
EDUCAÇÃO FÍSICA

CAROLINA DOS SANTOS JACOB

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO NO
COMPRIMENTO DOS SARCÔMEROS E INTERFACE
MÚSCULO-TENDÃO NA REGIÃO CERVICAL EM
MODELO EXPERIMENTAL DE MENOPAUSA**



Rio Claro
2018

CAROLINA DOS SANTOS JACOB

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO NO COMPRIMENTO DOS
SARCÔMEROS E INTERFACE MÚSCULO-TENDÃO NA REGIÃO
CERVICAL EM MODELO EXPERIMENTAL DE MENOPAUSA

Orientador: Prof. Dr. Adriano Polican Ciena

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

Rio Claro
2018

J15e

Jacob, Carolina dos Santos

Efeitos do treinamento físico no comprimento dos sarcômeros e interface músculo-tendão na região cervical em modelo experimental de menopausa / Carolina dos Santos Jacob. -- Rio Claro, 2018

35 p. : fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Educação Física) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientador: Adriano Polican Ciena

1. exercício físico. 2. junção miotendínea. 3.

ovariectomia. 4. sarcômeros. 5. envelhecimento. I. Título.
Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

*À minha mãe,
Que não poupa esforços para a felicidade de seus filhos.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por me dar saúde, coragem e sabedoria durante todo tempo. Por ter me guardado e protegido por todos os lugares que andei, por me tranquilizar e me fazer enxergar o motivo de cada situação.

À minha família: mãe Roseli, avó Helena e irmão Samuel, pelos exemplos de luta e determinação diária, por proporcionar tranquilidade e conforto e compreender minha ausência em vários finais de semana.

Ao meu orientador Prof. Dr. Adriano Polican Ciena por dispor de tantas oportunidades e horas de conversa durante toda graduação. Agradeço pela sua paciência, orientação, dedicação, motivação, inspiração e por sempre acreditar em mim. Serei eternamente grata por todos os ensinamentos.

Ao Renan, por ser meu companheiro desde o primeiro dia em Rio Claro/SP. Agradeço toda sua paciência, carinho, amor, incentivo, dedicação e por estar sempre ao meu lado.

Agradeço à todos os membros e técnicos do Laboratório de Morfologia e Atividade Física (LMAF) pela aprendizagem e experiências únicas. Pela convivência durante todos os congressos, viagens, apresentações de trabalho, mini-cursos, monitorias e churrascos.

Agradeço aos meus colegas de Turma (EF015) e de República (Misseduz) que de alguma forma contribuíram para a minha formação acadêmica e pessoal.

Agradeço também à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – nº 2017/21764-0) pelo apoio financeiro e institucional.

RESUMO

Diante das diversas alterações no organismo humano relacionadas ao envelhecimento, a menopausa é um processo fisiológico caracterizado pela atenuação dos níveis dos hormônios ovarianos, responsáveis por inúmeras adaptações. Outra alteração decorrente ao envelhecimento é a atrofia muscular, onde o sistema muscular sofre alterações morfológicas diante da sarcopenia. Desse modo, toda a área de interface da junção miotendínea (JMT) poderá sofrer diversas implicações em suas características morfológicas e ultraestruturais, provocando alterações drásticas na transmissão de força entre o músculo e tendão. Sendo assim, o objetivo do estudo consistiu em descrever os aspectos estruturais e ultraestruturais da JMT do esternomastóideo de ratas *Wistar* idosas submetidas ao modelo experimental de menopausa e ao treinamento de natação. E a hipótese de que os sarcômeros apresentam comprimentos diferentes na região da JMT. Foram utilizadas 40 ratas com 1 ano e 2 meses de idade divididas aleatoriamente em quatro grupos (n=10): Sedentário (S); Treinado (T); Menopausa (M) e Menopausa Treinado (MT). Os grupos M e MT foram submetidos ao processo cirúrgico de ovariectomia (modelo experimental de menopausa) e os grupos T e MT foram submetidos ao protocolo de natação realizado diariamente. As amostras da JMT foram dissecadas e analisadas através das técnicas de Microscopia de Luz e Microscopia Eletrônica de Transmissão. Os comprimentos das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, e dos sarcômeros distais e proximais foram mensurados através do software ImageJ®, as médias e desvio padrão foram analisadas através do software Graph Pad Prism 6.0® com análise de variância One-Way e pós teste de Bonferroni. O grupo T apresentou aumento no comprimento das invaginações das evaginações sarcoplasmáticas e redução no comprimento dos sarcômeros distais e nos proximais, comparado ao grupo S. O grupo M, quando comparado com o S, revelou redução nos comprimentos e espessuras das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, assim como nos comprimentos dos sarcômeros da JMT. Já o grupo MT revelou drástico aumento no comprimento e espessura das invaginações e evaginações, e redução no comprimentos dos sarcômeros da região da JMT. Concluímos que a JMT do esternomastóideo apresenta amplas adaptações morfológicas com o envelhecimento associado ao sedentarismo. O protocolo de treinamento em natação promoveu reorganização tecidual e aumento da interação músculo-tendínea. Sob o modelo experimental de menopausa, houve redução da interface músculo tendínea e aumento de depósito de colágeno. Comprovamos que os sarcômeros apresentam comprimentos diferentes e revelaram redução ambos os grupos submetidos ao treinamento de natação.

Palavras-chave: Exercício físico. Junção miotendínea. Ovariectomia. Sarcômeros. Envelhecimento.

ABSTRACT

Menopause is a physiological process characterized by a hormonal disorders responsible for many adaptations. Another alteration due to aging is muscular atrophy where muscular system undergoes multiple morphological alterations result of sarcopenia. Thus the entire interface area of the myotendinous junction (MTJ) submits to several implications in its morphological and ultrastructural characteristics resulting in drastic changes in the force transmission between the muscle and tendon. The study consisted of describing the structural, ultrastructural and morphometric aspects of the sarcomeres and MTJ of sternomastoid of elderly rats. Female rats with 1 year and 2 months of age were divided into four groups: Sedentary (S); Training (T); Menopause (M) and Training Menopause (TM). The objective of the study was to describe the structural and ultrastructural aspects of the MTJ of the sternomastoid of elderly *Wistar* rats submitted to the experimental model of menopause and swimming training. And the hypothesis that the sarcomeres have different lengths in the MTJ region. Forty rats at 1 year and 2 months of age were randomly divided into four groups (n=10): Sedentary (S); Training (T); Menopause (M) and Training Menopause (TM). The M and TM groups were submitted to the surgical procedure of ovariectomy (experimental model of menopause) and the T and TM groups were submitted to daily swimming protocol. The MTJ samples were dissected and analyzed using Light Microscopy and Transmission Electron Microscopy techniques. The lengths of the invaginations and sarcoplasmic evagination, and the distal and proximal sarcomeres were measured using the ImageJ® software, the means and standard deviation were analyzed using Graph Pad Prism 6.0® software with One-Way Variance Analysis and Bonferroni Post-Test. The T group presented an increase in the invagination length of the sarcoplasmic evagination and reduction in the length of the distal and proximal sarcomeres compared to S group. The M group, when compared to S, revealed a reduction in the lengths and thicknesses of invaginations and sarcoplasmic evagination, as well as in the sarcomere lengths of the MTJ. The TM group revealed a drastic increase in the length and thickness of the invaginations and evaginations, and reduction in the sarcomere lengths of the MTJ region. We conclude that the sternomastoid MTJ presents extensive morphological adaptations with aging associated with sedentarism. The swimming training protocol promoted tissue reorganization and increased muscle-tendon interaction. Under the experimental model of menopause, there was reduction of the tendon muscle interface and increased collagen deposition. We found that the sarcomeres presented different lengths and showed a reduction in both groups submitted to swimming training.

Keywords: Physical exercise. Myotendinous junction. Ovariectomy. Sarcomeres. Aging.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Microscopia de Luz da JMT do esternomastóideo20

Figura 2: Microscopia Eletrônica de Transmissão da JMT do esternomastóideo.....22

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Médias e desvio padrão do comprimento das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas.....23

Gráfico 2: Médias e desvio padrão da espessura das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas.....24

Gráfico 3: Médias e desvio padrão do comprimento dos sarcômeros proximais e distais24

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
1.1	Músculo Estriado Esquelético	8
1.2	Junção Miotendínea.....	10
1.3	Envelhecimento.....	11
1.4	Exercício Físico	13
2	OBJETIVO GERAL	15
2.1	Objetivos Específicos	15
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1	Animais	16
3.2	Modelo Experimental de Menopausa	16
3.3	Protocolo de Treinamento – Natação	17
3.4	Microscopia de Luz.....	17
3.5	Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	18
3.6	Análise Morfométrica.....	19
4	RESULTADOS	20
4.1	Microscopia de Luz.....	20
4.2	Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	21
4.3	Análise Morfométrica.....	22
4.3.1	Invaginação e evaginação sarcoplasmática	22
4.3.2	Sarcômeros proximais e distais.....	24
5	DISCUSSÃO	25
6	CONCLUSÃO.....	28
	REFERÊNCIAS.....	29
	ANEXO A - Comitê de Ética no Uso de Animal.....	33
	ANEXO B - Menção Honrosa.....	34

1 INTRODUÇÃO

1.1 Músculo Estriado Esquelético

O tecido muscular esquelético é constituído por células multinucleadas alongadas e cilíndricas, denominadas miofibrilas que, por sua vez, são compostas por feixes de miofilamentos dispostos sistematicamente e longitudinalmente, formados pelas pontes cruzadas de proteínas contráteis: actina, miosina e, mais recentemente descoberta, titina. Estas proteínas estão distribuídas e organizadas de maneira a compor os sarcômeros, unidades estruturais da contração muscular (RIGOARD et al., 2009; GONZALEZ-FREIRE et al., 2016; HENDERSON, 2017; SQUIRE; PAUL; MORRIS, 2017).

O tecido muscular é responsável pelo movimento do corpo e suas articulações, manutenção e postura corporal. É caracterizado por um conjunto de células especializadas que possuem como principal função a contração e o relaxamento, através da energia das moléculas de ATP, além de suas propriedades como irritabilidade, condutividade, elasticidade e extensibilidade. O tecido muscular apresenta três classificações, de acordo com as suas características morfofuncionais: músculo estriado esquelético, músculo estriado cardíaco e músculo liso. O músculo estriado esquelético fixa-se aos ossos através tendão e, é responsável pelo movimento dos esqueletos axial e apendicular. É reconhecido de acordo com seus três tipos de fibras, caracterizadas pelas suas adaptações ao metabolismo e velocidade de contração: Tipo I - resistentes à fadiga e de contração lenta, Tipo IIa - de contração rápida e Tipo IIb e sem resistência à fadiga e de contração rápida (CIENA et al., 2011).

O músculo esternocleidomastóideo recebe esta denominação em razão dos pontos fixos e pontos móveis de seus ventres: porção longa (esternal) ponto fixo no manúbrio do osso esterno e porção curta (clavicular) no terço médio da clavícula, e o ponto móvel, por sua vez, localiza-se na metade lateral do osso occipital e no processo mastóideo do osso temporal. É um músculo longo localizado lateralmente na região cervical, e que pode ser considerado explorador de ambiente, por realizar a rotação das articulações craniovertebrais lateralmente, inclinação lateral, rotação contralateral

e a flexão anterior cervical, além de atuar como sinergista dos músculos trapézio, esplênio da cabeça e esplênio do pescoço na extensão cervical (ULLAH et al., 2007). Apresenta amplas funções no controle da movimentação das articulações craniovertebrais, atua durante esforços respiratórios como auxílio na musculatura acessória (SOBOTKA; MU, 2010). Possui inervação pelo nervo Acessório (XI par craniano), que não tem uma raiz craniana nem conexão com o nervo vago e é responsável pela propriocepção cervical, controle motor aos músculos esternocleidomastóideo e trapézio, palato, faringe e laringe (RYAN et al., 2007).

É um músculo, em conjunto com os demais da musculatura cervical, que sofre amplas adaptações morfológicas e funcionais ao longo dos séculos e evoluções desde os ancestrais até homem moderno (DIOGO, 2009). Além de alterações posturais cervicais diante dos distúrbios osteoarticulares, com alta incidência na região cervical da população idosa.

Em mamíferos roedores, o músculo esternomastóideo e cleidomastóideo, homólogo ao esternocleidomastóideo em humanos, são localizados paralelamente, inseridos anteriormente por um tendão ao processo mastóideo do osso temporal e delimitados por uma membrana delgada de tecido conjuntivo. Os músculos esternomastóideo e cleidomastóideo se fixam ao osso esterno, porém apenas algumas fibras do esternomastóideo se encontram na parte ventral medial do esterno (DIOGO, 2009).

Os sarcômeros são pequenas unidades básicas contráteis do músculo estriado esquelético que são responsáveis pela produção de contração muscular, além de possuírem funções relacionadas a locomoção e produção de calor corporal. Medem aproximadamente entre 2 e 3 μm em um músculo relaxado nos mamíferos e pode-se estender para mais de 4 μm durante a contração excêntrica. Estes comprimentos são controlados através do número necessário de sarcômeros em cada músculo para executar tal tarefa, que são renovados durante o crescimento muscular (HENDERSON et al., 2017; SQUIRE; PAUL; MORRIS, 2017).

Com um alinhamento dos miofilamentos, sua aparência estriada é observável através de diversas técnicas como a Microscopia Eletrônica de Transmissão. Um sarcômero se limita lateralmente por linhas mais escuras, denominadas linhas Z compostas por proteínas, onde os filamentos de actina são ancorados. Cada lado

desta linha dispõe de uma região mais clara designada banda I, compostas apenas de filamentos finos de actina. Entre as bandas I encontra-se a banda A, uma região mais escura, onde, em suas extremidades forma-se uma sobreposição de filamentos espessos e filamentos delgados. Na banda A existem linhas e bandas adicionais. Uma delas é encontrada na região mediana mais escura da banda A, a linha M, que possui uma estreita faixa mais clara denominada zona H e contém apenas filamentos de miosina (ERTBJERG; PUOLANNE, 2017). Há contração muscular quando um filamento de actina desliza sob a miosina e se prende no sítio de ligação do mesmo deslocando os discos Z para a banda M. A banda I, a zona H, onde os filamentos finos penetram, e os sarcômeros se encurtam, enquanto a banda A mantém o mesmo comprimento (HUXLEY, 1974; ERTBJERG; PUOLANNE, 2017).

1.2 Junção Miotendínea

A junção miotendínea (JMT) é uma área de interface entre o músculo e o tendão, altamente especializada e delimitada pelo sarcolema. Segundo Tidball (1991), é uma região que recebe a maior transmissão de força contrátil no músculo esquelético. Esta transmissão é realizada pelas proteínas contráteis das extremidades das miofibrilas, para os tendões, por isso, requer uma estabilidade estrutural extrema (KANNUS et al., 1992; YAMASHITA et al, 2007; CIENA et al., 2012).

A JMT é formada diretamente pela interação das células originárias das fibras musculares e dos elementos da matriz extracelular, com provável sistematização pela distribuição divergente de ácido retinóico (RODRIGUESZ-GUSMAN et al., 2007). Segundo Tozer e Duprez (2005), o desenvolvimento da JMT acontece pela interação dinâmica entre o tecido muscular e tendíneo, logo, uma ampla relação entre esta região sugere uma distribuição vantajosa de força em toda a interface músculo-tendínea (CURZI, 2016). A contractilidade do músculo esquelético, durante os estágios embrionários finais são fundamentais para o desenvolvimento absoluto da JMT (KOSTROMINOVA et al., 2009).

Morfologicamente, a JMT apresenta na extremidade da fibra muscular, inúmeras projeções tendíneas alongadas, compostas por dobras de sarcolema, denominadas invaginações sarcoplasmáticas (CIENA et al., 2010), que penetram no

tecido muscular e promovem a expansão da área de superfície para fixação das fibras musculares para o tecido conjuntivo do tendão (ABOU SALEM et al., 1993; DECONINCK et al., 1997; HUIJING, 1999).

Além de ser uma interface altamente especializada entre o músculo esquelético e o tendão, a JMT possui funções como armazenamento de energia elástica, transmissão da força gerada nas contrações musculares pelas proteínas contráteis para as proteínas do tecido conjuntivo do tendão, estabilidade e posicionamento das articulações, e é uma região altamente predisposta à lesões decorrentes do sedentarismo ao exercício físico, nas variadas faixas etárias, durante esforços excessivos e contrações excêntricas (TIDBALL; SALEM; ZERNICKE, 1993; CIENA, 2013; TROTTER, 2002; KJAER, 2004).

A JMT possui morfologias particulares para cada músculo, diante dos diferentes níveis de força contrátil que estes podem apresentar de acordo com a execução de diferentes protocolos de treinamento, com a relação do ângulo da miofibrilas e com as direções da fibra de colágeno do tendão (FOLLAND; WILLIAMS, 2007; HYODO et al., 2001; CURZI, 2016).

Por apresentar extrema capacidade de plasticidade tecidual e atuar na interface entre as células do tecido muscular estriado esquelético e tecido tendíneo, esta estrutura apresenta alto nível de adaptações morfológicas, como o aumento no comprimento e espessura das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, decorrentes do exercício físico, envelhecimento ou evoluções de acordo com as funções, ângulo, sintopia ou topografia dos músculos estriados esqueléticos (ROFFINO et al., 2006; CIENA et al., 2011; SIERRA et al., 2018).

1.3 Envelhecimento

O envelhecimento é um processo progressivo fisiológico, lento, natural e aparentemente inevitável, que compreende diversas alterações estruturais, neurais, morfológicas e funcionais sob o organismo humano (CAROMANO; JUNG, 1999; FIEDLER; PERES, 2008), que se acentuam a partir dos 50 anos de idade (GOMES, DIOGO, 2004). Uma dessas alterações está diretamente relacionada com o tecido muscular esquelético, a sarcopenia, na qual é caracterizada pelo processo de

diminuição da massa e força muscular esquelética com o envelhecimento (ROSENBERG, 1989). Existem diversos fatores que contribuem para o desenvolvimento da sarcopenia, uma delas é a inatividade física (SILVA et al., 2006).

Se não houver intervenção, esse processo possivelmente acarretará em reduções da qualidade muscular, maior fragilidade, dificuldade/incapacidade de executar atividades da vida diária (AVD), dependência, e em casos extremos, à óbito dos indivíduos da terceira idade, particularmente do gênero feminino (ALEXANDRE, 2014).

A expectativa de vida mundial cresce gradativamente, multiplicando, assim, o número de idosos. Sendo assim, torna-se cada vez mais necessário estudos sobre o assunto a fim de otimizar tratamentos, intervenções, técnicas e estratégias ideais para minimizar este processo nos idosos (BEARD et al., 2016).

Em mulheres, é encontrado mais um fator que coopera nas alterações devido ao envelhecimento. Caracterizado como um processo natural e fisiológico, a menopausa é considerada como o período de 12 meses do último ciclo menstrual, que marca o início da fase não reprodutiva da mulher e a atenuação da produção hormonal de estrógeno e progesterona, importantes para a qualidade de vida da mulher (PIMENTA; LEAL; BRANCO, 2007).

Com o propósito de investigar e compreender amplamente as alterações e mecanismos morfofuncionais envolvidos, esta fase é simulada por um modelo experimental de menopausa através da técnica de ovariectomia, que resume-se em na remoção bilateral dos ovários, com o objetivo de replicar os sinais, os sintomas e as alterações fisiológicas sob organismo da mulher (THOMPSON et al., 1995). Essas mudanças se estendem desde a atenuação dos níveis de produção dos hormônios ovarianos estrógeno e progesterona, alterações na composição corporal, desenvolvimento de doenças crônicas, redução do tamanho do útero, até a diminuição da massa e força muscular esquelética, evento denominado como sarcopenia, possibilitando a análise e estudos dos resultados provenientes desta remoção e possíveis alterações em diversos tecidos (CHANG et al., 2010; ROSENBERG, 1989; TIIDUS et al, 2001; IGNACIO, 2009).

1.4 Exercício Físico

A prática regular de exercício físico, preferencialmente o exercício aeróbio, segundo “American College of Sports Medicine” - ACSM (2009), é denotada como uma intervenção não-medicamentosa com diversos benefícios sobre os aspectos fisiológicos, funcionais e estruturais do organismo humano, como melhora da aptidão física, força, flexibilidade e composição corporal, aumento da capacidade aeróbia e velocidade de marcha, diminuição das dores articulares, entre outras e, por isso, é recomendada no tratamento e na prevenção de futuras patologias e lesões referentes ao envelhecimento, na melhora do desempenho em realizar de atividades da vida diária – AVD, e é a estratégia que melhor atua na atenuação do quadro de sarcopenia (MATSUDO et al., 2000; MATSUDO, 2011; KO et al., 2014; LANDI et al., 2014; LIU et al., 2017).

A prática regular e bem estruturada de atividade física é eficientemente melhor na redução dos riscos de imobilidade em idosos do que intervenções no estilo de vida e na educação em saúde dos mesmos (PAHOR et al., 2014).

A atividade física retarda a atenuação da capacidade oxidativa muscular, o qual atrasa também, a sarcopenia, além de estimular a síntese de proteínas e o conteúdo mitocondrial para o aumento da capacidade do metabolismo muscular (MENSHIKOVA et al., 2006; KENT- BRAUN; ALEXANDER, 2000). Idosos inativos fisicamente possuem maior probabilidade em potencializar as dificuldades na realização das AVDs, que requerem contrações musculoesqueléticas e gasto energético, quando comparados com idosos ativos fisicamente (TAK et al., 2013).

Além dos benefícios funcionais e estruturais, sob o organismo humano, a prática regular de exercícios físicos nas mulheres, principalmente no período de menopausa, é capaz de cooperar nos seus aspectos psíquicos, sentimentais, sociais e atitudinais, refletindo em sua qualidade de vida e bem estar (KAKKAR et al., 2007).

O treinamento aquático é frequentemente utilizado como modalidade terapêutica na reabilitação de disfunções musculoesqueléticas, além de ampliar os benefícios para os sistemas nervoso e cardiorrespiratório, expondo resultados benéficos no tratamento e na prevenção de diversas patologias. Estes resultados, são amplos e dependentes de fatores extrínsecos como duração, tipo e intensidade do exercício de acordo com a singularidade de cada indivíduo. A água aquecida

proporciona fatores adicionais que podem influenciar as respostas ao exercício, como impulsionar o processo de reparo tecidual, o aumento da circulação periférica e enriquecer no suprimento de oxigênio e nutrientes ao músculo ativo (DEGANI, 1998; MEDEIROS et al., 2004).

2 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente estudo consistiu em descrever os aspectos estruturais e ultraestruturais da junção miotendínea do esternomastóideo de ratas *Wistar* idosas submetidas ao modelo experimental de menopausa e ao treinamento de natação. É a hipótese de que os sarcômeros apresentam comprimentos diferentes na região da JMT.

2.1 Objetivos Específicos

- Descrever as características estruturais da junção miotendínea do músculo esternomastóideo com a técnica de microscopia de luz;
- Descrever as características ultraestruturais da junção miotendínea do músculo esternomastóideo através da Microscopia Eletrônica de Transmissão;
- Detalhar a disposição e organização das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas da junção miotendínea;
- Caracterizar os aspectos ultraestruturais dos feixes de miofibrilas (Fibrilas de Colágeno);
- Mensurar os comprimentos e espessuras das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas;
- Mensurar os comprimentos dos sarcômeros na região da junção miotendínea.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizadas 40 ratas *Wistar* com 1 ano e 2 meses de idade, divididas aleatoriamente em 4 grupos (n=10):

Sedentário (S): animais não submetidos ao treinamento de natação e à ovariectomia; **Treinado (T):** animais submetidos ao treinamento de natação; **Menopausa (M):** animais submetidos ao modelo experimental de menopausa; **Menopausa Treinado (MT):** animais submetidos ao modelo experimental de menopausa e ao treinamento de natação.

Todos os animais foram oriundos do Biotério Central da UNESP – Campus Botucatu. Mantidos no Biotério Setorial no Laboratório de Morfologia e Atividade Física do Departamento de Educação Física do Instituto de Biociências da UNESP – Campus Rio Claro, em gaiolas com cinco ratas em cada. Com a temperatura monitorada (23 ± 2 °C) e em períodos de 12 horas claro/escuro, foram alimentados com ração e água “ad libitum”. Os procedimentos adotados no estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA (nº1078/2018).

3.2 Modelo Experimental de Menopausa

Os animais dos grupos M e MT foram anestesiados com Ketamina (50mg/kg) e Xilazina (10mg), via intraperitoneal, posteriormente submetidos a técnica de tricotomia e assepsia da região ventral. Com auxílio de um bisturi, a parede abdominal foi seccionada através de uma incisura longitudinal para exposição e dissecação bilateral dos ovários e, posteriormente, foi feita a sutura desde a parede cutânea até a muscular com linha de nylon nº 6.0. Após este procedimento, foi feita a assepsia no local da incisão cirúrgica 3 vezes ao dia durante 7 dias. Os animais foram medicados por 4 dias no período pós operatório com Paracetamol® (300mg/kg) via bebedouro (FERRETTI et al, 2014).

3.3 Protocolo de Treinamento – Natação

Os animais dos grupos T e MT foram submetidos a adaptação ao meio líquido, em 2 sessões diárias de 15 minutos, em seguida 2 sessões diárias de 30 minutos e, por fim, 1 sessão de 60 minutos. Posteriormente, iniciou-se o protocolo de treinamento (natação) que consistiu na realização de 5 sessões semanais com duração de 60 minutos cada, por um período de 8 semanas, totalizando 40 sessões. Os animais foram dispostos em tanques retangulares, separados individualmente por tubos de PVC (cloreto de polivinila), com 24 cm de diâmetro, 50 cm de comprimento, evitando assim aglomeração e dispersão, imersos em água aquecida ($31\pm 2^{\circ}\text{C}$) com o nível no terço superior da região cervical dos animais para efetivação da contração muscular isométrica (PESTANA et al., 2012).

A massa corporal dos animais foram mensuradas semanalmente em uma balança semi-analítica (SF-400 TOMATE) e, para obtenção das sobrecargas de treinamento, foram utilizados pesos de chumbo, fixados ao tórax, equivalentes a 5% da massa corporal, os quais foram aferidos e corrigidos semanalmente (CIABATTARI; DAL PAI; DAL PAI, 2005).

3.4 Microscopia de Luz

Foram utilizados 5 animais de cada grupo experimental, eutanasiados em overdose de anestésico Ketamina 100 mg/kg, via intraperitoneal. Em seguida foram dissecadas amostras da JMT do esternomastóideo e criofixadas em nitrogênio líquido, através da alocação das amostras em superfície de cortiça estabilizadas com cola biológica e untadas em talco neutro (Tragacanth, SIGMA) para prevenir artefatos, após esta etapa às amostras foram armazenadas em Freezer -80°C . Foram realizados cortes longitudinais de 10 μm de espessura (Criostato HM 505 E, MICROM), coradas com a técnica de Hematoxilina-Eosina para destaque dos componentes. As imagens foram obtidas através do microscópio de luz (Carl Zeiss Microimaging, Axiokop 40, Göttingen, Germany).

3.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Foram utilizados 5 animais de cada grupo experimental eutanasiados em overdose de anestésico intraperitoneal Ketamina 200 mg/kg e Xilasina 50 mg/kg, em seguida as amostras da JMT (3mm³) do esternomastóideo foram dissecadas e imersas em solução de cacodilato de sódio 0.1M, pH 7.4, durante 48 horas à 4°C.

Posteriormente, as amostras foram pós-fixadas com solução de tetróxido de ósmio 1% durante 2 horas, à 4°C (CIENA et al., 2010), lavadas com solução salina 0,9% por três vezes e fixadas com solução de acetato de uranila 0,5% durante 12 horas, à temperatura ambiente e na ausência de luminosidade. Em seguida, as amostras foram submetidas à desidratação em série crescente de álcoois de 70%, 80%, 90% e 95% (1 vez), álcool etílico absoluto (4 vezes) com banhos de 15 minutos cada, e em óxido de propileno (2 vezes) por 15 minutos.

Após a desidratação as amostras permaneceram 1 hora em uma mistura de resina (Low Viscosity Embedding Media Spurr's Kit Electron Microscopy Sciences, USA) e óxido de propileno na proporção de 1:1, sob agitação, em temperatura ambiente. Após esse período, a resina foi novamente trocada para proporção de 3:1 durante 1 hora e 30 minutos, posteriormente em resina pura durante 12 horas em temperatura ambiente com ausência de luminosidade. Após essa etapa, as amostras foram aquecidas por 1 hora em estufa a 37°C, com frasco aberto para total evaporação de líquidos das amostras.

Para a inclusão das amostras em moldes retangulares de silicone, foram preenchidos por resina pura e mantidos por 3 dias em estufa a 60°C para concretizar-se a polimerização do bloco. Os blocos foram trimados para a realização de cortes semifinos de 10µm em ultramicrotomo (Leica Ultracut UCT, Germany), e corados com o método de azul de toluidina 1%. As imagens foram obtidas por meio do fotomicroscópio Carl Zeiss Microimaging (Axiokop 40, Göttingen, Alemanha).

Após a seleção da área de interesse, foram realizados cortes ultrafinos de 60 nanômetros em ultramicrotomo, que foram coletados em telas de cobre de 200 "mesh" (Sigma-Aldrich, USA) e, contrastados com a solução de acetato de uralina 4%, por 3 minutos, lavados em água destilada, contrastados em solução aquosa de citrato de

chumbo 0.4% por 3 minutos e lavados em seguida com água destilada (CIENA et al., 2012). As telas foram examinadas e descritas através do microscópio eletrônico de transmissão Philips CM 100 do laboratório de Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ) da Universidade de São Paulo – Campus Piracicaba/SP.

3.6 Análise Morfométrica

As imagens histológicas da JMT do músculo esternomastóideo, obtidas pela técnica de Microscopia de Luz foram analisadas qualitativamente e revelaram suas características morfológicas através do software Axiovision Rel. 4.6[®] (Carl Zeiss). As imagens da Microscopia Eletrônica de Transmissão foram analisadas qualitativamente, descrevendo as características ultraestruturais e morfométricas das células musculares e tendíneas.

Foram mensurados os comprimentos e as espessuras das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, além dos comprimentos dos sarcômeros proximal e distal, na região da JMT, através do software ImageJ[®]. Após definir o tamanho da barra em pixels com a ferramenta "Straight Line" foi determinada a escala da imagem na opção "Analyze" posteriormente "Set Escala" e então substituído o valor na caixa "Know Distance" para o valor na barra, unidade de escala em μm "Unit of Length". Após todas as mensurações, foram realizadas as médias e desvio padrão com o software ExcelTM, o tratamento estatístico através do software Graph Pad Prism 6.0[®] e a análise de variância ANOVA One- Way com pós teste de Bonferroni.

4 RESULTADOS

Através da Microscopia de Luz foram evidenciadas as características morfológicas e, por meio da Microscopia Eletrônica de Transmissão foram reveladas as características ultraestruturais e morfométricas da JMT do esternomastóideo.

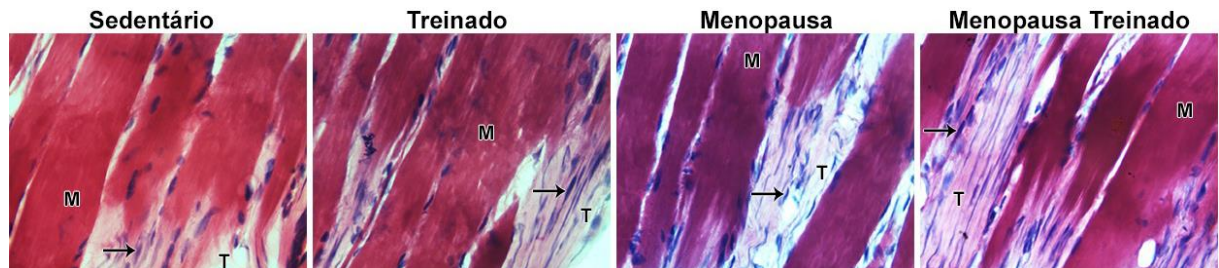


Figura 1: Microscopia de Luz da JMT do esternomastóideo dos grupos experimentais. Observam-se o Tecido Muscular (M), Tecido Tendíneo (T) e tenócitos (seta). Coloração: HE. Ampliações: 400x.

4.1 Microscopia de Luz

No grupo S foram evidenciados os componentes celulares na região da JMT, onde foi possível observar as projeções tendíneas, com a presença de células alongadas de tenócitos, que se estendem ao longo do eixo longitudinal, interagindo com o tecido muscular estriado esquelético (Fig. 1A).

No grupo T foram evidenciadas as adaptações com a organização de longas projeções tendíneas entre os arranjos das fibras musculares dispostas em paralelo ao eixo longitudinal das miofibrilas (Fig. 1B).

Entretanto, no grupo M foram observadas amplas alterações através da redução da área de contato na interface músculo-tendínea com limitadas projeções provenientes da matriz extracelular. Na ampla área de depósito de tecido conjuntivo denso não-modelado, foram observados maior distribuição de tenócitos (Fig. 1C).

Além disso, o grupo MT revelou adaptação na disposição das células musculares e tendíneas em toda região da JMT devido ao treinamento de natação, com tenócitos disseminados em toda área de interação. No tecido tendíneo destacaram-se a ampla área de tecido conjuntivo denso modelado com projeções alongadas provenientes da matriz extracelular adjuntas às fibras musculares (Fig.1D).

4.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão

No grupo S foi observada a interface miotendínea, através da área de depósito de colágeno da matriz extracelular com espessamento próximo à JMT (Fig. 2A). As invaginações sarcoplasmáticas, também denominadas de interdigitações, provenientes do tecido tendíneo, apresentaram-se desalinhadas, dispostas paralelamente aos feixes de miofilamentos, que estendem-se em proximidade à linha Z. Além disso, as evaginações sarcoplasmáticas revelaram arranjos e formatos irregulares (Fig. 2B).

No grupo T foram observadas ampla adaptação tecidual com disposições variadas dos feixes de miofibrilas, com a presença de partes celulares dos tenócitos (Fig. 2C). Em maior aumento, notaram-se a organização das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas dispostas paralelamente, com maiores comprimentos principalmente na região central da JMT (Fig. 2D).

No grupo M são evidentes as organizações ultraestruturais ao longo da JMT, tal como a ampla área de depósito de colágeno no tecido tendíneo, onde difundem-se fragmentos celulares de tenócitos e invaginações sarcoplasmáticas, provenientes da matriz extracelular, extremamente curtas e dispostas em diversas direções (Fig. 2E). As evaginações sarcoplasmáticas demonstram comprimento similar ao das interdigitações, porém suas dimensões, que delimitam a extremidade distal da célula muscular, se mostraram superiores às das invaginações sarcoplasmáticas (Fig. 2F).

No grupo MT notaram-se delgadas fibras de colágeno presentes em toda área da JMT. As invaginações sarcoplasmáticas apresentaram-se alongadas, paralelas aos feixes de miofilamentos dos sarcômeros em séries (Fig. 2G). Em maior aumento, as evaginações sarcoplasmáticas mostraram maior espessura com destaque à presença de linhas Z (Fig. 2H).

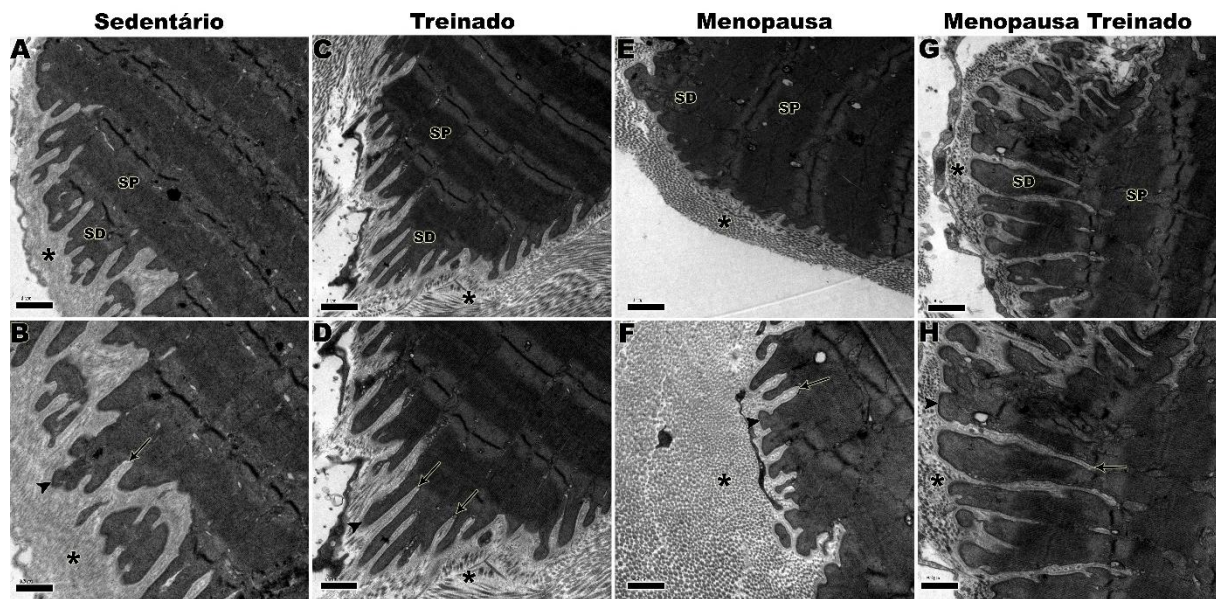


Figura 2: Microscopia Eletrônica de Transmissão da JMT do esternomastóideo. Grupos: Sedentário, Treinado, Menopausa e Menopausa Treinado. Observam-se a disposição da organização dos sarcômeros distais (SD) e proximais (SP); invaginações sarcoplasmáticas (seta) e evaginações sarcoplasmáticas (cabeça de seta); feixes de fibras de colágeno (*). Valores da barra: (A, C, E, G) 0,5µm; (B, D, F, H) 1,0µm. Ampliações: (A, C, E, G) 10.000X; (B, D, F, H) 15.000X.

4.3 Análise Morfométrica

Através das análises morfométricas foram obtidos os valores dos comprimentos e espessuras das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, e dos sarcômeros proximais e distais da JMT.

4.3.1 Invaginações e evaginações sarcoplasmáticas

No grupo S foram evidenciadas amplas alterações através da heterogeneidade nos comprimentos das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas. O grupo T em comparação ao grupo S apresentou aumento de 48% nos comprimentos das invaginações sarcoplasmáticas e 36% nas evaginações sarcoplasmáticas ($p < 0,001$). Além disso, a espessura das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas apresentaram redução de 8% e 2%, respectivamente, também sem diferenças estatísticas relevantes.

O grupo M apresentou diferença estatística no comprimento das invaginações sarcoplasmáticas com redução de 46%, e das evaginações sarcoplasmáticas ($p<0,0001$) com diminuição de 59% em relação ao S. As espessuras apresentaram diferença estatística ($p<0,0001$) com redução de 31% das invaginações sarcoplasmáticas e aumento de 64% das evaginações sarcoplasmáticas.

Os animais do grupo MT apresentaram aumento de 666% no comprimento das invaginações sarcoplasmáticas e de 298% das evaginações sarcoplasmáticas em relação ao do grupo M, com diferenças estatísticas para ambos os comprimentos ($p<0,0001$). As espessuras das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas não apresentaram diferenças estatísticas relevantes, entretanto, pequena redução de 2% nas invaginações sarcoplasmáticas, enquanto as evaginações sarcoplasmáticas apresentaram aumento de 16%.

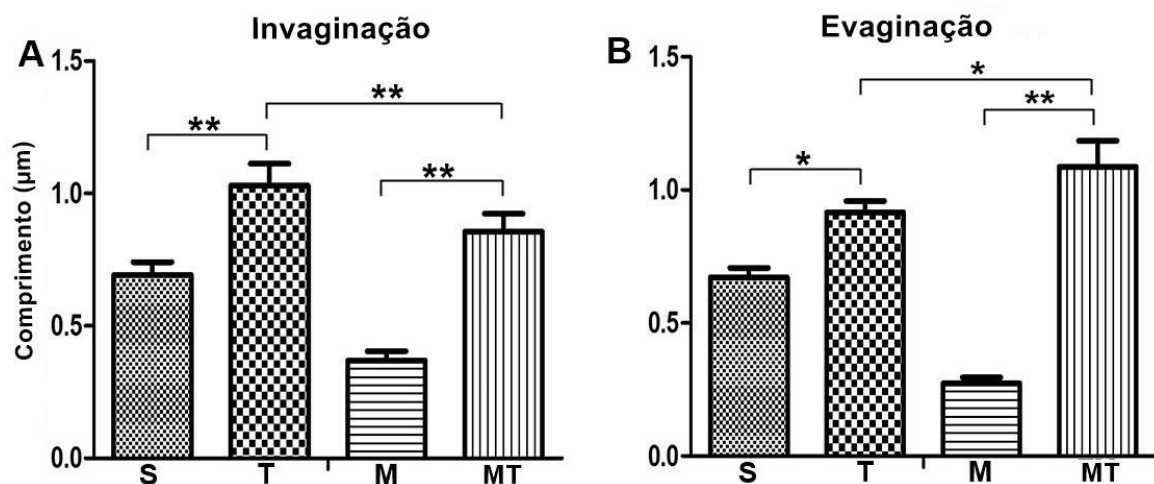


Gráfico 1: Médias e desvio padrão do comprimento (µm) das invaginações (A) e evaginações (B) sarcoplasmáticas dos grupos S, T, M e MT. * $p<0,001$; ** $p<0,0001$.

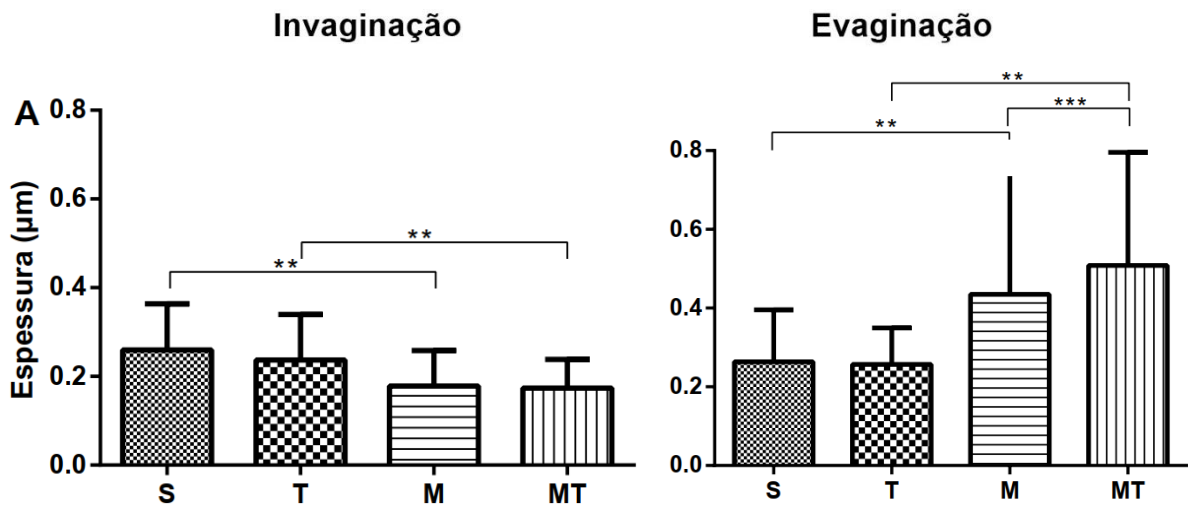


Gráfico 2: Médias e desvio padrão da espessura (μm) das invaginações (A) e evaginações (B) sarcoplasmáticas dos grupos S, T, M e MT. ** $p<0,0001$.

4.3.2 Sarcômeros proximais e distais

Em relação ao comprimento dos sarcômeros, o grupo T quando comparado com o S, é possível observar redução de 30% e 22% nos sarcômeros proximais e distais, respectivamente, com diferenças estatísticas iguais para ambos ($p<0,0001$). Entretanto, o comprimento do sarcômero proximal do grupo M em relação ao S não apresentou diferença estatística relevante, porém uma pequena redução de 5%, enquanto o comprimento do sarcômero distal ($p<0,0001$) reduziu 44%.

O comprimento dos sarcômeros proximais do grupo MT apresentaram diferença estatística ($p<0,0001$) em relação ao grupo M, com aumento de 155% no comprimento, enquanto os sarcômeros distais ($p<0,001$) 36%.

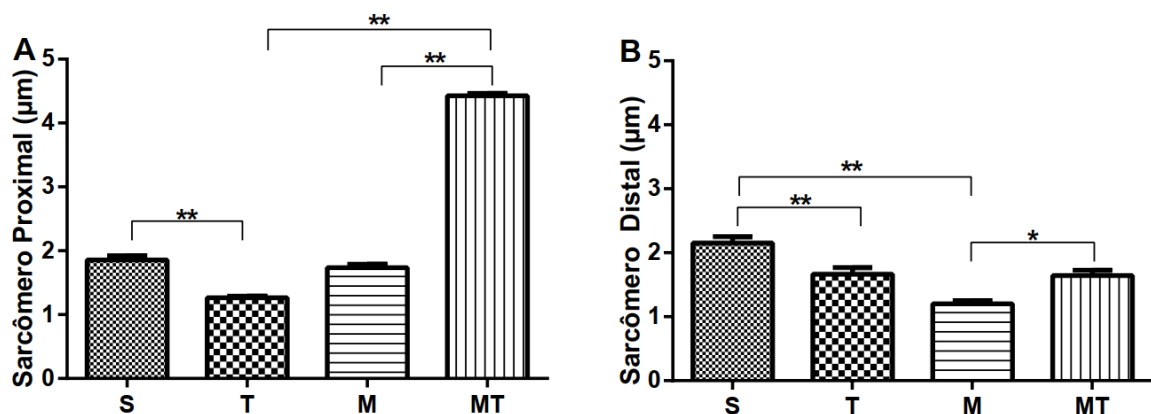


Gráfico 3: Médias e desvio padrão do comprimento (μm) dos sarcômeros proximais (A) e distais (B) dos Grupos S, T, M e MT. * $p<0,001$; ** $p<0,0001$.

5 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo apresentaram os efeitos benéficos do treinamento de natação através da reorganização ultraestrutural e morfométrica da JMT e dos sarcômeros do esternomastóideo de ratas idosas em modelo experimental de menopausa.

O grupo S apresentou extensa área de depósito de colágeno na JMT, com projeções irregulares e assimétricas, enquanto os sarcômeros dessa região apresentaram desalinhada organização, estas são alterações morfológicas provenientes dos tecidos muscular e tendíneo, que caracterizam a atrofia muscular. Mediante a inatividade física, a atrofia muscular acarreta em reduções da qualidade muscular, maior fragilidade, dificuldade/incapacidade de executar atividades da vida diária (AVD), dependência, e em casos extremos, à óbito dos indivíduos da terceira idade, particularmente do sexo feminino (ALEXANDRE, 2014).

Morfologicamente, a JMT apresenta na extremidade da fibra muscular, inúmeras projeções tendíneas alongadas, compostas por dobras de sarcolema, denominadas invaginações sarcoplasmáticas, conhecidas como interdigitações, que penetram no tecido muscular e promovem a expansão da área de superfície para fixação das fibras musculares para o tecido conjuntivo do tendão, enquanto as evaginações sarcoplasmáticas são projeções musculares entremeadas pelas invaginações (CHARVET, 2012; DECONINCK et al., 1997; HUIJING, 1999).

A JMT do esternomastóideo apresentou alterações decorrentes do envelhecimento associados ao sedentarismo, ao promover desorganização tecidual por meio do depósito de colágeno no tecido tendíneo com espessamento próximo à área de interação e interdigitações desalinhadas e irregulares. Ciena et al. (2010) apontaram adaptações morfológicas semelhantes ao descreverem a morfologia da JMT do pterigóideo medial de ratos idosos, músculo que pertence ao aparelho mastigatório e se insere na superfície medial da mandíbula.

Em nossos achados, o comprimento das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas dos grupos que realizaram o protocolo de treinamento apresentaram-se maior. A JMT é uma região de interação entre os tecidos musculares

e tendíneos altamente especializada e, seu desenvolvimento acontece pela interação dinâmica entre o músculo e o tendão, logo, uma ampla relação entre esta região sugere uma distribuição vantajosa de força em toda a interface músculo-tendínea (CURZI, 2016; CHARVET, 2012; TIDBALL, 1991).

Com a privação dos hormônios ovarianos, as amostras do grupo M apresentaram considerável quantidade de fragmentos de tenócitos que caracterizam a atrofia muscular. Invaginações e evaginações sarcoplasmáticas extremamente reduzidas e, como consequência, menor comprimento do área de interação músculo-tendínea.

A menopausa geralmente está associada ao aumento do tecido adiposo e à diminuição da massa e força muscular com ou sem ganho de peso (MALTAIS, DESROCHES, DIONNE, 2009). A prática de atividade física minimiza as limitações causadas pelo envelhecimento, além de ser a intervenção mais eficiente para aumentar os níveis de massa e força muscular nesta população (CARVALHO et al., 2018; LARSON, 2015).

Após a realização do protocolo de treinamento em natação, foram observadas características morfológicas de remodelação celular e reestruturação da JMT, principalmente no grupo MT, como no comprimento e espessura das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas e no comprimento dos sarcômeros proximais e distais, analisados neste estudo. O exercício físico é capaz de retardar os efeitos prejudiciais da menopausa e interrupção dos níveis hormonais, reduzir a predisposição de limitações funcionais, de quedas e fraturas (EASTELL et al., 2016; LARSON et al., 2015; FONTINELE et al., 2013).

Os treinamentos aeróbios, em mulheres na menopausa acarretam em benefícios significativos na redução da gordura corporal e níveis de triglicérides, perda de massa muscular e de gordura, que melhora a qualidade muscular (CARVALHO et al., 2018; YEH et al., 2018). Curzi et al. (2016) utilizaram exercícios aeróbios em diferentes intensidades, e os efeitos fisiológicos do treinamento induziram alterações morfológicas na JMT do músculo gastrocnêmio, com o aumento da área de interação entre os tecidos.

Por apresentar extrema capacidade de plasticidade tecidual e atuar na interface entre as células do músculo esquelético e nas células tendíneas, a JMT apresenta alto nível de adaptações morfológicas, como o aumento no comprimento e espessura das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, decorrentes do exercício físico, envelhecimento ou evoluções de acordo com as funções, ângulo, sintopia ou topografia dos músculos estriado esqueléticos (ROFFINO et al., 2006; CIENA et al., 2011).

Em relação as unidades ultraestruturais das fibras musculares, apresentaram amplas adaptações em seus comprimentos. Foram observadas alterações no comprimento do último (sarcômero distal) e do penúltimo (sarcômero proximal) sarcômeros presentes na organização da JMT, com ênfase nos sarcômeros distais. Pressupomos que os sarcômeros distais são os indicadores de adição de novos sarcômeros em série, com sua formação da região central para a periferia celular da JMT (SIERRA et al., 2018).

Kinney et al. (2017) sugere em um dos seus estudos, que a sarcomerogênese, em condições de alongamento crônico, pode ser um processo regenerativo, o que requer a participação de células satélites em casos de paralisia cerebral. O comprimento inicial do sarcômero influencia na força de contração muscular, a rigidez do tendão determina a dimensão de encurtamento que ocorrerá nesse comprimento, mesmo quando o ângulo da articulação não altera (MACINTOSH, 2017).

Com o treinamento, os sarcômeros proximais e distais apresentaram aumento no comprimento, bandas I mais evidentes e alinhamento em sua organização. Este aumento no comprimento dos sarcômeros pode reduzir o espaçamento de filamentos espessos a finos, tendo como resultado o aumento na produção de força (FENWIC, LEIGHTON e TANNER, 2016).

O treinamento de natação evidenciou as adaptações e benefícios na reorganização morfológica tecidual. Segundo Medeiros (2004), o treinamento aquático promove diversos benefícios em grande parte dos sistemas do corpo humano, principalmente no sistema muscular, utilizado em tratamentos de distúrbios musculoesqueléticos e na prevenção de patologias. A temperatura da água é uma variável importante que possui efeitos fisiológicos que influenciam diretamente no relaxamento muscular geral.

6 CONCLUSÃO

Concluimos que a JMT do esternomastóideo apresenta amplas adaptações morfológicas com o envelhecimento associado ao sedentarismo, como a desorganização tecidual e aumento do depósito de colágeno. Além disso, o protocolo de treinamento de natação promoveu reorganização tecidual e aumento da interação músculo-tendínea com maiores comprimentos das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas. O modelo experimental de menopausa reduziu a interface músculo tendínea. No entanto, quando associado ao treinamento promoveu benefícios na interface músculo-tendínea com o aumento nos comprimentos das invaginações e evaginações sarcoplasmáticas, aumentando a área de transmissão de força. Além disso, comprovamos que os sarcômeros apresentam comprimentos diferentes, como a redução nos grupos submetidos ao treinamento de natação. Novos estudos são necessários para melhor compreensão dessas adaptações e suas consequências.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDRE, TDA. S.; DUARTE, Y.A.; SANTOS, J.L.; WONG, R.; LEBRÃO, M.L. Sarcopenia according to the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) versus dynapenia as a risk factor for mortality in the elderly. **Journal Nutr Health Aging**, v. 18, p. 751-6, 2014.
- CARVALHO, L. P.; BORGHI-SILVA, A.; DUPONTGAND S.; DI THOMMAZO-LUPORINI L.; MENDES, R. G.; AUBERTIN-LEHEUDRE, M. Influence of menopausal status on the main contributors of muscle quality. **Climacteric**, v. 21, p. 298-302, 2018.
- CHANG, T.; HUANG, C.; HUANG, C.; CHEN, H.; CHENG, C. The Influence of Long-term Treadmill exercise on bone mass and articular cartilage in ovariectomized rats. **BMC Musculoskeletal Disorders**, v. 11, p. 185-92, 2010.
- CIABATTARI, O.; DAL PAI, A.; DAL PAI, V. Efeito da natação associado a diferentes dietas sobre o músculo tibial anterior do rato: estudo morfológico e histoquímico, **Revista Brasileira da Medicina do Esporte**, v. 11, 2005.
- CIENA, A. P.; ALMEIDA, S. R. Y.; ALVES, P. H. M.; BOLINA-MATOS, R. S.; DIAS, F. J.; ISSA, J. P. M.; IYOMASA, M. M.; WATANABE, I. Histochemical and ultrastructural changes of sternomastoid muscle in aged wistar rats, **Micron** 42, p. 871-76, 2011.
- CIENA, A. P.; LUQUES, I. U.; DIAS, F. J.; ALMEIDA, S. R. Y.; IYOMASA, M. M.; WATANABE, I. Ultrastructure of the myotendinous junction of the medial pterygoid muscle of adult and aged Wistar rats, **Micron** 41, p. 1011-14, 2010.
- CIENA, A. P.; SOUSA-BOLINA, C.; ALMEIDA, S. R.; RICI, R. E.; OLIVEIRA, M. F.; SILVA, M. C.; MIGLINO, M. A.; WATANABE, I. Structural and ultrastructural features of the agouti tongue (*Dasyprocta aguti* Linnaeus, 1766). **Journal of Anatomy**, v. 223, p.152-8, 2013.
- CURZI, D.; AMBROGINI, P.; FALCIERI, E.; BURATTINI, S. Morphogenesis of rat myotendinous junction. **Muscles, Ligaments and Tendons Journal**, v. 3, p. 275-80, 2013.
- CURZI, D. Ultrastructural study of myotendinous junction plasticity: from disuse to exercise. **Sport Sciences for Health**, v. 12, p.279-86, 2016.
- DIOGO, R. The head and neck muscles of the philippine colugo (*Dermoptera: Cynocephalus volans*), with a comparison to tree-shrews, primates, and other mammals. **Journal of Morphology**, v. 270, p.14-51, 2009.
- FENWICK, A. J., LEIGHTON, R. S., TANNER, B. C. Myosin mgadp release rate decreases as sarcomere length increases in skinned rat soleus muscle fibers. **Biophysical Journal**, v. 9, p. 2011–23, 2016.
- FERRETTI, M.; CAVANI, F.; MANNI, P.; CARNEVALE, G.; BERTONI, L.; ZAVATTI, M.; PALUMBO, C. Ferutinin dose-dependent effects on uterus and mammary gland in ovariectomized rats. **Histology and Histopathology**, v. 29, p. 1027-37, 2014.

- FIEDLER, M.; PERES, K. Capacidade funcional e fatores associados em idosos do Sul do Brasil: um estudo de base populacional. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, p. 409-15, 2008.
- FOLLAND, J. P.; WILLIAMS, A.G. The adaptations to strength training: morphological and neurological contributions to increased strength. **Sports Med**, v. 37, p. 145–68, 2007.
- GONZALEZ-FREIRE, M.; SEMBA, R. D.; UBAIDA-MOHIEN, C.; FABBRI, E.; SCALZO, P.; HOJLUND, K.; DUFRESNE, C.; LYASHKOV, A.; FERRUCCI, L. The Human Skeletal Muscle Proteome Project: a reappraisal of the current literature. **Journal of Cachexia, Sarcopenia And Muscle**, v. 8, p. 5-18, 2016.
- HENDERSON, C. A.; GOMEZ, C. G.; NOVAK, S. M.; MI-MI, L.; GREGORIO, C. C. Overview of the Muscle Cytoskeleton. **Compr. Physiol**, v. 7, p. 891-944, 2017.
- HYODO, M.; KAWAKITA, S.; DESAKI, J. Scanning electron microscopic study of the muscle fiber ends at the myotendinous junction in the posterior cricoarytenoid and cricothyroid muscles in rats. **Acta Otolaryngol**, v. 121, p. 953–6, 2001.
- HYUNSEOKA, J.; JONG-HEE, K. A mini-overview of single muscle fibre mechanics: the effects of age, inactivity and exercise in animals and humans. **Swiss Medical Weekly**, v. 147, p.1-9, 2017.
- HUXLEY, A. F. Muscular contraction. **The Journal of Physiology**, v. 243, p.1-43, 1974.
- IGNACIO, D. L. et al. Regulação da massa corpórea pelo estrogênio e pela atividade física. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 3, p.310-17, 2009.
- KANNUS, P. Structure of the tendon connective tissue. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 10, n. 6, p. 312-20, 2000.
- KANNUS, P. et al. The effects of immobilization on myotendinous junction: an ultrastructural, histochemical and immunohistochemical study. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 144, n. 3, p. 387-94, 1992.
- KENT-BRAUN, J.A; ALEXANDER, V. NG. Skeletal Muscle Oxidative Capacity in Young and Older Women and Men. **J. Appl. Physiol**, v. 89, p. 1072-78, 2000.
- KJAER, M. et al. Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. **Physiol. Rev.**, v. 84, p. 649–98, 2004.
- KO, I.G.; JEONG, J. W.; KIM, Y. H.; JEE, Y.S.; KIM, S. E.; KIM, S. H.; JIN, J. J.; KIM, C. J.; CHUNG, K. J. Aerobic Exercise Affects Myostatin Expression in Aged Rat Skeletal Muscles: A Possibility of Antiaging Effects of Aerobic Exercise Related With Pelvic Floor Muscle and Urethral Rhabdosphincter. **Int Neurourol J**, v. 18, p. 77-85, 2004.
- KOSTROMINOVA, T. Y.; CALVE, S.; ARRUDA, E. M.; LARKIN, L. M. Ultrastructure of myotendinous junctions in tendon-skeletal muscle constructs engineered in vitro. **Histology and Histopathology**, v. 24, n.5, p. 541- 50, 2009.

KVIST, M. JOZSA, L.; KANNUS, P.; ISOLA, J.; VIENO, T.; JARVINEN, M.; LEHTO, M. Morphology and histochemistry of the myotendineal junction of the rat calf muscles. **Acta Anat**, v. 141, p. 199–205, 1991.

LANDI, F.; MARZETTI, E.; MARTONE, A. M.; BERNABEI, R.; ONDER, G. Exercise as a remedy for sarcopenia. **Current Opinion In Clinical Nutrition And Metabolic Care**, v. 17, n. 1, p.25-31, 2014.

LARSON, R.D.; MISIC, M.M.; EVANS, E.M. Association of adiposity and muscle quality with physical function differs in young and old women. **Menopause**, v. 22, p. 337-41, 2015.

LIU, C. J.; CHANG, W. P.; de CARVALHO, I. A.; SAVAGE, K. E. L.; RADFORD, L. W.; AMUTHAVALLI, J. T. Effects of physical exercise in older adults with reduced physical capacity: meta-analysis of resistance exercise and multimodal exercise. **International Journal Of Rehabilitation Research**, v. 40, p.1-12, 2017.

LYNCH, N.A.; METTER, E. J.; LINDLE, R. S.; FOZARD, J. L.; TOBIN, J. D.; ROY, T. A.; FLEG, J.L; HURLEY, B. F. Muscle quality. Age-associated differences between arm and leg muscle groups. **J Appl Physiol**, v. 86, p. 188–94, 1999.

MACINTOSH, B. R. Recent developments in understanding the length dependence of contractile response of skeletal muscle. **European Journal Of Applied Physiology**, Canada, v. 117, n. 6, p.1059-71, 2017.

MATSUDO, S. M. M.; MATSUDO, V. K. R.; BARROS NETO, T. L. Efeitos benéficos da atividade física na aptidão física e saúde mental durante o processo de envelhecimento. **Rev. Bras. Ativ. Física e Saúde**, v. 5, n. 2, p. 60-76, 2000.

MENSHIKOVA, E.V.; RITOV, V. B.; LIANE, F.; FERRELL, R. E.; KELLEY, D.; GOODPASTER, B. H. Effects of Exercise on Mitochondrial Content and Function in Aging Human Skeletal Muscle. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 61.p 534-40, 2006.

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

MU, L.; SOBOTKA, S; SU, H., Nerve-muscle-endplate band grafting: a new technique for muscle reinnervation. **Neurosurgery**, v. 69, p. 208–24, 2011.

PESTANA, P. R. D.; ALVES, A. N.; FERNANDES, K. P. S; da SILVA JUNIOR, J. A.; FRANÇA, C. M.; MARTINS, M. D.; BUSSADORI, S. K.; MESQUITA-FERRARI, R. A. Efeito da natação na expressão de fatores regulatórios miogênicos durante o reparo do músculo esquelético de rato, **Revista Brasileira Medicina do Esporte**, v. 18, n. 6, p. 419-22, 2012.

PIMENTA, F.; LEAL, I.; BRANCO, J. Menopausa, a experiência intrínseca de uma inevitabilidade humana: Uma revisão da literatura. **Análise Psicológica**, v. 15, n. 3, p.455-66, 2007.

RASSIER, D. E. Sarcomere mechanics in striated muscles: from molecules to sarcomeres to cells. **Am. J. Physiol. Cell Physiol**, v. 313, p. 134-45, 2017.

RYAN, S.; BLYTH, P.; DUGGAN, N.; WILD, M.; AL-ALI, S. Is the cranial accessory nerve really a portion of the accessory nerve? Anatomy of the cranial nerves in the jugular foramen. **Anatomical Science International**, v. 82, n. 1, p.1-7, 2007.

SECOMB, J.L.; LUNDGREN, L. E.; FARLEY, O. R.; TRAN, T. T.; NIMPHIUS, S. SHEPPARD, J. M. Relationships between lower-body muscle structure and lower-body strength, power, and muscle-tendon complex stiffness. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 29, p. 2221-8, 2015.

SIERRA, L. R.; FÁVARO, G.; CERRI, B. R.; ROCHA, L. C.; de ALMEIDA, S. R. Y.; WATANABE, I.; CIENA, A. P. Myotendinous junction plasticity in aged ovariectomized rats submitted to aquatic training. **Microscopy Research And Technique**, v. 7, n. 1, p.1-8, 2018.

SQUIRE, J. M.; PAUL, D. M.; MORRIS, E. P. Myosin and Actin Filaments in Muscle: Structures and Interactions. **Subcellular Biochemistry**, p.319-71, 2017.

SOBOTKA, S.; MU, L. Characteristics of tetanic force produced by the sternomastoid muscle of the rat. **J. Biomed. Biotechnol**, p. 1-11, 2010.

TIDBALL, J.G. Force transmission across muscle cell membranes. **J. Biomech**, v. 24, p. 43–52, 1991.

TROTTER, J. A.; Structure-function considerations of muscle-tendon junctions. **Comparative biochemistry and physiology – Part A: molecular & Integrative Physiology**, v.133 n. 4, p. 1127-33, 2002.

YEH, M. L.; LIAO, R. W.; HSU, C. C.; CHUNG, Y. C.; LIN, J. G. Exercises improve body composition, cardiovascular risk factors and bone mineral density for menopausal women: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Applied Nursing Research**, v. 40, p. 90-8, 2018.

ANEXO A - Comitê de Ética no Uso de Animal

unesp



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

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

DECISÃO CEUA Nº 09/2018

Instituição: UNESP – IB – CRC	Departamento: Educação Física
Data de Registro CEUA: 08.02.18	

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Efeitos do treinamento físico no comprimento dos sarcômeros e interface músculo-tendão na região cervical em modelo experimental de menopausa"**, protocolo nº 1078, sob responsabilidade de Adriano Polican Ciena (Pesquisador Responsável) e Carolina dos Santos Jacob (orientanda), que envolve a produção, manutenção e/ou a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

Subprojeto(s) vinculado(s): ==,==

Colaboradores: -----

A Comissão de Ética no Uso de Animal - CEUA do Instituto de Biociências da UNESP – Campus de Rio Claro, em sua **36ª reunião ordinária**, realizada em **06.06.2018**

()	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).
(x)	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: 01/04/2018 a 30/12/2018

Finalidade: () Ensino (x) Pesquisa Científica

Espécie/linhagem/raça: ratos *Wistar* (*rattus norvegicus*)

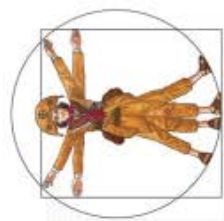
Número de animais: 40; Peso: 225g; Idade: 14 meses; Sexo: fêmea

Origem dos animais (Informações sobre o fornecedor): Biotério Central da UNESP- Câmpus de Botucatu

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

Rio Claro, 06/06/2018

Prof. Dr. Marco Aurélio Pizo Ferreira
 Coordenador



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

CERTIFICADO

Certificamos que **Carolina dos Santos Jacob, Lara Caetano Rocha, Jurandyr Pimentel Neto, Li-Sei Watanabe e Adriano Polican Ciena** receberam **MENÇÃO HONROSA** pelo trabalho intitulado **EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO NO COMPRIMENTO DOS SARCÔMEROS NA REGIÃO CERVICAL EM MODELO EXPERIMENTAL DE MENOPAUSA** apresentado no **XXVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA, XXXIX CONGRESSO CHILENO DE ANATOMIA e IV ENCONTRO DAS LIGAS ESTUDANTIS DE MORFOLOGIA**, promovido pela **Sociedade Brasileira de Anatomia**, realizado entre os dias 18 e 21 de julho de 2018, no Centro de Convenções de João Pessoa-PB, Brasil, na modalidade **PÔSTER**.

Dr. Eulámpio José da Silva Neto
Presidente do XXVIII Congresso Brasileiro de Anatomia

Dr. Pablo Jose Lizana Arce
Presidente da Sociedade Chilena de Anatomia

Dr. Richard Halti Cabral
Presidente da Sociedade Brasileira de Anatomia

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

Carolina dos Santos Jacob

Prof. Dr. Adriano Polican Ciena