01).

A tabela 1 apresenta os valores das médias e desvio padrão das massas corporais dos 4 grupos experimentais em 3 mensurações específicas. Pode-se observar que o grupo Sedentário aumentou a massa corporal nas 3 mensurações, devido a inatividade física. O grupo Treinado obteve aumento da massa corporal da primeira para a segunda mensuração, de 343,6 ± 36,03 para 374 ± 39,18 (período sem treinamento até início do mesmo), e, então houve perda de massa como consequência da atividade física. O grupo Ovariectomizado apresentou aumento da massa corporal com diferença estatística significativa entre a 1^a e 2^a mensurações, de 345,3 ± 19,38 a 408 ± 21,78, e, na terceira mensuração observou-se pequena diminuição. O grupo Ovariectomizado Treinado demonstrou aumento expressivo entre as duas primeiras mensurações devido à inatividade física além das variações hormonais causadas pela ovariectomia, de 317,3 ± 26,35 g a 370,77 ± 35,69 g, e, da segunda para a terceira mensuração observou-se declínio da massa corporal com diferença estatística significativa proveniente do treinamento realizado. No primeiro período não houve diferença estatística significativa entre os grupos. No segundo período observa-se acréscimo no peso corporal de todos os grupos, mas com diferenças estatísticas significantes observa-se somente o grupo O em relação ao

período anterior, com diferença de aproximadamente 63g na massa corporal. Já no último período, houve diferença estatística com grande amplitude entre os grupo O e T, o grupo O teve aumento expressivo da massa corpórea em relação ao grupo T devido à inatividade física juntamente com as variações hormonais ocasionadas pela ovariectomia, de maneira a simular a menopausa. Também apresentaram diferenças estatísticas significantes entre os grupos S e OT. O grupo OT obteve uma diminuição na massa corpórea em relação ao segundo período devido ao treinamento. Além disto, os grupos O e OT apresentaram diferenças significativas no terceiro período, a fim de corroborar com a associação e benefícios da atividade física, emagrecimento e alterações hormonais.

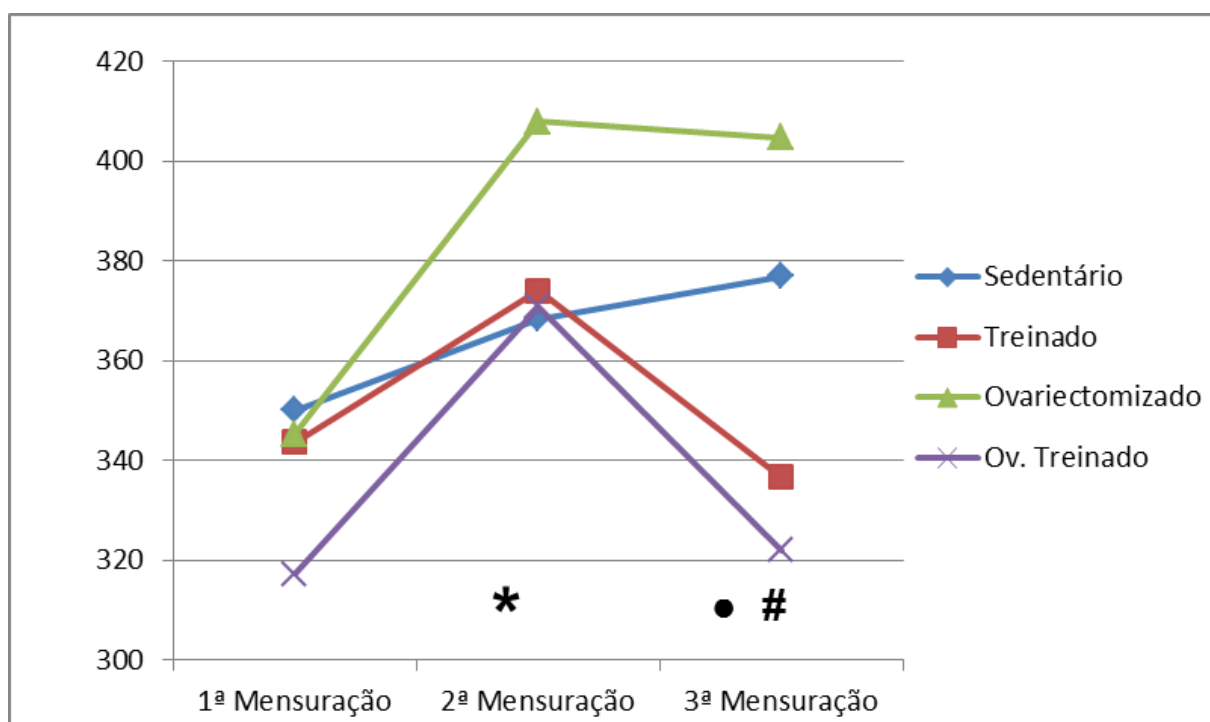


Gráfico 1. Massa corporal dos animais durante o experimento. ($p < 0,05$) * O $\neq$ S; OT; # S $\neq$ OT ($p < 0,05$); e • O $\neq$ T; OT ($p < 0,01$).

A análise da massa corporal apresentou linearmente as diferenças entre os grupos nas respectivas mensurações. Na primeira mensuração não houve diferença entre os grupos, como esperado. Na segunda mensuração, que precede o treinamento, é possível observar amplo aumento na massa corporal dos grupos O e OT, de 18,1% e 16,85 % respectivamente, comparados à mensuração anterior. Na terceira mensuração, os grupos T e OT obtiveram decréscimo de 10% e 13,16%, respectivamente, em relação à mensuração anterior devido ao treinamento. Na segunda mensuração, devido ao procedimento cirúrgico ovariectomia e suas

consequências, observou-se que o grupo O teve aumento de 10,74% em relação ao grupo S. Na terceira mensuração, foi evidenciado que houve diminuição de 14,58% da massa corporal entre os grupos OT e S, respectivamente. Além disto, observou-se que o grupo T apresentava massa corporal 20,2% menor que o grupo O, e, que o grupo OT estava 20,45% mais leve que o grupo O, a fim de corroborar que o treinamento utilizado foi útil no controle de massa corporal, provavelmente em sua maioria de tecido adiposo.

Microscopia de Luz

A partir dos resultados obtidos mediante à microscopia de luz através das técnicas histológicas de Hematoxilina-Eosina (HE), e Picro-Sírus (PS) nos Grupos GS, GT, GO e GOT foram evidenciados os elementos estruturais da região da junção miotendínea do tibial anterior de ratas Wistar Idosas (Figura1).

No Grupo GS observaram-se a disposição oblíqua, na região da JMT, do tecido muscular no tecido tendíneo, a distribuição e organização dos núcleos dos tenócitos com formato ovalado na interface da junção miotendínea (Figura 1A). Com a coloração PS evidenciaram-se fibras musculares na tonalidade amarelada e as fibras de colágeno, referente ao tecido conjuntivo associado, em tonalidade avermelhada (Figura 1E).

No Grupo GT apresentaram disposição longitudinal do tecido muscular, maior densidade e volume dos núcleos dos tenócitos na JMT, além de ampliação na área de contato entre os tecidos tendíneo e muscular (Figura 1B). Após a utilização da técnica de Picro-Sírus observaram-se maior densidade de tecido conjuntivo com padrão horizontal e pontas ovaladas, direcionadas uniformemente (Figura 1F).

No Grupo GO evidenciaram atenuação na área de contato entre os tecidos tendíneo e muscular, além de menor quantidade de núcleos de tenócitos, bem como disposição oblíqua da JMT (Figura 1C). Na coloração de PS o Grupo GO revelou projeção do tecido conjuntivo ao tecido muscular, indicando atrofia muscular (Figura 1G).

No Grupo GOT demonstraram grande quantidade de núcleos de tenócitos com formatos ovais, cilíndricos e projeção do tecido tendíneo (Figura 1D). Além disso, no Grupo GOT foram observados maior quantidade de tecido colágeno além de aumento na interface da JMT (Figura 1H).

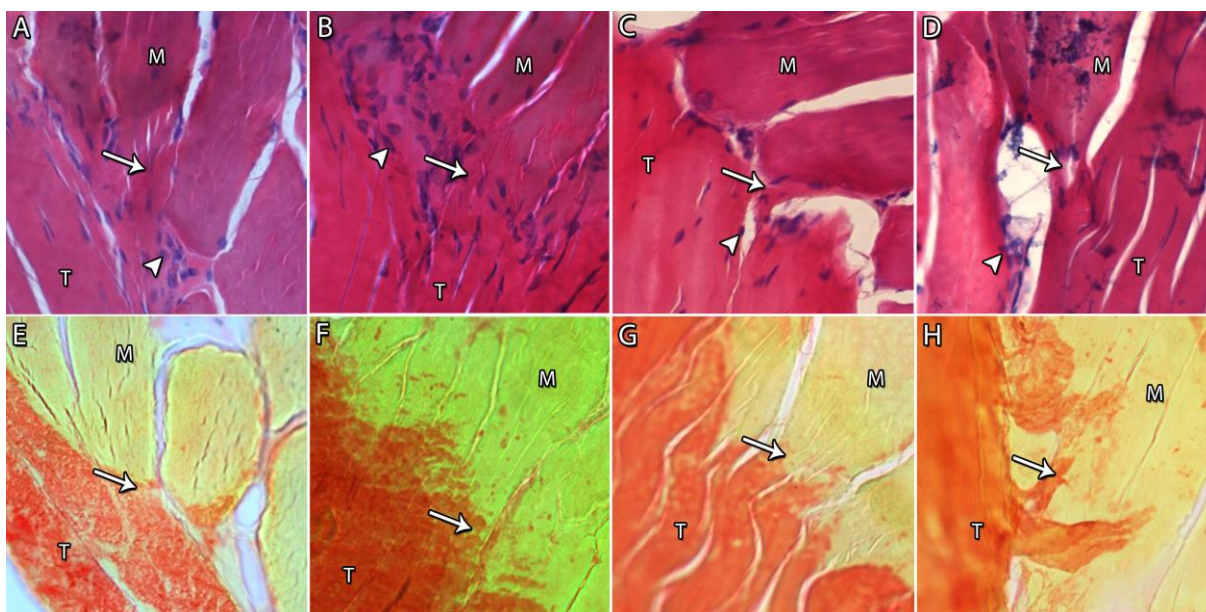


Figura 1. Microscopia de Luz da Junção Miotendínea do tibial anterior. Grupo Sedentário (A, E); Grupo Treinado (B, F); Grupo Ovariectomizado (C, G) e Grupo Ovariectomizado Treinado (D, H). Técnicas: Hematoxilina-Eosina: (A,B,C e D) e Picro-Sírius (E, F, G e H). (M) tecido muscular, (T) tecido tendíneo, (setas) JMT e (cabeças de setas) núcleo dos tenócitos. Ampliação 40x.

Microscopia eletrônica de varredura

Os aspectos tridimensionais mediante a técnica de criofratura apresentaram estrutura muscular, tendínea e principalmente a região da junção miotendínea do músculo tibial anterior de ratas idosas (Figura 2).

No Grupo GS observaram-se o tecido muscular disposto longitudinalmente, além das fibras tendíneas e a organização dos sarcômeros nas miofibrilas (Figura 2A).

No Grupo GT evidenciaram-se ampla densidade de fibras e tecido tendíneo que percorrem o endomísio e se fixam no tecido muscular (JMT), bem como apresentou organização tecidual nos sarcômeros alinhados em série (Figura 2B).

No Grupo GO evidenciou-se atenuação na área de contato entre os tecidos tendíneo e muscular (Figura 2C).

No Grupo GOT evidenciou-se a camada que recobre a fibra muscular internamente denominada endomísio, também maior quantidade das junções miotendíneas, além de melhor alinhamento e organização dos sarcômeros (Figura 2D).

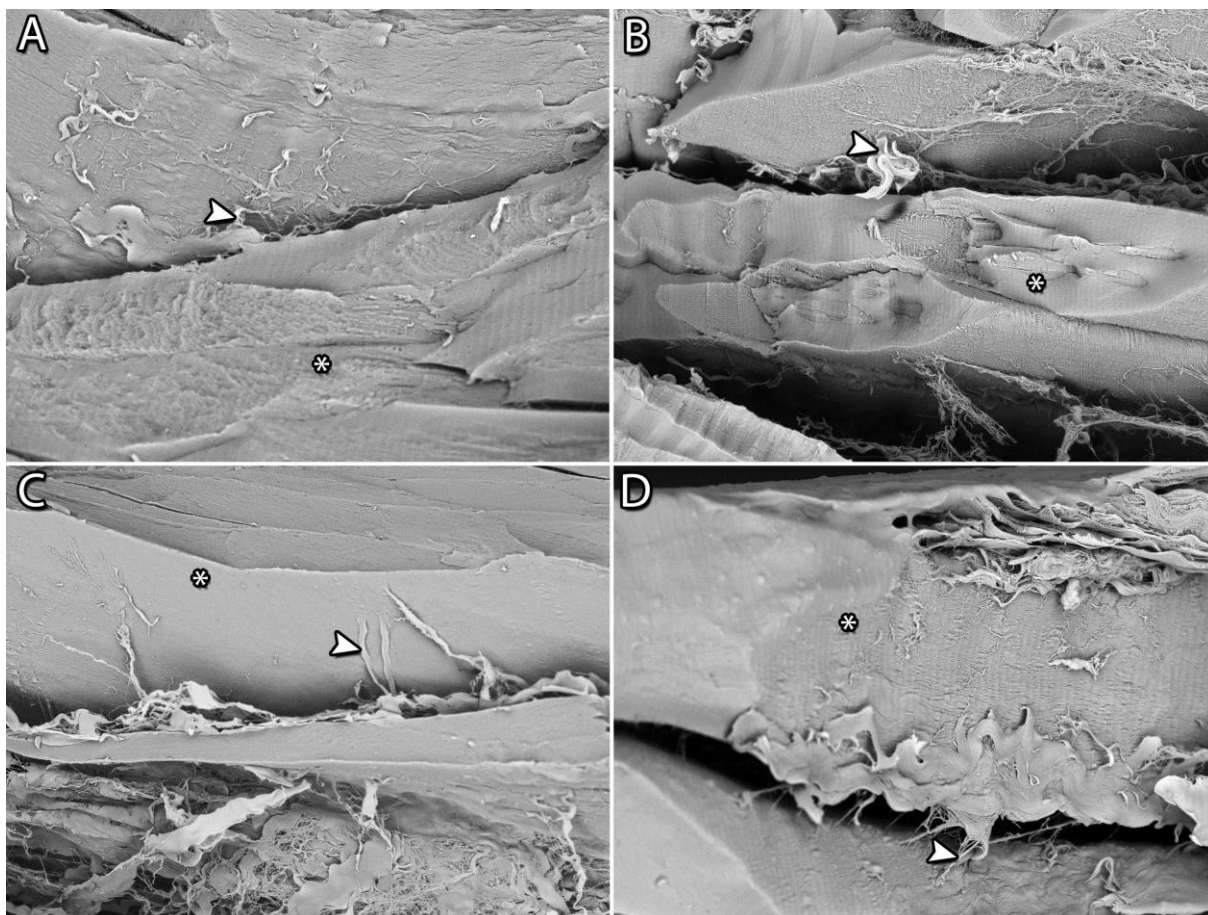


Figura 2 - Microscopia Eletrônica de Varredura da Junção Miotendínea do tibial anterior: Grupo Sedentário (A), Grupo Treinado (B), Grupo Ovariectomizado (C), Grupo Ovariectomizado Treinado (D). (*) tecido muscular, (cabecas de setas) fibras de colágeno. Ampliações: (S) 1500x; (T) 1200X; (O) 500x e (OT) 1800x.

Microscopia eletrônica de transmissão

Os aspectos ultraestruturais da JMT do tibial anterior foram obtidos a partir de microscopia eletrônica de transmissão e revelaram a nível celular as características dos Grupos: GS, GT, GO e GOT (Figura 3).

No Grupo GS observaram-se a região distal da célula muscular com a organização e disposição paralela dos sarcômeros em série, adjacentemente ampla área de tecido conjuntivo, no qual foi possível destacar partes celulares de tenócitos (Figura 3A). Em maior aumento, notaram-se na interface músculo/tendão a interação de feixes de fibras colágenas denominadas invaginações sarcoplasmáticas, delgadas estruturas que se projetam em direção ao tecido muscular, bem como as evaginações sarcoplasmáticas dispostas de maneira oblíqua (Figura 3E).

No Grupo GT demonstraram-se extensa adaptação tecidual com a organização através da disposição paralela, com maior comprimento e volume das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas (Figura 3B). Em maior aumento,

demonstraram maior organização tecidual em relação ao posicionamento, comunicações e subníveis das projeções sarcoplasmáticas (Figura 3F).

No Grupo GO apresentaram drástica redução na quantidade de fibras colágenas, o comprimento e espessura das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas atenuou-se (Figura 3C). Em maior aumento, foi possível observar formato cônico do tecido muscular e desorganização tecidual em atenção ao desalinhamento dos sarcômeros (Figura 3G).

No Grupo GOT evidenciaram-se aumento no comprimento e espessura das invaginações sarcoplasmáticas e consequentemente nas evaginações sarcoplasmáticas, maior organização tecidual com disposição paralela, além de aumento no depósito de fibras colágenas na região do tendão (Figura 3D). Em maior ampliação é possível observar comunicações entre as invaginações sarcoplasmáticas, formando subníveis (Figura 3H).

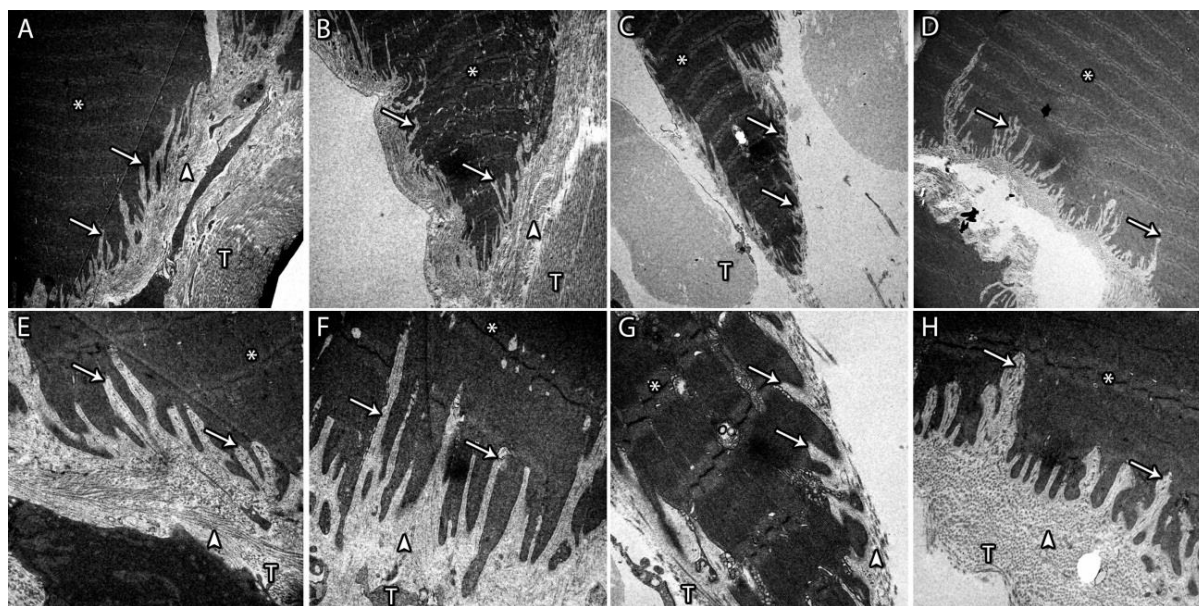


Figura 3 - Microscopia Eletrônica de Transmissão da Junção Miotendínea do tibial anterior: Grupo Sedentário (A; E), Grupo Treinado (B; F), Grupo Ovariectomizado (C; G), Grupo Ovariectomizado Treinado (D; H). (*) célula muscular, (T) tecido tendíneo, (setas) invaginações sarcoplasmáticas e (cabeças de setas) fibras colágenas. Ampliações: (A, B, C, D) 4.000x, (E, F, G, H) 15.000x.

Análise Morfométrica/Quantitativa

Foram realizadas mensurações do comprimento e espessura das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas (Tabela 2).

O comprimento das invaginações sarcoplasmáticas no GT apresentaram 30,7% maiores em comparação ao GS, ao nível de significância estatística de $p < 0,001$.

O grupo GS apresentou 14,2% maior comprimento das invaginações sarcoplasmáticas em relação ao GO, contanto, sem demonstrar diferenças estatísticas significantes. No GOT, as invaginações sarcoplasmáticas demonstraram valores 15,1% maiores em relação ao grupo GO mas sem apresentar diferenças estatísticas significantes. Os comprimentos de evaginações sarcoplasmáticas apresentaram pertinentes alterações entre os grupos. O GT apresentou comprimentos 39,6% maiores que o GS, evidenciando maior interface músculo/tendão no grupo que realizou treinamento, com diferença significativa ao nível de significância de $p < 0,001$. No GS, as evaginações apresentaram 33,8% maiores que no GO, demonstrando atrofia devido à interrupção hormonal, ao nível de significância estatística de $p < 0,001$. No GT, o comprimento das evaginações foi 51,3% maior em relação ao GOT, e 60% maior em relação ao GO, com diferenças estatísticas significativas de $p < 0,001$. No GOT, as evaginações demonstraram 17,9% maiores que o GO, apresentando adaptações mediante ao treinamento associado à ovariectomia, não demonstrando diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

As espessuras de invaginações e evaginações não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

	GRUPOS			
	GS	GT	GO	GOT
Invaginações				
Comprimento	0,459 ± 0,243	0,662 ± 0,432	0,394 ± 0,258	0,462 ± 0,218
Espessura	0,078 ± 0,028	0,103 ± 0,043	0,620 ± 0,017	0,083 ± 0,035
Evaginações				
Comprimento	0,387 ± 0,166	0,641 ± 0,329	0,256 ± 0,109	0,312 ± 0,108
Espessura	0,102 ± 0,036	0,119 ± 0,061	0,128 ± 0,042	0,093 ± 0,029

Tabela 2 – Médias ± desvio-padrões dos comprimentos e espessuras das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas.

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através dos aspectos estruturais, tridimensionais e ultraestruturais da junção miotendínea do músculo tibial anterior foram observados e demonstraram amplas alterações adaptativas mediante ao processo fisiológico do envelhecimento e potencializados em decorrência da privação hormonal devido à ovariectomia, e amplos benefícios com a associação ao treinamento físico de natação.

A massa corporal dos animais revelou aumento devido ao envelhecimento e drasticamente associado à ovariectomia, entretanto, após o período estabelecido de treinamento observaram-se diminuição na massa corporal proporcionado através da atividade aeróbia no exercício aquático. Segundo Christgau et al., 2004; Chang et al., 2010 indivíduos submetidos à ovariectomia apresentaram maior massa corpórea, redução da produção e concentração de soro estradiol além de atenuação no tamanho do útero em relação a indivíduos que não realizaram o procedimento cirúrgico. A ovariectomia suscita diversas alterações morfológicas, fisiológicas e histológicas além da interrupção dos hormônios progesterona e estrógeno, principalmente.

De acordo com Babinski, (2012); Tortora; Derrickson (2012) o estrógeno desempenha funções como desenvolvimento das características sexuais secundárias como crescimento de pelos pubianos, depósito de tecido adiposo na região do quadril, coxa e peitoral. A progesterona contribui no desenvolvimento do embrião e implantação do óvulo fecundado, mas também sofre ação direta da hipófise por meio dos hormônios gonadotróficos. Progesterona e estrógeno atuam juntos para preparação e conservação do endométrio e glândulas mamárias, para produção de leite.

Segundo Fontinele et al., (2013) o exercício físico tem a capacidade de mimetizar os efeitos deletérios da ovariectomia e consequente interrupção dos níveis hormonais, o que corrobora com os resultados obtidos neste estudo.

Os aspectos morfológicos estruturais apresentaram diferentes adaptações ao revelar aumento da superfície de contato da JMT nos Grupos GT e GOT. Segundo Kojima et al. (2008), foram observados aumento da superfície de contato na JMT devido à tensão gerada pelo exercício aeróbio, além de proporcionar menor risco de lesões.

Na região da JMT do tibial anterior, na matriz extracelular apresentaram profusa densidade dos tenócitos em razão do treinamento, contudo, os animais inativos demonstraram escassez de tenócitos.

Segundo Doral et al., (2010) as células tendíneas, os tenoblastos e tenócitos representam cerca de 90-95% dos elementos do tendão. Durante o processo de envelhecimento, os tenoblastos diminuem progressivamente e então são denominados de tenócitos, fusiformes e alongadas estruturas para garantir a interação celular e também responsáveis pelo reparo do tendão em situações de lesão na matriz extracelular, como apresentado por Oliveira, (2016).

Os tenócitos são responsáveis pela síntese de proteínas como o colágeno na matriz extracelular, tal colágeno é constituído por um arranjo de feixes primários e secundários paralelos diminuídos conforme à superfície de inserção tendínea (IPPOLITO et al., 1980; MOORE; DE BEAUX, 1987; BUTLER et al., 1990).

De acordo com Zhang et al., (2016) durante o envelhecimento há predisposição de tendinopatias que acarretam rupturas dos tendões. Além disto, tal processo fisiológico induz aumento no depósito de lipídeos e diminuição da vascularização, bem como atenua o número de tenócitos e sua atividade celular de maneira a incutir maior risco de lesões. Tais autores utilizaram o exercício aeróbio de intensidade moderada como ferramenta de prevenção de lesões devido a cicatrização ser mais rápida nos ratos idosos que realizaram o treinamento através de maior expressão de tenócitos, fibras de colágeno e outras variáveis e sua consequente proteção do tecido tendíneo.

Com a privação hormonal (Grupo O) foi constatada atenuação do volume nuclear do tenócito, de modo a corroborar e associar o envelhecimento à ovariectomia e aos processos de degradação tecidual, relacionados com pesquisas de Dudhia et al., (2007) e McCharty et al., (2014).

Segundo Jakobsen, 2016, a JMT nos humanos apresenta heterogeneidade de fibras de colágeno, visto que o acréscimo de colágeno tipo XIV associado a quatro semanas de treinamento resistido pode aumentar a proteção contra lesões nesta região. Takagi et al., (2016) evidenciaram que o intenso depósito de colágeno na camada mais superficial do músculo esquelético pode indicar um papel mais importante que outros fatores na região lesionada do músculo mediante aos estímulos excêntricos subsequentes (RBE).

Segundo Lang et al., (2009) há decréscimo progressivo no volume muscular durante o envelhecimento, tal alteração remete em diminuição da força e resistência muscular e posteriormente em perda funcional e fragilidade, características da sarcopênicas.

Meng; Yu,. (2010) observaram que muitos mecanismos podem causar a sarcopenia, tais como estresse oxidativo, desnutrição, alterações hormonais, inflamação e inatividade. Verdijk et al., (2007) afirmou que outra possível causa de atrofia muscular em indivíduos idosos é a diminuição da quantidade e diferenciação das células satélite.

No grupo GS observou-se desorganização tecidual em decorrência do envelhecimento com características atróficas. Contudo, a JMT é uma estrutura dinâmica que se adapta aos estímulos a qual é imposta de diversas maneiras, como carga e descarga, de acordo com Knudsen et al., (2014).

De acordo com Kannus et al., (1992) a principal função da JMT é transmitir a força gerada pelas contrações intramusculares para as proteínas de tecido conjuntivo na matriz extracelular, o que acarreta os movimentos articulares.

Segundo Tidball, (1991) a habilidade da JMT transmitir a força gerada pode ser acentuada pelas invaginações da membrana, de maneira que diminui a força de cisalhamento devido ao aumento no campo de interação entre o músculo e o tendão.

No GT observou-se maior organização tecidual demonstrada por disposição paralela e comprimento das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, além de apresentar comunicações e subníveis de projeções do sarcolema, adaptações relacionadas ao exercício físico na plasticidade da JMT. De acordo com Cien et al., (2012) a JMT macroscopicamente na conexão músculo-tendão, localiza-se nas regiões distais em relação ao ventre muscular, próxima ao ponto móvel. Estudos sobre os componentes da JMT tem sido analisados em variados tipos de músculos, desde a fase recém-nascido até o envelhecimento no músculo esternomastóideo (CIENA, 2012); na fase adulta no músculo sóleo (ST PIEERE; TIDBALL 1994); sua associação ao exercício aeróbio em esteira nos músculos tibial anterior e gastrocnêmio (KOJIMA et al., 2008); em modelo de hipoatividade antigravitacional no músculo sóleo de primatas (ROFFINO et al., 2006); relacionados ao exercício resistido ao hormônio do crescimento, Growth Hormone no músculo plantar (CURZI et al., 2013); exercício aeróbio de diferentes intensidades e suas implicações na JMT do músculo extensor longo dos dedos (CURZI et al., 2016). Entretanto, ainda

existem alguns mecanismos não bem compreendidos nesta região, o que preconiza mais estudos morfológicos da JMT.

Com a privação hormonal, no GO apresentou-se atenuação no comprimento das invaginações sarcoplasmáticas - projeções da matriz extracelular, além de desorganização tecidual sem padrão de crescimento, inferindo atrofia dos tecidos. Segundo Kadi et al., (2002) a ovariectomia induz alterações nas propriedades contráteis do músculo esquelético e a associação do exercício em animais ovariectomizados com tratamento com estrogênio mantém o padrão de expressão da cadeia pesada de miosina (MyHC) em músculos de metabolismo oxidativo (sóleo) e glicolítico (extensor longo dos dedos).

No GOT, observaram-se maior comprimento das invaginações se comparado com GS e GO, bem como maior depósito de fibras de colágeno e organização das projeções sarcoplasmáticas. Com aumento da superfície de contato entre os tecidos evidenciado por acréscimo no comprimento das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, é possível relacionar melhor transmissão de força e consequentemente menor fragilidade em indivíduos idosos. Segundo Curzi et. al., (2013) o exercício intermitente associado à aplicação do hormônio do crescimento (GH) demonstrou melhorar e aumentar a área de interação entre os tecidos muscular e tendíneo, de modo a conservar a integridade da JMT em indivíduos com lesões crônicas ou agudas no músculo (CURZI, et al., 2013). Além disto, Curzi et al., (2015); Curzi et al., (2016) utilizou exercício aeróbio em diferentes intensidades, em intensidade moderada, a síntese de proteínas estruturais na lâmina basal e também no citoesqueleto induzem alterações morfológicas na JMT do músculo gastrocnêmio, aumentando a área de conexão entre os tecidos.

Contudo, pode-se afirmar que estas adaptações na região da junção miotendínea estão diretamente associadas aos benefícios do treinamento em relação com o processo fisiológico de envelhecimento e menopausa, bem como à atrofia tecidual.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se:

- O treinamento mostrou-se uma ferramenta importante no controle de massa corporal dos animais que realizaram o treinamento;
- Aumento na superfície de contato entre o tecido muscular e o tecido tendíneo, que compõem a Junção Miotendínea nos grupos treinados (GT e GOT);
- Apresentaram maior quantidade de fibras de colágeno e núcleos de tenócitos nos grupos GT e GOT devido ao treinamento de natação;
- Os grupos treinados apresentaram maior comprimento de invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, estruturas importantes na transmissão de força e resistência da JMT;
- No GOT apresentaram maior volume de fibras de colágeno na matriz extracelular, decorrente do processo cirúrgico e treinamento;

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJIRI, T.; KIMURA, T.; ITO, R.; INOKUCHI, S. Microfibrils in the myotendon junctions. **Acta Anatomica**, v. 102, p. 433-439, 1978.
- AMIEL, L.; FRANK, C.; HARWOOD F.; FRONEK J.; AKESON W. Tendons and ligaments: a morphological and biochemical comparison, **Journal of Orthopaedic Research**, v. 1, p. 257-265, 1984.
- AMIEL, L.; FRANK, C.; HARWOOD F.; FRONEK J.; AKESON W. Tendons and ligaments: a morphological and biochemical comparison, **Journal of Orthopaedic Research**, v. 1, p. 257-265, 1984.
- ARRUDA, E. R. B.; RODRIGUES, N. C.; TACIRO, C.; PARIZOTTO, N. A. Influência de diferentes comprimentos de onda da laserterapia de baixa intensidade na regeneração tendínea do rato após tenotomia. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 11, n. 4, p. 283-288, 2007.
- BABINSKI, M. A. Anatomia dos ovários: considerações clínico-patológicas. **Acta Scientiae Medica**, v. 5, p. 43-52, 2012.
- BAUMGARTNER, R. N.; KOEHLER, K. M.; GALLAGHER D. et al., Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico, **American Journal of Epidemiology**, vol. 147, pp. 755–763, 1998.
- BENJAMIN, M.; RALPHS, J. R. The cell and developmental biology of tendons and ligaments. **International review of cytology**. v. 196, p. 85-130, 2000.
- BOLINA, C. S.; BOLINA-MATOS, R. DE SOUZA.; ALVES, P. H. DE MATOS.; CURY, D. P.; CIENA. A. P.; WATANABE, I. Three-Dimensional Aspects of the Structural Characteristics and Kidney Angioarchitecture of Adult and Aged Wistar Rats: A Scanning Electron Microscopy Study. **Microscopy Research and Technique**, 76: 538-544, 2013.
- BUTLER, D. L.; SHEN, M. Y.; STOUFFER, D. C.; SAMARANAYAKE, V. A.; LEVY, M. S. Surface strain variation in human patellar tendon and knee cruciate ligaments. **Journal of Biomechanical Engineering**, v. 112, n. 1, p. 38-45, 1990.
- CHANG, T.; HUANG, C.; HUANG, C.; CHEN, H.; CHENG, C. The influence of long-term treadmill exercise on bone mass and articular cartilage in ovariectomized rats. **BMC Musculoskeletal Disorders**. v. 11, p. 185, 2010.
- CHRISTGAU, S.; TANKÓ, L.B.; CLOOS, A.C.; MOURITZEN U.; CHRISTIANSEN, C.; DELAISSÉ, J.; HØEGH-ANDERSEN, P. Suppression of elevated cartilage turnover in postmenopausal women and in ovariectomized rats by estrogen and a selective estrogen-receptor modulator (SERM). **Menopause: The Journal of The North American Menopause Society**, v. 11, n 5, p. 508-518, 2004.
- CIABATTARI, O.; DAL PAI, A.; DAL PAI, V. Efeito da natação associado a diferentes dietas sobre o músculo tibial anterior do rato: estudo morfológico e histoquímico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, p. 121-5, 2005.
- CIENA, A. P.; ALMEIDA, S. R.Y.; ALVES, P.H.; BOLINA-MATOS, R. S.; DIAS, F. J.; ISSA, J. P.; IYOMASA, M. M.; WATANABE, I. Histochemical and ultrastructural changes of sternomastoid muscle in aged Wistar rats. **Micron**, v. 42, n. 8, p. 871-876, 2011.

CIENA, A. P.; DE ALMEIDA, S. R. Y.; BOLINA, C. S.; BOLINA-MATOS, R. S.; RICCI, G.; ELI, R.; DA SILVA, M. C. P.; MIGLINO, M. A.; WATANABE, I. Ultrastructural Features of the Myotendinous Junction of the Sternomastoid Muscle in Wistar Rats: From Newborn to aging. **Microscopy Research Technique**. v. 75, n.9, p. 1292-1296, 2012.

CIENA, A. P.; LUQUES, I. U.; DIAS, F.J.; ALMEIDA, S.R.Y.; IYOMASA, M.M.; WATANABE, I. Ultrastructure of the myotendinous junction of the medial pterygoid muscle of adult and aged Wistar rats, **Micron**, v.41, n. 8, p. 1011-1014, 2010.

CLARK, K. A. et al. Striated muscle cytoarchitecture: an intricate web of form and function. **Annual review of cell and developmental biology**, v. 18, n. 1, p. 637-706, 2002.

CUNHA, C. E. W. et al. Os exercícios resistidos e a osteoporose em idosos. **RBPfEX-Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, v. 1, n. 1, 2007.

CURZI, D. et al. Morphogenesis of rat myotendinous junction. **Muscles, ligaments and tendons journal**, v. 3, n. 4, p. 275, 2013.

CURZI, D.; BALDASSARRI, V.; DE MATTEIS, R.; SALAMANNA, F.; BOLOTTA, A.; FRIZZIERO, A.; FALCIERI, E. Morphological adaptation and protein modulation of myotendinous junction following moderate aerobic training. **Histology and histopathology**, v. 30, n. 4, p. 465-472, 2015.

CURZI, D.; SARTINI, S.; GUESCINI, M.; LATTANZI, D.; DI PALMA, M.; AMBROGINI, P. Effect of Different Exercise Intensities on the Myotendinous Junction Plasticity. **PLoS ONE**. 2016

DANGELO, J. G.; FATTINI, C.A. **ANATOMIA HUMANA: Sistêmica e Segmentar**. 3 ed. revista. São Paulo: Atheneu, 2011.

DE PALMA, L.; MARINELLI, M.; BERTONI-FREDDARI, C. Involvement of the muscle-tendon junction in skeletal muscle atrophy: an ultrastructural study. **Rom J Morphol Embryol**. p 105–109, 2011.

DECONINCK, A. E.; RAFAEL, J. A.; SKINNER, J. A.; BROWN, S. C.; POTTER, A. C.; METZINGER, L.; WATTA, D. J.; DICKSON, J. G.; TINSLEY, J. M.; DAVIES, K. E. Utrophin-dystrophin-deficient mice as a model for Duchenne muscular dystrophy. **Cell**, v. 90, n. 4, 1997.

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.

DUDHIA J.; SCOTT C. M.; DRAPER E. R.C.; HEINEGARD D.; PITSILLIDES A. A.; SMITH R. K. Aging enhances a mechanically-induced reduction in tendon strenght by an active process involving matrix metalloproteinase activity. **Aging Cell**.6:547-556. 2007.

DURO, C. C.; CIENA, A. P.; ALMEIDA, S. R. Y.; RIGHETTI, M. . S.; GRISOLLA, D. F.; ISSA, J. P. M.; DA SILVA, M. C. P.; WATANABE. I. Qualitative Study of Young, Adult, and Aged Wistar Rats Temporomandibular Synovial Membrane Employing Light, Scanning, and Transmission Electron Microscopy. **Microscopy Research and Technique**, v.75, n.11, p. 1522-1527, 2012.

ENDLICH, P. W.; CLAUDIO, E.R.G.; GONÇALVES, W.L.S.; GOUVÊA, S.A.; MOYSÉS, M.R.; ABREU, G.R. Swimming training prevents fat deposition and

decreases angiotensinII-induced coronary vasoconstriction in ovariectomized rats. **Peptides**, v. 47, p. 29-35, 2013.

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

FONTINELE, R. G.; MARIOTTI, V. B.; VAZZOLERE, A. M.; FERRÃO, J. S. P.; JUNIOR, J. R. K.; SOUZA, R. R. Menopause, Exercise, and Knee. What Happens? **Microscopy Research and Technique**, v. 76, p. 381–387, 2013.

GREFTE, S.; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M.; TORENSMA, R.; VON DEN HOFF, J. W. Skeletal muscle development and regeneration. **Stem cells and development**, v. 16, n. 5, p. 857-868, 2007.

HUIJING, P. A. Muscular force transmission : a unified, dual or multiple system? A review and some explorative experimental results. **Archives of Physiology and Biochemistry**, v. 107, n. 4, p. 292-311, 1999.

IPPOLITO, E.; NATALI, P. G.; POSTACCHINI, F.; ACCINI, L.; DE MARTINO, C. Morphological, immunochemical, and biochemical study of rabbit achilles tendo at various ages. **The Journal of none of Joint Surgery**, v. 62, n. 4, p. 583-598, 1980.

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**, 2016.

JANSSEN, I.; HEYMSFIELD, S. B.; ROSS, R. "Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability," **Journal of the American Geriatrics Society**, vol. 50, no. 5, pp. 889–896, 2002.

JOZSA L, KANNUS P. Human Tendons: Anatomy, Physiology, and Pathology. **Champaign, IL: Human Kinetics**, 1997.

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.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**: texto/atlas. 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KADI, F.; KARLSSON, C.; LARSSON, B.; ERIKSSON, J.; LARVAL, M.; BILLIG, H.; & JONSDOTTIR, I. H. The effects of physical activity and estrogen treatment on rat fast and slow skeletal muscles following ovariectomy. **Journal of Muscle Research & Cell Motility**, 23(4), p. 335-339, 2002.

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

KANNUS, P.; JOZSA, L.; KVIST, M.; LEHTO, M.; JARVINEN, M. The effects of immobilization on myotendinous junction: an ultrastructural, histochemical and immunohistochemical study. **Acta Physiological Scandinavica**, v. 144, n.3, 1992.

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.

KJAER, M.; MAGNUSSON, P.; KROGSGAARD, M.; MØLLER, J. B.; OLESEN, J.; HEINEMEIER, K.; LANGBERG, H. Extracellular matrix adaptation of tendon and skeletal muscle to exercise. **Journal of Anatomy**, v. 208, n. 4, p. 445-450, 2006.

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

KNUDSEN, A. B. et al. The human myotendinous junction: An ultrastructural and 3D analysis study. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 25, n. 1, p. e116-e123, 2015.

KOJIMA, H. et al. Ultrastructural changes at the myotendinous junction induced by exercise. **Journal of Orthopaedic Science**, v. 13, n. 3, p. 233-239, 2008.

LANG, T.; STREEPER, T.; CAWTHON, P.; BALDWIN, K.; TAAFFE, D. R.; HARRIS, T. B.; Sarcopenia: etiology, clinical consequences, intervention and assessment. **Osteoporosis International**, v. 21, n. 4, p.543-559, 2009.

LAZAR, J. M.; KHANNA, N.; CHESLER, R.; SALCICCIOLI, L. Swimming and the heart. **International Journal of Cardiology**, v. 168, p. 19-26, 2013.

LIGHT, N.; CHAMPION, A. E. Characterization of muscle epimysium, perimysium and endomysium collagens. **Biochemical Journal**, v. 219, n. 3, p. 1017-1026, 1984.

MCCHARTY M. M.; HANNAFIN J. A. The Mature Athlete: Aging Tendon and Ligament. **Sports Health**.;6(1):41-48. 2014.

MACDOUGALL, J. D. Hypertrophy and hyperplasia. **Strength and Power in Sport**. p. 252, 2008.

MAFFULLI, N.; BARRASS, V.; EWEN, S. W. B. Light Microscopic Histology of Achilles Tendon Ruptures A Comparison With Unruptured Tendons. **The American journal of sports medicine**, v. 28, n. 6, p. 857-863, 2001.

MATSUDO, S. M. M. Envelhecimento e Atividade Física, **Midiograf**, Londrina, Brazil, 1st edition, 2001.

MENG, S. J.; YU, L. J. Oxidative stress, molecular inflammation and sarcopenia. **International of Molecular Science**, v. 11, n. 4, p. 1509-1526, 2010.

MOORE, N. L.; DE BEAUX, A. A quantitative ultrastructural study of rat tendo from birth to maturity. **Journal of Anatomy**, v. 153, p. 163-169, 1987.

OLIVEIRA, A. R. de. Efeitos da terapia laser de baixa intensidade associada ao exercício aeróbio no reparo de tenotomia do tendão de aquiles de ratos diabéticos. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

OMS, 2010, <http://www.who.int/ageing/publications/globalhealth.pdf>.

PADDON-JONES,; RASMUSSEN B. B. Dietary protein recommendations and the prevention of sarcopenia, **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, vol. 12,n 1, pp. 86–90, 2009.

PESTANA, P. R. D.; ALVES, A. N.; FERNANDES, K. P. S.; JUNIOR, J. A. S.; FRANCA, C. M.; BUSSADORI, S. K.; MESQUITA-FERRARI, R. A. Efeito da natação na expressão de fatores regulatórios miogênicos durante o reparo do musculoesquelético de rato. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 18, n.6, p. 419-722, 2012.

- RODRIGUEZ-GUZMAN M, M. A. J.; SANTESTEBAN, E.; GANAN, Y.; MACIAS, D.; HURLE, J. M. Tendon-muscle crosstalk controls muscle bellies morphogenesis, which is mediated by cell death and retinoic signaling. **Developmental Biology**, v. 302, n. 1, 2007.
- ROFFINO, S. et al. Structural remodeling of unweighted soleus myotendinous junction in monkey. **Comptes rendus biologies**, v. 329, n. 3, p. 172-179, 2006.
- ROSS, M. H.; PAWLINA, W. **Histologia Texto e Atlas-em correlação com biologia celular e molecular**. 2008.
- ROWLERSON, A.; VEGGETTI, A. 5. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species. **Fish physiology**, v. 18, p. 103-140, 2001.
- SAWADA, H.; ISHIKAWA, H.; YAMADA, E. High resolution scanning electron microscopy of frog satorius muscle. **Tissue & Cell**, v. 10, n. 1, 1978.
- SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada**. 5 ed. São Paulo: Artmed, p.959, 2010.
- SOBOTTA, J. Atlas de Anatomia Humana. 23ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- ST PIERRE, B. A.; TIDBALL, JAMES, G. Macrophage activation and muscle remodeling at myotendinous junctions after modifications in muscle loading. **The American journal of pathology**, v. 145, n. 6, p. 1463, 1994.
- TAKAGI, R.; OGASAWARA, R.; TSUTAKI, A.; NAKAZATO, K.; ISHII, N. Regional adaptation of collagen in skeletal muscle to repeated bouts of strenuous eccentric exercise. **Pflugers Arch - Eur J Physiol**. 468:1565–1572, 2016.
- TAJSHARGHI, H. Thick and thin filament gene mutations in striated muscle diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 9, n. 7, p. 1259-1275, 2008.
- TIDBALL, J. G. Force transmission across muscle cell membranes. **Journal of biomechanics**, v. 24, p. 43-52, 1991.
- TIDBALL, J. G.; SALEM, G.; ZERNICK, R. Site and mechanical conditions for failure of skeletal muscle in experimental strain injuries. **Journal of applied physiology**, v.74, n.3, p. 1280-1286, 1993.
- TORTORA, G.J.; DERRICKSON, B. **Corpo Humano: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia**. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed, p. 86-97, 2012.
- TROTTER, J. A.; Structure-function considerations of muscle-tendon junctions. **Comparative Biochemistry and Physiology – Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 133, n. 4, 2002.
- VERDIJK, L. B.; KOOPMAN, R.; SCHAART, G.; MEIJER, K.; SAVELBERG, H. H.; VAN LOON, L. J. Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fiber in the elderly. **American Journal of Physiology**, v. 292, n. 1, p. E151-E157, 2007.
- ZHANG, J., YUAN, T., & WANG, J.). Moderate treadmill running exercise prior to tendon injury enhances wound healing in aging rats. **Oncotarget**, 7(8), 8498-8512 2016.