
EDUCAÇÃO FÍSICA

MARCELA COFFACCI DE LIMA VILIOD

**RESPOSTAS MORFOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO
MÚSCULO SÓLEO AO TREINAMENTO DE SALTO
VERTICAL EM MEIO LÍQUIDO E SUA REPERCUSSÃO
NA JUNÇÃO MIOTENDÍNEA**



Rio Claro
2019

MARCELA COFFACCI DE LIMA VILIOD

RESPOSTAS MORFOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO
MÚSCULO SÓLEO AO TREINAMENTO DE SALTO
VERTICAL EM MEIO LÍQUIDO E SUA REPERCUSSÃO NA
JUNÇÃO MIOTENDÍNEA

Orientador: Prof. Dr. Adriano Polican Ciena

Co-orientadora: Lara Caetano Rocha

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

Rio Claro

2019

V711r

Viliod, Marcela Coffacci de Lima

Respostas morfológicas e bioquímicas do músculo sóleo ao treinamento de salto vertical em meio líquido e sua repercussão na junção miotendínea /

Marcela Coffacci de Lima Viliod. -- Rio Claro, 2019

40 f. : il., tabs., fotos

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

Orientador: Adriano Polican Ciena

Coorientadora: Lara Caetano Rocha

1. Músculo esquelético. 2. Músculo sóleo. 3. Morfologia. 4. Exercício físico.
5. Saltos. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

Aos meus avós, pais e irmã.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço aos meus pais, Maristela e Olyntho, por terem me apoiado, incentivado e proporcionado total apoio nesta nova escolha de vida, prometo que é a última. Assim como, agradeço a minha irmã Eduarda por todos os finais de semestre apoiados mutuamente.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Adriano Polican Ciena pela paciência, incentivo e confiança em meu trabalho sempre.

Aos meus amigos do RURC, que estiveram comigo na alegria e na tristeza, na saúde e nas lesões, crescendo, nos desenvolvendo e fazendo os melhores terceiros tempos. Entrei no time apenas como expectadora e saio sabendo que dei meu melhor e fiz a diferença, mas isso não se faz sozinho.

Por fim, agradeço a República Pocas & Boas, Meia Coxa, Dede, Bia e Noel, que me acompanham desde os primeiros dias em Rio Claro. É com muito carinho e álcool que guardarei todas nossas lembranças.

AGRADECIMENTO

Gostaria de agradecer ao LAMAF e todos seus integrantes por momentos de risadas, apoio e muito trabalho científico realizado com a maior qualidade, sempre. Serei sempre grata ao Vinicius, que me acompanhou e auxiliou por tantas horas durante o treinamento, Jurandyr e Lara pelo apoio inesquecível e inestimável durante o trabalho. Obrigada a Gabriela e a Isabella por me ajudar em tantos momentos, permitindo eu finalizar todos os passos sem desanimar. Não menos importante, obrigada a todos os ratos *Wistar* que participaram de todos os treinos e resultaram em um trabalho que apesar de cansativo, me encheu de orgulho o resultado final.

Agradeço aos técnicos de laboratório por todo apoio e auxílio que forneceram durante a realização deste projeto, proporcionando a realização do mesmo.

Agradeço enormemente a meus colegas acadêmicos, amigos e professores que durante a minha passagem pela Unesp Rio Claro construíram alguém melhor do que pensei que seria possível.

“Não são as espécies mais fortes que sobrevivem,
nem as mais inteligentes, mas sim as que melhor
se adaptam ao ambiente”

- Charles Darwin

RESUMO

O músculo estriado esquelético é responsável pela locomoção, geração de calor, entre outras características fisiológicas. Devido sua alta plasticidade o músculo esquelético se adapta a diversos estímulos, o mecânico é o principal. Para que as ações do tecido muscular sejam transmitidas aos ossos há o tecido tendíneo qual une os dois sistemas. A principal área de transmissão de força entre estes dois tecidos é a junção miotendínea (JMT), que é altamente especializada e susceptível a lesões devido sua constante ativação. O músculo sóleo é um dos responsáveis em realizar a propulsão vertical, movimento realizado diariamente, tanto durante a prática esportiva como em atividades diárias como a locomoção. O objetivo do presente estudo consistiu em descrever as características morfológicas do ventre e da junção miotendínea do músculo sóleo de ratos *Wistar* adultos submetidos ao treinamento de salto vertical. Foi realizado o protocolo de salto vertical em meio líquido, onde o grupo Esporádico (ESP) realizou o treinamento 1x/semana, até a falha, enquanto o grupo Treinado (TR) realizou o treinamento 3x/ semana, com 4 séries de 10 saltos. O grupo Sedentário (S) não realizou o protocolo de treinamento de salto. Após eutanásia, o músculo sóleo foi dissecado e as amostras foram submetidas a técnica de microscopia de luz com coloração hematoxilina–eosina e picro-sírus para observar característica celular, tecido conjuntivo e realizar através da binarização das imagens para análise de dimensão fractal. A técnica histoquímica de ATPase miofibrilar foi realizada para identificar os tipos e quantificar a área de secção transversa dos tipos de fibras I, IIA e IIx. Tanto no ventre como na JMT houveram alterações morfológicas, no qual o grupo TR apresentou menor desorganização tecidual no ventre e maior atividade celular na JMT. O grupo ESP apresentou mudanças morfológicas, porém maior desorganização celular e de tecido conjuntivo. Ambos os grupos que realizaram o salto apresentaram alterações na área do tipo de fibra, com aumento das fibras tipo IIA e IIx. Concluímos que quando no treinamento realizado de forma periodizada e controlada ocorrem alterações no ventre e na JMT que favorecem a realização e transmissão de força de forma otimizada, reduzindo o potencial riscos de lesões na região da junção miotendínea. Entretanto, como diferencial, o estudo mostra que o exercício realizado sem periodicidade pode ser um potencializador de lesão, uma vez que a JMT passa a ter grande desorganização tecidual e aumento de tecido conjuntivo na região intersticial, reduzindo assim sua elasticidade.

Palavras-chave: Tecido muscular; Músculo sóleo; Exercício físico; Salto vertical; Junção miotendínea.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	8
1.1.	Músculo estriado esquelético.....	8
1.2.	Tecido tendíneo	9
1.3.	Junção miotendínea.....	10
1.4.	Treinamento físico	12
2.	OBJETIVO GERAL.....	14
2.1.	Objetivo específico.....	14
3.	MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1.	Animais	15
3.2.	Massa Corporal	15
3.3.	Salto Vertical.....	16
3.3.1.	<i>Adaptação aos Protocolos de treinamentos</i>	16
3.3.2.	<i>Protocolos de treinamentos</i>	16
3.4.	Massa muscular.....	17
3.5.	Microscopia de Luz	17
3.6.	Dimensão fractal	17
3.7.	Análise Histoquímica (ATPase miofibrilar)	18
3.8.	Área de Secção Transversa	18
4.	RESULTADOS	19
4.1.	Massa corporal	19
4.2.	Microscopia de luz	20
4.3.	Dimensão fractal	22
4.4.	Área de secção transversa	24
5.	DISCUSSÃO	25
6.	CONCLUSÃO	30
7.	REFERÊNCIAS	31
8.	ANEXOS.....	39
8.1.	Comitê de Ética	39
8.2.	XXXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP	40

1. INTRODUÇÃO

1.1. Músculo estriado esquelético

O tecido muscular esquelético é o mais abundante do corpo humano constitui 40 – 45% da massa corporal de um adulto (TRICOLI, 2013). Entre as funções principais estão a locomoção, produção de calor e ações metabólicas em geral, além disso, possui capacidade de alterações de acordo com os estímulos recebido do meio externo e interno, com o estímulo mecânico o principal (PETTE; STARON, 2000; SHEPSTONE et al., 2005; TRICOLI, 2013).

Entre as principais capacidades do tecido muscular esquelético estão a contratilidade, extensibilidade e elasticidade, o único controlado pelo sistema nervoso somático, assim as ações motoras são voluntárias (NIGG; HERZOG 2007). Para que ocorra as ações motoras é necessário que o músculo esteja conectado aos ossos através de um ponto fixo e um móvel, onde o ponto fixo consiste no local onde o tendão se fixa na superfície óssea mais estável, e o ponto móvel refere-se à inserção muscular onde a articulação é móvel e realiza os movimentos do segmento (LIEBER et al., 2017).

A região medial do músculo é denominada ventre constituído de fascículos musculares revestidos por tecido conjuntivo, o epimísio. Os fascículos constituem-se em fibras musculares revestidos de tecido conjuntivo, o perimísio. As fibras musculares possuem característica alongada, multinucleada e cilíndrica, estando envoltas em tecido conjuntivo, o endomísio (NIGG; HERZOG, 2007; NOURISSAT; BERENBAUM; DUPREZ, 2015).

O tecido possui característica estriada devido a sua unidade básica, o sarcômero, presente de forma seriada, que consiste em miofilamentos proteicos de actina e miosina entre outras proteínas, delimitado por duas linhas Z, com uma banda isotrópica, banda I, entre tais linhas, compostas de filamentos de actina, ao centro a banda A é composta de filamentos de miosina, transpassada pela zona H, onde não há sobreposição de filamentos finos, com uma estreita faixa ao centro, denominada linha M (CRAIG; PADRÓN, 2004; SANTOS et al., 2013; LIEBER et al., 2017).

Apesar de possuir mesma estrutura organizacional, o sarcômero, a velocidade de contração não é igual para todas as fibras musculares, podendo variar de acordo com sua resistência a fadiga, densidade de mitocôndrias, além das

propriedades químicas, biomecânicas e fisiológicas (CROWTHER et al., 2002; QAISAR et al., 2016).

No tecido muscular as células satélites são mioblastos quiescentes que atuam na alteração da característica da fibra, uma vez que atua na regeneração celular, adaptação ao treinamento e recuperação de lesões musculares (SEALE; RUDNICKI, 2000; FRY et al., 2014; DUMONT et al., 2015).

Assim, as fibras se diferenciam de acordo com o recrutamento e metabolismo bioquímico, podendo ser classificadas em glicolíticas ou oxidativas. As fibras de tipo I – oxidativa – são de contração lenta e resistentes a fadiga. Fibras do tipo IIA – intermediária – são de contração rápida e resistentes a fadiga. Fibras do tipo IIB – glicolítica – são relativamente resistentes a fadiga e de contração rápida (WESTERBLAD; BRUTON; KATZ, 2010; CIENA et al., 2011; FRY et al., 2014).

A locomoção possui o grupamento dos flexores constituídos pelos músculos plantar, sóleo, gastrocnêmico medial e lateral, situados na região posterior da perna. Estes são essenciais para gerar a força necessária para que o deslocamento vertical e a progressão horizontal ocorram durante atividades físicas como as caminhadas e corridas (ANDERSON; PANDY, 2003; LAI et al., 2015). O músculo sóleo possui como principal função a flexão plantar, e com ponto fixo na parte proximal e posterior da fíbula, septo intermuscular e na linha solear, enquanto o ponto móvel é localizado na face medial da tíbia e cabeça da fíbula, e na inserção distal do calcâneo, é innervado pelo nervo tibial (AGUR et al., 2003; STANDRING et al., 2005; BERTOLINI et al., 2010).

1.2. Tecido tendíneo

Os tendões são estruturas anatômicas brancas e brilhantes, de textura fibrosa, localizada entre os músculos e os ossos, estendendo-se em aponeuroses (NOURISSAT; BERENBAUM; DUPREZ, 2015). A principal função é transmitir a força gerada nos músculos para os ossos, tornando possível realizar movimentos tanto voluntários como involuntários, de forma controlada e eficaz (BASTOS, 2008).

Sua função é viável devido a composição por fâscias, que são formadas por feixes espessos de fibras de colágeno alinhadas a um eixo paralelo, porém com fibras que também se orientam longitudinalmente, transversalmente e horizontalmente, possibilitando máxima resistência a forças de tração (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1990). Assim, o tendão conecta o músculo ao osso, transmitindo a

força de contração e que possibilita a manutenção postural, a realização e controle de movimentos (NOURISSAT; BERENBAUM; DUPREZ, 2015).

Por ser uma estrutura fibrosa sob constante estresse se molda de acordo com a sua necessidade, pode então variar em forma, largura, espessura ou disposição (BUTLER et al., 2004). Formado majoritariamente por tenócitos e tenoblastos, que constitui até 90% dos elementos celulares do tendão, o mesmo se organiza em fâscias, formado por colágenos de grande calibre, junto de fibroblastos dispostos paralelamente e de forma alongada (LIN et al., 2004; DORAL et al., 2010; NOURISSAT; BERENBAUM; DUPREZ 2015; LIEBER et al., 2017).

O tendão é composto por quatro feixes constituídos por fibrilas de colágeno que forma uma fibra de colágeno, que é a unidade básica e considerado a estrutura secundária. Cada fibra de colágeno possui fibroblastos em seu meio, e é revestido pelo endotendão, formando a estrutura terciária ou fascículo. Um conjunto de fascículos revestidos pelo peritendão constitui o tendão, possuindo diâmetro entre 100 – 500 μm (KANNUS, 2000; NOURISSAT; BERENBAUM; DUPREZ 2015).

As células do tecido conjuntivo são biologicamente ativas, capazes de distinguir e transduzir estímulos mecânicos, possibilitando sua adaptação de acordo com a necessidade (KJÆR et al., 2004). Os estímulos mecânicos são transformados em estímulo químico e influencia assim a morfologia, bioquímica e arquitetura da musculatura esquelética (CAIERÃO; TEODORI; MINAMOTO 2007).

Desta forma, a realização de atividade física é um fator que altera a biologia do tecido conjuntivo, tal qual do muscular. A síntese de colágeno é um dos exemplos, tendo em vista que quanto maior a atividade aeróbica, maior a síntese de colágeno (TAKALA; VIRTANEN, 2000). Assim, é esperado o encontro de alterações tanto na musculatura como na junção miotendínea de indivíduos submetidos a atividade física.

1.3. Junção miotendínea

A junção miotendínea (JMT) consiste em uma região especializada, localizada entre os tecidos muscular e tendíneo, possui área de grande transmissão de força (CHARVET; RUGGIERO; LE GUELLEC, 2012). Presente nas extremidades da região distal dos músculos, a JMT por ser plástica, sofre adaptações de acordo com o estímulo, função, disposição e composição histoquímica miofibrilar. Assim, sua principal função é transmitir a força realizada pelo músculo para o tecido

tendíneo, na qual resulta em alterações morfológicas e funcionais na região (CIENA et al., 2011; CIENA et al. 2012; LIEBER et al., 2017).

Estruturalmente, a junção apresenta formação em “*finger-like process*”, onde invaginações, evaginações delgadas e longas amplificam o contato entre os tecidos, que propicia assim maior resistência e força muscular, uma vez que há aumento da área de contato entre os tecidos, reduz o estresse na área devido à diminuição dos vetores de força que proporcionam as forças de cisalhamento (CHARVET; RUGGIERO; LE GUELLEC, 2012; KNUDSEN et al., 2015).

O processo das invaginação sarcoplasmáticas ocorrem como projeções longas e delgadas da matriz extracelular em direção a meio intracelular das células musculares. As evaginações são formadas por dobras da membrana sarcoplasmática, dispostas de forma longitudinal as fibras musculares, em direção ao tendão (KOJIMA et al. 2008; CIENA et al., 2010; JACOB et al., 2019).

No tecido muscular há o acúmulo de filamentos de ligação enviados pela linha Z do sarcômero distal contra o tecido tendíneo, o que propicia que haja formação de projeções longas e delgadas que se associam a proteínas da matriz extracelular, o sistema de ancoragem (CHARVET; RUGGIERO; LE GUELLEC, 2012; CURZI, 2016).

Apesar de diferir na origem embrionário e na composição, a interação entre os dois tecidos resultam em um complexo sistema de ancoragem (CURZI, 2016). Mesmo altamente especializado, quando submetido a grande estresse mecânico há incidência de lesões (CURZI et al., 2012; GAO et al., 2008), portanto principalmente no esporte, onde o estímulo é intenso e constante além da grande transferência de força, promovem maior incidência de lesões associadas a JMT (JAKOBSEN et al., 2016; JAKOBSEN et al., 2018).

Ainda são escassos os estudos relacionando quais as alterações/benefícios na JMT provenientes de atividade física, porém, recentes estudos relataram a realização de força isométrica, cargas incrementais ou exercícios aeróbicos como causadores de adaptações morfológicas na interface músculo – tendão, propiciando assim a melhor transmissão de força e consequentemente reduzindo áreas susceptíveis a maiores vetores, podendo assim estar relacionado a redução da disposição a lesão (JAKOBSEN et al., 2016; SIERRA et al., 2018; JAKOBSEN et al., 2018; PIMENTEL – NETO 2018; JACOB et al., 2019)

1.4. Treinamento físico

O salto vertical não é uma atividade restrita a atletas, e sim presente em atividades individuais e em equipe, dentro ou fora do meio desportivo (MASCHERINI et al. 2019). Entre os praticantes de atividade física o salto vertical é um dos parâmetros indiretos utilizados para determinar a força e potência muscular de membros inferiores (KÖKLÜ et al., 2015; MOURA et al., 2018; ZIV; LIDOR, 2010).

O salto vertical é um movimento complexo, que envolve a coordenação neuromotora de diversos segmentos corporais, o controle da utilização da força muscular e da capacidade de gerar movimento articular compatível com a tarefa para ser otimizado (BOBBERT; VAN SOEST, 1994; RODACKI; FOWLER; BENNETT, 2002). Desta forma, entre praticantes de atividade física constante a melhor forma de aprimorar seus resultados é através de treinamento, realizado de forma periodizada (BOMPA; BUZZICHELLI, 2018).

Assim, a periodização do treino, que é definido como a realização sistemática, sequencial e progressiva a um planejamento de treino, onde todas as qualidades motoras estão envolvidas, dispostas em formato cíclico entre ação e descanso, para obter um ótimo rendimento, é a forma mais eficiente de treinamento (DeWEESE et al., 2015).

O treino realizado de forma periodizada promove diferentes adaptações ao indivíduo, que resulta na melhora de performance, entre adaptações mais relevantes estão a redução da massa gorda, melhora da capacidade oxidativa muscular, aumento da capacidade de armazenar energia, alteração no conteúdo glicolítico muscular e possibilidade de atingir o máximo de transporte de glicose no tecido muscular (TERADA et al., 2004; GIBALA et al., 2006). Consequentemente, entre os efeitos resultantes de tais alterações estão a mudança do gasto energético durante o exercício, o débito cardíaco e os limiares aeróbicos e anaeróbicos alterados (BARBOSA et al., 2008; ZAMPARO et al., 2010).

Exercícios realizados no meio aquoso apresentam alterações em comparação ao meio terrestre, uma vez que a viscosidade e a capacidade de flutuação alteram como o corpo responde ao movimento (CHIEN et al., 2019). Saltos verticais realizados em meio aquático apresentam aumento da força muscular e redução da potência, tal qual menor impacto articular, portanto reduz índices de lesões concomitantemente promove alterações musculares positivas para geração de força muscular (LOUDER; DOLNY; BRESSEL, 2018).

O músculo sóleo é importante na marcha, ativo tanto na fase de apoio quanto na fase de balanço. Ainda atua na fase de estabilização corporal em momentos de equilíbrio, por ser um músculo associado ao comportamento postural e antigravitacional. Possui como principal função a flexão plantar, movimento esse realizado na marcha, portanto, também durante atividade física como em ações diárias que envolvem saltos, saltitos, corridas, caminhadas e alongamentos.

Por ser constantemente recrutado, é de grande interesse que a capacidade de transmissão de força entre músculo e tendão seja alta e atue de forma efetiva, propiciando assim a melhor utilização muscular sem que haja riscos de lesão na região da JMT. Entretanto, pouco se sabe sobre a região da JMT do músculo sóleo quando o mesmo realiza a sua principal função: flexão plantar durante a realização do salto vertical.

Desta forma, o presente estudo buscou proporcionar a investigação acerca da junção miotendínea quando a mesma é recrutada de forma constante e direcionada através de atividade física programada (salto vertical), além de simular a realização de atividade física semelhante ao lazer, sem periodicidade ou planejamento.

2. OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente estudo consistiu em descrever as características morfológicas do ventre e da junção miotendínea do músculo sóleo de ratos *Wistar* adultos submetidos ao treinamento de salto vertical.

2.1. Objetivo específico

- Apresentar as alterações estruturais na junção miotendínea e no ventre muscular após treinamento de salto vertical em meio líquido;
- Quantificar a organização mionuclear e da área de colágeno intersticial através da análise de dimensão fractal;
- Revelar os diferentes tipos de fibras musculares através da histoquímica - ATPase miofibrilar;
- Mensurar a área de secção transversa (AST) das fibras dos Tipos I, IIA e IIX;

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados 24 ratos *Wistar* adultos, com 90 dias de idade, distribuídos em três grupos (n=8):

- **Sedentário (S):** não foram submetidos a qualquer intervenção;
- **Salto Esporádico (ESP):** foram submetidos ao treinamento de salto vertical esporádico semanal (1x/semana);
- **Salto Treinado (TR):** foram submetidos ao protocolo de treinamento de salto vertical durante 4 semanas (3x/semana).

Todos os animais foram oriundos do Biotério Central da UNESP – Campus Botucatu. Foram alocados no Biotério Setorial no Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física do Instituto de Biociências da UNESP – Campus Rio Claro. Os animais foram mantidos em gaiolas com cinco ratos cada, com temperatura monitorada (23 ± 2 °C) e em períodos de 12 horas claro/escuro, alimentados com ração padrão e água “*ad libitum*”. Todos os procedimentos adotados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA do Instituto de Biociências da UNESP – Campus Rio Claro, protocolo nº 2285.

3.2. Massa Corporal

Os animais foram submetidos a mensuração de massa corporal, através de uma balança digital (SF-400 TOMATE), semanalmente durante todo o período experimental para avaliação e elaboração das sobrecargas utilizadas nos grupos Periodizado e Esporádico.

O protocolo foi dividido em três períodos, o primeiro período ao início da adaptação ao nado, onde os ratos possuíam 90 dias de vida. O segundo período equivale ao tempo de protocolos de treinamento, portanto as 4 semanas que foram submetidos ao salto vertical. O terceiro período representa ao término do treinamento.

Após a obtenção das médias e desvio padrões, os dados foram analisados estatisticamente através do software *Graph Pad Prism 7®*, com teste *ANOVA two – way* e pós teste de *Bonferroni*, com nível de significância estabelecido de $p < 0,05$.

3.3. Salto Vertical

Os grupos ESP e TR realizaram o salto vertical em tanques retangulares com 30cm de água aquecida (30°C). Para que não houvesse dispersão dos animais, os mesmos permaneciam separados em tubos de PVC (Cloreto de Polivinila) com 24cm de diâmetro, 50cm de comprimento (Figura 1).

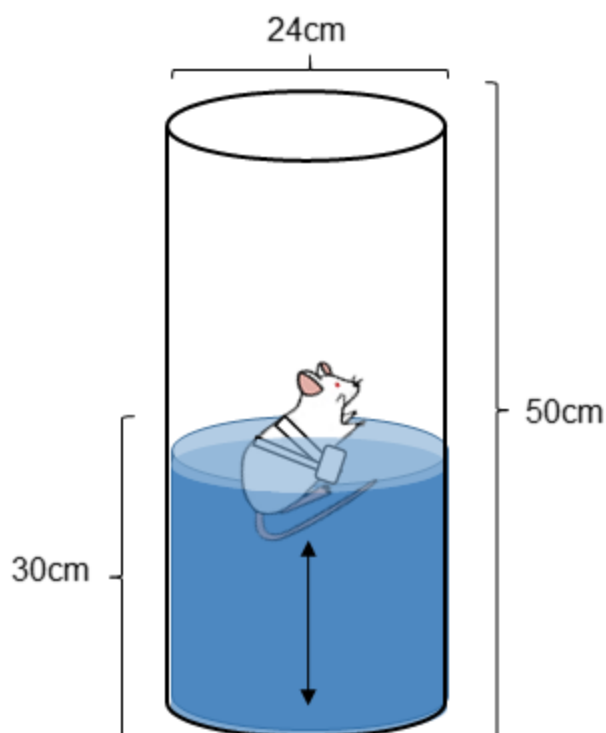


Figura 1. Ilustração do protocolo de salto vertical. Fonte: Autor.

3.3.1. Adaptação aos Protocolos de treinamentos

Os animais foram submetidos a adaptação ao meio líquido ao completar 90 dias de vida. A adaptação durou 5 dias, e apenas os animais dos Grupos ESP e TR foram submetidos ao nado. Na adaptação foram realizados nados incrementais, sem sobrecarga, com períodos crescentes de 5 à 30 minutos com intervalo de 24h.

3.3.2. Protocolos de treinamentos

Os protocolos de treinamentos tiveram início após o período de adaptação dos grupos ESP e TR. Foi adicionado ao dorso do animal sobrecarga de 50% da massa corporal que auxiliou na tração do animal para baixo ao tanque, estimulando o mesmo a realizar a impulsão para a superfície, caracterizando o salto vertical.

O treinamento do Grupo ESP ocorreu apenas 1X/semana, totalizou-se assim 4 treinos durante todo o período de experimento. Realizando o treino de salto vertical até a falha, caracterizada por 2 saltos executados em sequência onde os animais não ultrapassassem a superfície da água.

O treinamento do Grupo TR consistiu na realização de 3 sessões semanais, com 4 séries com 10 saltos, com 1 minuto de intervalo entre séries, no qual totalizou 12 sessões.

3.4. Massa muscular

Ao final do protocolo experimental 8 animais de cada grupo foram eutanasiados através de overdose de anestésico via intraperitoneal (Ketamina – 200 mg/kg e Xilasina - 50 mg/kg) e tiveram o músculo sóleo da pata traseira direita dissecados. Os músculos foram pesados em balança eletrônica com precisão de 0,001g (Marte AD330 ®).

Após a obtenção das médias e desvio padrões, os dados foram analisados estatisticamente através do software *Graph Pad Prism 7®*, com teste *ANOVA one – way* e pós teste de *Bonferroni*, com nível de significância estabelecido de $p < 0,05$.

3.5. Microscopia de Luz

Para realizar análise de microscopia de luz foram dissecados o músculo sóleo de 5 animais de ambos grupos experimentais, sendo estes criofixados em nitrogênio líquido (-196°C), através do posicionamento das amostras no Cryomold Standard® 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. Posteriormente foram realizados cortes longitudinais (JMT) e transversais (ventre muscular) de 8 µm de espessura (Criostato HM 505 E, MICROM®), corados de Hematoxilina-Eosina (HE) para observação dos componentes celulares e Picro-sírus (PS) para identificação do tecido conjuntivo associado (CARDIFF et al., 2014; BHUTDA et al., 2017).

3.6. Dimensão fractal

Para análise da dimensão fractal as imagens de microscopia de luz (colorações HE e PS) foram binarizadas através do Software ImageJ®, para quantificar a distribuição de pixels no espaço da imagem sem considerar sua textura,

posteriormente a dimensão fractal foi estimada utilizando o gráfico boxplot. Desta forma, foi possível quantificar a distribuição de pixels no espaço, desconsiderando a textura da imagem. O valor do dimensionamento fractal foi expresso em escala de 0 – 2, onde quanto mais próximo de 2 maior a desorganização tecidual e celular (CURY et al., 2018).

Após obtenção das médias e desvio padrão foi realizada a análise estatística ANOVA *One – way* com pós teste de *Bonferroni*, com nível de significância $p < 0,05$.

3.7. Análise Histoquímica (ATPase miofibrilar)

As amostras dos ventres musculares foram posicionados e realizados cortes transversais de 8 μm de espessura (Criostato HM 505 E, MICROM®), os cortes histológicos foram incubados durante 30 min a 37° C em solução contendo 10mg de ATP dissolvidos em 2 gotas de água destilada adicionadas em conjunto com 10ml de glicina/tampão NaCl, CaCl_2 atingindo o pH 9,4 adicionado com DTT. Os cortes foram lavados em água destilada e incubados por 2 minutos em cloreto de cobalto a 2% o processo de lavagem e incubação foi repetido 3 vezes. Ocorreu uma nova lavagem das amostras em água destilada e desidratação em séries ascendentes de álcoois (70%, 90%, 95% e 100%) e finalizado em xilol, para assim concluir com a fixação das amostras. Para o método de pH 4,3 e 4,6, as seções foram pré incubadas em solução tampão de acetato de sódio 0,1M com EDTA 10 mM durante 10 minutos a 4°C, as amostras foram posteriormente lavadas com água destilada e incubadas durante 2 min em 2% cloreto de cobalto processo que foi repetido 3 vezes. Mais uma vez as amostras foram lavadas em água destilada e desidratadas em séries ascendentes de álcoois (70%, 90%, 95% e 100%), finalizado com xilol antes da fixação das amostras com Entellan® (KRAUSE et al., 2017).

3.8. Área de Secção Transversa

Após diferenciação das fibras dos Tipos I, IIA e IIX foi realizada a morfometria da Área de Secção Transversa (AST) das fibras com auxílio do software ImageJ®. Após obtenção das médias e desvio padrão foi realizada a análise estatística ANOVA *Two – Way* com pós teste de *Bonferroni*, com nível de significância adotado $p < 0,05$ (KRAUSE et al., 2017).

4. RESULTADOS

4.1. Massa corporal

Ao final do primeiro período o Grupo S apresentou maior massa corporal em 2,57% em relação ao Grupo ESP, porém 1,46% a menos que o Grupo TR. No segundo período o Grupo ESP demonstrou 0,96% de redução de massa corporal que o Grupo S, enquanto o Grupo TR apresentou aumento de 2,93% em relação ao Grupo S. Ao final dos protocolos, portanto terceiro período, o Grupo S apresentou aumento de 4,91% em relação ao Grupo ESP, e 2,53% que o Grupo TR ($p < 0,05$).

Tabela 1. Média e desvio padrão da massa corpórea (g) dos grupos S, TR e ESP em diferentes períodos.

Períodos	Grupos		
	S	ESP	TR
1º	382,08 ± 5,83	372,25 ± 34,11	387,66 ± 7,05
2º	416,48 ± 5,21	412,47 ± 39,65	428,72 ± 8,55
3º	460,66 ± 4,63	438 ± 66	449 ± 47,83

Ao final dos protocolos, os músculos foram coletados e mensuradas suas massas. O Grupo S apresentou maior massa muscular de 3,25% em relação ao Grupo TR e 8,12% em relação ao Grupo ESP (Figura 2).

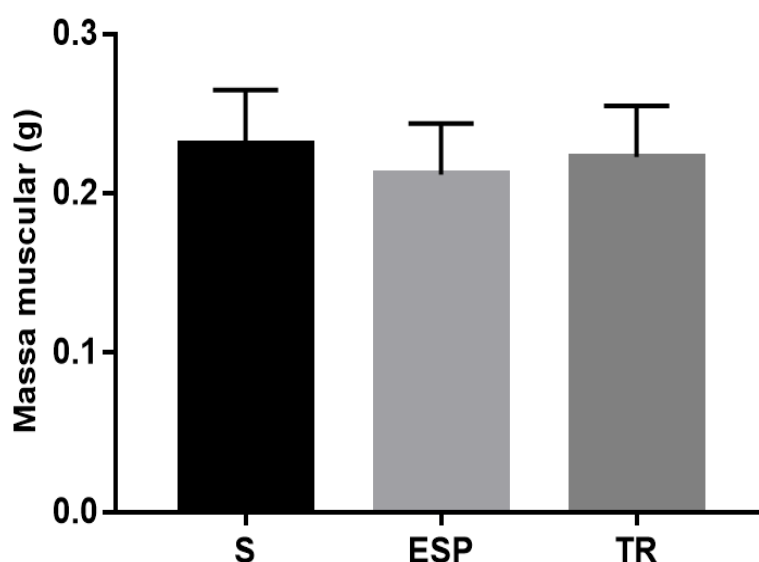


Figura 2. Médias e desvios-padrões da massa muscular (g) dos grupos experimentais.

4.2. Microscopia de luz

Através da microscopia de luz observamos que o Grupo S (Figura 3 A, D e G) apresenta o ventre muscular organizado, com fibras de formato poligonal e distribuídas de forma semelhantes por todo tecido. Os núcleos estão presentes na região periférica celular e apresentam padrão de distribuição semelhante por todo músculo. O endomísio e perimísio não apresentam variação na espessura, sendo evidente sua presença. Na ATPase foi possível identificar as fibras do Tipo I, IIA e IIX, entretanto, é predominante fibras do Tipo I.

Na JMT (Figura 4A e D) observamos as fibras com formato alongado e delgado, interagindo com o tecido tendíneo de forma semelhante por todo músculo. O tecido muscular possui contato com o tecido tendíneo de forma constante, sem espessamento de endomísio, e há presença de núcleos nesta região.

O ventre do Grupo ESP (Figura 3B, E e H) apresenta desordem na morfologia, com fibras musculares de diferentes formas e tamanhos, dispostas de maneira aleatória. Os núcleos se encontram na região periférica da fibra e apresentam distribuição semelhante por todo tecido. Tanto endomísio como perimísio apresentam espessamento e evidenciam alteração na distribuição das fibras. Com a ATPase observou também os três tipos de fibra, I, IIA, IIX, porém, o Tipo IIA e IIX passam a ser mais encontradas.

No grupo ESP (Figura 4B e E) as fibras musculares possuem desorganização em sua distribuição, variando tanto na forma como tamanho e posicionamento junto ao tecido tendíneo. Há aumento da quantidade e distribuição dos núcleos na região. É observável o aumento da interação entre os dois tecidos, evidenciado principalmente com a coloração de PS, assim como o espessamento do endomísio.

O ventre do grupo TR (Figura 3C, F e I) possui organização semelhante ao do Grupo S. As fibras musculares possuem formato poligonal, se distribuem de forma constante e organizada, e os núcleos mantem padrão de distribuição periférico. Tanto perimísio como endomísio estão presentes em espessura semelhante por todo tecido, mantendo a organização do tecido. Com a ATPase foi possível encontrar os três tipos de fibra, I, IIA e IIX, evidenciando o aumento da quantidade de fibras Tipo IIA e IIX.

No grupo TR (Figura 4C e F) as fibras se alongam mais, e apresentam menor espessura, entretanto há relativa organização na sua distribuição. Há

aumento do número de núcleos. Foi possível observar maior interação entre os tecidos muscular e tendíneo, assim como projeções maiores e evidentes do tecido tendíneo para o muscular.

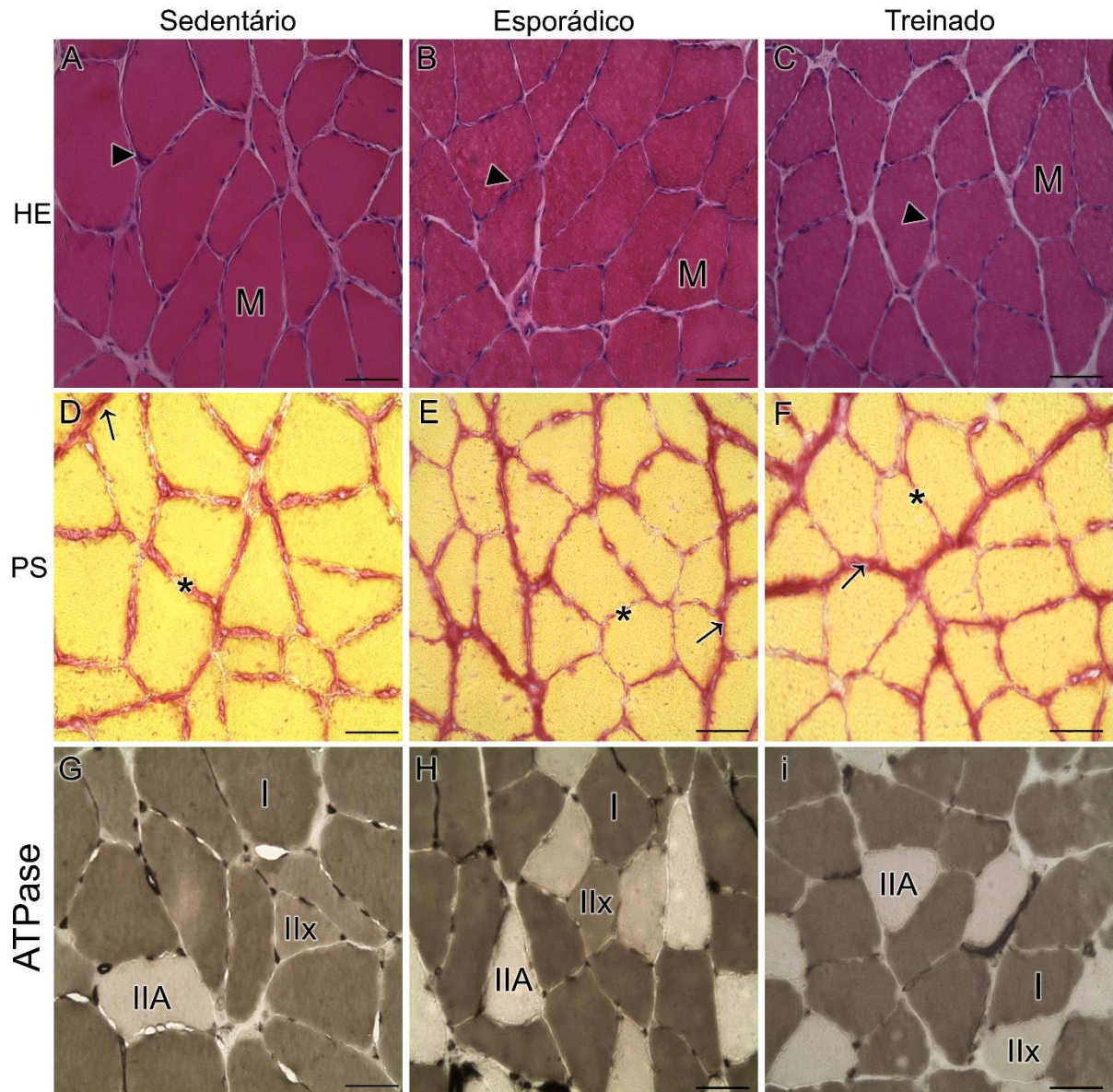


Figura 3. Microscopia de luz e histoquímica ATPase miofibrilar do ventre do músculo sóleo. Coloração de hematoxilina – eosina – A; B; C. Coloração Picro-Sírus – D; E; F. Histoquímica ATPase miofibrilar – G; H; I. Fibra muscular (M); núcleo (Cabeça de seta); perimísio (Seta); endomísio (*); fibra tipo I; tipo IIA; tipo IIx. Barras 50µm.

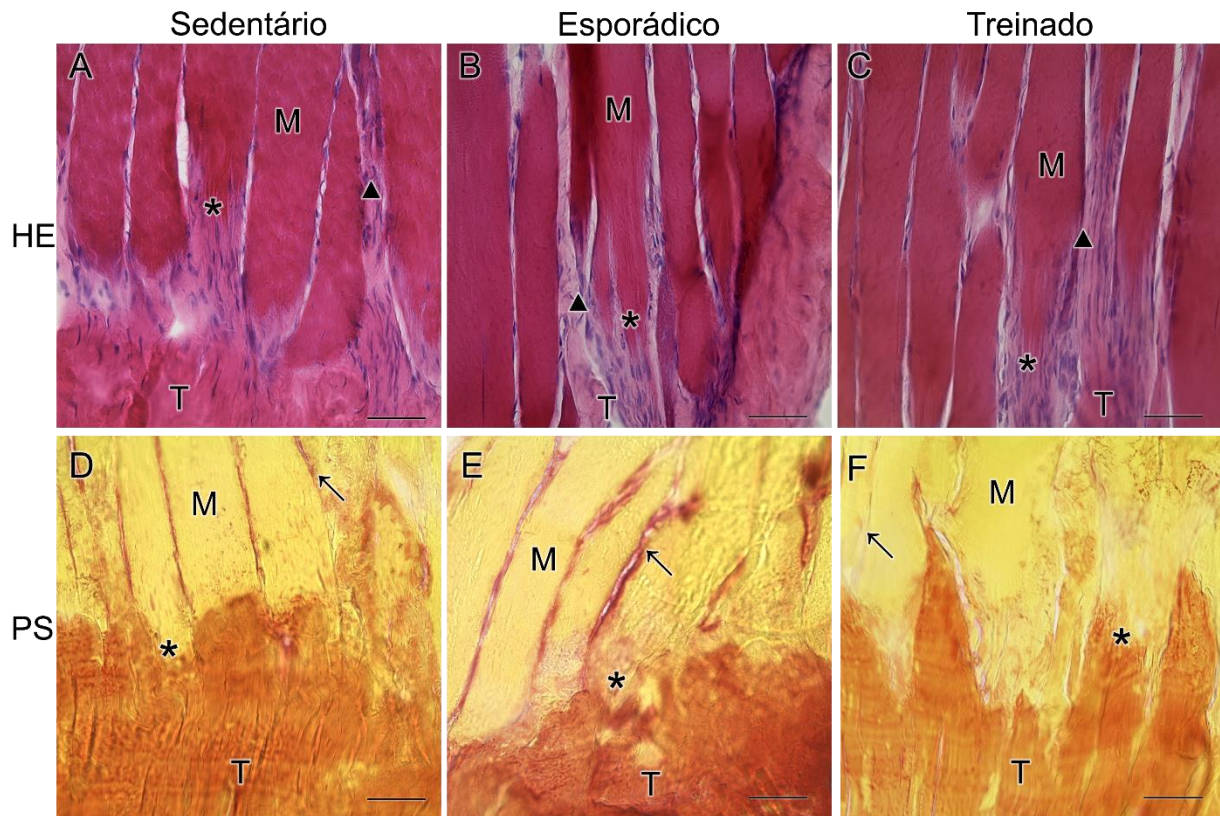


Figura 4. Microscopia de luz da JMT do músculo sóleo dos grupos. Coloração de hematoxilina – eosina – A; B; C. Coloração Picro-Sírus – D; E; F. Grupos S, ESP e TR. Fibra muscular (M); núcleo (Cabeça de seta); região da JMT (*); endomísio (Seta). Barras: 50µm.

4.3. Dimensão fractal

Através da dimensão fractal na coloração de HE observamos que os grupos não apresentam diferença significativa na desorganização nuclear, com $p > 0,05$ (Figura 5).



Figura 5. A) Imagem do ventre do músculo sóleo com coloração de HE. Fibra muscular (M); Núcleo (Cabeça de seta). Barra: 50µm. B) Imagem polarizada evidenciando a distribuição dos núcleos. C) gráfico da dimensão fractal, onde não há diferença estatística significativa entre os grupos.

Quando realizada a dimensão fractal através das imagens de OS (Figura 6), portanto do tecido conjuntivo, observou-se que o Grupo ESP aumenta a desorganização tecidual em 6,4% em relação ao Grupo TR ($p < 0,0001$). Entretanto, o Grupo TR apresenta redução da desorganização tecidual de 4% em relação ao Grupo S ($p < 0,001$).

A quantidade da área intersticial é maior para o Grupo ESP, com aumento de 27,81% em relação ao Grupo S, ($p < 0,001$), e diferença de 26,7% em relação ao Grupo TR ($p < 0,001$). Entre os Grupos S e TR não houve diferença da quantificação de área intersticial, entretanto o Grupo TR apresenta aumento de 0,9%.

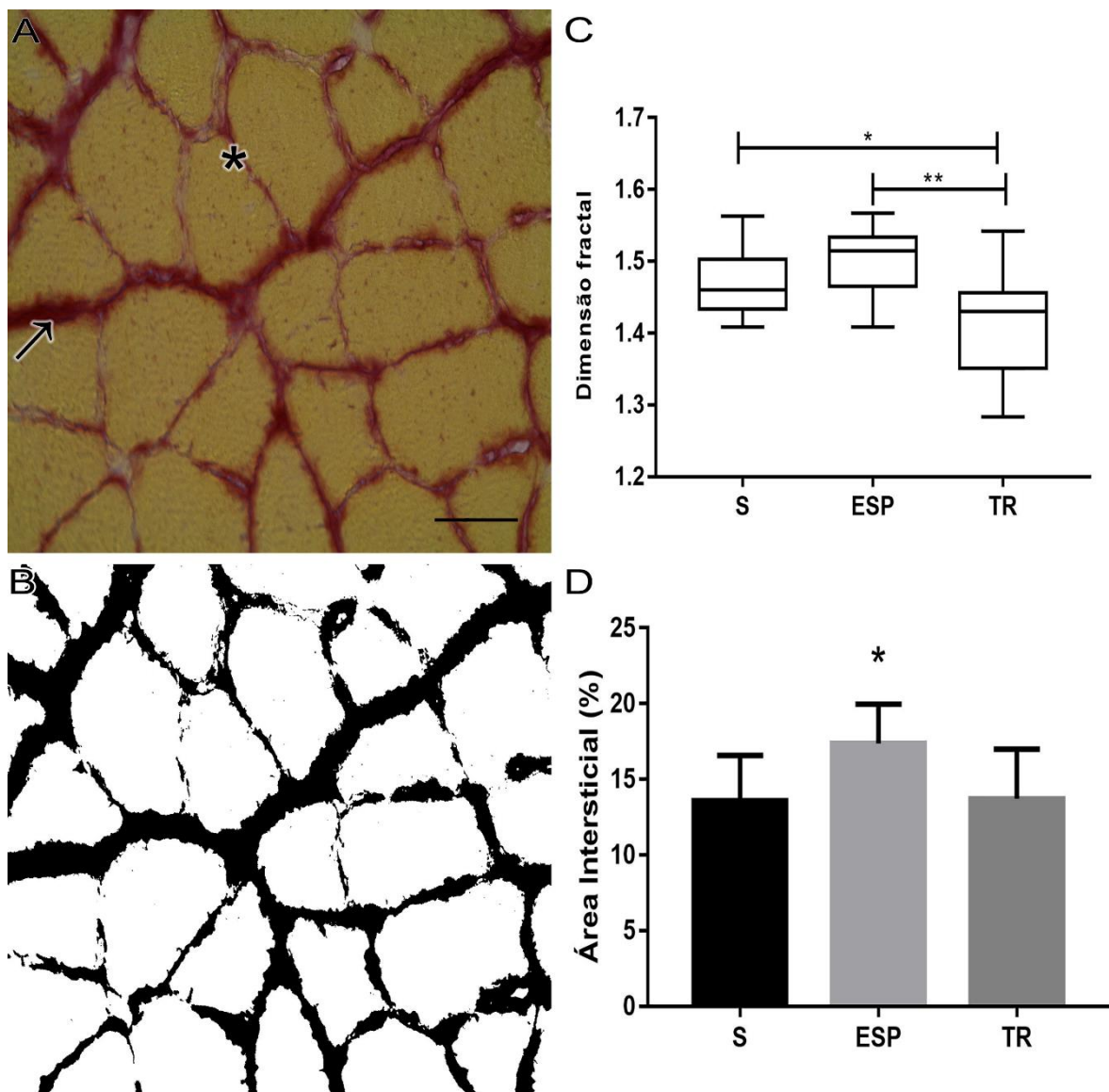


Figura 6. A) Imagem do ventre do músculo sóleo com coloração de PS, evidenciando assim o tecido conjuntivo. Perimísio (Seta); endomísio (*). B) Imagem polarizada, mostrando tecido conjuntivo. C) Dimensão fractal do tecido conjuntivo, apontando desorganização celular em escala de 0 a 2, sendo 2 maior desorganização. D) Porcentagem da área intersticial nos Grupos S, ESP e TR. *($p < 0,001$); **($p < 0,0001$).

4.4. Área de secção transversa

Há diferença estatística significativa entre os Grupos S e ESP e S e TR, com maior área no Grupo S e entre os Grupos ESP e TR, onde o Grupo ESP apresenta maior área de fibra Tipo I ($p<0,0001$). A área de fibras do Tipo IIA é maior para o Grupo S quando comparado aos Grupos ESP e TR, $p<0,001$. Há também diferença entre os Grupos ESP e TR, com o Grupo TR apresentando menor área de fibras ($p<0,0001$). Nas fibras Tipo IIx há diferença estatística significativa entre os Grupos S e TR, com $p<0,001$, no qual o Grupo S possui maior área.

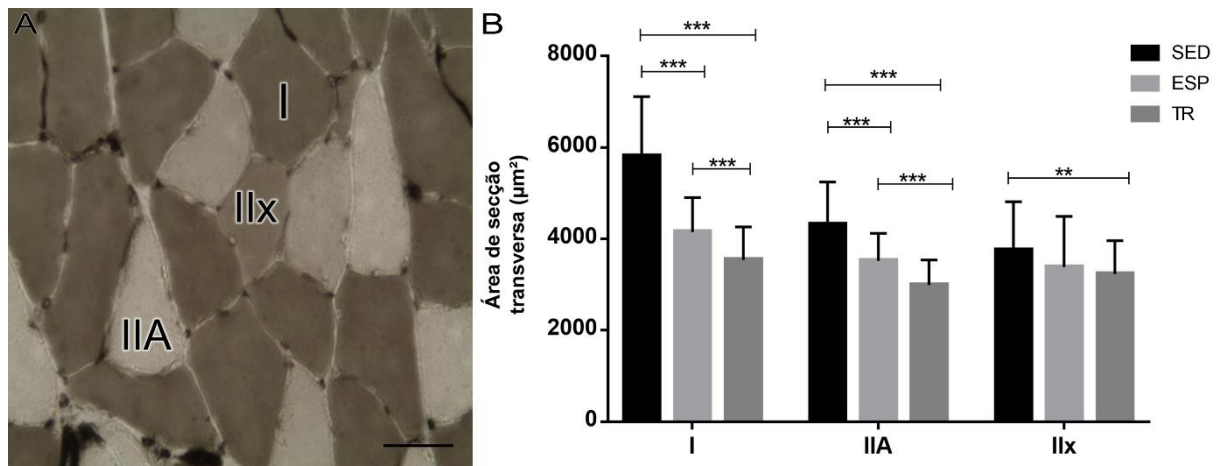


Figura 7. A) Análise histoquímica (ATPase miofibrilar). Fibras Tipo: I; IIA e IIx. Barra: 50μm. B) Área de secção transversa (μm²), das fibras Tipo I, IIA e IIx dos grupos S, ESP e TR. * $p<0,001$; ** $p<0,0001$.

5. DISCUSSÃO

Através deste estudo foi possível apresentar as alterações morfológicas e histoquímicas do músculo sóleo, tanto no ventre como na JMT, demonstrando assim os benefícios da prática do exercício de salto vertical e as alterações que ocorrem quando o exercício não é realizado de forma planejada ou estruturada, assim como ocorre entre atletas esporádicos, ou de lazer.

O exercício físico pode modificar a composição corporal, resultando em perda de massa corporal, alterações fisiológicas ou morfológicas, tanto de forma positiva como negativa (RADAK et al., 1999; RIKLI, 2000; RODRIGUES; BORIN; SILVA, 2017; JACOB et al., 2019). Desta forma, o presente estudo apesar de evidenciar valores menores de massa corporal entre os ratos que realizaram os protocolos de salto vertical, demonstra que há ganho de massa corporal entre o início do período e o final do protocolo, constatando que apesar do protocolo ser intenso, não submeteu os animais a situações de estresse que resultaram em prejuízo para seu desenvolvimento.

É possível associar o menor ganho corporal em relação ao Grupo SED a utilização constante e intensa de lipídios após as sessões de treinamento, tal qual o aumento do metabolismo basal devido as alterações fisiológicas sofridas (CUNHA et al., 2006). Apesar de ser conhecido as características do músculo sóleo, sendo predominante oxidativo, foi possível observar alterações no tipo de fibra dos grupos que realizaram o salto vertical, entretanto, o estímulo pode não ter sido eficaz na hipertrofia muscular em relação massa, dado esse corroborado por Cunha et al. (2006) e Robert-Pires (2000), respectivamente, tanto em protocolo de salto vertical em meio líquido como em esteira, não foi observado hipertrofia do músculo sóleo, mesmo havendo alterações fisiológicas associados ao mesmo.

O treino de salto vertical se mostra eficiente para alterações morfológicas no tecido muscular, fato esse corroborado por Malanotte et al. (2017), onde o treinamento de salto vertical também em meio líquido apresenta características morfológicas semelhantes, como presença e posicionamento dos núcleos periféricos, característica do formato de fibra e área intersticial. Entretanto, tais alterações ocorrem apenas quando há o treinamento realizado de forma planejada, tendo em vista que quando a atividade é realizada de forma esporádica, (sem periodização), o músculo se comporta diferente, apresentando alteração no formato das fibras, na organização tecidual e divergência no tecido conjuntivo.

A JMT é uma região de interface entre os tecidos muscular e tendíneo, susceptível a alterações morfológicas devido a sua plasticidade celular, principalmente em resposta a estímulos mecânicos e a constante transmissão de força (CIENA et al. 2012; LIEBER et al., 2017). Desta forma, Sierra et al. (2018) ao realizar protocolo de natação com ratas ovariectomizadas observou que no músculo sóleo de sedentários há interação entre o músculo e o tecido tendíneo localizado ao longo de toda zona de JMT, sendo caracterizada por disposição e contornos irregulares. Entretanto, diante do grupo treinado, o autor observou alteração na disposição dos feixes de colágeno no tecido muscular, com maiores áreas, demonstrando assim maior organização tecidual. Fato esse compatível com os resultados encontrados, onde o grupo experimental submetido a treinamento apresenta alterações na disposição de colágeno e maior área de contato na região da JMT.

No presente trabalho, apesar de não realizar análise ultraestrutural é possível afirmar que o comportamento tecidual é semelhante à de Sierra et al. (2018), tendo em vista que o Grupo S apresenta interação na área de JMT, porém sem definição, enquanto o Grupo TR possui maior área de contato entre os dois tecidos, tal qual maiores projeções do tecido tendíneo ao muscular. A mesma situação foi observada por Jacob et al. (2019) no músculo esternomastoide, ao realizar atividade física, através de protocolo de natação, observou maior interação entre os tecidos e de forma melhor organizada.

Entretanto, a JMT do Grupo ESP apresenta comportamento divergente do TR, onde apesar de realizar exercício físico semanalmente, seu volume e intensidade acaba sendo variado devido a características de treino, resultando assim em alterações na morfologia da região. Enquanto o Grupo TR apresenta melhora na organização, o grupo ESP passa a ser mais desorganizado tanto no ventre como na JMT, além do aumento considerável de tecido conjuntivo disposto de forma desorganizada, como comprovado pela dimensão fractal.

Curzi et al. (2016) observou diferentes adaptações na JMT de acordo com a intensidade e volume do protocolo, ao realizar treino de esteira com ratos, porém em diferentes velocidades, observou que em menores velocidades há aumento na profundidade das invaginações e evaginações, enquanto em maiores velocidades tais projeções tornaram-se mais complexas através de ramificações que podem se ligar para aumentar a força da ligação. Desta forma, apesar de realizar o mesmo

protocolo com intensidades diferentes resultou em diferenças estruturais na JMT. Tal qual o atual estudo, onde apesar de não haver divergência do tipo de estímulo, a intensidade e volume do mesmo difere, ocasionando assim diferentes tipos de adaptações morfológicas tanto na região do ventre como na JMT, evidenciando que o Grupo TR possui vantagem adaptativa em relação ao Grupo ESP, diminuindo assim os riscos de lesão.

A alteração da quantidade de núcleos presentes na JMT entre os grupos que realizaram o treinamento de salto vertical condiz com o aumento da atividade celular, propiciando as alterações morfológicas. Comportamento semelhante é observado na regeneração muscular após lesão, na qual há aumento do número de núcleos na região lesada para que haja o aumento do processo inflamatório e posterior produção de colágeno e formação do novo tecido (JÄRVINEN; JÄRVINEN; KALIMO 2013), entretanto, a forma como o tecido é formado irá variar com o estímulo sofrido.

Após observar as características morfológicas de ventre e junção muscular do músculo sóleo caracterizamos a desorganização tecidual através da análise de dimensão fractal. Anteriormente, a dimensão fractal foi utilizada para identificação da distribuição de fibras Tipo II no músculo extensor digital longo e sóleo em ratos (ARSOS; DIMITRIU, 1995), na detecção de anormalidades muscular em pacientes com desordem neuromuscular (HUBER et al., 2009) após, com Cury et al. (2018) na detecção de desordem tecidual em situação de distrofia muscular. Entretanto, nosso objetivo era mostrar como o tecido muscular se comporta diante do treinamento de salto vertical e assim, demonstramos que o exercício físico realizado com periodicidade reduz a desorganização tecidual no ventre, tanto da disposição de fibras, como na distribuição do tecido conjuntivo.

Desta forma, a dimensão fractal se mostra eficiente para demonstrar como o tecido se comporta, relacionado a desorganização tecidual. Assim, apesar de não evidenciar alteração da distribuição nuclear do ventre entre ambos os grupos, há alteração da organização tecidual, com mudança no padrão de distribuição de fibras musculares tanto no ventre como no núcleo, com maior desorganização no grupo que realizou exercício uma vez na semana, assim como, aumento da área intersticial, propiciando maior desorganização.

Em contrapartida, o grupo que realizou exercício periodizado se comporta de forma contrária, com menor desorganização tecidual no ventre e na JMT, assim como manutenção dos valores de área intersticial, desta forma, é possível afirmar

que ocorreu alterações benéficas ao músculo, visto que há redução da desorganização tecidual com constância do tecido conjuntivo.

A menor desorganização tecidual está associada a menores riscos de lesão pois a alteração da morfologia da JMT resulta em maior ou menor transmissão de força entre os tecidos muscular e tendíneo (KOJIMA et al., 2008). Assim, o aumento da área da JMT, tal qual sua melhor distribuição propicia a melhor transmissão de força e consequentemente reduz os índices de lesão e auxilia na recuperação de lesões musculares (OZAKI et al., 2015; CURZI et al., 2016).

Curzi et al. (2016) ao realizar a área de secção transversa não observou alteração em ambos os grupos no protocolo de esteira, demonstrando assim que não houve hipertrofia. Assim como Malanotte et al. (2017), em protocolo de salto vertical, em grupo experimental com compressão do nervo isquiático relacionado a atividade física não apresentou aumento no diâmetro da fibra muscular, evidenciando que não houve hipertrofia do músculo sóleo em nenhum dos grupos experimentais. Tal fato corrobora o presente estudo, onde apesar das alterações morfológicas evidenciadas, não houve mudança no tamanho do mesmo.

Em trabalho com treino concorrente (CASTOLDI et al., 2013), através da realização de protocolos de endurance – protocolo de natação – e de força – protocolo de salto vertical –, assim como ambos na mesma sessão resultaram em aumento da área de secção transversa para todos os grupos, demonstrando hipertrofia, entretanto o protocolo foi realizado por oito semanas, diferenciando do presente estudo.

Entretanto, neste trabalho o tipo de fibra muscular predominante foi alterado para maior área de fibras de contração rápida. Como era esperado, o tipo de fibra predominante no Grupo S foi do Tipo I, devido ao músculo sóleo ter função postural antigravitacional, assim necessário que seja resistente a fadiga (LAI et al., 2015). Entretanto, nos demais grupos houve aumento das fibras tipo IIA e IIX, cuja função é contração rápida, portanto recrutado em maior intensidade durante protocolos de salto vertical.

Tal mudança ocorre, pois, de acordo com o estímulo recebido pelo músculo há aumento ou diminuição do conteúdo proteico, desta forma, no treinamento resistido há aumento de massa muscular assim como aumento do recrutamento de unidades motoras assim, há mudança no tipo de cadeia de miosina da fibra,

permitindo a transição de fibras lentas para rápidas (STARON; PETTE, 1986; BOFF, 2008).

Apesar de não apresentar hipertrofia nos grupos que realizaram o salto vertical, houve alteração na área de secção transversa das fibras, aumentando a área e volume de fibras de contração rápida, demonstrando assim que apesar de não haver alteração no volume muscular, como demonstrado tanto pelo presente estudo como por Robert-Pires (2000), Cunha et al. (2006) e Malanotte et al. (2017) houve alteração morfológica relacionado a organização tecidual e alterações histoquímicas, com mudança no tipo de fibra predominante no músculo.

6. CONCLUSÃO

Com o presente estudo foi possível concluir que a prática do exercício resistido de salto vertical resultou em alterações morfológicas positivas no grupo que realizou treinamento periodizado, tornando o ventre muscular mais responsivo ao tipo de exercício realizado e a JMT uniforme para a transmissão de força, potencializando a transmissão de força e reduzindo a probabilidade de lesão.

Em contrapartida, o grupo de realizou salto de forma esporádica apresentou alterações morfológicas negativas, uma vez que apesar de apresentar o ventre muscular mais responsivo ao estímulo sofrido, sua organização, tal qual quantidade de tecido conjuntivo e a JMT não acompanharam tais alterações, apresentando maior desorganização tecidual, o que pode tornar a área susceptível a lesões

7. REFERÊNCIAS

- AGUR, A.M.; NG-THOW-HING, V.; BALL, K.A.; FIUME, E.; MCKEE, N.H. Documentation and three-dimensional modelling of human soleus muscle architecture. **Clinical anatomy**, v. 16, n. 4, p. 285 – 293, 2003.
- ANDERSON, F.C.; PANDY, M.G. Individual muscle contributions to support in normal walking. **Gait Posture**, v. 17, p. 159 – 169, 2003.
- ARSOS, G.A.; DIMITRIU, P.P. A fractal characterization of the type II fiber distribution in the extensor digitorum longus and soleus muscles of the adult rat. **Muscle Nerve**, v. 18, p. 961 – 968, 1995.
- BARBOSA, T.; FERNANDES, R. J.; KESKINEN, K.; VILAS-BOAS, J. P. The influence of stroke mechanics into energy cost of elite swimmers. **European Journal of Applied Physiology**, v. 103, p. 139–149, 2008.
- BASTOS, J.L.N. Estudo comparativo de sistemas a base de lasers, leds e ultrassom (US) de baixa intensidade no reparo tecidual em tendão calcâneo. Dissertação de mestrado, 100p. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.
- BERTOLINI, S.M.M.G.; OLIVEIRA, P.D.; CARARO, D.C. Estudo morfométrico do músculo sóleo de ratos da linhagem wistar pós imobilização articular. **Acta Scientiarum: Health Sciences**, v.32, n.1, p. 23 – 27, 2010.
- BHUTDA, S; SURVE, M.V.; ANIL, A.; KAMATH, K; SINGH, N; MODI, D; BANERJEE, A. Histochemical Staining of Collagen and Identification of Its Subtypes by Picrosirius Red Dye in Mouse Reproductive Tissues, **Bio-protocol**, v. 7, p. 1-10, 2017.
- BOBBERT, M.F.; VAN SOEST, A.J. Effects of muscle strenghtening on vertical jump height: a simulation study. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 26, p. 1012 – 1020, 1994.
- BOFF, S.R. A fibra muscular e fatores que interferem no seu fenótipo. **Revista Acta Fisiátrica**, v. 15, n. 2, p. 111 – 116, 2008.
- BOMPA, T.O.; BUZZICHELLI, C. Training Theory: Basis for training In: _____. **Periodization: theory and methodology of training**. EUA: Human Kinetics, 2018. p. 3 – 27.
- BUTLER, D.L.; JUNCOSA, N.; DRESSLER, M.R. Function Efficacy of Tendon Repair Processes. **Annual review of biomedical engineering**, v. 6, p. 303 – 329, 2004.
- CAIERÃO, Q.M.; TEODORI, R.M.; MINAMOTO, V.B. A influência da imobilização sobre o tecido conjuntivo muscular: uma revisão. **Fisioterapia em movimento**, v. 20, n. 3, p. 87 – 92, 2007.

- CARDIFF, R.D.; CLARAMAE H.M.; MUNN, R.J. "Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections." **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 6, 2014.
- CARVALHO, H.F. Estrutura e composição de um tendão sujeito a forças de compressão. **Tese**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 89p. 1993.
- CASTOLDI, R.C.; CAMARGO, R.C.T.; MAGALHÃES, A.J.B.; OZAKI, G.A.T.; KODAMA, S.M.; PAPOTI, M.; CAMARGO-FILHO, J.C.S. Concurrent training effect on muscle fibers in Wistar rats. **Motriz**, v. 19, n. 4, p. 717 – 723, 2013.
- CHARVET, B.; RUGGIERO, F.; LE GUELLEC, D. The development of the myotendinous junction. A review. **Muscle, Ligament and Tendon Journal**, v. 2, n. 2, p.53 – 63, 2012.
- CHIEN, K.Y.; CHANG, W.G.; SANDERS, M.E.; CHEN, C.H.; WU, W.C.; CHEN, W.C. Effects of land vs water jump exercise: Implications for exercise design targeting bone health. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 29, n.6, p.826 – 834, 2019.
- 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.; ALMEIDA, S.R.Y.; BOLINA, C.S.; BOLINA-MATOS, R.S.; RICI, R.E.G.; SILVA, M.C.P.; MIGLINO, M.A.; WATANABE, I.S. Ultrastructural features of the myotendinous junction of the sternomastoid muscle in wistar rats: from newborn to aging. **Microscopy Research and Technique**, v. 75, n. 9, p. 1292–1296, 2012.
- CIENA, A.P.; LUQUES, I.U.; DIAS, F.J.; ALMEIDA, S.R.Y.; IYOMASA, M.M.; WATANABE, I.S. Ultrastructure of the myotendinous junction of the medial pterygoid muscle of adult and aged Wistar rats. **Micron**, v. 41, p. 1011–1014, 2010.
- CRAIG, R.; PADRÓN, R. Molecular Structure of the sarcomere. **Myology**. 3rd ed. Myology. 3rd ed. New York: McGrawHill,166p, 2004.
- CROWTHER, G. J.; JUBRIAS, S. A.; GRONKA, R. K.; CONLEY, K. A. A functional biopsy” of muscle properties in sprinters and distance runners. **Medicine and Science of Sports Exercise**. v. 34, n. 11, p. 1719-1724, 2002.
- CUNHA,T.S.; TANNO, A.P.; MARCONDES, F.K.; PEREZ, S.E.A.; SELISTRE-ARAÚJO, H.S. A administração de nandrolona não promove hipertrofia do músculo sóleo em ratos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 3, p. – 532 – 540, 2006.

CURY, S.S.; FREIRE, P.P.; MARTINUCCI, B.; DOS SANTOS, V.C.; OLIVEIRA, G.; FERRETTI, R.; DAL-PAI-SILVA, M.; PACAGNELLI, F.L.; DELELLA, F.K.; CARVALHO, R.F. Fractal dimension analysis reveals skeletal muscle disorganization in mdx mice. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, p.1-7, 2018.

CURY, S.S.; FREIRE, P.P.; MARTINUCCI, B.; SANTOS,V.C.; OLIVEIRA, G.; FERRETTI, R.; DAL-PAI-SILVA, M.; PACAGNELLI, F.L.; DELELLA, F.K.; CARVALHO, R.F. Fractal dimension analysis reveals skeletal muscle disorganization in mdx mice. **Biochemical and biophysical research communications**, p. 1 – 7, 2018.

CURZI, D. SARTINI, S.; GUESCINI, M.; LATTANZI, D.; PALMA, M.D.; AMBROGINI, P.; SAVELLI, D.; STOCCHI, V.; CUPPINI, R.; FALCIERI, F. Effect of different exercise intensities on the myotendinous junction plasticity. **Plos one**, v. 11, n. 6, 12p., 2016.

CURZI, D. Ultrastructural study of myotendinous junction plasticity: from disuse to exercise. **Sport Science Health**, v. 12, n. 3, p. 279-286, 2016.

CURZI, D.; SALUCCI, S.; MARINI, M.; ESPOSITO, F.; AGNELLO, L.; VEICSTEINAS, A.; BURATTINI, S.; FALCIERI, E. How physical exercise changes rat myotendinous junctions: an ultrastructural study. **European Journal of Histochemistry**, v. 56, n. e19, p. 117 – 122, 2012.

DeWEESE, B.H.; HORNSBY, G.; STONE, M.; STONE, M.H. The training process: Planning for strength-power training in track and field. Part 2: Practical and applied aspects. **Journal of Sport and Health Science**, v. 4, n. 4, p. 318 – 324, 2015

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

DUMONT, N.A.; WANG, Y.X.; RUDNICK, M.A. Intrinsic and extrinsic mechanisms regulating satellite cell function. **Development**, v.142, p. 1672 – 1581, 2015.

FRY, C.S.; NOEHREN, B.; MULA, J.; UBELE, M.F.; WESTGATE, P.M.; KERN, P.A.; PETERSON, C.A. Fibre type-specific satellite cell response to aerobic training in sedentary adults. **Journal of Physiology**, v. 12, p. 2625 – 2635, 2014.

GAO, Y.; WINEMAN, A.S. Mechanics of muscle injury induced by lengthening contraction. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 35, v. 10, p. 1615 – 1623, 2008.

- GIBALA, M.; LITTLE, J. P.; VAN ESSEN, M.; WILKIN, G. P.; BURGOMASTER, K.; SAFDAR, A.; TARNOPOLSKY, M. Short-term Sprint interval versus traditional endurance training: Similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. **Journal of Physiology**, v. 575, p. 901–911, 2006.
- HUBER, R.; LUDOLPH, A.C.; KO, H.; GDYNIA, H.; MU, H. Quantitative muscle ultrasound in neuromuscular disorders using the parameters "intensity", "entropy", and "fractal dimension, **European Journal of Neurology**, v. 16, p. 1151 – 1158, 2009.
- JACOB, C.S.; ROCHA, L.C.; PIMENTEL – NETO, J. WATANABE, I.S. CIENA, A.P. Effects of physical training on sarcomere lengths and muscle – tendo interface of the cervical region in an experimental model of menopause. **European Journal of Histochemistry**, v. 63, n. 3038, 2019.
- JAKOBSEN, J.R.; KAKOBSEN, N.R.; MACKEY, A.L.; KOCH, M.; KJAER, M. KROGSGAARD, M.R. Remodeling of muscle fibers approaching the human myotendinous junction. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 28, p. – 1859 – 1865, 2018.
- JAKOBSEN, J.R.; MACKEY, A.L.; KNUDSEN, A.B.; KOCH, M.; KJAER, M.; KROGSGAARD, M.R. Composition and adaptation of human myotendinous junction and neighboring muscle fibers to heavy resistance training. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 27, n. 12, p. 1547 – 1559, 2016.
- JÄRVINEN, T.A.H.; JÄRVINEN, M.; KALIMO, H. Regeneration of injured skeletal muscle after injury. **Ligaments and Tendons Journal**, v. 3, n. 4, p. 337 – 345, 2013
- JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J.S.F. **Histologia Básica**. 7ª edição, Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 1990.
- KANNUS, P. Structure of the tendon connective tissue. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 10, n. 6, p. 312-320, 2000
- KJÆR, 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.
- KNUDSEN, A.B.; LARSEN, M.; MACKEY, A.L.; HJORT, M.; HANSEN, K.K.; QVORTROP, K.; KJAER, M.; KROGSGAARD, M.R. 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.; SAKUMA, E.; MABUCHI, Y.; MIZUTANI, J. HORIUCHI, O.; WADA, I.; HORIBA, M. YAMASHITA, Y.; HERBET, D.C.; SOJI, T.; OTSUKA Ultrastructural

changes at the myotendinous junction induced by exercise. **Journal of Orthopaedic Science**, v. 13, n. 3, 233 – 239, 2008.

KÖKLÜ, Y.; ALEMDAROĞLU, U.; ÖZKAN, A.; KOZ, M.; ERSÖZ, G. The relationship between sprint ability, agility and vertical jump performance in young soccer players. **Science & Sports**, v. 30, n. 1, p. e1 - e5, 2015.

KRAUSE, W.N.; SILVA, W.A.; CIENA, A.P.; ANARUMA, C.A.; GAMA, E.F. Vertical climbing for rodent resistance training: discussion about training parameters. **International Journal of Sport Science**, v. 6, n. 1A, p. 36 – 49, 2017.

LAI, A.; LICHTWARK, G.A.; SCHACHE, A.G.; LIN, Y.C.; BROWN, N.A.T.; PANDY, M.G. In vivo behavior of the human soleus muscle with increasing walking and running speeds. **Journal of Applied Physiology**, v. 118, p. 1266 – 1275, 2015.

LAI, A.; LICHTWARK, G.A.; SCHACHE, A.G.; LIN, Y.C.; BROWN, N.A.T.; PANDY, M.G. In vivo behavior of the human soleus muscle with increasing walking and running speeds. **Journal of Applied Physiology**, v. 118, n. 10, p. 1266-1275, 2015.

LIEBER, R.L.; ROBERTS, T.J.; BLEMKER, S.S.; LEE, S.S.M.; HERZOG, W. Skeletal muscle, mechanics, energetics and plasticity. **Journal of neuroengineering and rehabilitation**, v. 14, n. 108, 16p., 2017.

LIM, T. W.; CARDENAS, L.; SOSLOWSKY, L. J. Biomechanics of tendon injury and repair, **Journal of Biomechanics**, v. 37, p. 865 – 877, 2004.

LOUDER, T.; DOLNY, D.; BRESSEL, E.; Biomechanical comparison of countermovement jumps performed on land and in water.: age effects. **Journal of Sport Rehabilitation**, v. 27, n. 3, p. 249 – 256, 2018.

MALANOTTE, J.A.; KAKIHATA, C.M.M.; KARVAT, J.; BRANCALHÃO, R.M.C.; RIBEIRO, L.F.C.; BERTOLINI, G.R.F. Jumping in aquatic environment after sciatic nerve compression: nociceptive evaluation and morphological characteristics of the soleus muscle of Wistar rats. **Einstein**, v. 15, n. 1, p. 77 – 84, 2017.

MASCHERINI, G.; MARELLA, M.; BOSI, P.; RADINI, M.; SPICUGLIA, P.; MASSIMO, G.; FRANCA, P. Can the vertical jump height measure the lower limbs muscle strenght? **Italian Journal of Anatomy and Embryology**, v. 124, n. 1, p. 107 – 112, 2019.

MOURA, T.A; OLIVEIRA, L.S.; RICARDO, R.F.; COSTA, M.A.; OKAZAKI, V.H.A. Séries múltiplas de squat jump aumentam o salto vertical de saltadores de elite no atletismo? **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 26, n. 1, p. 39 – 46, 2018.

- NIGG, B.; HERZOG, W. Biomechanic of the músculoskeletal system. 3 edições, Inglaterra: Wiley, 2007.
- NOURISSAT, G.; BERENNBAUM, F; DUPREZ, D. Tendon injury: from biology to tendo repair. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 11, n. 4, 11p., 2015.
- OSAKI, G.; CAMARGO, R.C.T.; KOIKE, T.E.; GARCIA, T.A.; CASTOLDI, R.C.; CAMARGO-FILHO, J.C.S Fractal analysis of skeletal muscle tissue of rats subjected to stretch injury. **International Journal of Morphology**, v. 33, n. 3, p. 908 – 913, 2015.
- PETTE, D.; STARON, S.R.; Myosin isoforms, muscle fiber types and transistions. **Microscopy research and technique**, v. 50, n. 6, p. 500 – 5009, 2000.
- PIMENTEL – NETO, Jurandyr. Alterações morfológicas na junção miotendínea do musculo plantar de ratos Wistar submetidos ao protocolo de exercício físico resistido. 2018. 41f. Trabalho de conclusão de curso (bacharel), Universidade Estadual Paulista – Campus de Rio Claro, Rio Claro, 2018
- QAISAR, R.Q.; SHYLES, B.; REMMEN, H.V. Muscle fiber type diversification during exercise. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 98, p. 56 – 76, 2016.
- RADÁK, Z.; KANEKO, T.; TAHARA, S.; NAKAMOTO, H.; OHNO, H.; SASVÁRI, M.; NYAKAS, C.; GOTO, S. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 27, n. 1-2, p. 69 – 74, 1999.
- RIKLI, R.E. Reliability, validity, and methodological issues in assessing physical activity in older adults. **Research Quartely for Exercise and Sport**, v. 71, n. 2, p. 89-96, 2000.
- ROBERT-PIRES, C.M. **Estudo dos efeitos da administração de esteróides androgênicos sobre o diâmetro das fibras musculares esqueléticas de ratos jovens submetidos ou não ao exercício físico**. 2000. Dissertação – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- RODACKI, A.L.F.; FOWLER, N.E.; BENNET, S.J. Vertical jump coordination: fatigue effects. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 34, n. 1, p. 105 – 116, 2002.
- RODRIGUES, M.D.; BORIN, S.H.; SILVA, C.A. Relações metabólicas em ratos sob o treinamento anaeróbio em escada. **Revista Brasileira de Ciências do Esporte**, v. 39, n. 1, 2017.
- SANTOS, M.G.; DEZA, V.H.; SARRAF, T.A. Bases metabólicas da fadiga muscular aguda. **Revista Brasileira da Ciência e Movimento**, v. 11, n. 1, p. 07 – 12, 2003.

- SEALE, P.; RUDNICKI, M.A. A new look at the origin, function, and “stem-cell” status of muscle satellite cells. **Developmental biology**, v. 218, n. 2, p. 115 – 124, 2000.
- WESTERBLAD, H.; BRUTON, J.D.; KATZ, A. Skeletal muscle: energy metabolism, fiber types, fatigue and adaptability. **Experimental cell research**, v. 316, n. 18, p. 3093 – 3099, 2010.
- SHEPSTONE, T.N.; TANG, J.E.; DALLAIRE, S.; SCHUENKE, M.D.; STARON, R.S.; PHILLIPS, S.M. Short-term high – vs. Low-velocity isokinetic lengthening training results in greater hypertrophy of the elbow flexors in young men. **Journal of applied physiology**, v. 98, p. – 1768 – 1776, 2005.
- SHEPSTONE, T.N.; TANG, J.E.; DALLAIRE, S.; SCHUENKE, M.D.; STARON, R.S.; PHILLIPS, S.M. Short-term high- vs. low-velocity isokinetic lengthening training results in greater hypertrophy of the elbow flexors in young men. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, p. 1768-1776, 2005.
- SIERRA, L.R.; FÁVARO, G.; CERRI, B.R.; ROCHA, L.C.; ALMEIRA, S.R.Y.; WATANABE, I.S.; CIERRA, A.P. Myotendinous junction plasticity in aged ovariectomized rats submitted to aquatic training. **Microscopy research & technique**, p. 1 – 7, 2018.
- STANDRING, S.; ELLIS, H.; HEALY, J. & JOHNSON D, WILLIAMS A. Gray's Anatomy. **The anatomical basis of clinical practice**. 39th Ed. New York, Elsevier, p:1499-500, 2005.
- STARON, R.S.; PETTE, D. Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in rabbit muscle fibers. **Histochemistry**, v. 86, p. 19 – 23, 1986.
- TAKALA, T. E.; VIRTANEN, P. Biochemical composition of muscle extracellular matrix: the effect of loading. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 10, n. 6, p. 321 – 325, 2000.
- TERADA, S.; TABATA, I.; HIGUCHI, M. Effect of high-intensity intermittent swimming training on fatty acid oxidation enzyme activity in rat skeletal muscle. **Japan Journal of Physiology**, n. 54, p. 47–52, 2004.
- TRICOLI, V. Papel das ações musculares excêntricas nos ganhos de força e de massa muscular. **Revista da Biologia**, n. 11, v. 1, p. 38 – 42, 2013.
- ZAMPARO, P.; CAPELLI, C.; PENDERGAST, D. Energetics of swimming: A historical perspective. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, p. 367–378, 2010.

ZIV, G.; LIDOR, R. Vertical jump in female and male volleyball players: a review of observational and experimental studies. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 20, p. 556-567, 2010.

8. ANEXOS

8.1. Comitê de Ética



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

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

DECISÃO CEUA Nº 12/2019

Instituição: UNESP - IB - CRC	Departamento: Educação Física
Data de Registro CEUA: 29/03/2019	
CERTIFICADO	
Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "Respostas morfológicas e bioquímicas do músculo sóleo ao treinamento de salto vertical em meio líquido e sua repercussão na junção miotendínea", protocolo nº 2285, sob responsabilidade de Adriano Polican Ciena (Pesquisador Responsável), e Marcela Coffacci de Lima Villod (orientanda) que envolve a produção, manutenção e/ou a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).	
Subprojeto(s) vinculado(s): == ==	
Colaboradores: ----	
A Comissão de Ética no Uso de Animal - CEUA do Instituto de Biociências da UNESP - Campus de Rio Claro, em sua 40ª reunião ordinária, realizada em 05.06.2019.	
(x)	Aprovou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
()	Desde que atendidas as pendências apontadas na reunião (vide anexo), aprova o Projeto de Pesquisa acima citado (prazo máximo de 30 dias).
()	Referendou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
()	Aprovou retornar ao interessado para atendimento das pendências encontradas (prazo máximo de 30 dias).
()	Não Aprovou .
()	Retirou , devido à permanência das pendências.
Vigência da autorização: 01/5/19 a 31/12/19 Finalidade: () Ensino (x) Pesquisa Científica Espécie/linhagem/raça: rato heterogêneo (<i>Wistar</i>) Número de animais: 24 Peso: 300g Idade: 90 dias Sexo: Machos Origem dos animais (Informações sobre o fornecedor): Biotério Central da Unesp de Botucatu.	
Objetivo Acadêmico:	☒ TCC ☐ Mestrado ☐ Doutorado ☐ Outros - (Iniciação Científica) ☐ Pós- Graduação

Rio Claro, 05/06/2019

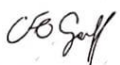
Marco A. Pizo
Prof. Dr. Marco Aurélio Pizo Ferreira
Coordenador

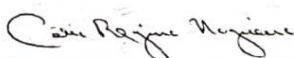
8.2. XXXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP



Certificamos que o trabalho intitulado "Adaptações morfológicas e histoquímicas no músculo sóleo ao treino de salto vertical e sua repercussão na junção miotendínea." foi apresentado na 1ª fase do XXXI Congresso de Iniciação Científica da Unesp, na cidade de Rio Claro - SP, no período de 04 a 05 de setembro de 2019, por Marcela Coffacci de Lima Viliod, orientada pelo Prof. Adriano Polican Ciena.

Rio Claro, 05 de setembro de 2019


 Prof. Dr. Carlos Frederico de Oliveira Graeff
 Pró-Reitor de Pesquisa


 Profa. Dra. Célia Regina Nogueira
 Coordenadora Executiva do CIC



Prof. Dr. Adriano Polican Ciena
 Orientador

Lara Caetano Rocha
 Co-Orientadora

Marcela Coffacci de Lima Viliod
 Discente