

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - CAMPUS DE CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E SAÚDE - MESTRADO

MARIANA LAÍS BOARETTO

**EFEITOS DA PLATAFORMA VIBRATÓRIA NA HISTOMORFOMETRIA E
ESTRESSE OXIDATIVO NO MÚSCULO SÓLEO EM RATOS *WISTAR* OBESOS**

CASCAVEL-PR
(maio/2019)

MARIANA LAÍS BOARETTO

**EFEITOS DA PLATAFORMA VIBRATÓRIA NA HISTOMORFOMETRIA E
ESTRESSE OXIDATIVO NO MÚSCULO SÓLEO EM RATOS *WISTAR* OBESOS**

Dissertação apresentada ao Programa De Pós-Graduação em Biociências e Saúde – Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde.

Área de concentração: Biologia, processo saúde-doença e políticas de saúde.

ORIENTADOR: Gladson Ricardo Flor Bertolini.

COORIENTADOR: Lucinéia de Fátima C. Ribeiro.

CASCADEL-PR

(maio/2019)

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Boaretto, Mariana Laís

Efeitos da plataforma vibratória na histomorfometria e estresse oxidativo no músculo sóleo em ratos Wistar obesos / Mariana Laís Boaretto; orientador(a), Gladson Ricardo Flor Bertolini; coorientador(a), Lucineia de Fátima Chasko Ribeiro, 2019.
96 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, 2019.

1. Obesidade. 2. Exercício físico. 3. Biologia estrutural e funcional. I. Flor Bertolini, Gladson Ricardo. II. Chasko Ribeiro, Lucineia de Fátima. III. Título.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Cascavel CNPJ 78680337/0002-65

Rua Universitária, 2069 - Jardim Universitário - Cx. P. 000711 - CEP 85819-110

Fone: (45) 3220-3000 - Fax: (45) 3324-4566 - Cascavel - Paraná



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

MARIANA LAÍS BOARETTO

Efeitos da plataforma vibratória na histomorfometria e estresse oxidativo no músculo sóleo em ratos Wistar obesos.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biociências e Saúde, área de concentração Biologia, Processo Saúde-doença e Políticas de Saúde, linha de pesquisa Processo Saúde-doença, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

Orientador(a) - Gladson Ricardo Flor Bertolini

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Alberito Rodrigo de Carvalho

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Dornival Bertencello

Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

Cascavel, 26 de fevereiro de 2019

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini, minha coorientadora Profa. Dra. Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro, às professoras Marcia Miranda Torrejais e Ana Tereza B. Guimarães, obrigada por todos os ensinamentos científicos e auxílios para realização deste estudo.

Agradeço também todos os alunos do Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional, em especial as minhas colegas de pesquisa Bárbara e Jhyslayne.

A CAPES pelo incentivo a pesquisa.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para concretização deste trabalho, muito obrigada!

RESUMO

BOARETTO, M. L. **Efeitos da plataforma vibratória na histomorfometria e estresse oxidativo no músculo sóleo em ratos wistar obesos.** 96 páginas. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campus Cascavel, Unioeste, 2019.

A obesidade influencia negativamente o sistema musculoesquelético e para prevenir as comorbidades que esta doença causa preconiza-se a prática regular de exercício físico. Uma modalidade de exercício que vem sendo empregada é o treino em plataforma vibratória (PV), que busca melhorar a força e a potência muscular. Com isto, o objetivo desta pesquisa foi verificar efeitos da plataforma vibratória no músculo sóleo em ratos com obesidade induzida por glutamato monossódico (MSG). Para tanto foram utilizados 32 ratos *Wistar* aleatorizados igualmente em quatro grupos: controle (GC), controle submetido à plataforma vibratória (GCP), obeso (GO) e obeso submetido à plataforma vibratória (GOP). Para indução da obesidade foram utilizadas injeções de glutamato monossódico do 1º ao 5º dia de vida dos animais. Aos 70 dias de idade dos animais iniciou-se o treino em PV. O protocolo teve frequência ajustada a 60 Hz e amplitude de dois milímetros e foi realizado três vezes por semana, durante 10 minutos, em um período de oito semanas consecutivas. Aos 130 dias de idade os animais foram eutanasiados e coletado os músculos sóleos para o processamento histológico e análise histomorfométrica quanto a área de secção transversa, maior e menor diâmetro da fibra muscular, relação de núcleos e vasos sanguíneos por fibra muscular, porcentagem de tecido conjuntivo, área de secção transversa, maior e menor diâmetro da junção neuromuscular e tipos de fibras musculares, além da análise da atividade das enzimas colinesterase (ChE), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e reação de lipoperoxidação (LPO). Os dados foram analisados estatisticamente quanto à sua homogeneidade, normalidade e análise da variância de dois fatores, adotando-se nível de significância de 5%. Na análise morfológica os grupos obesos apresentaram hipotrofia muscular. Em relação à área de secção transversa, maior e menor diâmetro, GC e GO apresentaram médias maiores quando comparados com GCP e GOP. A densidade capilar e número de núcleos foram menores nos animais obesos, contudo a média foi maior nos animais submetidos a PV. A porcentagem de tecido conjuntivo foi maior nos animais obesos, porém o GOP apresentou menor quantidade quando comparado com o GO. Na análise das junções neuromusculares, em relação à área, maior e menor diâmetro, GCP e GOP apresentaram médias maiores, quando comparado com GC e GO, respectivamente. Houve predomínio de fibras oxidativas no músculo sóleo, não havendo diferenciação das fibras em outros tipos. Em relação ao estresse oxidativo, houve diminuição da LPO nos grupos obesos, nas demais enzimas SOD, CAT e ChE não houve diferença significativa. Conclui-se desta forma que a plataforma vibratória é capaz de promover alterações quanto à densidade capilar e núcleos por fibra, porcentagem de tecido conjuntivo, nas junções neuromusculares e na lipoperoxidação.

Palavras-Chaves: obesidade; vibração; músculo sóleo.

GENERAL ABSTRACT

BOARETTO, M. L. **Effects of the vibratory platform on histomorphometry and oxidative stress in the soleus muscle in obese wistar rats.** 96 pages. Dissertation (Master's degree). Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campus Cascavel, Unioeste, 2019.

Obesity negatively influences the musculoskeletal system and to prevent the comorbidities that this disease causes it is recommended to practice regular physical exercise. An exercise modality that is being used is the vibratory platform (PV) training, which seeks to improve muscle strength and potency. With this, the objective of this research was to verify effects of the vibratory platform in the soleus muscle in rats with obesity induced by monosodium glutamate (MSG). For this purpose, 32 Wistar rats were randomized equally to four groups: GC, GCP, GO, GOP. For the induction of obesity monosodium glutamate injections were used from the 1st to the 5th day of life of the animals. At 70 days old the training in PV was started. The protocol had a frequency adjusted at 60 Hz and amplitude of two millimeters, it was performed three times a week for 10 minutes over a period of eight consecutive weeks. At 130 days old, the animals were euthanized and the soleus muscles was collected for histological processing and histomorphometric analysis as the cross-sectional area, larger and smaller diameter of the muscle fiber, ratio of nuclei and blood vessels to muscle fiber, percentage of connective tissue, cross-sectional area, greater and smaller diameter of the neuromuscular junction and types of muscle fibers, besides the analysis of the activity of the enzymes cholinesterase (ChE), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and lipoperoxidation reaction (LPO). The data were statistically analyzed for their homogeneity, normality and analysis of the variance of two factors, adopting a level of significance of 5%. In the morphological analysis the obese groups presented muscular hypotrophy. In relation to the cross-sectional area, larger and smaller diameter, the GC and GO had higher average values when compared to the GCP and GOP. The capillary density and number of nuclei were lower in obese animals, but the mean was higher in the animals submitted to PV. The percentage of connective tissue was higher in obese animals, however the GOP presented smaller amount when compared to the GO. In the analysis of JNMs, concerning to the area, larger and smaller diameter, the GCP and GOP presented larger means when compared with the GC and GO, respectively. There was a predominance of oxidative fibers in the soleus muscle, with no differentiation of fibers in other types. In relation to oxidative stress, there was a decrease in lipoperoxidation in the obese groups, in the other SOD, CAT and ChE enzymes there was no significant difference. Therefore, it is concluded that the vibratory platform is able to promote changes in capillary density and nuclei by fiber, percentage of connective tissue, neuromuscular junctions and lipoperoxidation.

Key-words: obesity; vibration; skeletal muscle.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	9
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	10
1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3. REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 Músculo estriado esquelético e junções neuromusculares.....	15
3.2 Obesidade.....	18
3.3 Modelo experimental para indução da obesidade.....	20
3.4 Efeito da obesidade no músculo estriado esquelético.....	21
3.5 Exercício físico e plataforma vibratória	22
3.6 Plataforma vibratória no músculo estriado esquelético.....	24
4. METODOLOGIA	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
ARTIGO CIENTÍFICO 01.....	29
ARTIGO CIENTÍFICO 02.....	54
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
REFERÊNCIAS GERAIS.....	756
ANEXO 01	823
ANEXO 02	834
ANEXO 03	90

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01: Ilustração da estrutura do músculo esquelético.....	16
Figura 02: Ilustração dos componentes da fibra muscular.....	17
Figura 03: Mecanismo do Reflexo Tônico de Vibração.....	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHT	Hidroxitolueno Butilado
cm	centímetros
DCNTs	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
GC	Grupo Controle
GCP	Grupo Controle Plataforma Vibratória
GO	Grupo Obesos
GOP	Grupo Obesos Plataforma Vibratória
Hz	Hertz
HCl	Ácido Clorídrico
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de Massa Corporal
JNMs	Junções Neuromusculares
M	Molar
MDF	Fibra de Média Densidade
MSG	Glutamato Monossódico
mg	miligrama
mg/kg	miligrama/kilograma
mL	mililitro
mM	milimol
NaOH	Hidróxido de sódio
nm	nanômetro
nmol	nanomol
OMS	Organização Mundial de Saúde
OS	Obesidade Sarcopênica
OTG	Órgão Tendinoso de Golgi
PBS	Tampão Fosfato-Salino

PV	Plataforma Vibratória
rpm	rotações por minuto
RVT	Reflexo de Vibração Tônico
SNC	Sistema Nervoso Central
SUS	Sistema Único de Saúde
TNF-alfa	Fator de necrose tumoral alfa
TRIS	tris(hidroximetil)aminometano
VCI	Vibrações de Corpo Inteiro
WBV	<i>Whole-Body Vibration</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
µL	microlitro

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é definida como um acúmulo de gordura, em diferentes locais anatômicos, que apresenta um elevado risco para a saúde dos indivíduos e predispondo ao surgimento de diversas doenças. A prevalência mundial da obesidade, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), triplicou desde a década de 1970, e o número de pessoas afetadas continua aumentando em um ritmo alarmante. Em 2016, mais de 1,9 bilhões de pessoas apresentavam excesso de peso, sendo que, destes, mais de 650 milhões eram obesos, totalizando 39% da população mundial, com 18 anos ou mais, de ambos os sexos, acima do peso e 13% no estado de obesidade (WHO, 2018).

Devido ao acúmulo de gordura, ocorrem alterações no metabolismo e sobrecarga de todos os órgãos, trazendo como consequências o desenvolvimento de alterações no sistema nervoso central (SNC) (CAMILLIO, KISS, DAMASCENO, 2017), doenças cardiovasculares, hipertensão (CORRAL et al., 2006), doenças renais (KOVESDY, FURTH, ZOCCALI, 2017), resistência à insulina, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (SILVEIRA, VIEIRA, SOUZA, 2018), distúrbios endócrinos, câncer (PEARSON-STUTTARD et al., 2018), entre outros agravos e complicações à saúde. Ainda, a obesidade também exerce influência negativa sobre o remodelamento do tecido muscular, havendo perda de massa muscular e acúmulo de gordura subcutânea e intramuscular, determinando a obesidade sarcopênica (OS). Este fenômeno é associado à diminuição da taxa metabólica basal (TMB) juntamente com a inatividade física (GADELHA et al., 2014; SILVA-NETO et al., 2012).

A OS é caracterizada por perda de tecido muscular com simultâneo aumento de tecido adiposo, ou seja, é uma combinação de pequena reserva de massa magra e grande acúmulo de massa gorda. Ocorre em indivíduos sedentários ou que praticam pouco exercício físico, seja por fadiga, intolerância ao esforço ou

incapacidade, o que acaba gerando um desequilíbrio entre o consumo e o gasto energético (ROUBENOFF, 2004; ZAMBONI et al., 2008).

Uma forma de tratamento da obesidade é aumentar o gasto energético. Assim os exercícios físicos vêm sendo amplamente preconizados, pois minimizam os efeitos maléficos do sedentarismo. Entre os exercícios, é crescente o uso da plataforma vibratória (PV). Este equipamento eletrônico produz, por meio de uma base vibratória, vibrações oscilatórias sinusoidais, que geram estímulos mecânicos com diversas amplitudes e frequências (RITTWEGGER, 2010).

Os benefícios do uso da plataforma vibratória ainda são muito discutidos, contudo, na literatura, está descrito a melhora da qualidade óssea (DALTRO, BARRETO, ROSA, 2016), da função neuromuscular, do ganho de força, potência e trofismo muscular (CASIMIRO et al., 2015), além da melhora do equilíbrio (SILVA, SCHNEIDER, 2011), redução da dor articular e muscular (BALADELI et al., 2015) e melhora do controle postural (BOGAERTS et al., 2007).

Assim sendo, a plataforma vibratória pode ser considerada um recurso terapêutico alternativo, podendo atuar na prevenção, promoção e reabilitação da saúde desta população obesa, além de contribuir com atenuação dos custos públicos destinados ao tratamento das comorbidades decorrentes da obesidade. Porém ainda é preciso um maior número de investigações sobre este recurso, pois seus efeitos no tecido muscular ainda não estão totalmente elucidados. Com isso, os estudos científicos nesta temática são relevantes na tentativa de esclarecer quais os efeitos morfofisiológicos no tecido muscular esquelético são causados pela plataforma vibratória, fornecendo evidências para que o seu uso seja uma opção segura de exercício físico para a população obesa e possa ser amplamente difundida.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar os efeitos da plataforma vibratória no músculo sóleo em ratos com obesidade induzida por glutamato monossódico.

2.2 Objetivos Específicos

Em ratos *Wistar* com obesidade induzida por MSG, verificar a influência do tratamento com plataforma vibratória:

- Nos parâmetros morfológicos e morfométricos, com relação à área de secção transversa, maior e menor diâmetro da fibra muscular;
- Nos diferentes tipos de fibras musculares;
- Nas junções neuromusculares (JNMs), com relação à área, maior e menor diâmetro.
- No estresse oxidativo.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Músculo estriado esquelético e junções neuromusculares

Nos seres humanos, aproximadamente 40% da massa corporal total é formada por músculos esqueléticos (FRONTERA, OCHALA, 2015; LAUMONIER, MENETREY, 2016; TROVATO et al., 2016). Os músculos são compostos por proteínas, principalmente por feixes de fibras contráteis (GILLIES, LIEBER, 2011; LAUMONIER, MENETREY, 2016) e, são responsáveis por diversas funções, como por exemplo, os movimentos corporais (KARALAKI et al., 2009) e a locomoção (TROVATO et al., 2016).

O tecido muscular estriado esquelético é composto por feixes de células cilíndricas, muito longas, multinucleadas, que apresentam estriações transversais, e contêm muitos filamentos, as miofibrilas (FRONTERA, OCHALA, 2015). Essas células, ou fibras contráteis, estão sujeitas ao controle voluntário, e os seus componentes recebem nomenclatura especial: a membrana celular é chamada de sarcolema; o citoplasma, de sarcoplasma; e o retículo endoplasmático liso, de retículo sarcoplasmático (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2017).

O músculo é revestido por tecido conjuntivo, chamado de epimísio. A penetração deste tecido para o interior do músculo forma o perimísio, que separa as fibras em fascículos. Por fim, cada fibra muscular é envolvida individualmente pelo endomísio (Figura 01), que é constituído pela lâmina basal da fibra muscular, fibras reticulares, e principalmente, por fibroblastos (GILLIES, LIEBER, 2011; TROVATO et al., 2016). Este tecido é responsável pela transmissão da força de contração do músculo a outras estruturas, como tendões e ossos (GILLIES, LIEBER, 2011) e pela manutenção da união das fibras musculares, além de permitir passagem para os nervos, vasos sanguíneos e linfáticos, auxiliando na manutenção do metabolismo celular (TROVATO et al., 2016; JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2017).

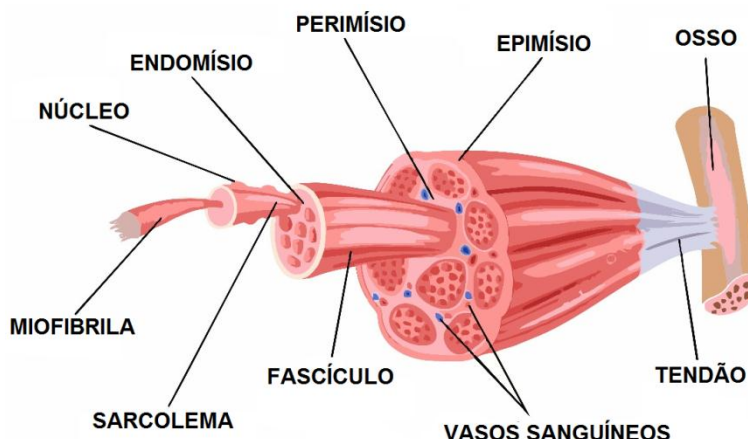


Figura 01: Ilustração da estrutura do músculo esquelético (Acesso em: <<https://br.depositphotos.com/105991088/stock-illustration-illustration-of-structure-skeletal-muscle.html>>).

As fibras musculares contêm no sarcoplasma as miofibrilas, e possuem diversos núcleos situados na periferia. As miofibrilas consistem-se de miofilamentos de proteínas, dispostos em ordem bem definidas, formando os sarcômeros, os quais correspondem à unidade contrátil dos músculos (PIOVESAN et al., 2009; FRONTERA, OCHALA, 2015; TROVATO et al., 2016). Sendo que as quatro principais proteínas são a miosina, actina, tropomiosina e troponina, que são responsáveis pela aparência estriada do músculo (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2017).

De acordo com a estrutura e a composição molecular das fibras, estas podem ser classificadas como lentas (tipo I) e rápidas (tipo II). As lentas, também chamadas de oxidativas, contêm muitas mioglobinas e mitocôndrias, possuem cor vermelha, são responsáveis por contrações contínuas, resistentes à fadiga e obtêm energia dos ácidos graxos. Já as rápidas, também chamadas de glicolíticas, contêm pouca mioglobina e mitocôndrias, possuem cor branca e são adaptadas as contrações rápidas (FRONTERA, OCHALA, 2015). Contudo, estas ainda são diferenciadas, com base na cadeia pesada de miosina, em dois subtipos. Tipo IIA, que possui propriedades intermediárias, tendo potencial para produção de força, utilizando o metabolismo oxidativo e glicolítico e tipo IIB que utiliza, predominantemente, o metabolismo glicolítico, sendo assim a mais rápida e fatigável (PIOVESAN et al., 2009; SCHIAFFINO, REGGIANI, 2011; TALBOT, MAVES, 2016).

A composição das fibras no músculo depende da sua função. Àqueles que são predominantemente posturais, como por exemplo, o músculo sóleo, possui maior quantidade de fibras tipo I, enquanto os que exigem movimentos rápidos e de

força, como por exemplo, o músculo bíceps braquial, possui em sua maioria fibras tipo II (PIOVESAN et al., 2009; TALBOT, MAVES, 2016).

A contração dessas fibras musculares ocorre por meio da propagação do potencial de ação pelos túbulos T. O sistema de túbulos T são cisternas no sarcolema, que permitem a excitação uniforme das fibras (FRONTERA, OCHALA, 2015; TROVATO et al., 2016). Quando a acetilcolina é liberada na fenda sináptica, o potencial de ação é conduzido pelos túbulos T atingindo todo o músculo, fazendo com que o retículo sarcoplasmático libere os íons de cálcio (Ca^{2+}), que estavam armazenados, ocorrendo assim, a contração pela interação entre os filamentos de miosina e actina. Após, os íons cálcio são bombeados de volta para o retículo sarcoplasmático, cessando a contração. Eles permanecem armazenados, até que um novo potencial de ação inicie (Figura 02) (GUYTON, HALL, 2017). Para ocorrer a contração muscular, a acetilcolina é liberada nas junções neuromusculares (JNMs). A JNM é um sítio sináptico, que representa a comunicação entre o sistema nervoso periférico e a fibra muscular. É composta pelo axônio pré-sináptico, a fenda sináptica, a parte pós-sináptica (fibra muscular), vesículas e receptores de acetilcolina e também enzima colinesterase. Estas ainda sofrem influência dos estímulos nervosos e de qual fibra muscular pertencem (SCHIAFFINO, REGGIANI, 2011; GONZALEZ-FREIRE et al., 2014; KRAUSE-NETO et al., 2015).

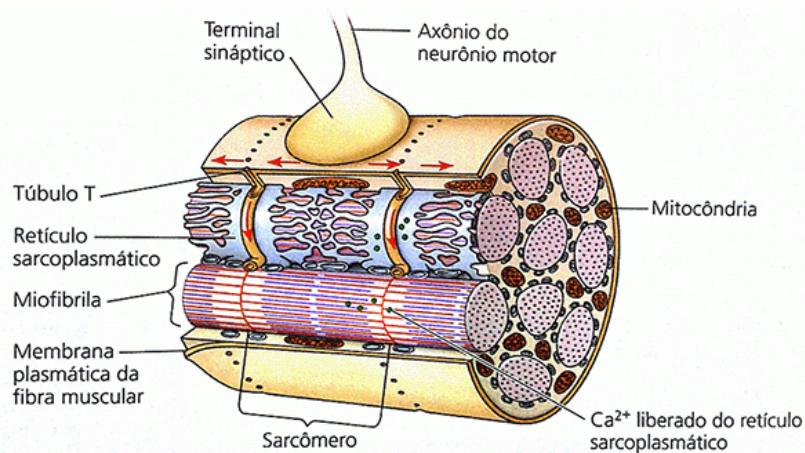


Figura 02: Ilustração dos componentes da fibra muscular (REECE et al., 2015).

O tecido muscular é capaz de se adaptar a diversos estímulos, sendo considerado um tecido dinâmico, com alta plasticidade (PIOVESAN et al., 2009; KRAUSE-NETO et al., 2015). As fibras musculares podem ser remodeladas por meio do exercício físico, como o treinamento contra-resistido e de *endurance*

(FRONTERA, OCHALA, 2015; KRAUSE-NETO et al., 2015; TROVATO et al., 2016). O reparo muscular é capaz de ocorrer devido à presença de células satélites (CS), localizadas entre a membrana sarcoplasmática das miofibrilas e a lâmina basal. Após uma lesão ocorre ativação das células satélites, que se proliferam e formam mioblastos, provocando a remodelação e regeneração muscular (LAUMONIER, MENETREY, 2016), contudo, estados patológicos, como as lesões traumáticas e obesidade, também estão associados às alterações das fibras (WOLFE, 2006).

3.2 Obesidade

A obesidade é definida como um acúmulo de gordura, em diferentes locais anatômicos, que traz impactos negativos sobre o organismo dos indivíduos e apresenta riscos à saúde, podendo causar deficiências físicas e problemas psicológicos, aumentando o risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), incluindo doenças cardiovasculares, câncer e diabetes (WHO, 2018).

A obesidade atingiu proporções epidêmicas globalmente, com aproximadamente 2,8 milhões de pessoas morrendo a cada ano em decorrência do excesso de peso ou obesidade. Há algumas décadas esta doença estava associada aos países desenvolvidos, com alto poder aquisitivo, porém, atualmente, a obesidade também é prevalente em países em desenvolvimento, com baixa e média renda. A obesidade é uma condição complexa, que traz sérias dimensões sociais e psicológicas, afetando praticamente todos os grupos etários e socioeconômicos (WHO, 2018).

O tecido adiposo é um órgão complexo, com profundos efeitos no organismo dos indivíduos, sendo a obesidade uma doença associada a diversas complicações. Dentre as comorbidades, está a resistência à insulina, diabetes, hipertensão arterial sistêmica, doenças cardíacas, acidente vascular encefálico, apneia do sono, osteoartrite, doença hepática gordurosa não alcoólica, doença da vesícula biliar, alterações endócrinas, problemas osteomusculares, alguns tipos de câncer e alterações psicológicas, com o desenvolvimento de estados depressivos (BRAY, 2004).

O estudo da obesidade coloca em evidência que o acúmulo do tecido adiposo implica em uma complexa gama de alterações fisiológicas e patológicas no organismo, visto que este desempenha diversas funções, e exerce influência na homeostase dos nutrientes, na homeostase energética, nas respostas imunológicas, nas funções endócrinas e reprodutoras e na termogênese (ROSEN, SPIEGELMAN, 2014).

Uma forma de mensurar a obesidade é por meio da análise do Índice de Massa Corporal (IMC), que é amplamente utilizado para o diagnóstico da obesidade em adultos. Ele foi reformulado e definido em 1972, pelo cientista Ancel Keys. Esse índice é obtido pela equação: peso em quilogramas dividido pela altura em metros ao quadrado e a partir do resultado obtém-se a classificação da massa corporal do indivíduo. A primeira faixa é de 18,5 a 24,9, sendo os indivíduos que permanecem dentro desta faixa considerados eutróficos; indivíduos com índices de IMC abaixo de 18,5 são classificados como “baixo peso”. Valores entre 25 e 29,9 são classificados como “sobrepeso”; indivíduos que apresentam índices de 30 a 34,9 são classificados como “Obeso grau 1”; 35 a 39,9, “Obeso grau 2”; e IMC maior que 40, “Obeso grau 3”. Porém, o IMC não fornece informações sobre distribuição ou porcentagem de gordura, nem mesmo informações sobre a massa livre de gordura (KEYS et al., 2014).

A obesidade está associada a um baixo grau de inflamação sistêmica crônica no tecido adiposo, a qual é induzida pela ativação do sistema imunológico que sintetiza algumas citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , IL-1 e IL-6, desta forma mantém um estado inflamatório sistêmico. O excesso de tecido adiposo também induz aumento do estresse oxidativo sistêmico, produzindo maior quantidade de espécies reativas de oxigênio (EROs) por macrófagos e monócitos (MARSEGLIA et al., 2015). Quando a capacidade antioxidante de um organismo é superada pela maior produção de EROs pode-se ter como consequência níveis de peroxidação lipídica aumentados, que resulta em dano celular em alguns tecidos corporais, como o adiposo, cérebro e tecido muscular (FRANÇA et al., 2013).

Paralelamente, ao aumento da obesidade e das comorbidades desenvolvidas por ela, também se elevaram os custos com saúde em nível mundial. Estima-se que nos EUA, os custos anuais em saúde, com a população obesa, se aproximam dos 215 bilhões de dólares; valores cerca de 100% a mais do que o gasto com indivíduos não obesos. Já no Brasil, o gasto anual do SUS, para o

tratamento da obesidade, é cerca de 3,6 bilhões de reais, destes, 68% gastos com o tratamento hospitalar e 32% com o tratamento ambulatorial (BAHIA; ARAÚJO, 2014). Contudo, as consequências econômicas da obesidade e doenças associadas não se limitam ao sistema de saúde, também incluem os custos sociais, tais como: diminuição da qualidade de vida, problemas de perda de produtividade e mortes precoces. Assim, este problema mundial exige estratégias preventivas na tentativa de controlar e tratar essa doença e suas complicações (BAHIA, ARAÚJO, 2014; WHO, 2018).

3.3 Modelo experimental para indução da obesidade

A obesidade hipotalâmica pode ser induzida pela administração de glutamato monossódico (MSG) em animais recém-nascidos, cuja barreira hemato-encefálica ainda não se encontra totalmente formada (OLNEY, 1971; SCLAFANI, 1984). A substância produz efeitos neurocitotóxicos e induz à destruição de corpos celulares e morte neuronal, ocorrendo lesões, principalmente, no núcleo arqueado do hipotálamo, lesando aproximadamente 75% dos neurônios (ROMAN-RAMOS et al., 2011).

O hipotálamo desempenha papel chave no controle da homeostase energética, regulação do metabolismo de glicose e lipídios, e sinalização da saciedade. A obesidade hipotalâmica gera uma desordem neuroendócrina, refletindo em uma desregulação no controle da ingestão alimentar e do gasto energético, ou seja, ocorre um excesso de consumo alimentar, especialmente de ácidos graxos, que repercute em resposta inflamatória sistêmica (SMITH, 2018).

Assim a obesidade provocada pelo MSG causa aumento do tecido adiposo central (visceral), intolerância à glicose, resistência à insulina, hiperinsulinemia, prejuízo no controle da temperatura corporal, diminuição do crescimento, alteração da função sexual, infertilidade, alterações no controle cardiovascular (ROMAN-RAMOS et al., 2011), entre outras alterações, como modificações nas estruturas celulares (OLNEY, 1971).

3.4 Efeito da obesidade no músculo estriado esquelético

O tecido muscular é um tecido metabolicamente ativo e consome cerca de 70% do oxigênio de todo organismo, exercendo grande influência no gasto energético. Porém as alterações no tecido muscular, associadas com baixo nível de atividade física contribuem para o acúmulo do tecido adiposo. Consequentemente, a manutenção de uma grande massa muscular e consequente renovação de proteína muscular pode contribuir para a prevenção da obesidade (WOLFE, 2006).

Na literatura são encontrados estudos que demonstram a influência da obesidade sobre o tecido muscular. O tecido adiposo armazenado é capaz de aumentar, substancialmente, as citocinas pró-inflamatórias circulantes, como TNF- α , IL-1, IL-6 e proteína C reativa, as quais desempenham papel importante na sinalização celular e na resposta à inflamação sistêmica, aguda e crônica, e podem ter impacto prejudicial no músculo esquelético, estimulando a degradação da proteína muscular, levando a redução da síntese proteica muscular e perda de massa magra (TOMLINSON, 2016). A obesidade está relacionada a resistência à insulina no músculo esquelético, assim, quando há essa associação, ocorre redução das fibras tipo I e remodelação das fibras do tipo IIa para o IIx, com consequente redução da atividade enzimática oxidativa (TALBOT, MAVES, 2016).

O excesso de tecido adiposo promove alterações negativas no tecido muscular, levando a perda de massa magra, denominada de sarcopenia. Com isto, a população obesa sofre, concomitantemente, com o acúmulo de gordura e diminuição da massa magra, condição conhecida como OS (SCHRAGER et al., 2007). A OS está relacionada à inflamação sistêmica crônica, rigidez das aponeuroses, estresse, encurtamento e oposição a expansão lateral das fibras musculares e alteração neurológicas, como desnervação das fibras (RAHEMI, NIGAM, WAKELING, 2015); além do declínio da atividade física com déficit de mobilidade, e diferentes níveis de incapacidade na execução das atividades de vida diária (BAUMGARTNER et al., 2004; SCHRAGER et al., 2007).

O remodelamento que ocorre no tecido muscular favorece a diminuição da taxa metabólica basal (TMB), ou taxa metabólica de repouso (TMR). Ainda, há um consenso que os obesos exibem pior qualidade muscular e menor força relativa à sua massa corporal (HILTON et al., 2008; TOMLINSON, 2016).

A maior parte da população obesa não é classificada como sarcopênica, pois a classificação do IMC não é capaz de promover esta definição (KEYS et al., 2014). No entanto, na OS ocorre o desenvolvimento da insuficiência da massa muscular em relação ao tamanho corporal total destes indivíduos. Assim, esta condição sinérgica da obesidade associada à sarcopenia está relacionada com piores funções físicas, trazendo muito mais riscos à saúde destes indivíduos do que quando estas condições aparecem isoladas, levando a desfechos não favoráveis para o quadro clínico desta população (GADELHA et al., 2014).

3.5 Exercício físico e plataforma vibratória

A crescente taxa de prevalência da obesidade é atualmente um dos principais desafios da saúde pública em todo o mundo. Tendo conhecimento da gama de doenças que estão associadas à obesidade e das suas consequências, torna-se necessário a criação de novas políticas públicas que envolvam a promoção, prevenção e recuperação da saúde desta população, incentivando o desenvolvimento de hábitos de vida saudáveis, com alimentação adequada e prática de exercícios físicos (ALMEIDA et al., 2017; SCHUH et al., 2017).

Uma estratégia economicamente viável para o tratamento da obesidade e das suas complicações é a prática regular de exercício físico. A atividade física ajuda a prevenir e tratar doenças não transmissíveis (DNTs), doenças cardíacas, acidente vascular encefálico, diabetes, hipertensão arterial sistêmica, o excesso de peso e a obesidade, e ainda, pode melhorar a saúde mental, a qualidade de vida e o bem-estar dos indivíduos (WHO, 2018).

O exercício físico causa modificações na composição corporal e no tecido muscular. O treino de *endurance* e de força induzem ativação de grandes grupos musculares e diferentes vias moleculares, aumento da densidade de capilares, aumento do tamanho das mitocôndrias, ativação de células satélites, hipertrofia e hiperplasia das fibras musculares e plasticidade neuromuscular (FRONTERA, OCHALA, 2015). Também podem mediar efeitos anti-inflamatórios, atenuando a atrofia das fibras e a sinalização pró-apoptótica, por meio do aumento da atividade

das enzimas mitocondriais e diminuição do TNF- α no músculo esquelético (TROVATO et al., 2016).

Ainda, sabe-se que a contração muscular e as adaptações musculares proporcionadas pelo exercício geram produção de EROs, contudo quando o mesmo é realizado de forma regular proporciona aumento do sistema antioxidante, ou seja, confere proteção ao organismo contra os danos oxidativos nas moléculas proteicas (FIUZA-LUCES et al., 2013).

Dentre as modalidades de exercício físico está o uso da plataforma vibratória, ou vibrações do corpo inteiro, ou ainda *Whole-Body Vibration*, que são recursos que vêm sendo utilizados e estudados nas intervenções terapêuticas (EDWARDS, REILLY, 2015). A utilização da vibração como ferramenta terapêutica é uma prática antiga, relatos demonstram que a vibração já era usada na Grécia Antiga. Nesta época era utilizada para acelerar a recuperação de lesões por meio de um artefato que ligava um membro lesionado, enfaixado por tecido, a uma lâmina metálica flexível que provocava a vibração (BOARO et al., 2011). Na década de 70, a vibração foi utilizada com objetivo de minimizar a perda da massa óssea e muscular de astronautas, durante a permanência no espaço. Com isto, verificou-se que as vibrações combatiam os efeitos da hipogravidade, por meio da aceleração causada pela vibração corporal (CASIMIRO et al., 2015; SILVA et al., 2015).

Na literatura estão descritos vários benefícios do uso da plataforma vibratória, dentre eles está à melhora da qualidade óssea, com uso de protocolos de 10 e 30 minutos de treino a 37 Hz, três vezes na semana, por 15 dias (DALTRO, BARRETO, ROSA, 2016). Aumento do recrutamento muscular, por meio da melhora da função neuromuscular, verificada por eletromiografia de diferentes músculos, durante treino com variadas frequências (10 – 40 Hz) (LEE, 2017), hipertrofia (CORBIERE et al., 2018) e aumento do número de fibras musculares (KOMRAKOVA et al., 2013), assim como promove aumento da densidade capilar (KOMRAKOVA et al., 2013, KANEGUCHI et al., 2014; PARK, SON, KWON, 2015). Também há melhora na dor e na capacidade funcional de pacientes com diagnóstico de lombalgia crônica, que realizaram 15 sessões de 45 minutos, compostas por exercícios cinesioterapêuticos em plataforma vibratória a 30 Hz (BALADELI et al., 2015). Além da melhora do equilíbrio e da marcha em idosas, que realizaram treino de 30 minutos, com 40 Hz, três vezes por semana, durante 12 semanas (CASIMIRO et al., 2015).

O equipamento é constituído por uma base vibratória que gera movimentos oscilatórios sinusoidais com amplitudes e frequências variáveis, provocando assim estímulos mecânicos de intensidades variadas, que são propagados por todo o corpo (HALLAL, MARQUES, GONÇALVES, 2010; PARK, SON, KWON, 2015). A vibração gerada pela plataforma vibratória produz uma alteração periódica da aceleração e do deslocamento, ao longo do tempo de treinamento sobre a plataforma (RUBIO-ARIAS et al., 2018). Os princípios deste tipo de exercício podem ser explicados pela Segunda Lei de Isaac Newton, a qual diz que a força (F) de um objeto é igual à massa (M) multiplicada pela sua aceleração (A) ($F = M \times A$), resultando assim em aumento da força por meio de aplicação de uma aceleração mesmo com a quantidade de massa constante (PARK, SON, KWON, 2015).

Algumas situações são critérios para contraindicação do uso da plataforma vibratória como: marca-passo cardíaco, diagnóstico de descolamento de retina, gestantes de risco, indivíduos com trombose aguda ou embolia, indivíduos em pós-operatório com quadro infeccioso, osteoporose em estágio avançado, neoplasias, labirintite e fraturas mal consolidadas (CASIMIRO et al., 2015; DALTRO, BARRETO, ROSA, 2016).

3.6 Plataforma vibratória no músculo estriado esquelético

Os resultados obtidos por meio da utilização da plataforma vibratória sugerem que sozinha, a vibração pode aumentar a força e potência muscular, podendo ser utilizada em qualquer faixa etária. Este método de treinamento pode ser considerado alternativo para melhorar a força muscular, visto que produz efeitos semelhantes quando comparados aos treinamentos compostos somente por exercícios contra-resistidos em intensidades moderadas (SILVA et al., 2015; JACOBSON et al., 2017; RUBIO-ARIAS et al., 2018).

As vibrações produzidas pela plataforma vibratória alteram o comprimento musculotendíneo, por meio da transmissão dos estímulos mecânicos para receptores sensíveis ao reflexo de estiramento, estes quando estimulados ativam os fusos musculares que são sensíveis a mudanças no comprimento das fibras musculares (PARK, SON, KWON, 2015; BACHA et al., 2016).

O estímulo de vibração induz alterações constantes no comprimento das fibras musculares, que são determinadas pela integração entre os estímulos neurais excitatórios e inibitórios. Enquanto as vibrações aumentam o disparo das fibras fusais aferentes por meio das fibras do tipo Ia, excitam os motoneurônios alfa, havendo assim a ativação proprioceptiva do sistema sensorial, resultando em contração muscular, por meio do reflexo de vibração tônico (RVT). Entretanto elas também emitem comandos para as fibras inibitórias aferentes do tipo Ib dos órgãos tendinosos de Golgi (OTG) que são sensíveis às variações nas tensões, havendo assim contrações sincrônicas da musculatura concêntrica e excêntrica (Figura 03) (HALLAL, MARQUES, GONÇALVES, 2010; CERCIELLO et al., 2016).

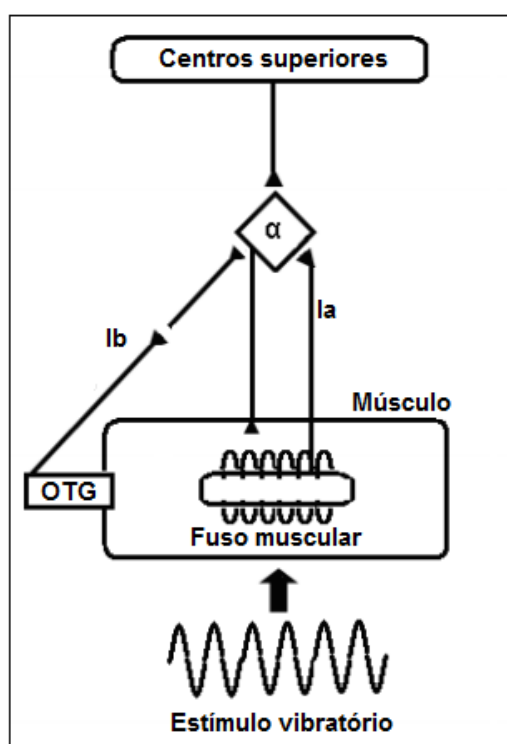


Figura 03: Mecanismo do Reflexo Tônico de Vibração (Adaptado de: HALLAL, MARQUES, GONÇALVES, 2010).

A vibração mecânica também pode induzir a estimulação da medula, levando assim a um controle nervoso mais eficiente do recrutamento destas fibras musculares (CERCIELLO et al., 2016). O resultado final é percebido por aumento da força e potência muscular, sendo que quanto maior o recrutamento e ativação dos motoneurônios maior a produção de força e potência (BALADELI et al., 2015; BACHA et al., 2016; GIRÃO-NETA).

Esse tipo de treinamento pode induzir a adaptação neural (o recrutamento, a taxa de disparo e a sincronização), aumentando consequentemente a força e a

potência muscular. O mecanismo principal está associado à regulação neural. A vibração mecânica induz a contração muscular reflexa, ou seja, não são voluntárias, e estimula ainda adaptações neuromusculares (BALADELI et al., 2015; BACHA et al., 2016; GIRÃO-NETA; JACOBSON et al., 2017; RUBIO-ARIAS et al., 2018; SPIELMANN et al., 2017).

O treinamento em plataforma vibratória pode desenvolver efeitos crônicos positivos, sendo mais vantajoso quando comparado a outros tipos de treinos, pois apresenta menor risco de lesões e aumenta a força muscular em períodos de tempo mais curtos e pode ainda ser realizado sem carga externa, sendo assim um método alternativo de exercícios (LEE, 2017; RUBIO-ARIAS et al., 2018).

4. METODOLOGIA

A metodologia utilizada na presente pesquisa está descrita na metodologia dos artigos científicos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção contempla os resultados da pesquisa, os quais serão apresentados e discutidos no formato de dois artigos científicos que serão enviados para publicação nas revistas *Motriz Journal* e *Muscle & Nerve*, cujas normas estão anexadas nesta dissertação (ANEXO 2 e ANEXO 3).

Artigo 01. Efeitos do treino em plataforma vibratória nos parâmetros histomofométricos do músculo sóleo de ratos *Wistar* obesos.

Artigo 02: Alterações nas junções neuromusculares e no estresse oxidativo do músculo sóleo de ratos *Wistar* obesos causadas pelo treino em plataforma vibratória.

ARTIGO CIENTÍFICO 01

**EFEITOS DO TREINO EM PLATAFORMA VIBRATÓRIA NOS PARÂMETROS
HISTOMORFOMÉTRICOS DO MÚSCULO SÓLEO DE RATOS *WISTAR* OBESOS**

REVISTA MOTRIZ

NORMAS DA REVISTA: ANEXO 02

Efeitos do treino em plataforma vibratória nos parâmetros histomorfométricos do músculo sóleo de ratos *Wistar* obesos

Efeitos da plataforma vibratória na histomorfometria muscular

Mariana Laís Boaretto^a, Bárbara Zanardini de Andrade^a, Jhyslayne Ignácia Hoff Nunes Maciel^a, Iranilda Moha^a, Sara Cristina Sagae Schneider^b, Márcia Miranda Torrejais^b, Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro^b e Gladson Ricardo Flor Bertolini^b.

^a Mestrandas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) - Campus Cascavel, Laboratórios de Estudo de Lesões e Recursos Fisioterapêuticos e de Biologia Estrutural e Funcional.

^b Professores doutores na UNIOESTE, Cascavel, PR – Brasil.

Autor responsável: Gladson Ricardo Flor Bertolini

Endereço eletrônico: gladson_ricardo@yahoo.com.br

Endereço para correspondência: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Cascavel, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

Rua Universitária, 2069 / Clínica de Fisioterapia, JD Universitário 85819110 - Cascavel, PR – Brasil.

Telefone: (45) 3220-3157

RESUMO

Objetivos: avaliar os efeitos que o treino em plataforma vibratória causa na histomorfometria e nos tipos de fibra do músculo sóleo de ratos *Wistar* com obesidade induzida por glutamato monossódico (MSG). Métodos: foram utilizados 32 filhotes machos de ratos *Wistar*, sendo que 16 deles sofreram indução da obesidade com injeções intradérmicas de MSG, igualmente randomizados em quatro grupos: controle (GC), controle com intervenção (GCP), obeso (GO) e obeso com intervenção (GOP). Aos 70 dias de idade dos animais iniciou-se o treino em plataforma vibratória adaptado a uma frequência de 60 Hertz e amplitude de 2 milímetros, realizado 3 vezes na semana, com duração de 10 minutos, durante 8 semanas consecutivas. Aos 130 dias de vida, os animais foram pesados e foi mensurado o comprimento nasoanal, em seguida foram eutanasiados e os músculos sóleos coletados e processados para análises. Os dados foram analisados estatisticamente quanto à normalidade pelo teste de *Shapiro-Wilk*, quanto à homogeneidade por meio do teste de *Bartlett*, ANOVA de dois fatores e teste de acompanhamento de *Tukey-HSD*, sendo adotado o nível de significância de 5%. Resultados: morfometricamente, os grupos obesos apresentaram hipotrofia muscular e o treinamento provocou aumento no número de fibras, aumento da contagem de núcleos, diminuição do tecido conjuntivo. Entretanto não houve distinção dos tipos de fibras musculares após o treino em plataforma vibratória. Conclusão: o treinamento em plataforma vibratória induziu efeitos benéficos no tecido muscular de ratos obesos, contudo tanto a obesidade quanto o treino não influenciaram no tipo de fibra do músculo sóleo.

Palavras-chave: obesidade; vibrações; músculo sóleo; morfologia; fibras musculares esqueléticas.

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença epidêmica, com aproximadamente 650 milhões de pessoas obesas em todo o mundo, sendo caracterizada como um acúmulo de gordura corporal que predispõe o desenvolvimento de diversas doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs)¹.

O excesso de tecido adiposo secreta citocinas pró-inflamatórias que desenvolvem uma inflamação sistêmica crônica e estimulam a degradação de proteína muscular, além de reduzir a síntese proteica, gerando perda de massa magra, o que corrobora para a condição de obesidade sarcopênica (OS)². A OS está relacionada com fraqueza muscular, rigidez do tecido conjuntivo, limitação à hipertrofia do músculo esquelético e também causa alterações neuromusculares, como desnervação das fibras³, sendo que a obesidade ainda está associada com a redução das fibras tipo I e remodelação das fibras do tipo IIa⁴.

A crescente taxa de obesidade é um dos principais desafios da saúde pública, tornando-se necessário a criação de novas políticas que envolvam a recuperação da saúde desta população, com incentivo ao desenvolvimento de hábitos de vida saudáveis e prática de exercícios físicos^{5,6}. O exercício físico regular causa modificações na composição corporal e no tecido musculoesquelético, por meio da ativação e contração de grandes grupos musculares gera-se adaptações funcionais e remodelação do tecido muscular, incluindo aumento do tamanho das mitocôndrias, ativação de células satélites, além de promover hipertrofia e hiperplasia das fibras musculares^{7,8}.

Buscando recuperar as alterações do tecido muscular causadas pela obesidade, vibrações de corpo inteiro são empregadas como uma modalidade de exercício físico que pode promover ganho de força^{9,10}, hipertrofia¹¹, aumento do número de fibras musculares, aumento da densidade capilar¹²⁻¹⁴ e ainda estimular adaptações neuromusculares após ativação dos fusos musculares^{1,15-18}.

Diante do exposto, constata-se a necessidade de pesquisas que assegurem recursos de tratamento aos indivíduos mais suscetíveis, dentre eles, a população com obesidade que por muitas vezes apresenta grandes limitações físicas, assim sendo, busca-se por informações relevantes para o tratamento de distúrbios decorrentes da obesidade no sistema muscular, a fim de aprimorar e facilitar a promoção e reabilitação da população que apresenta esta doença. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do treino em plataforma

vibratória na histomorfometria do músculo sóleo de ratos *Wistar* com obesidade induzida por glutamato monossódico.

MÉTODOS

O presente estudo teve caráter experimental, transversal e quantitativo, desenvolvido no Laboratório de Estudo de Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF) e no Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional (LABEF) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus de Cascavel - Paraná. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA) da UNIOESTE (protocolo nº 08/18).

Para o presente modelo experimental foram utilizados 32 ratos *Wistar* machos, destes 16 eram obesos (com obesidade induzida por glutamato monossódico [MSG]), que foram igualmente randomizados em quatro grupos: Grupo Controle (GC – controle sedentário/sem intervenção), Grupo Controle + Plataforma Vibratória (GCP – controle plataforma vibratória), Grupo Obeso (GO – MSG sedentário/sem intervenção), Grupo Obeso + Plataforma Vibratória (GOP – MSG + plataforma vibratória). Os animais foram mantidos no LELRF, em caixas padrão de polipropileno, em ambiente com temperatura de $22 \pm 1^\circ \text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas, recebendo água e ração (BioBase, Santa Catarina, SC, Brasil) *ad libitum*.

O protocolo para a indução da obesidade foi realizado durante os primeiros cinco dias de vida dos animais. Nesse período foi aplicada uma injeção intradérmica por dia de MSG, na dose de 4 mg/g de peso corporal para os animais do GO e GOP. Para o restante dos animais foi administrada solução salina hiperosmótica, a uma dose diária de 1,25 mg/g de peso corporal, de maneira semelhante para simular o mesmo estresse¹⁹.

Aos 70 dias de idade dos animais, iniciou-se a intervenção. Para o treino em plataforma vibratória foi utilizada a plataforma Vibro Oscilatória comercial da marca Arktus® triplanar profissional (Santa Tereza do Oeste, Paraná, Brasil) e foi realizado três vezes na semana, com duração de 10 minutos, durante oito semanas consecutivas. O protocolo utilizado foi adaptado a uma frequência de 60 Hz, com amplitude de vibrações de 2 mm²⁰. Para posicionar e conter os animais sobre a plataforma vibratória foi utilizado um suporte de madeira MDF adaptado, aberto na parte inferior, da cor branca, compartimentado, que permitiu posicionar separadamente oito animais, concomitantemente, em baias que possuíam 13

centímetros de largura, 19 centímetros de comprimento e altura de 25 centímetros, confeccionado de acordo com as dimensões do aparelho, de modo que não mantivesse contato com a base da plataforma e desta forma não interferisse nas vibrações. Em cada treino foi realizado rodízio no posicionamento dos animais nas baias, para minimizar vieses decorrentes da diferença da amplitude de vibração em áreas distintas da plataforma (Figuras 01A, 01B e 01C).

Aos 130 dias de idade após o término do período de treinamento, todos os animais tiveram o peso corporal e o comprimento nasoanal mensurados para verificar a incidência da obesidade por meio da análise do Índice de Lee, calculado pela raiz cúbica do peso corporal, dividido pelo comprimento nasoanal, multiplicado por 1000^{21,22}. Os animais apresentaram massa corporal (GC: 412±41 g; GCP: 396±62 g; GO: 326±18 g; GOP: 302±37 g) e Índice de Lee (GC: 282±34 g/cm³; GCP: 285±14 g/cm³; GO: 311±13 g/cm³; GOP: 298±8 g/cm³) compatíveis com a indução da obesidade nos animais do GO e GOP.

Imediatamente após as mensurações, os animais foram eutanasiados por overdose de anestésicos, com aplicação de xilazina 30 mg/kg e ketamina 300 mg/kg, intraperitonealmente, e na sequência foi realizada a coleta do músculo sóleo do membro pélvico direito. O tecido muscular foi dissecado, removido, pesado e seccionados em fragmentos, com uma lâmina de inox para posterior realização das análises.

Para mensuração das fibras musculares e do tecido conjuntivo, os fragmentos proximais foram removidos, fixados em metacarn e armazenados em álcool 70%. Posteriormente, foram submetidos ao procedimento histológico com desidratação em série crescente de álcool, diafanização em álcool N-butilíco, inclusão e emblocamento em parafina histológica, após os mesmos foram cortados transversalmente em 7 µm.

As secções transversas foram coradas em Hematoxilina-Eosina (HE). As lâminas foram analisadas em microscópio de luz, fotomicrografados os campos visuais no aumento de 400x e, em seguida, as fibras musculares foram analisadas quanto à área de secção transversa, o maior e o menor diâmetro da fibra muscular, sendo tais avaliações realizadas em 100 fibras por animal. Também foram analisadas as relações capilares e núcleos por fibra. Para isto estes foram morfológicamente identificados, marcados e contabilizados a partir de dez imagens com área de 2246,1 cm², por animal, somente daquelas fibras que eram visualizadas

por inteiro no campo visual e foram excluídos vasos e fibras que tocaram as margens direita e inferior da imagem, para evitar vieses e erros de contabilização. As análises foram realizadas com auxílio do programa Image-Pro-Plus 6.0. Já as lâminas coradas em Tricrômico de Masson e fotomicrografadas no mesmo aumento foram utilizadas para mensuração da porcentagem de tecido conjuntivo por meio da porcentagem de pixels, com auxílio do programa GIMP 2.0.

Para análise histoenzimológica foram utilizados os fragmentos distais, sendo os músculos mantidos em temperatura ambiente durante 40 minutos²³. Após esse período, o material foi coberto com talco neutro, para a preservação do tecido, de acordo com a técnica de Moline e Glenner²⁴. Posteriormente foram congelados em nitrogênio líquido durante dois minutos e acondicionados em criotubos, sendo logo em seguida armazenados em Biofreezer a -80°C. Para montagem das lâminas, os segmentos musculares congelados foram transferidos para câmara de criostato (LUPETEC CM 2850 Cryostat Microtome) a -20°C, sendo mantidos no equipamento por 30 minutos. Em seguida, os segmentos tiveram uma extremidade colada em um suporte metálico, utilizando Tissue Freezing Medium (Leica) e após foram seccionados transversalmente a 7µm de espessura.

Para análise do metabolismo oxidativo e glicolítico das fibras musculares, as secções transversais foram submetidas à reação NADH-TR (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo - Tetrazolium Reductase) conforme técnica de Pearse²⁵, modificada por Dubowitz e Brooke²⁶. Essa análise quantifica os diferentes tipos de fibras musculares (I, IIa e IIb), de acordo com a tonalidade apresentada nas fibras após a reação enzimática. Para cada animal, foram escolhidos três campos microscópicos aleatoriamente no aumento de 200x para contabilização dos tipos de fibras.

Os dados obtidos foram tabulados em planilhas no Microsoft Excel 2010 e foram expressos e analisados por meio da estatística descritiva e inferencial, foram avaliados quanto à presença de outliers por meio do diagnóstico de exclusão de regressão, cujos valores foram substituídos pela média do grupo. Após foram analisados quanto à normalidade pelo teste de *Shapiro-Wilk* e quanto à homogeneidade por meio do teste de *Bartlett*. Os resultados foram avaliados quanto sua significância por meio da Análise da Variância (Anova) de dois fatores, considerando o fator obesidade, com os níveis obeso e não obeso e o fator exercício, com os níveis exercício e não exercício. O teste de acompanhamento

utilizado foi o teste *Tukey-HSD*. O nível de significância adotado foi de 5%, para todos os testes foi utilizado o programa R 3.5.1.

RESULTADOS

Ao realizar a análise da massa do músculo sóleo por 100 gramas de massa corporal, foi possível observar que houve diferença significativa entre os grupos ($F=22,69$; $p<0,01$), sendo que o grupo GC e o GCP obtiveram médias de massa muscular significativamente maiores quando comparadas com os grupos GO e o GOP. Porém, ao avaliar os grupos quanto ao uso ou não da plataforma, as médias de massa muscular não diferiram estatisticamente ($F=0,5170$; $p=0,47$), não havendo interação significativa entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F=0,6037$; $p=0,44$) (Tabela 01).

Análise morfológica do tecido muscular

Os músculos sóleos do GC apresentaram o aspecto morfológico característico do tecido, com fibras musculares com formato poligonal, dispostas em fascículos, com núcleos periféricos, além de apresentar tecido conjuntivo do endomísio e perimísio íntegro, com vascularização preservada (Figura 02A).

Para o GCP, que realizou treinamento em plataforma vibratória, os músculos sóleos apresentaram aspectos morfológicos semelhantes ao GC, porém com fibras musculares aparentemente menores (Figura 02B).

Já no GO foi possível observar fibras poligonais e uma pequena quantidade de fibras amorfas, além de desorganização tecidual (as fibras perderam a disposição em fascículos), havendo também presença de infiltrado inflamatório (Figura 02C).

Quanto ao GOP foi encontrada semelhança morfológica com o GC, porém com as fibras musculares ainda aparentemente menores (Figura 02D).

Área de secção transversa, maior e menor diâmetro do músculo sóleo

Quanto à análise da área de secção transversa, houve diferença significativa entre os grupos (OBESIDADE – $F=71,225$; $p<0,01$; PLATAFORMA – $F=5,874$; $p=0,02$). Demonstrando que os grupos controles (GC e GCP) obtiveram médias maiores de secção quando comparados com os grupos obesos (GO e GOP), comprovando o efeito de hipotrofia causado pela obesidade. Porém, os grupos GCP e GOP, que realizaram exercícios na plataforma vibratória apresentaram médias de

secção ainda menores do que o GC e GO, que não realizaram o exercício, indicando que este exercício induziu a diminuição da área da fibra muscular. Ainda, houve interação entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F=5,013$; $p=0,03$) evidenciando que o exercício em plataforma diminuiu o tamanho das fibras musculares do sóleo nos animais com obesidade (Figura 02E).

Para o maior diâmetro também houve diferença significativa entre os grupos (OBESIDADE – $F=72,379$; $p<0,01$; PLATAFORMA – $F=7,244$; $p=0,01$), com resultados similares ao da variável secção transversa, sendo que os grupos controle apresentaram médias de maior diâmetro mais elevadas que os grupos obeso, assim como os grupos que realizaram exercício apresentaram médias menores para esta variável. Também houve interação entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F=4,625$; $p=0,04$), indicando que o exercício alterou os valores de maior diâmetro nos grupos obesos que realizaram treinamento (Figura 02F).

Para o menor diâmetro houve diferença significativa apenas entre os grupos obesos e os grupos controle ($F=45,981$; $p<0,01$), sendo que os grupos obesos apresentaram médias de menor diâmetro reduzidas quando comparado com os grupos controle, comprovando que a obesidade influencia nesta variável. Já para os grupos que foram submetidos à plataforma ou não, estes apresentaram médias semelhantes, não havendo diferenças significativas entre eles ($F=0,638$; $p=0,43$). Também não houve interação entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F=3,424$; $p=0,07$) (Figura 02G).

Quanto à relação de capilares por fibra houve diferença significativa entre os grupos (OBESIDADE - $F=134,95$; $p<0,01$; PLATAFORMA - $F=55,03$; $p<0,01$), sendo que os grupos obesos apresentaram menor relação de capilares por fibra quando comparado com os grupos controle, demonstrando influência da obesidade nesta variável. Já os grupos que foram submetidos ao exercício em plataforma vibratória apresentaram maior relação de capilares/fibras quando comparados com os grupos que não realizaram o treino, indicando que o exercício é capaz de aumentar a vascularização do tecido muscular. Porém, não houve interação entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F=0,05$; $p=0,81$) (Figura 03A).

Na relação de núcleos por fibra houve diferença significativa entre os grupos (OBESIDADE - $F=22,23$; $p<0,01$; PLATAFORMA - $F=45,18$; $p<0,01$), sendo que os grupos obesos apresentaram menor relação de núcleos por fibra quando comparados com os grupos controle, demonstrando que a obesidade promove

influência nesta variável. Já os grupos submetidos ao exercício apresentaram maior relação de núcleos/fibras quando comparados com os grupos que não realizaram o treino, indicando que o exercício é capaz de aumentar a quantidade de núcleos por fibra muscular. Houve também interação entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F=10,95$; $p<0,01$), demonstrando que há diferença entre GOP e GO, comprovando que o exercício causa influência sobre a relação de núcleos/fibra (Figura 03B).

Tecido Conjuntivo

Ao analisar a porcentagem de tecido conjuntivo do músculo sóleo, houve diferença significativa entre os grupos (OBESIDADE – $F=4,7205$; $p=0,03$; PLATAFORMA – $F=8,1278$; $p<0,01$). Os grupos GO e GOP quando comparados com os grupos GC e GCP apresentaram médias mais elevadas, demonstrando que a obesidade induz aumento do tecido conjuntivo. Os grupos GCP e GOP, submetidos ao exercício em plataforma vibratória, apresentaram médias menores quando comparada aos grupos GC e GO, que não realizaram o treinamento, indicando que o exercício foi eficiente em diminuir o tecido conjuntivo do músculo sóleo. Entretanto, não houve interação significativa entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F=1,5591$; $p=0,22$), comprovando que não houve diferença entre os grupos GOP e GO (Figura 04).

Tipo de fibras musculares

Ao analisar os tipos de fibras do músculo sóleo por meio da técnica de NADH-TR, foi observado que não houve diferenciação entre as fibras musculares oxidativas (tipo I), fibras intermediárias (tipo IIa) e fibras glicolíticas (tipo IIb), pois não houve alternância entre a intensidade das colorações características da técnica (Figura 05).

DISCUSSÃO

Sobre os modelos de indução da obesidade, Gomes et al.²⁷, verificaram que o modelo MSG é capaz de promover mudanças no peso corporal e no índice de Lee dos animais, resultados que são semelhantes ao encontrado no presente estudo, no qual os animais MSG apresentaram peso corporal reduzido e diminuição do comprimento nasoanal, que pode ser explicado pela lesão hipotalâmica e o déficit de GH corporal²⁸. Devido ao decréscimo de secreção de GH nestes animais ocorre

diminuição do crescimento corporal, com consequente diminuição do comprimento e massa do tecido muscular^{29,30} quando comparado com indivíduos saudáveis, sendo que estas alterações também ocorrem em outros modelos de obesidade como encontrado por Paturi et al.³¹.

A obesidade causou alterações no músculo sóleo, com redução na área de secção transversa, maior e menor diâmetro da fibra muscular, resultados morfometricamente significativos no GO. Segundo Bollinger³², em uma revisão sistemática, a obesidade provoca diversas alterações fisiológicas e estruturais que exercem influência negativa no tecido muscular, desenvolvendo diminuição de força, potência relativa e maior propensão à fadiga. Tamilarasan et al.³³, demonstraram que devido ao acúmulo ectópico de lipídios em animais obesos ocorre indução de apoptose e dano ao músculo esquelético, levando à lesão dos sarcômeros e das estruturas miofibrilares, além de regeneração muscular reduzida, evidenciada pela redução da área de secção transversa de miofibrilas após lesão. Ainda, Matsakas et al.³⁴, obtiveram achados de alterações no desenvolvimento muscular embrionário de ratos que tiveram indução de obesidade materna por dieta hiperlipídica, os embriões apresentaram redução no número total e na área de secção transversa das miofibrilas, além de exibirem grande número de fibras com núcleos centrais indicando remodelação e regeneração das mesmas, fatos também relatados na revisão de Akhmedov e Berdeaux³⁵.

Na literatura estudos que também avaliaram os efeitos do uso de vibrações corporais no tecido muscular identificaram diminuição da área de secção transversa com o treinamento a uma frequência de 35 e 70 Hz¹⁴ e ainda observaram diminuição da força de contração muscular em animais treinados por 3 ou 6 meses com vibrações a uma frequência de 50 Hz com amplitude de 2,5 mm³⁶, resultados que são semelhantes ao do presente estudo em que os animais submetidos ao treino apresentaram diminuição da área de secção transversa, maior e menor diâmetro da fibra muscular. Krajnak et al.³⁷, em uma revisão sistemática encontraram que, animais expostos a vibrações em frequências superiores a 20 Hz tiveram lesão na estrutura e função dos músculos periféricos. No estudo de Yan et al.³⁸, os roedores que foram submetidos a vibrações corporais a 60 Hz, 5 horas diárias durante 10 dias também apresentaram intensa atrofia muscular com profundas deteriorações.

A prática regular de exercício intenso associada a processos reparadores inadequados induz aumento de enzimas musculares proteolíticas gerando um

processo de lesão estrutural das miofibrilas³⁹, além de causar danos no DNA celular que implica em efeitos negativos significativos na divisão celular⁴⁰, ainda, movimentos repetitivos em esforço excessivo também levam a graves lesões musculares⁴¹, tendíneas⁴² e cartilaginosas⁴³. De acordo com estes achados a hipotrofia muscular dos animais neste estudo pode estar relacionada à intensidade do exercício e o tempo de duração, visto que as vibrações corporais a 60 Hz são exercícios de alta frequência e o treinamento pode ter provocados efeitos deletérios nas miofibrilas, sendo que conforme aumenta o tempo de exposição dos animais as vibrações piores são os efeitos no tecido muscular.

Já alguns autores encontraram efeitos positivos das vibrações sobre as fibras musculares, Corbiere et al.¹¹ utilizaram vibrações corporais em 45 ou 90 Hz, durante sete ou 14 dias, em animais imediatamente após lesão do músculo gastrocnêmio e encontraram hipertrofia das fibras musculares. Chen et al.⁴⁴ também identificaram melhora da força muscular e diminuição da fadiga em animais que realizaram treino 5 dias consecutivos por 4 semanas com vibrações a uma frequência de 5,6 Hz associado a carga. Contudo, estas pesquisas diferem do presente estudo, visto que em uma foi provocada uma lesão muscular que é um fator mais agressivo do que a obesidade e na outra as vibrações foram utilizadas em frequências muito mais baixas, sugerindo que os efeitos lesivos das vibrações são provocados pela associação de altas frequências e tempos prolongados de treinamento.

Apesar de haver aumento no número de estudos experimentais no que tange o uso da plataforma vibratória e seus efeitos no tecido muscular, ainda são poucas as pesquisas que demonstram os efeitos do seu uso na morfologia do músculo de animais obesos. Contudo, sabe-se que a obesidade causa impacto negativo no músculo esquelético apresentando diminuição na capacidade de resposta a sinais de crescimento, dificuldade de adaptação muscular frente à imposição de cargas mecânicas e atenuação da hipertrofia provocada por exercícios contra-resistidos^{31,45}.

A respeito da densidade capilar houve diferença entre os grupos, sendo que a contagem de números de capilares por fibra muscular dos animais obesos foi menor quando comparado com os animais dos outros grupos. No trabalho de Gavin et al.⁴⁶, foi demonstrado menor densidade capilar e menor razão de capilares por fibra no músculo esquelético de homens obesos. Há estudos que demonstram influência positiva do exercício físico na capilarização do tecido muscular, refletindo em aumento do número de capilares, proporcionando melhora da capacidade

metabólica no músculo esquelético⁴⁷. O estudo de Komrakova et al.¹⁴, aponta para um aumento da densidade de capilares em animais submetidos as vibrações mecânicas diárias a 70 Hz por 30 dias, Kaneguchi et al.¹³, também encontraram efeitos da vibração mecânica na angiogênese do músculo sóleo com aumento dos números de capilares em animais submetidos a um modelo de atrofia muscular, corroborando com os achados do presente estudo em que houve diferença significativa entre os grupos que realizaram o treino em plataforma vibratória e os demais animais, demonstrando que o exercício melhora a capilarização muscular, entretanto sabe-se que o aumento da vascularização também é o primeiro passo para o processo de reparo tecidual sendo necessário para promover maior aporte sanguíneo ao músculo esquelético⁴⁸, assim sendo as vibrações mecânicas, por aparentemente terem exercido efeito maléfico no músculo esquelético, podem ter induzido aumento da rede de capilares na tentativa de gerar o reparo tecidual.

A contagem de núcleos celulares apresentou diferenças significativas nos animais obesos, outra alteração que é provocada pelo acúmulo de gordura corporal. Gundersen⁴⁹, em uma revisão sobre atrofia e hipertrofia muscular relatou que na presença de atrofia os núcleos sofrem apoptose e que para o desenvolvimento da hipertrofia é necessário o aumento da síntese proteica e maior quantidade de número de núcleos na fibra muscular, que precede o crescimento radial. No presente estudo o treino em plataforma vibratória foi capaz de aumentar a quantidade de núcleos por fibras musculares, demonstrando a plasticidade do tecido muscular no GOP.

Na literatura os estudos realizados com plataforma vibratória são escassos no que se refere a esta análise. Porém acredita-se que o aumento na contagem de núcleos nos animais treinados ocorreu devido ao processo de recuperação do tecido muscular que, por meio da ativação do sistema imunológico^{48,50}, promove a fusão de núcleos provenientes das células satélites com proliferação e diferenciação celular, consequências que ocorrem pela ativação de vias anabólicas⁵¹ em resposta às microlesões causadas pelo exercício^{52,53}. Com este achado sugere-se que a alta frequência proporcionada pelo exercício durante 8 semanas foi maléfica provocando microtraumas e atrofia das miofibrilas, contudo a plataforma também foi capaz de desencadear o processo de reparação tecidual. Desta forma estudos futuros com períodos de treinamento maiores e com mais tempo de adaptação ao exercício

podem encontrar resultados diferenciados ao do presente estudo em relação a remodelação muscular.

O tecido conjuntivo tem papel na transmissão da força entre os músculos e os ossos, na manutenção da organização tecidual, na proteção e reparação de lesões musculares, contudo quando está presente em excesso ou apresenta rigidez tecidual pode influenciar de maneira negativa a função muscular⁵⁴. Pode-se perceber que a obesidade elevou a porcentagem de tecido conjuntivo nos animais do GO fato que pode estar associado e ser explicado pela diminuição da atividade física⁵⁵ a qual promove imobilidade, desuso e atrofia muscular. Este tecido pode sofrer alterações como migração e proliferação de fibroblastos, mediante diversos estímulos⁵⁶, podendo ser provocado pelo imobilismo⁵⁷, lesão muscular, lesão nervosa e exercício físico⁵⁸, achados estes que são semelhantes ao encontrado nesta pesquisa, em que os grupos que realizaram treinamento em plataforma vibratória apresentaram diminuição significativa da porcentagem de tecido conjuntivo.

Em relação à diferenciação dos tipos de fibras, estudos confirmam que o sóleo é um músculo postural profundo e possui fibras predominantemente oxidativas^{59,60}. Neste estudo não foram observadas diferenças entre os grupos, não sendo encontradas distinções entre os tipos de fibras, com predomínio apenas de fibras oxidativas, achados semelhantes ao de Camargo Filho et al.⁶¹, que verificaram por meio a reação de NADH-TH o predomínio de fibras oxidativas no músculo sóleo. O estudo de Deschenes et al.⁶², também verificou que o músculo sóleo é composto por cerca de 95% de fibras tipo I, não havendo mudanças no tipo de fibra mesmo frente a um modelo de atrofia muscular. Contudo, estudos demonstram que as alterações metabólicas e a obesidade provocam modificações na composição do tecido músculo esquelético⁶³. Ocorre diminuição de fibras tipo I as quais são transformadas em sua maioria em fibras tipo IIa^{64,65}, com consequente redução da atividade de enzimas oxidativas e aumento da atividade enzimática glicolítica⁶⁶. Assim sugere-se a realização de novos estudos com diferentes grupos musculares que tenham outras características contráteis.

CONCLUSÃO

Com isto conclui-se que a obesidade, no modelo proposto, causou alterações na morfologia da musculatura de ratos *Wistar*, com fibras musculares de menor tamanho, redução no número de núcleos e relação capilares/fibras e ainda maior porcentagem de tecido conjuntivo. Já o treinamento em plataforma vibratória produziu efeitos benéficos no tecido muscular com aumento do número de fibras musculares, aumento na relação de núcleos e capilares por fibra, bem como diminuição da quantidade de tecido conjuntivo. Ainda, nem a obesidade e nem a plataforma vibratória foram capazes de mudar a constituição dos tipos de fibras musculares permanecendo um músculo predominantemente com fibras oxidativas.

REFERÊNCIAS

1. WHO. World Health Organization. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/obesity/en/>>. Acesso em: 05 jan. 2019.
2. Tomlinson DJ. The impact of obesity on skeletal muscle strength and structure through adolescence to old age. *Biogerontology* 2016; 17(3): 467-83.
3. Rahemi H, Nigam N, Wakeling JM. The effect of intramuscular fat on skeletal muscle mechanics: implications for the elderly and obese. *Journal Royal Society Interface* 2015; 12(109): 365-72.
4. Talbot J, Maves L. Skeletal muscle fiber type: using insights from muscle developmental biology to dissect targets for susceptibility and resistance to muscle disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology* 2016; 5: 518-34.
5. Almeida L, Ramos K, Randow R, Guerra V. Estratégias e desafios da gestão da atenção primária à saúde no controle e prevenção da obesidade. *Revista Eletrônica Gestão & Saúde* 2017; 8(1): 114-39.
6. Schuh DS, Goulart MR, Barbiero SM, Sica CD, Borges R et al. Escola saudável é mais feliz: design e protocolo de um ensaio clínico randomizado desenvolvido para prevenir o ganho de peso em crianças. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia* 2017; 108(6): 501-7.
7. Frontera WR, Ochala J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. *Calcified Tissue International and Musculoskeletal Research* 2015; 96(3): 183-95.

8. Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metabolism* 2013; 17: 162-84.
9. Anwer S, Alghadir Um, Zafar H, Al-EISA E. Effect of whole body vibration training on quadriceps muscle strength in individuals with knee osteoarthritis: a systematic review and meta analysis. *Physiotherapy* 2016; 102(2): 145-51.
10. Cerciello S, Rossi S, Visonà E, Corona K, Oliva F. Clinical applications of vibration therapy in orthopaedic practice. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal* 2016; 6(1): 147-56.
11. Corbiere TF, Weinheimer-Haus EM, Judex S, Koh TJ. Low-intensity vibration improves muscle healing in a mouse model of laceration injury. *Journal Functional Morphology and Kinesiology* 2018; 3 (1).
12. Park SY, Son WM, Kwon OS. Effects of whole body vibration training on body composition, skeletal muscle strength, and cardiovascular health. *Journal of Exercise Rehabilitation* 2015; 11(6): 289-95.
13. Kaneguchi A, Ozawa J, Kawamata S, Kurose T, Yamaoka K. Intermittent whole-body vibration attenuates a reduction in the number of the capillaries in unloaded rat skeletal muscle. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2014; 15(315): 01-9.
14. Komrakova M, Sehmisch S, Tezval M, Ammon J, Lieberwirth P, Sauerhoff C et al. Identification of a vibration regime favorable for bone healing and muscle in estrogen-deficient rats. *Calcified Tissue International* 2013; 92(6): 509-20.
15. Rubio-Arias JÁ, Ramos-Campo DJ, Esteban P, Martínez F, Jiménez JF. Effect of 6-weeks WBVT on the behavior of the lower limb muscle fibres during vertical jumping. *Journal of Sports Sciences* 2018; 36 (4): 398-406.
16. Girão-Neta AO, Silva VO, Almeida MRM. Aplicações da plataforma vibratória para tratamento fisioterapêutico: uma revisão integrativa de literatura. *Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica* 2017; 3(1): 01-4.
17. Jacobson BH, Monaghan TP, Sellers JH, Conchola EC, Pope ZK, Glass RG. Acute effect of biomechanical muscle stimulation on the counter-movement vertical jump power and velocity in division i football players. *Journal of Strength and Conditioning Research* 2017; 31(5): 1259-64.

18. Spielmanns M, Gloeckl R, Gropp JM, Nell C, Koczulla AR, Boeselt T et al. Whole-Body Vibration training during a low frequency outpatient exercise training program in chronic obstructive pulmonary disease patients: a randomized, controlled trial. *Journal of Clinical Medicine Research* 2017; 9(5): 396-402.
19. Cantelli KR, Soares GM, Ribeiro RA, Balbo SL, Lubaczeuski C, Boschero AC. Duodenal-jejunal bypass normalizes pancreatic islet proliferation rate and function but not hepatic steatosis in hypothalamic obese rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2017; 50(5): 01-11.
20. Butezloff MM, Zamarioli A, Leoni GB, Sousa-Neto MD, Volpon JB. Whole-body vibration improves fracture healing and bone quality in rats with ovariectomy-induced osteoporosis. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2015; 30(11): 727-35.
21. Lee MO. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *American Journal of Physiology* 1928; 89: 24–33.
22. Bernardis LL, Patterson BD. Correlation between "Lee index" and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *Journal of Endocrinology* 1968; 40(4): 527-8.
23. Khan MA. The histoenzymology of striated muscle fibers an overview. *Molecular Biology of the Cell* 1977; 22: 383-93.
24. Moline SW, Glenner GG. Ultrarapid tissue freezing in liquid nitrogen. *Journal of Histochemistry e Cytochemistry* 1964; 12: 777-8.
25. Pearse AGE. *Histochemistry: theoretical and applied*. 3. ed. Baltimore: Williams e Wilkins, 1972.
26. Dubowitz V, Brooke MH. *Muscle biopsy: a modern approach*. London: Saunders 1973; 475p.
27. Gomes RM, Marques AS, Torrezan R, Scomparin DX. Effect of moderate exercise program on rats from different models of obesity. *Revista Educação Física/UEM* 2012; 23(2): 285-94.

28. Bahadoran Z, Mirmiran P, Ghasemi A. Monosodium Glutamate (MSG)-Induced Animal Model of Type 2 Diabetes. *Pre-Clinical Models: Techniques and Protocols, Methods in Molecular Biology* 2019; 1916: 49-65.

29. Wang J, Leung KS, Chow SKH, Cheunga WH. Inflammation and age-associated skeletal muscle deterioration (sarcopaenia). *Journal of Orthopaedic Translation* 2017; 10: 94-101.

30. Thomas GA, Kraemer WJ, Comstock BA, Dunn-Lewis C, Maresh CM, Volek JS. Obesity, growth hormone and exercise. *Sports Med.* 2013; 43(9): 839-49.

31. Paturi S, Gutta AK, Kakarla SK, Katta A, Arnold EC, Wu M et al. Impaired overload-induced hypertrophy in obese Zucker rat slow-twitch skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 2010; 108: 07–13.

32. Bollinger L. Potenciais contribuições da disfunção contrátil do músculo esquelético para biomecânica alterada na obesidade. *Marcha e postura* 2017; 56: 100-7.

33. Tamilarasan KP, Temmel H, Das SK, Zoughbi WA, Schauer S, Vesely PW et al. Skeletal muscle damage and impaired regeneration due to LPL-mediated lipotoxicity. *Cell Death and Disease* 2012; 3(354): 01-8.

34. Matsakas A, Prosdocimo DA, Mitchell R, Collins-Hooper H, Giallourou N, Swann JR et al. Investigating mechanisms underpinning the detrimental impact of a high-fat diet in the developing and adult hypermuscular myostatin null mouse. *Skeletal Muscle* 2015; 5(38): 01-21.

35. Akhmedov D, Berdeaux, R. The effects of obesity on skeletal muscle regeneration. *Frontiers in Physiology* 2013; 4(371): 01-12.

36. Łochyński D, Kaczmarek D, Redowicz MJ, Celichwski J. Long-term effects of whole-body vibration on motor unit contractile function and myosin heavy chain composition in the rat medial gastrocnemius. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions* 2013, 13(4): 430-41.

37. Krajnak K, Riley DA, Wu J, Mcdowell T, Welcome DE, Xu XS et al. Frequency-dependent effects of vibration on physiological systems: experiments with animals and other human surrogates. *Industrial Health* 2012; 50(5): 343-53.

38. Yan JG, Matloub HS, Sanger JR, Zhang LL, Riley DA. Vibration-induced disruption of retrograde axoplasmic transport in peripheral nerve. *Muscle Nerve* 2005; 32: 521–526.

39. Córdova A, Navas FJ. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 2000; 6(5): 204-8.

40. Waugh S, Kashon ML, Li S, Miller GR, Johnson C, Krajnak K. Transcriptional pathways altered in response to vibration in a model of hand-arm vibration syndrome. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 2016; 58(4): 344-50.

41. Barbe MF, Barr AE. Inflammation and the pathophysiology of work-related musculoskeletal disorders. *Brain, Behavior, and Immunity* 2006; 20(5): 423-29.

42. Glazebrook MA, Wright Jr JR, Langman M, Stanish WD, Lee JM. Histological analysis of achilles tendons in an overuse rat model. *Journal of Orthopaedic Research* 2008; 840-6.

43. Parks AN, McFaline-Figueroa J, Coogan A, Poe-Yamagata E, Guldberg RE, Platt MO et al. Supraspinatus tendon overuse results in degenerative changes to tendon insertion region and adjacent humeral cartilage in a rat model. *Journal of Orthopaedic Research* 2017; 1910-8.

44. Chen YM, Lee HC, MT Chen, Huang CC, Chen WC. Dehydroepiandrosterone supplementation combined with Weight-Loading Whole-Body Vibration Training (WWBV) affects exercise performance and muscle glycogen storage in middle-aged C57BL/6 mice. *International Journal of Medical Sciences* 2018; 15(6): 564-73.

45. Sitnick M, Bodine SC, Rutledge JC. Chronic high fat feeding attenuates load-induced hypertrophy in mice. *The Journal of Physiology* 2009; 587(23): 5753-65.

46. Gavin TP, Stallings HW, Zwetsloot KA, Westerkamp LM, Ryan NA, Moore RA et al. Lower capillary density but no difference in VEGF expression in obese vs. lean young skeletal muscle in humans. *Journal of Applied Physiology* 2005; 98(1): 315–21.

47. Yan Z, Lira VA, Greene NP. Exercise training-induced regulation of mitochondrial quality. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 2012; 40(3): 159-64.

48. Tidball JG, Villalta SG. Regulatory interactions between muscle and the immune system during muscle regeneration. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2010; 298: 1173-87.

49. Gundersen K. Muscle memory and a new cellular model for muscle atrophy and hypertrophy. *Journal of Experimental Biology* 2016; 219(2): 235-42.

50. Baoge L, Steen EVD, Rimbaut S, Philips N, Witvrouw E, Almqvist KF et al. Treatment of skeletal muscle injury: a review. *International Scholarly Research Network* 2012; 2012: 01-7.

51. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell* 2012; 149(2): 274-93.

52. Bucci M, Vinagre EC, Campos GER, Curi R, Pithon-Curi TC. Efeitos do treinamento concomitante hipertrofia e endurance no músculo esquelético. *Revista Brasileira Ciência e Movimento* 2005; 13(1): 17-28.

53. Ramos LA, Carvalho RT, Abdalla RJ, Ingham SJM. Surgical treatment for muscle injuries. *Current Reviews in Musculoskeletal Medicine* 2015; 8: 188-92.

54. Gillies AR, Lieber RL. Structure and function of the skeletal muscle extracellular matrix. *Muscle Nerve* 2011; 44(3): 318-31.

55. Wright T, Langley-Evans SC, Voigt JP. The impact of maternal cafeteria diet on anxiety-related behaviour and exploration in the offspring. *Physiology & Behavior* 2011; 103(2): 164-72.

56. Serrano AL, Muñoz-Cánoves P. Regulation and dysregulation of fibrosis in skeletal muscle. *Experimental Cell Research* 2010; 316: 3050-8.

57. Rocha WA, Gobbi GA, Araujo VF, Santuzzi CH. Muscle morphological changes in response to passive stretching in an animal model of prolonged immobilization of hind limb. *Revista Brasileira Medicina e Esporte* 2010; 16(6): 450-4.

58. Santana Junior A, Debastiani JC, Buratti P, Peretti AL, Kunz RI, Brancalhão RMC et al. Sericina e natação sobre parâmetros histomorfométricos de músculo plantar desnervado de ratos *Wistar*. *Einstein* 2018; 16(1): 01-6.

59. Haizlip KM, Harrison BC, Leinwand LA. A. Sex-based differences in skeletal muscle kinetics and fiber-type composition. *Physiology* 2015; 30(1): 30-9.
60. Camargo Filho JCS, Vanderlei LCM, Camargo RCT, Oliveira DAR, Oliveira Júnior SA, Pai VD. Análise histológica, histoquímica e morfométrica do músculo sóleo de ratos submetidos a treinamento físico em esteira rolante. *Arquivos de Ciências da Saúde* 2005; 12(3): 196-9.
61. Camargo Filho JCS, Garcia BC, Kodama FY, Bonfim MR, Vanderlei LCM, Ramos EMC et al. Efeitos do exercício aeróbio no músculo esquelético de ratos expostos à fumaça de cigarro. *Revista Brasileira Medicina do Esporte* 2011; 17(6): 416-9.
62. Deschenes MR, Adan MA, Kapral MC, Kressin KA, Leathrum CM, Seo A et al. Neuromuscular adaptability of male and female rats to muscle unloading. *Journal of Neurology Research* 2018; 96(2): 284-96.
63. Tallis J, James RS, Seebacher F. The effects of obesity on skeletal muscle contractile function. *Journal of Experimental Biology* 2018; 221: 01-14.
64. Eshima H, Tamura Y, Kakehi S, Kurebayashi N, Murayama T, Nakamura K et al. Long-term, but not short-term high-fat diet induces fiber composition changes and impaired contractile force in mouse fast-twitch skeletal muscle. *Physiological Reports* 2017; 5(7): 01-12.
65. Adachi T, Kikuchi N, Yasuda K, Anahara R, Gu N, Matsunaga T, et al. Fibre type distribution and gene expression levels of both succinate dehydrogenase and peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α of fibres in the soleus muscle of Zucker diabetic fatty rats. *Experimental Physiology* 2007; 92(2): 449-55.
66. Oberbach A, Bossenz Y, Lehmann S, Niebauer J, Adams V, Paschke R et al. Altered fiber distribution and fiber-specific glycolytic and oxidative enzyme activity in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29(4): 895-900.

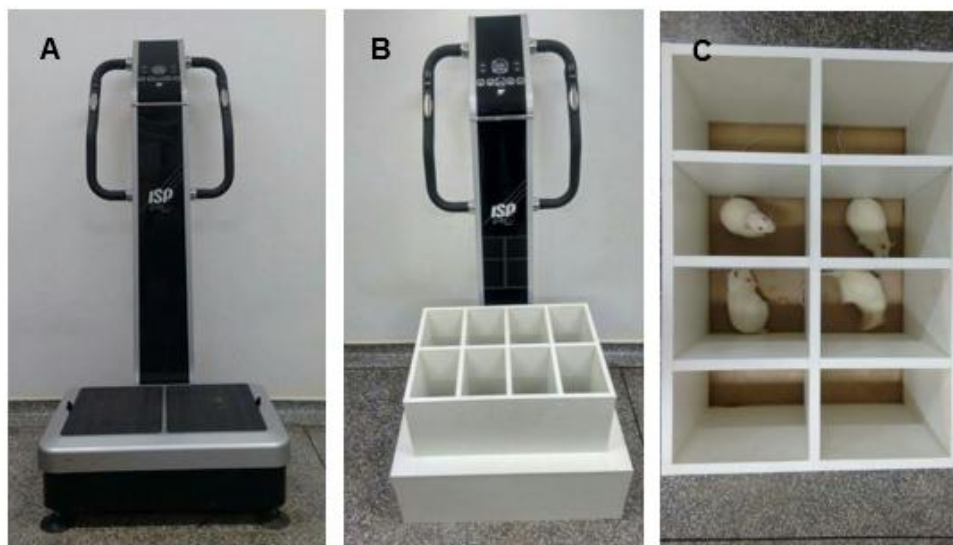


Figura 01: Fotografias da plataforma vibratória (A) e do suporte adaptado utilizado, em vista frontal (B) e vista superior (C).

Tabela 01: Análise do massa do músculo sóleo por 100 gramas de massa corporal.

		p-valor da interação		
		OBESIDADE	PV	OBESIDADE + PV
GRUPOS	Massa do músculo sóleo (g/100g)			
	GC	0,043±0,004 ^a		
	GCP	0,045±0,002 ^a	<0,01	0,47
	GO	0,038±0,003 ^b		
	GOP	0,038±0,005 ^b		0,44

Legenda: GC: Grupo Controle; GCP: Grupo Controle Plataforma; GO: Grupo Obesos e GOP: Grupo Obesos + Plataforma. Valores expressos em média±desvio padrão. Letras minúsculas e diferentes representaram diferença estatisticamente significativa isolada do fator OBESIDADE.

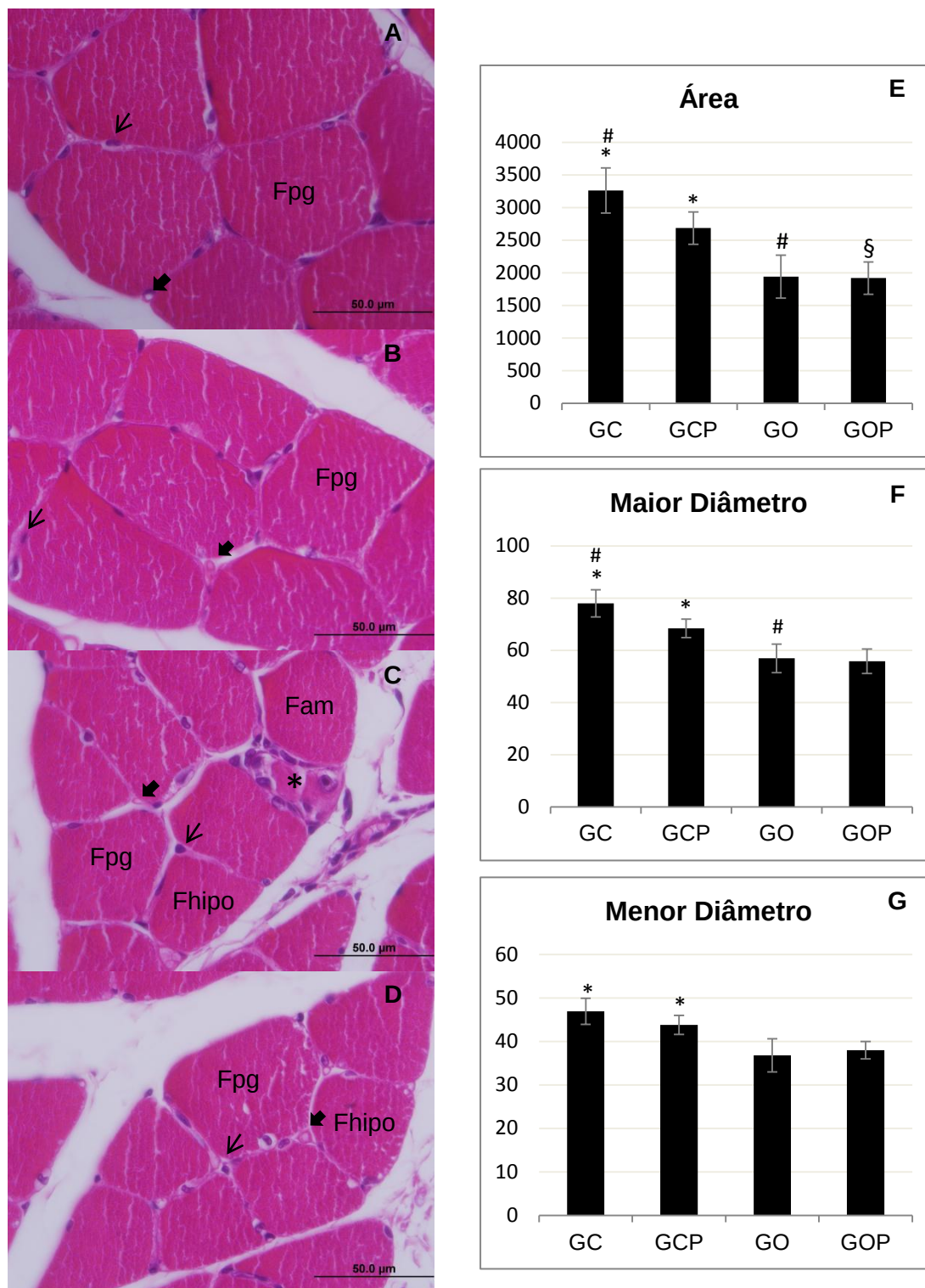


Figura 02: Fotomicrografias do músculo sóleo de ratos *Wistar*, coloração em Hematoxilina e Eosina, corte transversal. Em A, Grupo Controle (GC), apresentando fibras poligonais (Fpg), núcleos periféricos (ponta da seta) e vasos sanguíneos (seta cheia); B, Grupo Controle Plataforma (GCP), apresentando fibras poligonais (Fpg) e hipotróficas (Fhpo), núcleos periféricos (ponta da seta) e vasos sanguíneos (seta cheia); C, Grupo Obeso (GO), apresentando fibras poligonais (Fpg) e também fibras amorfas (Fam), ambas as fibras hipotróficas (Fhpo), com núcleo central (estrela) e periférico (ponta da seta), vasos sanguíneos (seta cheia) e infiltrado inflamatório (asterisco); D, Grupo Obeso + Plataforma (GOP), apresentando fibras poligonais (Fpg), núcleos periféricos (ponta da seta) e vasos sanguíneos (seta cheia). Em E) análise da área, F) maior e G) menor diâmetro da fibra do músculo sóleo de ratos *Wistar*. Valores expressos em média ± desvio padrão. * representam diferença estatisticamente significativa isolada do fator OBESIDADE. # representam diferença estatisticamente significativa isolada do fator PLATAFORMA. § representam diferença estatisticamente significativa da interação do fator OBESIDADE e PLATAFORMA.

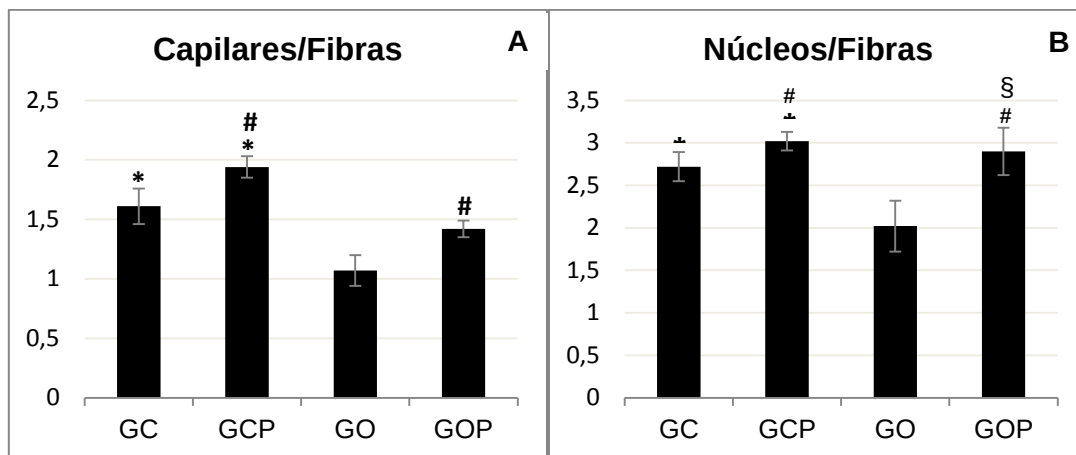


Figura 03: Média dos valores das relações capilares e núcleos por fibra do músculo sóleo de ratos *Wistar*. Em A) Capilares e B) Núcleos. Grupo Controle (GC); Grupo Controle Plataforma (GCP); Grupo Obeso (GO) e Grupo Obeso + Plataforma Vibratória (GCP). Valores expressos em média±desvio padrão. *representaram diferença estatisticamente significativa isolada do fator OBESIDADE. # representam diferença estatisticamente significativa isolada do fator PLATAFORMA. § representam diferença estatisticamente significativa da interação do fator OBESIDADE e PLATAFORMA.

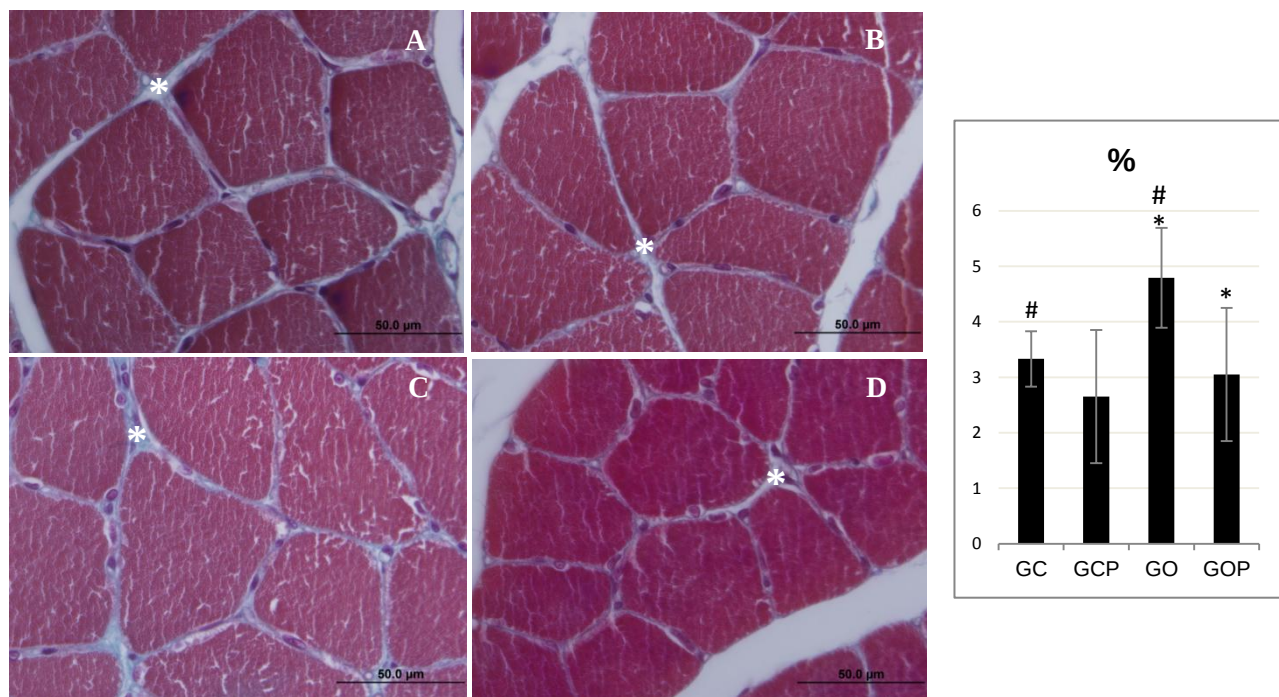


Figura 04: Porcentagem de tecido conjuntivo do músculo sóleo de ratos *Wistar*. Em A) Grupo Controle (GC); B) Grupo Controle Plataforma (GCP); C) Grupo Obeso (GO) e Grupo Obeso + Plataforma Vibratória (GCP). % expressas em média±desvio padrão. * representaram diferença estatisticamente significativa isolada do fator OBESIDADE. # representam diferença estatisticamente significativa isolada do fator PLATAFORMA.

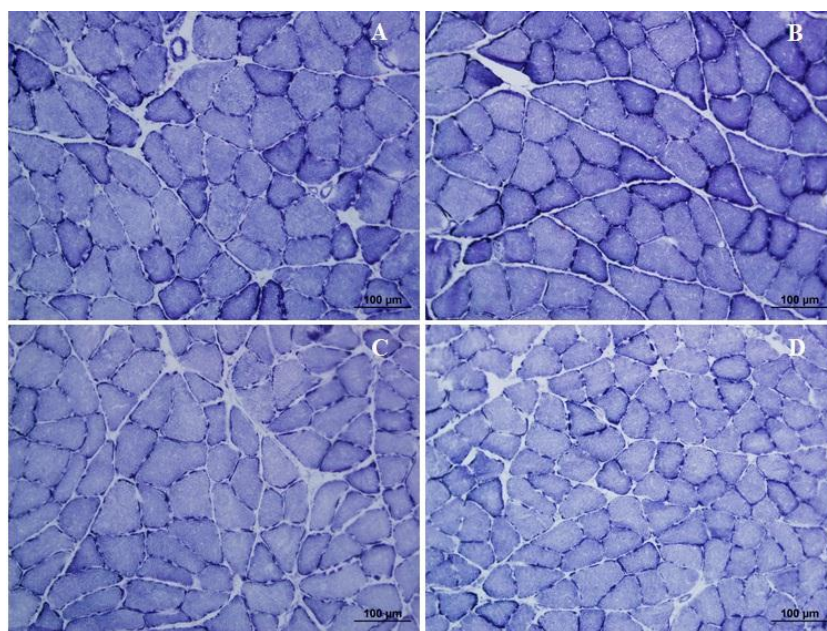


Figura 05: Fotomicrografias do músculo sóleo de ratos *Wistar*, corte transversal, reação enzimática NADH. Em A) Grupo Controle (GC); B) Grupo Controle Plataforma (GCP); C) Grupo Obeso (GO) e Grupo Obeso + Plataforma Vibratória (GCP). Não houve diferenciação entre a coloração das fibras musculares nesta técnica, com as fibras apresentando-se em sua totalidade como fibras do tipo I.

ARTIGO CIENTÍFICO 02

**ALTERAÇÕES NAS JUNÇÕES NEUROMUSCULARES E NO ESTRESSE
OXIDATIVO DO MÚSCULO SÓLEO DE RATOS *WISTAR* OBESOS CAUSADAS
PELO TREINO EM PLATAFORMA VIBRATÓRIA**

**REVISTA MUSCLE & NERVE
NORMAS DA REVISTA ANEXO 03**

Alterações nas junções neuromusculares e no estresse oxidativo do músculo sóleo de ratos *Wistar* obesos causadas pelo treino em plataforma vibratória

Alterações no músculo sóleo causadas pela plataforma vibratória

Mariana Laís Boaretto¹, Bárbara Zanardini de Andrade¹, Jhyslayne Ignácia Hoff Nunes Maciel¹, Mylena de Campos Oliveira¹, Camila Maria Toigo de Oliveira¹, Ana Tereza Bittencourt Guimarães¹, Márcia Miranda Torrejais¹, Sara Cristina Sagae Schneider¹, Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro¹ e Gladson Ricardo Flor Bertolini¹.

¹ Laboratório de Estudo de Lesões e Recursos Fisioterapêuticos e Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brasil.

Autor responsável: Gladson Ricardo Flor Bertolini

Endereço eletrônico: gladson_ricardo@yahoo.com.br

Endereço para correspondência: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Cascavel, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

Rua Universitária, 2069 / Clínica de Fisioterapia, JD Universitário 85819110 - Cascavel, PR – Brasil.

Telefone: (45) 3220-3157

"Confirmamos que lemos a posição da revista sobre questões envolvidas na publicação ética e afirmamos que este relatório é consistente com essas diretrizes".

"Nenhum dos autores tem qualquer conflito de interesse para divulgar".

RESUMO

Objetivo: verificar alterações nas junções neuromusculares e no estresse oxidativo do músculo sóleo, de ratos *Wistar* obesos, causadas pelo treino em plataforma vibratória. Métodos: foram utilizados 32 filhotes machos de ratos *Wistar*, sendo que 16 deles sofreram indução da obesidade com injeções intradérmicas de MSG, igualmente randomizados em quatro grupos: controle (GC), controle com intervenção (GCP), obeso (GO) e obeso com intervenção (GOP). O treino em plataforma vibratória foi realizado com frequência de 60 Hz, amplitude de 2 milímetros, 10 min/dia, 3x/sem, durante 8 semanas. Após os animais foram eutanasiados e o músculo sóleo coletado. Os dados foram analisados estatisticamente adotando o nível de significância de 5%. Resultados: na análise das junções neuromusculares houve aumento da área, maior e menor diâmetro em animais treinados, contudo não houve diferença na quantidade de colinesterase. Já no estresse oxidativo os grupos obesos apresentaram menor lipoperioxidação, sem alterações significativas para as atividades da superóxido dismutase e catalase nos animais obesos ou submetidos à plataforma vibratória.

Palavras-chave: obesidade; vibrações; músculo sóleo; junção neuromuscular; estresse oxidativo.

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença mundial que implica em diversas consequências psicológicas, sociais e econômicas, além de também provocar declínio na qualidade de vida dos indivíduos¹. O acúmulo de tecido adiposo promove uma complexa gama de alterações fisiológicas e patológicas no organismo², incluindo aumento da quantidade das citocinas inflamatórias, como TNF- α , IL-1, IL-6 e proteína C reativa que são prejudiciais ao músculo esquelético, promovendo degradação e redução da síntese de proteína muscular³.

Dentre as estruturas do tecido musculoesquelético encontra-se a junção neuromuscular (JNM) que representa a interação entre o sistema nervoso periférico e o tecido muscular⁴, sendo composta pelo axônio pré-sináptico, fenda sináptica, fibra muscular, vesículas, receptores de acetilcolina e também pela enzima colinesterase⁵ que é a enzima chave da transmissão do impulso nervoso e responsável por encerrar a neurotransmissão por hidrólise, clivando a acetilcolina em ácido acético e colina⁶. A JNM possui alta plasticidade e o exercício físico é capaz de promover modificações⁷ na quantidade, comprimento e complexidade de ramificações, no perímetro da fenda sináptica e na dispersão das placas terminais⁸.

O acúmulo de tecido adiposo também está envolvido no aumento de produtos inflamatórios que elevam o estresse oxidativo, o qual induz superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs)^{9,10}. A lipoperoxidação é um dos importantes marcadores do estresse oxidativo, sendo que as EROs, particularmente o superóxido e a hidroxila, possuem preferência para oxidação dos ácidos graxos. Além disso, esta atividade enzimática está envolvida no dano do conteúdo do DNA e das estruturas celulares, com lesão da membrana, permitindo influxo de cálcio, edema mitocondrial, lise e morte celular^{11,12}.

A superóxido dismutase faz parte do sistema antioxidante, ela é uma enzima intracelular que está presente nas células metabolizadoras de oxigênio. Essa enzima dismuta o radical superóxido em peróxido de hidrogênio que apresenta um potencial menos tóxico. O peróxido de hidrogênio é gerado por meio da redução incompleta de oxigênio em sistemas de transporte de elétrons ou como subprodutos enzimáticos e ainda, o mesmo pode reagir formando uma série de outras EROs. Outras enzimas antioxidantes, como a catalase, geram uma complexa cascata de reações para converter as EROs em moléculas mais estáveis, como água e oxigênio¹¹.

A suscetibilidade ao dano oxidativo é maior em obesos por causa do sistema antioxidante insuficiente, incluindo diminuição da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), vitaminas E, A, C e β -caroteno¹³. Contudo, os marcadores de dano oxidativo e inflamatórios além de sofrerem influência da idade e da composição corporal, também se alteram de acordo com a atividade física¹⁴. O sedentarismo e inatividade física levam ao desuso muscular e provocam aumento na produção das enzimas oxidativas¹⁵. Entretanto o exercício físico, por meio da atividade contrátil crônica, também produz continuamente EROs¹⁶⁻¹⁸, porém a prática regular de exercício físico em indivíduos obesos, diminui os níveis de estresse oxidativo sistêmico e no músculo esquelético a partir de três meses de treinamento contra-resistido^{14,19}.

O emprego de vibrações mecânicas corporais é uma modalidade de exercício físico que vem sendo amplamente utilizada para promover melhoras no tecido muscular. As vibrações produzidas por plataformas vibratórias provocam alterações no comprimento musculotendíneo e desta maneira induzem hipertrofia muscular, melhora na força e potência muscular, sendo um método alternativo para combater as alterações musculares causadas pela obesidade²⁰⁻²². Contudo, na literatura ainda não estão totalmente definidas as modificações do tecido muscular e no sistema oxidativo e antioxidante que são causadas pelo exercício em plataforma vibratória, principalmente em relação a modelos de obesidade. Com isto, o presente estudo teve como objetivo verificar as alterações nas junções neuromusculares e no estresse oxidativo do músculo sóleo, de ratos *Wistar* obesos, causadas pelo treino em plataforma vibratória.

MÉTODOS

O presente estudo teve caráter experimental, transversal e quantitativo, desenvolvido no Laboratório de Estudo de Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF) e no Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional (LABEF) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus de Cascavel - Paraná. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA) da UNIOESTE (protocolo nº 08/18).

Para o presente modelo experimental foram utilizados 32 ratos *Wistar* machos, destes 16 eram obesos (com obesidade induzida por glutamato monossódico [MSG]), que foram igualmente randomizados em quatro grupos: Grupo

Controle (GC – controle sedentário/sem intervenção), Grupo Controle + Plataforma Vibratória (GCP – controle plataforma vibratória), Grupo Obeso (GO – MSG sedentário/sem intervenção), Grupo Obeso + Plataforma Vibratória (GOP – MSG + plataforma vibratória). Os animais foram mantidos no LELRF, em caixas padrão de polipropileno, em ambiente com temperatura de $22 \pm 1^\circ \text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas, recebendo água e ração (BioBase, Santa Catarina, SC, Brasil) *ad libitum*.

O protocolo para a indução da obesidade foi realizado durante os primeiros cinco dias de vida dos animais, com aplicação de uma injeção intradérmica por dia de MSG, na dose de 4 mg/g de peso corporal, para o restante dos animais foi administrada solução salina hiperosmótica, de forma semelhante a uma dose diária de 1,25 mg/g de peso corporal²³.

Aos 70 dias de idade dos animais iniciou-se a intervenção, para o treino em plataforma vibratória foi utilizada a plataforma Vibro Oscilatória comercial da marca Arktus® triplanar profissional (Santa Tereza do Oeste, Paraná, Brasil), três vezes na semana, com duração de 10 minutos/dia, durante oito semanas consecutivas. O protocolo utilizado foi adaptado a uma frequência de 60 Hz, com amplitude de vibrações de dois milímetros²⁴. Para posicionar e conter os animais sobre a plataforma vibratória foi utilizado um suporte de madeira MDF, com baias, confeccionado de acordo com as dimensões do aparelho, de modo que não mantivesse contato com a base da plataforma e desta forma não interferisse nas vibrações. Em cada treino foi realizado rodízio no posicionamento dos animais nas baias, para minimizar vieses decorrentes da diferença da amplitude de vibração em áreas distintas da plataforma.

Aos 130 dias de idade, após o término do período de treinamento, todos os animais foram eutanasiados por overdose de anestésicos, com aplicação de xilazina 30 mg/kg e ketamina 300 mg/kg, intraperitonealmente, e na sequência foi realizada a coleta do músculo sóleo do membro pélvico esquerdo. O tecido muscular foi dissecado, removido, pesado e seccionado em fragmentos, com uma lâmina de inox.

Para o estudo das JNMs, os fragmentos proximais foram imersos em Karnovsky²⁵ em temperatura ambiente. Para montagem das lâminas, os músculos foram seccionados longitudinalmente, em pequenas porções, com auxílio de lâminas de inox. Após a realização dos cortes, os mesmos foram submetidos à reação de Esterase Inespecífica²⁶. Posteriormente, foi realizada a confecção das lâminas e

mensurados os parâmetros morfométricos, analisados em microscópio de luz, fotomicrografados os campos visuais no aumento de 200x e foram medidas a área, o maior e o menor diâmetro de 150 JNMs por animal, e analisadas com auxílio do programa Image-Pro-Plus 6.0.

Para análise do estresse oxidativo os fragmentos distais foram removidos e imediatamente homogeneizadas em 1 mililitro (mL) de tampão Tris HCl pH 7.4 e centrifugadas a 12.000 rotações por minuto (rpm) por 10 minutos, a 4°C. O homogenato foi congelado a -80°C para posterior dosagem proteica. A quantificação de proteína das amostras foi determinada pelo método de Bradford²⁷, utilizando albumina de soro bovino como padrão. Todas as amostras foram então normalizadas para 1 miligrama (mg) de proteína/mL.

Para avaliar a dosagem enzimática, associada ao sistema antioxidante, foi analisada a atividade da superóxido dismutase (SOD), atividade da catalase (CAT) e reação de lipoperoxidação (LPO).

Para a primeira, foi utilizado o método proposto por Crouch et al.²⁸, modificado. O princípio dessa análise consiste em quantificar o complexo formado entre superóxido e azul de tetrazolium (NBT), mensurada a 560 nm durante 1,5 hora. Uma alíquota de 0,75 mg/mL de proteína em etanol 25% foi preparada em volume de 800 µL e centrifugada a 12000 rpm (4 °C), durante 20 minutos. A partir do sobrenadante, o meio de reação foi preparado em microplaca de 96 poços. Em triplicatas, em volume final de 200 µL, contendo 0,1 mg de proteína.mL⁻¹, 0,09 mM de NBT, 0,015 mM de EDTA, 34,78 mM de sulfato de hidroxilamina, 79 mM de tampão carbonato de sódio pH 10,2 e a placa lida a 22°. Uma unidade de SOD em nmol. min⁻¹.mg de proteína⁻¹.

A atividade da Catalase (CAT) foi acompanhada pelo decréscimo da absorbância a 240 nm²⁹, a partir do princípio de dismutação do peróxido, cujo coeficiente de extinção molar é de 40 M⁻¹.cm⁻¹. As duplicatas, em 2 mL de solução, em uma cubeta de quartzo, apresentaram concentração final de 0,01 mg de proteína.mL⁻¹, sendo que o meio de reação apresentou concentrações finais de 13,5 mM de H₂O₂, 50 mM de TRIS-HCl pH 8,0 e 0,25 mM de EDTA. Os resultados da atividade da enzima catalase foram expressos em mmol.min⁻¹.mg de proteína⁻¹.

A determinação da reação de lipoperoxidação (LPO) foi realizada com objetivo de quantificar indiretamente os peróxidos, refletindo assim a intensidade da peroxidação lipídica. Foi realizado o método de ácido tiobarbitúrico (TBARS)³⁰

realizando comparações de absorbância com curva de padrões de Malondialdeído (MDA), principal subproduto de peroxidação lipídica celular. Para preparação da amostra, o meio, contendo alíquota de 0,33 mg/mL de proteína da amostra em ácido tricloroacético (TCA) 6,7% em volume final de 180 μ L, foi agitado em vórtex, deixado em banho de gelo por 5 minutos e centrifugado por 5 minutos a 12000 rpm a 4 °C. Para a dosagem das substâncias reativas ao TBARS, 40 μ L do sobrenadante, assim como de diferentes concentrações de MDA foram adicionados em microplaca, em triplicata, a meio de reação, contendo 21,42 mM de TBA, 17,86 mM de NaOH (utilizado para solubilização do TBA), 0,73 M de TCA, 0,032 mM de BHT, etanol 3% (utilizado para solubilização do BHT) em PBS. A leitura da reação foi realizada a 22°C; após 60 minutos de incubação, a 60°C, em uma absorbância de 535 nm. Os resultados da peroxidação lipídica foram expressos em nmol de MDA.mg de proteína⁻¹.

Foi realizada a dosagem enzimática, associada à neurotoxicidade pela atividade da enzima colinesterase (ChE), análise pelo método de Ellman et al.³¹, modificado, cujo princípio é a mensuração da produção da tiocolina quando a acetiltiocolina é hidrolisada. Isso é feito pela reação contínua do tiol com o íon 5:5-ditiobis-2-nitrobenzoato para produzir o ânion de coloração amarelada do ácido 5-tio-2-nitrobenzóico. A reação foi realizada em triplicata, em 300 μ L de solução, contendo 0,05 mM de ácido 5.5'-Ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB) e 1,5 mM de Acetiltiocolina (ATC). Foi calculada a atividade da ChE, em relação à concentração de proteína (mg/mL), usando o coeficiente de extinção molar do DTNB (1.36mM⁻¹.cm⁻¹). A quantificação da proteína foi calculada a partir da amostra bruta e a leitura realizada a 22°C. Os resultados foram expressos em nmol.min⁻¹.mg proteína⁻¹.

Análise estatística

Os dados obtidos foram tabulados em planilhas no Microsoft Excel 2010 e foram expressos e analisados por meio da estatística descritiva e inferencial, foram avaliados quanto à presença de outliers por meio do diagnóstico de exclusão de regressão, cujos valores foram substituídos pela média do grupo. Após foram analisados quanto à normalidade pelo teste de *Shapiro-Wilk* e quanto à homogeneidade por meio do teste de *Bartlett*. Os resultados foram avaliados quanto sua significância por meio da Análise da Variância (Anova) de dois fatores,

considerando o fator obesidade, com os níveis obeso e não obeso e o fator exercício, com os níveis exercício e não exercício. O teste de acompanhamento utilizado foi o teste *Tukey-HSD*. O nível de significância adotado foi de 5%, para todos os testes foi utilizado o programa R 3.5.1.

RESULTADOS

Em relação à análise das junções neuromusculares (Figura 01A-01D) pode-se observar que no quesito área de secção houve diferença significativa entre os grupos (OBESIDADE - $F=291,048$; $p<0,01$; PLATAFORMA - $F=10,225$; $p<0,01$). Os grupos obesos, GO e GOP, apresentaram médias menores de área de secção, quando comparados com os grupos controle (GC e GCP), demonstrando alterações causadas pela obesidade. Já os grupos GCP e GOP, submetidos ao exercício em plataforma vibratória apresentaram médias maiores quando comparados com os grupos que não realizaram o treino (GC e GO), indicando que o exercício é capaz de aumentar o tamanho da área de secção da JNM. Porém, não houve interação significativa entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F=3,381$; $p=0,07$), ou seja, a plataforma não foi capaz de normalizar esses valores no grupo GOP (Figura 01E).

Em relação ao diâmetro maior das junções neuromusculares, também houve diferença significativa entre os grupos (OBESIDADE - $F=257,518$; $p<0,01$; PLATAFORMA - $F=10,371$; $p<0,01$). Os grupos GO e GOP quando comparados com os grupos GC e GCP apresentaram médias de maior diâmetro menores, demonstrando o efeito adverso da obesidade. Ainda, os grupos GCP e GOP, submetidos ao exercício em plataforma vibratória, apresentaram médias de maior diâmetro mais elevadas, quando comparada aos grupos GC e GO, que não realizaram o treinamento. Também houve interação significativa entre os fatores “MSG” e “PLATAFORMA” ($F=11,98$; $p<0,01$), demonstrando que há diferença entre GOP e GO (Figura 01F).

Ao avaliar o menor diâmetro das junções neuromusculares também foi possível observar diferença significativa entre os grupos (OBESIDADE - $F=108,057$; $p<0,01$; PLATAFORMA - $F=37,990$; $p<0,01$). Os grupos obesos, GO e GOP apresentaram médias reduzidas de menor diâmetro quando comparadas as dos

grupos controle (GC e GCP), e também, os grupos submetidos ao exercício em plataforma vibratória (GCP e GOP), apresentaram médias mais elevadas quando comparados aos grupos que não realizaram o treinamento, GC e GO, indicando que o treinamento foi capaz de aumentar este diâmetro. Porém não houve interação significativa entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F=1,337$; $p=0,25$), demonstrando que o treinamento não foi capaz de normalizar esses valores no grupo GOP (Figura 01G).

Em relação ao estresse oxidativo para a enzima SOD, não houve diferença significativa entre os grupos (OBESIDADE - $F= 0,53$, $p=0,47$; PLATAFORMA – $F=2,29$, $p=0,13$), assim como não houve interação entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F=1,81$; $p=0,18$). Para a enzima catalase também não houve diferença significativa entre os grupos (OBESIDADE - $F= 0,68$, $p=0,41$; PLATAFORMA – $F=0,68$, $p=0,41$), bem como não houve interação entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F=0,45$; $p=0,50$), ou seja, não houve diferença entre os grupos para esta atividade enzimática e para a perioxidação de lipídeos, houve diferença significativa entre os animais obesos e não obesos ($F= 4,67$, $p=0,03$), havendo uma maior taxa de lipoperioxidação nesses animais, porém não houve diferença entre os animais que realizaram o treino em plataforma vibratória e aqueles que não realizaram ($F= 1,10$, $p= 0,29$) e entre os fatores “OBESIDADE” e “PLATAFORMA” ($F= 0,06$, $p= 0,80$). Quanto à atividade da enzima ChE não houve interação significativa entre os grupos (OBESIDADE - $F= 0,31$, $p= 0,57$; PLATAFORMA – $F= 0,80$, $p= 0,37$) e entre os fatores ($F= 2,44$, $p= 0,12$) (Figura 02).

DISCUSSÃO

As junções neuromusculares podem sofrer modificações em quantidade e tamanho frente a diversas situações, como transtornos psiquiátricos³², doenças metabólicas³³, envelhecimento^{34,35} e doenças genéticas³⁶, assim como o desuso muscular induzido pela inatividade física também é capaz de reduzir significativamente as dimensões da área e o comprimento das junções neuromusculares³⁷, no entanto o exercício é importante para reverter essas alterações^{8,38}.

Como resultado foi possível observar que tanto a obesidade quanto o uso da plataforma vibratória foram capazes de promover alterações no tamanho das junções neuromusculares, principalmente no quesito maior diâmetro. Entretanto, não

existem na literatura estudos específicos da ação da obesidade na junção neuromuscular, bem como não há pesquisas que demonstrem as alterações provocadas pelas vibrações mecânicas nesta estrutura.

A fim de identificar os efeitos do exercício nas JNMs, Deschenes et al.³⁹, avaliaram a influência do treinamento de endurance na morfologia da JNM da musculatura de ratos jovens e idosos, os animais que foram treinados em esteira por um período de 10 semanas, cinco dias na semana com duração de 60 minutos de exercício, apresentaram após a intervenção adaptações induzidas pelo exercício, como aumento da quantidade e do comprimento dos ramos terminais das JNMs, porém este achado foi encontrado apenas nos ratos mais jovens. Os resultados do presente estudo vão de encontro com o que foi averiguado nesta pesquisa, visto que os animais estudados também eram jovens, com aproximadamente 20 semanas de idade, os quais possuem alta capacidade de adaptação aos estímulos metabólicos. Krause Neto et al.⁵, em uma revisão sistemática encontraram diferentes protocolos de exercícios, com variadas intensidades e durações e concluíram que independentemente da idade, do tipo e frequência do exercício, a atividade física é capaz de modificar os componentes da JNM ao longo da vida.

Seene, Umnova e Kaasik⁴⁰, investigaram as diferenças nas JNMs em diferentes tipos de fibras de animais jovens após seis semanas de treinamento de exercícios de resistência. Os autores encontraram que há diferença nas estruturas sinápticas de acordo com os tipos de fibras musculares esqueléticas, sendo que nas fibras oxidativas elas são predominantemente curtas, redondas ou ovais e o sarcoplasma contém grande número de mitocôndrias, já as estruturas das fibras glicolíticas são elípticas e mais longas. Quanto ao treinamento de *endurance* o mesmo aumentou a área terminal do axônio nos dois tipos de fibra, porém este resultado está mais evidente nas fibras oxidativas, que possuem uma taxa de renovação de proteínas musculares mais rápida, além de maior quantidade de mitocôndrias e também maior número de vesículas para a ressíntese de acetilcolina após a sinapse. Salienta-se que no presente estudo foi utilizado um músculo composto basicamente por fibras oxidativas, assim o tipo de fibra não influenciaria na análise dos resultados.

As alterações nas junções neuromusculares causadas pelo exercício físico também são capazes de induzir modificações na quantidade e na atividade da enzima colinesterase, sendo que a hiperatividade ou aumento da quantidade da

enzima pode impedir uma concentração suficiente do neurotransmissor capaz de desencadear o potencial de ação que transmite o impulso adiante, assim como a redução ou hipoatividade pode permitir um excesso de acetilcolina na junção, o que pode causar paralisia da fibra muscular⁴¹.

Quanto à atividade da colinesterase não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, demonstrando que a intervenção foi capaz de modificar a quantidade de junções neuromusculares sem, no entanto, produzir aumento na quantidade de ChE na fenda sináptica, não sendo capaz de produzir alterações na neurotransmissão, por outro lado, também não promoveu neurotoxicidade pelo excesso de acetilcolina no tecido músculo esquelético dos ratos neste modelo de obesidade. Em uma pesquisa que analisou a atividade da ChE em diferentes tecidos e diversas idades, Strauss et al.⁴², observaram que em animais mais velhos com idades de 11 a 16 semanas ocorre diminuição da atividade enzimática no músculo gastrocnêmio, assim sendo, a detecção de alterações na ação desta enzima se torna dificultada devido à pouca atividade da mesma neste tecido, desta forma correlaciona-se estes resultados aos encontrados neste estudo, no qual os animais na data da eutanásia possuíam mais de 16 semanas, porém outras técnicas mais específicas poderiam detectar mínimas alterações da colinesterase com maior precisão.

No que tange a atividade das enzimas oxidativas houve diferença significativa apenas na peroxidação lipídica, sendo encontrada diminuição da atividade da LPO nos animais obesos quando comparado com os animais não obesos, demonstrando que o estresse oxidativo está minimizado nos obesos. Uma pesquisa obteve achados próximos aos encontrados neste estudo, porém não significativo, em que animais com obesidade induzida por dieta hiperlipídica e tratados com exercício físico em esteira associado ao choque térmico, tiveram diminuição da lipoperoxidação no músculo sóleo. Para a SOD os mesmos autores também não encontraram diferenças nesta atividade enzimática igual ao presente estudo. Ainda, observaram que os animais obesos submetidos ao exercício apresentaram aumento da CAT, diferindo dos resultados do presente estudo onde não houve diferença desta atividade enzimática, fato que pode estar relacionado com a diferença do modelo de indução a obesidade dos animais e também pelo tipo, intensidade e duração do exercício⁴³, demonstrando que o protocolo utilizado no presente estudo não promoveu alterações no sistema antioxidante.

Em outro estudo com animais obesos, por dieta hiperlipídica, que também realizaram treino em esteira houve diminuição da LPO e também da SOD⁴⁴, sendo que a redução desta última difere dos achados do presente estudo. Considera-se que esta ocorrência pode ter sido causada pela diferença do tempo de duração do exercício e frequência semanal, uma vez que foi realizado por 60 minutos e cinco dias na semana caracterizando um exercício com maior intensidade do que o realizado pelos animais do presente estudo, demonstrando que exercícios mais intensos, que induzem a exaustão do sistema musculoesquelético, inicialmente culminam no aumento do estresse oxidativo devido à geração de EROS, as quais excedem a capacidade de defesa no músculo esquelético⁴⁵, fato que não foi observado pelo treino em plataforma vibratória, ou seja, acredita-se que a duração de 8 semanas de protocolo foi suficiente para o sistema antioxidante entrar em equilíbrio .

Em contrapartida, um estudo realizado com homens obesos submetidos a 12 semanas de treinamento em cicloergômetro, três sessões por semana com duração de 60 minutos, apesar de observarem que nem a obesidade e nem o treinamento de resistência alteraram o conteúdo proteico da CAT, encontraram que a concentração de LPO em indivíduos obesos foi mais elevada que em indivíduos magros, e após serem submetidos ao exercício físico houve diminuição da lipoperoxidação nos obesos, além disso, também evidenciaram aumento da atividade da SOD¹⁴, atribuiu-se a esta diferença as hipóteses de que os modelos animais de indução de obesidade promovem alteração no metabolismo dos ácidos graxos refletindo em resultados contrários aos encontrados em estudos com humanos^{12,46-48}; essas diferenças também podem ter sido determinadas pelo músculo esquelético analisado (vasto lateral), desta forma entende-se que outros estudos futuros com diferentes modelos animais e diferentes grupos musculares poderiam encontrar resultados que diferem do presente estudo, sendo necessários para confrontar esses dados controversos.

São escassos na literatura estudos que tenham analisado os efeitos da utilização da plataforma vibratória na atividade das enzimas oxidativas, em uma pesquisa que investigou os efeitos do exercício de vibração corporal sobre o metabolismo lipídico e o estresse oxidativo em animais diabéticos e obesos, submetidos ao treino em plataforma vibratória a frequência de 45 Hz, 60 minutos/dia por 12 semanas, também não encontrou diferenças na atividade enzimática da CAT

e SOD, mas o exercício foi capaz de diminuir a LPO⁴⁹, resultados semelhantes ao do presente estudo, demonstrando que mesmo com diferenças na duração e intensidade do exercício, a plataforma não promoveu estresse oxidativo que é induzido pelo exercício físico.

Alguns autores demonstraram que o exercício físico promove desequilíbrio entre o sistema oxidante e antioxidante⁵⁰⁻⁵², achados também relatados há décadas no estudo de Davies et al.⁵³ e na revisão de Powers et al.⁵⁴, desta forma, verifica-se que o exercício proposto por meio da utilização das vibrações corporais não promoveu estresse oxidativo no músculo sóleo, uma vez que não alterou a atividade das enzimas CAT e SOD, demonstrando que há perfeito equilíbrio entre as enzimas antioxidantes para a manutenção da integridade celular mesmo frente ao treinamento em plataforma vibratória.

CONCLUSÃO

O treino em plataforma vibratória promove alterações benéficas como aumento das medidas das estruturas das junções neuromusculares, mas não é capaz de promover modificações na concentração da enzima colinesterase na fenda sináptica. Ainda, o exercício proposto não promoveu estresse oxidativo no tecido muscular, mantendo o equilíbrio entre as enzimas estudadas. Também foi verificado que o modelo de indução de obesidade utilizado neste estudo promove diminuição da lipoperoxidação muscular de ratos *Wistar*.

REFERÊNCIAS

1. WHO. **World Health Organization**. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/obesity/en/>>. Acesso em: 15 jan. 2019.
2. Rosen, Evan D.; Spiegelman, Bruce M. What we talk about, when we talk about fat. **Cell**, v. 156, p. 20-44, 2014.
3. Tomlinson DJ. The impact of obesity on skeletal muscle strength and structure through adolescence to old age. *Biogerontology* 2016; 17(3): 467-83.
4. Deschenes MR, Adan MA, Kapral MC, Kressin KA, Leathrum CM, Seo A et al. Neuromuscular adaptability of male and female rats to muscle unloading. *Journal of Neuroscience Research* 2017; 1: 01-13.

5. Krause Neto WK, Ciena AP, Anaruma CA, Souza RR. Effects of exercise on neuromuscular junction components across age: systematic review of animal experimental studies. *BMC Research Notes* 2015; 8(713): 01-15.
6. Gupta VK, Kumar A, Siddiqi NJ, Sharm B. Rat brain acetyl cholinesterase as a biomarker of cadmium induced neurotoxicity. *Journal of Toxicology* 2016; 1(1): 01-7.
7. Pour MAB, Joukar S, Hovanloo F, Najafipour H. Long-term low-intensity endurance exercise along with blood flow restriction improves muscle mass and neuromuscular junction compartments in old rats. *Iranian Journal of Medical Sciences* 2017; 42(6): 569-76.
8. Deschenes MR, Sherman EG, Roby MA, Glass EK, Harris MB. Effect of resistance training on neuromuscular junctions of young and aged muscles featuring different recruitment patterns. *Journal of Neuroscience Research* 2015, 93: 504-13.
9. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation* 2004; 114(12): 1752-61.
10. Vibha Rani V, Deep G, Singh RK, Palle K, Yadav UCS. Oxidative stress and metabolic disorders: pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sciences* 2016; 01-40.
11. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S et al. Oxidative stress, prooxidants and antioxidants: the interplay. *BioMed Research Internacional* 2014; :01-19.
12. França BK, Alves MRM, Souto FMS, Tiziane L, Boaventura RF, Guimarães A et al. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. *Jornal Português de Gastreenterologia* 2013; 20(5): 199-206.
13. Marseglia L, Manti S, D'Angelo G, Nicotera A, Parisi E, Di Rosa G et al. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 2015;16(1): 378-400.
14. Samjoo IA, Safdar A, Hamadeh MJ, Raha S, Tarnopolsky MA. The effect of endurance exercise on both skeletal muscle and systemic oxidative stress in previously sedentary obese men. *Nutrition & Diabetes* 2013; 3: 01-10.

15. Siu PM, Pistilli EE, Alway SE. Age-dependent increase in oxidative stress in gastrocnemius muscle with unloading. *Journal of Applied Physiology* 2008; 105: 1695-705.
16. Palomero J, Jackson MJ. Redox regulation in skeletal muscle during contractile activity and aging. *Journal of Animal Science*. 2010; 88:1307-13.
17. McArdle F, Pattwell DM, Vasilaki A, McArdle A, Jackson MJ. Intracellular generation of reactive oxygen species by contracting skeletal muscle cells. *Free Radical Biology & Medicine* 2005; 651-7.
18. Jackson MJ. Reactive oxygen species and redox-regulation of skeletal muscle adaptations to exercise. *Philosophical Transactions of The Royal Society B* 2005; 360, 2285-91.
19. Trovato FM, Imbesi R, Conway N, Castrogiovanni P. Morphological and functional aspects of human skeletal muscle. *Journal of Functional Morphology and Kinesiology* 2016; 1(3): 289-302.
20. Bacha JMR, Cordeiro LR, Alvisi TC, Bonfim TR. Impacto do treinamento sensório-motor com plataforma vibratória no equilíbrio e na mobilidade funcional de um indivíduo idoso com sequela de acidente vascular encefálico: relato de caso. *Fisioterapia e Pesquisa* 2016; 23(1): 111-6.
21. Cerciello S, Rossi S, Visonà E, Corona K, Oliva F. Clinical applications of vibration therapy in orthopaedic practice. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal* 2016; 6(1): 147-56.
22. Park SY, Son WM, Kwon OS. Effects of whole body vibration training on body composition, skeletal muscle strength, and cardiovascular health. *Journal of Exercise Rehabilitation* 2015; 11(6): 289-95.
23. Cantelli KR, Soares GM, Ribeiro RA, Balbo SL, Lubaczeuski C, Boschero AC. Duodenal-jejunal bypass normalizes pancreatic islet proliferation rate and function but not hepatic steatosis in hypothalamic obese rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2017; 50(5): 01-11.
24. Butezloff MM, Zamarioli A, Leoni GB, Sousa-Neto MD, Volpon JB. Whole-body vibration improves fracture healing and bone quality in rats with ovariectomy-induced osteoporosis. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2015; 30(11): 727-35.

25. Karnovsky MJ. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 1965; 27: 1A-149A.
26. Lehrer GM, Ornstein L. A diazo coupling method for the electron microscopic localization of cholinesterase. *Biophysical and Biochemical Cytology*, 1959; 6: 399-419.
27. Bradford MM. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 1976; 72: 248-54.
28. Crouch RK, Gandy SE, Kimsey G, Galbraith RA, Galbraith GMP, Buse MG. The inhibition of islet superoxide dismutase by diabetogenic drugs. *Diabetes* 1981; 30: 235-41.
29. Aebi H. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-26.
30. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 52(569): 302-10.
31. Ellman GL, Courtney KD, Andresm V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 1961; 7(49): 88-95.
32. Scarr E, Gibbons AS, Neo J, Udawela M, Dean B. Cholinergic connectivity: it's implications for psychiatric Disorders. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 2013; 7(55): 01-26.
33. Lesniewski LA, Miller TA, Armstrong RB. mechanisms of force loss in diabetic mouse skeletal muscle. *Muscle Nerve* 2003; 28: 493–500.
34. Deschenes MR, Roby MA, Glass EK. Aging influences adaptations of the neuromuscular junction to endurance training. *Neuroscience* 2011; 8(190): 56-66.
35. Shigemoto K, Kubo S, Mori S, Yamada S, Akiyoshi T, Miyazaki T. Muscle weakness and neuromuscular junctions in aging and disease. *Geriatrics & Gerontology International* 2010; 10: 137-47.

36. Prado VF, Martins-Silva C, Castro de BM, Lima RF, Barros DM, Amaral E et al. Mice deficient for the vesicular acetylcholine transporter are myasthenic and have deficits in object and social recognition. *Neuron* 2006; 51(5): 601-12.

37. Deschenes MR, Tenny KA, Wilson MH. Increased and decreased activity elicits specific morphological adaptations of the neuromuscular junction. *Neuroscience* 2006; 137(4): 1277-83.

38. Baehr LM, Oeste DW, Marcotte G, Marshall AG, De Sousa LG, Baar K et al. Age-related deficits in skeletal muscle recovery following disuse are associated with neuromuscular junction instability and ER stress, not impaired protein synthesis. *Aging* 2016; 8(1): 127-46.

39. Deschenes MR, Kressin KA, Garratt RN, Leathrum CM, Shaffrey EC. Effects of exercise training on neuromuscular junction morphology and pre to post synaptic coupling in young and aged rats. *Neuroscience* 2016; 1(316): 167-77.

40. Seene T, Umnova M, Kaasik P. Morphological peculiarities of neuromuscular junctions among different fiber types: effect of exercise. *European Journal of Translational Myology* 2017; 27(3): 139-46.

41. Kube LC. Fisiologia da fadiga, suas implicações na saúde do avião e na segurança na aviação. *Revista Conexão SIPAER* 2010; 2(1): 35-57.

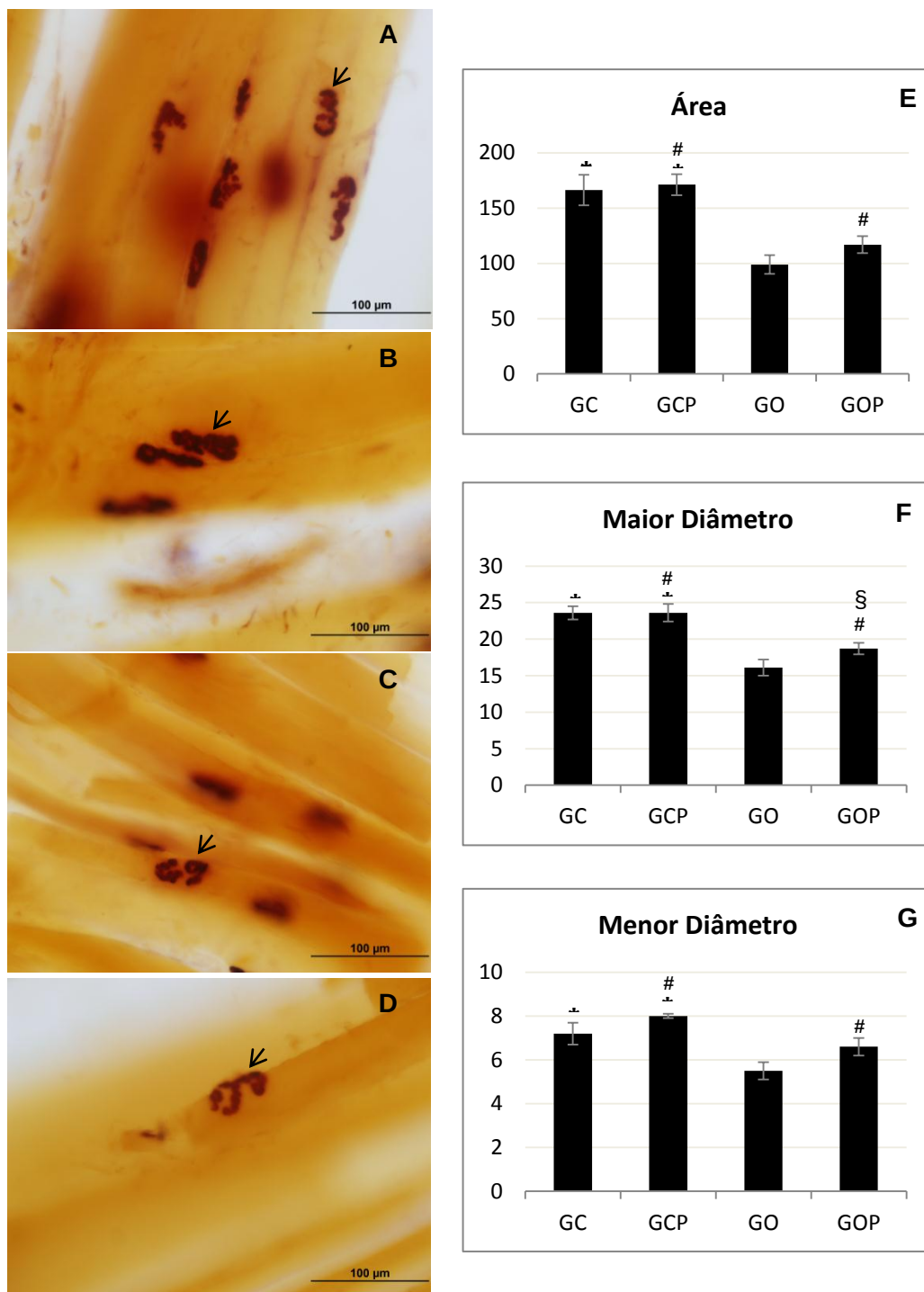
42. Strauss V, Moreno MCR, Vogt J, Dammann M, Schneider S, Gröters S et al. Acetylcholinesterase measurement in various brain regions and muscles of juvenile, adolescent and adult rats. *Toxicology Mechanisms and Methods* 2017; 27(9): 666-76.

43. Weizenmann L, Santos AB, Ludwig MS, Heck TG. Efeito agudo do choque térmico associado ao exercício sobre o estresse oxidativo muscular de ratos tratados com dieta hiperlipídica. XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2017.

44. Li G, Liu JY, Zhang HX, Li Q, Zhang SW. Exercise training attenuates sympathetic activation and oxidative stress in diet-induced obesity. *Physiological Research* 2015; 64 (3): 355-67.

45. Vincent HK, Innes KE, Vincent KR. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2007; 9(6): 813-39.

46. Lima RCA, Carnevali Júnior LC, Ferreira LLR, Bezerra LTL, Bezerra TTL, Lima BC. Principais alterações fisiológicas decorrentes da obesidade: um estudo teórico. *SANARE* 2018; 17(2): 56-65.
47. Horn RC, Gelatti GT, Mori NC, Tissiani AC, Mayer MS, Pereira EA et al. Obesity, bariatric surgery and oxidative stress. *Revista da Associação Médica Brasileira* 2017; 63(3): 229-35.
48. Barbalho SM, Quesada K, Bechara MD. Aspectos oxidativos da síndrome metabólica e aterosclerose. *Scientia Medica* 2015; 25(3): 01-7.
49. Liu Y, Zhai M, Guo F, Shi T, J Liu, Wang X et al. Whole Body Vibration improves insulin resistance in db/db mice: amelioration of lipid accumulation and oxidative stress. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 2016; 179 (5): 819-29.
50. Steinbacher P, Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules* 2015; 5(2): 356-77.
51. Powers SK, Ji LL, Kavazis AN, Jackson MJ. Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle. *Comprehensive Physiology* 2011; 1(2): 941-69.
52. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews* 2008; 88(4): 1243-76.
53. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1982; 107(4): 1198-205.
54. Powers SK, Ji LL, Leeuwenburgh C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 1999; 31(7): 987-97.



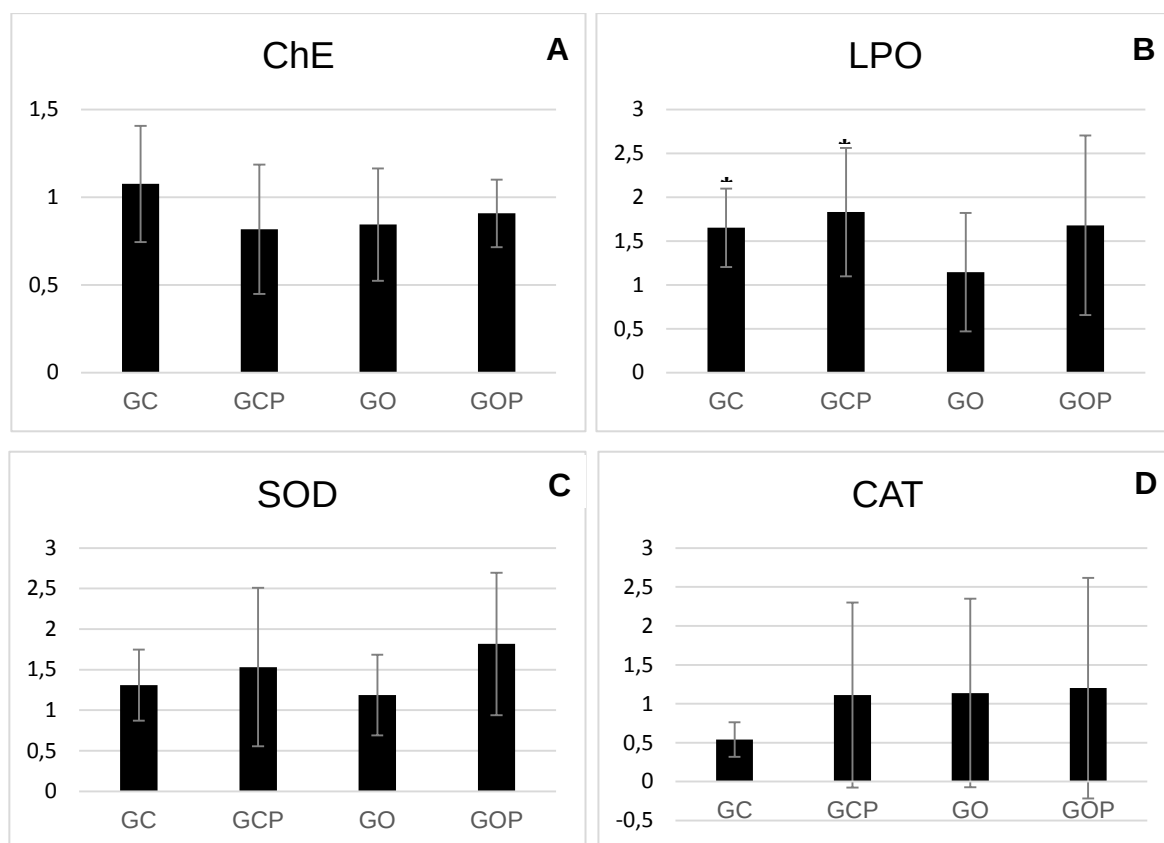


Figura 02: Média dos valores das atividades enzimáticas do músculo sóleo de ratos *Wistar*. A) Colinesterase (ChE); B) Lipoperoxidação (LPO); C) Superóxido dismutase (SOD); D) Catalase (CAT). Unidades de medidas da ChE em nmol.min⁻¹. mg proteína⁻¹; LPO em nmol de MDA. mg de 205 proteína⁻¹; SOD U/mg de proteína; CAT em mmol.min⁻¹. mg proteína⁻¹. Grupo Controle (GC); Grupo Controle Plataforma (GCP); Grupo Obeso (GO) e Grupo Obeso + Plataforma Vibratória (GCP). Valores expressos em média±desvio padrão. *representaram diferença estatisticamente significativa isolada do fator OBESIDADE.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização desta pesquisa permitiu avaliar os efeitos de um modelo de obesidade sobre o tecido muscular e o tratamento desta doença com vibrações corporais. Observou-se que os animais obesos obtiveram aumento do índice de LEE, demonstrando efetividade da indução da obesidade pelo modelo MSG. Além disso, apresentaram aumento da porcentagem do tecido conjuntivo, diminuição da massa do músculo sóleo, da densidade capilar, do número de núcleos por fibra muscular, das junções neuromusculares e da lipoperoxidação.

Já o treino em plataforma vibratória promoveu diminuição da porcentagem de tecido conjuntivo, aumento da densidade capilar, do número de núcleos por fibra muscular, aumento do tamanho das junções neuromusculares. No entanto não causou mudanças no sistema antioxidante e na enzima colinesterase. Ainda, nem a obesidade, nem o treinamento em plataforma vibratória modificaram os tipos de fibras musculares do músculo sóleo.

Com o exposto ressalta-se que o modelo MSG induz lesões hipotalâmicas e consequentemente promove alterações diretas no sistema musculoesquelético. Deste modo, o modelo pode não ter sido ideal para esclarecer os efeitos da plataforma vibratória no músculo sóleo. Assim, sugere-se que outros modelos de obesidade e diferentes protocolos, como alterações na intensidade, duração de sessão e tempo de treinamento sejam utilizados em futuros estudos para elucidar as questões hipotetizadas pelo presente estudo.

REFERÊNCIAS GERAIS

ALMEIDA, Luana Mirelle de, et al. Estratégias e desafios da gestão da atenção primária à saúde no controle e prevenção da obesidade. **Revista Eletrônica Gestão & Saúde**, v. 8, n. 1, p. 114-139, 2017.

BACHA, Jéssica Maria Ribeiro, et al. Impacto do treinamento sensório-motor com plataforma vibratória no equilíbrio e na mobilidade funcional de um indivíduo idoso com sequela de acidente vascular encefálico: relato de caso. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 23, n. 1, p. 111-116, 2016.

BAHIA, Luciana R.; ARAÚJO, Denizar Vianna. Impacto econômico da obesidade no Brasil. **Revista HUPE**, v. 13, n. 1, p. 13-17, 2014.

BALADELI, Salmia Mendes, et al. Comparação dos efeitos da cinesioterapia na plataforma vibratória com os da execução em solo na melhora da dor e capacidade funcional de pacientes com lombalgia crônica. **Anais Eletrônico. IX EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica UniCesumar**, n. 9, p. 4-8, nov. 2015.

BAUMGARTNER, Richard N., et al. Sarcopenic obesity predicts instrumental activities of daily living disability in the elderly. **Obesity Research**, v. 12, n. 12, p. 1995-2004, 2004.

BOARO, Sueli Nicolau, et al. Uso da plataforma vibratória em diferentes patologias. **FIEP**, v. 81, 2011.

BOGAERTS, An, et al. Effects of whole body vibration training on postural control in older individuals: A 1 year randomized controlled trial. **Gait & Posture**, v. 26, n. 2, p. 167-330, 2007.

BRAY, George A. Medical Consequences of Obesity. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p.2583–2589, 2004.

CAMILLIO, Cristina; KISS, Ana Carolina Inhasz; DAMASCENO, Débora Cristina. Influência da obesidade na bainha de mielina do sistema nervoso central. **Nutrição Brasil**, v. 16, n. 1, p. 57-62, 2017.

CASIMIRO, Jéssyca Azevedo, et al. Efeitos de um protocolo de exercícios sobre a plataforma vibratória na força muscular, equilíbrio e desempenho de marcha em idosas comunitárias. **Fisioterapia Brasil**, v.16, n.1, p. 25-31, 2015.

CERCIELLO, Simone, et al. Clinical applications of vibration therapy in orthopaedic practice. **Muscles, Ligaments and Tendons Journal**, v. 6, n. 1, p. 147-156, 2016.

CORBIERE, Thomas F., et al. Low-intensity vibration improves muscle healing in a mouse model of laceration injury. **Journal Functional Morphology and Kinesiology**, v. 3, n. 1, 2018.

CORRAL, Abel Romero, et al. Association of bodyweight with total mortality and with cardiovascular events in coronary artery disease: a systematic review of cohort studies. **The Lancet**, v. 368, p. 666-678, 2006.

DALTRO, Ana Flávia Calmon; BARRETO, Isabela Cerqueira; ROSA, Fabiana Paim. Análise do efeito da plataforma vibratória na regeneração de defeito ósseo. **Revista de Ciências Médica e Biológica**, Salvador, v. 15, n. 3, p. 323-329, 2016.

EDWARDS, Jennifer Helen; REILLY, Gwendolen Clair. Vibration stimuli and the differentiation of musculoskeletal progenitor cells: Review of results in vitro and in vivo. **World Journal of Stem Cells**, v. 7, n. 3, p. 568-582, 2015.

FIUZA-LUCES, Carmen, et al. Exercise is the Real Polypill. **Physiology**, v.28, n. 5, p. 330-358, 2013.

FRANÇA, Bruna Karoline, et al. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **Jornal Português de Gastreenterologia**, v. 20, n. 5, p. 199-206, 2013.

FRONTERA, Walter R.; OCHALA, Julien. Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. **Calcified Tissue International and Musculoskeletal Research**, v.96, n.3, p. 1-13, 2015.

GADELHA, André Bonadiaz, et al. Associação entre força, sarcopenia e obesidade sarcopênica com o desempenho funcional de idosos. **Motricidade**, v. 10, n. 3, p. 31-39, 2014.

GILLIES, Allison R; LIEBER, Richard L. Structure and function of the skeletal muscle extracellular matrix. **Muscle Nerve**, v. 44, p. 318–331, 2011.

GIRÃO-NETA, Odete Andrade; SILVA, Vitória Oliveira da; ALMEIDA, Marcos Rogério Madeiro de. Aplicações da plataforma vibratória para tratamento fisioterapêutico: uma revisão integrativa de literatura. **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica**, v. 3, n. 1, p. 01-04, 2017. Disponível em: <<http://publicacoesacademicas.unicatolicaquixada.edu.br/index.php/eedic/article/view/861>>. Acesso em: 25 Ago. 2017.

GONZALEZ-FREIRE, Marta, et al. The neuromuscular junction: aging at the crossroad between nerves and muscle. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 6, n. 208, p. 1-11, 2014.

GUYTON, Arthur C.; HALL, John. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 13 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HALLAL, Camilla Zamfolini; MARQUES, Nise Ribeiro; GONÇALVES, Mauro. O uso da vibração como método auxiliar no treinamento de capacidades físicas: uma revisão da literatura. **Motriz**, v. 16, n. 2, p. 527-533, 2010.

HILTON, Tiffany N., et al. Excessive adipose tissue infiltration in skeletal muscle in individuals with obesity, diabetes mellitus, and peripheral neuropathy: association with performance and function. **Journal Physical Therapy**, v. 88, p. 1336-1344, 2008.

JACOBSON, Bert H., et al. Acute effect of biomechanical muscle stimulation on the counter-movement vertical jump power and velocity in division i football players. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 31, n. 5, p. 1259-1264, 2017.

JUNQUEIRA, Luiz C.; CARNEIRO, José. **Histologia Básica**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

KANEGUCHI, Akinori, et al. Intermittent whole-body vibration attenuates a reduction in the number of the capillaries in unloaded rat skeletal muscle. **BMC Musculoskeletal Disorders**, v. 15, n. 315, p. 01-09, 2014.

KARALAKI, Maria, et al. Muscle Regeneration: Cellular and Molecular Events. **In vivo**, v. 23, p. 779-796, 2009.

KEYS, Ancel, et al. Indices of relative weight and obesity. **International Journal of Epidemiology**, v. 43, n. 3, p. 655-665, 2014.

KOMRAKOVA, Marina, et al. Identification of a vibration regime favorable for bone healing and muscle in estrogen-deficient rats. **Calcified Tissue International**, v. 92, p. 509–520, 2013.

KOVESDY, Csaba P.; FURTH, Susan L.; ZOCCALI, Carmine. Obesity and Kidney Disease: Hidden Consequences of the Epidemic. **Journal of Renal Nutrition**, v. 27, n. 2, p. 75-77, 2017.

KRAUSE-NETO, Walter, et al. Effects of exercise on neuromuscular junction components across age: systematic review of animal experimental studies. **BMC Research Notes**, v. 8, n. 713, p. 1-15, 2015.

LAUMONIER, Thomas; MENETREY, Jacques. Muscle injuries and strategies for improving their repair. **Journal of Experimental Orthopaedics**, v. 3, n. 15, p.1-9, 2016.

LEE, Dae-Yeon. Analysis of muscle activation in each body segment in response to the stimulation intensity of whole-body vibration. **The Journal of Physical Therapy Science**, v. 29, n. 2, p. 270–273, 2017.

MARSEGLIA, Lucia, et al. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 378-400, 2015.

OLNEY, John W. Glutamate-induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus. **Oxford Journals**, p. 1-16, 1971.

PARK, Song-Young; SON, Won-Mok; KWON, Oh-Sung. Effects of whole body vibration training on body composition, skeletal muscle strength, and cardiovascular health. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 11, n. 6, p. 289-295, 2015.

PEARSON-STUTTARD, Jonathan, et al. Worldwide burden of cancer attributable to diabetes and high body-mass index: a comparative risk assessment. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 6, p. 6 -15, 2018.

PIOVESAN, Roberto Farina, et al. Uma revisão sobre a plasticidade do músculo esquelético: expressão de isoformas de cadeia pesada de miosina e correlação funcional. **Fisioterapia em Movimento**, v. 22, n. 2, p. 211-220, 2009.

RAHEMI, Hadi; NIGAM, Nilima; WAKELING, James M. The effect of intramuscular fat on skeletal muscle mechanics: implications for the elderly and obese. **Journal Royal Society Interface**, v. 12, n. 109, p. 365-372, 2015.

REECE, Jane B., et al. **Biologia de Campbell**. 10 ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

RITTWEGER, Jörn. Vibration as an exercise modality: how it may work, and what its potential might be. **European Journal of Applied Physiology**, v. 108, p.877-904, 2010.

ROMAN-RAMOS, Ruben, et al. Monosodium glutamate neonatal intoxication associated with obesity in adult stage is characterized by chronic inflammation and increased mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptors in mice. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 108, p. 406–413, 2011.

ROSEN, Evan D.; SPIEGELMAN, Bruce M. What we talk about, when we talk about fat. **Cell**, v. 156, p. 20-44, 2014.

ROUBENOFF, Ronenn. Sarcopenic Obesity: The Confluence of Two Epidemics. **Obesity Research**, v. 12, n. 6, p. 913–920, 2004.

RUBIO-ARIAS, Jacobo Ángel, et al. Effect of 6-weeks WBVT on the behaviour of the lower limb muscle fibres during vertical jumping. **Journal of Sports Sciences**, v. 36, n. 4, p. 398-406, 2018.

SCLAFANI, Anthony. Animal models of obesity: classification and characterization. **International Journal of Obesity**, v. 8, p. 491-508, 1984.

SCHIAFFINO, Stefano; REGGIANI, Carlo. Fiber types in mammalian skeletal muscles. **Physiological Reviews**, v. 91, p. 1447–1531, 2011.

SCHRAGER, Matthew A., et al. Sarcopenic obesity and inflammation in the InCHIANTI study. **Journal of Applied Physiology**, v. 102, p. 919–925, 2007.

SCHUH, Daniela Schneid, et al. Escola Saudável é mais Feliz: Design e Protocolo de um Ensaio Clínico Randomizado Desenvolvido para Prevenir o Ganho de Peso em Crianças. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 108, n. 6, p. 501-507, 2017.

SILVA, Patrícia Zambone da; SCHNEIDER, Rodolfo Herberto. Efeitos da plataforma vibratória no equilíbrio em idosos. **Revista Acta fisiátrica**, v. 18, n. 1, p. 21–26, 2011.

SILVA, Ulysses da, et al. Efeitos a curto prazo da plataforma vibratória e oscilatória em indivíduos saudáveis. **Ciência & Saúde**, v. 8, n. 3, p. 99-106, 2015.

SILVA-NETO, Luiz S., et al. Associação entre sarcopenia, obesidade sarcopênica e força muscular com variáveis relacionadas de qualidade de vida em idosos. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 16, n. 5, p. 1-8, 2012.

SILVEIRA, Erika Aparecida; VIEIRA, Liana Lima; SOUZA, Jacqueline Danesio. Elevada prevalência de obesidade abdominal em idosos e associação com diabetes, hipertensão e doenças respiratórias. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, n. 3, p. 903-912, 2018.

SMITH, John K. Exercise, Obesity and CNS Control of Metabolic Homeostasis: A Review. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. 574, p. 1-11, 2018.

SPIELMANN, Marc, et al. Whole-Body Vibration Training During a Low Frequency Outpatient Exercise Training Program in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients: A Randomized, Controlled Trial. **Journal of Clinical Medicine Research**, v. 9, n. 5, p. 396-402, 2017.

TALBOT, Jared; MAVES, Lisa. Skeletal muscle fiber type: using insights from muscle developmental biology to dissect targets for susceptibility and resistance to muscle disease. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology**, v. 5, p. 518–534, 2016.

TOMLINSON, David J. The impact of obesity on skeletal muscle strength and structure through adolescence to old age. **Biogerontology**, v. 17, p. 467-483, 2016.

TROVATO, Francesca Maria, et al. Morphological and Functional Aspects of Human Skeletal Muscle. **Journal of Functional Morphology and Kinesiology**, v. 1, p. 289–302, 2016.

WOLFE, Robert R. The underappreciated role of muscle in health and disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 84, p. 475–482, 2006.

WHO. **World Health Organization**. Disponível em:
<<http://www.who.int/topics/obesity/en/>>. Acesso em: 30 mai. 2018.

ZAMBONI, Mauro, et al. Sarcopenic obesity: A new category of obesity in the elderly. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 18, p. 388-395, 2008.

ANEXO 01



Certificado Experimental no Uso de Animais em Pesquisa Nº 08/18 - CEUA

Certificamos que a proposta intitulada “Efeitos da plataforma vibratória em ratos Wistar obesos – análises funcionais e morfológicas”, registrada com o número “17/17”, sob a responsabilidade de “Gladson Ricardo Flor Bertolini”, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), 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 de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pelo COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ (UNIOESTE), em reunião de 08/06/2018.

Finalidade	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/07/2017 - 31/03/2018
Espécie/linhagem/raça	Ratos: <i>Rattus norvegicus</i> Rato heterogênico Wistar
Nº de animais	10
Peso/Idade	250g/60 dias
Sexo	Feminino

Nº de animais	40
Peso/Idade	10g/filhotes
Sexo	Masculino
Origem	Biotério Central da Unioeste, campus de Cascavel

Prof. Dra. Luciana Oliveira de Fariña
Coordenadora do CEUA UNIOESTE
Portaria nº3730/2016

ANEXO 02
NORMAS REVISTA 01

Motriz Journal (Artigo 01)

Basic information

Motriz is a Scientific Journal launched in 1995, which is published quarterly by the Department of Physical Education, Institute of Biosciences, São Paulo State University, at Rio Claro, State of São Paulo, Brazil. Since 2016, Motriz has published articles exclusively in electronic format using ScholarOne submission system and English-only manuscripts are accepted.

Scope

Motriz was designed to disseminate the knowledge of exercise science that is relevant to all researchers and professional involving either basic or applied researches. Motriz encourages manuscript submissions from different field in exercise science including sports training, adaptative sports, sports psychology, biomechanics and neural control of movement, physical activity and health, sports coaching, and adventure sports and leisure.

Motriz uses the "Open Access" policy, allowing free-of-charge and unrestricted access to its contents. Online-only submission is required, and, after successful registration in the Journal's website, it is the author's responsibility to update documents and personal information.

The abbreviated title of Motriz Journal is Motriz: J. Phys. Ed., which can be used in citations, footnotes and in the list of references. eISSN: 1980-6574.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Language: Only English manuscripts are accepted.

All submissions will be screened for plagiarism using Turnitin software

Organization of the manuscript:

Present your manuscript in the order below:

1. First Page:

title: First letter capitalized, subsequent letters in lower case. Avoid abbreviations.

Short title.

All authors name and affiliations. If necessary, use superscripted lowercase letters after the author's name to distinguish affiliations

Author to whom proofs and correspondence should be sent, including name, mailing address, and e-mail address.

2. A structured abstract has to be submitted for original articles (not for mini reviews). No more than 250 words with the following headings: Aims; Methods; Results; and Conclusion.

3. Main text: Manuscript should include the following sections: Abstract, Introduction, Methods (insert the process number of Ethics Committee), Results, Discussion, and Conclusions. The manuscript shall be double-spaced, Times font, size 12 pt., text left justified, with number of pages limited as the sections above. Page margin size is 2.5 cm top, bottom, left and right sides. Figures and Tables must be inserted at the end of the manuscript, properly numbered and labeled. If the manuscript is approved, a jpg or tiff file for each figure will be requested. Each page must be numbered, with lines numbered in order to facilitate the review process.

Reference style

The abbreviated title of Motriz Journal is Motriz: J. Phys. Ed., which can be used in citations, footnotes and in the list of references. eISSN: 1980-6574.

Text

Use Arabic numerals in the text in numerical order superscript separated by comma 1,2,3,4,5,6. The authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given. Example:

‘...as demonstrated^{3,6}. Engles and Jones⁸ obtained a different ...’

Reference list

At the end of the paper in the same order in which they were cited in the text, the complete reference with author(s) name(s), journal title/book title, chapter

title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present.

Please follow the examples below to format the references of your manuscript.

Examples:

ARTICLES

1. Cayres SU, de Lira FS, Machado-Rodrigues AM, Freitas Junior IF, Barbosa MF, Fernandes RA. The mediating role of physical inactivity on the relationship between inflammation and artery thickness in prepubertal adolescents. *J Pediatr*. 2015;166(4):924-9.

If the work you need to reference has more than six authors, you should list the first six authors,

followed by 'et al.':

2. Antunes M, Christofaro DG, Monteiro PA, Silveira LS, Fernandes RA, Mota J, et al. Effect of concurrent training on gender-specific biochemical variables and adiposity in obese adolescents. *Arch Endocrinol Metab*. 2015;59(4):303-9.

BOOK: PRINT

3. Zanesco A, Puga G, editors. *Doenças cardiometabólicas e exercícios físicos*. Ed. Rio De Janeiro, Revinter, 2013.

CHAPTER BOOK

4. Santos DM, Pesquero JL. Exercício físico e Sistema renina-angiotensina. In: *Doenças cardiometabólicas e exercícios físicos*. Rio de Janeiro, Revinter; 2013. p. 69-80.

Use of DOI is highly encouraged.

Proofs

All manuscripts will undergo some editorial modification, so it is important to check proofs carefully. The corresponding author will be sent an email asking them to check their proofs. The email will either have a link for authors to access their PDF proofs online, or will have a PDF proof attached.

To avoid delays in publication, proofs should be checked and returned within 2 working days. The preferred method of correction is by annotated PDF. Extensive changes to the text may be charged to the author.

Copyrights

Copyrights of published articles are the property of Motriz, and under no circumstance will the Journal transfer rights of published work. Reproduction of portions of published articles in other publications, or for any other use, is subject to written permission by the Editors-in-Chief. Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a "Journal Publishing Agreement." Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An email will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a "Journal Publishing Agreement" form or a link to the online version of this agreement.

Guiding Principles for Research Involving Animals and Human Beings

Animal research:

Research involving animals must adhere to Guiding Principles in the Care and Use of Animals in Research in agreement with the Brazilian Council for using animal in research (CONCEA/BR) and a statement of protocol approval from a Local Committee must be included in the Methods section of the manuscript. Studies involving surgeries or other painful procedures must include an explanation of steps taken to mitigate pain and distress, including the types and dosage of anesthetics and post-operative analgesics that were used.

These supplementary files must be attached in the Motriz electronic system.

Motriz reserves all rights of its published articles. Therefore, any duplication of information conveyed in the journal or previously published in another publication--from materials published by the authors themselves or from authorship of others--is considered copyright infringement. This is a very serious breach of ethics, and, in such cases, disciplinary measures will be taken (e.g., retraction of the article; suspension of the implicated authors and co-authors for a minimum period of five years, or upon discretion of the editorial board).

Peer review process

An original manuscript submitted for publication will be submitted to the review process as long as it fits the following criteria:

✓ the study was not previously published, nor has been submitted simultaneously for consideration of publication elsewhere;

- ✓ all persons listed as authors approved its submission to Motriz;
- ✓ any person cited as a source of personal communication has approved the quote;
- ✓ the opinions expressed by the authors are their exclusive responsibility;
- ✓ the author signs a formal statement that the submitted manuscript complies with the directions and guidelines of Motriz.

The Editor-in-Chief and Associate Editors will make a preliminary analysis regarding the appropriateness, quality, originality and written style/grammar of the submitted manuscript. The editors reserve the right to request additional information, corrections, and guideline compliance before they submit the manuscript to the "ad-hoc" review process.

Minor changes in the text may be made at the discretion of the Editors-in-Chief and/or Associate Editors. Changes can include spelling and grammar in the chosen language, written style, journal citations, and reference guidelines. The author is notified of changes at any point of the review process, or during the paper production for publication. The final version is available to the author for his or her approval before it is published.

Motriz uses "ad-hoc" reviewers, who volunteer to analyze the merit of the study. Typically, one or more expert reviewers are consulted in a single-blind process. Authors are notified by e-mail when their submission has been accepted (or rejected).

Important: The Motriz Editorial Board believes that majority of research authors who submit manuscripts to this journal expects positive and high quality reviews of their peers. In addition, this board expects that all authors who consider submitting a manuscript, have already submitted, or have a paper recently published in Motriz must act, upon invitation, as "ad hoc" reviewer of manuscripts submitted to this journal.

Published manuscripts are entirely the responsibility of the authors and do not reflect opinions or personal views of Motriz Journal editors or associate editors.

Archiving

Motriz utilizes the LOCKSS system to create a distributed file system among participating libraries and allows them to create permanent archives of the journal for the preservation and restoration of files. [href="http://lockss.stanford.edu/"](http://lockss.stanford.edu/).

ANEXO 03
NORMAS REVISTA 02

MUSCLE & NERVE (Artigo 02)

Muscle & Nerve is an international and interdisciplinary publication of original contributions, in both health and disease, concerning studies of the muscle, the neuromuscular junction, the peripheral motor, sensory and autonomic neurons, and the central nervous system where the behavior of the peripheral nervous system is clarified. Appearing monthly, Muscle & Nerve publishes clinical studies and clinically relevant research reports in the fields of anatomy, biochemistry, cell biology, electrophysiology and electrodiagnosis, epidemiology, genetics, immunology, pathology, pharmacology, physiology, toxicology, and virology. The Journal welcomes articles and reports on basic clinical electrophysiology and electrodiagnosis. We expedite some papers dealing with timely topics to keep up with the fast-moving pace of science, based on the referees' recommendation.

MANUSCRIPT PREPARATION

- Word format preferred.
- Electronic versions in ASCII or PDF are not acceptable.
- Double Space entire manuscript, including reference section.
- Organize manuscript in the following order, with each component beginning on a separate page and with a running title and page number in the upper right hand corner of each page.

Title page (page 1)

- Article Title (80 spaces Maximum).
- Authors' full name (first name, middle initial, surname) and graduate degree (no more than 2)
- Author Affiliations (name of department if any, institution, city and state or country where work was done) **Authors with multiple affiliations should provide only their primary affiliation.

- Acknowledgments if applicable (grant support and individuals who were of direct help in preparation of the study).
- Number of words in abstract.
- Number of words in manuscript (excluding abstract, references, table titles, and figure legends).
- Name/address and email address of the author to whom reprint requests are to be sent.
- Running title (30 spaces Maximum).
- If part or all of the material is contained within a presentation made at a national meeting, the organization, city, and date of the presentation should be included as a footnote, but details of any abstracts should not be cited here.

Ethical Publication Statement

- All papers must include the following statement to indicate that the authors have read the Journal's Position on Issues Involved in Ethical Publication and affirm that their report is consistent with those guidelines: "We confirm that we have read the Journal's position on issues involved in ethical publication and affirm that this report is consistent with those guidelines."

Disclosure of Conflicts of Interest

- One of the following sentences must be included: either "Author A has received support from, and/or has served as a paid consultant for Author B has received support from.... The remaining authors have no conflicts of interest." Or "None of the authors has any conflict of interest to disclose." Note: Disclosure is needed for financial income/payment from commercial sources, the interests of which are relevant to this research activity. Please identify sources from which financial assistance/income was obtained during the period of the research activity and generation of the current report. Grants from government and/or private agencies should be identified in the Acknowledgements section. For additional details see Muscle and Nerve's Position on Issues Involved in Ethical Publication below.

Abstract (page 2)

- Include title of article.
- No more than 150 words.

- Depending on type of article, the abstract should include sections labeled: Introduction, Methods, Results, Discussion. For basic research publications a statement of clinical relevance is encouraged. Authors who wish to have additional information about the structured abstract format are referred to the National Library of Medicine website: (http://www.nlm.nih.gov/bsd/poli-cy/structured_abstracts.html) and to an article that reviews the subject: (Harbourt AM, Knecht LS, Humphreys BL. Structured abstracts in MEDLINE, 1989-1991. Bull Med Libr Assoc. 1995;83:190-195)

Key Words

- The authors should provide 5 key words on the bottom of the abstract page pertaining to all major points of their contribution. This will help index the article for reference citations. Authors are suggested to refer the below link for adding key words: Search Engine Optimization: For Authors.

Text (starts on page 3)

- Organized in the following format; Introduction, Methods, Results, and Discussion. Other descriptive headings and subheadings may be used if appropriate. Every effort should be made to avoid jargon, to spell out all nonstandard abbreviations the first time they are mentioned, and to present the contents of the study as clearly and as concisely as possible.

- The methods, apparatus (including manufacturer's name and address), and procedures should be identified in sufficient detail to allow other investigators to reproduce the results. References should be given for all discussions of previous studies and for all nonstandard methods used. For experiments in which humans or animals were studied, see Muscle and Nerve's Position on Issues Involved in Ethical Publication below. For drugs and chemicals, the generic name should be used. Patients' names, initials, or hospital numbers should not be used.

- Be sure that all references and all tables and figures are cited within the text. The tables and figures should be numbered according to the order in which they appear. Data appearing in tables or figures should be summarized, not duplicated, in the text. All data cited in the text should be checked carefully against the corresponding data in the tables to ensure that they correspond, and all names cited in the text should be checked carefully against the references to ensure that the

spelling is correct. Any ambiguous symbols (e.g., the letter “O” versus the numeral “0,” the letter “l” versus the numeral “1”) should be identified. Tables should be of a size that can be printed in a vertical format on the page, thus the width should be no more than 6 inches.

Abbreviations

- All abbreviations used in the text should be listed and defined in alphabetical order on a separate page. This list should appear just before the references.

References

- Double-spaced.
- Listed and numbered in the order of citation and number them accordingly.
- Identify references in the text, tables, and legends by Arabic numerals typed as superscripts.
- Include ALL author names (surnames followed by initials, use “et al” after the sixth author in the case of multi-authored works).
- Include the title of the article with the same spellings and accent marks as in the original.
- Include the journal title abbreviated as it appears in the Index Medicus or spelled out if it is not listed there.
- Include the date of publication.
- Include the volume number.
- Include inclusive page numbers.
- For books be sure to include the chapter title, chapter authors, editors of the book, title of the book (including volume or edition number), publisher’s name and location, date of publication, and appropriate page numbers.
- Unpublished observations,” “personal communications,” and information that has been obtained from manuscripts “submitted for publication” but not yet accepted should not appear in the references but should be cited in parentheses in the text. Unpublished observations should include the authors, the year, and should be accompanied by letters of permission from all individuals cited; quotations from manuscripts that have been submitted for publication should include the authors, the title of the manuscript, and the date. Manuscripts that have been accepted for publication but have not yet been published may appear in the references. Include

the authors, manuscript title, and name of journal, followed by “to be published” in parentheses.

Tables

- Double-spaced.
- Separate pages.
- Word file, NOT photograph or image files.
- If table must exceed 1 typewritten page, duplicate headings on the second sheet.
- Numbered in the order in which they are cited in the text.
- Include a title at top of table.
- Every column (including the left-hand (stub) column should have a heading.
- Define all abbreviations immediately below the table.
- Indicate the units of measurements for all values.
- Use commas for all numbers exceeding 999, and use zeros before decimals for numbers less than 1.
- Organized so that like data are read vertically, not horizontally.
- Do not use internal horizontal or vertical lines to separate sections.
- Explain all empty spaces or dashes.
- Indicate footnotes to the table using the following symbols.
- * (asterisk), †(dagger), ‡ (double dagger), § (section mark), ¶ (paragraph mark), # (number sign).
- Letters of the alphabet, lower case and italic, should be used instead if there are more than 7 footnotes.
- Symbols (or letters) should appear after commas and periods, before colons and semicolons, and should be superscript.
- If data from any other source, published or unpublished, are used, obtain permission for their use and cite the source in the legend.

Figure/Images

- JPEG, TIFF or EPS file format (Tagged Image File, Encapsulated PostScript).
- Each file must include all subparts (A, B, C, etc.) to the figure. Subparts should not be uploaded individually.

- Resolution.
- Halftones are to be scanned at 300 dots per inch (dpi).
- Line Art is to be scanned at 1200 dpi.
- Figures prepared in Word, Excel, Microsoft Publisher, Lotus 123, PowerPoint and Corel Draw are not acceptable as digital files.
- If your files have been prepared in one of these formats and cannot be converted you will be required to mail high quality hard copy figures.
- All images must be saved and submitted in final size. The final figure sizes are: 1 column = 3-in. (8.25-cm) wide, 1.5 column = 5-in. (13-cm) wide, 2 columns = 6-in. (17.15-cm) wide. Figures should not exceed 8-in. (21.6-cm) in height. All cropping and manipulation must be completed before the images are submitted to the publisher.
- Avoid use of fine lines (point and below) for graphs and charts.
- Use only Adobe Type 1 fonts in creating images, and limit the number for fonts used.
- Do not reletter images in Photoshop. If relettering must be done, import the image into either Freehand or Illustrator and reletter, then make an EPS file.
- Make sure all scanned images are “clean.” Look for and clean up dust specks, scratches, tape marks, and anything that is not part of the actual image. Files generated in Freehand should be saved in EPS format.
- Photomicrographs must include a calibration bar of appropriate length (e.g., 1mm, 0.1 mm, etc.) Symbols used in micrographs should contrast with the background.
- For photographs of persons, written permission from the subject must be supplied.
- Unless specified otherwise, the subject’s eyes will be masked to prevent identification.

Figure Legends

- Less than 200 words.
- Double spaced.
- Numbered with Arabic numerals corresponding to the illustrations.
- When symbols, arrows, numbers, or letters are used to identify parts of the illustration, each should be explained clearly in the legend.

- For photomicrographs, the internal scale markers should be defined and the methods of staining should be given. If the figure has been previously published a credit line should be included.