



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

**PLASTICIDADE DO VENTRE MUSCULAR E JUNÇÃO MIOTENDÍNEA EM
MODELO EXPERIMENTAL DE TREINAMENTO RESISTIDO DE CURTO
PERÍODO APÓS ATROFIA MUSCULAR: ANÁLISES MORFOLÓGICAS,
MOLECULARES E FUNCIONAIS**

LARA CAETANO ROCHA BRAGA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

**PLASTICIDADE DO VENTRE MUSCULAR E JUNÇÃO MIOTENDÍNEA EM
MODELO EXPERIMENTAL DE TREINAMENTO RESISTIDO DE CURTO
PERÍODO APÓS ATROFIA MUSCULAR: ANÁLISES MORFOLÓGICAS,
MOLECULARES E FUNCIONAIS**

LARA CAETANO ROCHA BRAGA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas (Biologia celular, molecular e microbiologia).

Orientador: Dr. Adriano Polican Ciena

B813p Braga, Lara Caetano Rocha
Plasticidade do ventre muscular e junção miotendínea em modelo experimental de treinamento resistido de curto período após atrofia muscular: Análises morfológicas, moleculares e funcionais / Lara Caetano Rocha Braga. -- Rio Claro, 2025
103 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientador: Adriano Polican Ciena

1. Músculo esquelético. 2. Atrofia muscular. 3. Exercício Físico. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: PLASTICIDADE DO VENTRE MUSCULAR E JUNÇÃO MIOTENDÍNEA EM MODELO EXPERIMENTAL DE TREINAMENTO RESISTIDO DE CURTO PERÍODO APÓS ATROFIA MUSCULAR: ANÁLISES MORFOLÓGICAS, MOLECULARES E FUNCIONAIS

AUTORA: LARA CAETANO ROCHA BRAGA

ORIENTADOR: ADRIANO POLICAN CIENA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia), área: Estrutura, Função e Produção de Biomoléculas pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **ADRIANO POLICAN CIENA**
Data: 05/11/2024 13:32:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. ADRIANO POLICAN CIENA (Participação Presencial)
Departamento de Educacao Fisica / Unesp - IB Rio Claro

Documento assinado digitalmente
 **AMILTON CESAR DOS SANTOS**
Data: 05/11/2024 13:40:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. AMILTON CESAR DOS SANTOS (Participação Presencial)
Departamento de Biociência / Centro Universitário Função de Ensino Octávio Bastos

Prof. Dr. ELTON LUIZ SCUDELER (Participação Presencial)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada
Documento assinado digitalmente
 **ELTON LUIZ SCUDELER**
Data: 05/11/2024 15:34:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Documento assinado digitalmente
 **LUCINEIA DE FATIMA CHASKO RIBEIRO**
Data: 05/11/2024 11:47:01-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. LUCINÉIA DE FÁTIMA CHASKO RIBEIRO (Participação Virtual)
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas / Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Rio Claro, 05 de novembro de 2024

Dedico este trabalho ao meu esposo Daniel, e toda minha família. Em especial dedico como homenagem ao meu avô Alceu (in memoriam). Homem simples e humilde, que não finalizou os estudos, mas possuiu mais sabedoria que muitos acadêmicos. Sua fé em mim deu coragem para realizar sonhos.

Agradecimentos

Agradeço a **Deus** por me escolher para trilhar este caminho, muito me foi tirado, mas muito me foi dado. Ao meu melhor amigo e esposo **Daniel Sampaio Braga**, é imensurável a gratidão que sinto, agradeço de todo o coração toda compreensão, paciência, ensinamentos, e resiliência durante toda esta jornada de estudo, além de todo amor que me possibilitou continuar. Você nunca duvidou! Ao meu amigo e cão **Bob**, agradeço o que fez por mim, me moveu quando não tinha forças, me deu oportunidade de ser melhor. Ao pequeno ser, que neste momento vive em meu ventre, agradeço a esperança do amanhã, e a emoção necessária para que este estudo fosse finalizado da melhor forma possível.

Aos meus familiares e amorosa rede de apoio, pais **Vânia** e **Job**, padrasto **Valdir** (*in memoriam*), sogros **Dorival** e **Sebastiana**, avós **Alceu** (*in memoriam*), **Maria** e **Antonieta**, irmãs **Luany** e **Marina**, cunhados **Ivan**, **Lara** e **Gustavo**, sobrinhas **Liz** e **Maitê**, padrinhos **Jarbas** e **Viviane**, tios e primos, agradeço todo apoio.

Agradeço ao meu orientador **Prof. Dr. Adriano Polican Ciena**, pelas oportunidades, confiança, compreensão e conhecimento transmitido, na vida acadêmica e pessoal.

Aos meus colegas do Laboratório de Morfologia e Atividade Física (LAMAF), **Prof. Me. Jurandyr Pimentel Neto**, **Prof. Me. André Neri Tomiate**, **Isabela Gomes**, **Mariana Baptista**, **Matheus Fior**, e **Prof. Dr. Robson Chacon**, e demais membros, agradeço todos os momentos de aprendizado, descontração, “desabafos” e amizade durante estes anos, vocês foram essenciais para que essa tese ocorresse, bem como para todos os protocolos e resultados.

Em especial, agradeço ao **Prof. Me. Jurandyr Pimentel Neto**, colega de iniciação científica, mestrado e doutorado, amigo que me ajudou em todas as dificuldades e auxiliou durante toda a pesquisa.

Aos meus queridos caroneiros, **Laisa**, **Letícia**, **Thaís**, **Juliana**, **Pedro** e **Thiago**, agradeço toda companhia, paciência, apoio e conversas pelo trajeto diário de Piracicaba e Rio Claro.

Pelo auxílio técnico e científico, agradeço ao técnico **José Roberto**, do Laboratório de Morfologia – UNESP Rio Claro, pelo auxílio e aprendizagem das técnicas e à médica veterinária **Patrícia Cassab**, pelos cuidados com os animais.

Ao **Prof. Dr. Douglas Silva Domingues** e à **Profa. Dra. Paula Oliveira Camargo**, do Laboratório de Genômica e Transcriptoma em Plantas – UNESP Rio Claro, pela cooperação e auxílio técnico para a extração das amostras.

Ao **Prof. Dr. Osmar Malaspina** e a **Dra. Bibiana M. de Souza**, do Laboratório de Ecotoxicologia e Conservação de Abelha (LECA) - UNESP Rio Claro, pelo auxílio técnico e disposição para uso do equipamento criostato.

Ao **Prof. Dr. Henrique Ferreira**, e todos seus alunos, do Laboratório de Genética de Bactérias (LGB) – UNESP Rio Claro, pelo auxílio com o microscópio de imunofluorescência e auxílio com a análise de Western Blot.

Ao **Prof. Dr. Diogo Cavalcanti Cabral de Mello**, **Profa. Dra. Patrícia Pasquali Parise Maltempi**, e a pós-graduanda **Ma. Ana Elisa Gasparotto da Silva**, do Laboratório de Citogenética – UNESP Rio Claro, pelo auxílio com o fotomicroscópio de luz e fluorescência.

À técnica **Sônia Regina Yokomizo de Almeida**, do ICB-II da Universidade de São Paulo – São Paulo, pelo auxílio no processamento das amostras para a microscopia eletrônica de transmissão.

À **Profa. Dra. Marucia Chacur** e **Ma. Luara Caniato**, do Laboratório de Neuroanatomia Funcional da Dor (LAND) – USP São Paulo, pelo ensino e auxílio com a técnica de Western Blot.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia) e ao coordenador **Prof. Dr. Mauricio Bacci Junior**, pelos apoios concedidos para participação de treinamento técnico e congresso.

O presente trabalho foi realizado com apoio das seguintes agências de fomento:

- Em parte pelo projeto regular coordenado pelo Prof. Dr. Adriano Polican Ciena Processo nº 2022/044272-4, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP);
- O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Por fim, agradeço aos **animais** que deram suas vidas para a realização deste estudo, meu respeito e gratidão.

Minha mais sincera gratidão!

*"São as nossas escolhas, mais do que as nossas capacidades,
que demonstram quem realmente somos."*

(Dumbledore, Alvo. Harry Potter e a Câmara Secreta.

Rowling, J.K.)

Resumo

O tecido muscular esquelético, é o mais abundante no corpo humano, e possui a capacidade de resposta rápida e abrangente aos estímulos internos e externos do organismo. A junção miotendínea (JMT) é uma região de interface entre o músculo e o tendão, especializada na transmissão de força, possui uma ampla capacidade de adaptação a diferentes estímulos. A atrofia muscular por desuso é um efeito deletério da imobilização articular, utilizada como tratamento conservador para lesões osteomioarticulares. Embora a imobilização seja uma prática comum, leva a um declínio funcional significativo. A prática de exercícios físicos, especialmente o treinamento resistido, é uma modalidade terapêutica eficaz para combater a atrofia muscular, promovendo respostas hipertróficas. O objetivo deste estudo contemplou em investigar as adaptações das fases iniciais do treinamento resistido após a imobilização articular no ventre muscular e JMT no período de 7 e 14 dias, e células associadas a regeneração. Foram utilizados ratos Wistar machos com 60 dias divididos nos grupos: Controle (não submetido a nenhum protocolo), Imobilizado (I; submetido ao protocolo de imobilização articular por 10 dias), Treinado (T; submetidos ao protocolo de treinamento resistido de 7 e 14 dias), e Imobilizado/Treinado (IT; submetido aos protocolos de imobilização articular e treinamento resistido). Durante os períodos analisados foram obtidos dados de massa corporal, massa muscular, e dados funcionais do treinamento resistido (tempo, escalada e trabalho). As amostras do músculo gastrocnêmio foram coletadas e processadas para as análises morfológicas do ventre muscular e JMT para microscopia de luz, microscopia eletrônica de transmissão (morfometrias dos sarcômeros, projeções sarcoplasmáticas e JMT), histoquímica de ATPase miofibrilar (área de secção transversa – AST, e densidade tipo-miofibrilar), imunofluorescência (morfologia de telócitos e células satélites, e morfometria de colágeno XXII), e análise proteica de Western Blot de TGF β e Pax7. Após obtenção dos dados funcionais observamos redução no desempenho funcional dos grupos IT comparado aos grupos T após a imobilização articular, porém com resposta de melhora na última sessão de treinamento. A imobilização apresentou declínio da massa corporal e muscular, enquanto após o treinamento observou-se uma recuperação. No ventre muscular foram observadas adaptações nos grupos T, I e IT nos núcleos celulares e tecido conjuntivo associado, bem como adaptações na AST e índice de fator de forma tipo miofibrilar dependente. A JMT apresentou

adaptações morfométricas diferenciadas quanto aos sarcômeros, projeções sarcoplasmáticas e interface miotendínea, e colágeno XXII, bem como a presença de CS e telócitos na região. A expressão de TGF β e Pax7 apresentou variação diferenciada conforme os protocolos aplicados. A imobilização articular resultou em atrofia muscular por desuso, o que levou à diminuição das projeções sarcoplasmáticas na JMT, redução do perímetro de colágeno XXII, e assim, consequente fragilidade da região. O treinamento de curto período (7 e 14 dias) demonstraram efeitos positivos na melhora funcional, recuperação parcial da massa muscular e indução de respostas hipertróficas, indicando repercussões positivas frente a recuperação estrutural da região miotendínea.

Palavras-chave: Imobilização articular, Escada vertical, Mionúcleos, Fibrose, Sarcômero, Colágeno XXII, Telócitos, Células Satélites.

Abstract

Skeletal muscle tissue is the most prevalent tissue in the human body and exhibits a remarkable capacity to respond swiftly and comprehensively to both internal and external stimuli. The myotendinous junction (MTJ) is a specialized interface between the muscle and tendon, crucial for force transmission, and possesses significant adaptability to various stimuli. Disuse muscle atrophy, a detrimental consequence of joint immobilization often used as a conservative treatment for osteomyoarticular injuries, results in considerable functional decline despite its common usage. Engaging in physical exercises, particularly resistance training, has been identified as an effective therapeutic strategy to counteract muscle atrophy by inducing hypertrophic responses. This study aimed to investigate the adaptations occurring in the early phases of resistance training following joint immobilization, focusing on the muscle belly and MTJ over periods of 7 and 14 days, as well as on cells involved in regeneration. Male Wistar rats, aged 60 days, were allocated into the following groups: Control (C; not subjected to any protocol), Immobilized (I; underwent joint immobilization for 10 days), Trained (T; engaged in a resistance training protocol for 7 and 14 days), and Immobilized/Trained (IT; subjected to both joint immobilization and resistance training protocols). Data collected during these periods included body mass, muscle mass, and functional performance metrics from resistance training (time, climbing, and work). Samples of the gastrocnemius muscle were collected and processed for morphological analyses of the belly muscle and MTJ for light microscopy, transmission electron microscopy (sarcomere, sarcoplasmic projections, and MTJ morphometry), histochemical analysis of myofibrillar ATPase (cross-sectional area – CSA, and myofibrillar-type density), immunofluorescence (morphology of telocytes and satellite cells, as well as morphometry of collagen XXII), and protein analysis via Western Blot for TGF β and Pax7. Results revealed a decline in functional performance in the Immobilized/Trained groups compared to the Trained groups post-immobilization, although improvement was noted in the final training session. Immobilization led to reductions in both body and muscle mass, whereas training facilitated recovery. In the muscle belly, adaptations were evident in the cell nuclei and associated connective tissue across the Trained, Immobilized, and Immobilized/Trained groups, as well as changes in the CSA and myofibrillar-dependent form factor index. The MTJ exhibited distinct morphometric adaptations

concerning sarcomeres, sarcoplasmic projections, myotendinous interface, and collagen XXII, alongside the presence of satellite cell and telocytes. The expression levels of TGF β and Pax7 varied according to the applied protocols. Joint immobilization induced muscle atrophy due to disuse, leading to a reduction in sarcoplasmic projections within the MTJ, decreased collagen XXII perimeter, and resultant fragility of the region. Short-term resistance training (7 and 14 days) demonstrated beneficial effects on functional improvement, partial recovery of muscle mass, and promotion of hypertrophic responses, underscoring its positive impact on the structural recovery of the myotendinous junction.

Keywords: Joint immobilization, Vertical climb, Mionuclei, Fibrosis, Collagen XXII, Telocytes, Satellite cell.

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura e principais componentes do tecido muscular esquelético.	10
Figura 2. Estrutura e principais componentes da junção miotendínea (JMT).	13
Figura 3. Telócitos adjacente à junção miotendínea (JMT).	16
Figura 4. Caracterização das fases miogênicas das CS através de fatores regulatórios.	18
Figura 5. Interação celular para homeostase muscular.	19
Figura 6. Micrografia representativa da morfologia do telócito.	20
Figura 7. Associação dos protocolos experimentais e análises.	27
Figura 8. Delineamento dos períodos e protocolos dos Grupos experimentais.	30
Figura 9. Ilustração do dispositivo utilizado no protocolo de imobilização articular.	31
Figura 10. Ilustração da escada vertical e variáveis obtidas durante a realização do protocolo de treinamento resistido.	34
Figura 11. Médias e desvios padrões da relação tempo/movimento (TM) realizados durante as escaladas no protocolo de treinamento resistido dos grupos T ₇ , T ₁₄ , IT ₇ e IT ₁₄ .	45
Figura 12. Médias e desvios padrões de Trabalho (J) realizado durante o protocolo de treinamento resistido dos grupos T ₇ , T ₁₄ , IT ₇ e IT ₁₄ .	46
Figura 13. Médias e desvios padrões de escaladas (nº) durante o protocolo de treinamento resistido dos grupos T ₇ , T ₁₄ , IT ₇ e IT ₁₄ .	47
Figura 14. Médias e desvios-padrões da massa corporal dos grupos nos momentos experimentais.	49
Figura 15. Médias e desvios-padrões da massa do músculo gastrocnêmio (g) dos grupos experimentais.	50
Figura 16. Microscopia de luz e DF do ventre muscular em coloração de HE.	52
Figura 17. Microscopia de luz, DF e ARTC do ventre muscular em coloração de PSR.	53
Figura 18. Microscopia de luz da JMT nas colorações de HE e PSR.	55
Figura 19. ATPase miofibrilar e análises morfométricas de AST e IFF das fibras musculares dos tipos I, IIa e IIx dos grupos experimentais.	58
Figura 20. ATPase miofibrilar e análises morfométricas de densidade das fibras musculares dos tipos I e II dos grupos experimentais.	60

Figura 21. Análise ultraestrutural do ventre muscular e região da junção miotendínea através de microscopia eletrônica de transmissão dos grupos experimentais.	63
Figura 22. Morfometrias das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas dos grupos experimentais.	65
Figura 23. Morfometria da interface miotendínea dos grupos experimentais.	66
Figura 24. Morfometria do comprimento dos sarcômeros do ventre muscular e região miotendínea dos grupos experimentais.	67
Figura 25. Análise da região miotendínea através de microscopia de fluorescência das células satélites e telócitos dos grupos experimentais.	69
Figura 26. Análises morfométricas do colágeno XXII da JMT dos grupos experimentais.	71
Figura 27. Análises dos ensaios de Western Blot dos grupos experimentais.	73

Lista de Tabelas

Tabela 1. Descrição da sobrecarga utilizada na adaptação ao protocolo de treinamento resistido. _____	32
Tabela 2. Distribuição das amostras pelas técnicas aplicadas. _____	36
Tabela 3. Anticorpos utilizados e especificações para a técnica de imunofluorescência. _____	40
Tabela 4. Anticorpos utilizados para o western blot. _____	41
Tabela 5. Delineamento estatístico e análises aplicadas. _____	42

Lista de abreviaturas e siglas

%	-	Porcentagem
[]	-	Concentração
Akt	-	Proteína quinase B
ARTC	-	Área relativa de tecido conjuntivo
AST	-	Área de secção transversa
ATP	-	Adenosina trifosfato
BSA	-	<i>Bovine serum albumin</i>
C	-	Controle
CaCl ₂	-	Cloreto de cálcio
CD31	-	<i>Cluster of differentiation 31</i>
CD34	-	<i>Cluster of differentiation 34</i>
CEUA	-	Comissão de Ética no Uso de Animais
Cm	-	Centímetros
Col22a1	-	Colágeno XXII
CS	-	Célula satélite
CSC	-	Camada de suporte de colágeno
DAPI	-	<i>4',6'-diamino-2-fenil-indol</i>
DIC	-	<i>Differential Interference Contrast</i>
DEX	-	Dexamethasona
DF	-	Dimensão Fractal
DMN	-	Domínio mionuclear
DTT	-	Ditiotreitol
ECL	-	<i>Enhanced chemiluminescence</i>
EDTA	-	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FAPs	-	Células progenitoras fibro-adiogênicas
FGF	-	<i>Fibroblast growth factor</i>
g	-	Gramas
GAPDH	-	<i>Glyceraldehyde-3-Phosphate dehydrogenase</i>
h	-	Hora
HE	-	Hematoxilina-eosina
I	-	Imobilização

IFF	- Índice de fator de forma
IGF-1	- <i>Insulin-like growth factor-1</i>
IL-6	- Interleucina 6
IL-15	- Interleucina 15
IT	- Imobilização/Treinamento
IT ₁₄	- Imobilização /Treinamento 14 dias
IT ₇	- Imobilização /Treinamento 7 dias
J	- Joules
JMT	- Junção miotendínea
Kg	- Quilo
LAMAF	- Laboratório de Morfologia e Atividade Física
M	- Molar
m	- Metros
m/s ²	- Metros por segundo
MEC	- Matriz extracelular
Mg	- Miligrama
Min	- Minutos
mL	- Mililitro
mM	- Massa molar
MMP	- Metaloproteinases
MRF4	- <i>Myogenic Regulatory Factor 4</i>
MRFs	- Fatores de regulação miogênica
mTOR	- <i>Mechanistic target of rapamycin kinase</i>
MURF1	- <i>Muscle RING finger 1</i>
MYF5	- <i>Myogenic factor 5</i>
MYF6	- <i>Myogenic factor 6</i>
Myod	- <i>Myogenic differentiation</i>
Myog1	- <i>Myogenin 1</i>
NaCl	- Cloreto de sódio
NGS	- <i>Normal goat serum</i>
nm	- Newton metro
°C	- Graus celsius
°	- Graus

OMS	-	Organização Mundial de Saúde
Pax7	-	Fator de Transcrição 7
PBS	-	Solução de salina tamponada com fosfato
PDGFR α	-	<i>Platelet derived growth factor receptor alfa</i>
PSR	-	Picro-sírus red
Rpm	-	Rotações por minuto
RES	-	Retículo sarcoplasmático
s	-	Segundos
T	-	Treinamento
T ₁₄	-	Treinamento 14 dias
T ₇	-	Treinamento 7 dias
TBST	-	Solução salina tamponada com tris e tween
TGF β	-	<i>Transforming growth factor beta</i>
TM	-	Tempo/movimento
UNESP	-	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
USA	-	<i>United States of América</i>
V	-	Volts
x	-	Vezez

Sumário

1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1 Músculo Estriado Esquelético	9
2.2 Junção Miotendínea	13
2.3 Dinâmica celular na plasticidade do tecido músculo esquelético	16
2.3.1 Imobilização articular	21
2.3.2 Exercício resistido	24
3. OBJETIVO GERAL	28
3.1 Objetivos específicos	28
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1 Animais.....	29
4.2 Protocolo de imobilização articular	30
4.3 Protocolo de treinamento resistido	32
4.3.1 <i>Análises funcionais</i>	33
4.4 Massa corporal.....	35
4.5 Amostras musculares	35
4.6 Microscopia de luz.....	36
4.6.1 Dimensão fractal	37
4.7 Histoquímica de ATPase miofibrilar	37
4.8 Microscopia eletrônica de transmissão.....	38
4.8.1 <i>Análise morfométrica</i>	39
4.9 Imunofluorescência	39
4.10 Western blot	40
4.11 Análises estatísticas	42
5. RESULTADOS	44
5.1 Análises funcionais.....	44
5.2 Massa corporal.....	47
5.3 Massa muscular	49
5.4 Microscopia de luz.....	50
5.4.1 <i>Componentes estruturais do ventre muscular</i>	51
5.4.2 <i>Tecido conjuntivo do ventre muscular</i>	52
5.4.3 <i>Junção miotendínea</i>	54

5.5 Tipificação miofibrilar – Histoquímica de ATPase	55
5.6 Análise de microscopia eletrônica de transmissão da JMT	60
5.6.1 <i>Análises morfométricas da JMT</i>	64
5.7 Análise de microscopia de imunofluorescência da região miotendínea	68
5.7.1 <i>Células satélites e telócitos</i>	68
5.7.2 <i>Colágeno XXII</i>	70
5.8 Western blot	72
6. DISCUSSÃO	74
7. CONCLUSÃO.....	86
REFERÊNCIAS.....	88
Apêndice 1	103

1. INTRODUÇÃO

O músculo estriado esquelético é o tecido mais abundante do corpo humano, este compõe aproximadamente de 40% da massa corporal. O tecido muscular esquelético possui rápida e abrangente capacidade de resposta aos estímulos. Esta capacidade se dá em virtude de suas células com propriedades regenerativas e com atividade miogênica, as células satélites (CS), que atuam principalmente nos processos de regeneração e hipertrofia muscular (COSTAMAGNA et al., 2015; LE MOAL et al., 2017; MUKUND; SUBRAMANIAM, 2019).

Nas extremidades musculares encontram-se uma região de comunicação entre o tecido muscular e o tecido tendíneo, que então se conecta aos periósteos para a execução dos movimentos de alavancas. A região de contato entre o músculo e o tendão é denominada junção miotendínea (JMT), trata-se de uma região anatômica especializada onde ocorre a transmissão de força do músculo para o tendão (CHARVET; RUGGIERO; LE GUELLEC, 2012; TIDBALL; DANIEL, 1986).

A JMT desempenha papel importante no aparelho locomotor, devido sua transmissão de força de cisalhamento e resistência na conexão entre tecidos, e deste modo influencia diretamente no desempenho funcional do aparelho locomotor, e atua nas atividades de vida diárias, como a deambulação, levantamento de objetos, sentar-se e levantar, além de subir e descer escadas por exemplo (CURZI et al., 2012; SIERRA et al., 2018).

Devido ao fato da região da JMT ser composta por diferentes tecidos e frente a sua necessidade funcional especializada, as células que a envolvem apresentam também características e plasticidades singulares. Diversos estudos indicam o nicho de telócitos na JMT, presença de CS, alteração da camada de suporte de colágeno (CSC), adaptação das projeções sarcoplasmáticas, variação do domínio mionuclear (DMN) na região, além de alterações sarcoméricas, frente a diferentes protocolos de exercício físico (JACOB et al., 2019a; PIMENTEL NETO et al., 2020a, 2022, 2024; ROCHA et al., 2020b).

Os telócitos são células intersticiais observadas durante processos regenerativos adjacentes a nichos de células-tronco, elas fornecem auxílio para proliferação e maturação destas células via comunicação intercelular (DÍAZ-FLORES et al., 2020). A elucidação da relação dos telócitos da JMT pode contribuir

significativamente para a compreensão de como essa região se adapta ao estímulo de atrofia muscular por desuso, além de esclarecer o impacto do treinamento resistido de curto prazo nessa adaptação.

A atrofia muscular por desuso é um dos efeitos deletérios decorrentes da imobilização articular, qual é um tratamento conservador para lesões ósteo-mio-articulares, mesmo com o objetivo terapêutico apresenta ainda repercussões como fibrose intramuscular, redução da vascularização e neural, além de consequências funcionais adversas (KANNUS et al., 1998a; ROCHA et al., 2021; WANG et al., 2019; WATANABE et al., 2016)

A prática de exercício físico de maneira periodizada e contínua ocasiona em inúmeros benefícios para a saúde e bem-estar. Essa abordagem pode resultar inclusive na prevenção de lesões musculares e manutenção de estímulos miogênicos contínuos. Embora o uso de exercícios físicos de maneira terapêutica já seja reconhecido, os efeitos de estímulos de curto prazo no remodelamento muscular e da JMT após a atrofia por desuso não são plenamente compreendidos (LOURENÇO et al., 2020; SON et al., 2016).

O período pós-imobilizatório é decisivo para o desempenho funcional e fisiológico do segmento afetado. Investigar o treinamento resistido como tratamento não farmacológico e não invasivo após a atrofia muscular por desuso pode revelar a ativação de vias de sinalização benéficas para o sistema locomotor e estimular a regeneração celular. Portanto, estudar as fases iniciais do treinamento resistido após a imobilização articular elucidará as adaptações no desempenho funcional, na morfologia do ventre muscular e na JMT, bem como as alterações na expressão de células auxiliares na regeneração.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Músculo Estriado Esquelético

O tecido muscular estriado esquelético é o mais abundante do corpo humano e representa cerca de 40% da massa corporal, desta maneira desempenha um papel essencial na homeostase corporal, além de conter 50-75% do total de proteínas do organismo. Os músculos esqueléticos possuem funções vitais como manutenção da postura, metabolismo, respiração, e a realização dos movimentos corporais por meio das contrações musculares (FRONTERA; OCHALA, 2015; MUKUND; SUBRAMANIAM, 2019).

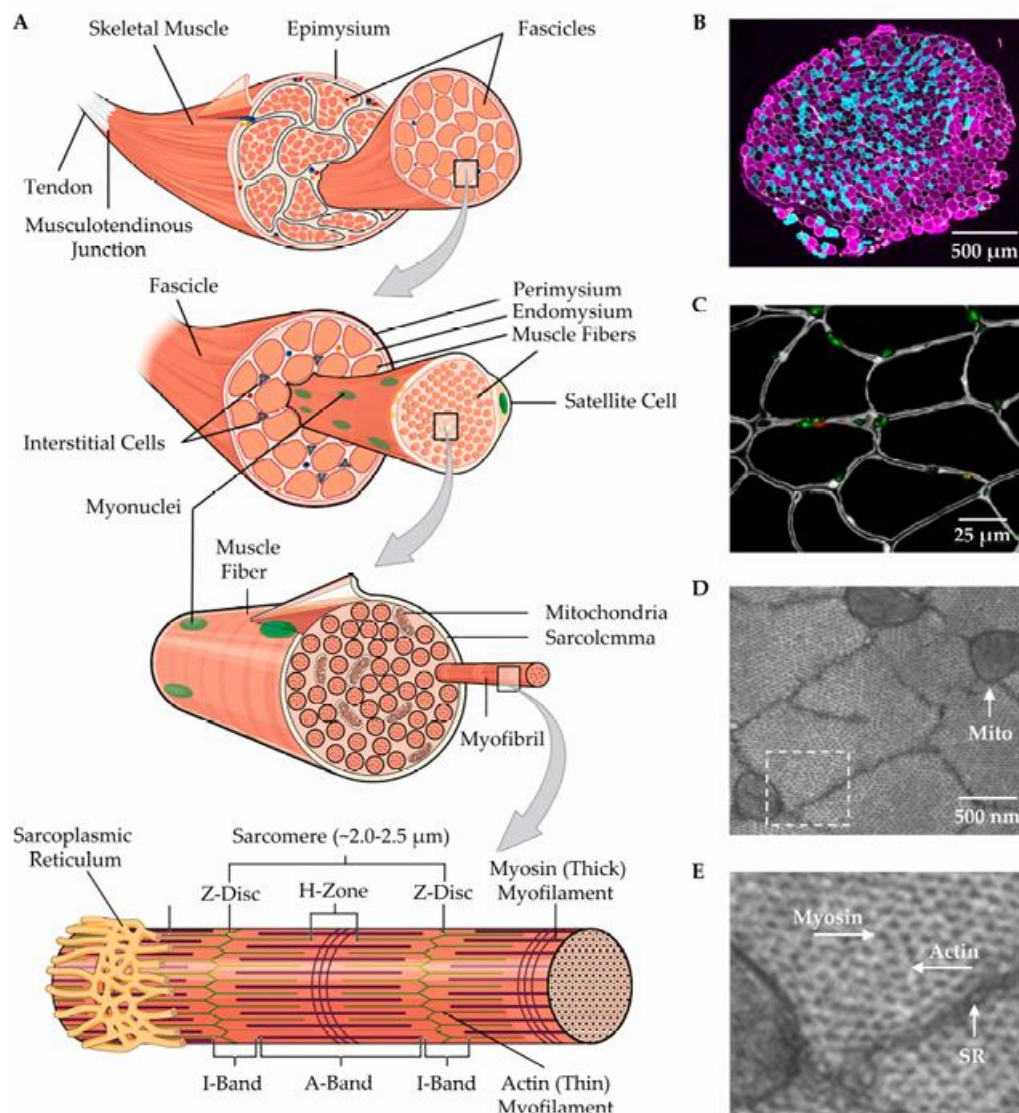
Uma das principais funções do tecido muscular é converter a energia “química” em energia mecânica, de forma a possibilitar a produção de contrações musculares isométricas, isotônicas (excêntricas e concêntricas) e isocinéticas. Para que isso ocorra, o músculo estriado esquelético apresenta propriedades de força, elasticidade e plasticidade em resposta a estímulos (HARGREAVES; SPRIET, 2020; OLSEN; NICOLL; FRY, 2019).

Os efeitos das contrações musculares estão envolvidos em diversos outros processos fisiológicos de diferentes sistemas corporais, como respiração, batimentos cardíacos, vias nervosas e endócrinas. Esta capacidade contrátil só é possível devido sua composição por fibras musculares (células musculares/miofibras) e conteúdo proteico especializado que trabalham em conjunto com outras diferentes células como adipócitos, fibroblastos, CS, células endoteliais e neurônios (BHASKARAN et al., 2020; GHANEMI et al., 2019; ROSA et al., 2020; SAID et al., 2017).

As fibras musculares estriadas esqueléticas são células multinucleadas, inervadas, de contração voluntária em sua grande maioria, e com grande suporte energético para um metabolismo eficiente, possuem formato poligonal em corte transversal e longo comprimento cilíndrico. Como outras células clássicas, a fibra muscular possui uma membrana (sarcolema), o citoplasma (sarcoplasma), além de retículo endoplasmático liso (retículo sarcoplasmático - RES) e das mitocôndrias (MUKUND; SUBRAMANIAM, 2019).

A disposição do tecido muscular estriado esquelético é formada pelo tecido conjuntivo associado: epimísio, perimísio e endomísio. De maneira externa encontra-se o epimísio, que reveste e agrupa os fascículos musculares, contempla vasos sanguíneos e nervos, e contínuo ao tendão. O perimísio, envolve um conjunto de fibras musculares em feixes, e constitui os fascículos musculares. Mais internamente, encontra-se o endomísio, uma fina camada de fibras reticulares, principalmente constituídas por colágeno tipo III, que recobre as fibras musculares individualmente (Figura 1) (CRETOIU et al., 2018; KJAER, 2004).

Figura 1. Estrutura e principais componentes do tecido muscular esquelético.



Fonte: Sayed et al. (2023). Ilustração da organização do músculo estriado esquelético (*Skeletal muscle*) desde sua fixação no tendão (*tendon*) e região da junção miofibrilar (*musculotendinous junction*), fascículos (*fascicles*), fibra muscular

(muscle fiber), miofilamento (*myofibril*) até sua unidade funcional, o sarcômero (*sarcomere*). A organização de tecido conjuntivo associado ao tecido muscular, epimísio (*epimysium*), perimísio (*perimysium*) e endomísio (*endomysium*). Elementos celulares do tecido muscular, como mionúcleos (*myonuclei*), células satélites (*satellite cell*), mitocôndria (*mitochondria/mito*), e organização como sarcolema (*sarcolema*), retículo sarcoplasmático (*sarcoplasmic reticulum/SR*), bandas I (*I-Band*), banda A (*A-band*), linha Z (*Z-Disc*), zona H (*H-Zone*), e filamentos de actina (*actin/thin*) e miosina (*myosin/thick*).

A fibra muscular é composta por subunidades estruturais denominadas de miofibrilas que ocupam o maior espaço intracelular, compostas de feixes de miofilamentos formados por bandas de filamentos proteicos e uma rede de citoesqueleto. Os miofilamentos são polímeros filamentosos de miosina II e de actina, conhecidos também como filamento grosso e filamento fino respectivamente, além de outras proteínas associadas como: titina, α -actinina, nebulina, tropomodulina, desmina, e distrofina, bem como demais proteínas estabilizantes (DUTTA et al., 2018; HENDERSON et al., 2017; OJIMA, 2019; TONINO et al., 2017).

Este tecido é denominado estriado devido às características histológicas, que apresentam estriações com bandas claras e escuras. Os miofilamentos são organizados por sarcômeros em série, as unidades contrácteis formada por bandas anisotrópicas denominadas de Banda A (escura), e bandas isotrópicas chamada de Banda I. A banda A é dividida ao meio por uma região clara, a Banda A com uma linha ao centro, a linha M, enquanto, a banda I é dividida ao meio por uma linha densa, a linha Z (MACINTOSH, 2017; SAYED et al., 2023; SCHMIDT; JINHA; HERZOG, 2021). Uma unidade de sarcômero compreende entre um par de linhas Z, e funcionalmente sobrepõe seus filamentos proteicos para que ocorra a contração muscular (Figura 1).

As fibras musculares possuem propriedades bioquímicas, estruturais e funcionais, que diferem entre si devido a diversidade de atividades possíveis a serem realizadas, como as contrações concêntricas ou isométricas de grupamentos musculares distintos. Desta forma, as fibras musculares possuem diferentes perfis metabólicos e propriedades mecânicas determinantes em suas características, e são classificadas conforme a velocidade de contração, resistência a fadiga, e isoforma de miosina (CRETOIU et al., 2018).

Os tipos de fibras musculares são: fibras do tipo I ou oxidativas lentas, possuem baixa velocidade de contração, alta resistência a fadiga e alta demanda de densidade

vascular (mioglobina) e mitocondrial; fibras do tipo II são subdivididas em tipo IIa glicolítica oxidativa rápida, realiza contração rápida, alta resistência a fadiga e alta demanda de densidade vascular (mioglobina) e mitocondrial; e tipo IIx glicolítica rápida, possui alta velocidade de contração, baixa capacidade oxidativa reduzida resistência à fadiga, porém possui maior armazenamento de glicogênio (BAILLY et al., 2020; CICILIOT et al., 2013; SCHIAFFINO, 2018; TYAGI et al., 2017).

A densidade de cada tipo de fibra é determinada por estímulos hormonais e nervosos durante o desenvolvimento, porém sofrem alterações decorrentes de situações de exercício físico e diferentes modalidades, miopatias e característica funcional do músculo esquelético investigado (LEE; OH, 2015). O músculo gastrocnêmio analisado neste estudo possui predominância de fibras Tipo II (ZIERATH; HAWLEY, 2004).

A rápida e abrangente capacidade de resposta transcricional do músculo esquelético deve-se a presença dos mionúcleos (núcleos da fibra muscular). A fibra muscular é uma célula multinucleada com domínio mionuclear (DMN) bem estabelecido no período pós-natal, resultante da fusão de numerosas células precursoras mononucleadas durante o desenvolvimento embrionário (KOOPMANS; ZWETSLOOT; MURACH, 2023).

O DMN é uma hipótese de que os mionúcleos podem controlar a atividade transcricional de um território citoplasmático de forma limitada. Esta hipótese é sustentada por evidências que, em condições como a hipertrofia muscular, as CS atuam na doação de seus mionúcleos extras para o crescimento/desenvolvimento da fibra muscular. Além disso, o tipo de fibra também desempenha um papel importante. As fibras tipo I possuem um DMN menor em comparação as fibras do tipo II, o que pode influenciar diretamente efeitos como a hipertrofia muscular (AMAN et al., 2023).

O músculo gastrocnêmio, utilizado neste estudo, é um músculo superficial que compõe o tríceps sural do compartimento posterior da perna. Possui 2 ventres musculares, o ventre medial que possui fixação acima da face articular do côndilo medial do fêmur, enquanto, o ventre lateral possui ponto fixo na face lateral superior do côndilo lateral do fêmur, e possui ponto móvel na tuberosidade do calcâneo através do tendão do calcâneo. O músculo gastrocnêmio possui função agonista na articulação talocrural na flexão plantar do pé e auxilia na flexão da perna na articulação

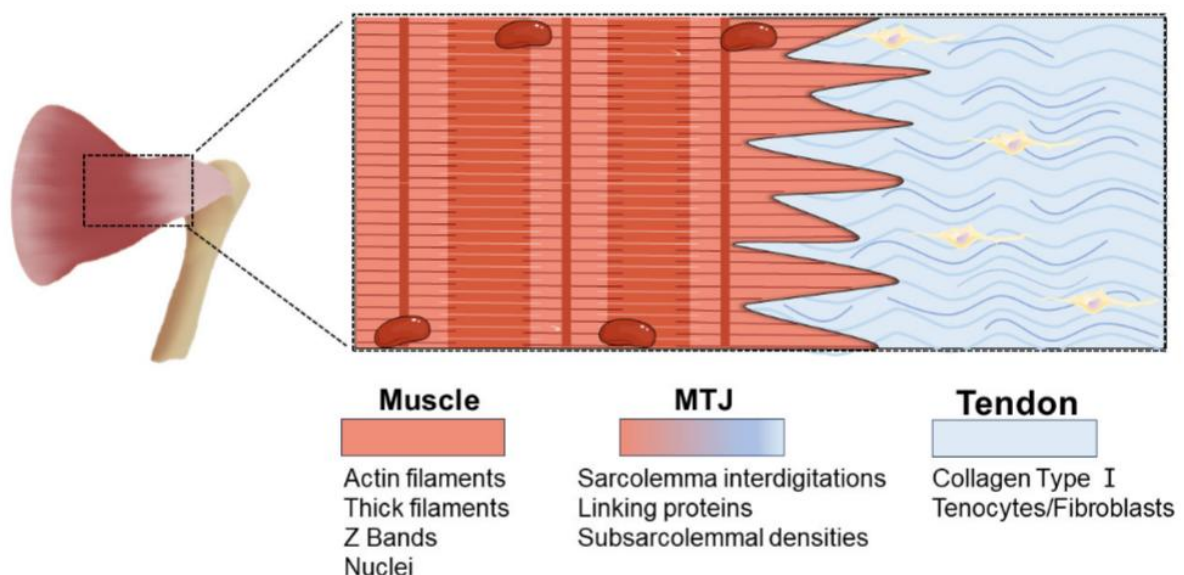
do joelho, desta forma é essencial na deambulação e atividades diárias (HSU; CHANG, 2018).

2.2 Junção Miotendínea

A junção miotendínea (JMT) é uma região anatômica altamente especializada, que compõe uma interface de união entre os tecidos muscular e tendíneo. Esta é responsável pela transmissão de força entre as proteínas contráteis dos miofilamentos terminais e as fibrilas colágenas do tendão, desta forma, constituem uma unidade mecânica integrada e especializada (CHARVET; RUGGIERO; LE GUELLEC, 2012).

A interface miotendínea é composta pela extremidade distal da fibra muscular, as miofibrilas terminais formam projeções sarcoplasmáticas alongadas e seus filamentos de actina se estendem a partir da última linha Z sarcomérica, são as denominadas evaginações sarcoplasmáticas. Enquanto, as projeções de fibrilas colágenas advindas do tecido tendíneo, são denominadas invaginações sarcoplasmáticas, estas ultraestruturas constituem uma interface de interdigitações, o “*finger-like process*” (Figura 2) (CIENA et al., 2010; CURZI et al., 2013a).

Figura 2. Estrutura e principais componentes da junção miotendínea (JMT).



Fonte: Tong et al. (2024). A junção miotendínea (MTJ) é uma região de interface formada por interdigitações do sarcolema (*sarcolemma interdigitations*) com proteínas de ancoragem (*linking proteins*), localizada entre o músculo (*muscle*; filamento de actina - *actin filaments*; filamento grosso - *thick filaments*; banda Z - *Z bands*; núcleos

- *nuclei*), e o tendão (*tendon*, colágeno tipo I – *collagen Type I*; tenócitos/fibroblasto – *tenocyte/fibroblast*).

A interface da JMT possibilita a transmissão de forças de cisalhamento e tensão durante as contrações musculares, facilitando a difusão da carga ao longo do segmento de forma a promover sua mobilidade. As interdigitações presentes na JMT otimizam a área de contato da interface miotendínea, e a resistência às forças de contração (SNOW et al., 2024).

A JMT apresenta uma interface integrada devido à presença de dois sistemas transsarcolemais, o complexo glicoproteico associado à distrofina e integrina $\alpha 7\beta 1$, que estabelecem uma ligação estrutural entre os elementos intracelulares contráteis (fibras musculares) e a MEC dos tendões através da laminina (AMEMIYA et al., 2023; CHARVET; RUGGIERO; LE GUELLEC, 2012; KOJIMA et al., 2008). Entretanto, lesões na região da JMT são comuns, por isso é considerada uma área de maior predisposição a lesões do aparelho locomotor, justamente devido à sua função de ancoragem de elementos contráteis (KNUDSEN et al., 2015).

O desenvolvimento primário da JMT de recém-nascidos demonstra alta atividade celular, evidenciada por uma alta concentração de mitocôndrias ovais, capilares sanguíneos e núcleos de células endoteliais. Neste período observa-se os elementos da matriz extracelular com finas dobras do sarcolema formando as projeções sarcoplasmáticas. Este desenvolvimento ocorre sob influência das contrações musculares (CIENA et al., 2012; KOSTROMINOVA; ARRUDA; LARKIN, 2009).

Estudos sobre as adaptações resultantes da prática de exercício físico têm demonstrado ampla plasticidade da JMT. Essas adaptações incluem alterações nas projeções sarcoplasmáticas e concomitantemente aumento da interface de contato. Além disso, observa-se uma redução dos comprimentos dos sarcômeros, e aumento da atividade celular na região (CURZI; SALUCCI; GOBBI, 2017; ROCHA et al., 2021b). Essas mudanças estruturais e funcionais da JMT são fundamentais para a melhoria da capacidade de transmissão de força e resistência durante a contração muscular, e contribuem para uma maior eficiência e desempenho muscular.

O colágeno XXII (Col22a1) foi identificado e descrito por Koch et al. (2004), como componente singular da JMT, sua presença é restrita à interface da JMT, onde

este se concentra no terminal distal da fibra em contato com a MEC e os núcleos adjacentes contribuem para sua deposição. Enquanto, no tendão são expressos principalmente os tipos de colágenos XIV e XII (JAKOBSEN; KROGSGAARD, 2021).

Estudos sugerem que o colágeno XXII é uma proteína que constitui sistema de ligação transmembranar $\alpha 7\beta 1$, e sua atenuação já é associada ao aumento de risco de lesões em atletas. Em estudos utilizando animais “*knockout*” para colágeno tipo XXII, observaram-se deficiências na unidade da JMT como ausência de ancoragem muscular na membrana basal e MEC, são inclusas alterações estruturais e disfunções que resultam em falhas na transmissão de força, além de induções a miopatias (CHARVET et al., 2013; MALBOUYRES et al., 2022, 2022; MIYAMOTO-MIKAMI et al., 2020).

A plasticidade e complexidade da JMT é diretamente relacionada à intensidade do protocolo de exercício físico, e há indícios do desempenho do Fator de Crescimento Transformador Beta ($TGF\beta$) como papel fundamental na via molecular da regulação/adaptação da JMT associado à ativação dos fibroblastos. Além do auxílio das CS na rápida plasticidade da região (CURZI et al., 2016; ZHAO et al., 2018).

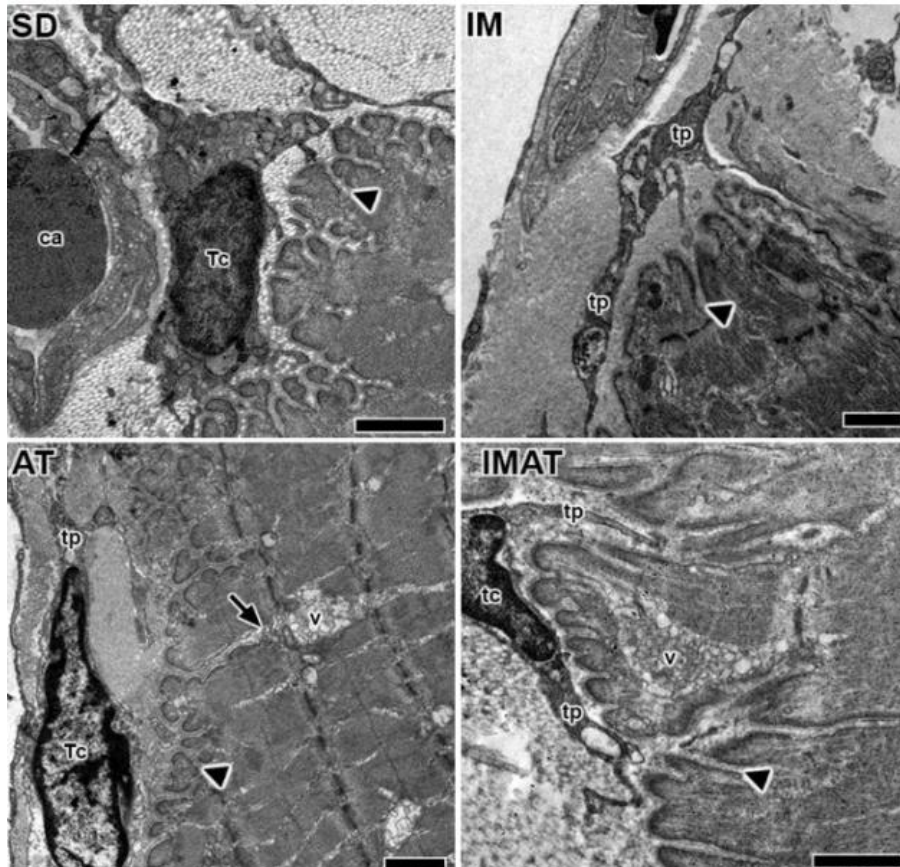
A estrutura da JMT também pode apresentar adaptação quanto ao tipo de fibra muscular, fibras do tipo I apresenta maior interface de contato que fibras do tipo II, esta característica sugere que as fibras do tipo I podem ser mais resistentes à lesão induzida por carga do que as fibras do tipo II, com base nisso, direcionar um programa de prevenção/protocolo de exercício pode aumentar a área de interface da JMT as fibras do tipo II e ser vantajoso para prevenir lesões por esforço. Entretanto, observou-se que o tamanho da JMT é diretamente relacionado à sua morfologia (JAKOBSEN et al., 2023).

Estudos do nosso grupo de pesquisa demonstraram que a utilização dos exercícios físicos como intervenção para a sarcopenia no envelhecimento, tem demonstrado efetividade no aumento da área de contato da JMT, com aumento das projeções sarcoplasmáticas. Bem como, as maiores variações dos comprimentos no sarcômero distal (último sarcômero do miofilamento) e devido sua íntima relação com as projeções sarcoplasmáticas apresenta grande influência advinda da interface miotendínea (JACOB et al., 2019; SIERRA et al., 2018).

Na região miotendínea são também observados a presença de telócitos e suas projeções próximas à lâmina basal da JMT (Figura 3) e associados a vesículas na

região da JMT (ROCHA et al., 2021b). Entretanto, a sua relação com a região em seus aspectos funcionais, associação com a regeneração e plasticidade de tecidos, ainda são desconhecidos. Diante disso, a JMT é uma região de estudo que pode elucidar estes aspectos funcionais, em vista de sua alta capacidade e das possíveis respostas a estímulos, como no treinamento resistido após atrofia muscular.

Figura 3. Telócitos adjacente à junção miotendínea (JMT).



Fonte: Rocha et al. (2021). Micrografia de transmissão da JMT do gastrocnêmio de ratos *Wistar*, onde se observa a presença de um capilar sanguíneo (ca), telócito (tc), telópodos (tp), invaginação sarcoplasmática (cabeça de seta), com projeção (seta) associada a um grupamento de vesículas (v). Barra: 1 μ m.

2.3 Dinâmica celular na plasticidade do tecido músculo esquelético

O crescimento e a reparação do músculo esquelético ocorrem através de dois mecanismos principais: hiperplasia e hipertrofia muscular. A hiperplasia refere-se à formação de novas fibras musculares a partir da diferenciação de células satélites. Contudo, é amplamente relatado que a hiperplasia não ocorre no músculo pós-natal

humano. No entanto, algumas investigações sugerem que, em situações extremas, a hiperplasia pode ocorrer através de um processo de divisão (splitting) em alguns animais (HØJFELDT et al., 2023).

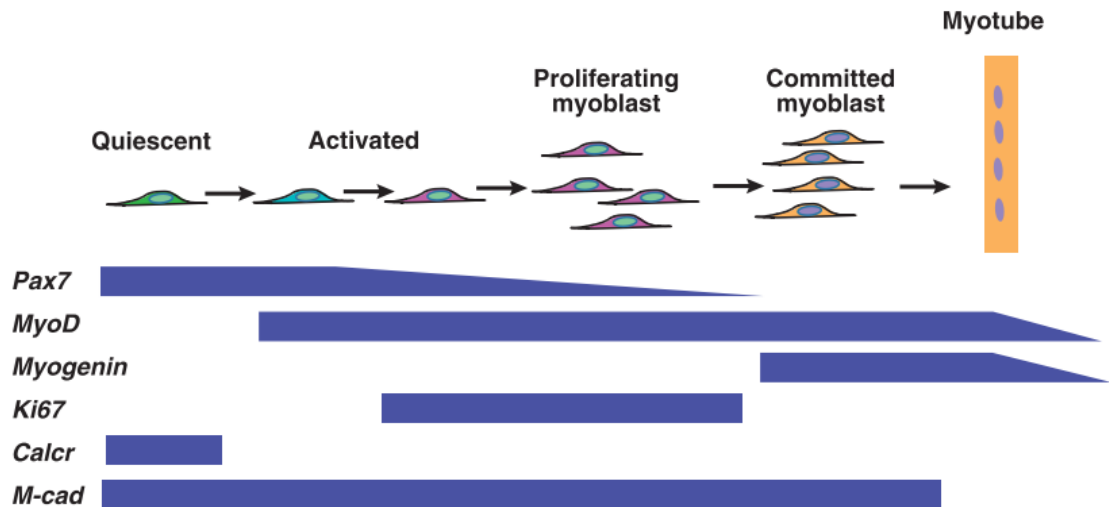
A hipertrofia, por sua vez, é o aumento da área da fibra muscular preexistente. Esse processo envolve a doação de mionúcleos pelas células satélites e o aumento do conteúdo proteico e de outras organelas da fibra muscular, com o objetivo de atender às demandas mecânicas resultantes do treinamento ou então de processos regenerativos (ADAMS; BAMMAN, 2012).

Uma característica imprescindível para o desempenho muscular é sua capacidade regenerativa, orquestrada principalmente pelas CS. As CS são células precursoras miogênicas não diferenciadas (células-tronco), mononucleadas e com núcleo centralizado. Elas estão localizadas na periferia da fibra muscular, entre a membrana basal e o sarcolema (COSTAMAGNA et al., 2015; MAÑAS-GARCÍA et al., 2020).

Em condições normais, as CS permanecem em estado quiescente. Contudo, em situações de perturbação da homeostase, como lesões musculares, estresse físico e por meio de vias de sinalização, elas são ativadas, migram, proliferam, diferenciam-se e se fundem para promover a regeneração e reparo muscular. Alguns subconjuntos de CS são autorrenováveis e capazes de retornar ao estado quiescente após a recuperação muscular (GANASSI; MUNTONI; ZAMMIT, 2022; JIANG et al., 2024; SAID et al., 2017).

Para compreensão das etapas e caracterização das fases miogênicas são utilizados os fatores de regulação miogênica (MRFs). As CS expressam fatores regulatórios, como o Fator de Transcrição 7 (Pax-7) que as caracterizam em estado quiescente até a sua diferenciação e proliferação. Demais fatores estão relacionados ao processo regenerativo da fibra muscular, como o fator regulatório de formação de mioblasto (MyoD), o Fator Regulatório Miogênico 6 (Myf6), Miogenina, Ki67 e M-card (Figura 4) (BAGHDADI; TAJBAKHSH, 2018; FUKADA; AKIMOTO; SOTIROPOULOS, 2020; SAID et al., 2017).

Figura 4. Caracterização das fases miogênicas das CS através de fatores regulatórios.



Fonte: Fukada (2018). Em fase quiescente (*quiescent*) as CS são positivas para Pax7, Calcr e M-cad, em fase ativa (*activated*), já não expressam Calcr e começa a expressar MyoD. Na fase de divisão celular as CS expressam Ki67 (*proliferating myoblast*). Os mioblastos quando dispostos/organizados (*committed myoblast*) pausa a expressão de Pax7 e inicia a expressão de miogenina (*myogenin*). Ocorre a fusão para a formação de miofibrilhos (*myotube*) e a expressão de miogenina.

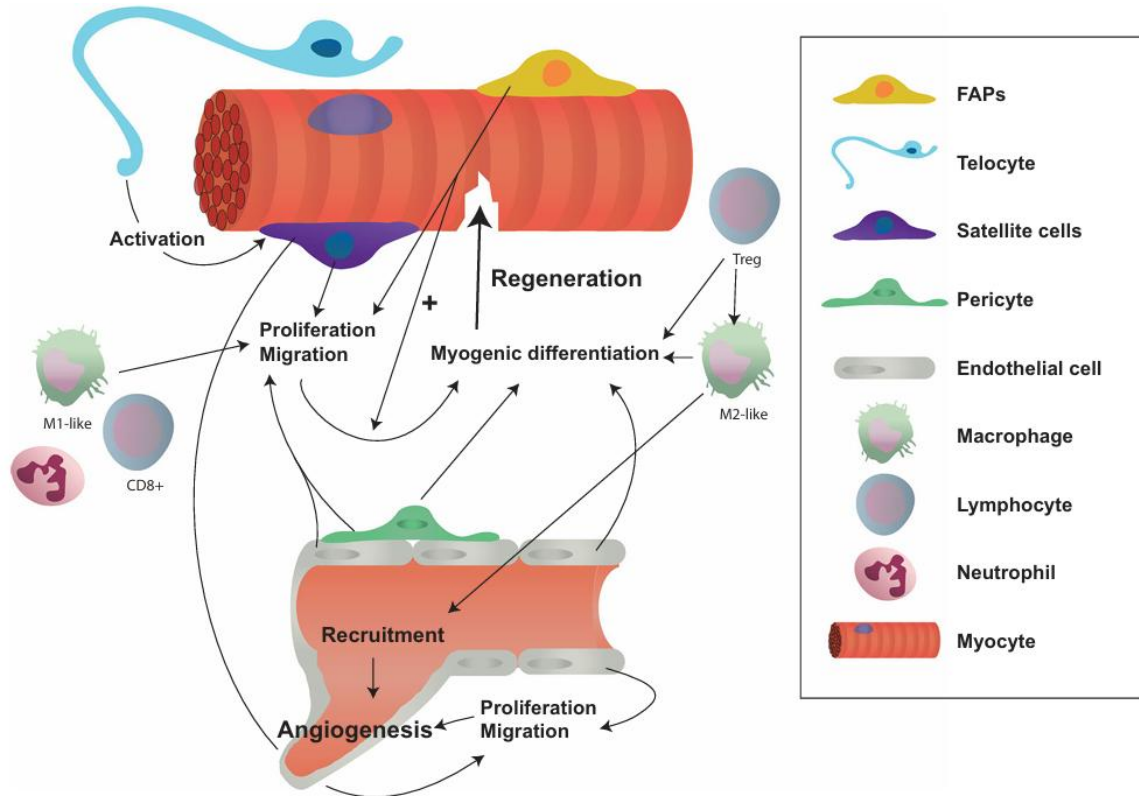
Em conjunto com as fibras musculares, a presença de diferentes células é indispensável para a homeostase muscular (Figura 5), além das CS, destacam-se os fibroblastos, telócitos, macrófagos, células endoteliais, e adipócitos (HENROT et al., 2023; YAO et al., 2021).

Os fibroblastos são células responsáveis pela produção e manutenção de proteínas que compõem a matriz extracelular (MEC). Entre essas proteínas, destacam-se os colágenos (tipos I, III, IV e VI), fibronectina, metaloproteinases da matriz (MMP) e proteoglicanas. O colágeno VI, produzido pelos fibroblastos, desempenha o papel de formar a ligação entre a lâmina basal e a MEC, o que contribui na formação da JMT. Além de suas funções estruturais, os fibroblastos estão envolvidos na formação de fibroses intramusculares em resposta a lesões e outras perturbações (CHAPMAN; MEZA; LIEBER, 2016).

As células fibro-adipogênicas (FAPs), são células progenitoras mesenquimais, e demonstram suporte a regeneração muscular. Estas células apresentam origem miogênica diferente das CS. Estas células multipotentes, localizadas no interstício das fibras musculares e adjacentes a vasos sanguíneos, possuem a capacidade de diferenciar-se em fibroblastos e adipócitos, contribuindo tanto para a formação da

matriz extracelular quanto para a deposição de tecido adiposo intramuscular (BIFERALI et al., 2019; JOE et al., 2010; MOLINA; FABRE; DUMONT, 2021).

Figura 5. Interação celular para homeostase muscular.

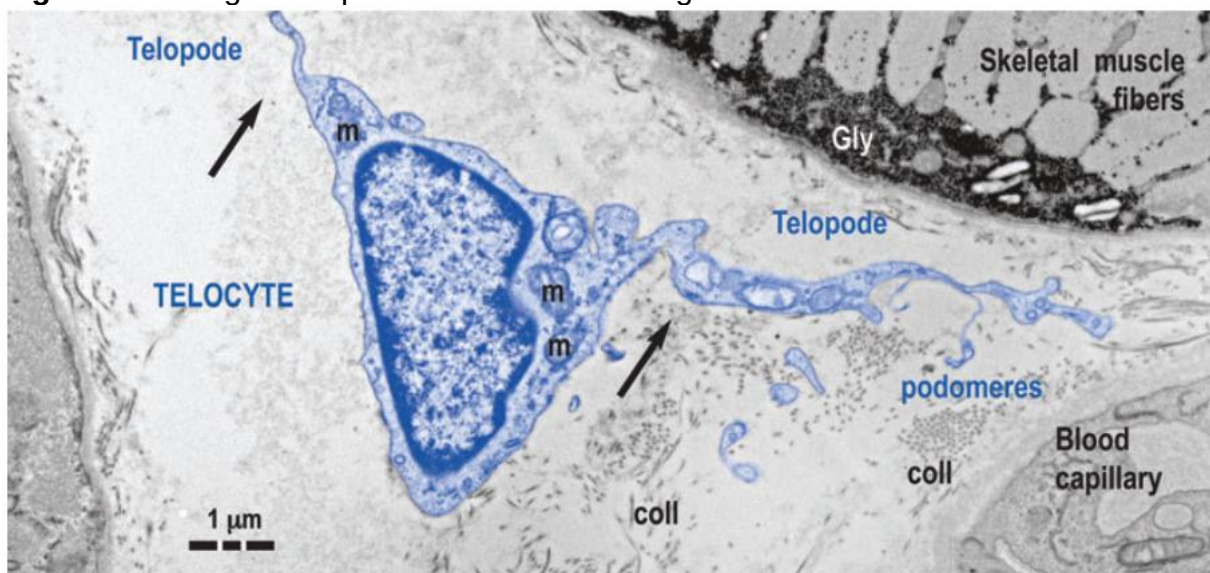


Fonte: Henrot (2023). As células residentes no tecido muscular interagem com a fibra muscular (*myocyte*) durante o processo regenerativo. São envolvidos no processo de reparo muscular células imunes (Macrófagos - *macrophage*; linfócito - *lymphocyte*; e neutrófilo - *neutrophil*), células satélites (*satellite cells*), células endoteliais (*endothelial cell*; e pericito - *pericyte*), telócitos (*telocyte*), células progenitoras fibro-adipogênicas (FAPs).

Os telócitos são células intersticiais identificadas em diferentes tecidos e órgãos, como pulmões, testículos, trato gastrointestinal, músculo estriado cardíaco e músculos lisos, localizadas próximas a terminais nervosos, vasos sanguíneos, CS, e adjacentes a outros telócitos em diferentes espécies. Foram denominadas inicialmente de células intersticiais semelhantes de Cajal ou "*intersitial Cajal-like cells*", e desde 2010, foram denominadas de telócitos. Apresentam imunofenótipo e funcionalidade distinta das células previamente identificadas, além de serem diferenciadas de outras células estromais como os fibroblastos, mioblastos e células mesenquimais (CRETOIU et al., 2014; POPESCU et al., 2011).

Morfologicamente os telócitos possuem formato oval, núcleo heterocromático, e são caracterizados por 1 à 5 telópodos, que são projeções longas e delgadas compostos por segmentos dilatados, denominados podons, que acomodam mitocôndrias e retículo endoplasmático (Figura 6). Os telópodos formam uma rede intersticial, estabelecem comunicação e atividade parácrina por meio de vesículas extracelulares, que correlacionam atividades de diferentes tipos de células de um tecido, incluindo vasos sanguíneos, nervos, células imunológicas, fibrócitos, células-tronco, células glandulares entre outras, durante condições normais e patológicas (EDELSTEIN et al., 2016; MARINI et al., 2018a).

Figura 6. Micrografia representativa da morfologia do telócito.



Fonte: Popescu et al. (2011). Presença de telócito (*telocyte*) no interstício do músculo esquelético (*skeletal muscle fibers*) próximo a um capilar sanguíneo (*blood capillary*) e fibrilas de colágeno (*coll*). Estruturas que compõem os telócitos: telópodos (*telopode*), podons (*podomeres*), núcleo e mitocôndrias (*m*).

Durante processos regenerativos os telócitos são observados em nichos de células-tronco, e fornece auxílio para sua proliferação e maturação via comunicação intercelular (DÍAZ-FLORES et al., 2014). Estas células expressam c-kit, caveolin-1, vimentina, PDGFR α e CD34 e assim podem ser diferenciadas quando associadas as demais células estromais (KONDO; KAESTNER, 2019; MARINI et al., 2018b, 2018a). No tecido muscular esquelético os telócitos foram identificados e projetam seus telópodos com maiores comprimentos pelo endomísio e perimísio, nas proximidades de capilares, terminações nervosas, CS ou mesmo células com aspectos

regenerativos. Além dos indícios de que os telócitos podem desempenhar um papel essencial na integração de sinais para a regulação e regeneração das fibras musculares (MARINI et al., 2018a; POPESCU et al., 2011).

Devido a ampla plasticidade da JMT a investigação de células que modulam a ágil alteração da região é relevante para a sua compreensão, e o aprofundamento desta investigação tem sido o objetivo de estudo do nosso grupo de pesquisa. Diante disso, demonstramos a JMT como um novo nicho de telócitos adjacente à camada de suporte de colágeno que possui suporte para a transmissão de força no local (PIMENTEL NETO et al., 2020). Além de recente publicação do grupo de pesquisa que apresenta a presença dos telócitos adjacentes a CS na JMT, e sua comunicação através de vesículas que podem influenciar a ativação das CS em modelo experimental de lesão periférica (PIMENTEL NETO et al., 2024).

Observamos também a presença de telócitos e telópodos próximos a lâmina basal da JMT e associados a vesículas na região da JMT (ROCHA et al., 2021b). Entretanto, a sua relação com a região em seus aspectos funcionais, associação com a regeneração e plasticidade de tecidos, ainda são desconhecidos. Diante disso, a JMT é uma região de estudo que pode elucidar estes aspectos funcionais, em vista de sua alta capacidade e das possíveis respostas a estímulos, como no treinamento resistido após atrofia muscular.

2.3.1 Imobilização articular

As fraturas ósseas apresentaram uma prevalência de 7,8 milhões de casos no Brasil, e 440 milhões de casos no mundo apenas no ano de 2019 segundo a Organização Mundial de Saúde, a imobilização articular é um tratamento conservador comumente utilizado para lesões ósteo-mio-articulares. Apesar de seu efeito terapêutico, a imobilização articular apresenta repercussões deletérias para o período após a retirada do dispositivo imobilizatório (KUNZ et al., 2014).

A inatividade resultante da imobilização articular provoca a atrofia muscular por desuso caracterizada pela redução do tamanho do tecido muscular, perda de força de contração, e deterioração funcional. Este processo é acompanhado por um desequilíbrio metabólico que leva à degradação de proteínas miofibrilares, além de alterações vasculares e neurais, redução na quantidade de sarcômeros em série,

perda de força muscular e restrição na amplitude dos movimentos (DEANE; PIASECKI; ATHERTON, 2024; DUTT et al., 2015; MALAVAKI et al., 2015; POWERS; SMUDER; JUDGE, 2012).

A redução da quantidade e/ou diminuição do diâmetro das fibras musculares é a característica histopatológica mais proeminente da atrofia do músculo esquelético. As fibras musculares afetadas são tipicamente menores, arredondadas ou angulares e apresentam sarcoplasma hipereosinofílico (YIN et al., 2021).

Adicionalmente, ocorre o comprometimento no suporte de carga, que torna o tecido muscular mais vulnerável ao estresse longitudinal e, consequentemente, aumenta a predisposição a lesões na JMT (CURZI et al., 2013; PALMA et al., 2011). A perda muscular exerce efeitos negativos na vida cotidiana, onde ocorre a redução da capacidade de realizar atividades diárias e aumento o tempo de recuperação (JÄRVINEN et al., 2005; NATALI et al., 2008).

O estresse oxidativo é definido pelo desequilíbrio entre a produção de oxidantes e antioxidantes, e a criação de radicais livres tóxicos, como a espécie reativa de oxigênio (ROS) produzida pelas mitocôndrias. O estresse oxidativo pode interagir com processos inflamatórios, disfunção mitocondrial e autofagia, além de prejudicar a regeneração muscular (ZHANG et al., 2023).

O estresse oxidativo é ativado nos estágios iniciais da atrofia muscular e contribui para a sua progressão, com altos níveis de ROS que podem comprometer biomoléculas e estruturas celulares, e desta forma leva a disfunção muscular. O aumento de ROS pode ativar dois sistemas proteolíticos: o catabolismo muscular através da via proteolítica ATP-ubiquitina-proteassoma e o mecanismo de autofagia-lisossomo. Nas vias proteolíticas, Atrogin-1 e MuRF1 são ubiquitinas ligases específicas que induzem a degradação de miosina e troponina (BONALDO; SANDRI, 2013; JIANG et al., 2024; MO et al., 2022).

A ROS exerce uma modulação negativa sobre a expressão de fatores de regulação miogênica, tais como MyoD e MyoG, que compromete significativamente a tentativa de regeneração celular no contexto da atrofia muscular mediada por CS. Os tipos de fibra muscular influenciam na adaptabilidade à atrofia. Em modelos de denervação, as fibras do tipo I demonstraram maior sensibilidade, enquanto as fibras do tipo II apresentaram uma resposta mais acentuada à atrofia induzida por diabetes e sarcopenia (JUN et al., 2023).

Como citado anteriormente a hipótese de DMN também é afetado quando associado a atrofia muscular. Como resultado de períodos atróficos ocorre a apoptose mionuclear, porém é necessário maior período para essa condição (DUPONT-VERSTEEGDEN, 2005; KANDARIAN; JACKMAN, 2006), entretanto, alguns estudos indicam o contrário (SCHWARTZ, 2019; SCHWARTZ et al., 2016).

O músculo esquelético possui função autócrina na regulação do metabolismo muscular, onde sintetiza e secreta citocinas e proteínas denominadas de miocinas. As miocinas são produzidas e liberadas em resposta à contração muscular, e apresentam atividade parácrina e endócrina e atuam como mediador para demais órgãos e tecidos. As vias de sinalização das miocinas modulam processos inflamatórios e regenerativos, atrofia muscular, aumento da função mitocondrial e diminuição da inflamação, essas mudanças biológicas, possuem efeito significativo na função e massa muscular (ALIZADEH PAHLAVANI, 2022).

A principal miocina envolvidas no processo da atrofia muscular é a miostatina, uma potente reguladora de massa muscular e regula negativamente o programa de síntese proteica (via Akt) (RODRIGUEZ et al., 2014). Outras miocinas são relatadas como envolvidas nos processos inflamatórios e de respostas atróficas e hipertróficas como a irisina, interleucina 6 (IL-6), decorina, interleucina 15 (IL-15), entre outros (LEE; JUN, 2019).

Diferentes grupamentos musculares apresentam adaptações distintas em resposta a atrofia devido a diferenças devido a composição tipo miofibrilar, condições específicas do protocolo, e considerações funcionais e clínicas. Músculos ativos em atividades diárias como deambulação e músculos posturais tendem a ter respostas atróficas ao desuso devido a terem normalmente sobrecarga constantes, diferentes de músculos como dos membros superiores devido menor envolvimento em atividades cotidianas de sustentação de peso (HAUN et al., 2019; LECKER et al., 2004).

Além disso, há uma redução seletiva de proteínas miofibrilares, em resposta à inatividade, e adaptações estruturais que podem impactar a função muscular e a suscetibilidade à fadiga. A composição tipo-miofibrilar do músculo afetado pelo desuso também afetam a resposta à expressão de miocinas e demais fatores reguladores (BABCOCK; KNOBLAUCH; CLARKE, 2015; DELEZIE et al., 2019).

Modificações epigenéticas são alterações de expressão dos genes que não envolvem alterações na sequência de DNA. As modificações epigenéticas desempenham um papel crucial no desenvolvimento e a adaptação. Em condições de doenças musculares, incluindo a atrofia muscular, as modificações epigenéticas ocorrem por alteração de histonas e regulação por RNAs não codificantes, desempenham um papel significativo na regulação da expressão gênica (PAEZ-COLASANTE et al., 2015; PUIG-VILANOVA et al., 2015).

Devido às alterações na MEC ocorre a redução das propriedades mecânicas do músculo no período após imobilização, quais estão susceptíveis a lesões teciduais devido às adaptações decorrentes da inatividade muscular, estímulos de alongamento passivo e da marcha geram respostas positivas ao indivíduo, entretanto seus componentes não retornam aos níveis do período anterior à imobilização (ABDALLA; BERTONCELLO; CARVALHO, 2009; CAÇÃO-BENEDINI et al., 2014).

Entretanto, os estímulos regenerativos e de fatores de crescimento na hipertrofia muscular desencadeada pelo treinamento resistido após a imobilização articular podem contribuir para a compreensão dos fatores regulatórios durante a regeneração e prevenção de lesões na JMT com o exercício físico.

2.3.2 Exercício resistido

Após a retirada do dispositivo da imobilização articular, inicia-se o período de remobilização/pós imobilização. Neste período a aplicação de técnicas terapêuticas devem ser aplicadas para uma remobilização funcional e interrupção do declínio muscular, pois sem uma intervenção pode promover ainda mais efeitos prejudiciais ao tecido musculoesquelético. Estratégias fisioterápicas e a prática de exercícios resistido têm demonstrado indícios de prevenir ou reverter a condição debilitante (POLIZELLO et al., 2011; SUMI; ASHIDA; NAKAZATO, 2020).

O exercício físico apresenta potencial de melhora de respostas fisiológicas ao organismo, e pode ser utilizado com finalidade terapêutica e preventiva a diferentes morbidades, além de que se realizado diariamente possui influência na reversão da atrofia muscular (FORESTO et al., 2016).

O treinamento resistido é um exercício físico que promove hipertrofia muscular, e é um modelo experimental relacionado ao exercício resistido progressivo em

humanos (SEO et al., 2014). Além de proporcionar alterações no ciclo e sinalização mitocondrial que auxilia na recuperação de injúrias musculares (MOORE et al., 2018), aumento da sinalização da mTOR que consequentemente auxilia no estímulo de hipertrofia muscular e cálcio intramuscular (TAYLOR-WEINER et al., 2020).

A sobrecarga muscular resulta em aumento na força muscular, aumento de área de secção transversa das miofibras, ampliação da capacidade de energia elástica na MEC, alterações de fatores de crescimento e das CS envolvidas na fusão de mioblastos durante a hipertrofia (CHRISTOPHER et al., 2017).

O exercício físico como tratamento a longo prazo para atrofia muscular, é efetivo, promove aumento da circulação e perfusão sanguínea, aumento do suprimento de oxigênio, redução da produção de ROS, e atenua a resposta inflamatória (JI et al., 2022). Inclusive o exercício físico é uma intervenção eficaz para se opor a efeitos colaterais observados com uso de tratamentos farmacológicos, como dexametasona (DEX) (ALEV et al., 2022).

O fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1) desempenha um papel fundamental na reversão da disfunção induzida por doenças nos órgãos, regulando a proliferação, diferenciação e sobrevivência celular. A prática de exercícios regula positivamente a sinalização de IGF-1 e Akt, aumenta a expressão de MRFs e Pax7, e promove a síntese proteica, além de inibir a apoptose celular. Ademais, a estimulação dessa via contribui para a atenuação dos efeitos atroficos, regulando os níveis de miogênese (FENG et al., 2022).

Intervenções com exercícios, incluindo exercícios aeróbicos e resistido, são reconhecidos por inibir a atrofia e a lesão muscular em diversas condições fisiológicas e patológicas. O exercício físico regular desempenha um papel crucial na recuperação da morfologia, metabolismo e função muscular após períodos de desuso. A atividade física promove a ativação de vias anabólicas e a migração de células anti-inflamatórias para o músculo (PADILHA et al., 2022; ROCHA et al., 2020a).

As adaptações ao treinamento físico, com a combinação de exercício aeróbicos e resistidos, demonstram efeito benéfico para a hipertrofia muscular, e regeneração muscular. O exercício facilita a biogênese mitocondrial, além de suprimir a inflamação e prevenir a autofagia dos miócitos (YIN et al., 2021).

Os efeitos hipertróficos de curto período ao treinamento resistido podem ser mais detectáveis dentro de 7 sessões sem danos musculares excêntricos, e são

necessárias pelo menos 48h de descanso para o restabelecimento do desempenho no treinamento de resistência, e melhores respostas são evidentes após 72h (GOULART et al., 2021; STOCK et al., 2017).

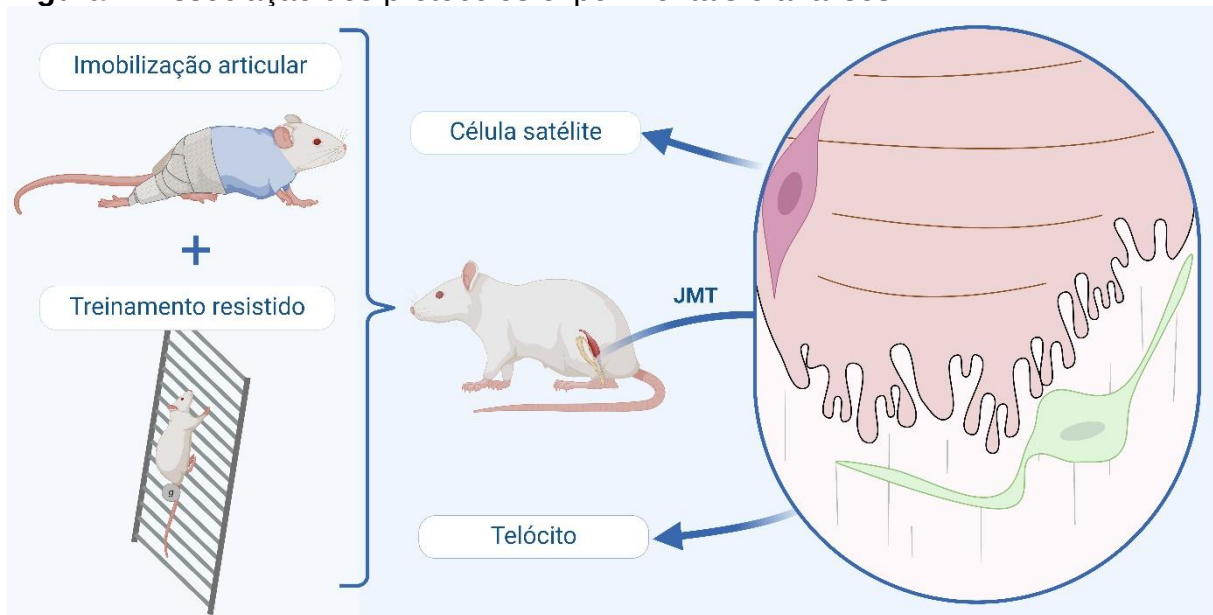
Exercícios resistidos provocam diferentes respostas na adaptação muscular, com mudanças específicas do tipo de fibra influenciadas por características estruturais, metabólicas e funcionais de cada tipo miofibrilar. As adaptações podem ser na densidade tipo miofibrilar como aumento na frequência de fibras do tipo II e redução de fibras tipo I, aumento na tensão específica das fibras tipo I e no conteúdo mionuclear, hipertrofia seletiva das fibras de contração rápida (DANKEL et al., 2019; DESHMUKH et al., 2021; MORO et al., 2020; QAISAR; BHASKARAN; VAN REMMEN, 2016).

As fibras musculares do tipo IIa respondem mais intensamente ao treinamento resistido em termos de expressão genética do que as fibras do tipo I. O aumento de mionúcleos pode potencializar a capacidade transcricional, favorecendo a adaptação das miofibras (KOOPMANS; ZWETSLOOT; MURACH, 2023)

Evidências indicam que, após lesões musculares agudas, os mionúcleos se deslocam para os locais lesionados, promovendo a síntese de proteínas necessárias para o reparo muscular. Esse deslocamento é crucial para a adaptação ao exercício, e estudos em roedores mostram que os mionúcleos tendem a ser menos alongados após diferentes tipos de treinamento físico (KOOPMANS; ZWETSLOOT; MURACH, 2023)

A utilização do treinamento resistido é efetiva para prevenção de atrofia muscular e perda de função musculoesquelética (SON et al., 2016), entretanto, os efeitos de sua aplicação como método de intervenção após o período de imobilização articular na JMT são desconhecidos, diante disso novas descobertas contribuem em intervenções desportivas, reabilitação imediata após a atrofia muscular, e potencial melhora funcional (Figura 7).

Figura 7. Associação dos protocolos experimentais e análises.



Fonte: Elaborado pela autora com auxílio do software Biorender.com. Delineamento do treinamento resistido após a imobilização articular, em ratos *Wistar* adultos, com ênfase nas análises das células satélites e telócitos associados na junção miotendínea (JMT) e sua plasticidade.

3. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desta tese contemplou em investigar as adaptações das fases iniciais do treinamento resistido após a imobilização articular no ventre muscular e na JMT. Desta forma, visa compreender como o treinamento resistido de 7 e 14 dias pode apresentar adaptação funcional e induzir a plasticidade de elementos celulares no ventre muscular e JMT para sua remodelação após a atrofia por desuso.

3.1 Objetivos específicos

- Demonstrar as alterações no desempenho motor após 3 e 6 sessões de treinamento resistido através de avaliações funcionais;
- Revelar os aspectos organizacionais do ventre muscular e de tipo de fibras, em análises morfoquantitativas nas técnicas de microscopia de luz e ATPase miofibrilar;
- Apresentar as adaptações morfológica e organizacional da JMT e elementos associados (núcleo, tecido conjuntivo e colágeno XXII) através das técnicas de microscopia de luz e imunofluorescência;
- Revelar as adaptações ultraestruturais da JMT e da região e elementos associados a ela, por meio de análises em microscopia eletrônica de transmissão;
- Demonstrar a associação de telócitos (CD34) e células satélites (Pax7) na região miotendínea através da imunofluorescência;
- Revelar a expressão proteica de fatores relacionados ao remodelamento muscular (TGF β) e células satélites (Pax7).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

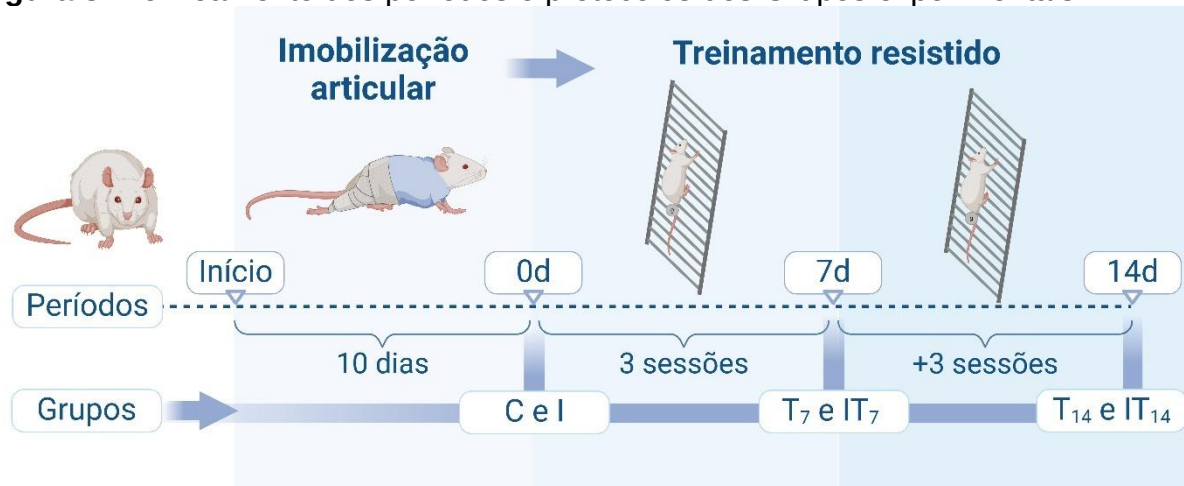
4.1 Animais

Foram utilizados 78 ratos *Wistar* machos com 60 dias de idade divididos randomicamente nos grupos apresentados a seguir (Figura 8):

- **Controle (C)**: os animais não foram submetidos a nenhum protocolo (n = 13);
- **Imobilização (I)**: os animais foram submetidos ao protocolo de imobilização articular de 10 dias (n = 13);
- **Treinamento (T)**: os animais foram submetidos ao protocolo de treinamento resistido em escada vertical, e divididos nos subgrupos: Treinamento 7 dias (T₇; n = 13) e Treinamento 14 dias (T₁₄; n = 13);
- **Imobilização/Treinamento (IT)**: os animais foram submetidos ao protocolo de imobilização articular de 10 dias e posteriormente ao protocolo de treinamento em escada vertical, divididos nos subgrupos Imobilização/Treinamento de 7 dias (IT₇; n = 13) e Imobilização/Treinamento de 14 dias (IT₁₄; n = 13).

Os animais foram oriundos do Biotério Central da UNESP - Campus de Botucatu, SP, e alocados no Biotério Setorial do Laboratório de Anatomia do Departamento de Educação Física, do Instituto de Biociências da UNESP – Campus Rio Claro, SP. Os animais ficaram alojados em gaiolas coletivas, receberam ração balanceada padrão (Purina®) e água “*ad libitum*”, com temperatura ambiente controlada à 23 °C ± 2°C, com fotoperíodo claro/escuro de 12h. Todos os procedimentos aplicados neste estudo foram previamente submetidos para apreciação e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus Rio Claro - SP (Nº 01/2022; Apêndice 1).

Figura 8. Delineamento dos períodos e protocolos dos Grupos experimentais.



Fonte: Elaborado pela autora através do software Biorender.com. Legenda: Delineamento dos protocolos experimentais dos grupos nos períodos de imobilização articular (10 dias), e de treinamento resistido do período de 7 e 14 dias. Períodos: Início do protocolo de imobilização articular, por um período de 10 dias, 0d indica o momento de remoção da imobilização articular (grupos I, IT₇ e IT₁₄) e as sessões do protocolo de treinamento resistido (T₇, T₁₄, IT₇ e IT₁₄), onde estão presentes os grupos com final em 7d (grupos T₇ e IT₇) com 3 sessões de treinamento, e grupos com final em 14d (grupos T₁₄ e IT₁₄) com +3 sessões, com total de 6 sessões de treinamento.

4.2 Protocolo de imobilização articular

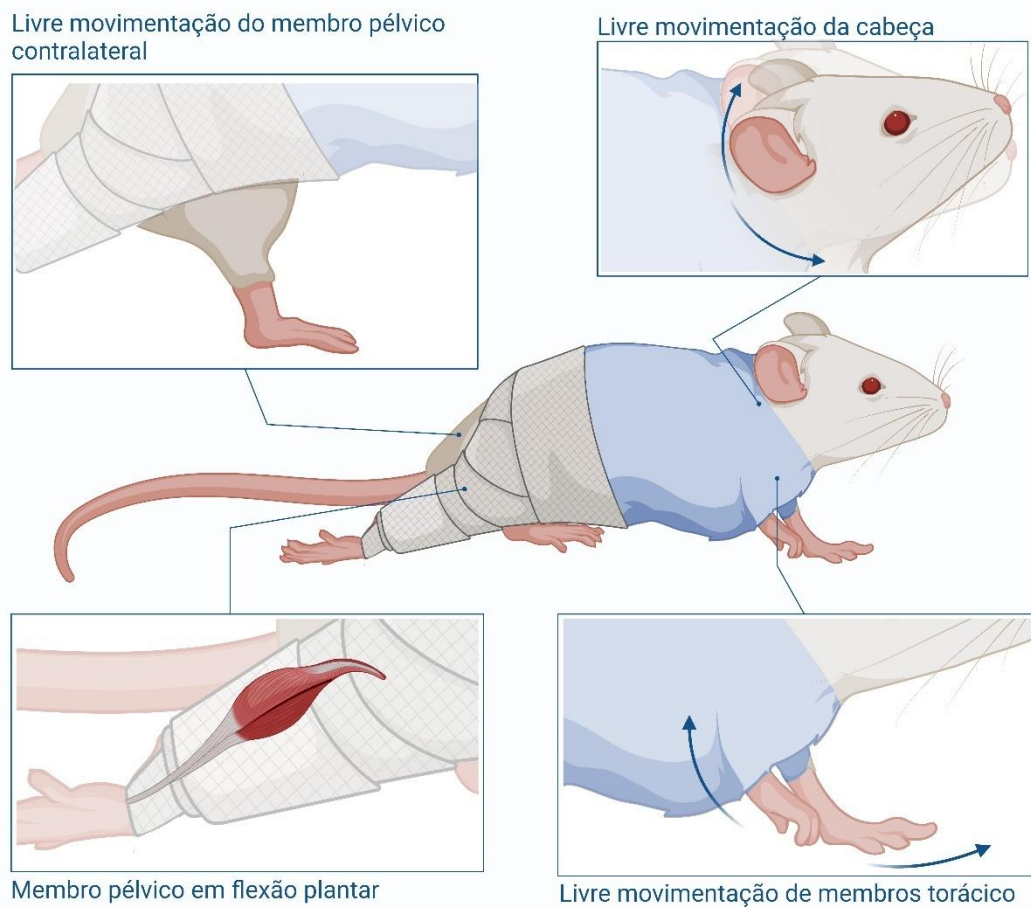
Os animais dos grupos I, IT₇ e IT₁₄ foram previamente anestesiados com Ketamina (90 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) via intraperitoneal, e imobilizados na articulação tíbio-társica em flexão plantar máxima do membro pélvico direito (escolhido como forma de mimetizar a dominância ipsilateral em humano - destros). Foi adicionado na parte anterior do animal um envoltório de tecido de algodão que permitia a livre movimentação da cabeça e membros pélvicos, e alimentação do animal na gaiola. A parte posterior consistiu em um dispositivo composto em uma malha de aço inoxidável (gramatura 16x16mm), recortado e com bordas revestidas por esparadrapo, que envolveu o membro pélvico do animal e manteve sua pata posterior direita imobilizada em flexão plantar, bem como em extensão de quadril e joelho (COUTINHO et al., 2002; ROCHA et al., 2021b; YOSHIHARA et al., 2016).

Para a proteção do animal e sua pele houve o preenchimento da malha com algodão. Para fixação do dispositivo imobilizatório foi adicionado faixa cruzada de esparadrapo que uniu o envoltório de tecido de algodão a malha de aço (Figura 9). Os animais permaneceram imobilizados durante 10 dias (COUTINHO et al., 2002;

ROCHA et al., 2021b; YOSHIHARA et al., 2016). Na sequência, no momento de remoção do dispositivo imobilizatório o grupo I foi eutanasiado, e os grupo IT₇ e IT₁₄ seguiram para o protocolo de treinamento resistido.

O modelo experimental de imobilização articular possui pontos positivos na indução da atrofia muscular por desuso em curto período (7 dias), em comparação a o protocolo como de inatividade muscular por elevação pélvica delonga cerca de 30 dias para apresentar suas repercussões (CHACON-CABRERA; GEA; BARREIRO, 2017; CORNACHIONE et al., 2008; OHIRA et al., 2015). Entretanto, durante a realização do protocolo de imobilização articular foram observados efeitos como edema da pata imobilizada, redução do apetite alimentar, e privação social (isolamento durante o período imobilizatório). As decorrências observadas eram previstas devido a contenção do animal (aprovado pelo CEUA). Em situações de escape do animal do dispositivo imobilizatório, ele era desconsiderado do grupo, o que ocorreu em média de 20% dos casos.

Figura 9. Ilustração do dispositivo utilizado no protocolo de imobilização articular.



Fonte: Elaborado pela autora com adaptação da ilustração com Biorender.com. Ilustração do modelo animal com o dispositivo de imobilização, de malha de aço reveste o membro pélvico direito do animal, para contenção da articulação talocrural e manter a pata em flexão plantar (músculo gastrocnêmio em encurtamento). O dispositivo permitia a livre movimentação do membro pélvico contralateral ao membro imobilizado, livre movimentação da cabeça e membros torácicos do animal.

4.3 Protocolo de treinamento resistido

Os grupos T₇, T₁₄, IT₇ e IT₁₄ foram submetidos ao protocolo de treinamento em escada vertical. Foi utilizada uma escada vertical com 110cm de altura, com inclinação vertical de 80° em relação ao solo, com 2cm de espaçamento entre os degraus. Este protocolo é classificado como de alta intensidade (HORNBERGER; FARRAR, 2004).

Os animais foram submetidos a adaptação prévia ao protocolo de treinamento resistido, para os grupos T₇ e T₁₄ ocorreu uma semana antes, e para os grupos IT₇ e IT₁₄ ocorreu previamente ao protocolo de imobilização articular. O período de adaptação consistiu em 5 escaladas com início a partir do meio da escada vertical, com 1min de descanso entre as escaladas e 3 tentativas, a carga foi gradativa apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição da sobrecarga utilizada na adaptação ao protocolo de treinamento resistido.

Dia de adaptação	Escalada				
	1	2	3	4	5
1º	-	-	-	-	-
2º	-	-	50%	50%	50%
3º	50%	50%	50%	50%	50%

O protocolo de treinamento ocorreu entre 4 e 9 escaladas (ascensão na escada) por animal, entre cada houve o intervalo de 2min, os animais utilizaram uma carga afixada a raiz da cauda de 50%, 75%, 90%, e 100% da massa corporal respectivamente durante as 4 primeiras escaladas, e a partir da 5ª escalada foi adicionado uma sobrecarga de 30g extra, até a exaustão do animal ou então até a 9ª escalada (Exemplo: 5ª escalada = 100% + 30g; 6ª escalada = 100% + 60g).

As sessões de treinamentos ocorreram 3x/semana (nos seguintes dias: segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira), para os grupos T₇ e IT₇ ocorreram em um período de 7 dias, com total de 3 sessões (KRAUSE NETO et al., 2017; PIMENTEL NETO et al., 2021). Enquanto, o treinamento dos subgrupos T₁₄ e IT₁₄ as sessões de treinamento ocorreram em um período de 14 dias e realizaram o total de 6 sessões. As sessões de treinamento ocorreram no período da tarde, entre 14h e 16h, com aproximadamente 20min de duração.

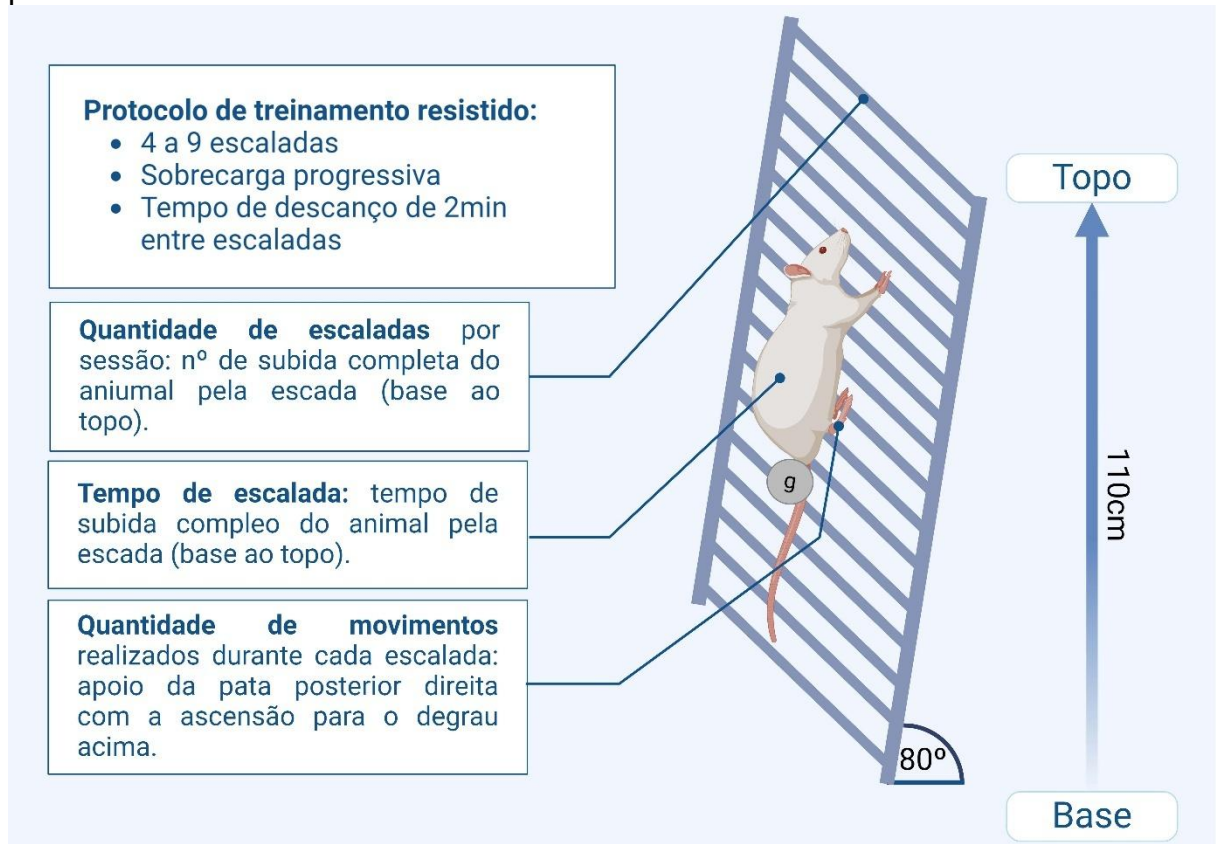
4.3.1 Análises funcionais

Durante a realização do protocolo de treinamento resistido foram obtidos dados referentes às sessões de treinamento dos grupos T₇, T₁₄, IT₇ e IT₁₄ (pela pós-graduanda responsável; Figura 10):

- Quantidade de escaladas por sessão: os animais tiveram 9 oportunidades de escalada completa, para este dado foram desconsiderando as tentativas falhas;
- Tempo (s) de cada escalada: valor de tempo medido em segundos de ascensão completa do animal pela escada vertical);
- Quantidade de movimentos de impulso realizada na escalada: valor referente a quantidade de vezes que o animal executou o apoio completo no degrau acima com a pata anterior direita

Observação: no 1º treino dos animais previamente imobilizados (IT₇ e IT₁₄), os animais apresentaram dificuldade de apoio do membro pélvico imobilizado, nestes casos foi contabilizado o impulso da pata contralateral (KRAUSE NETO et al., 2017; PIMENTEL NETO et al., 2021).

Figura 10. Ilustração da escada vertical e variáveis obtidas durante a realização do protocolo de treinamento resistido.



Fonte: Elaborado pela autora através do software Biorender.com. Demonstração de um rato *Wistar* em uma sessão do protocolo de treinamento resistido com sobrecarga fixada a base da cauda do animal. A escada vertical possui a distância entre a base e o topo de 110cm, e inclinação de 80°.

Após obtenção dos dados apresentados anteriormente foram realizados os seguintes cálculos:

- Relação tempo/movimento (TM): valor obtido através da seguinte equação:

$$TM = \frac{\text{tempo (s)}}{\text{movimento}}$$

- Trabalho (J): a cada escalada foi obtido o valor de trabalho (T), e que posteriormente foram somados para o valor total de trabalho por sessão de treinamento expressos em joules (J). Foram utilizados os dados de massa corporal em kg (MC), sobrecarga (kg), aceleração da gravidade (9,8m/s²) e altura da escada (1,1m), e realizado a seguinte equação:

$$T = (MC + \text{sobrecarga}) \times 9,8 \times 1,1$$

As análises funcionais foram realizadas nos grupos que realizaram o protocolo de treinamento resistido, em virtude dos demais grupos não terem adaptação com o protocolo e poderia influenciar os resultados.

4.4 Massa corporal

Durante a realização dos protocolos experimentais foi mensurada a massa corporal dos animais através de balança digital (Tomate[®]), nos seguintes períodos:

- 1º momento – início do protocolo de imobilização articular, aos 60 dias de idade dos animais;
- 2º momento –final do protocolo de imobilização articular (coleta do grupo I), e início do protocolo de treinamento resistido, aos 70 dias de idade dos animais;
- 3º momento –7º dia de protocolo de treinamento resistido após 3 sessões de treinamento (coleta dos subgrupos T₇ e IT₇), aos 77 dias de idade dos animais;
- 4º momento –14º dia de protocolo de treinamento resistido após 6 sessões de treinamento (coleta dos subgrupos T₁₄ e IT₁₄), aos 84 dias de idade dos animais.

4.5 Amostras musculares

Ao final do experimento, os animais dos grupos experimentais foram eutanasiados pela pós-graduanda responsável com a supervisão e treinamento da médica veterinária Responsável Técnica (Patrícia Gomes Wehmuth Cassab, CRMV-SP 26257), através da overdose de anestésico Ketamina (200mg/Kg) e Xilazina (50 mg/Kg) via intraperitoneal, em seguida foram dissecadas as amostras do músculo gastrocnêmio direito e obtidos os valores de sua massa através de balança semi-analítica AD330.

Foram separados os ventres lateral e medial dos músculos gastrocnêmios direitos, e seccionado as regiões do ventre muscular e JMT (Tabela 2). As amostras processadas para microscopia de luz, ATPase miofibrilar, e imunofluorescência foram alocadas em Cryomold Standard[®] estabilizadas com cola biológica (Tissue-Tek OCT compound, Sakura[®]) e untadas em talco neutro (Tragacanth, SIGMA[®]) para prevenção de artefatos, criofixadas em nitrogênio líquido (-196°C), e em seguida armazenadas em biofreezer -80°C (LAMAF – UNESP). As amostras processadas para

Western blot foram armazenadas em microtubos, criofixadas em nitrogênio líquido (-196°C), e em seguida armazenadas em biofreezer -80°C (LAMAF – UNESP).

Tabela 2. Distribuição das amostras pelas técnicas aplicadas.

Técnica	Região	Nº	Ventre
Microscopia de luz	JMT	5	Lateral
Imunofluorescência	(porção do terço distal)		Medial
Microscopia de luz	Ventre muscular (porção medial)		Lateral
Histoquímica de ATPase miofibrilar			Medial
Microscopia eletrônica de transmissão	Porção distal do ventre muscular e JMT	3	Lateral
Western Blot	JMT (porção do terço distal)	5	Lateral

As amostras para microscopia eletrônica de transmissão necessitam de coleta de amostra e solução fixadora específica, desta forma estão descritos na sessão 4.8.

4.6 Microscopia de luz

Foram utilizadas amostras do ventre muscular (terço medial) e JMT (terço distal) do ventre lateral do músculo gastrocnêmio de 5 animais de cada grupo experimental (Tabela 2). Foram realizadas secções transversais do ventre muscular e secções longitudinais da JMT, de 10 µm de espessura (Criostato HM 505E, MICROM®), coletadas em lâmina histológica em secções seriadas corados. Posteriormente, as lâminas foram coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) para identificação dos componentes celulares, e Picro Sirius Red (PSR) para definição do tecido conjuntivo associado (CARDIFF; MILLER; MUNN, 2014; BHUTDA et al., 2017). As imagens foram obtidas através de microscópio de luz Olympus BX51 (lente DP54, software de aquisição CellSens Standard, Olympus Corporation – Tokyo, Japão) do Laboratório de Citogenética da UNESP – Campus Rio Claro (SP).

4.6.1 Dimensão fractal

Através das imagens de 200× obtidas de microscopia de luz das colorações de HE e PSR (5 animais/10 imagens por animal/ nº total = 50) foram realizadas as análises de dimensão fractal (DF) para investigação da complexidade de organização dos núcleos e tecido conjuntivo do ventre muscular.

A DF uma metodologia que tem demonstrado efetividade na análise e classificação histopatológica de amostras (CASEY et al., 2023). Se trata de uma análise de complexidade geométrica de organização através da quantificação da distribuição de pixels no espaço da imagem, efetiva para identificação dos padrões organizacionais teciduais em diferentes protocolos (CURY et al., 2018; GARCIA et al., 2018; STANKOVIC et al., 2016).

O cálculo da dimensão fractal (DF) é realizado a partir de imagens planas e binares (branca e preta). As imagens foram binarizadas através do software ImageJ®, e mensurado na seguinte configuração: *Threshold*, e ferramenta *Fractal box Count*. O valor obtido é apresentado em uma escala padrão de 0 a 2, onde quanto mais próximo de 2 maior a complexidade de organização. O valor de área relativa de tecido conjuntivo (ARTC/ apresentado em %) foi calculado através da mesma imagem binarizada.

4.7 Histoquímica de ATPase miofibrilar

Foram utilizadas amostras do ventre muscular (terço medial) e JMT (terço distal) do ventre medial do músculo gastrocnêmio de 5 animais de cada grupo experimental (Tabela 2). Foram realizadas secções de 10 µm de espessura (Criostato HM 505E, MICROM®) coletadas em lâmina histológica em secções seriadas. Para a diferenciação dos tipos de fibras, as secções foram processadas nos pHs 4,3 e 9,4.

Para o pH 4,3, as secções foram pré-incubadas em uma solução tampão de acetato de sódio 0,1 M e EDTA 10 mM por 10 minutos à 4 °C. Todas as lâminas foram incubadas por 30 minutos à 37 °C, com uma solução contendo 15 mg de ATP, 15 mL de tampão glicina/NaCl/CaCl₂ e 46,5 mg de Ditiotreitól (DTT). Então, as lâminas foram lavadas com água destilada, incubadas com cloreto de cobalto a 2% por 7 minutos, novamente lavadas com água destilada, desidratadas em série de álcoois (70% a

absoluto), finalizadas com xilol e montadas com Entellan® (BROOKE; KAISER, ; KRAUSE NETO et al., 2017).

Através das imagens obtidas foram identificadas as fibras musculares do Tipo I, Tipo IIa e Tipo IIx, com auxílio do software ImageJ®, foram realizadas as mensurações da Área de Secção Transversa (AST) de ambos os tipos de fibras (n=100/tipo de fibra) no pH 4,3, bem como foi realizado a análise morfométrica de Densidade (%) das fibras musculares (n=10 imagens/animal/grupo) no pH 9,4.

4.7.1 Índice de fator de forma

O formato da fibra muscular foi avaliado através do índice de fator de forma (IFF; *formfactor*), esta análise representa uma expressão adimensional da célula. A escala representa que valores acima de 1,00 demonstram maior variação de formato comparado a um círculo. O índice de fator de forma é calculado através da AST e perímetro da fibra muscular (SOENDENBROE et al., 2023; ZAZULA et al., 2022), onde se utiliza a seguinte equação:

$$IFF = \frac{Perímetro^2}{4 \times \pi \times AST}$$

4.8 Microscopia eletrônica de transmissão

Os animais dos grupos experimentais (n = 3) foram anestesiados pela pós-graduanda responsável pelo projeto com a supervisão e treinamento do veterinário responsável técnico, com Ketamina (90 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) via intraperitoneal, e perfundidos com solução fixadora de Karnovsky modificada contendo glutaraldeído à 2,5% e paraformaldeído 2% em solução tampão fosfato de sódio à 0,1M e pH 7,3 (DURO et al., 2012). As amostras da JMT (3mm³) do músculo gastrocnêmio foram dissecadas e fixadas na mesma solução aquosa durante 3h à temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram lavadas com solução de tampão fosfato de sódio e pós-fixadas com solução de tetróxido de ósmio a 1% durante 2h à 4°C. Foram incluídas em resina (Low Viscosity Embedding Media Spurr's Kit Electron Microscopy Sciences, USA), realizados cortes semi-finos para

identificação da região a ser investigada, e posteriormente, obtidos secções ultrafinas (90 nm), coletadas em telas de cobre de 200 “*mesh*” (Sigma®), contrastadas com solução de acetato de uranila 4%, durante 3 min, e solução aquosa de citrato de chumbo 0,4% por 3 min (BOLINA et al., 2013; CIENA et al., 2012). As telas foram examinadas ao Microscópio Eletrônico de Transmissão JEOL1010 do Laboratório de Microscopia Eletrônica aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA), da Universidade de São Paulo, Campus Piracicaba - SP (ESALQ/USP).

4.8.1 Análise morfométrica

Através das micrografias de transmissão (n=3 por grupo) obtidas foram realizadas as mensurações dos comprimentos dos sarcômeros do ventre muscular (n = 200), e adjacentes à JMT, denominados de sarcômero proximal (penúltimo do miofilamento; n = 32 a 64) e sarcômero distal (último do miofilamento; n = 36 a 65) respectivamente. Da JMT foram mensurados os comprimentos (n = 72 a 100) e espessuras (n = 90 a 110) das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, e a interface de contato da JMT (n= 17 a 29). As mensurações ocorreram com auxílio do software ImageJ®.

4.9 Imunofluorescência

Foram utilizadas amostras do da JMT (terço distal) do ventre medial do músculo gastrocnêmio de 5 animais de cada grupo experimental (Tabela 2). Foram realizadas secções longitudinais (10 µm) (Criostato HM 505 E, MICROM®) coletadas em lâminas histológicas silanizadas, e contornadas perifericamente com caneta hidrofílica (PAP PEN®). Em seguida as lâminas foram permeabilizadas com solução de salina tamponada com fosfato (PBS) com Triton X-100 a 0,1% por 10min em temperatura ambiente. Posteriormente as amostras passaram pelo processo de bloqueio em solução de PBS com *Normal Goat Serum* (NGS) a 5% por 30 min em temperatura ambiente. Após 3 lavagens de PBS por 5min, as amostras foram incubadas *overnight* (16h) em solução contendo anticorpo primário e *Bovine Serum Albumin* (BSA) a 1% em temperatura de 4°C. Em seguida as lâminas foram lavadas 3x por 5min com PBS

e incubadas por 1h com solução com anticorpo secundário e BSA a 1% em temperatura ambiente (Tabela 3).

Para finalização as amostras foram novamente lavadas 3× por 10min com PBS e montadas com meio de montagem ProLong Gold® (Molecular Probes®) com DAPI para marcação nuclear (quando necessário), posteriormente vedadas com esmalte sintético, e armazenadas em -20°C.

Para auxílio da localização da região da JMT foi utilizado o filtro de contraste de fase (DIC) presente no equipamento. As imagens foram obtidas através do Microscópio de fluorescência Olympus® BX61 do Laboratório de Genética de Bactérias (LGB), IB - UNESP Rio Claro/SP.

Tabela 3. Anticorpos utilizados e especificações para a técnica de imunofluorescência.

Anticorpo primário	Instituição / Código	[]	Anticorpo secundário	Instituição / Código	[]	Montagem
Anti-Pax7 conjugado com Alexa Fluor 488	Santa Cruz SC81648A F546	1:500	-	-	-	Prolong Antifade com DAPI
Anti-CD34	Invitrogen PA585917	1:500	Anti-rabbit Alexa Fluor 594	Invitrogen A11012	1:1.000	Prolong Antifade com DAPI
Anti-Col22a1	Invitrogen PA555200	1:1.000	Anti-rabbit Alexa Fluor 488	Invitrogen A11008	1:1.000	Prolong Antifade

4.10 Western blot

Foram utilizadas amostras da JMT (terço distal) do ventre lateral do músculo gastrocnêmio de 5 animais de cada grupo experimental (Tabela 2). Foi realizado a extração do conteúdo proteico com tampão de lise RIPA e coquetel de inibidores de protease (sc-24948, Chem Cruz®), além da maceração do tecido com homogeneizador.

Após a centrifugação a 12.000 rpm à 4°C durante 20 min, e coletado o conteúdo proteico sobrenadante, foi realizada a dosagem total de proteína e as amostras foram armazenadas em tampão de amostra 2x Laemmli (1:1; 1610737, Bio-Rad®) contendo DTT.

A dosagem total de proteína ocorreu através do método Bradford (Coomassie Plus™, 1856210, Thermo Scientific) em espectrofotômetro Epoch (BioTek®) com software Gen5® (BRADFORD, 1976).

Foi padronizado a 60ug de proteína, e submetido à eletroforese por SDS-PAGE em gel de gradiente de poliacrilamida (4% e 20%) em corrente crescente (30A a 120A). Posteriormente, foi realizada a transferência de proteínas para membrana de nitrocelulose 0,2µm (1620112, Rio-Rad®) através do equipamento Trans-Blot turbo system (Bio-Rad®) (RODRIGUES et al., 2020).

As membranas foram submetidas ao bloqueio com leite desnatado (Molico, Nestlé®) em tampão TBST (solução salina tamponada com tris e tween) por 1h30, e posteriormente incubadas por 18h a 4°C sob agitação com anticorpos primários (Tabela 4). Em seguida, as membranas foram lavadas com TBST e incubadas por 2h com o respectivo anticorpo secundário marcado com peroxidase HRP IgG (1:5000). As membranas foram reveladas com a utilização do kit Clarity ECL (Clarity Western Luminol and Peroxide, Bio-Rad®) no equipamento de quimioluminescência (UVITEC, Cambridge) do Instituto de Ciências Biomédicas III, USP São Paulo/SP.

A mensuração da densidade óptica das bandas foi realizada através do software ImageJ®, normalizadas pela quantificação do anticorpo primário anti-GAPDH e padronizadas (%) pelo grupo C.

Tabela 4. Anticorpos utilizados para o western blot.

Anticorpo primário	Instituição/ Código	[]	Anticorpo secundário	Instituição/ Código	[]
Anti-Pax7	Abcam AB199010	1:1.000	Anti-mouse	Invitrogen G21040	1:1.000
Anti-TGF Beta 1	Abcam AB92486	1:1.000	Anti-rabbit	Invitrogen 31460	1:1.000

Anti-GAPDH	Applied Biosystem AM4300	1:5.000	Anti-mouse	Invitrogen G21040	1:1.000
------------	--------------------------	---------	------------	-------------------	---------

4.11 Análises estatísticas

Após obtenção dos dados foi realizada a identificação de *outliers* (ROUT, $Q = 1\%$), e posteriormente a análise de normalidade, e desta forma foi estabelecido qual o teste estatístico ideal a ser executado (Tabela 5). O nível de significância estabelecido foi de $p < 0,05$, e o software utilizado foi o GraphPad Prism 8.0.2®.

Tabela 5. Delineamento estatístico e análises aplicadas.

Variáveis	Teste de normalidade (Shapiro Wilk)	Teste estatístico	Pós-teste
Tempo/movimento	Sim	Anova Two-Way	Bonferroni
Trabalho (J)	Sim	Anova Two-Way	Bonferroni
Escaladas (nº)	Sim	Anova Two-Way	Bonferroni
Massa corporal (g)	Sim	Anova Two-Way	Bonferroni
Massa muscular (g)	Sim	Anova One-Way	Bonferroni
DF nuclear	Não	Kruskal-Wallis	Dunn's
DF de tecido conjuntivo	Não	Kruskal-Wallis	Dunn's
ARTC (%)	Sim	Anova One-Way	Bonferroni
Índice de fator de forma (IFF)	Não	Kruskal-Wallis	Dunn's
Área de secção transversa (μm^2)	Não	Kruskal-Wallis	Dunn's
Densidade (%)	Não	Kruskal-Wallis	Dunn's
FM/ mm^2	Sim	Anova One-Way	Bonferroni
Comprimento das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas (μm)	Não	Kruskal-Wallis	Dunn's

Espessura das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas (μm)	Não	<i>Kruskal-Wallis</i>	<i>Dunn's</i>
Interface (μm)	Não	<i>Kruskal-Wallis</i>	<i>Dunn's</i>
Comprimento dos sarcômeros (μm)	Não	<i>Kruskal-Wallis</i>	<i>Dunn's</i>
Área de Colágeno XXI (μm^2)	Não	<i>Kruskal-Wallis</i>	<i>Dunn's</i>
Perímetro do Colágeno XXI (μm^2)	Não	<i>Kruskal-Wallis</i>	<i>Dunn's</i>
Densidade óptica das proteínas de interesse	Não	<i>Kruskal-Wallis</i>	<i>Dunn's</i>

5. RESULTADOS

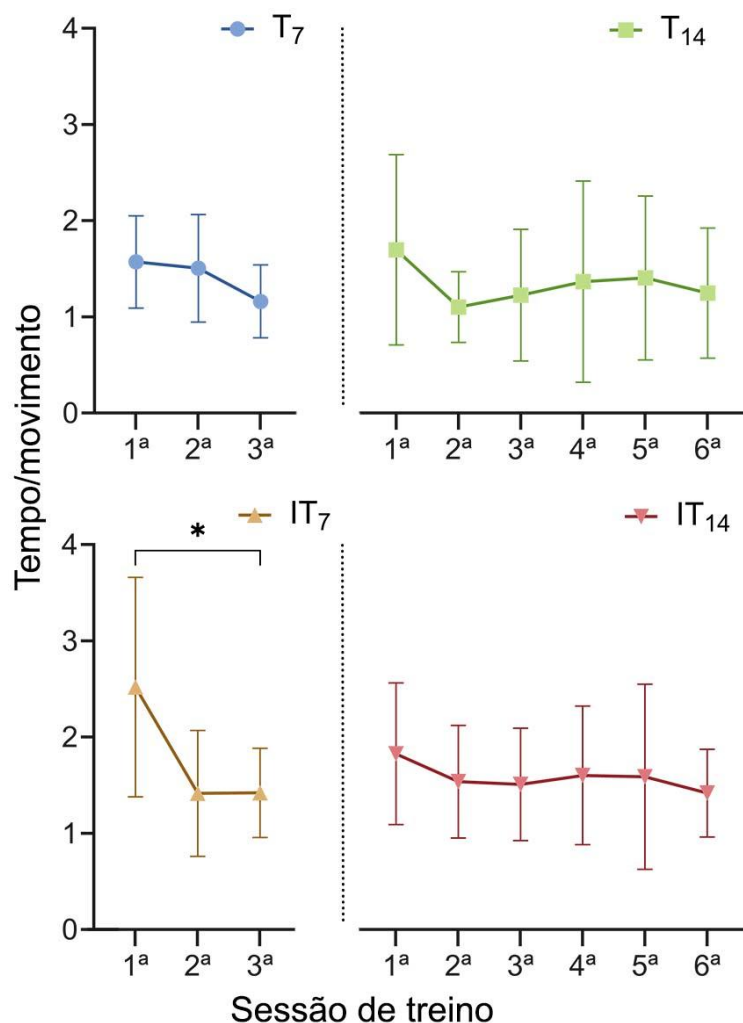
Os resultados obtidos evidenciam as adaptações provocadas pelo protocolo de imobilização articular e pelo posterior treinamento resistido nos grupos: T₇, T₁₄, I, IT₇ e IT₁₄. Foram observadas repercussões no desempenho funcional em até 6 sessões de treinamento resistido na escada vertical. As análises morfométricas realizadas revelaram aspectos organizacionais do ventre muscular, dos tipos de fibras, bem como dos elementos associados, como núcleos e tecido conjuntivo. As análises morfoquantitativas demonstraram as adaptações estruturais e ultraestruturais, a plasticidade da JMT e do colágeno XXII, além da associação das células satélites e telócitos na região.

5.1 Análises funcionais

Foram obtidos dados de análises funcionais dos animais dos grupos T₇, T₁₄, IT₇ e IT₁₄ durante a realização do protocolo de treinamento resistido, como tempo/movimento (TM), quantidade de escaladas, e trabalho (J).

Foram obtidos os dados de razão entre o tempo de escalada (s) pelo deslocamento na escada - TM (Figura 11), no qual o grupo T₇ apresentou atenuação não significativa de 26,6% entre a 1ª e a 3ª sessão de treino ($p>0,05$). Assim como o grupo T₁₄ apresentou redução não significativa de 25% entre 1ª e a 3ª sessão ($p>0,05$), enquanto manteve semelhante seu TM entre a 3ª e a 6ª sessão de treino ($p>0,05$). O grupo IT₇ apresentou atenuação significativa de 44,0% entre a 1ª e a 3ª sessão de treino ($p<0,0001$). Contudo, no grupo IT₁₄ não foi observada diferença significativa entre a 1ª e a 3ª sessão (16%; $p>0,05$), assim como entre a 3ª e a 6ª sessão (6,6%; $p>0,05$).

Figura 11. Médias e desvios padrões da relação tempo/movimento (TM) realizados durante as escaladas no protocolo de treinamento resistido dos grupos T₇, T₁₄, IT₇ e IT₁₄.

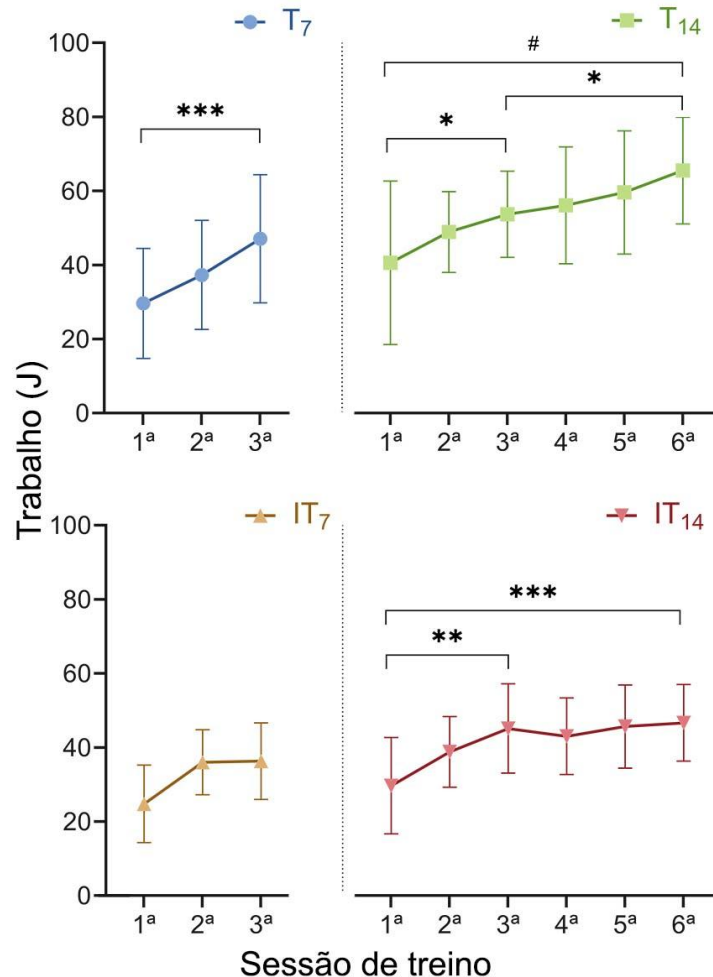


Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Análise estatística *Anova Two-Way* com pós-teste *Bonferroni*. * $p < 0,0001$.

Os dados obtidos foram analisados para obter o trabalho desempenhado pelos grupos experimentais (Figura 12). O grupo T₇ apresentou aumento significativo de 59,1% entre a 1ª e a 3ª sessão de treinamento ($p < 0,001$). De maneira semelhante, o grupo T₁₄ demonstrou um aumento significativo de 32,2% entre a 1ª e a 3ª sessão de treinamento ($p < 0,001$), bem como um aumento de 21,9% entre a 3ª e 6ª sessão ($p < 0,05$), enquanto a diferença entre a 1ª e a 6ª sessão foi de 61,1% ($p < 0,0001$). O grupo IT₇ apresentou um aumento não significativo de 46,9% entre a 1ª e a 3ª sessão ($p > 0,05$). Ademais, o grupo IT₁₄ demonstrou aumento significativo de 52,3% entre a 1ª e 3ª sessão ($p < 0,005$), enquanto, entre a 3ª e a 6ª sessão treinamento houve diferença de 3,3% sem significância estatística ($p > 0,05$). No entanto, entre a 1ª e a 6ª

sessão de treinamento, o grupo apresentou um aumento significativo de 57,4% ($p < 0,001$).

Figura 12. Médias e desvios padrões de Trabalho (J) realizado durante o protocolo de treinamento resistido dos grupos T₇, T₁₄, IT₇ e IT₁₄.

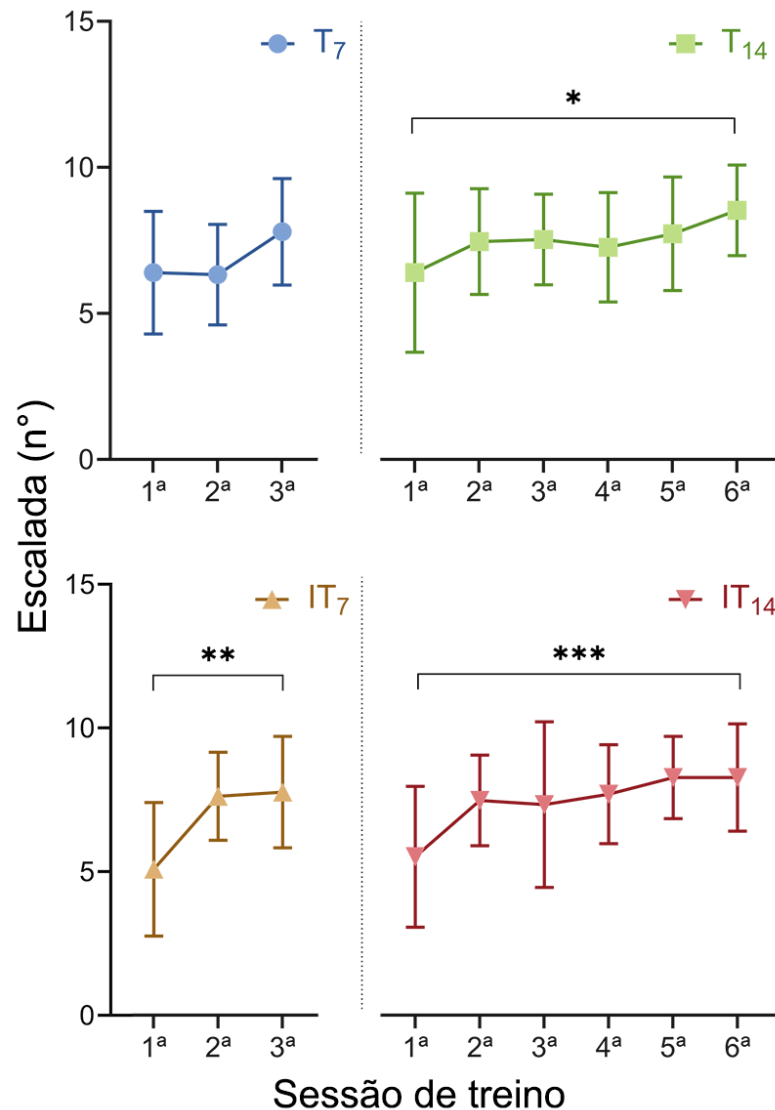


Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Análise estatística *Anova Two-Way* com pós-teste *Bonferroni*. * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; # $p < 0,0001$.

Foram obtidos os dados da quantidade de escaladas realizadas pelos grupos experimentais (Figura 13), no qual o grupo T₇ apresentou um aumento de 21,8% entre a 1^a e a 3^a sessão, porém sem significância estatística ($p > 0,05$). Da mesma maneira, o grupo T₁₄ demonstrou um aumento de escaladas de 17,1% entre a 1^a e a 3^a sessão, e de 13,3% entre a 3^a e a 6^a sessão, ambos sem significância estatística ($p > 0,05$), enquanto entre 1^a e a 6^a sessão foi observado um aumento significativo de 32,8% ($p < 0,01$). O grupo IT₇ apresentou aumento de escaladas entre a 1^a e a 3^a sessão de treinamento de 52,0% ($p < 0,001$). O grupo IT₁₄, demonstrou um aumento de escaladas

de 33,3% entre a 1ª e a 3ª sessão, e de 12,5% entre a 3ª e a 6ª sessão, ambos sem significância estatística ($p>0,05$), enquanto entre 1ª e a 6ª sessão foi observado um aumento significativo de 50% ($p<0,0005$).

Figura 13. Médias e desvios padrões de escaladas (nº) durante o protocolo de treinamento resistido dos grupos T_7 , T_{14} , IT_7 e IT_{14} .



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: 1º treino, 3º treino e 6º treino. Análise estatística *Anova Two-Way* com pós-teste *Bonferroni*. * $p<0,01$; ** $p<0,001$; *** $p<0,0005$.

5.2 Massa corporal

A massa corporal dos grupos experimentais (Figura 14) foram avaliadas em 4 momentos: 1º (início do protocolo de imobilização articular), 2º (final do protocolo de

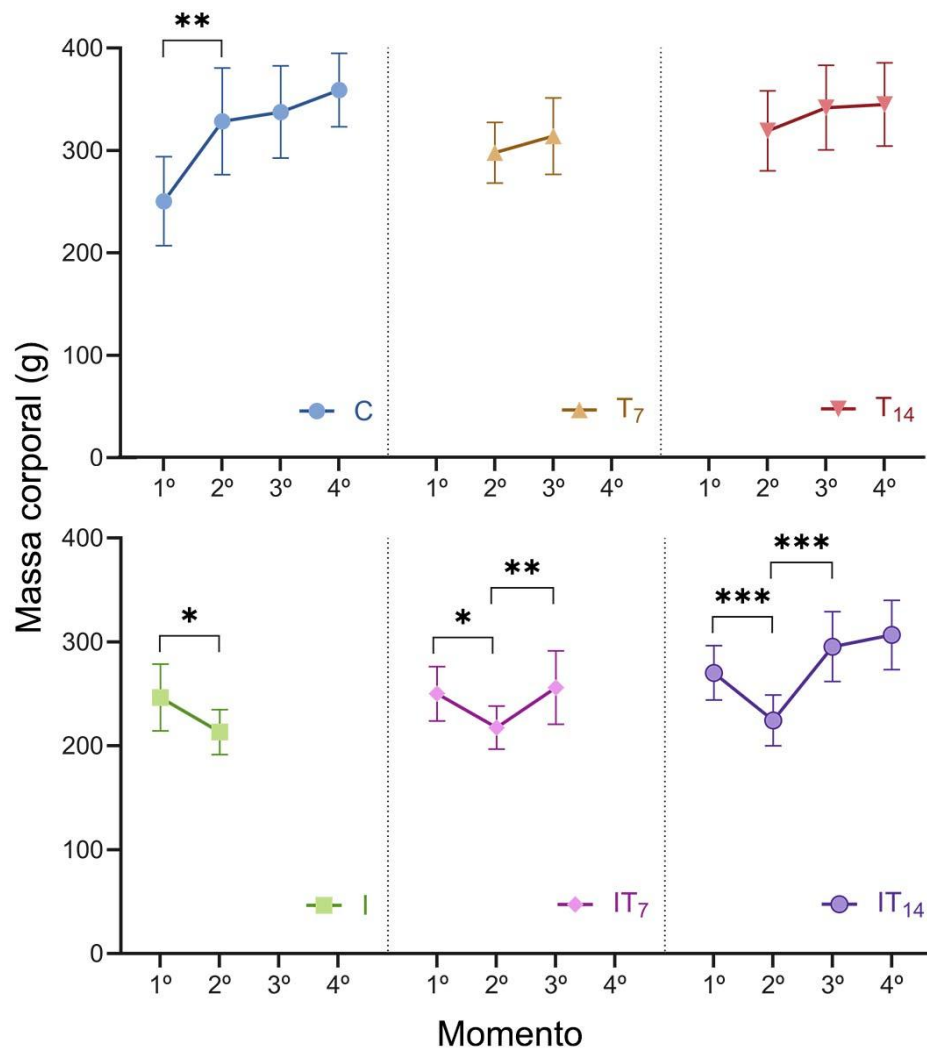
imobilização articular e início do protocolo de treinamento resistido), 3º (3 sessões de treinamento) e 4º (6 sessões de treinamento).

O grupo C apresentou um aumento significativo da sua massa corporal de 31,1% do 1º para o 2º momento ($p < 0,0001$), porém entre os 2º - 3º (2,7%), e 3º - 4º (6,34%) momentos não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$).

Os grupos T₇ (5,4%) e T₁₄ (7,0%) não demonstraram diferenças significativa entre o 2º e 3º momento ($p > 0,05$). Da mesma forma, entre o 3º e o 4º momento do grupo T₁₄ não foi observado diferença significativa (0,9%; $p > 0,05$). A massa corporal do grupo I apresentou uma redução significativa de 13,5% entre o 1º e o 2º momento ($p < 0,05$).

Nos grupos IT₇ e IT₁₄, observamos uma redução significativa entre o 1º e 2º momento, de 13,0% no grupo IT₇ ($p < 0,05$), e de 17,7% no grupo IT₁₄ ($p < 0,0001$). Da mesma forma, entre o 2º e 3º momento foi observado um aumento significativo de 17,7% para o grupo IT₇ ($p < 0,01$), e de 31,6% no grupo IT₁₄ ($p < 0,0001$). Enquanto, do 3º para o 4º momento, o grupo IT₁₄ não apresentou diferença significativa (3,7%; $p > 0,05$).

Figura 14. Médias e desvios-padrões da massa corporal dos grupos nos momentos experimentais.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Médias e desvios-padrões da massa corporal dos animais nos momentos inicial e final dos protocolos experimentais: 1º momento – início do protocolo de imobilização articular; 2º momento – final do protocolo de imobilização articular, e início do protocolo de treinamento resistido; 3º momento – no 7º dia de protocolo de treinamento resistido após 3 sessões de treinamento; 4º momento – no 14º dia de protocolo de treinamento resistido após 6 sessões de treinamento. Análise estatística *Anova Two-Way* com pós-teste *Bonferroni*. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,0001$.

5.3 Massa muscular

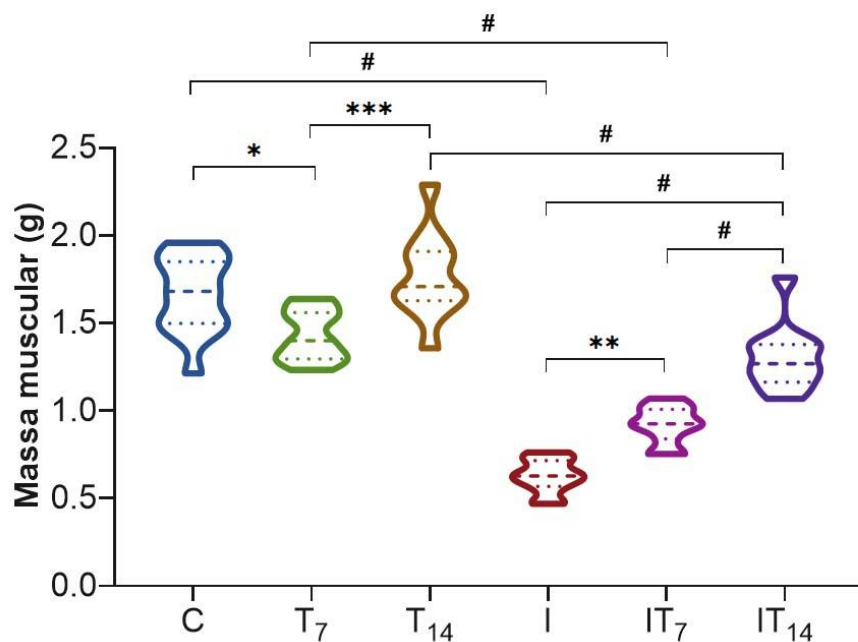
Ao final dos experimentos, foram obtidos os dados da massa muscular (g) do músculo gastrocnêmio direito dos grupos experimentais (Figura 15). Após as análises, observamos que o grupo T₇ apresentou uma menor massa muscular, com 14,4% a

menos em comparação ao grupo C ($p<0,05$), enquanto o grupo T₁₄ não apresentou diferença estatística em comparação grupo C (4,2%; $p<0,0001$). No entanto, foi observado uma maior massa muscular no grupo T₁₄ em comparação ao grupo T₇ ($p<0,0005$).

No grupo I, observamos uma menor massa muscular em 62,6% comparado ao grupo C ($p<0,0001$). Enquanto, o grupo IT₇ apresentou uma massa muscular 48,3% maior comparado ao grupo I ($p<0,0001$), mas um valor menor em comparação ao grupo T₇ ($p<0,0001$).

No grupo IT₁₄ observamos uma maior massa muscular em 111,2% em comparação ao grupo I ($p<0,0001$), bem como, um maior valor comparado ao grupo IT₇ ($p<0,0001$). No entanto, o grupo IT₁₄ apresentou um valor menor em comparação ao grupo T₁₄ ($p<0,0001$).

Figura 15. Médias e desvios-padrões da massa do músculo gastrocnêmio (g) dos grupos experimentais.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Análise estatística Anova One-Way com pós-teste *Bonferroni*. * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,0005$; # $p<0,0001$.

5.4 Microscopia de luz

Os componentes celulares do ventre muscular e da JMT do músculo gastrocnêmio e sua organização foram apresentados por meio da técnica de

microscopia de luz, utilizando coloração de HE e PSR, além da realização de análises morfoquantitativas.

5.4.1 Componentes estruturais do ventre muscular

A organização morfoquantitativa dos núcleos celulares do ventre muscular foram apresentados por meio da técnica de microscopia de luz, utilizando coloração de HE e análise de DF (Figura 16).

No grupo C, observamos núcleos periféricos em relação às fibras musculares. No grupo T₇ foi evidente a presença de núcleos periféricos, e o valor de DF não apresentou alteração estatisticamente em comparação ao grupo C ($p > 0,05$).

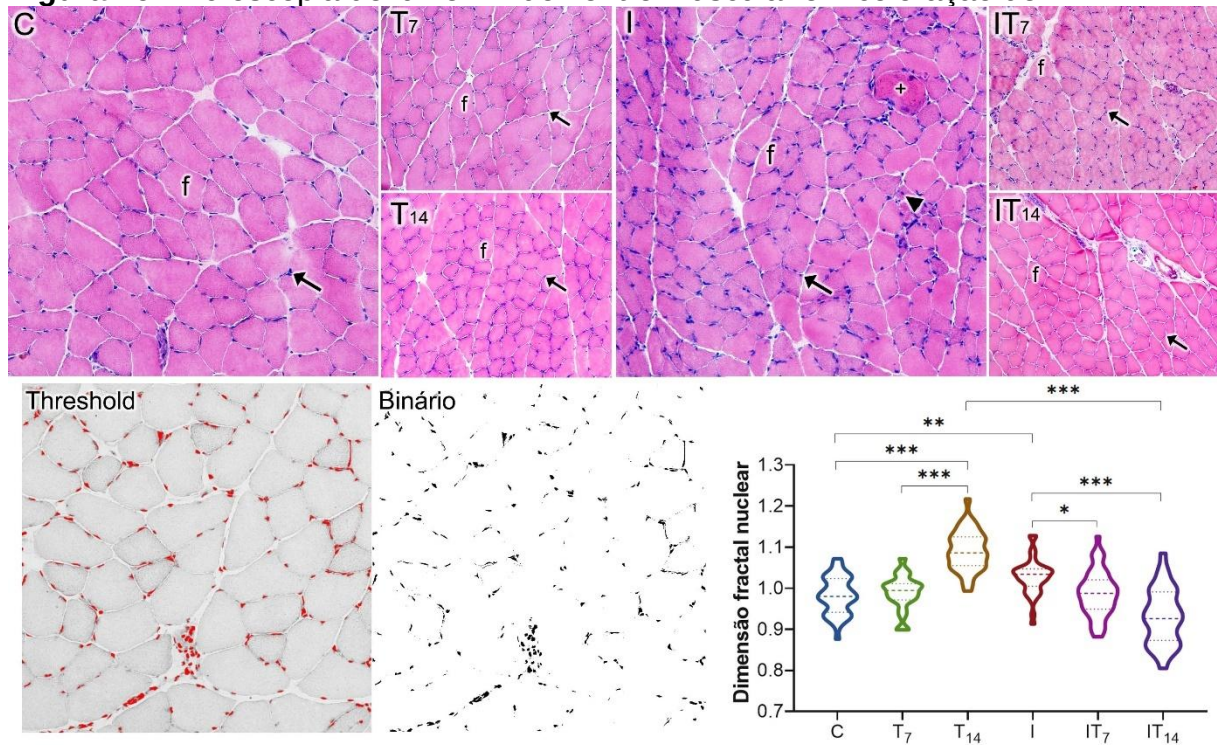
No grupo T₁₄, observamos uma maior densidade de núcleos, enquanto a DF apresentou valores significativamente maiores em comparação ao grupo C ($p < 0,0001$) e ao grupo T₇ ($p < 0,0001$).

No grupo I, observamos as fibras musculares de menor tamanho e maior densidade de núcleos periféricos, além de alguns núcleos no interior da fibra. Ademais, foi evidenciada uma fibra muscular com tamanho atípico (evidentemente maior que as demais na região). A DF do grupo I apresentou valor significativamente maior em comparação ao grupo C ($p < 0,005$).

No grupo IT₇, observamos fibras arredondadas com núcleos periféricos, enquanto a DF apresentou valor inferior ao grupo I ($p < 0,01$) e valor estatisticamente semelhante ao grupo T₇ ($p < 0,05$).

No grupo IT₁₄, observamos vasos sanguíneos e um feixe de nervo periférico no tecido muscular, além de fibras musculares com núcleos periféricos. A DF apresentou valor inferior em comparação aos grupos T₁₄ ($p < 0,001$) e I ($p < 0,001$), e sem diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo IT₇ ($p > 0,05$).

Figura 16. Microscopia de luz e DF do ventre muscular em coloração de HE.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Grupos Controle (C), Treinado 7 dias (T₇), Treinado 14 dias (T₁₄), Imobilizado (I), Imobilizado/Treinado 7 dias (IT₇) e Imobilizado/Treinado 14 dias (IT₁₄), onde foram identificadas as fibras musculares (f), os núcleos celulares periféricos (seta) e centralizados (cabeça de seta), e fibra muscular atípica (+). Ampliações: 200X. Imagem com a delimitação dos núcleos (*Threshold*) do ventre muscular e imagem binarizada através do software ImageJ®. Médias e desvios-padrões da dimensão fractal (DF) dos núcleos do tecido muscular. Análise estatística *Kruskal-Wallis* com pós-teste *Dun's*. *p<0,01; **p<0,005; ***p<0,0001.

5.4.2 Tecido conjuntivo do ventre muscular

O tecido conjuntivo associado ao ventre muscular do músculo gastrocnêmio e a análise morfoquantitativa foram apresentados por meio da técnica de microscopia de luz, utilizando coloração com PSR, análise de DF e análise de ARTC (Figura 17).

No grupo C, foi possível identificar o tecido conjuntivo associado às fibras musculares, o endomísio, bem como o perimísio mais espesso que demarcou os fascículos.

No grupo T₇ observamos a presença do endomísio e do perimísio associado às fibras e feixes musculares, respectivamente. A DF do grupo T₇ apresentou valor maior em comparação ao grupo C (p<0,05), e a ARTC também apresentou valor maior em comparação ao grupo C (p<0,05).

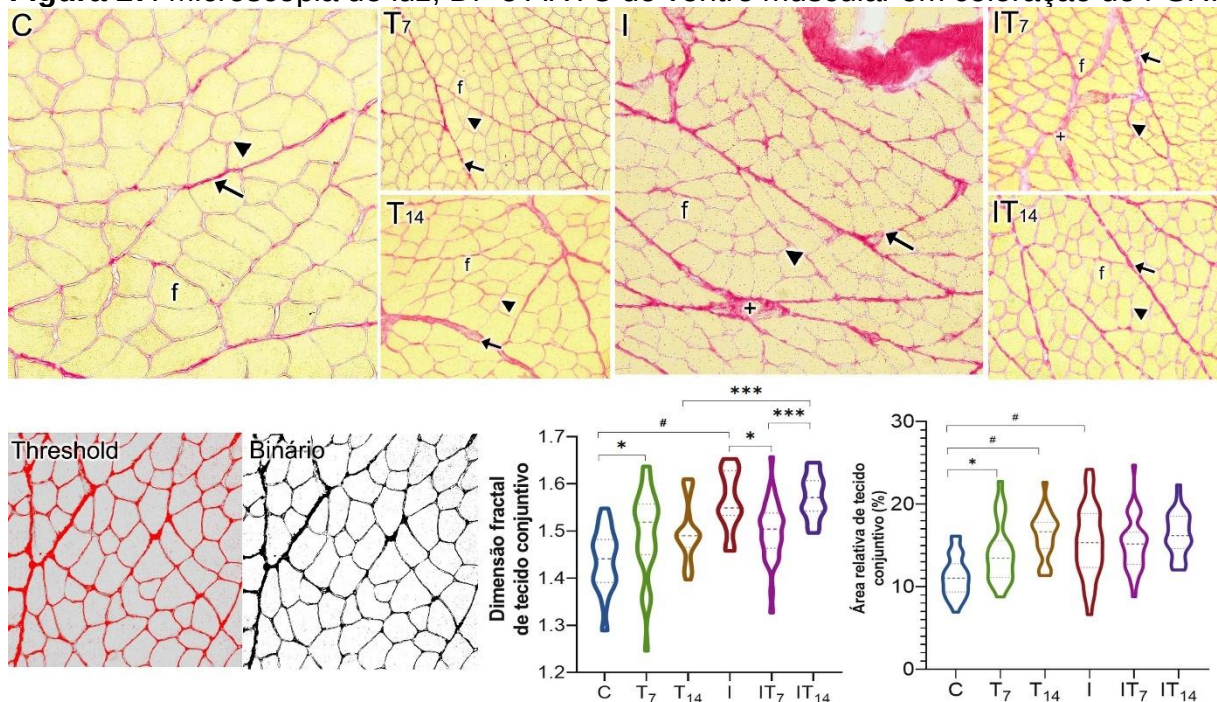
No grupo T₁₄, observamos o endomísio associado às fibras musculares e o perimísio mais espesso, com a demarcação dos fascículos. O valor de DF não apresentou diferença estatística em comparação aos grupos C ($p>0,05$) e T₇ ($p>0,05$). No entanto, a ARTC apresentou valores maiores em comparação ao grupo C ($p<0,0001$), e sem diferença estatística comparado ao grupo T₇ ($p>0,05$).

No grupo I observamos maior concentração de tecido conjuntivo com coloração avermelhada entre as fibras e feixes musculares. Comparado ao grupo C, a DF e ARTC apresentaram valores significativamente maiores ($p<0,0001$).

No grupo IT₇, ainda se observa concentração de tecido conjuntivo no endomísio e perimísio. Na DF o grupo apresentou valor menor em comparação ao grupo I ($p<0,05$), enquanto na ARTC não foi observada alteração estatística ($p>0,05$), e em ambos os casos em comparação ao grupo T₇ ($p>0,05$).

No grupo IT₁₄, observamos o endomísio associado às fibras musculares e o perimísio mais espesso demarcando os fascículos. Na análise de DF, o grupo apresentou valor menor em comparação ao grupo I, e maior comparado aos grupos T₁₄ ($p<0,05$) e IT₇ ($p<0,0005$). Na ARTC não foram observadas alterações estatísticas em comparação aos grupos I, T₁₄ e IT₇ ($p>0,05$).

Figura 17. Microscopia de luz, DF e ARTC do ventre muscular em coloração de PSR.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Grupos Controle (C), Treinado 7 dias (T₇), Treinado 14 dias (T₁₄), Imobilizado (I), Imobilizado/Treinado 7 dias (IT₇) e

Imobilizado/Treinado 14 dias (IT₁₄), onde foram identificadas as fibras musculares (f), os tecidos conjuntivos associado, endomísio (cabeça de seta) e perimísio (seta), e fibrose tecidual (+). Ampliações: 200X. Imagem com a delimitação do tecido conjuntivo (*Threshold*) do ventre muscular e imagem binarizada através do software ImageJ®. Médias e desvios-padrões da dimensão fractal (DF) do tecido conjuntivo dos grupos experimentais; análise estatística *Kruskal-Wallis* com pós-teste *Dunn's* (* $p < 0,05$; *** $p < 0,0005$; # $p < 0,0001$). Médias e desvios-padrões da área relativa de tecido conjuntivo (ARTC; %) dos grupos experimentais; análise estatística *Anova One-Way* com pós-teste Bonferroni (* $p < 0,05$; # $p < 0,0001$).

5.4.3 Junção miotendínea

As características morfológicas da região miotendínea do músculo gastrocnêmio, foram evidenciadas através da técnica de microscopia de luz, utilizando coloração com HE e PSR (Figura 18).

O grupo C, observam-se núcleos periféricos às fibras musculares, núcleos na região distal da fibra muscular, bem como núcleos horizontais na região do tendão.

No grupo T₇, também se nota núcleos periféricos às fibras musculares, bem como núcleos ovais na região de contato entre o músculo e o tendão. Os núcleos presentes no tendão apresentam formato alongado, alinhados em paralelo às projeções de fibras de colágeno.

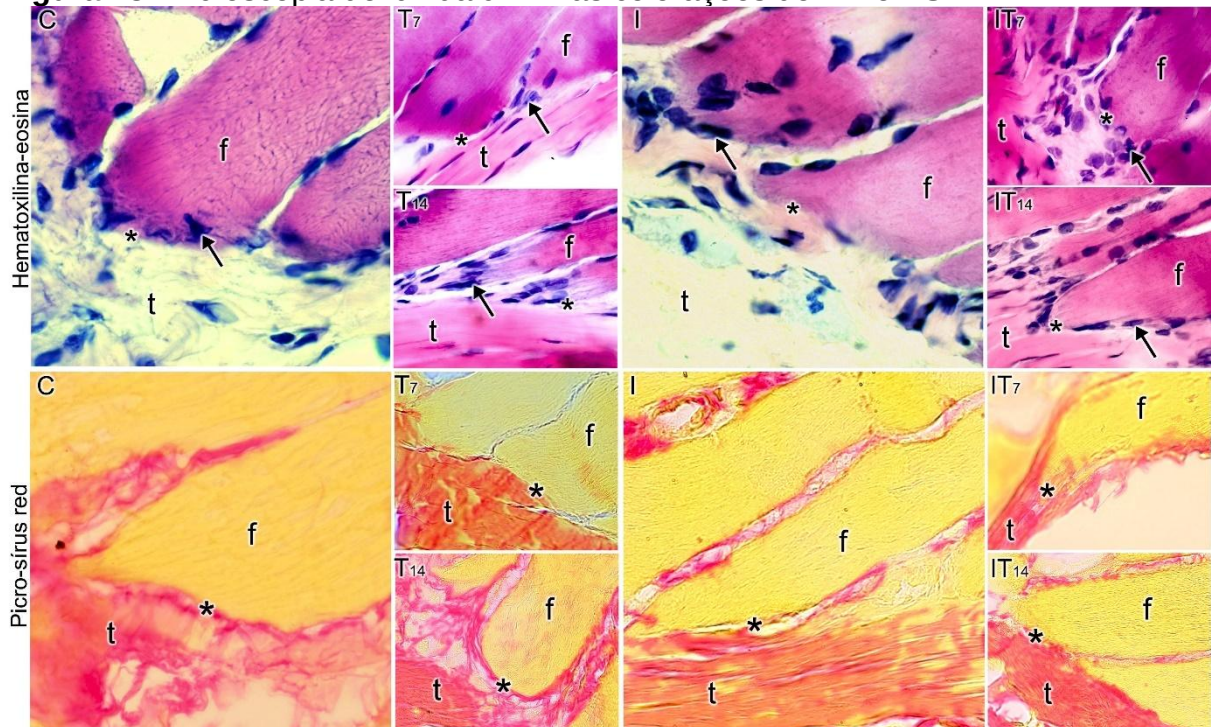
No grupo T₁₄, observa-se a fibra muscular perpendicular ao tendão, fibras musculares com núcleos periféricos, núcleos ovais na JMT, e núcleos do tendão em formato alongado, alinhados em paralelo às projeções de fibras de colágeno.

No grupo I, observam-se núcleos periféricos e centralizados na extremidade distal da fibra, além de núcleos arredondados na JMT. Na região do tendão, observa-se núcleos disformes.

No grupo IT₇ denota-se núcleos periféricos e internos às fibras musculares, além de uma numerosa quantidade de núcleos arredondados na interface da JMT em projeção ao tendão.

No grupo IT₁₄, observam-se núcleos periféricos e centralizados às fibras musculares, além de uma numerosa quantidade de núcleos arredondados na interface da JMT, bem como núcleos no tendão em formato alongado, alinhados em paralelo às projeções de fibras de colágeno.

Figura 18. Microscopia de luz da JMT nas colorações de HE e PSR.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Grupos Controle (C), Treinado 7 dias (T₇), Treinado 14 dias (T₁₄), Imobilizado (I), Imobilizado/Treinado 7 dias (IT₇) e Imobilizado/Treinado 14 dias (IT₁₄), onde são identificados as fibras musculares (f), a JMT (*), núcleos (seta) e tecido tendíneo (t). Ampliações: 1000X.

5.5 Tipificação miofibrilar – Histoquímica de ATPase

As características morfométricas tipo-miofibrilares do ventre muscular do músculo gastrocnêmio, foram apresentadas através da técnica de ATPase miofibrilar e análises morfométricas de AST, densidade, fibra muscular/mm² e IFF das fibras musculares dos tipos I e II dos grupos experimentais (Figura 19).

Na análise morfométrica da AST das fibras tipo I, o grupo T₇ apresentou maior valor em 12,5% em comparação ao grupo C, no entanto sem diferença estatística ($p > 0,05$). No grupo T₁₄ observou uma menor AST de fibras tipo I em 8,0% sem diferença estatística comparado ao grupo C ($p > 0,05$), enquanto comparado ao grupo T₇ houve maior AST ($p < 0,01$). O grupo I, apresentou menor AST em 258,3% em comparação ao grupo C ($p < 0,0001$). No grupo IT₇, observou-se maior AST em 165,4% comparado ao grupo I ($p < 0,0001$), e em comparação ao grupo T₇ ($p < 0,01$). O grupo IT₁₄ apresentou maior AST das fibras tipo I em 113,8% comparado ao grupo I ($p < 0,0001$), e menor AST em comparação aos grupos T₁₄ ($p < 0,01$) e IT₇ ($p < 0,01$).

Na análise morfométrica da AST das fibras tipo IIa, o grupo T₇ apresentou maior valor de 22,2% comparado ao grupo C ($p < 0,0001$). No grupo T₁₄ observou-se uma menor AST de fibras tipo IIa em 6,5% sem diferença estatística comparado ao grupo C ($p > 0,05$), enquanto comparado ao grupo T₇ houve maior AST ($p < 0,0001$). O grupo I, apresentou menor AST em 41,6% em comparação ao grupo C ($p < 0,0001$). No grupo IT₇, observou-se maior AST em 86,3% comparado ao grupo I ($p < 0,0001$), e em comparação ao grupo T₇ ($p < 0,01$). O grupo IT₁₄ apresentou maior AST das fibras tipo IIa em 78,3% comparado ao grupo I ($p < 0,0001$), menor AST sem diferença estatística comparado ao grupo em comparação aos grupos T₁₄ ($p > 0,05$).

Na análise morfométrica da AST das fibras tipo IIx, não apresentou diferença significativa comparado ao grupo C (0,8%; $p > 0,05$). No grupo T₁₄, observou-se uma menor AST de 15,5% comparado ao grupo C ($p < 0,01$), enquanto comparado ao grupo T₇ não houve diferença significativa ($p > 0,05$). O grupo I, apresentou menor AST em 49,1% em comparação ao grupo C ($p < 0,0001$). No grupo IT₇ foram observadas maiores fibras tipo IIx em 134,4% comparado ao grupo I ($p < 0,0001$), enquanto em comparação ao grupo T₇ não apresentou uma diferença significativa ($p > 0,05$). O grupo IT₁₄ apresentou maior AST em 103,2% comparado ao grupo I ($p < 0,0001$), bem como maior comparado ao grupo T₁₄ ($p < 0,01$).

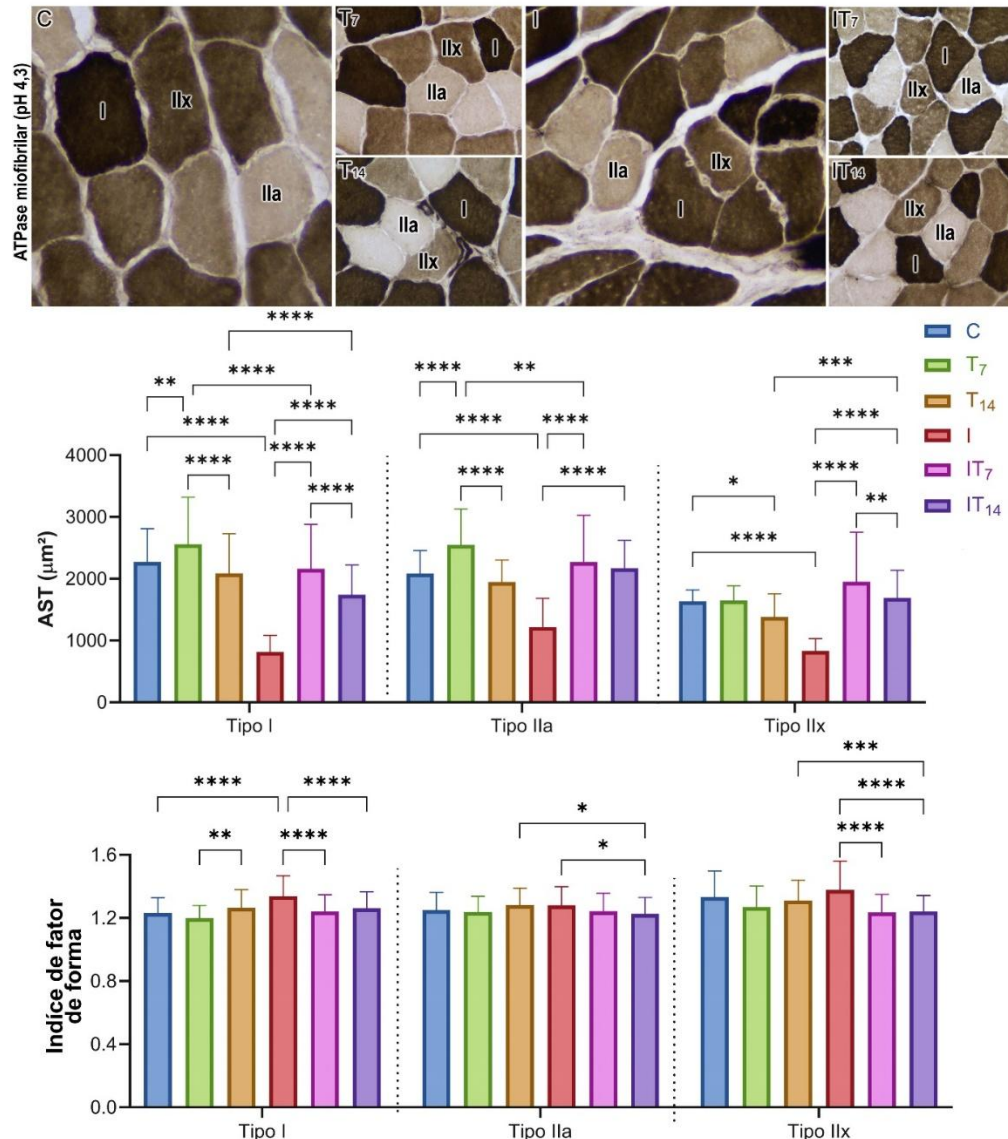
A análise do IFF das fibras musculares do tipo I, demonstrou que o T₇ não apresentou alteração com diferença significativa comparado com o grupo C ($p > 0,05$). Da mesma forma, o grupo T₁₄ não apresentou alteração significativa em comparação ao grupo C ($p > 0,05$). Entretanto, entre os grupos T₇ e T₁₄ revelamos uma diferença significativa ($p < 0,01$). No grupo I se observou maior valor de IFF comparado ao grupo C ($p < 0,0001$). O grupo IT₇ demonstrou menor valor em comparação ao grupo I ($p < 0,0001$), do mesmo modo que o grupo IT₁₄ comparado ao grupo I ($p < 0,0001$). Enquanto, entre os grupos IT₇ e IT₁₄ não foi observada alteração com diferença significativa ($p > 0,05$).

A análise do IFF das fibras musculares do tipo IIa, demonstrou que o T₇ não apresentou alteração com diferença significativa comparado com o grupo C ($p > 0,05$). Da mesma forma, o grupo T₁₄ não apresentou alteração significativa em comparação ao grupo C ($p > 0,05$). No grupo I não se observou alterações no valor de IFF comparado ao grupo C ($p > 0,05$). O grupo IT₇ demonstrou menor valor em comparação ao grupo I ($p < 0,05$), enquanto o grupo IT₁₄ apresentou menor valor comparado ao

grupo I ($p < 0,05$). Enquanto, entre os grupos IT_7 e IT_{14} não foi observado alteração com diferença significativa ($p > 0,05$).

A análise do IFF das fibras musculares do tipo IIX, demonstrou que o T_7 não apresentou alteração com diferença significativa comparado com o grupo C ($p > 0,05$). De mesmo modo, o grupo T_{14} não apresentou alteração significativa em comparação ao grupo C ($p > 0,05$). No grupo I não se observou alterações no valor de IFF comparado ao grupo C ($p > 0,05$). O grupo IT_7 demonstrou menor valor em comparação ao grupo I ($p < 0,0001$), do mesmo modo que o grupo IT_{14} comparado ao grupo I ($p < 0,0001$). Enquanto, entre os grupos IT_7 e IT_{14} não foi observado alteração com diferença significativa ($p > 0,05$).

Figura 19. ATPase miofibrilar e análises morfométricas de AST e IFF das fibras musculares dos tipos I, IIa e IIx dos grupos experimentais.



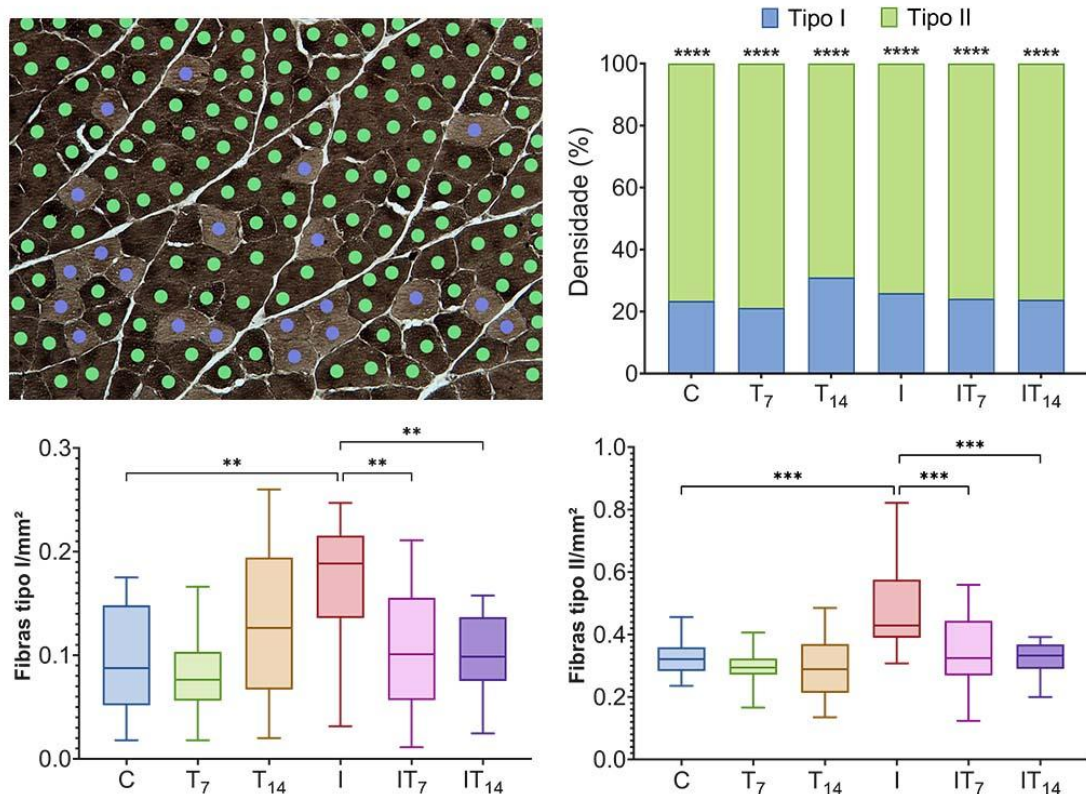
Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Grupos Controle (C), Treinado 7 dias (T₇), Treinado 14 dias (T₁₄), Imobilizado (I), Imobilizado/Treinado 7 dias (IT₇) e Imobilizado/Treinado 14 dias (IT₁₄), onde foram identificadas as fibras musculares do tipo I, IIa e IIx. Ampliações: 400X. Médias e desvios-padrões da área de secção transversa (AST; μm^2) dos grupos experimentais; análise estatística *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn's* (* $p < 0,01$; ** $p < 0,0001$). Médias e desvios-padrões do índice de fator de forma dos grupos experimentais; análise estatística *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn's* (* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,005$; **** $p < 0,0001$).

Na análise morfométrica de densidade (%) dos tipos de fibras I e II, observou-se maior prevalência do tipo de fibras II ($p < 0,0001$) em comparação ao tipo I em todos os grupos experimentais. Bem como não foram observadas alterações significativas na densidade entre os grupos experimentais entre os tipos de fibra nos (Figura 20).

Na relação de quantidade de fibras tipo I/mm², no grupo T₇ não foi observada diferença significativa em comparação ao grupo C (18,2%; $p>0,05$). Enquanto, o grupo T₁₄ apresentou maior valor de 32,4%, porém sem diferença estatística comparado ao grupo C ($p>0,05$). No grupo I observou-se maior quantidade em 71,8% comparado ao grupo C ($p<0,01$). O grupo IT₇ apresentou menor quantidade em 38,8% comparado ao grupo I ($p<0,01$), enquanto, em comparação ao grupo T₇, não houve diferença significativa ($p<0,05$). Da mesma forma, no grupo IT₁₄ observou-se menor quantidade em 40,6% comparado ao grupo I ($p<0,01$), enquanto, em comparação ao grupo T₁₄ não foi observada diferença estatística ($p>0,05$).

Na relação de quantidade de fibras tipo II/mm², no grupo T₇ não foi observado diferença significativa em comparação ao grupo C (7,4%; $p>0,05$). De mesmo modo, o grupo T₁₄ não apresentou alteração estatística comparado ao grupo C (7,5%; $p>0,05$). No grupo I observou-se maior quantidade em 49,8% comparado ao grupo C ($p<0,001$). O grupo IT₇ apresentou menor quantidade em 29,6% comparado ao grupo I ($p<0,001$), enquanto, em comparação ao grupo T₇, não houve diferença significativa ($p<0,05$). Da mesma forma, no grupo IT₁₄ observou-se menor quantidade em 33,5% em comparação ao grupo I ($p<0,001$), enquanto, em comparação ao grupo T₁₄ não foi observada diferença estatística ($p>0,05$).

Figura 20. ATPase miofibrilar e análises morfométricas de densidade das fibras musculares dos tipos I e II dos grupos experimentais.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Grupos Controle (C), Treinado 7 dias (T₇), Treinado 14 dias (T₁₄), Imobilizado (I), Imobilizado/Treinado 7 dias (IT₇) e Imobilizado/Treinado 14 dias (IT₁₄), onde foram identificados as fibras musculares do tipo I (1), IIa (2a) e IIx (2x). Ampliação: 200X. Médias da densidade dos tipos de fibras I e II (%) dos grupos experimentais; análise estatística *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn's* (****tipo I $\neq$ tipo II $p < 0,0001$). Médias e desvios-padrões dos tipos de fibra/mm² dos grupos experimentais; análise estatística *Anova One-Way* com pós-teste de *Bonferroni* (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

5.6 Análise de microscopia eletrônica de transmissão da JMT

As micrografias de transmissão da região miotendínea revelaram as adaptações ultraestruturais e morfoquantitativas frente aos diferentes protocolos experimentais (Figura 21).

No grupo C observa-se sarcômeros em série no ventre muscular com as bandas bem definidas, e linhas Z alinhadas. A JMT apresentou formato cônico, com suas projeções sarcoplasmáticas, invaginações organizadas em paralelo com variados comprimentos, enquanto as evaginações possuem extremidade arredondada, formadas em grande parte pelos sarcômeros distais. Observou-se os

sarcômeros proximais e distais organizados, sendo o distal com ancoragem na lâmina basal da JMT. Foi identificado a presença de grandes quantidades de vesículas na CSC, RES e telócitos adjacentes a JMT, bem como fibrilas colágenas em posição transversal e oblíqua.

No grupo T₇ evidenciou sarcômeros em série no ventre muscular com as bandas bem definidas, e leve desalinhamento entre as linhas Z. Na regiãomiotendínea as evaginações sarcoplasmática apresentaram-se com extremidade bem definida e organizadas em paralelo, enquanto as largas evaginações sarcoplasmáticas demonstraram formato cônico em sua extremidade. Foi observado também a presença de mionúcleo centralizado na região da JMT e vesículas intermiofibrilares. Na MEC as fibrilas colágenas apresentaram-se em secção transversal e oblíqua e telócito com suas projeções circundando a CSC e entre fibras musculares.

No grupo T₁₄ notam-se sarcômeros em série no ventre muscular com as bandas bem definidas, leve desalinhamento entre as linhas Z e mitocôndrias intermiofibrilares. Na região da JMT as invaginações sarcoplasmática se apresentaram sem extremidade definida, mas organizadas em paralelo, enquanto as evaginações sarcoplasmáticas possuem formato arredondado na extremidade, formados pelo sarcômero distal pouco definido, porém com a presença da linha z. Os sarcômeros proximais se apresentam com um espaçamento paralelo entre eles com grande quantidade de vesículas intermiofibrilares. Foi observado a presença de um telócito e telópodo circundado a JMT na CSC, e fibrilas colágenas transversais e oblíquas na MEC, bem como grande quantidade de atividade celular de RES.

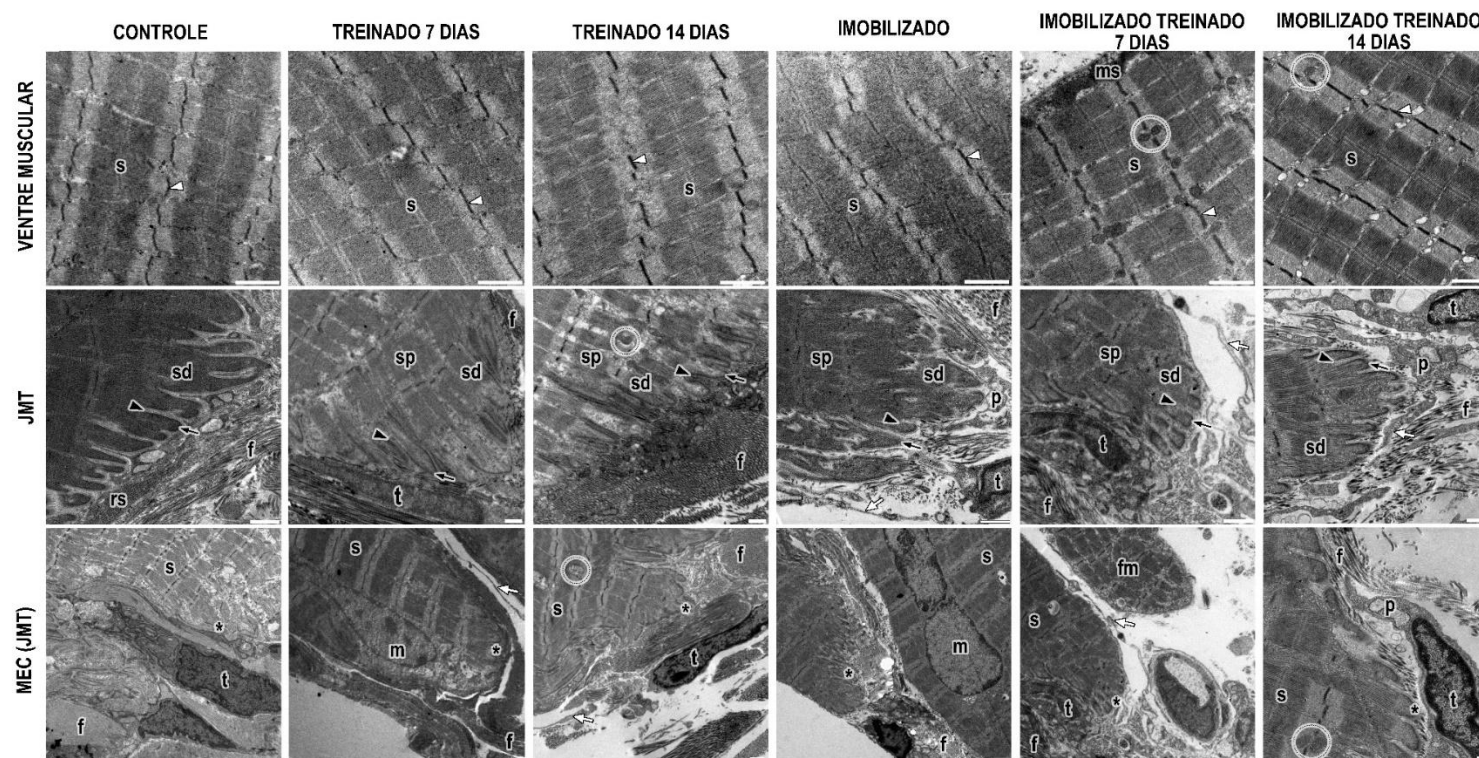
No grupo I destaca-se sarcômeros em série no ventre muscular sem bandas definidas, bem como linhas z desalinhadas. Na regiãomiotendínea observa-se um núcleo centralizado na região. As invaginações sarcoplasmáticas apresentam ramificações e fibrilas colágenas no seu interior. As evaginações sarcoplasmáticas apresentam formato arredondado em sua extremidade, enquanto os sarcômeros distais apresentam-se com pouca definição entre suas bandas. A CSC apresenta grande quantidade de fibrilas colágenas oblíquas e transversais.

No grupo IT₇ revelaram os sarcômeros em série no ventre muscular com as bandas bem definidas e linhas Z alinhadas, ainda na região do ventre muscular é evidente a presença de mitocôndrias intermiofibrilares nas tríades sarcoméricas, bem

como mitocôndrias subsarcolemas. Na JMT, as invaginações sarcoplasmáticas não apresentaram boas definições, enquanto as evaginações sarcoplasmáticas apresentaram formato arredondado em sua extremidade. Os telócitos observados na CSC apresentam-se adjacente ao RES, além da presença de telópodos de demais telócitos ao redor da JMT.

O grupo IT₁₄ denotam-se os sarcômeros em série do ventre muscular alinhados e com suas definições entre bandas e linhas, bem como suas tríades. Na regiãomiotendínea, as invaginações sarcoplasmáticas se apresentaram em maior parte alongadas e com formato cônico na sua extremidade. Enquanto as evaginações sarcoplasmáticas apresentaram bordas arredondadas, observa-se os sarcômeros distais mais longos e sem definições, na região observar-se também a grande quantidade de vesículas intermiofibrilares. Na CSC se há a presença de fibrilas colágenas oblíquas e telócitos com maior densidade de podos entre os demais grupos experimentais, os telópodos que adentram um microtendão em projeção às invaginações sarcoplasmáticas.

Figura 21. Análise ultraestrutural do ventre muscular e região da junção miotendínea através de microscopia eletrônica de transmissão dos grupos experimentais.



Fonte: Elaborado pela autora. Micrografia eletrônica de transmissão dos grupos experimentais com destaque ao ventre muscular e região miotendínea. São observados no ventre muscular os sarcômeros em série (s) delimitados pelas linhas z (cabeça de seta branca), e a presença de mitocôndrias subsarcolemas (sm), bem como mitocôndrias intermiofibrilares (círculo). Na região miotendínea são observadas as projeções sarcoplasmáticas como invaginações (cabeça de seta preta) e evaginações (seta preta) que formam a JMT (*), nesta região são observados os sarcômeros proximal (sp) e distal (sd). Na MEC adjacente a JMT observa-se a presença de RES (rs), fibras colágenas (f), telócito (t) com seus telópodos (seta branca) e podos (p). A presença de uma fibra muscular em processo regenerativo também foi observada na região miotendínea (fm) e mionúcleos centralizado (m) em alguns grupos experimentais. Barras: 1 μ m.

5.6.1 Análises morfométricas da JMT

Através das micrografias eletrônicas de transmissão da região da JMT foi possível realizar as análises morfométricas ultraestruturas dos grupos experimentais (Figuras 22, 23 e 24). Foram realizadas as análises de comprimento e espessura das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas (μm), interface miotendínea (μm), e comprimento dos sarcômeros (μm) do ventre muscular, região proximal e distal da JMT.

Na análise morfométrica dos comprimentos das invaginações sarcoplasmáticas (Figura 21), observamos no grupo T₇ sem alterações significativas comparada ao grupo C (6,1%; $p>0,05$), no grupo T₁₄ observou-se maior comprimento em 22,4%, porém, sem valor significativo comparado ao grupo C ($p>0,05$). O grupo I apresentou menor valor em 30,2% comparado ao grupo C ($p<0,0001$). No grupo IT₇ observou-se menor comprimento das invaginações sarcoplasmáticas em 23,5%, porém não estatisticamente significativo ($p>0,05$) comparado ao grupo I, em comparação ao grupo T₇ apresentou menor valor ($p<0,0001$). O grupo IT₁₄ apresentou maior comprimento em 42,8% comparado ao grupo I ($p<0,05$), além de menor comprimento comparado ao grupo T₁₄ ($p<0,05$), e maior em comparação ao grupo IT₇ ($p<0,0001$).

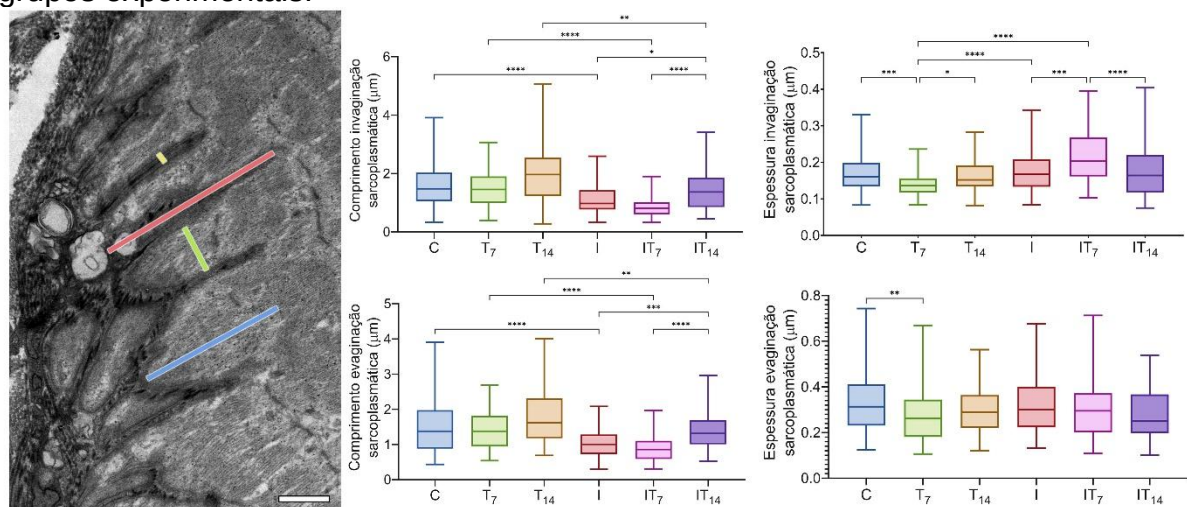
Na análise morfométrica dos comprimentos das evaginações sarcoplasmáticas (Figura 21), revelamos no grupo T₇ sem alterações significativas comparada ao grupo C (9,2%; $p>0,05$), no grupo T₁₄ observou-se maior comprimento em 15,1%, porém, sem valor significativo comparado ao grupo C ($p>0,05$). O grupo I apresentou menor valor em 34,9% comparado ao grupo C ($p<0,0001$). No grupo IT₇ observou-se menor comprimento das evaginações sarcoplasmáticas em 14,9%, porém não estatisticamente significativo ($p>0,05$) comparado ao grupo I, em comparação ao grupo T₇ apresentou menor valor ($p<0,0001$). O grupo IT₁₄ apresentou maior comprimento em 34,6% comparado ao grupo I ($p<0,01$), além de menor comprimento comparado ao grupo T₁₄ ($p<0,01$), e maior em comparação ao grupo IT₇ ($p<0,0001$).

Na análise morfométrica da espessura das invaginações sarcoplasmáticas (Figura 21), observamos menores valores em 16,1% no grupo T₇ em comparação ao grupo C ($p<0,001$), enquanto no grupo T₁₄ não apresentou diferença comparado ao grupo C (4,1%; $p>0,05$), mas entre T₇ e T₁₄ ($p<0,05$). O grupo I demonstrou espessuras semelhantes ao grupo C com diferença de apenas 5,3 % e sem diferença

estatística ($p>0,05$). O grupo IT₇ apresentou maior espessura em comparação ao grupo T₇ ($p<0,0001$), e uma diferença de 23,2% em comparação ao grupo I ($p<0,001$). Enquanto, no grupo IT₁₄ observou-se espessura sem diferença estatística com os grupos T₁₄ ($p>0,05$) e I ($p>0,05$). Entretanto o grupo IT₇ apresentou maior espessura em comparação ao grupo IT₁₄ ($p<0,0001$).

Na análise morfométrica da espessura das evaginações sarcoplasmáticas (Figura 21), revelamos menores valores em 18,5% no grupo T₇ comparado ao grupo C ($p<0,005$). Da mesma maneira, o grupo T₁₄ apresentou menor espessura em comparação ao grupo C em 11,3%, porém, sem significância estatística ($p>0,05$). No grupo I não observamos alteração significativa da espessura em comparação ao grupo C (5,0%; $p>0,05$). Em comparação ao grupo I ambos os grupos IT₇ ($p>0,05$) e IT₁₄ ($p>0,05$) apresentaram leve redução de 3,1% e 11% respectivamente, enquanto entre os grupos observamos espessuras semelhantes ($p>0,05$).

Figura 22. Morfometrias das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas dos grupos experimentais.

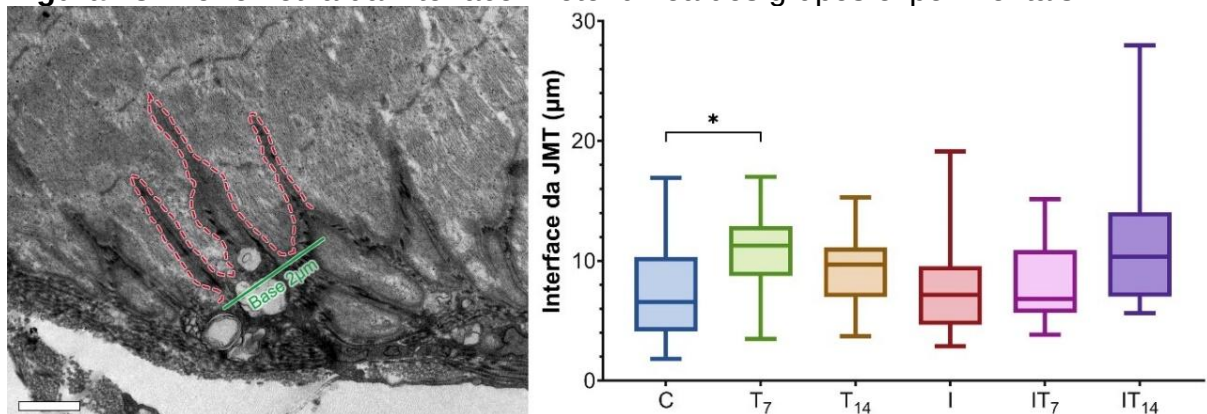


Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Grupos Controle (C), Treinado 7 dias (T₇), Treinado 14 dias (T₁₄), Imobilizado (I), Imobilizado/Treinado 7 dias (IT₇) e Imobilizado/Treinado 14 dias (IT₁₄). Micrografia eletrônica de transmissão das invaginações e evaginações da JMT, onde apresenta o comprimento e espessura da invaginação sarcoplasmática (linhas vermelha e amarela respectivamente), e comprimento e espessura da evaginação sarcoplasmática (linhas azul e verde respectivamente). Barra: 1μm. Médias e desvios-padrões do comprimento das invaginações sarcoplasmáticas dos grupos. Médias e desvios-padrões da espessura das invaginações sarcoplasmáticas dos grupos experimentais. Médias e desvios-padrões do comprimento das evaginações sarcoplasmáticas dos grupos experimentais. Médias e desvios-padrões da espessura das evaginações

sarcoplasmáticas dos grupos experimentais. Análise estatística *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn's*. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

A partir da mensuração da interface da JMT (Figura 23), observamos maior comprimento em 44,0% no grupo T_7 comparado ao grupo C ($p < 0,05$), bem como o grupo T_{14} apresentou maior interface em 22,6% em comparação ao grupo C, porém sem significância estatística ($p > 0,05$). No grupo I observamos espessura semelhante ao grupo C (7,3%; $p > 0,05$) e grupo IT_7 (3,9%; $p > 0,05$). Enquanto no grupo IT_{14} observa-se um aumento da interface em 37,7% comparado ao grupo I, porém sem significância estatística ($p > 0,05$).

Figura 23. Morfometria da interface miotendínea dos grupos experimentais.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Grupos Controle (C), Treinado 7 dias (T_7), Treinado 14 dias (T_{14}), Imobilizado (I), Imobilizado/Treinado 7 dias (IT_7) e Imobilizado/Treinado 14 dias (IT_{14}). Micrografia de transmissão da JMT com a delimitação da interface miotendínea (linha tracejada vermelha). Barra: 1 μm . Médias e desvios-padrões da interface da JMT (μm); análise estatística *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn's*. * $p < 0,05$.

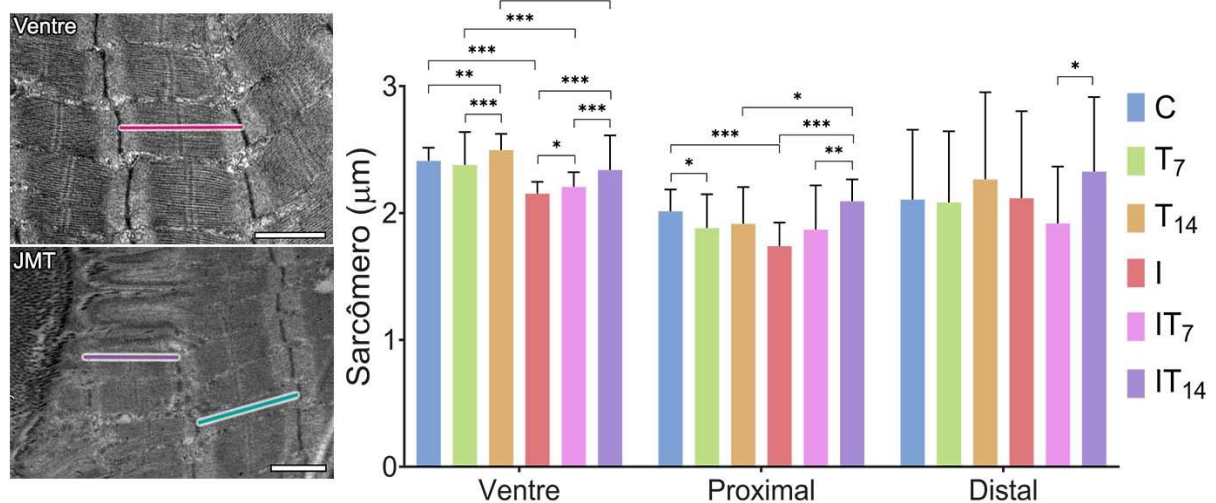
Através das micrografias de transmissão da porção distal do ventre muscular e da região da JMT foi realizado as mensurações dos comprimentos sarcoméricos dos grupos experimentais (Figuras 24). No ventre muscular, observamos o grupo T_7 com sarcômeros com comprimento semelhante ao grupo C (1,3%; $p > 0,05$), enquanto o grupo T_{14} apresentou sarcômeros mais longos em 3,5% ($p < 0,01$), e entre os grupos T_7 e T_{14} houve diferença ($p < 0,0001$). No grupo I observamos sarcômeros do ventre encurtados em 10,7% comparado ao grupo C ($p < 0,0001$). O grupo IT_7 apresentou um maior comprimento comparado ao grupo I em 2,4% ($p < 0,05$), e menor comprimento comparado ao grupo T_7 ($p < 0,0001$). No grupo IT_{14} observamos maiores comprimentos

comparado ao grupo I em 8,6% ($p<0,0001$) e T_7 ($p<0,0001$), porém sarcômeros mais curtos em comparação ao grupo T_{14} ($p<0,0001$).

Na região da JMT, o penúltimo sarcômero determinado como sarcômero proximal apresentou menor comprimento no grupo T_7 comparado ao grupo C em 6,6% ($p<0,05$), enquanto o grupo T_{14} apresentou comprimento semelhante ao grupo C (4,9%; $p>0,05$). O grupo I demonstrou sarcômeros mais curtos em 13,6% em comparação ao grupo C ($p<0,0001$). O grupo IT_7 apresentou comprimentos maiores que o grupo I (7,4%; $p>0,05$), porém sem diferença estatística, enquanto comparado ao grupo T_7 ($p>0,05$) foi semelhante. O grupo IT_{14} apresentou sarcômeros proximais 19,7% mais longos que o grupo C ($p<0,0001$), bem como mais longos que o grupo IT_7 ($p<0,005$).

Ainda na região na JMT, o último sarcômero é determinado como o sarcômero distal, o qual apresentou atenuada variação apresentada pelo desvio-padrão dos grupos experimentais. Os grupos T_7 (1%; $p>0,05$) e T_{14} (7,5%; $p>0,05$) apresentaram valor semelhante ao grupo C, da mesma forma que o grupo I (0,5%; $p>0,05$). O grupo IT_7 apresentou Sarcômeros distais mais curtos que o grupo I (9,4%; $p>0,05$), e comparado ao grupo T_7 ($p>0,05$), ambos sem diferença estatística. O grupo IT_{14} apresentou maiores sarcômeros distais comparado ao grupo I (9,9%; $p>0,05$) e T_{14} ($p>0,05$), ambos sem diferença estatística. O grupo IT_{14} se apresentou com sarcômeros mais longos em comparação ao grupo IT_7 ($p<0,05$).

Figura 24. Morfometria do comprimento dos sarcômeros do ventre muscular e região miotendínea dos grupos experimentais.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Grupos Controle (C), Treinado 7 dias (T₇), Treinado 14 dias (T₁₄), Imobilizado (I), Imobilizado/Treinado 7 dias (IT₇) e Imobilizado/Treinado 14 dias (IT₁₄). Médias $\pm$ desvios-padrões do comprimento dos sarcômeros do ventre muscular (linha vermelha), e região miotendínea, sarcômero proximal (penúltimo sarcômero – linha verde) e distal (último sarcômero – linha roxa). Barras: 1 μ m. Análise estatística *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn's*. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,0001$.

5.7 Análise de microscopia de imunofluorescência da região miotendínea

As análises de imunofluorescência ocorreram com antígenos para identificação de CS, telócitos e colágeno XXII na JMT. Conjuntamente, através das análises de colágeno XXII foram realizadas as mensurações de área e perímetro.

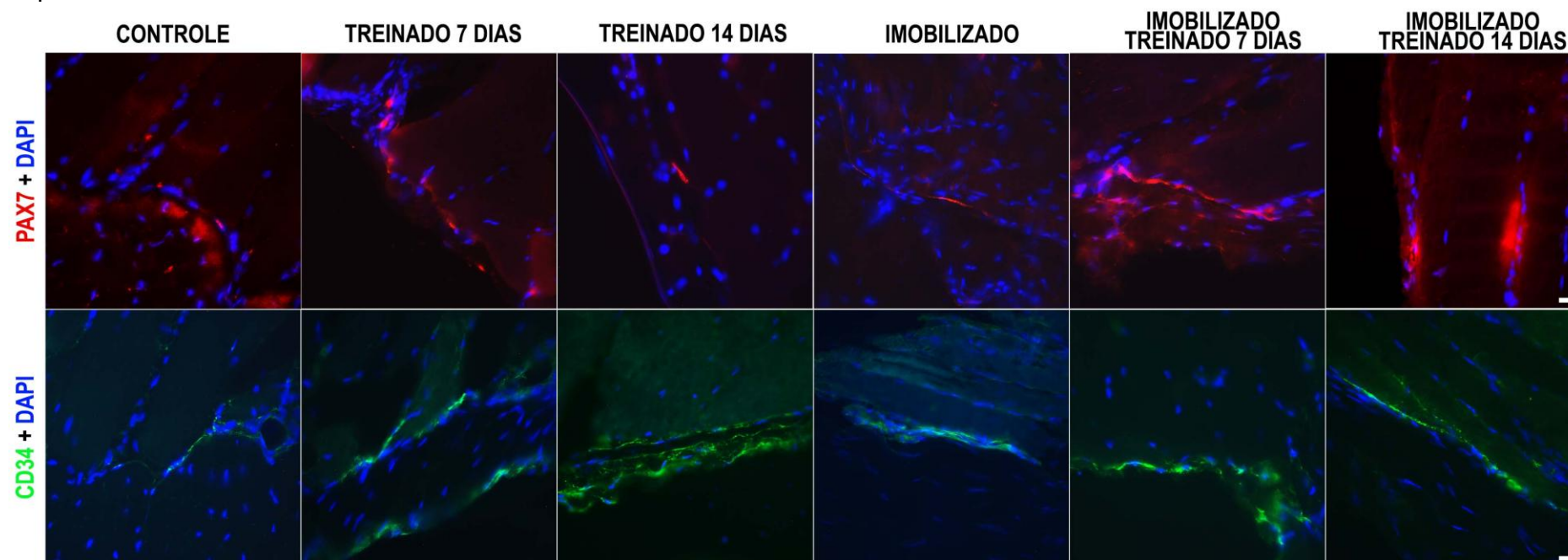
5.7.1 Células satélites e telócitos

Através da microscopia de imunofluorescência foram realizadas as análises morfológicas das CS e telócitos na JMT dos diferentes protocolos experimentais. As análises foram performadas com os anticorpos positivos Pax7+DAPI para CS e CD34+DAPI para telócitos (Figura 25).

No grupo C observa-se a presença de CS no perímetro da JMT e lateral adjacente à fibra muscular, na análise dos telócitos, foi identificado sua presença na JMT. O grupo T₇ demonstrou CS e telócitos no perímetro da JMT, ambos em maior número comparado ao grupo C. No grupo T₁₄ se evidencia a presença de uma CS na JMT, enquanto os telócitos demonstram maior densidade organizados no perímetro da JMT.

No grupo I se destaca a grande presença de núcleos com tamanhos atenuados na porção distal das fibras musculares, e as CS estão presentes no perímetro da JMT, enquanto os telócitos, se demonstram de forma aglomerada na CSC. No grupo IT₇ revelaram grande quantidade de CS no perímetro da JMT, bem como de telócitos no local. No grupo IT₁₄, observa-se a presença de CS no perímetro da JMT e lateral adjacente à fibra muscular, na análise dos telócitos, foi identificado sua presença na JMT.

Figura 25. Análise da região miotendínea através de microscopia de fluorescência das células satélites e telócitos dos grupos experimentais.



Fonte: Elaborado pela autora. Microscopia de imunofluorescência das células satélites (PAX7+DAPI) e telócitos (CD34+DAPI) na JMT dos grupos experimentais. Barras: 20 μ m.

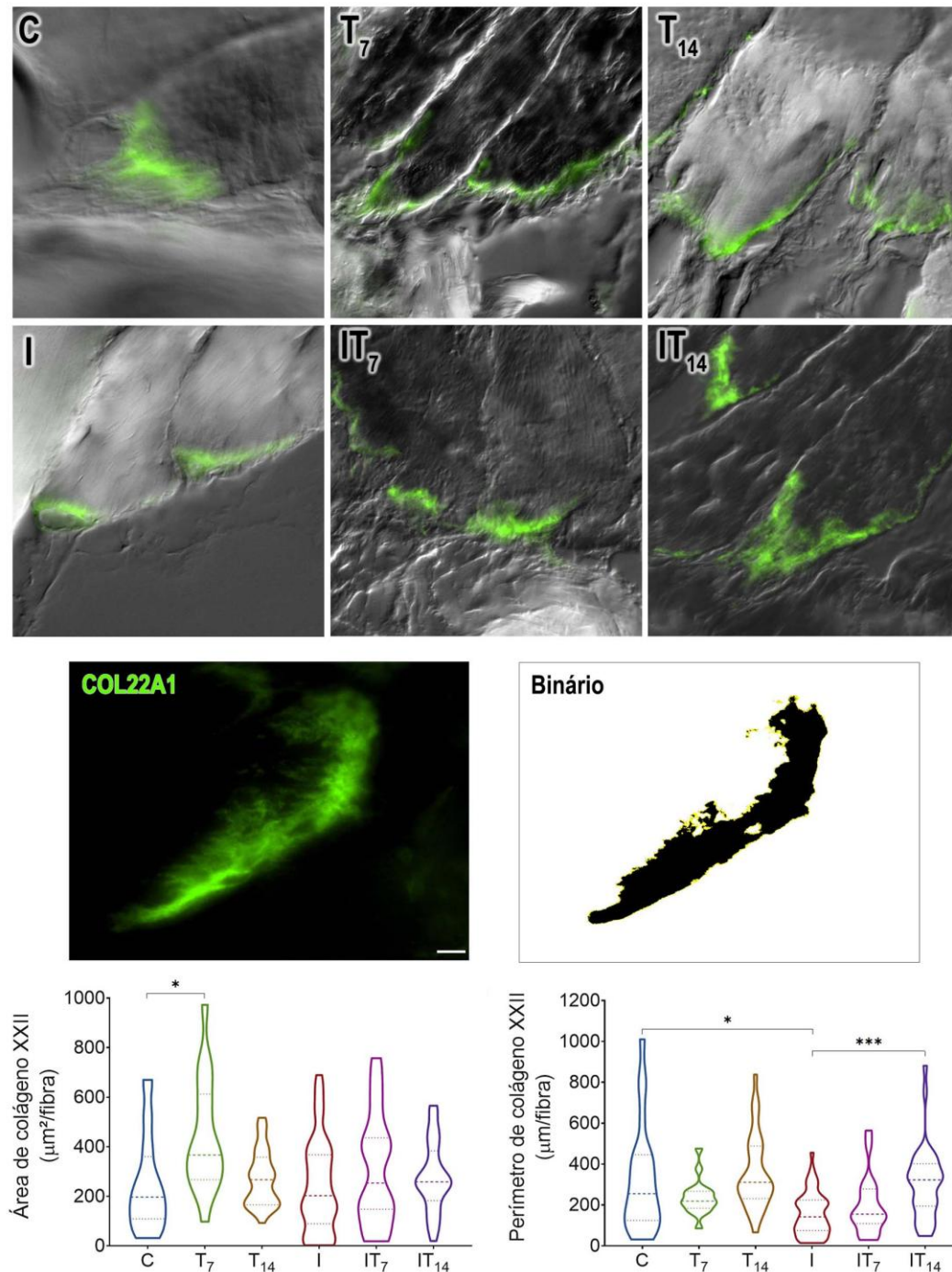
5.7.2 Colágeno XXII

Através da microscopia de imunofluorescência foram realizadas as análises morfológicas de área e perímetro/fibra muscular do colágeno XXII (Cal221a) da JMT nos diferentes grupos experimentais (Figura 26).

Na área de colágeno XXII observamos maior valor no grupo T₇ comparado ao grupo C em 80,0% ($p < 0,05$), enquanto o grupo T₁₄ demonstrou valor 10% maior comparado ao grupo C, porém, sem diferença estatística ($p > 0,05$). O grupo I apresentou área de colágeno XXII semelhante ao grupo C (2%; $p > 0,05$). O grupo IT₇ demonstrou valor 26,9% maior que o grupo I, porém, sem diferença estatística ($p > 0,05$), em comparação ao grupo IT₇ apresentou valor semelhante ($p > 0,05$). O grupo IT₁₄ demonstrou valor 15,7% maior que o grupo I, porém, sem diferença estatística ($p > 0,05$), em comparação ao grupo IT₁₄ apresentou valor semelhante ($p > 0,05$).

Através da mensuração do perímetro de colágeno XXII revelamos que o grupo T₇ apresenta valor 27,3% menor que o grupo C, porém, sem diferença estatística ($p > 0,05$), da mesma forma que o grupo T₁₄ ($p > 0,05$). O grupo I demonstrou perímetro 27,7% reduzido em comparação ao grupo C ($p < 0,05$). O grupo IT₇ apresentou maior perímetro comparado ao grupo I em 27,7%, porém sem significância estatística ($p > 0,05$), bem como em comparação ao grupo T₇ ($p > 0,05$). O grupo IT₁₄ apresentou perímetro maior em 96,7% ao grupo I ($p < 0,0001$), enquanto em comparação ao grupo T₁₄ o valor foi semelhante ($p > 0,05$).

Figura 26. Análises morfométricas do colágeno XXII da JMT dos grupos experimentais.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Grupos Controle (C), Treinado 7 dias (T₇), Treinado 14 dias (T₁₄), Imobilizado (I), Imobilizado/Treinado 7 dias (IT₇) e Imobilizado/Treinado 14 dias (IT₁₄). Microscopia de imunofluorescência do colágeno XXII (Col22a1) dos grupos experimentais. Imunofluorescência de colágeno XXII e imagem binarizada para análise morfométrica. Barra: 10 μm. Médias ± desvios-padrões da área de colágeno XXII da JMT (μm²/fibra muscular) dos grupos experimentais. Médias ± desvios-padrões do perímetro de colágeno XXII da JMT

($\mu\text{m}/\text{fibra muscular}$) dos grupos experimentais. Análise estatística *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn's*. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

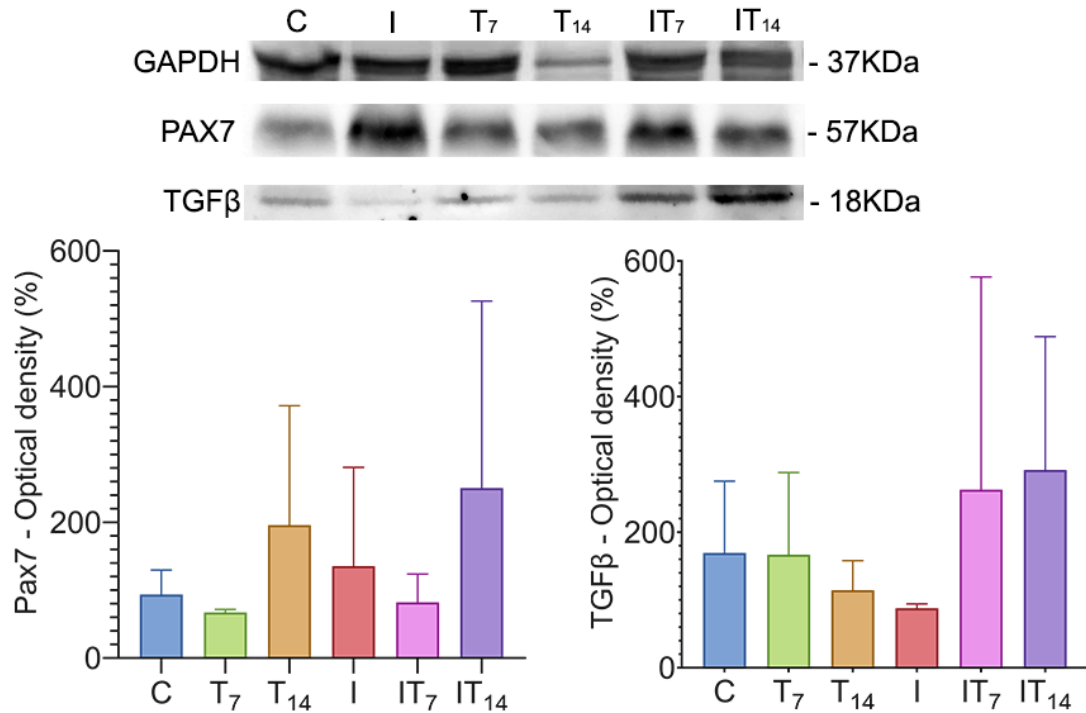
5.8 Western blot

Os ensaios de western blot ocorreram para quantificação proteica de fatores reguladores da plasticidade muscular e JMT, como GAPDH, PAX7, e TGF β , nos diferentes grupos experimentais (Figura 27).

Na expressão proteica de Pax7, observamos menor valor do grupo T₇ comparado ao grupo C em 32,7%, sem diferença estatística ($p > 0,05$). Enquanto, o grupo T₁₄ apresentou menor valor em 95,8% comparado ao grupo C, sem diferença estatística ($p > 0,05$). Entre os grupos T₇ e T₁₄ a diferença foi de 128,6%, porém sem diferença estatística ($p > 0,05$). O grupo I revelou valor 35,4% maior em comparação ao grupo C, sem diferença estatística ($p > 0,05$). No grupo IT₇ observamos menor valor comparado ao grupo I em 17,7%, em comparação ao grupo T₇ a diferença foi de 14,9%, ambos sem diferença estatística ($p > 0,05$). Enquanto, o grupo IT₁₄ apresentou maior expressão de 150,5% comparado ao grupo I, em comparação ao grupo T₁₄ a diferença foi de 54,7%, ambos sem diferença estatística ($p > 0,05$). Entre os grupos IT₇ e IT₁₄ a diferença foi de 168,3%, porém sem diferença estatística ($p > 0,05$).

Na expressão proteica de TGF β , observamos maior valor do grupo T₇ comparado ao grupo C em 66,7%, sem diferença estatística ($p > 0,05$). Enquanto, o grupo T₁₄ apresentou diferença de 14,3% comparado ao grupo C, sem diferença estatística ($p > 0,05$). Entre os grupos T₇ e T₁₄ a diferença foi de 52,4%, porém sem diferença estatística ($p > 0,05$). O grupo I revelou expressão de TGF β menor em 12,1% comparação ao grupo C, sem diferença estatística ($p > 0,05$). No grupo IT₇ observamos maior valor comparado ao grupo I em 174,8%, em comparação ao grupo T₇ a diferença foi de 95,9%, ambos sem diferença estatística ($p > 0,05$). Enquanto, o grupo IT₁₄ apresentou maior expressão em 203,8% comparado ao grupo I, em comparação ao grupo T₁₄ a diferença foi de 177,3%, ambos sem diferença estatística ($p > 0,05$). Entre os grupos IT₇ e IT₁₄ a diferença foi de 29,0%, porém sem diferença estatística ($p > 0,05$).

Figura 27. Análises dos ensaios de Western Blot dos grupos experimentais.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: Grupos Controle (C), Treinado 7 dias (T₇), Treinado 14 dias (T₁₄), Imobilizado (I), Imobilizado/Treinado 7 dias (IT₇) e Imobilizado/Treinado 14 dias (IT₁₄). Imagens obtidas através dos ensaios de Western Blot e respectivos pesos moleculares (KDa), mensuradas as bandas dos respectivos grupos experimentais. Médias $\pm$ desvios-padrões da densidade ópticas (%) padronizados por GAPDH dos antígenos de Pax7, e TGFβ dos grupos experimentais. Análise estatística *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Dunn's*.

6. DISCUSSÃO

A partir dos resultados deste estudo, foi possível identificar os efeitos do treinamento resistido em períodos de 7 e 14 dias após a indução de atrofia muscular por desuso, causada pela imobilização articular. As adaptações observadas ocorreram tanto no ventre muscular quanto na região distal do músculo, especificamente na JMT, que desempenha um papel crucial na ancoragem do tecido durante as contrações musculares. Os efeitos reabilitadores do treinamento após imobilização foram evidentes já em estágio agudo no ventre muscular, com recuperação da massa muscular e melhora das respostas funcionais. Por outro lado, na JMT, foi observada grande atividade celular, com plasticidade das projeções sarcoplasmáticas, impacto no colágeno XXII e aumento das atividades CS e dos telócitos.

Os grupos treinados, T₇ e T₁₄, demonstraram uma manutenção do tempo/movimento em curto período, enquanto o trabalho realizado apresentou crescimento contínuo, com aumento na realização de escaladas. De acordo com Wilk et al. (2021), o tempo por movimento durante os exercícios deve ser considerado no planejamento e execução do treinamento resistido, com objetivo de maximizar a força e promover a hipertrofia. Nesse sentido, o resultado observado em curto período é um parâmetro para avaliar o desempenho funcional e elaboração de um programa de treinamento a longo prazo.

Nas análises funcionais, verificamos que os grupos IT₇ e IT₁₄ apresentaram, na 1ª sessão, um maior tempo para completar a subida na escada (tempo/movimento), além de realizarem um menor número de escaladas. Esses achados corroboram com os resultados de Hurst e Fitts (2003), que, ao utilizarem o protocolo de *hindlimb unloading* (descarregamento dos membros posteriores), observaram uma diminuição na força máxima e na potência devido à atrofia muscular. Hurst e Fitts (2003) relataram que, ao analisar o músculo gastrocnêmio durante exercícios isométricos, o volume de trabalho realizado foi excessivo, levando à exaustão e/ou overtraining.

Além da redução da massa muscular, a atrofia por desuso desempenha um papel significativo no declínio funcional, conforme evidenciado em nossos resultados. Em modelo induzida por compressão do nervo isquiático, como demonstrado por

Gronholdt-Klein (2019), observa-se também atrofia muscular e perda funcional, afetando principalmente músculos com predominância de fibras musculares do tipo II, como o gastrocnêmio.

As sessões de treinamento subsequentes à imobilização articular, demonstraram um efeito terapêutico nas repercussões motoras da atrofia muscular, sendo possível observar, a partir da segunda sessão, um aumento no número de escaladas realizadas, redução no tempo de movimentos e maior trabalho. Krause Neto et al. (2018), descreveram que ratos idosos apresentam evolução na quantidade de escaladas e na carga máxima carregada com o treinamento crônico em escada vertical (17 semanas). Assim, nossos resultados demonstram que o treinamento resistido de curto período em alta intensidade, de forma crescente de 7 a 14 dias, promove melhora no desempenho com a escada vertical.

No grupo controle (C), observou-se um aumento significativo na massa corporal entre o primeiro e o segundo momento, o que era esperado devido ao desenvolvimento natural dos animais entre 60 e 70 dias de idade (QUINN, 2005).

No entanto, durante o mesmo período, os grupos imobilizados (I, IT₇ e IT₁₄), apresentaram uma redução na massa corporal, o que pode ser explicado por efeitos sistêmicos no organismo devido ao estresse do animal durante o período imobilizatório. Além de que essas alterações podem resultar em condições de desgaste sistêmico, onde a redução da síntese proteica provoca rápida perda de massa muscular e peso, além de fraqueza e maior incapacidade, comprometendo a qualidade de vida e potencialmente aumentando a mortalidade (COHEN; NATHAN; GOLDBERG, 2014).

Após a remoção do dispositivo de imobilização, os animais apresentaram um aumento na massa corporal com 7 e 14 dias, indicando uma rápida resposta do organismo na restauração da homeostase e os efeitos benéficos do exercício de forma aguda (KANNUS et al., 1998a, 1998b). Em condições como a sarcopenia, o exercício físico é reconhecido por promover a recuperação da massa corporal (WHITE et al., 2016).

No grupo I, observamos uma diferença de 62,6% em relação ao grupo C, evidenciando de forma clara a atrofia muscular por desuso após 10 dias de imobilização articular. A inatividade muscular resulta no bloqueio da via da síntese

proteica e estímulo à autofagia, o que impacta negativamente o volume celular que compõe o músculo esquelético (BODINE, 2013; NUNES et al., 2022).

O treinamento realizado durante o período de 7 dias resultou em uma melhora na massa muscular, com um efeito ainda mais pronunciado após 14 dias da remoção da imobilização. No período pós imobilização, o tecido muscular torna-se particularmente suscetível a diversos estímulos devido ao desequilíbrio homeostático. Neste contexto, o treinamento desempenha um papel fundamental na reversão da perda da massa muscular observada (GLASS, 2003), uma vez que o treinamento resistido apresenta grande potencial hipertrófico.

Através das imagens de microscopia de luz com coloração de HE, observamos adaptações nos núcleos e a morfologia geral das fibras musculares. Os grupos T₇ e T₁₄ apresentaram um aumento visível no número de núcleos adjacentes às fibras musculares, indicando elevação da atividade celular. Esse aumento na quantidade de núcleos é associado à maior plasticidade e hipertrofia muscular, estimuladas pelo treinamento resistido. Cada fibra muscular contém centenas de núcleos, os quais controlam a atividade transcricional em seus respectivos DMN. Tanto o número de mionúcleos em uma fibra muscular quanto a atividade transcricional por mionúcleo variam, e constituem dois dos principais reguladores da síntese proteica da fibra muscular (QAISAR; LARSSON, 2014).

A DF é uma técnica geométrica que avalia a complexidade da organização dos elementos, neste caso, dos núcleos celulares. Trata-se de uma análise promissora e de baixo custo, com potencial para indicar a sinalização parácrina entre fibras musculares e fibroblastos, promovendo o rearranjo desorganizado dos mioblastos (CURY et al., 2018).

Essa característica torna-se particularmente evidente no grupo T₁₄, onde observamos um aumento expressivo da DF. Tal aumento pode ser interpretado como um indicativo de desorganização celular ou de maior acúmulo tecidual, sugerindo que a dinâmica nuclear é alterada para suprir as demandas decorrentes dos estímulos do treinamento (CURY et al., 2018).

O grupo I apresentou uma maior DF nuclear em comparação ao grupo C, porém com valores menores em relação aos grupos T₇ e T₁₄. A atrofia muscular induzida pela imobilização articular afeta o comportamento nuclear. Investigações de Dupont-Versteegden (2005) e Kirby et al. (2022) relataram que os mecanismos de apoptose

mionuclear (fragmentação de DNA) não ocorrem de forma homogênea em todos os núcleos da mesma célula nas situações de atrofia muscular, mas podem ser uma repercussão do comportamento das CS.

Nos grupos IT₇ e IT₁₄, foi observada uma diminuição da DF nuclear, indicando uma adaptação entre os períodos de 7 e 14 dias de treinamento. Contudo, notou-se um retorno aos níveis médios observados no grupo C. Estes resultados sugerem que, após a atrofia muscular, o treinamento provoca inicialmente uma adaptação caracterizada por certa desorganização dos núcleos, mas, com o tempo, promove a recuperação da organização nuclear.

No estudo de Walden et al. (2020), relataram em apenas 3 dias de sobrecarga por treinamento, os mionúcleos passam por modificações epigenéticas específicas. A desmetilação de genes relacionados a mTOR e à autofagia os ativa, facilitando a adaptação muscular. Ao mesmo tempo, há a intensificação na produção de ribossomos, que otimiza a síntese proteica, esses processos promovem o crescimento muscular e adaptação metabólica. Desta forma, os resultados observados nos grupos IT₇ e IT₁₄ indicam efeito hipertrófico do treinamento.

A partir das imagens de microscopia de luz com coloração PSR, foram observadas adaptações no tecido conjuntivo associado ao tecido muscular. O treinamento resistido resultou em um aumento variável (com grande desvio-padrão) da ARTC, assim como na sua DF. Qaisar et al. (2016) descreveram que o exercício físico promove aumento da densidade capilar e fusos neuromusculares, quantificados juntamente na ARTC, destacando-se a ausência de sinais de fibrose intramuscular na análise morfológica.

No grupo I, identificaram-se regiões com maiores depósitos de tecido conjuntivo, indicando áreas de fibrose intramuscular. Segundo Silva et al. (2023), a fibrose é acompanhada pela formação de nichos fibróticos com acúmulo de MEC, resultando em um microambiente pró-inflamatório, com alta presença de citocinas inflamatórias e fatores de crescimento, os quais sustentam o processo fibrótico e a ativação contínua dos fibroblastos, que ocorreu no grupo I.

No grupo submetido ao treinamento resistido por 7 dias, não se observou fibrose intramuscular, embora a área de tecido conjuntivo fosse semelhante à do grupo I. A DF apresentou valores reduzidos, apesar da variação no desvio-padrão. O treinamento parece ter induzido a remoção da fibrose intramuscular. Esses resultados

podem estar associados ao aumento da força transversal gerada durante as contrações, repercutindo no endomísio, perimísio e na densidade de capilares sanguíneos como descritos por Knudsen et al. (2015).

Por meio da análise histoquímica de ATPase miofibrilar, foram identificados os tipos de fibras I, IIa e IIx. No grupo T₇, houve um aumento da AST nas fibras dos tipos I e IIa, enquanto as fibras do tipo IIx permaneceram inalteradas. O resultado demonstra que, em curto período, o tamanho da fibra é proporcional à capacidade de geração de força, e a hipertrofia muscular pode ser o fator determinante para essa alteração, como descrito por Qaisar e Larson (2014).

No grupo T₁₄, não houve aumento da AST nas fibras dos tipos I e IIa, mas foi observada uma redução nas fibras do tipo IIx. Adams e Bamman (2012), apresentaram que a AST não necessariamente representa as adaptações nos componentes não contráteis, como o aumento dos filamentos miofibrilares, mas está mais relacionada ao tipo miofibrilar, como observado nas fibras tipo I e IIa.

Como esperado, devido aos demais indícios de atrofia muscular no grupo I, todos os tipos de fibras apresentaram redução da AST, sendo a menor variação observada nas fibras do tipo IIx. A redução da AST durante a atrofia muscular resulta da diminuição na síntese de proteínas musculares e do aumento da degradação proteica, culminando em uma proteólise acentuada. Segundo Nunes et al. (2022), a imobilização articular pode resultar em um declínio muscular de até 30% em comparação ao membro contralateral em indivíduos saudáveis.

No grupo IT₇, observou-se um aumento significativo da AST em todos os tipos de fibras em comparação com o grupo I, enquanto no grupo IT₁₄ esse efeito foi menos acentuado. Yin et al. (2021) sugeriram que o treinamento é um tratamento regenerativo para a atrofia muscular, pois promove um aumento proporcional do conteúdo nuclear nas células musculares, resultando em hipertrofia, além de estimular o anabolismo, inibir o catabolismo, e aumentar a proliferação de CS.

A análise histopatológica por IFF pode indicar alterações induzidas por condições patológicas e sugerir medidas terapêuticas. Segundo a proposta de Zazula et al. (2022), valores de IFF próximos a 1 indicam hipertrofia, enquanto valores próximos a 2 indicam atrofia, e 3 podem sugerir necrose. Nossos resultados mostram que as fibras do tipo I são mais propensas a alterações do IFF após os treinamentos, com ou sem imobilização articular prévia (T₇, T₁₄, IT₇ e IT₁₄).

No grupo I, o maior IFF foi observado nas fibras do tipo I, corroborando a hipótese de Ciciliot et al. (2013), de que o desuso muscular envolve a perda da influência neural e carga mecânica, desta forma causa uma conversão de fibras lentas para rápidas, e mudanças no perfil das isoformas da MyHC, com atrofia preferencial das fibras do tipo I.

Nos grupos IT₇ e IT₁₄, os valores de IFF foram menores em comparação ao grupo I nas fibras dos tipos I, IIa e IIx. Este resultado indica uma adaptação progressiva da hipertrofia, com o IFF próximo do valor de 1 após nos grupos IT₇ e IT₁₄. Machida e Booth (2004), descreveram que o aumento de mionúcleos e fatores estimulantes de CS, induzido pelo treinamento, repercute em todos os tipos de fibra.

Por meio da análise histoquímica de ATPase miofibrilar foram identificados os tipos de fibras I, IIa e IIx. O músculo gastrocnêmio, utilizado neste estudo, possui predominância de fibras tipo II, que proporciona maior produção de força e maior capacidade de remodelação (BARBOSA et al., 2021).

Os protocolos experimentais não demonstraram efeito sobre a porcentagem de cada tipo de fibra. Mo et al. (2022), apresentaram indícios de uma conversão de fibras do tipo I para o tipo II durante a atrofia por desuso, o que resulta na diminuição das fibras lentas e no aumento das fibras rápidas.

Na análise dos tipos de fibra por mm², observamos que a imobilização articular decorre em maior quantidade de fibra tipo I e II pela área. À medida que a atrofia muscular ocorre, a quantidade de fibras/mm² aumenta proporcionalmente, corroborando os resultados de Rocha et al. (2020a), que demonstraram um aumento de quantidade de fibra por secção com a atrofia muscular por desuso.

Os grupos IT₇ e IT₁₄ apresentaram uma recuperação da área ocupada por ambos os tipos de fibras. Esses resultados estão de acordo com o estudo de Ravi et al. (2015), que observaram a restauração da troponina após 7 dias de remobilização em ratos idosos, uma proteína importante para a contração muscular, sem alterações na massa muscular.

Na JMT, observamos, por microscopia de luz, adaptações morfológicas decorrentes dos treinamentos de 7 e 14 dias, com uma conformação diferenciada de núcleos entre a JMT, as células satélites quiescentes (CSC) e o tendão. Pimentel Neto et al. (2022), verificaram que o treinamento resistido em escada vertical de 8

semanas aumenta a interface da JMT e eleva a atividade celular nessa região, desta forma promove alterações morfológicas que contribuem com seu desenvolvimento.

A imobilização apresentou núcleos centralizados na JMT, uma resposta típica da atrofia, indicando uma tentativa de remodelamento e ativação de autofagia nas fibras musculares. Núcleos centralizados são frequentemente observados durante o desenvolvimento miofibrilar ou na recuperação de inflamações e miopatias (PERILLO; FOLKER, 2018). No entanto, na JMT, essa condição pode fragilizar a região, tornando-a mais suscetível a lesões neste período.

Nos grupos que realizaram treinamentos após a imobilização articular no período de 7 e 14 dias, observou-se maior densidade de núcleos tanto na região distal da fibra muscular quanto na CSC e no tendão, sugerindo um aumento da atividade celular, sinalizando reestruturação e ancoragem. Curzy et al. (2017) corroboram com uma interface plástica, capaz de aumentar a área de contato entre os tecidos e estimular a síntese proteica com o treinamento aeróbio.

Os sarcômeros, unidades contráteis da fibra muscular, apresentaram comprimentos variados conforme sua localização. No ventre muscular, os sarcômeros em série demonstram maiores comprimentos com o treinamento resistido, de forma crescente, nos períodos de 7 e 14 dias, indicando uma adaptação que otimiza o desempenho contrátil corroborado por Leite e Rassier (2020).

A imobilização articular, por outro lado, resultou na redução do comprimento dos sarcômeros, devido ao encurtamento do músculo gastrocnêmio. Okita et al. (2004), também observaram essa redução uma semana após a imobilização, sem mudanças adicionais após 2, 4, 8 e 12 semanas. O encurtamento das fibras durante a imobilização pode levar à contratura muscular (atenuação da elasticidade), onde o colágeno adapta-se, organizando as fibrilas do endomísio de forma mais circunferencial, agravando a contratura muscular em estágios avançados da imobilização (OKITA et al., 2004).

Após a imobilização, o treinamento promoveu um aumento progressivo nos comprimentos dos sarcômeros no ventre muscular, após 7 e 14 dias. Hinks e Power (2024), relataram que a morfologia longitudinal dos músculos, especialmente a regulação dos sarcômeros em série, adapta-se mais rapidamente que a morfologia paralela (AST) durante a recuperação da imobilização, com a AST recuperando-se

mais lentamente, requerendo maior atenção a longo prazo para restaurar a capacidade funcional.

Os sarcômeros da JMT apresentaram maior variação de comprimentos, com os sarcômeros proximais demonstrando redução no grupo T₇, mas sem adaptação no grupo T₁₄. Os resultados de Rocha et al. (2020b) corroboram em parte, em análise dos músculos plantar e sóleo de ratos submetidos a treinamento resistido de 8 semanas, observou-se que os sarcômeros proximais têm menor variação de comprimento que os distais, embora no músculo plantar, de predominância de fibras tipo II, os sarcômeros proximais apresentem maior comprimento. Isso possivelmente reflete diferenças entre os treinamentos de curto e longo prazo.

No grupo I, os sarcômeros apresentaram redução significativa, com aumento após o treinamento (IT₇ e IT₁₄). Esses resultados contrastam com os de estudos de remobilização aquática de 4 semanas, nos quais os sarcômeros proximais não apresentaram alterações (ROCHA et al., 2021). Os tipos de treinamento resistido e aeróbio ativam diferentes vias metabólicas: o resistido, de natureza anaeróbia (rápido e intenso), e o aeróbio, de natureza oxidativa (sustentável e prolongado).

O sarcômero distal exibiu ampla variação de comprimento nos grupos experimentais, com diferença significativa entre IT₇ e IT₁₄. Com o treinamento aeróbio de natação, Jacob et al. (2019), identificaram a JMT como uma região propensa à sarcomerogênese, especialmente nos sarcômeros distais.

Na análise da ultraestrutura da JMT por microscopia eletrônica de transmissão, o grupo T₇ apresentou apenas redução nas espessuras das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, enquanto o grupo T₁₄ não apresentou variações. Curzi et al. (2016), sugeriram que a plasticidade da JMT está relacionada à intensidade do exercício realizado, com o TGFβ desempenhando um papel central nesse processo.

Nas projeções sarcoplasmáticas do grupo I observamos redução significativa apenas em seus comprimentos. Corroborando com Curzi (2016), onde relatou a redução da interface entre tecidos da JMT na atrofia muscular, e que a resposta é relativa ao tipo de fibra muscular e da duração da condição que promove a atrofia. As respostas à atrofia na JMT são complexas devido a sua constante manutenção para a transmissão de força contrátil, pela síntese proteica ao mesmo tempo que enfrenta um processo de catabolismo generalizado nas fibras musculares. Esse equilíbrio entre

a necessidade de preservação da função contrátil e o desgaste induzido pela atrofia gera um cenário desafiador para a manutenção da integridade estrutural da JMT.

No grupo IT₇, comparado ao grupo I, houve alteração apenas na espessura das invaginações sarcoplasmáticas. Segundo Egan e Sharples (2023), as adaptações agudas ao exercício ocorrem até 48h após a prática, com alterações de transcrição e subsequente adaptação morfológica após 7 dias. A imobilização estabelece um estado de predisposição a estímulos externos, tornando-se um momento importante para a aplicação de metodologias de remobilização (ROCHA et al., 2021). Dessa forma, a adaptação observada na JMT do grupo IT₇ reafirma o potencial adaptativo da JMT e do treinamento como agente terapêutico para a interface.

O grupo IT₁₄, em comparação ao grupo I e IT₇, já apresenta maiores comprimentos das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas. Kojima et al., (2008) observaram aumento da tensão na JMT, e aumento do ângulo formado pela interface e a fibra muscular, que pode causar adaptação transitória e resposta imediata ao aumento de tensão durante o exercício.

Na análise morfométrica da JMT, foi verificado uma maior interface de contato no grupo T₇ em relação ao grupo C, enquanto os demais grupos apresentaram variações mais acentuadas, sugerindo a não uniformidade das projeções sarcoplasmáticas, responsáveis por formar uma base de ancoragem contínua. Jakobssen et al. (2023), analisaram a JMT de fibras musculares dos tipos I e II, revelando que as fibras do tipo I possuem uma área de interface 22% maior do que as do tipo II. Como mencionado anteriormente, o músculo gastrocnêmio apresenta predominância de fibras tipo II, e em nossas análises morfométricas da JMT, os tipos de fibras não foram diferenciados.

As CS observadas por meio da análise de imunofluorescência (Pax7+), exibiram diferentes disposições conforme os protocolos experimentais. Durante o estado de quiescência, as CS localizam-se sob a lâmina basal e recebem sinais que mantêm a quiescência das fibras musculares esqueléticas adjacentes (WONG et al., 2021). Entretanto, em situações de distúrbios musculares, como a atrofia por desuso, a composição do nicho de CS sofre mudanças significativas, permitindo o surgimento de novos contatos mediadores da proliferação, auto-renovação e diferenciação (KANN; HUNG; KRAUSS, 2021).

Pimentel Neto et al. (2024) descreveram recentemente a primeira relação entre telócitos e CS na JMT em um modelo de lesão nervosa, onde foi observada atividade parácrina entre essas células, além de interações mediadas por vesículas, um mecanismo semelhante à sinalização endócrina, porém atuando a curtas distâncias por difusão passiva. Essa comunicação parácrina ocorre na matriz extracelular (MEC) da JMT e se estende até o sarcolema.

A identificação de telócitos e CS na mesma região revela uma estreita relação na formação de um microambiente favorável a adaptações rápidas, sendo considerada uma abordagem potencial para a compreensão da regeneração tecidual (ROSA; MARINI; MANETTI, 2021). Neste estudo, foi constatada a presença de telócitos e CS na JMT, evidenciando seu potencial em análises de regeneração tecidual rápida.

Os telócitos foram observados na JMT em diferentes disposições, com maior prevalência ao redor da interface miotendínea. Pimentel Neto et al. (2020), identificaram telócitos na JMT em nichos próximos a capilares, pericítos e fibras colágenas na CSC. Com o treinamento resistido, os telócitos desempenham sua atividade parácrina, promovendo o remodelamento das projeções sarcoplasmáticas.

A influência dos telócitos, associada ao treinamento de curto período após a imobilização articular, contribui para a regeneração e reparo tecidual. Os telócitos desempenham um papel essencial no remodelamento ao atuarem como agentes comunicadores, utilizando mecanismos complexos de comunicação elétrica, química e epigenética, incluindo a troca de exossomos, para coordenar atividades entre diferentes tipos de células e tecidos (EDELSTEIN et al., 2016).

O colágeno XXII (Col22a1+), observado no grupo T7, demonstrou maior área de ocupação no terminal da fibra muscular, enquanto seu perímetro apresentou pouca variação, sendo semelhante ao grupo C. Charvet et al. (2013), descreveram o comportamento da interface em *zebrafish* com depleção de Col22a1, o que resultou em um fenótipo semelhante à distrofia muscular, com comprometimento da capacidade funcional, redução significativa da amplitude das contrações musculares e descolamento das fibras induzido por contrações. Além disso, demonstraram que a ausência de colágeno XXII causou uma redução expressiva das projeções sarcoplasmáticas

No grupo I, a área de colágeno XXII não apresentou alterações em comparação ao grupo C, mas o perímetro foi menor, refletindo uma disposição menos homogênea. Miyamoto-Mikami et al. (2020), sugerem que a alta expressão de mRNA de Col22a1 na JMT pode influenciar o risco de lesão muscular em atletas devido a dois alelos associados ao colágeno XXII, embora não tenham determinado com precisão a localização exata da lesão.

O grupo IT₇ não apresentou alterações significativas, enquanto o grupo IT₁₄ exibiu um maior perímetro, ambos em comparação ao grupo I, sugerindo uma distribuição mais dispersa pela interface de contato da fibra muscular com a lâmina basal. Nossos resultados corroboram os de Jakobsen et al. (2017), que relataram a presença de colágeno XXII na JMT humana após quatro semanas de treinamento, mas não no músculo ou no tendão, o que reforça a especialização funcional dessa região. Além disso, os autores destacam o aumento no conteúdo de colágeno XIV e Tenascina-C no endomísio próximo à JMT, que sugere uma remodelação da matriz, possivelmente importante para a proteção contra lesões por estiramento.

Nossos resultados indicam que o colágeno XXII é essencial para a manutenção da integridade estrutural da JMT, e sua modificação pode resultar em alterações funcionais e morfológicas que comprometem o desempenho muscular e a estabilidade mecânica durante a contração.

Na análise proteica de Pax7, observou-se menor expressão no grupo T₇ comparado ao grupo C, enquanto no grupo T₁₄ observa-se maior expressão. Nossos resultados corroboram com Caldow et al. (2015), que relataram que o treinamento resistido aumenta a expressão de Pax7 em CS, que promove sua ativação e proliferação após exercícios agudos em até 12 semanas de treinamento.

No grupo I, revelou-se uma maior expressão de Pax7 em relação ao grupo C. Entretanto, o estudo de Feichtinger et al. (2019), sugerem que a atrofia muscular afeta negativamente a expressão de Pax7 em CS, comprometendo a regeneração muscular e a sobrevivência dessas células. A falta de expressão de Pax7 está associada a redução do conjunto de células satélite e a um novo tipo de miopatia que afeta especificamente a sobrevivência das CS, desta forma, compreendemos que o modelo de atrofia utilizado não induziu a uma condição miopática.

Em contrapartida Ralliere et al. (2023) evidenciaram que células Pax7⁺ se acumulam em locais de lesão muscular, indicando expressão dinâmica do gene

durante a formação das fibras musculares, isso indica que as CS podem estar presentes na atrofia muscular com objetivo regenerativo do tecido.

A expressão de Pax7 no grupo IT₇ é menor comparado ao grupo I, enquanto é maior em relação ao grupo IT₁₄. O resultado agudo observado no grupo IT₇, não corrobora com o aumento da expansão de CS em fibras tipo I de forma aguda observado por Brown et al. (2022), enquanto no grupo IT₁₄, observa-se a promoção da hipertrofia muscular através do aumento da expressão de Pax7, que regula a proliferação e ativação das células satélites como descrito por Esmaeili et al. (2021).

O TGF β é conhecido por sua indução a atrofia do músculo esquelético por meio da ativação da ROS, e fibrose muscular devido ao acúmulo excessivo de MEC promovido pelos fibroblastos (CHAPMAN; MEZA; LIEBER, 2016). Entretanto, os resultados observados neste estudo demonstram expressão reduzida de TGF β no grupo I comparado ao grupo C, mesmo com resultados anteriormente discutidos demonstrando a atrofia muscular neste grupo.

Segundo Carlson et al. (2009), o TGF β 1 desempenha um papel central em patologias musculares por inibir a diferenciação das células satélites e deprime a proliferação celular de maneira dose-dependente, porém em nossos resultados uma maior expressão de CS e menor de TGF β no grupo I.

A expressão TGF β dos grupos T₇ e C foi semelhante, enquanto no grupo T₁₄ reduzida, que segundo Droguett et al. (2006), apresentaram que as proteoglicanos da MEC modulam a sinalização do TGF β , diminuindo sua biodisponibilidade para seus receptores transdutores, o que pode ajudar a atenuar esse fator de crescimento inibitório durante a formação do músculo esquelético.

Nos grupos IT₇ e IT₁₄ foi observado maior expressão de TGF β comparado ao grupo I. Olfert et al. (2001), relataram o aumento da expressão de TGF β após uma única sessão de exercício.

7. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

- A imobilização articular acarreta redução do desempenho funcional na escada vertical, e os períodos de 7 e 14 dias de treinamento demonstram melhoras nas funções motoras;
- A imobilização articular de 10 dias provoca atrofia muscular, e o protocolo apresenta repercussão na massa corporal total. O treinamento de 7 e 14 dias (IT₇ e IT₁₄) apresentou recuperação da massa corporal (massa semelhante ao grupo C), enquanto, no músculo imobilizado, o resultado é de maior massa, embora gradual;
- O ventre muscular demonstra rápida remodelação dos núcleos e tecido conjuntivo no período de 7 e 14 dias de treinamento;
- Os tipos de fibras musculares apresentaram indícios de hipertrofia com o treinamento resistido, atrofia muscular com a imobilização, e o treinamento após a atrofia demonstra recuperação completa da AST e da área ocupada por fibras, com 7 e 14 dias de treinamento;
- Na JMT, o treinamento promoveu intensa atividade celular e variação na plasticidade das projeções sarcoplasmáticas, destacando-se a variabilidade dos sarcômeros da JMT;
- As projeções sarcoplasmáticas apresentaram menores comprimentos e consequente menor região de contato no grupo I, e após o treinamento de 14 dias apresenta maior comprimento das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas;
- As CS e telócitos estão presentes na JMT, revelando uma estreita relação com a formação de um microambiente favorável a adaptações no curto período de análise;
- O colágeno XXII apresenta diferentes conformações em área e perímetro, que indica sua adaptabilidade em tornar a interface mais compacta, como no grupo T₇, menores projeções da interface como no grupo I, ou mais irregular como no grupo IT₁₄;
- A expressão de TGF apresentou uma adaptação diferenciada do relatado na literatura, mas a associação com os dados de Pax7 sugere indícios de proliferação celular de forma dose-dependente.

Os dados apresentados neste estudo revelam a importância do treinamento resistido como uma estratégia eficaz na reabilitação muscular em curto período após a atrofia, proporcionando benefícios tanto funcionais quanto estruturais.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, D. R.; BERTONCELLO, D.; CARVALHO, L. C. Avaliação das propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio de ratas imobilizado e submetido à corrente russa. *Fisioterapia e Pesquisa*, v. 16, n. 1, p. 59–64, 2009.
- ADAMS, G. R.; BAMMAN, M. M. Characterization and regulation of mechanical loading-induced compensatory muscle hypertrophy. **Comprehensive Physiology**, v. 2, n. 4, p. 2829–2870, 2012.
- ALEV, K.; ARU, M.; VAIN, A.; PEHME, A.; KAASIK, P.; SEENE, T. Short-time recovery skeletal muscle from dexamethasone-induced atrophy and weakness in old female rats. **Clinical Biomechanics**, v. 100, n. 105808, 2022.
- ALIZADEH PAHLAVANI, H. Exercise Therapy for People With Sarcopenic Obesity: Myokines and Adipokines as Effective Actors. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, n. 811751, 2022.
- AMAN, F.; EL KHATIB, E.; ALNEAIMI, A.; MOHAMED, A.; ALMULLA, A. S.; ZAIDAN, A.; ALSHAFEI, J.; HABBAL, O.; ELDESOUKI, S.; QAISAR, R. Is the myonuclear domain ceiling hypothesis dead? **Singapore medical journal**, v. 64, n. 7, p. 415–422, 2023.
- AMEMIYA, H.; YAMAMOTO, M.; HIGA, K.; WATANABE, G.; TANIGUCHI, S.; KITAMURA, K.; JEONG, J.; YANAGISAWA, N.; FUKUDA, K. I.; ABE, S. Effects of Myostatin on Nuclear Morphology at the Myotendinous Junction. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 7, 2023.
- ATAEINOSRAT, A.; SAEIDI, A.; ABEDNATANZI, H.; RAHMANI, H.; DALOII, A. A.; PASHAEI, Z.; HOJATI, V.; BASATI, G.; MOSSAYEBI, A.; LAHER, I.; ALESİ, M. G.; HACKNEY, A. C.; VANDUSSELDORP, T. A.; ZOUHAL, H. Intensity Dependent Effects of Interval Resistance Training on Myokines and Cardiovascular Risk Factors in Males With Obesity. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, 2022.
- BABCOCK, L. W.; KNOBLAUCH, M.; CLARKE, M. S. F. The role of myostatin and activin receptor IIB in the regulation of unloading-induced myofiber type-specific skeletal muscle atrophy. **Journal of Applied Physiology**, v. 119, n. 6, p. 633–642, 2015.
- BAGHDADI, M. B.; TAJBAKHSH, S. Regulation and phylogeny of skeletal muscle regeneration. **Developmental Biology**, v. 433, n. 2, p. 200–209, 2018.
- BAILLY, M.; FÉASSON, L.; PEREIRA, B.; BOILEAU, A.; HOURDÉ, C.; GERMAIN, N.; GALUSCA, B.; COURTEIX, D.; THIVEL, D.; VERNEY, J. Two new reliable immunohistochemical methods for simultaneous identification of capillaries, the three types of fibers and basal lamina in human skeletal muscle. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 154, n. 3, p. 327–337, 2020.
- BARBOSA, G. K.; JACOB, C. D. S.; RODRIGUES, M. P.; ROCHA, L. C.; PIMENTEL NETO, J.; CIENA, A. P. Morphological Changes in the Motor Endplate and in the Belly Muscle Induced by Previous Static Stretching to the Climbing Protocol. **Microscopy and Microanalysis**, v. 27, n. 5, p. 1183–1191, 2021.
- BHASKARAN, S.; POLLOCK, N.; C. MACPHERSON, P.; AHN, B.; PIEKARZ, K. M.; STAUNTON, C. A.; BROWN, J. L.; QAISAR, R.; VASILAKI, A.; RICHARDSON, A.; MCARDLE, A.; JACKSON, M. J.; BROOKS, S. V.; VAN REMMEN, H. Neuron-

- specific deletion of CuZnSOD leads to an advanced sarcopenic phenotype in older mice. **Aging Cell**, v. 19, n. 10, 2020.
- BIFERALI, B.; PROIETTI, D.; MOZZETTA, C.; MADARO, L. Fibro–Adipogenic Progenitors Cross-Talk in Skeletal Muscle: The Social Network. **Frontiers in Physiology**, v. 10, n. 1074, p. 1–10, 2019.
- BODINE, S. C. Disuse-induced muscle wasting. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 45, n. 10, p. 2200–2208, 2013.
- BOLINA, C. de S.; BOLINA-MATOS, R. D. S.; ALVES, P. H. M.; PULZATO CURY, D.; CIENA, A. P.; WATANABE, I. S. 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**, v. 76, n. 5, p. 538–544, 2013.
- BONALDO, P.; SANDRI, M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. **DMM Disease Models and Mechanisms**, v. 6, n. 1, p. 25–39, 2013.
- BROOKE, M. H.; KAISER, K. K. **The use and abuse of muscle histochemistry**. p. 121–144.
- BROWN, A.; THOMAS, A. C. Q.; HATT, A. A.; MCGLORY, C.; PHILLIPS, S. M.; KUMBHARE, D.; PARISE, G.; JOANISSE, S. Aerobic conditioning alters the satellite cell and ribosome response to acute eccentric contractions in young men and women. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 323, n. 6, p. C1577–C1585, 2022.
- CAÇÃO-BENEDINI, L. O.; RIBEIRO, P. G.; PRADO, C. M.; CHESCA, D. L.; MATTIELLO-SVERZUT, A. C. Immobilization and therapeutic passive stretching generate thickening and increase the expression of laminin and dystrophin in skeletal muscle. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 47, n. 6, p. 483–491, 2014.
- CALDOW, M. K.; THOMAS, E. E.; DALE, M. J.; TOMKINSON, G. R.; BUCKLEY, J. D.; CAMERON-SMITH, D. Early myogenic responses to acute exercise before and after resistance training in young men. **Physiological Reports**, v. 3, n. 9, 2015.
- CARLSON, M. E.; CONBOY, M. J.; HSU, M.; BARCHAS, L.; JEONG, J.; AGRAWAL, A.; MIKELS, A. J.; AGRAWAL, S.; SCHAFFER, D. V.; CONBOY, I. M. Relative roles of TGF- β 1 and Wnt in the systemic regulation and aging of satellite cell responses. **Aging Cell**, v. 8, n. 6, p. 676–689, 2009.
- CASEY, D. T.; LAHUE, K. G.; MORI, V.; HERRMANN, J.; HALL, J. K.; SUKI, B.; JANSSEN-HEININGER, Y. M. W.; BATES, J. H. T. Local fractal dimension of collagen detects increased spatial complexity in fibrosis. **Histochemistry and Cell Biology**, 2023.
- CHACON-CABRERA, A.; GEA, J.; BARREIRO, E. Short- and Long-Term Hindlimb Immobilization and Reloading: Profile of Epigenetic Events in Gastrocnemius. **Journal of Cellular Physiology**, v. 232, n. 6, p. 1415–1427, 2017.
- CHAPMAN, M. A.; MEZA, R.; LIEBER, R. L. Skeletal muscle fibroblasts in health and disease. **Differentiation**, v. 92, n. 3, p. 108–115, 2016.
- CHARVET, B.; GUIRAUD, A.; MALBOUYRES, M.; ZWOLANEK, D.; GUILLON, E.; BRETAUD, S.; MONNOT, C.; SCHULZE, J.; BADER, H. L.; ALLARD, B.; KOCH, M.; RUGGIERO, F. Knockdown of col22a1 gene in zebrafish induces a muscular

- dystrophy by disruption of the myotendinous junction. **Development**, v. 140, n. 22, p. 4602–4613, 2013.
- CHARVET, B.; RUGGIERO, F.; LE GUELLEC, D. The development of the myotendinous junction. A review. **Ligaments and Tendons Journal**, v. 2, n. 2, p. 53–63, 2012.
- CHRISTOPHER, X.; MENDIAS, L.; SCHWARTZ, A. J.; GREKIN, J. A.; GUMUCIO, J. P.; SUGG, K. B. Changes in muscle fiber contractility and extracellular matrix production during skeletal muscle hypertrophy. **Journal of Applied Physiology**, v. 122, p. 571–579, 2017.
- CICILIOT, S.; ROSSI, A. C.; DYAR, K. A.; BLAAUW, B.; SCHIAFFINO, S. Muscle type and fiber type specificity in muscle wasting. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 45, n. 10, p. 2191–2199, 2013.
- CIENA, A. P.; ALMEIDA, S. R. Y.; DIAS, F. J.; BOLINA, C. S.; ISSA, J. P. M.; IYOMASA, M. M.; OGAWA, K.; WATANABE, I. Fine structure of myotendinous junction between the anterior belly of the digastric muscle and intermediate tendon in adults rats. **Micron**, v. 43, n. 2–3, p. 258–262, 2012.
- CIENA, A. P.; LUQUES, I. U.; DIAS, F. J.; ALMEIDA, S. R. Y.; IYOMASA, M. M.; WATANABE, I. sei. Ultrastructure of the myotendinous junction of the medial pterygoid muscle of adult and aged Wistar rats. **Micron**, v. 41, n. 8, p. 1011–1014, 2010.
- COHEN, S.; NATHAN, J. A.; GOLDBERG, A. L. Muscle wasting in disease: Molecular mechanisms and promising therapies. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 1, p. 58–74, 2014.
- CORNACHIONE, A.; CAÇÃO-BENEDINI, L. O.; SHIMANO, M. M.; VOLPON, J. B.; MARTINEZ, E. Z.; MATTIELLO-SVERZUT, A. C. Morphological comparison of different protocols of skeletal muscle remobilization in rats after hindlimb suspension. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 18, n. 4, p. 453–461, 2008.
- COSTAMAGNA, D.; BERARDI, E.; CECCARELLI, G.; SAMPAOLESI, M. Adult Stem Cells and Skeletal Muscle Regeneration. **Current Gene Therapy**, v. 15, n. 4, p. 348–363, 2015.
- COUTINHO, E. L.; GOMES, A. R. S.; FRANÇA, C. N.; SALVINI, T. F. A new model for the immobilization of the rat hind limb. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, v. 35, n. 11, p. 1329–1332, 2002.
- CRETOIU, D.; HUMMEL, E.; ZIMMERMANN, H.; GHERGHICEANU, M.; POPESCU, L. M. Human cardiac telocytes: 3D imaging by FIB-SEM tomography. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 18, n. 11, p. 2157–2164, 2014.
- CRETOIU, D.; PAVELESCU, L.; DUICA, F.; RADU, M.; SUCIU, N.; CRETOIU, S. M. Myofibers. Em: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. **Springer New York**, p. 23–46, 2018.
- CURY, S. S.; FREIRE, P. P.; MARTINUCCI, B.; DOS SANTOS, V. C.; DE 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**, v. 503, n. 1, p. 109–115, 3 set. 2018.

- CURZI, D. Ultrastructural study of myotendinous junction plasticity: from disuse to exercise. **Sport Sciences for Health**, v. 12, n. 3, p. 279–286, 2016.
- CURZI, D.; AMBROGINI, P.; FALCIERI, E.; BURATTINI, S. Morphogenesis of rat myotendinous junction. **Ligaments and Tendons Journal**, v. 3, n. 4, p. 275–280, 2013a.
- CURZI, D.; LATTANZI, D.; CIUFFOLI, S.; BURATTINI, S.; GRINDELAND, R. E.; EDGERTON, V. R.; ROY, R. R.; TIDBALL, J. G.; FALCIERI, E. Growth hormone plus resistance exercise attenuate structural changes in rat myotendinous junctions resulting from chronic unloading. **European Journal of Histochemistry**, v. 57, n. 4, p. 248–255, 2013b.
- CURZI, D.; SALUCCI, S.; GOBBI, P. The myotendinous junction plasticity following aerobic exercise. **Italian Journal of Anatomy and Embryology**, v. 122, n. 1, 2017.
- CURZI, D.; SALUCCI, S.; MARINI, M.; ESPOSITO, F.; AGNELLO, L.; VEICSTEINAS, A.; BURATTINI, S.; FALCIERI, E. How physical exercise changes rat myotendinous junctions: An ultrastructural study. **European Journal of Histochemistry**, v. 56, n. 2, p. 117–122, 2012.
- CURZI, D.; SARTINI, S.; GUESCINI, M.; LATTANZI, D.; DI PALMA, M.; AMBROGINI, P.; SAVELLI, D.; STOCCHI, V.; CUPPINI, R.; FALCIERI, E. Effect of different exercise intensities on the myotendinous junction plasticity. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, 2016.
- DANKEL, S. J.; KANG, M.; ABE, T.; LOENNEKE, J. P. Resistance training induced changes in strength and specific force at the fiber and whole muscle level: a meta-analysis. **European Journal of Applied Physiology**, v. 119, n. 1, p. 265–278, 2019.
- DEANE, C. S.; PIASECKI, M.; ATHERTON, P. J. Skeletal muscle immobilisation-induced atrophy: mechanistic insights from human studies. **Clinical Science**, v. 138, n. 12, p. 741–756, 2024.
- DELEZIE, J.; WEIHRAUCH, M.; MAIER, G.; TEJERO, R.; HAM, D. J.; GILL, J. F.; KARRER-CARDEL, B.; RÜEGG, M. A.; TABARES, L.; HANDSCHIN, C. BDNF is a mediator of glycolytic fiber-type specification in mouse skeletal muscle. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 116, n. 32, p. 16111–16120, 2019.
- DESHMUKH, A. S.; STEENBERG, D. E.; HOSTRUP, M.; BIRK, J. B.; LARSEN, J. K.; SANTOS, A.; KJØBSTED, R.; HINGST, J. R.; SCHÉELE, C. C.; MURGIA, M.; KIENS, B.; RICHTER, E. A.; MANN, M.; WOJTASZEWSKI, J. F. P. Deep muscle-proteomic analysis of freeze-dried human muscle biopsies reveals fiber type-specific adaptations to exercise training. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 304, 2021.
- DÍAZ-FLORES, L.; GUTIÉRREZ, R.; GARCÍA, M. P.; GAYOSO, S.; GUTIÉRREZ, E.; DÍAZ-FLORES, L.; CARRASCO, J. L. Telocytes in the normal and pathological peripheral nervous system. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4320, p. 1–21, 2020.
- DROGUETT, R.; CABELLO-VERRUGIO, C.; RIQUELME, C.; BRANDAN, E. Extracellular proteoglycans modify TGF- β bio-availability attenuating its signaling during skeletal muscle differentiation. **Matrix Biology**, v. 25, n. 6, p. 332–341, 2006.
- DUPONT-VERSTEEGDEN, E. E. Apoptosis in muscle atrophy: Relevance to sarcopenia. **Experimental Gerontology**, v. 40, n. 6, p. 473–481, 2005.

- DURO, C. C.; CIENA, A. P.; DE ALMEIDA, S. R. Y.; DA SILVA RIGHETTI, M. M.; DE FREITAS GRISOLIA, D.; ISSA, J. P. M.; DA SILVA, M. C. P.; WATANABE, I. S. 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.
- DUTT, V.; GUPTA, S.; DABUR, R.; INJETI, E.; MITTAL, A. Skeletal muscle atrophy: Potential therapeutic agents and their mechanisms of action. **Pharmacological Research**, v. 99, p. 86–100, 2015.
- DUTTA, S.; TSIROS, C.; SUNDAR, S. L.; ATHAR, H.; MOORE, J.; NELSON, B.; GAGE, M. J.; NISHIKAWA, K. Calcium increases titin N2A binding to F-actin and regulated thin filaments. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 2018.
- EDELSTEIN, L.; FUXE, K.; LEVIN, M.; POPESCU, B. O.; SMYTHIES, J. Telocytes in their context with other intercellular communication agents. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 55, p. 9–13, 2016.
- EGAN, B.; SHARPLES, A. P. Molecular responses to acute exercise and their relevance for adaptations in skeletal muscle to exercise training. **Physiological Reviews**, v. 103, n. 3, p. 2057–2170, 2023.
- ESMAEILI, H.; NEMATI, J.; DARYANOOSH, F.; HEMMATINAFAR, M. Effect of Eight Weeks of Resistance Training on PAX7 and MyoD in Fast and Slow-Twitch Skeletal Muscles of Old Rats. **Hormozgan Medical Journal**, v. 25, n. 2, p. 85, 2021.
- FEICHTINGER, R. G.; MUCHA, B. E.; HENGEL, H.; ORFI, Z.; MAKOWSKI, C.; DORT, J.; D'ANJOU, G.; NGUYEN, T. T. M.; BUCHERT, R.; JUENGER, H.; FREISINGER, P.; BAUMEISTER, S.; SCHOSER, B.; AHTING, U.; KEIMER, R.; NGUYEN, C.-T. E.; FABRE, P.; GAUTHIER, J.; MIGUET, M.; LOPES, F.; ALHAKEEM, A.; ALHASHEM, A.; TABARKI, B.; KANDASWAMY, K. K.; BAUER, P.; STEINBACHER, P.; PROKISCH, H.; STURM, M.; STROM, T. M.; ELLEZAM, B.; MAYR, J. A.; SCHÖLS, L.; MICHAUD, J. L.; CAMPEAU, P. M.; HAACK, T. B.; DUMONT, N. A. Biallelic variants in the transcription factor PAX7 are a new genetic cause of myopathy. **Genetics in Medicine**, v. 21, n. 11, p. 2521–2531, 2019.
- FENG, L.; LI, B.; XI, Y.; CAI, M.; TIAN, Z. Aerobic exercise and resistance exercise alleviate skeletal muscle atrophy through IGF-1/IGF-1R-PI3K/Akt pathway in mice with myocardial infarction. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 322, n. 2, p. C164–C176, 2022.
- FORESTO, C. S.; PAULA-GOMES, S.; SILVEIRA, W. A.; GRAÇA, F. A.; KETTELHUT, I. C.; GONÇALVES, D. A. P.; MATTIELLO-SVERZUT, A. C. Morphological and molecular aspects of immobilization-induced muscle atrophy in rats at different stages of postnatal development: the role of autophagy. *Journal of Applied Physiology*, v. 121, p. 646–660, 2016.
- FRONTERA, W. R.; OCHALA, J. Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. **Behavior Genetics**, v. 45, n. 2, p. 183–195, 2015.
- FUKADA, S. I. The roles of muscle stem cells in muscle injury, atrophy and hypertrophy. **Journal of Biochemistry**, v. 163, n. 5, p. 353–358, 2018.
- FUKADA, S. ichiro; AKIMOTO, T.; SOTIROPOULOS, A. Role of damage and management in muscle hypertrophy: Different behaviors of muscle stem cells in

regeneration and hypertrophy. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1867, n. 9, 2020.

GANASSI, M.; MUNTONI, F.; ZAMMIT, P. S. Defining and identifying satellite cellopathies within muscular dystrophies and myopathies. **Experimental Cell Research**, v. 411, n. 1, 2022.

GARCIA, T. A.; OZAKI, G. A. T.; CASTOLDI, R. C.; KOIKE, T. E.; TRINDADE CAMARGO, R. C.; CAMARGO FILHO, J. C. S. Fractal dimension in the evaluation of different treatments of muscular injury in rats. **Tissue and Cell**, v. 54, p. 120–126, 2018.

GHANEMI, A.; MELOUANE, A.; YOSHIOKA, M.; ST-AMAND, J. Secreted protein acidic and rich in cysteine and bioenergetics: Extracellular matrix, adipocytes remodeling and skeletal muscle metabolism. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 117, n. 105627, 2019.

GLASS, D. J. Molecular mechanisms modulating muscle mass. **Trends in Molecular Medicine**, v. 9, n. 8, p. 344–350, 2003.

GOULART, K. N. D. O.; RESENDE, N. M.; DRUMMOND, M. D. M.; OLIVEIRA, L. M.; LIMA, F. V.; SZMUCHROWSKI, L. A.; FUJIWARA, R. T.; COUTO, B. P. Time-course of changes in performance, biomechanical, physiological and perceptual responses following resistance training sessions. **European Journal of Sport Science**, v. 21, n. 7, p. 935–943, 2021.

GRÖNHOLDT-KLEIN, M.; ALTUN, M.; BECKLÉN, M.; KAHM, E. D.; FAHLSTRÖM, A.; RULLMAN, E.; ULFHAKE, B. Muscle atrophy and regeneration associated with behavioural loss and recovery of function after sciatic nerve crush. **Acta Physiologica**, v. 227, n. 3, 2019.

HARGREAVES, M.; SPRIET, L. L. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. **Nature Metabolism Research**, 2020.

HAUN, C. T.; VANN, C. G.; ROBERTS, B. M.; VIGOTSKY, A. D.; SCHOENFELD, B. J.; ROBERTS, M. D. A critical evaluation of the biological construct skeletal muscle hypertrophy: Size matters but so does the measurement. **Frontiers in Physiology**, v. 10, 2019.

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

HENROT, P.; BLERVAQUE, L.; DUPIN, I.; ZYSMAN, M.; ESTEVES, P.; GOUZI, F.; HAYOT, M.; POMIÈS, P.; BERGER, P. Cellular interplay in skeletal muscle regeneration and wasting: insights from animal models. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 14, n. 2, p. 745–757, 2023.

HINKS, A.; POWER, G. A. Age-related differences in the loss and recovery of serial sarcomere number following disuse atrophy in rats. **Skeletal Muscle**, v. 14, n. 1, 2024.

HØJFELDT, G.; SORENSON, T.; GONZALES, A.; KJAER, M.; ANDERSEN, J. L.; MACKEY, A. L. Fusion of myofibre branches is a physiological feature of healthy human skeletal muscle regeneration. **Skeletal Muscle**, v. 13, n. 1, 2023.

- HORNBERGER, T. A. J. R.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 29, n. 1, p. 16-31, 2004.
- HSU, D.; CHANG, K.-V. **Gastrocnemius Strain**. StatPearls, 2018.
- HURST, J. E.; FITTS, R. H. Hindlimb unloading-induced muscle atrophy and loss of function: Protective effect of isometric exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 95, n. 4, p. 1405–1417, 2003.
- JACOB, C. D. S.; ROCHA, L. C.; NETO, J. P.; WATANABE, I. S.; CIENA, A. P. Effects of physical training on sarcomere lengths and muscle-tendon interface of the cervical region in an experimental model of menopause. **European Journal of Histochemistry**, v. 63, n. 3, p. 131–135, 2019a.
- JAKOBSEN, J. R.; KROGSGAARD, M. R. The Myotendinous Junction—A Vulnerable Companion in Sports. A Narrative Review. **Frontiers in Physiology**, v. 12, n. 635561, p. 1–13, 2021.
- JAKOBSEN, J. R.; MACKEY, A. L.; KNUDSEN, A. B.; KOCH, M.; KJÆR, M.; KROGSGAARD, M. R. Composition and adaptation of human myotendinous junction and neighboring muscle fibers to heavy resistance training. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 27, n. 12, p. 1547–1559, 2017.
- JAKOBSEN, J. R.; MACKEY, A. L.; KOCH, M.; IMHOF, T.; HANNIBAL, J.; KJÆR, M.; KROGSGAARD, M. R. Larger interface area at the human myotendinous junction in type 1 compared with type 2 muscle fibers. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 33, n. 2, p. 136–145, 2023.
- JÄRVINEN, T. A. H.; JÄRVINEN, T. L. N.; KÄÄRIÄINEN, M.; KALIMO, H.; JÄRVINEN, M. Muscle injuries: Biology and treatment. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 33, n. 5, p. 745–764, 2005.
- JI, Y.; LI, M.; CHANG, M.; LIU, R.; QIU, J.; WANG, K.; DENG, C.; SHEN, Y.; ZHU, J.; WANG, W.; XU, L.; SUN, H. Inflammation: Roles in Skeletal Muscle Atrophy. **Antioxidants**, 2022.
- JIANG, H.; LIU, B.; LIN, J.; XUE, T.; HAN, Y.; LU, C.; ZHOU, S.; GU, Y.; XU, F.; SHEN, Y.; XU, L.; SUN, H. MuSCs and IPCs: roles in skeletal muscle homeostasis, aging and injury. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 81, n. 1, 2024.
- JOE, A. W. B.; YI, L.; NATARAJAN, A.; LE GRAND, F.; SO, L.; WANG, J.; RUDNICKI, M. A.; ROSSI, F. M. V. Muscle injury activates resident fibro/adipogenic progenitors that facilitate myogenesis. **Nature Cell Biology**, v. 12, n. 2, p. 153–163, 2010.
- JUN, L.; ROBINSON, M.; GEETHA, T.; BRODERICK, T. L.; BABU, J. R. Prevalence and Mechanisms of Skeletal Muscle Atrophy in Metabolic Conditions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 2973, p. 1–23, 2023.
- KANDARIAN, S. C.; JACKMAN, R. W. Intracellular signaling during skeletal muscle atrophy. **Muscle and Nerve**, v. 33, n. 2, p. 155–165, 2006.
- KANN, A. P.; HUNG, M.; KRAUSS, R. S. Cell–cell contact and signaling in the muscle stem cell niche. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 73, p. 78–83, 2021.
- KANNUS, P.; JOZSA, L.; JÄRVINEN, T. L. N.; KVIST, M.; VIENO, T.; JÄRVINEN, T. A. H.; NATRI, A.; JÄRVINEN, M. Free mobilization and low-to high-intensity exercise in immobilization-induced muscle atrophy. 1998a.

- KANNUS, P.; JOZSA, L.; KVIST, M.; JÄRVINEN, T.; JÄRVINEN, M. Effects of immobilization and subsequent low-and high-intensity exercise on morphology of rat calf muscles. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 8, n. 3, p. 160–171, 1998b.
- KIRBY, T. J.; DUPONT-VERSTEEGDEN, E. E. Cross Talk proposal: Myonuclei are lost with ageing and atrophy. **Journal of Physiology**, v. 600, n. 9, p. 2077–2080, 2022.
- 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.; QVORTRUP, K.; KJÆR, M.; KROGSGAARD, M. R. The human myotendinous junction: An ultrastructural and 3D analysis study. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 25, n. 1, p. e116–e123, 2015.
- KOCH, M.; SCHULZE, J.; HANSEN, U.; ASHWODT, T.; KEENE, D. R.; BRUNKEN, W. J.; BURGESSON, R. E.; BRUCKNER, P.; BRUCKNER-TUDERMAN, L. A novel marker of tissue junctions, collagen XXII. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 21, p. 22514–22521, 2004.
- KOJIMA, H.; SAKUMA, E.; MABUCHI, Y.; MIZUTANI, J.; HORIUCHI, O.; WADA, I.; HORIBA, M.; YAMASHITA, Y.; HERBERT, D. C.; SOJI, T.; OTSUKA, T. Ultrastructural changes at the myotendinous junction induced by exercise. **Journal of Orthopaedic Science**, v. 13, n. 3, p. 233–239, 2008.
- KONDO, A.; KAESTNER, K. H. Emerging diverse roles of telocytes. **Development (Cambridge)**, v. 146, n. 14, 2019.
- KOOPMANS, P. J.; ZWETSLOOT, K. A.; MURACH, K. A. Going nuclear: Molecular adaptations to exercise mediated by myonuclei. **Sports Medicine and Health Science**, v. 5, n. 1, p. 2–9, 2023.
- KOSTROMINOVA, T. Y.; ARRUDA, E. M.; LARKIN, L. M. Ultrastructure of myotendinous junctions in tendon-skeletal muscle constructs engineered in vitro. **Histology and Histopathology**, v. 24, n. 5, p. 541–550, 2009.
- KRAUSE NETO, W.; SILVA, W. A.; CIENA, A. P.; ANARUMA, C. A.; GAMA, E. F. Divergent effects of resistance training and anabolic steroid on the postsynaptic region of different skeletal muscles of aged rats. **Experimental Gerontology**, v. 98, p. 80–90, 2017a.
- KRAUSE NETO, W.; SILVA, W. A.; CIENA, A. P.; BOCALINI, D.; NUCCI, R. A. B.; ALBERTO ANARUMA, C.; GAMA, E. F. Total training load may explain similar strength gains and muscle hypertrophy seen in aged rats submitted to resistance training and anabolic steroids. **Aging Male**, v. 21, n. 1, p. 65–76, 2018.
- KRAUSE NETO, W.; SILVA, W. A.; CIENA, A. P.; SOUZA, R. R.; ANARUMA, C. A.; GAMA, E. F. Aging induces changes in the somatic nerve and postsynaptic component without any alterations in skeletal muscles morphology and capacity to carry load of wistar rats. **Frontiers in Neuroscience**, v. 11, n. 688, p. 1–17, 2017b.
- KUNZ, R. I.; CORADINI, J. G.; SILVA, L. I.; BERTOLINI, G. R. F.; BRANCALHÃO, R. M. C.; RIBEIRO, L. F. C. Effects of immobilization and remobilization on the ankle joint in Wistar rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 47, n. 10, p. 842–849, 2014.

- LE MOAL, E.; PIALOUX, V.; JUBAN, G.; GROUSSARD, C.; ZOUHAL, H.; CHAZAUD, B.; MOUNIER, R. Redox Control of Skeletal Muscle Regeneration. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 27, n. 5, p. 276–310, 2017.
- LECKER, S. H.; JAGOE, R. T.; GILBERT, A.; GOMES, M.; BARACOS, V.; BAILEY, J.; PRICE, S. R.; MITCH, W. E.; GOLDBERG, A. L. Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression. **The FASEB Journal**, v. 18, n. 1, p. 39–51, 2004.
- LEE, B.-A.; OH, D. J. Effect of regular swimming exercise on the physical composition, strength, and blood lipid of middle-aged women. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 11, n. 5, p. 266–271, 2015.
- LEE, J. H.; JUN, H. S. Role of myokines in regulating skeletal muscle mass and function. **Frontiers in Physiology**, v. 10, n. 42, p. 1–9, 2019.
- LEITE, F. de S. de S.; RASSIER, D. E. Sarcomere Length Nonuniformity and Force Regulation in Myofibrils and Sarcomeres. **Biophysical Journal**, 2020.
- LOURENÇO, Í.; KRAUSE NETO, W.; AMORIM, L. S. P.; ORTIZ, V. M. M.; GERALDO, V. L.; FERREIRA, G. H. S. F.; CAPERUTO, E. C.; GAMA, E. F. Muscle hypertrophy and ladder-based resistance training for rodents: A systematic review and meta-analysis. **Physiological Reports**, v. 8, n. 17, p. 1–25, 2020.
- MACHIDA, S.; BOOTH, F. W. Regrowth of Skeletal Muscle Atrophied from Inactivity. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 36, n. 1, p. 52–59, 2004.
- MACINTOSH, B. R. Recent developments in understanding the length dependence of contractile response of skeletal muscle. **European Journal of Applied Physiology**, v. 117, n. 6, p. 1059–1071, 2017.
- MALAVAKI, C. J.; SAKKAS, G. K.; MITROU, G. I.; KALYVA, A.; STEFANIDIS, I.; MYBURGH, K. H.; KARATZAFERI, C. Skeletal muscle atrophy: disease-induced mechanisms may mask disuse atrophy. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 36, n. 6, p. 405–421, 2015.
- MALBOUYRES, M.; GUIRAUD, A.; LEFRANÇOIS, C.; SALAMITO, M.; NAUROY, P.; BERNARD, L.; SOHM, F.; ALLARD, B.; RUGGIERO, F. Lack of the myotendinous junction marker col22a1 results in posture and locomotion disabilities in zebrafish. **Matrix Biology**, v. 109, p. 1–18, 2022.
- MAÑAS-GARCÍA, L.; GUITART, M.; DURAN, X.; BARREIRO, E. Satellite cells and markers of muscle regeneration during unloading and reloading: Effects of treatment with resveratrol and curcumin. **Nutrients**, v. 12, n. 6, p. 1–24, 2020.
- MARINI, M.; MANETTI, M.; ROSA, I.; IBBA-MANNESCHI, L.; SGAMBATI, E. Telocytes in human fetal skeletal muscle interstitium during early myogenesis. **Acta Histochemica**, v. 120, n. 5, p. 397–404, 2018a.
- MARINI, M.; ROSA, I.; IBBA-MANNESCHI, L.; MANETTI, M. Review Telocytes in skeletal, cardiac and smooth muscle interstitium: morphological and functional aspects. **Histology and Histopathology**, p. 1–37, 2018b.
- MIYAMOTO-MIKAMI, E.; KUMAGAI, H.; KIKUCHI, N.; KAMIYA, N.; MIYAMOTO, N.; FUKU, N. eQTL variants in COL22A1 are associated with muscle injury in athletes. **Physiol Genomics**, v. 52, p. 588–589, 2020.

- MO, J.; WANG, Z.; LIU, Q.; LI, Z.; NIE, Q. Construction and Analysis of Disuse Atrophy Model of the Gastrocnemius Muscle in Chicken. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 13, 2022.
- MOLINA, T.; FABRE, P.; DUMONT, N. A. Fibro-adipogenic progenitors in skeletal muscle homeostasis, regeneration and diseases. **Open Biology**, v. 11, n. 12, 2021.
- MORO, T.; BRIGHTWELL, C. R.; VOLPI, E.; RASMUSSEN, B. B.; FRY, C. S. Resistance exercise training promotes fiber type-specific myonuclear adaptations in older adults. **Journal of Applied Physiology**, v. 128, n. 4, p. 795–804, 2020.
- MUKUND, K.; SUBRAMANIAM, S. Skeletal muscle: A review of molecular structure and function, in health and disease. **WIREs Systems Biology and Medicine**, v. e1462, p. 1–46, 2019.
- NATALI, L. H.; SILVA, T. S.; CIENA, A. P.; PADOIN, M. J.; ALVES, É. P. B.; ARAGÃO, F. A.; BERTOLINI, G. R. F. Effects of Running on Treadmill in Soleus Muscles of Rats Shortened by Immobilization. **Revista Brasileira de Medicina de Esporte**, v. 14, n. 6, 2008.
- NUNES, E. A.; STOKES, T.; MCKENDRY, J.; CURRIER, B. S.; PHILLIPS, S. M. Disuse-induced skeletal muscle atrophy in disease and non-disease states in humans: mechanisms, prevention, and recovery strategies. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 322, n. 6, p. C1068–C1084, 2022.
- OHIRA, T.; KAWANO, F.; OHIRA, T.; GOTO, K.; OHIRA, Y. Responses of skeletal muscles to gravitational unloading and/or reloading. **Journal of Physiological Sciences**, v. 65, n. 4, p. 293–310, 2015.
- OJIMA, K. Myosin: Formation and maintenance of thick filaments. **Animal Science Journal**, v. 90, n. 7, p. 801–807, 2019.
- OKITA, M.; YOSHIMURA, T.; NAKANO, J.; MOTOMURA, M.; EGUCHI, K. Effects of reduced joint mobility on sarcomere length, collagen fibril arrangement in the endomysium, and hyaluronan in rat soleus muscle. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 25, p. 159–166, 2004.
- OLFERT, I. M.; BREEN, E. C.; MATHIEU-COSTELLO, O.; WAGNER, P. D. Skeletal muscle capillarity and angiogenic mRNA levels after exercise training in normoxia and chronic hypoxia. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 3, p. 1176–1184 2001.
- OLSEN, L. A.; NICOLL, J. X.; FRY, A. C. The skeletal muscle fiber: a mechanically sensitive cell. **European Journal of Applied Physiology**, v. 119, p. 333–349, 2019.
- PADILHA, C. S.; FIGUEIREDO, C.; DEMINICE, R.; KRÜGER, K.; SEELAENDER, M.; ROSA-NETO, J. C.; LIRA, F. S. Costly immunometabolic remodelling in disused muscle buildup through physical exercise. **Acta Physiologica**, v. 234, n. 3, 2022.
- PAEZ-COLASANTE, X.; FIGUEROA-ROMERO, C.; SAKOWSKI, S. A.; GOUTMAN, S. A.; FELDMAN, E. L. Amyotrophic lateral sclerosis: mechanisms and therapeutics in the epigenomic era. **Nature Reviews Neurology**, v. 11, n. 5, p. 266–279, 2015.
- PALMA, L. de; MARINELLI, M.; PAVAN, M.; BERTONI-FREDDARI, C. Involvement of the muscle-tendon junction in skeletal muscle atrophy: an ultrastructural study. **Romanian Journal of Morphology and Embryology**, v. 52, n. 1, p. 105–109, 2011.
- PERILLO, M.; FOLKER, E. S. Specialized positioning of myonuclei near cell-cell junctions. **Frontiers in Physiology**, v. 9, 2018.

- PIMENTEL NETO, J.; BATISTA, R. D.; ROCHA-BRAGA, L. C.; CHACUR, M.; CAMARGO, P. O.; CIENA, A. P. The telocytes relationship with satellite cells: Extracellular vesicles mediate the myotendinous junction remodeling. **Microscopy Research and Technique**, 2024.
- PIMENTEL NETO, J.; ROCHA, L. C.; BARBOSA, G. K.; JACOB, C. dos S.; KRAUSE NETO, W.; WATANABE, I. sei; CIENA, A. P. Myotendinous junction adaptations to ladder-based resistance training: identification of a new telocyte niche. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020a.
- PIMENTEL NETO, J.; ROCHA, L. C.; DOS, C.; JACOB, S.; BARBOSA, G. K.; CIENA, A. P. Postsynaptic cleft density changes with combined exercise protocols in an experimental model of muscular hypertrophy. **European Journal of Histochemistry**, v. 65, n. s1, p. 3274, 2021.
- PIMENTEL NETO, J.; ROCHA-BRAGA, L. C.; JACOB, C. D. S.; TOMIATE, A. N.; CIENA, A. P. Myotendinous Junction: Exercise Protocols Can Positively Influence Their Development in Rats. **Biomedicines**, v. 10, n. 2, 2022.
- POLIZELLO, J. C.; CARVALHO, L. C.; FREITAS, F. C.; PADULA, N.; MARTINEZ, E. Z.; MATTIELL-SVEZUT, A. C. Morphological effects of resumption of loading after immobilization of skeletal muscles in lengthened position in female rats. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 15, n. 1, p. 73–79, 2011.
- POPESCU, L. M.; MANOLE, E.; ȘERBOIU, C. S.; MANOLE, C. G.; SUCIU, L. C.; GHERGHICEANU, M.; POPESCU, B. O. Identification of telocytes in skeletal muscle interstitium: Implication for muscle regeneration. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 15, n. 6, p. 1379–1392, 2011.
- POWERS, S. K.; SMUDER, A. J.; JUDGE, A. R. Oxidative stress and disuse muscle atrophy: Cause or consequence? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 15, n. 3, p. 240–245, 2012.
- PUIG-VILANOVA, E.; MARTÍNEZ-LLORENS, J.; AUSIN, P.; ROCA, J.; GEA, J.; BARREIRO, E. Quadriceps muscle weakness and atrophy are associated with a differential epigenetic profile in advanced COPD. **Clinical Science**, v. 128, n. 12, p. 905–921, 2015.
- QAISAR R; LARSSON L. What determines myonuclear domain size? **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 58, n. 1, p. 1–14, 2014.
- QAISAR, R.; BHASKARAN, S.; VAN REMMEN, H. Muscle fiber type diversification during exercise and regeneration. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 98, p. 56–67, 2016.
- QUINN, R. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? **Nutrition**, v. 21, n. 6, p. 775–777, 2005.
- RALLIERE, C.; JAGOT, S.; SABIN, N.; GABILLARD, J. Dynamics of pax7 expression during development, muscle regeneration, and in vitro differentiation of satellite cells in the trout. **BioRxiv**, 2023.
- RAVI, S.; SCHILDER, R. J.; BERG, A. S.; KIMBALL, S. R. Effects of age and hindlimb immobilization and remobilization on fast troponin T precursor mRNA alternative splicing in rat gastrocnemius muscle. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 41, n. 2, p. 142–149, 2015.

- ROCHA, L. C.; BARBOSA, G. K.; NETO, J. P.; JACOB, C. D. S.; KNUDSEN, A. B.; WATANABE, I. S.; CIENA, A. P. Aquatic training after joint immobilization in rats promotes adaptations in myotendinous junctions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, 2021.
- ROCHA, L. C.; JACOB, C. dos S.; BARBOSA, G. K.; PIMENTEL NETO, J.; KRAUSE NETO, W.; GAMA, E. F.; CIENA, A. P. Remodeling of the skeletal muscle and postsynaptic component after short-term joint immobilization and aquatic training. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 154, n. 6, p. 621–628, 1 dez. 2020a.
- ROCHA, L. C.; PIMENTEL NETO, J.; DE SANT'ANA, J. S.; JACOB, C. S.; BARBOSA, G. K.; KRAUSE NETO, W.; WATANABE, I.; CIENA, A. P. Repercussions on sarcomeres of the myotendinous junction and the myofibrillar type adaptations in response to different trainings on vertical ladder. **Microscopy Research and Technique**, v. 83, n. 10, p. 1190–1197, 2020b.
- RODRIGUES, A. F.; MARTINS, D. O.; CHACUR, M.; LUZ, J. G. C. The effectiveness of photobiomodulation in the management of temporomandibular pain sensitivity in rats: behavioral and neurochemical effects. **Lasers in Medical Science**, v. 35, n. 2, p. 447–453, 2020.
- RODRIGUEZ, J.; VERNUS, B.; CHELH, I.; CASSAR-MALEK, I.; GABILLARD, J. C.; HADJ SASSI, A.; SEILIEZ, I.; PICARD, B.; BONNIEU, A. Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 71, n. 22, p. 4361–4371, 2014.
- ROSA, I.; MARINI, M.; MANETTI, M. Telocytes: An Emerging Component of Stem Cell Niche Microenvironment. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 69, n. 12, p. 795–818, 2021.
- ROSA, I.; MARINI, M.; SGAMBATI, E.; IBBA-MANNESCHI, L.; MANETTI, M. Telocytes and lymphatic endothelial cells: Two immunophenotypically distinct and spatially close cell entities. **Acta Histochemica**, v. 122, n. 3, 2020.
- SAID, R. S.; MUSTAFA, A. G.; ASFOUR, H. A.; SHAQOURA, E. I. Myogenic satellite cells: Biological milieu and possible clinical applications. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 20, n. 1, p. 1–11, 2017.
- SAYED, R. K. A.; HIBBERT, J. E.; JORGENSEN, K. W.; HORNBERGER, T. A. The Structural Adaptations That Mediate Disuse-Induced Atrophy of Skeletal Muscle. **Cells**, v. 12, n. 24, 2023.
- SCHIAFFINO, S. Muscle fiber type diversity revealed by anti-myosin heavy chain antibodies. **The FEBS Journal**, v. 285, n. 20, p. 3688–3694, 2018.
- SCHMIDT, J.; JINHA, A.; HERZOG, W. Sarcomere length measurement reliability in single myofibrils. **Journal of Biomechanics**, v. 126, 2021.
- SCHWARTZ, L. M. Skeletal muscles do not undergo apoptosis during either atrophy or programmed cell death-revisiting the myonuclear domain hypothesis. **Frontiers in Physiology**, v. 10, 2019.
- SCHWARTZ, L. M.; BROWN, C.; MCLAUGHLIN, K.; SMITH, W.; BIGELOW, C. The myonuclear domain is not maintained in skeletal muscle during either atrophy or programmed cell death. **American Journal of Physiology and Cell Physiology**, v. 311, p. 607–615, 2016.

- SEO, D. Y.; LEE, S. R.; KIM, N.; KO, K. S.; RHEE, B. D.; HAN, J. Humanized animal exercise model for clinical implication. **European Journal of Physiology**, v. 466, n. 9, p. 1673–1687, 2014.
- SIERRA, L. R.; FÁVARO, G.; CERRI, B. R.; ROCHA, L. C.; ALMEIDA, S. R. Y.; WATANABE, I. S.; CIENA, A. P. Myotendinous junction plasticity in aged ovariectomized rats submitted to aquatic training. **Microscopy Research and Technique**, v. 81, n. 8, p. 816–822, 2018.
- SILVA, M. T.; SANTOS, A. R.; KOIKE, T. E.; NASCIMENTO, T. L.; ROZANSKI, A.; BOSNAKOVSKI, D.; PEREIRA, L. V.; KUMAR, A.; KYBA, M.; MIYABARA, E. H. The fibrotic niche impairs satellite cell function and muscle regeneration in mouse models of Marfan syndrome. **Acta Physiologica**, v. 237, n. 1, 2023.
- SNOW, F.; O'CONNELL, C.; YANG, P.; KITA, M.; PIROGOVA, E.; WILLIAMS, R. J.; KAPSA, R. M. I.; QUIGLEY, A. Engineering interfacial tissues: The myotendinous junction. **APL Bioengineering**, v. 8, n. 2, 2024.
- SOENDENBROE, C.; KARLSEN, A.; SVENSSON, R. B.; KJAER, M.; ANDERSEN, J. L.; MACKEY, A. L. Marked irregular myofiber shape is a hallmark of human skeletal muscle ageing and is reversed by heavy resistance training. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, 2023.
- SON, J. S.; KIM, J. H.; KIM, H. J.; YOON, D. H.; KIM, J. S.; SONG, H. S.; SONG, W. Effect of resistance ladder training on sparc expression in skeletal muscle of hindlimb immobilized rats. **Muscle and Nerve**, v. 53, n. 6, p. 951–957, 2016.
- STANKOVIC, M.; PANTIC, I.; DE LUKA, S. R.; PUSKAS, N.; ZALETEL, I.; MILUTINOVIC-SMILJANIC, S.; PANTIC, S.; TRBOVICH, A. M. Quantification of structural changes in acute inflammation by fractal dimension, angular second moment and correlation. **Journal of Microscopy**, v. 261, n. 3, p. 277–284, 2016.
- STOCK, M. S.; MOTA, J. A.; DEFRANCO, R. N.; GRUE, K. A.; JACOBO, A. U.; CHUNG, E.; MOON, J. R.; DEFREITAS, J. M.; BECK, T. W. The time course of short-term hypertrophy in the absence of eccentric muscle damage. **European Journal of Applied Physiology**, v. 117, n. 5, p. 989–1004, 2017.
- SUMI, K.; ASHIDA, K.; NAKAZATO, K. Resistance exercise with anti-inflammatory foods attenuates skeletal muscle atrophy induced by chronic inflammation. **Journal of applied physiology**, v. 128, n. 1, p. 197–211, 2020.
- TAYLOR-WEINER, H.; GRIGSBY, C. L.; DUARTE, M. S. F.; FERREIRA, M. S.; DIAS, J. M.; STEVENS, M. M.; RUAS, J. L.; TEIXEIRA, A. I. Modeling the transport of nuclear proteins along single skeletal muscle cells. **PNAS**, v. 117, n. 6, 2020.
- TIDBALL, J. G.; DANIEL, T. L. Myotendinous junctions of tonic muscle cells: structure and loading. **Cell and Tissue Research**, v. 245, p. 315–322, 1986.
- TONG, S.; SUN, Y.; KUANG, B.; WANG, M.; CHEN, Z.; ZHANG, W.; CHEN, J. A Comprehensive Review of Muscle–Tendon Junction: Structure, Function, Injury and Repair. **Biomedicines**, v. 12, n. 2, p. 423, 2024.
- TONINO, P.; KISS, B.; STROM, J.; METHAWASIN, M.; SMITH, J. E.; KOLB, J.; LABEIT, S.; GRANZIER, H. The giant protein titin regulates the length of the striated muscle thick filament. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, 2017.

- TYAGI, S.; BEQOLLARI, D.; LEE, C. S.; WALKER, L. A.; BANNISTER, R. A. Semi-automated analysis of mouse skeletal muscle morphology and fiber-type composition. **Journal of Visualized Experiments**, v. 2017, n. 126, 2017.
- VON WALDEN, F.; REA, M.; MOBLEY, C. B.; FONDUFE-MITTENDORF, Y.; MCCARTHY, J. J.; PETERSON, C. A.; MURACH, K. A. The myonuclear DNA methylome in response to an acute hypertrophic stimulus. **Epigenetics**, v. 15, n. 11, p. 1151–1162, 2020.
- WANG, F.; ZHANG, Q. B.; ZHOU, Y.; CHEN, S.; HUANG, P. P.; LIU, Y.; XU, Y. H. The mechanisms and treatments of muscular pathological changes in immobilization-induced joint contracture: A literature review. **Chinese Journal of Traumatology**, v. 22, n. 2, p. 93–98, 2019.
- WATANABE, R.; FUJITA, N.; TAKEDA, S.; SATO, Y.; KOBAYASHI, T.; MORITA, M.; OIKE, T.; MIYAMOTO, K.; MATSUMOTO, Y.; MATSUMOTO, M.; NAKAMURA, M.; MIYAMOTO, T. Ibandronate concomitantly blocks immobilization-induced bone and muscle atrophy. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 480, n. 4, p. 662–668, 2016.
- WHITE, Z.; TERRILL, J.; WHITE, R. B.; MCMAHON, C.; SHEARD, P.; GROUNDS, M. D.; SHAVLAKADZE, T. Voluntary resistance wheel exercise from mid-life prevents sarcopenia and increases markers of mitochondrial function and autophagy in muscles of old male and female C57BL/6J mice. **Skeletal Muscle**, v. 6, n. 1, 2016.
- WILK, M.; ZAJAC, A.; TUFANO, J. J. The Influence of Movement Tempo During Resistance Training on Muscular Strength and Hypertrophy Responses: A Review. **Sports Medicine**, v. 51, n. 8, p. 1629–1650, 2021.
- WONG, A.; GARCIA, S. M.; TAMAKI, S.; STRIEDINGER, K.; BARRUET, E.; HANSEN, S. L.; YOUNG, D. M.; POMERANTZ, J. H. Satellite cell activation and retention of muscle regenerative potential after long-term denervation. **Stem Cells**, v. 39, n. 3, p. 331–344, 2021.
- YAO, L.; TICHY, E. D.; ZHONG, L.; MOHANTY, S.; WANG, L.; AI, E.; YANG, S.; MOURKIOTI, F.; QIN, L. Gli1 Defines a Subset of Fibro-adipogenic Progenitors that Promote Skeletal Muscle Regeneration With Less Fat Accumulation. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 36, n. 6, p. 1159–1173, 2021.
- YIN, L.; LI, N.; JIA, W.; WANG, N.; LIANG, M.; YANG, X.; DU, G. Skeletal muscle atrophy: From mechanisms to treatments. **Pharmacological Research**, v. 172, n. 105807, 2021.
- YOSHIHARA, T.; MACHIDA, S.; KUROSAKA, Y.; KAKIGI, R.; SUGIURA, T.; NAITO, H. Immobilization induces nuclear accumulation of HDAC4 in rat skeletal muscle. **Journal of Physiological Sciences**, v. 66, n. 4, p. 337–343, 2016.
- ZAZULA, M. F.; DE ANDRADE, B. Z.; TONI BOARO, C. De; KIRSCH, C. B.; REGINATO, A.; PERETTI, A. L.; COSTA, R. M.; BERTOLINI, G. R. F.; NALIWAICO, K.; GUIMARÃES, A. T. B.; CHASKO RIBEIRO, L. F. Development of a histopathological index for skeletal muscle analysis in *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae). **Acta Histochemica**, v. 124, n. 4, 2022.
- ZAZULA, M. F.; DE ANDRADE, B. Z.; TONI BOARO, C. De; KIRSCH, C. B.; REGINATO, A.; PERETTI, A. L.; COSTA, R. M.; BERTOLINI, G. R. F.; NALIWAICO, K.; GUIMARÃES, A. T. B.; CHASKO RIBEIRO, L. de F. Development of a

histopathological index for skeletal muscle analysis in *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae). **Acta Histochemica**, v. 124, n. 4, 2022.

ZHANG, H.; QI, G.; WANG, K.; YANG, J.; SHEN, Y.; YANG, X.; CHEN, X.; YAO, X.; GU, X.; QI, L.; ZHOU, C.; SUN, H. Oxidative stress: Roles in skeletal muscle atrophy. **Biochemical Pharmacology**, v. 214, n. 115664, 2023.

ZHAO, C.; WANG, S.; WANG, G.; SU, M.; SONG, L.; CHEN, J.; FAN, S.; LIN, X. Preparation of decellularized biphasic hierarchical myotendinous junction extracellular matrix for muscle regeneration. **Acta Biomaterialia**, v. 68, p. 15–28, 2018.

ZIERATH, J. R.; HAWLEY, J. A. Skeletal muscle fiber type: Influence on contractile and metabolic properties. **PLoS Biology**, v. 2, n. 10, 2004.

Apêndice 1



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 01/2022

Instituição: UNESP – IB – CRC	Departamento: Educação Física
Data de Registro CEUA: 24.01.2022	
CERTIFICADO	
Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "Plasticidade da junção miotendínea em modelo experimental de atrofia muscular submetido ao treinamento resistido: análises morfológicas, moleculares e funcionais", protocolo nº 0160, sob a responsabilidade de Lara Caetano Rocha Braga (Pesquisadora Responsável) e Adriano Polican Ciena (Orientador), 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 48ª reunião ordinária , realizada em 08.06.2022 :	
(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: 01/07/2022 a 10/11/2024	
Finalidade: () Ensino (x) Pesquisa Científica	
Espécie/linhagem/raça: ratos isogênicos <i>Wistar</i>	
Número de animais: 96 - Peso: 300 g Idade: 60 dias - Sexo: M	
Origem dos animais (Informações sobre o fornecedor): Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu	
Objetivo Acadêmico:	☐ TCC ☐ Mestrado ☒ Doutorado ☐ Outros – (Iniciação Científica) ☐ Pós- Graduação

Rio Claro, 08/06/2022

Claudio Jose Von Zuben
Prof. Dr. Claudio Jose Von Zuben
Coordenador