



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas

**Telefax: (034)3218-2472, site www.ppgbc.icbim.ufu.br, e-mail ppgbc@icbim.ufu.br
Av. Pará 1720 - Campus Umuarama, bloco 2E, sala 36-A, 38400-902 Uberlândia MG**

**ANÁLISE DAS ALTERAÇÕES DE TENDÕES CALCANEARES E DOS
EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA ASSOCIADA AO
EXERCÍCIO NATATÓRIO**

ANGELA APARECIDA DE MELO CARVALHO

UBERLÂNDIA

2015

ANGELA APARECIDA DE MELO CARVALHO

**ANÁLISE DAS ALTERAÇÕES DE TENDÕES CALCANEARES E DOS
EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA ASSOCIADA AO
EXERCÍCIO NATATÓRIO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas – ICBIM/UFU, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Tatiana Carla Tomiosso.

UBERLÂNDIA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

C331a
2015 Carvalho, Angela Aparecida de Melo, 1954-
 Análise das alterações de tendões calcaneares e dos efeitos da dieta
 hiperlipídica associada ao exercício natatório / Angela Aparecida de
 Melo Carvalho. - 2015.
 40 f. : il.

 Orientadora: Tatiana Carla Tomiosso.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
 Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas.
 Inclui bibliografia.

 1. Citologia - Teses. 2. Tendão de Aquiles - Teses. 3. Obesidade -
 Teses. 4. Exercícios físicos aquáticos - Teses. I. Tomiosso, Tatiana
 Carla. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
 Graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas. III. Título.

ANGELA APARECIDA DE MELO CARVALHO

**ANÁLISE DAS ALTERAÇÕES DE TENDÕES CALCANEARES E DOS
EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA ASSOCIADA AO
EXERCÍCIO NATATÓRIO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas – ICBIM/UFU, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Tatiana Carla Tomiosso

Profa. Dra. Flávia de Paoli

Profa. Dra. Simone Ramos Deconte

Uberlândia

2015

Dedicatória

Ao meu esposo Horácio, filha Carolina, genro Júlio e neta Mariana, com amor e carinho.

A Deus e Jesus

Espíritos sábios e benevolentes, mensageiros de Deus, cuja missão é assistir aos homens e conduzi-los ao bom caminho, sustentai-me nas provas desta vida; daí-me força de suportá-las sem murmurar; desviai de mim os maus pensamentos, e fazei com que eu não dê acesso a nenhum dos maus espíritos que tentarem me induzir ao mal. Esclarecei minha consciência sobre meus defeitos e retirai dos meus olhos, o véu do orgulho que poderia impedir-me de os perceber e confessá-los a mim mesmo.

Meu anjo guardião, que velais mais particularmente por mim, fazei com que me torne digno da vossa benevolência. Conheceis as minhas necessidades, que elas estejam satisfeitas segundo a vontade de Deus.

Agradecimento especial

À minha orientadora profa .Dra. Tatiana Carla Tomiosso, agradeço a todos ensinamentos, paciência, orientação e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Jesus pela oportunidade do estudo e pesquisa.

Aos meus pais queridos Senezomar e Guilhermina pela vida e por tudo que sou.

Aos meus irmãos queridos Anibal, Alvair e Augusta pelo apoio incondicional em todos momentos.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação pelo ensino relevante.

Ao prof. Paulo Rogério por despertar-me para a Pós Graduação.

Aos professores Luís, Fernanda e Neide da minha banca examinadora, durante minhas apresentações nos simpósios internos do Programa do Pós Graduação.

À profa. Dra. Danielle Lisboa por me dar a chance de assistir suas aulas da Graduação.

Aos alunos de iniciação científica Aline e Anderson ,pela colaboração.

Aos técnicos e técnicas pela ajuda constante, principalmente Fabrício, Ester e Simone.

A profa. Dra. Renata Zanon, Pedro e outros colaboradores .

Aos laboratórios de Anatomia, Fisiologia , Genética e Histologia.

Aos colegas de mestrado: Tafarel, Mariane, Natália Nogueira, agradeço pela constante colaboração comigo e a todos os colegas, o meu carinho.

Aos funcionários dos laboratórios, pelo apoio constante.

As secretárias da Biologia Celular : Ju e Renata pela atenção constante.

Aos camundongos, meu eterno agradecimento.

Enfim, a todo apoio de todos que colaboraram conosco, para que fosse executado esse projeto.

SUMÁRIO

RESUMO-----	08
ABSTRACT-----	09
1-INTRODUÇÃO-----	10
2- JUSTIFICATIVA -----	16
3- OBJETIVOS -----	17
4-MATERIAL E MÉTODOS-----	17
5-RESULTADOS-----	21
6-DISCUSSÃO-----	29
7-CONCLUSÕES-----	33
8-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	33

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01- Aquário de treinamento

FIGURA 02- Gráfico do número de fibroblastos

FIGURA 03- Prancha HE

FIGURA 04- Prancha HE e Von Kossa.

FIGURA 05- Porcentagem do colágeno total

FIGURA 06- Prancha Picrosirius

FIGURA 07- Gráfico dosagem de proteínas não colagênicas

FIGURA 08- Gráfico evolução do peso corporal

FIGURA 09- Gráfico evolução do consumo alimentar

FIGURA 10 – Gráfico da adiposidade visceral

LISTA DE ABREVIATURAS

MEC -Matriz extracelular

GAGs -Glicosaminoglicanos

PGS -Proteoglicanos

MMPs -Metaloproteinases

DN -Camundongos submetidos a dieta normal

DNex - Camundongos submetidos a dieta normal e exercício natatório

DH - Camundongos submetidos a dieta hiperlipídica

DHex Camundongos submetidos a dieta hiperlipídica e exercício natatório.

RESUMO

Atualmente a obesidade é um problema de saúde pública mundial, caracterizada pelo excesso de gordura corporal. Sabe-se que a obesidade pode provocar alterações músculo-esqueléticas, podendo inclusive influenciar negativamente os tendões. O tendão calcâneo, mais resistente do corpo humano tem a função de transmitir a força gerada no músculo ao osso. Além de ser influenciado pelo sobrepeso, o tendão também tem a capacidade de responder ao exercício físico. Este trabalho teve por objetivo observar alterações morfológicas e bioquímicas em tendões calcaneares de camundongos submetidos à uma dieta hiperlipídica e exercício físico. Foram utilizados camundongos suíços e adultos (n=36), divididos em 4 grupos: 1- dieta normal sedentário (DN), 2- dieta normal e natação (DNex), 3- dieta hiperlipídica sedentário (DH) 4- dieta hiperlipídica e natação (DHex).

A dieta foi iniciada a partir da 8ª. semana de vida e o treinamento a partir da 15ª. semana, sendo realizado durante 8 semanas consecutivas em aquário com dimensões fixas.

Com a finalidade de verificar se a dieta hiperlipídica causou um sobrepeso, o consumo alimentar, o peso corporal e o peso do tecido adiposo visceral foram acompanhados ao longo dessas 8 semanas. Os tendões calcaneares foram removidos e destinados a técnicas histológicas de rotina e para análises bioquímicas.

Cortes com 7 µm de espessura foram corados com HE, Picrosírius e Von Kossa e posteriormente analisados em microscopia de luz comum. Para análise bioquímica, a dosagem de proteínas foi realizada através do método Bradford.

O grupo DH apresentou maiores valores de peso corporal e adiposidade visceral, demonstrando que a dieta hiperlipídica administrada aos animais foi eficiente. Contudo, no grupo DHex foi observado uma redução desses valores, indicando que a prática de atividade física reverteu esses valores.

As análises morfológicas demonstraram sem diferenças estatísticas em relação ao número de fibroblastos entre os grupos. Entretanto, os grupos exercitados apresentaram uma maior quantidade de colágeno e proteínas não colagênicas. Foram observadas também a presença de calcificações em tendões de camundongos do grupo de dieta hiperlipídica sem exercício físico.

Palavras-chave: obesidade, tendão de Aquiles, natação, colágeno

ABSTRACT

Currently obesity is a worldwide public health problem, characterized by excess body fat. It is known that obesity can cause musculoskeletal abnormalities that can negatively influence the tendons. The achilles tendon, tougher human body has a function to transmit power generated in the muscle to bone. Besides being influenced by the overweight, the tendon also has the ability to respond to physical exercise. This study aimed to observe morphological and biochemical changes in calcaneal tendon of mice subjected to a high-fat diet and exercise. Adults Swiss mice were used ($n = 36$), were divided into 4 groups: 1- sedentary normal diet (ND), 2- Normal diet and swimming (DNEX), 3- sedentary fat diet (DH) 4- fat diet and swimming (DHex).

The diet was started from the 8th. week of life and training from the 15th. week, it is held for 8 consecutive weeks in aquarium with fixed dimensions.

In order to verify that the high fat diet caused an overweight, food consumption, body weight and the weight of visceral adipose tissue were followed over these eight weeks. The calcaneal tendons were removed and for routine histological techniques and analyzes Biochemical. Cuts with 7 mm thick were stained with HE, Picrosirius and Von Kossa and later analyzed in ordinary light microscope. For biochemical analysis, the determination of proteins was performed by the Bradford method.

The DH group had higher values of body weight and visceral adiposity, showing that high fat diet fed to animals was efficient. However, DHex group was observed a reduction of these values, indicating that physical activity has reversed these values.

Morphological analysis showed no statistical differences in the number of fibroblasts in both groups. However, the exercise groups showed higher amounts of collagen and non-collagenous proteins. It was also observed the presence of calcifications in the tendons of mice fat diet group without exercise.

Keywords: obesity, Achilles tendon, swimming, collagen

1-INTRODUÇÃO

1.1 Tendão calcâneo

O tendão calcâneo, ou calcanear, ou como também é popularmente conhecido tendão de Aquiles é o maior e mais resistente tendão do corpo humano. Esse tendão é responsável por fixar o músculo sóleo e gastrocnêmio ao osso calcâneo (DANGELO & FATTINI, 2004). Os tendões são formados por tecido conjuntivo denso modelado fibroso, composto por fibras ordenadas em feixes. Este tecido exibe uma hierarquia estrutural e pode ser subdividido em fascículos, fibras, fibrilas e microfibrilas (LIN *et al.*, 2004).



Cargas frequentes e repetidas impostas ao tendão o predispõem para lesões causadas por uso excessivo (SMITH *et al.*, 2002).

O tendão calcanear tem atraído interesse especial, devido sua importância em Medicina Esportiva (BENJAMIN *et al.*, 2004; SHAW & BENJAMIN, 2007). A região proximal do tendão calcanear, voltada para o músculo possui a típica estrutura para resistir exclusivamente a forças de tensão. A região distal, voltada para o osso calcâneo apresenta duas estruturas de fibrocartilagens: a 1ª. uma fibrocartilagem compressiva, que progride para calcificação em animais idosos e a 2ª. é a entese fibrocartilagem (COVIZI *et al.*, 2001; ESQUISATTO *et al.*, 2007). Enteses são locais de concentração de estresse e consequentemente são sujeitos a injúrias por excesso de uso (entese patias), que são documentadas em vários esportes (BENJAMIN *et al.*, 2006).

O tendão pode ser revestido por uma bainha sinovial, a qual facilita o deslizamento contra as superfícies adjacentes, com função de diminuir o atrito contra os acidentes ósseos e os tecidos. Envolvendo os tendões existe uma membrana externa de tecido conjuntivo frouxo

com função similar, a bainha paratendinosa ou paratenônio (BENJAMIN & RALPHS, 2000; KANNUS, 2000). O paratenônio permite o livre movimento do tendão contra os tecidos vizinhos e a entrada de nervos, de vasos linfáticos e sanguíneos, que vascularizam as camadas mais internas do tecido, através do epitenônio e endotenônio. O epitenônio localizado sob o paratenônio é uma fina bainha de tecido conjuntivo que circunda o tendão (JÓZSA *et al.*, 1991). O endotenônio reveste e liga cada feixe de fibra de colágeno terciário, secundário (fascículo) e primário (subfascículo) do tendão (JÓZSA & KANNUS, 1997; KANNUS, 2000; ARO *et al.*, 2009). As fibrilas são as unidades básicas que formam as fibrilas de colágeno e têm função fundamental na transmissão da força no tendão (MAGNUSSON *et al.*, 2003). As fibrilas de colágeno são constituídas por moléculas longas e estáveis compostas por três cadeias polipeptídicas, denominadas α , que formam uma estrutura em tripla hélice, denominada de tropocolágeno. Cada cadeia possui uma sequência repetitiva Gly-X-Y, sendo que X e Y podem ser quaisquer aminoácidos, mas cerca de um terço das posições X são ocupadas por prolina e um número semelhante de posições Y são ocupadas por hidroxiprolina (KADLER *et al.*, 1996; GELSE *et al.*, 2003). As propriedades biomecânicas do tendão se devem ao arranjo e organização das moléculas de colágeno. A presença de prolina, hidroxiprolina e glicina é fundamental na estabilização da tripla hélice das moléculas de colágeno (PIEZ & REDDI, 1984). A matriz extracelular dos tendões é constituída por colágenos, proteoglicanos (PGs) e proteínas não colagênicas (KANNUS, 2000; SILVER *et al.*, 2003). O colágeno representa cerca de 65-85% do peso seco do tendão, sendo o restante representado por células, PGs e outras proteínas da matriz (PARRY *et al.*, 1978; LIU *et al.*, 1995; KJAER, 2004). O colágeno corresponde a mais da metade do total de proteínas de um organismo adulto e é um dos principais componentes da MEC dos tendões (GELSE *et al.*, 2003).

O principal colágeno encontrado é do tipo I, que representa de 80 a 90% do tecido e as moléculas estão arranjadas em fibras e feixes de fibras, dispostas longitudinalmente ao maior eixo do tendão (VIDAL, 1970; VIDAL & CARVALHO, 1990; LIN *et al.*, 2004). Este tipo de colágeno é o principal responsável pela estabilidade estrutural e mecânica atribuída a esse tecido (EZURA *et al.*, 2000). Junto ao colágeno tipo I, também podem ser encontrados o colágeno tipo II na região de compressão dos tendões (BERENSON *et al.*, 1996), o tipo III, que está relacionado ao controle do diâmetro fibrilar e compõe fibrilas heterotípicas com os colágenos tipos I e V, o tipo VI que é encontrado na parte mediana e na entese do tendão calcâneo (WAGGETT *et al.*, 1998), além dos tipos XII e XIV que participam na regulação do crescimento e associação fibrilar (YOUNG *et al.*, 2000).

Os PGs são constituídos por um esqueleto proteico central ao qual estão ligados uma ou mais cadeias de glicosaminoglicanos (GAGs). Existe uma grande variabilidade desses componentes devido à variação do core proteico e das diferentes classes de GAGs atachadas a ele, dessa forma estas moléculas desempenham diversas funções nos tecidos conjuntivos (IOZZO & MURDOCH, 1996). Os PGs se associam aos colágenos fibrilares auxiliando na formação das fibrilas, principalmente os pequenos PGs estão envolvidos na montagem das fibras e fibrilas colagênicas, podendo tanto influenciar na organização destas por alteração do padrão nas quais se formam, quanto no tamanho final da fibra de colágeno (KUC & SCOTT, 1997). Menos de 1% do peso seco nos tecidos fibrosos é representado pelos proteoglicanos e entre eles se destacam o decorim, o biglicam e o fibromodulim (EVANKO & VOGEL, 1990).

De maneira geral na MEC de tendões, além das moléculas já citadas acima, também estão presentes as glicoproteínas não colagênicas (PNC) e diversas outras pequenas moléculas. Entre aquelas, destacam-se glicoproteínas adesivas como a fibronectina, tenascina e a trombospondina, que participam em processos de reparo e regeneração de tendão (JOZSA *et al.*, 1991; CHIQUET-EHRISMANN & TUCKER, 2001; SCHWARZBAUER & DE SIMONE, 2011).

1-2- As tendinopatias

A tendinite e a tendinose, que juntas formam a tendinopatia, são doenças que podem acometer os tendões (COOK *et al.*, 2002; REDONDO-ALONSO *et al.*, 2014). Basicamente a tendinose é a continuação progressiva e crônica da tendinite, que se iniciou com uma inflamação e todas as suas características peculiares, e podem ser desencadeadas, por exemplo, a partir de um traumatismo, por excesso de repetições de movimentos, infecção, desnutrição, sobrepeso ou obesidade, (SPIESZ *et al.*, 2015). Assim sendo, esses fatores juntos ou separados, desencadeiam os eventos de inflamação, degeneração, e até rompimento dos tendões (COOK *et al.*, 2002; JAFARI *et al.*, 2015; THOMOPOULOS *et al.*, 2015).

A tendinopatia de Aquiles é uma injúria comum e causa dor durante as atividades, as quais se colocam cargas como levantar, caminhar, jogar e correr. As condições são mais comuns entre os tendões acometidos com altos níveis de carga, e fatalmente 50% dos corredores experimentarão pelo menos um episódio de tendinopatia do tendão calcâneo antes de 45 anos de idade (ALFREDSON & LORENTZON, 2000; KUJALA *et al.*, 2005). Contudo, surpreendentemente, pessoas com baixos níveis de cargas nos tendões também podem ser afetadas pela tendinopatia, e foi relatado que, entre a comunidade em geral, uma

em cada dez pessoas serão afetadas ao longo da vida, causada principalmente através do excesso de repetições de um mesmo movimento (KUJALA *et al.*, 2005).

Pesquisas mostraram que 40% dos pacientes com tendinopatia de Aquiles, reportaram que a doença surgiu após o ganho de peso e tem como principal sintoma a dor e a limitação dos movimentos (WHO, 2003; 2006).

1-3-Dieta

Atualmente os hábitos alimentares estão bastante alterados devido às mudanças de estilo de vida da população. A industrialização e avanços na tecnologia foram primordiais nas modificações de estruturas familiares e desestruturação das refeições. (DOYLE & FELDMAN, 1997; PROENÇA, 2002; FARAHMAND *et al.*, 2015; YAN *et al.*, 2015).

A alimentação rica em gordura é comprovadamente um dos fatores que induzem à obesidade em animais experimentais e em humanos (JEN *et al.*, 2003; FEOLI *et al.*, 2003). Isso ocorre porque o tipo de gordura influencia as funções do metabolismo e alteram peso e /ou composição corporal (GAÍVA *et al.*, 2003).

Estudos experimentais têm demonstrado que o nível de gordura dietética dos animais pode influenciar na eficácia do exercício sobre a melhora do perfil lipídico, redução do peso corporal e da adiposidade (SILVA *et al.*, 1999), e os tipos de ácidos graxos também afetam os resultados do exercício (PELLIZZON *et al.*, 2002). Animais exercitados alimentados com dietas pobres em gordura reduziram a gordura corporal significativamente quando comparados com animais alimentados com dietas ricas em gordura (SILVA *et al.*, 1999; FEOLI *et al.*, 2003). Um dos possíveis responsáveis por estes diferentes efeitos dos ácidos graxos sobre ganho de peso, podem ser as relações de oxidação dos mesmos, ou seja, ratos alimentados com ácidos graxos de diferentes tamanhos de cadeia carbônica, e graus de saturação, tiveram variação na oxidação. Os ácidos graxos saturados oxidaram mais lentamente que os poliinsaturados (LEYTON *et al.*, 1987; PELLIZON *et al.*, 2002).

Além de induzir a obesidade, a ingestão excessiva de gorduras também favorece o aparecimento de todas as comorbidades relacionadas a ela, como a hipertensão arterial, o diabetes mellitus, as hiperlipidemias e as doenças cardiovasculares (FEOLI *et al.*, 2003; BODEN-ALBALA *et al.*, 2015).

1.4- Obesidade

A obesidade é uma doença crônica complexa, caracterizada por excesso de gordura corporal. É um dos principais problemas de saúde pública no mundo e afeta não apenas

nações industrializadas, mas também países em desenvolvimento, tornando-se fator de risco para doenças cardíacas e diabetes (BODEN-ALBALA *et al.*, 2015; LOWE *et al.*, 2015).

Apesar da atual consciência pública sobre as consequências da obesidade, sua incidência continua a aumentar. A obesidade pode ser definida como o acúmulo anormal ou excessivo de gordura, que pode prejudicar a saúde (WHO, 2009), ou ainda como um aumento significativo acima do peso ideal, sendo o peso ideal aquele que maximiza a expectativa de vida (KUCZMARSKI *et al.*, 1994). Em humanos, tabelas atuais da Organização Mundial da Saúde (OMS) indicam que a expectativa de vida é reduzida quando o índice de massa corpórea (IMC) indica adiposidade significativamente aumentada, acima dos níveis ideais. O IMC é definido como a massa do indivíduo adulto em quilogramas, divididos pela altura em metros ao quadrado. Indivíduos que apresentam o $IMC \geq 25$ estão em sobrepeso, já os que apresentam $IMC \geq 30$ são considerados obesos. O sobrepeso indica fator de risco aumentado, para o desenvolvimento de doenças crônicas e um alerta de que o indivíduo pode desenvolver a obesidade.

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, cerca de 30% das crianças têm sobrepeso e metade delas é obesa, entre os adolescentes 1 em cada 5 se encontram acima do peso. Na população adulta cerca de 17,5% é obesa e 50,8% está acima do peso (sobrepeso) (Ministério da Saúde/ IBGE 2013). Além do IMC outras medidas antropométricas podem ser realizadas para determinação da adiposidade, que está relacionada aos níveis individuais de gordura para cada indivíduo, como a circunferência abdominal, a relação cintura/quadril e as dobras cutâneas.

A obesidade pode estar relacionada a diferentes causas, como a interações entre genes, fatores ambientais e psicológicos. Dentre esses fatores, os genéticos têm indubitável importância (KOPELMAN, 2000; YAN *et al.*, 2015).

Diferentes fatores influenciam o metabolismo dos tendões, alterando sua estrutura, composição química e propriedades mecânicas, durante seu desenvolvimento e maturação. Dentre esses fatores as alterações relacionadas ao exercício (NAKAGAKI *et al.*, 2007) a inativação ou desuso (STONE, 1988; NAKAGAWA *et al.*, 1989) e a idade (PARRY *et al.*, 1978; BIRK & MAYNE, 1997) são bem conhecidas. No entanto, outro fator começa a ser relacionado às alterações a que os tendões são submetidos, o aumento da adiposidade e da obesidade nas populações humanas (FRANCESCHI *et al.*, 2014; WOOD & BROOKS, 2015).

Já é conhecido o efeito da obesidade sobre o sistema músculo esquelético e sua relação com as osteoartrites das grandes e pequenas articulações (RICHMOND *et al.*, 2013), mas sua associação entre a obesidade e a saúde dos tendões necessita de investigações mais profundas

(GAIDA *et al.*, 2009). Trabalhos recentes mostram que pode haver associação entre obesidade e as patologias do tendão (ABATE, 2014; FRANCESCHI *et al.*, 2014). Autores relacionam a obesidade à ruptura espontânea de tendões (HOLMES & MANN, 1992), a adiposidade abdominal aumentada como fator na ocorrência de alterações dos tendões patelares de atletas (MALLIARA *et al.*, 2007) e maior IMC ao aumento do risco do desenvolvimento de tendinopatia (FAHLSTROM *et al.*, 2003; WENDELBOE *et al.*, 2004; WERNER *et al.*, 2005).

1.5. Exercício físico

O treinamento físico compreende respostas fisiológicas e adaptações funcionais que são necessárias para a melhora da resistência muscular, força, potência e velocidade, levando a maior tolerância à atividade física (COFFEY & HAWLEY, 2007). O exercício aeróbico, sendo a natação um exemplo, compreendendo exercícios realizados durante extensos períodos (10 a 40 minutos), com intensa atividade muscular envolvendo centenas de contrações repetidas, aumenta a captação de oxigênio para os músculos (KNUTTGEN, 2007). A natação, como exemplo de programa aeróbico, é um exercício de intensidade moderada e sua prática tem acentuado, sendo prescrita, inclusive como tratamento não-farmacológico adjuvante em casos de hipertensão arterial, obesidade e coronariopatias (CURI *et al.*, 2003).

O exercício físico é um dos fatores externos de grande importância na alteração do comportamento dos elementos do sistema músculo esquelético, que inclui músculos, ossos e os tendões. A tensão gerada pela contração muscular durante o exercício físico é transmitida por interações entre a matriz e a célula, resultando em adaptações simultâneas e remodelamento das células do tecido muscular (MILLER *et al.*, 2005). Entretanto, a hipertrofia das fibras musculares somente será plenamente funcional se ocorrer também remodelação do tecido conjuntivo que o circunda, incluindo os tendões que ligam os músculos aos ossos. Miller e colaboradores relataram aumento de 100% na síntese de colágeno em tendões humanos após 60 minutos de exercícios intensos e que a síntese elevada de colágeno se manteve por três dias após o exercício.

Os exercícios agudos e treinamentos físicos têm demonstrado aumento de síntese de colágeno tipo I, em tecido conjuntivo peritendinoso no tendão de Aquiles em humanos. Os exercícios físicos induzem também um aumento na concentração intersticial de produtos da degradação de colágeno tipo I (LANGBERG *et al.*, 2001).

A degradação de colágeno é iniciada extracelularmente por uma família de metaloproteinases neutras, endopeptidases contendo zinco, primariamente pelas collagenases

como as MMPs-1 e MMP-8 e subsequentemente pelas gelatinases, como as MMP-2 e MMP-9, que estão presentes em tecidos como latentes pró-metaloproteinases de matriz. Para controle da atividades dessas MMPs, as células também produzem outra classe de proteínas, chamadas inibidoras de metaloproteinases de matriz (TIMPs) (NAGASE *et al.*, 2006).

Marqueti e colaboradores (2006), também demonstraram aumentos nas MMP-2 e MMP-9 em tendão calcâneo de ratos após treinamentos com pulos verticais.

Além do aumento da síntese de colágeno na MEC de tendões e músculo esquelético, também é observado aumento na degradação de proteínas. A atividade de metaloproteinases de matriz (MMPs) aumenta imediatamente após os exercícios aeróbicos (KOSKINEN *et al.*, 2004). A degradação do colágeno é iniciada extracelularmente pelas MMPs, principalmente pela MMP 2 e 9 (KJAER, 2004). As MMPs compreendem uma família de enzimas que desempenham papel central na remodelação e renovação da MEC, uma vez que são capazes de hidrolisar as principais proteínas e alterar as funções biológicas das macromoléculas presentes nesse local. Sob condições normais, as MMPs estão presentes em baixos níveis, usualmente na forma latente e são responsáveis pela renovação fisiológica dos tecidos (PENDER & MACDONALD, 2004).

No intuito de minimizar os efeitos negativos da obesidade, a prática de exercícios físicos tem sido importante, pois não há necessidade de uso de medicamentos e também é boa estratégia no controle da obesidade e do ganho de peso. (Saris Whm *et al.*, 2003). Durstine & Haskell (1994), reportam o efeito positivo da atividade física sobre o perfil lipídico e lipoprotéico em indivíduos normolipidêmicos, e ainda animais praticantes de exercícios físicos, mas com dietas com níveis reduzidos de gordura, diminuíram significativamente a gordura corporal, quando comparados a animais com dietas gordurosas. (Gleeson & Waring, 1986; Lapachet *et al.*, 1996).

2-JUSTIFICATIVA

Segundo a Organização Mundial de Saúde, em 2005, 400 milhões de adultos em todo o mundo foram classificados como obesos e há uma projeção para 700 milhões de pessoas em 2015 (WHO, 2009), portanto, a obesidade e o exercício físico, como uma das maneiras de combater esse mal, são temas relevantes na atualidade, pois estão relacionados com a manutenção de uma vida saudável e longa. Na sociedade moderna, a maioria dos homens e mulheres trabalha fora de seus lares, com rotinas estafantes, e geralmente fazem grande parte das refeições em restaurantes, ou no próprio ambiente de trabalho, se utilizando de alimentos

rápidos e calóricos, como os *fast-foods*. Portanto, sem tempo para exercícios físicos e para preparo dos seus alimentos de maneira saudável, o sobrepeso e a obesidade tem atualmente maior incidência nas famílias. Baseado nesse fato a presente investigação buscou desvendar a relevância da prática esportiva (como exemplo a natação) aliada a uma dieta balanceada na manutenção do tendão saudável, pois é sabido que uma doença do tendão pode levar uma pessoa ao afastamento das suas funções normais, devido principalmente a quadros de dores e incapacidade dos movimentos.

3-OBJETIVOS

Objetivos Gerais

Analisar o efeito do exercício natatório e da dieta hiperlipídica sobre o comportamento do tendão calcanear.

Objetivos Específicos

1. Relacionar mudanças do peso corporal com o desenvolvimento de tendinopatias.
2. Analisar os aspectos morfológicos dos tendões dos animais submetidos a dieta hiperlipídica associados ao treinamento natatório .
3. Verificar as alterações na composição geral da matriz extracelular do tendão em função dos procedimentos realizados.
4. Quantificar proteínas não colagênicas, colágeno e fibroblastos nos diferentes grupos experimentais.

4- MATERIAIS E MÉTODOS

4-1- Animais

Esse trabalho foi aprovado pelo CEUA/UFU (protocolo 063/11). Foram utilizados 36 camundongos suíços, machos que foram acomodados no biotério da Universidade Federal de Uberlândia (CEBEA), e os camundongos ficaram em condições de temperatura (22 ± 1 °C), ciclo claro/escuro de 12 em 12 horas, com água e ração padrão para roedores *ad libitum*. Após cinco semanas de vida, os animais foram divididos nos grupos experimentais (Tabela 1) e mantidos em experimentação por 16 semanas, sendo que nas oito últimas semanas os grupos nomeados como DNex e DHex iniciaram o período de atividade aquática em aquário

.Linha do tempo:

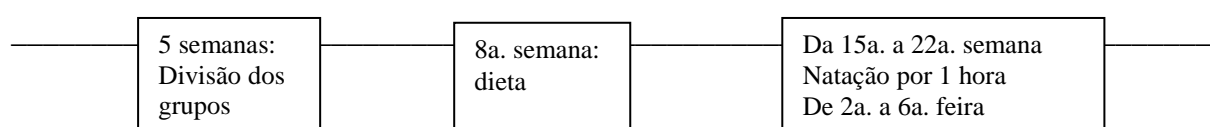


Tabela1- Grupos experimentais utilizados.

DN (dieta normal sedentário)	09 camundongos
DH (dieta hiperlipídica sedentário)	09 camundongos
DNex (dieta normal e natação)	09 camundongos
DHex (dieta hiperlipídica e natação)	09 camundongos

4-2- Atividade física

O aquário utilizado para o treinamento da natação foi confeccionado com as seguintes dimensões: altura de 280 mm, comprimento 900 mm e largura 300 mm, divididos em 12 compartimentos de dimensões 150 x 150 mm, a fim de alojar cada camundongo individualmente (adaptado de EVANGELISTA *et al.*, 2003). As sessões de treinamento foram realizadas durante o ciclo escuro, compreendido entre as 7:00 às 19:00, com temperatura da água variando na faixa de $32 \pm 3^{\circ}\text{C}$. O exercício teve duração de 1 hora/dia e 5 dias consecutivos/semana, durante 8 semanas, sendo a primeira semana de natação livre por 10 minutos com finalidades de familiarização dos animais com o novo ambiente.



Figura 01. Aquário utilizado para treinamento dos animais.

A intensidade do exercício do treinamento de resistência foi fixada em 50% do peso corporal máximo obtido no teste progressivo.

4-3- Dieta hiperlipídica

A fim da indução à obesidade, foi utilizado o seguinte protocolo de dieta hiperlipídica (rica em ácidos graxos saturados):

TABELA 2- Dieta alimentar para os camundongos

Ingredientes	Dieta Controle (g)	Dieta Hiperlipídica (rica em ácidos graxos saturados) (g)
Amido	467,5	115,5
Caseína	200,0	200,0
Amido de Milho dextrinizado	132,0	132,0
Sacarose	100,0	100,0
Óleo de soja	40,0	40,0
Banha de porco	-	312,0
Celulose microfibras (fibra)	50,0	50,0
Mistura de minerais	35,0	35,0
Mistura de vitaminas	10,0	10,0
L-cistina	3	3
Bitartarato de colina	2,5	2,5
Total	1000,0	1000,0

Semanalmente, o peso corporal e a ingestão alimentar dos animais foram aferidos para análise de algumas respostas diante das diferentes situações experimentais.

4-4-Extração dos tecidos

Para retirada dos tecidos, os animais foram anestesiados com uma mistura de diazepam, cetamina e xilazina (2:4:4). Após perda dos reflexos corneano, pedioso e caudal, os animais foram perfundidos transcardiacamente com 25 ml de solução salina e, posteriormente, fixados com 20 ml de solução fixadora de formaldeído 4% em PBS 0,1M, pH 7,4. Dez animais não foram perfundidos e o tendão fresco foi retirado e congelado em nitrogênio líquido, armazenado e posteriormente utilizado nas análises bioquímicas.

O tecido adiposo visceral foi extraído para pesagem e comparação entre os grupos.

4-5-Análise Morfológica

Após a eutanásia, os tendões calcaneares foram fixados em solução de formalina 4% em tampão Millonig pH 7,4 durante 18 horas em geladeira. Em seguida as peças foram processadas para rotina histológica em parafina (Histosec). Foram realizados cortes longitudinais com 7 μ m de espessura, em micrótomo rotativo (MICROM/HM-315). Para visualização geral do tecido e contagem de fibroblastos os cortes foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE) (KIERNAM, 1981) e utilizado o Image j. Os cortes também foram corados com picrossirius para quantificação de colágeno. Para confirmação de uma possível calcificação no grupo DH, os cortes foram corados através da técnica de Von Kossa. As observações e documentação das imagens foram feitas em microscópio Leica DM 500 . As imagens foram capturadas utilizando objetivas 10x plan e 40x plan, câmera Leica ICC50 em 5 campos diferentes em cada corte/lâmina.

4-6- Contagem de fibroblastos.

Copiei as imagens das Lâminas para meu computador pessoal e fiz a contagem manualmente com o mouse do computador. Conteí cada campo de cada corte/lâmina de todos os grupos(DN, DNex, DH e DHex) e fizemos a média aritmética de cada grupo.

4-7-Análise Bioquímica

Os tendões calcaneares foram imediatamente retirados e congelados. Os feixes de fibras foram devidamente dissociados em uma placa de petri mantida em torno de 4°C para diminuir o risco de proteólise. A extração dos componentes da matriz foi realizada em tubo eppendorf, com 25 volumes de cloreto de guanidina (GuHCl) 4 M, contendo EDTA 0,05 M, PMSF 1mM, em tampão acetato 0,05M pH 5,8 (HEINEGÅRD & SOMMARIN, 1987). Para uma extração mais eficiente o material ficou 24 horas sob constante agitação e em banho de gelo. Após este tempo, o material foi submetido à centrifugação em 10.000 rcf/g em um rotor JA-18.1 da Beckman por 30 minutos. O sobrenadante contendo o material extraído em GuHCl foi utilizado para as análises bioquímicas.

As dosagens de proteínas dos extratos em GuHCl foram realizadas pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina (BSA) (1mg/mL), como padrão. As leituras foram realizadas em leitor de microplacas em 595 nm, Versamax no programa Soft Max Pro.

4-8-Análise Estatística

As dosagens e quantificações dos grupos foram comparadas utilizando-se a análise de variância (ANOVA) e significância pelo teste de TUKEY, com $p < 0,05$.

5-RESULTADOS

Contagem média do número de fibroblastos dos tendões dos grupos de camundongos não apresentou diferença significativa. Os valores observados foram 316,66 células para o grupo DN, 320,33 células para o grupo DNex, 328,33 células para o grupo DH, e 327 fibroblastos para o grupo DHex (figura 2). Pela observação dos cortes corados em HE, os feixes colagênicos aparentaram uma melhor agregação e orientação longitudinal no grupo DN, nos demais grupos foram observados espaçamento entre as fibras, e principalmente no grupo DH além do espaçamento foi notado o não alinhamento longitudinal das fibras de colágeno (figura 3).

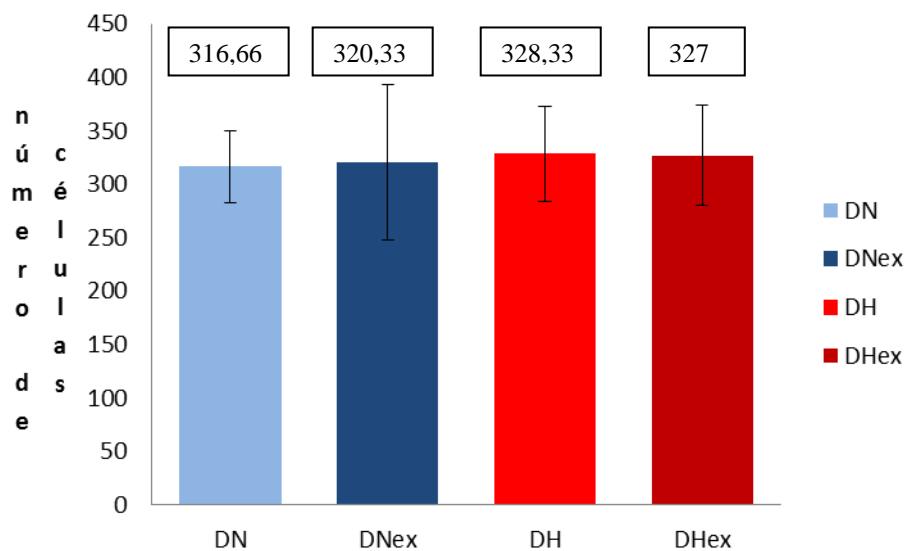


Figura 02- Contagem do número de fibroblastos. Grupos DN= dieta normal, DNex= dieta normal e exercício, DH= dieta hiperlipídica, DHex= dieta hiperlipídica e exercício. Não houve diferenças estatísticas entre os grupos. ANOVA, $p > 0,05$.

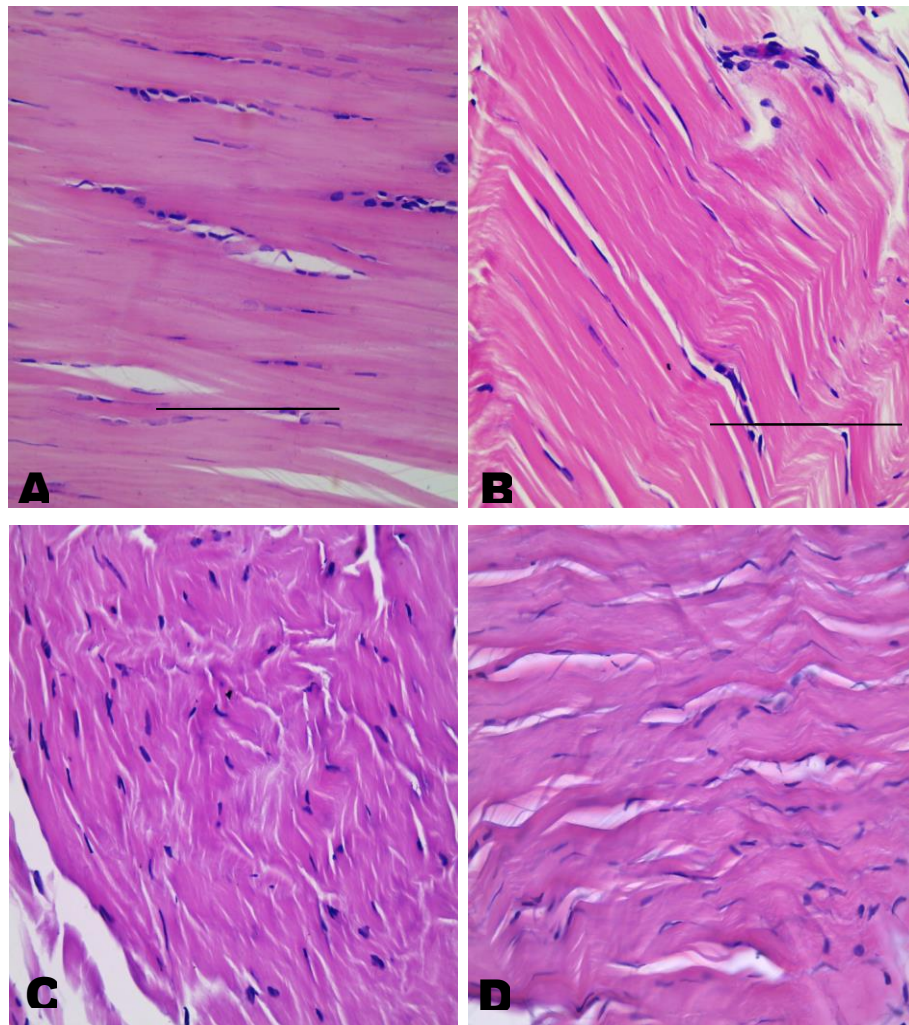


Figura 03-Imagem representativa do tendão calcanear corado com HE.

. Microscopia de luz do tendão calcanear corado com HE. Comparação do tendão do grupo sedentário dieta normal DN (A) e os grupos treinado dieta normal DNex (B), sedentário dieta hiperlipídica DH (C), e treinado dieta hiperlipídica DHex (D). Notou-se principalmente em C um maior espaçamento entre as fibras de colágeno e o desalinhamento das mesmas.

Ao analisar as lâminas coradas com HE, observou-se a presença de calcificações. Essas calcificações foram vistas somente nos camundongos do grupo DH e notadas como regiões intensamente basófilas. As confirmações dessas calcificações foram realizadas pela técnica de Von Kossa, onde o tecido calcificado basófilo foi evidenciado .(figura 4). Barra: 50μm

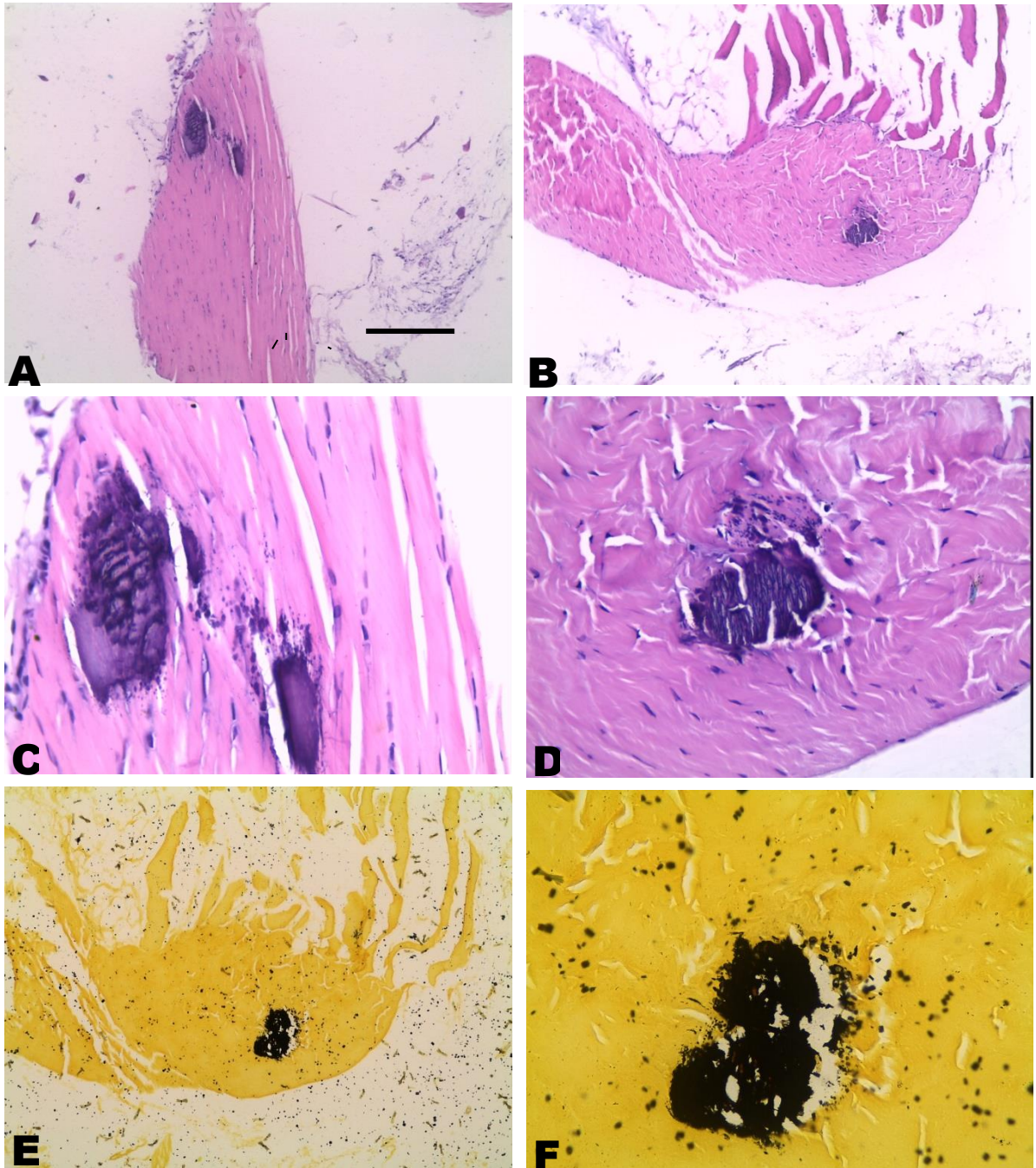


Figura 04. Microscopia de luz do tendão calcâneo corado com HE (A-D) e Von Kossa (E-F). As figuras correspondem aos tendões do grupo DH. Em E e F notou-se a confirmação da presença dos depósitos de sais de Cálcio no tendão, evidenciada pela coloração de Von Kossa, na coloração por HE a calcificação foi vista como uma região intensamente basófila. Objetivas: x10 – A, B, E; x40 – C, D, F. Barra:200 μ m.

A quantificação do colágeno foi realizada através da coloração com Picrosirius, corante que detecta colágeno total. A análise das mesmas pelo programa Image J. Estatisticamente, todos os grupos diferiram entre si na quantidade de colágeno encontrada, sendo que o grupo DH apresentou a menor porcentagem de colágeno. O grupo DNex

apresentou a maior taxa de colágeno. Os grupos exercitados DNex e DHex apresentaram maiores porcentagens de colágeno se comparados aos respectivos grupos controle. Entretanto, os grupos que se submeteram a dieta hipercalórica DH e DHex, independente do exercício, apresentaram menor percentual de colágeno se comparados aos grupos alimentados com dieta normal, exercitados ou não (Figura 05). A observação das lâminas corroborou o resultado da porcentagem da área colagênica, sendo que os grupos DH e DHex apresentaram menores intensidades de coloração e o grupo DNex apresentou maior coloração (Figura 06).

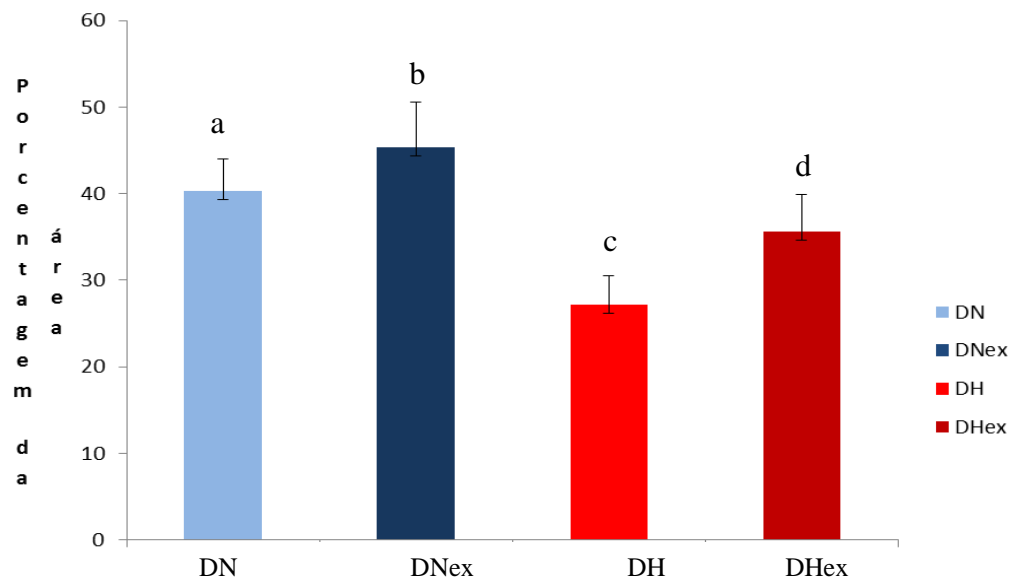


Figura 05. Porcentagem de colágeno após coloração por Picrosirius. Comparação do tendão do grupo sedentário dieta normal DN e os grupos treinado dieta normal DNex, sedentário dieta hiperlipídica DH, e treinado dieta hiperlipídica DHex. O grupo DNex apresentou a maior porcentagem de colágeno, e o grupo DH apresentou a menor. a,b,c,d: indicou que todos os grupos diferiram entre si estatisticamente. ANOVA, $p < 0,05$.

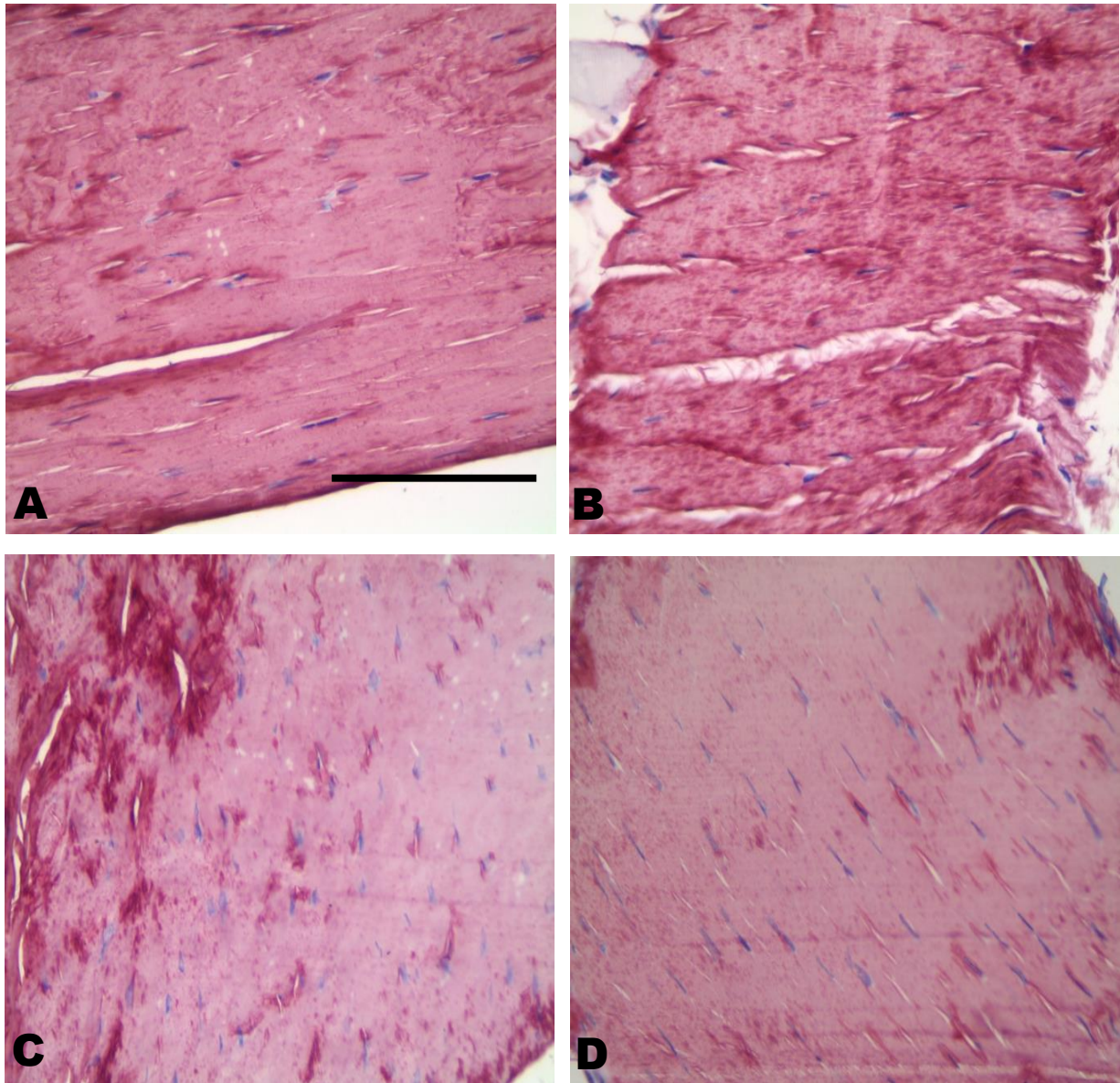


Figura 06. Microscopia de luz do tendão calcâneo corado com picrosirius. Comparação do tendão do grupo sedentário dieta normal DN (A) e os grupos treinado dieta normal DNex (B), sedentário dieta hiperlipídica DH (C), e treinado dieta hiperlipídica DHex (D). Assim como a contagem por área, observou-se que os grupos submetidos à dieta hipercalórica apresentaram menor intensidade de coloração. Objetiva: x40.

Os valores obtidos nas dosagens de proteínas totais pelo método de Bradford mostrou que houve diferenças significativas dos grupos exercitados DNex e DHex em comparação aos seus respectivos controles DN e DH (DNex X DN, DHex X DH), portanto ambos os grupos exercitados mostraram maiores valores de proteínas não colagênicas comparados aos seus controles sedentários. Comparando-se entre si somente os grupos sedentários (DN com DH), e treinados DNex versus DHex, não foram vistas diferenças significativas.

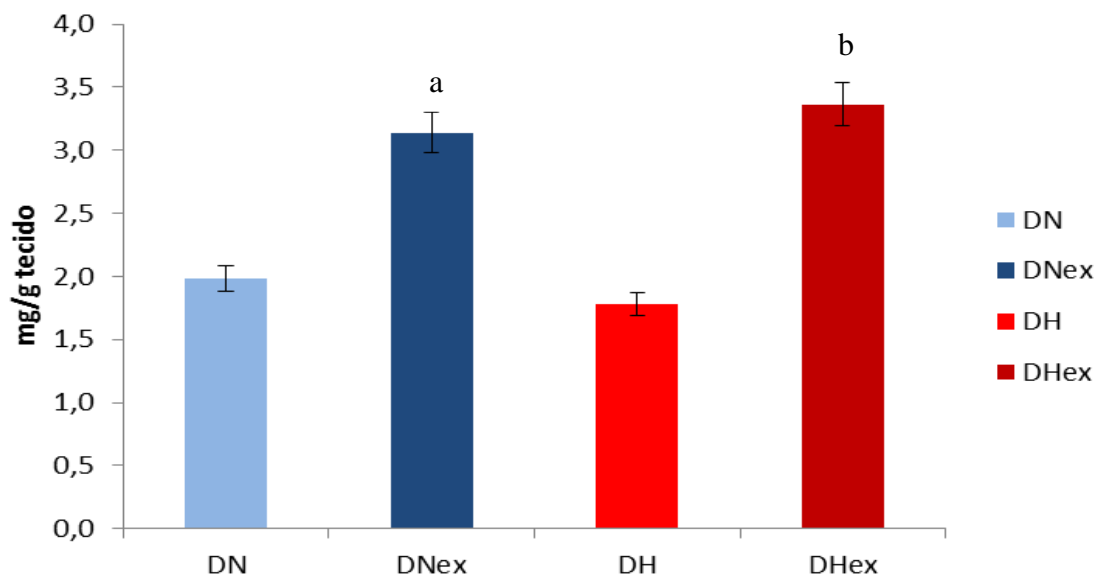


Figura 07- Dosagem de proteínas pelo Método Bradford (detecção de proteínas não colagênicas). Os grupos exercitados apresentaram maiores valores para a dosagem protéica se comparados aos seus respectivos controles sedentários. a= diferença significativa DNex X DN, b= DHex X DH. Se comparados entre si os grupos sedentários, e os grupos exercitados não foram vistas diferenças significativas. ANOVA, $p < 0,05$.

O peso dos camundongos da dieta hiperlipídica mostrou uma evolução maior se comparado aos demais grupos, evolução vista desde a sétima semana. No início não há diferenças entre a dieta normal e a hiperlipídica, contudo, após a 15^a. semana e com a introdução do exercício, essa diferença ficou mais evidente. Pelos gráficos foi possível notar que o exercício foi efetivo na diminuição ou na manutenção do peso (dependendo da dieta), principalmente no grupo DNex, que foi estatisticamente diferente dos demais. O grupo DHex teve seu peso controlado desde o começo, diferente do grupo DH, onde o peso do animal só aumentou com o passar das semanas e acabou por atingir uma média de cerca de 50 g. Considerando somente o peso corporal, não houve diferenças significativas entre os grupos DN e DHex, principalmente após as primeiras quinze semanas (Figura 08).

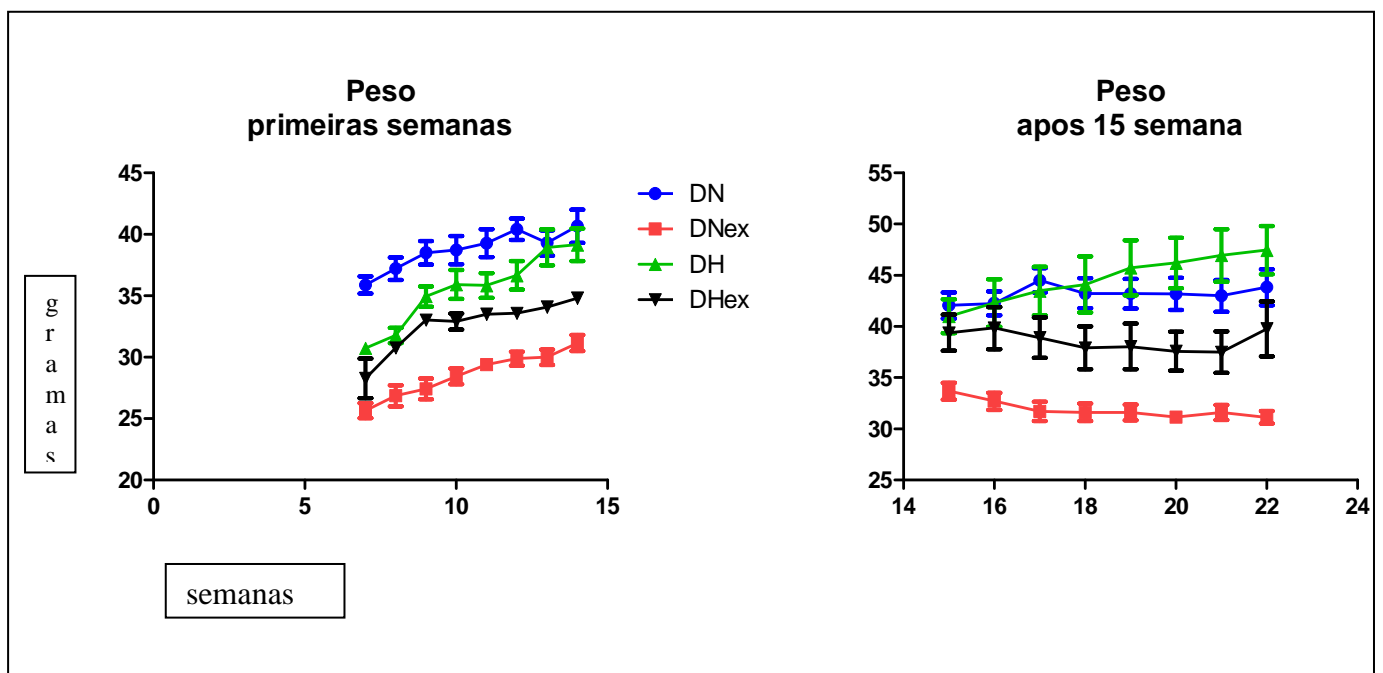


Figura 08- Evolução do peso corporal dos camundongos dos grupos DN, DNex, DH e DHex. O grupo DH apresentou maior ganho de peso se comparado aos demais grupos. De maneira inversa, o grupo DNex apresentou a maior redução de peso, principalmente quando o treinamento foi iniciado. A marcação* indica significância. ANOVA, desvio $p < 0,05$.

A ingestão alimentar durante o experimento, demonstrou que os camundongos exercitados, principalmente ao fim do experimento (22 semanas), ingeriram uma quantidade maior de ração se comparado aos demais grupos, o que pode ser compatível com seu maior gasto energético, contudo estatisticamente não houve diferença significativas desse grupo se comparado ao seu controle, mas quando ele foi comparado aos grupos DH e DHex, seu consumo apresentou maiores valores significativos. Observou-se ainda que houve redução significativa do consumo alimentar nos grupos que receberam dieta hiperlipídica independente da situação, ou seja, de treinamento natatório ou não (DH e DHex), se comparados aos grupos da dieta normal. Entre os grupos DH e DHex o consumo foi parecido, assim como o consumo entre os grupos DN e DNex, embora como já dito acima, o grupo DNex apresentou uma maior tendência ao consumo alimentar comparado ao seu controle.

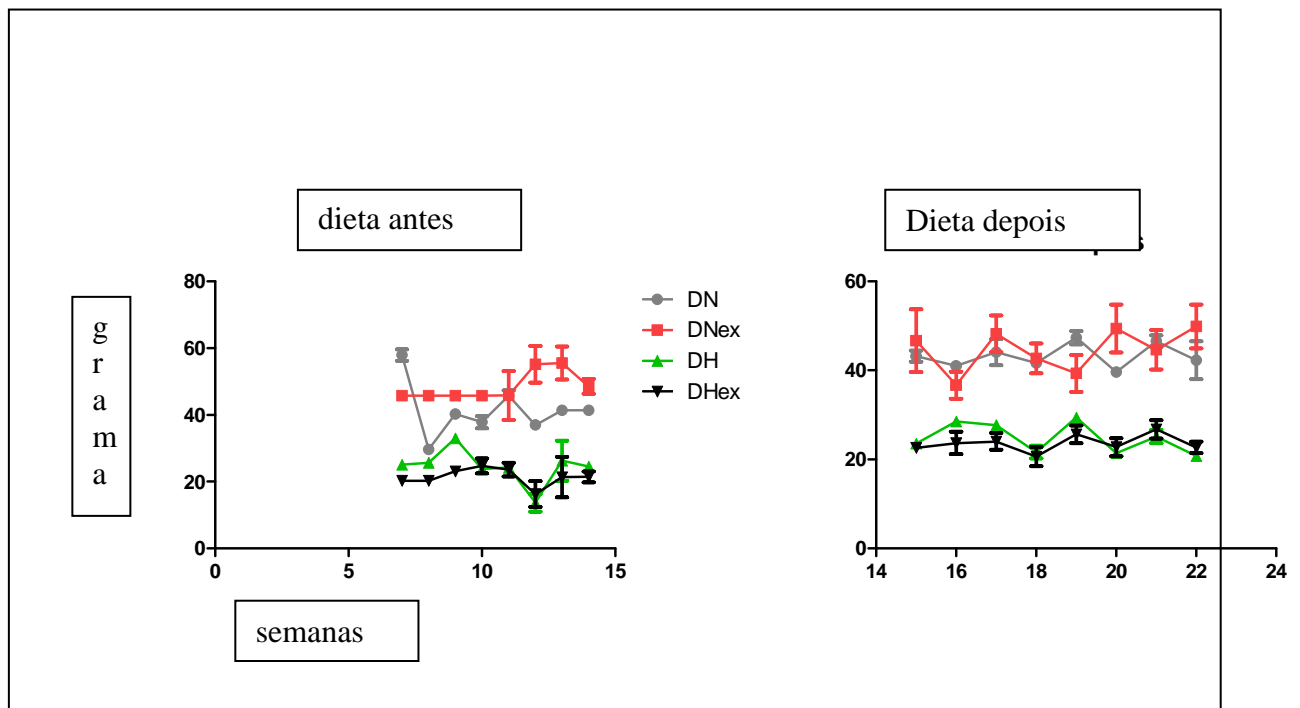


Figura 09- Evolução do consumo alimentar : durante as 22 semanas de acompanhamento dos camundongos dos grupos DN, DNex, DH e DHex. Os animais DN e DNex apresentaram um consumo significativamente maior se comparados aos grupos DH e DHex. Entre os exercitados e seus respectivos grupos controles não houve diferença significativa.

Com relação ao peso do tecido adiposo visceral dos camundongos dos 4 grupos estudados, foi visto que o grupo DNex apresentou uma menor adiposidade significativa se comparado aos demais grupos. Entre os grupos DN, DH e DHex, não houve diferenças

significativas, embora, se pode ressaltar que a não significância estava no limiar da mesma, principalmente do grupo DH em relação ao grupo DN e DHex. Entre os grupos DN e DHex os valores encontrados ficaram muito próximos e distante do limiar da significância.

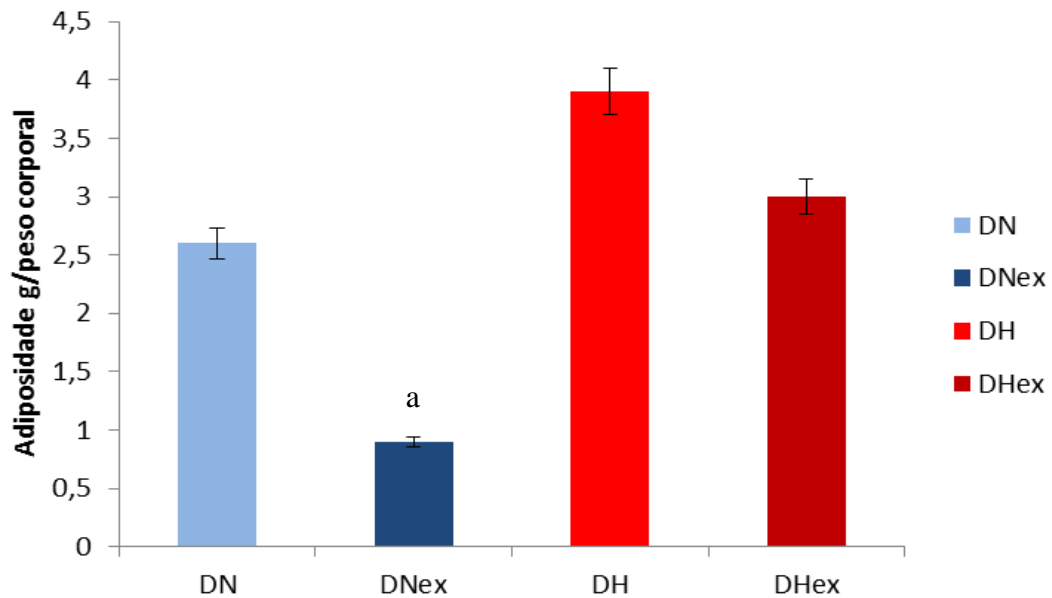


Figura 10- Comparação da adiposidade visceral entre os grupos de camundongos.

Menor adiposidade foi vista no grupo DNex. a= diferença significativa se comparado aos demais grupos. Próximo ao limiar da significância se encontra o grupo DH. ANOVA, $p < 0,05$.

6-DISCUSSÃO

Atualmente a obesidade é considerada uma epidemia mundial (James *et al.*, 2001; WHO, 2003, OGDEN *et al.*, 2006; WHO, 2007), e seu custo para os cofres públicos está entre 1% e 7% do total dos investimentos em saúde, representando um gasto significativo dos orçamentos nacionais (VISSCHER & SEIDELL, 2001). Essa condição é um fator que pode aumentar o risco de desenvolvimento de muitas doenças, incluindo aterosclerose, diabetes, câncer, doenças hepáticas, desordens imunológicas como, por exemplo, a asma, osteoartrite e também tendinopatias (Calle & Kaaks, 2004; Wellen & Hotamisligil, 2005; Federico, *et al.*, 2010).

O desenvolvimento da obesidade humana está associado com uma resposta inflamatória que aparentemente reside de forma preferencial no tecido adiposo (DANDONA *et al.*, 2004; JUGE-AUBRY *et al.*, 2005; HEREDIA *et al.*, 2012). Embora o mecanismo pela qual a resposta inflamatória é disparada e mantida na obesidade seja ainda desconhecido, pesquisas anteriores relatam o envolvimento dos macrófagos como a fonte principal de síntese de mediadores inflamatórios (XU *et al.*, 2003; WEISBERG *et al.*, 2003; CURAT *et al.*, 2004); entretanto a heterogeneidade da composição celular do tecido adiposo indica que outras células, como os adipócitos e surpreendentemente os fibroblastos, podem atuar na resposta inflamatória. Além disso, algumas moléculas podem ser implicadas no disparo da atividade inflamatória do tecido, incluindo os ácidos graxos livres (SUGANAMI *et al.*, 2005) e a lipase lipoprotéica, uma enzima chave no metabolismo de lipídios (ECKEL, 1989; GOLDBERG, 1996).

Os fibroblastos, encontrados não só no tecido adiposo, mas em vários outros tecidos e órgãos, é a principal célula encontrada nos tendões, são considerados como células versáteis e são caracterizados por intensa atividade sintética, demonstrada na ultraestrutura pela presença de abundante retículo endoplasmático rugoso, complexo de Golgi, polissomos livres e numerosas vesículas periféricas (ESQUISATTO *et al.*, 2003). Tradicionalmente são células conhecidas por sintetizarem os componentes fibrilares e não-fibrilares da matriz extracelular (MEC) dos tecidos conjuntivos (NEWMAN & TOMASEK, 1996). Além de sintetizarem estes complexos macromoleculares que constituem a MEC, os fibroblastos interagem com as macromoléculas regulando suas deposições e orientações na MEC (LAMBERT *et al.*, 1998; COVIZZI *et al.*, 2001).

No nosso trabalho, não foram encontradas diferenças no número de fibroblastos encontrados nos tendões dos grupos observados. Contudo, diferenças significativas na porcentagem do colágeno total foram observadas ,tanto em relação à dieta hiperlipídica (grupo DH) quanto ao exercício (grupos DNex e DHex). Em relação ao grupo DH foi possível observar uma diminuição do conteúdo de colágeno total, se comparado aos demais grupos, entretanto, mesmo que a obesidade seja um tema preocupante, dados sobre o efeito de ácidos graxos livres em células como o fibroblasto, visto a importância deste tipo celular na homeostasia tecidual, ainda são insuficientes. Estudos anteriores relataram que ácidos graxos poliinsaturados podem alterar a formação de colágeno *in vitro* (WATKINS *et al.*, 1996; JIA & TUREK, 2004; JIA & TUREK, 2005), e nosso modelo, onde os camundongos ingeriram uma grande quantidade de banho de porco (gordura saturada) é possível hipotetizar que esse tipo de gordura esteja modificando o comportamento do fibroblasto, com consequências na síntese

do colágeno, já que a quantidade de células foi a mesma nos diferentes grupos. Nos grupos com dietas normal e hiperlipídica exercício foi identificado uma porcentagem maior do colágeno, demonstrando a importância e o diferencial para os animais obesos, da prática de atividade física. O exercício físico é um dos fatores externos de grande importância na alteração do comportamento dos elementos do sistema músculo esquelético, que inclui músculos, ossos e os tendões. Estudos relataram aumento de 100% na síntese de colágeno em tendões humanos após 60 minutos de exercícios intensos e essa síntese elevada se manteve por três dias após o exercício (MILLER *et al.*, 2005). Monteiro e colaboradores também afirmaram que o exercício aeróbico aumenta a concentração de colágeno do tendão e sua resistência a forças de tração. Nos nossos achados, o grupo DHex não apresentou a mesma concentração de colágeno vista no grupo DNex. Contudo, apresentou uma taxa significativamente maior quando comparado ao grupo DH, indicando que o exercício foi efetivo em evitar a diminuição da síntese de colágeno vista no grupo DH.

A presença de proteínas não colagênicas também foi mais evidente nos grupos exercitados DNex e DHex, acompanhando o aumento do colágeno. É sabido que proteínas não colagênicas, como proteoglicanos, fibronectina e trombospondina, participam dos fenômenos de fibrilogênese e organização das fibras colagênicas (SCOTT, 1988; FROVOLA *et al.*, 2014). Embora as identificações dessas proteínas não tenham sido realizadas no nosso trabalho, acreditamos que essas proteínas citadas estejam presentes acompanhando o aumento do colágeno, regulando assim tais fenômenos descritos acima.

Um dado interessante encontrado na presente investigação foi a presença de calcificações nos tendões dos camundongos do grupo DH. A calcificação pode indicar a evolução de uma tendinite aguda para uma tendinopatia crônica, como a tendinose, e é mais comum nos tendões do manguito rotador (tendão do ombro) e calcanear (CASTILLO-GONZÁLES *et al.*, 2014; BAKKEGAARD *et al.*, 2015). O desgaste e o envelhecimento são causas comuns do desenvolvimento de calcificações tendíneas. Contudo, a obesidade também tem sido relatada como um fator que aumenta a predisposição para que ocorra esse fenômeno, devido ao aumento do peso do organismo em geral e a elevada carga sobre o tendão (RUTEN *et al.*, 2006; FRANCESCHI *et al.*, 2014; WOOD & BROOKS, 2015). De maneira geral o tecido tendinoso ao lado da calcificação se torna inflamado e dolorido, e essa inflamação pode levar ao rompimento do tendão (GAIDA *et al.*, 2009; FRANCESCHI *et al.*, 2014).

Em humanos muitas das rupturas de tendões ocorrem na extremidade inferior (JÓZSA & KANNUS, 1997). De todos os tendões o tendão calcanear é um dos mais resistentes que se conhece, apesar disto, vários trabalhos descrevem a ruptura completa do tendão calcanear

como a mais freqüente dentre os tendões (KANNUS & JÓZSA, 1991; LESIC & BUMBASIREVIC, 2004). Como nas rupturas totais, a ruptura parcial do tendão é vista com mais freqüência no tendão calcanear. Não há estatísticas seguras, mas a incidência da ruptura parcial é similar à ruptura total. Antes se considerava que a ruptura parcial do tendão calcanear ocorria predominantemente em homens jovens e de meia-idade em atividades atléticas extenuantes (KÄLEBO *et al.*, 1992), por razões de idade, doenças, trauma ou deformidades congênitas (LESIC & BUMBASIREVIC, 2004). Atualmente, podemos acrescentar a obesidade como um fator adicional para contribuir na ruptura tendínea (WEARING *et al.*, 2006; FRANCESCHI *et al.*, 2014). Muito freqüentemente a ruptura parcial do tendão calcanear é mascarada ou acompanhada de peritendinite e, normalmente, os pacientes não procuram ajuda antes da fase crônica do episódio (GAIDA *et al.*, 2009). Os tratamentos para estes casos envolvem procedimentos cirúrgicos ou fisioterapia, não sem antes um período de repouso e afastamento das atividades diárias.

Após a observação da calcificação, vista somente no grupo DH, provavelmente pelas razões citadas acima, podemos afirmar que foi positivo o efeito do exercício em reverter esse quadro nos tendões dos animais do grupo DHex, pois o exercício foi efetivo em impedir o exagerado aumento de peso nesse grupo, eliminando uma das causas (sobrepeso) que pode levar ao surgimento das calcificações.

Há evidências em humanos e roedores, que dietas com grande quantidade de ácidos graxos saturados, promovem acúmulo de gordura, quando comparadas àquelas ricas em ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados (ELLIS *et al.*, 2002). Vários trabalhos têm evidenciado o papel de dietas hipercalóricas e hiperlipídicas em aumentar a quantidade de tecido adiposo estocado em animais experimentais (BELLAYER *et al.*, 2001; GAÍVA *et al.*, 2001). No nosso trabalho foi possível observar que a dieta hiperlipídica foi eficiente em aumentar tanto o peso corporal quanto a adiposidade visceral, corroborando dados vistos em outras investigações (BELLAYER *et al.*, 2001; GAÍVA *et al.*, 2001), e de maneira inversa, o treinamento físico natatório atuou de maneira a diminuir o peso corporal e o estoque adiposo, tanto em animais com dieta normal quanto com dieta hiperlipídica (PODOLIN *et al.*, 1999). Esse resultado indica que a natação conseguiu atenuar os efeitos de uma dieta rica em gordura animal em promover a obesidade, tornando os camundongos do grupo DHex semelhantes aos camundongos do grupo DN. O exercício foi muito mais efetivo na manutenção do peso corporal e taxa de adiposidade baixa no grupo DNex, que aliou uma dieta balanceada ao treinamento. Sendo assim, nosso trabalho corrobora com outros dados da literatura que afirmaram que o exercício de natação diária por 90 minutos, associada a uma dieta balanceada

funcionou na diminuição da adiposidade e no balanço lipídico (DUARTE *et al.*, 2003; BURNEIKO *et al.*, 2006).

Com relação a diminuição do consumo alimentar nos grupos DH e DHex pode se sugerir um aumento da saciedade provocada por uma dieta rica em gordura, contudo mesmo com a diminuição do consumo, a quantidade de calorias ingeridas em uma dieta baseada em ácidos graxos saturados, foi suficiente para aumentar o peso dos animais dos referidos grupos (BERNARDES *et al.*, 2004).

A partir de todos os dados e comentários expostos acima é possível sugerir, como alternativa benéfica para a perda de peso, diminuição da adiposidade e manutenção de um tendão saudável, uma dieta equilibrada normolipídica e a prática de exercício aeróbio moderado e contínuo.

7-CONCLUSÃO

Analisando os resultados encontrados neste trabalho, podemos concluir que a natação foi efetiva em reverter os efeitos negativos causados pela dieta hiperlipídica no tendão calcâneo, e que o exercício associado a uma dieta normal foi muito mais efetivo na manutenção saudável do tendão, e do organismo como um todo.

Analisando os resultados encontrados neste trabalho, podemos concluir que uma dieta hiperlipídica pode alterar os componentes da matriz extracelular, em especial o colágeno tipo I e proteínas não colagênicas. A prática de uma atividade física, como a natação pode reverter essas alterações causadas por esse tipo de dieta, em tendões calcaneares. Com isso, a prática de atividades físicas regulares podem evitar danos e lesões nesses tendões.

8-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATE M. How obesity modifies tendons (implications for athletic activities). *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014 Nov 17;4(3):298-302. 2014.

ADRIANO BIANCALANA, LÍCIO AUGUSTO VELLOSO, SEBASTIÃO ROBERTO TABOGA, LAURECIR GOMES. Implications of obesity for tendon structure and biochemistry : a study on zucker rats. *Micron* 43, 463-469. 2012.

AGABALYAN, N. A.; EVANS, D. J. R.; STANLEY, R. L. Investigating tendon mineralization in the avian hindlimb: a model for tendon ageing, injury and disease. *Journal Anatomy* 223, pp 262-277. 2013.

ASTROM, M.; RAUSING, A. Chronic Achilles tendinopathy. A survey of surgical and histopathologic findings. *ClinOrthop.*, v.316, p.151-164. 1995.

BAKKEGAARD M, JOHANNSEN FE, HØJGAARD B, LANGBERG H. Ultrasonography as a prognostic and objective parameter in Achilles tendinopathy: A prospective observational study. *Eur J Radiol. Mar*;84(3):458-62. 2015.

BELLAVER, L.; VITAL, M.A.; ARRUDA, A.M.; BELLAVER, C. Efeitos da dietilpropiona, energia da dieta e sexo sobre o ganho de peso corporal, peso dos órgãos e deposição de tecidos em ratos. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologiae Metabologia*, Rio de Janeiro, v.45, n.2, p.167-72, 2001.

BENEVIDES, G.P.; PIMENTEL, E.R.; YOYAMA, M.H.; NOVELLO, J.C.; MARANGONI, S.; GOMES, L. Biochemical and biomechanical analysis of tendon of caged and penned chickens. *ConnectTissue Res.*, v.45, p.206-215. 2004.

BERNARDES, D.; MANZONI, M. S. J.; SOUZA, C. P.; TENÓRIO, N.; DÂMASO, A. N. Efeitos dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. *Rev. bras. Educ. Fís. Esp.*, São Paulo, v.18, n.2, p.191-200, 2004

BODEN-ALBALA B¹, SOUTHWICK L, CARMAN H. Dietary interventions to lower the risk of stroke. *Curr Neurol Neurosci Rep.*15(4):538. 2015.

CALLE, E. E.; KAAKS, R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer.* 4: 579-591. 2004.

CARVALHO, H.F.; FELISBINO, S.L. The development of the pressure-bearing tendon of the bullfrog, *Rana carolinensis*. *AnatEmbryol.*, v.200, p.55-64. 1999.

CARVALHO, H.F.; VIDAL, B.C. The unique fibrillar arrangement of the bullfrog pressure-bearing tendon as an indicative of great functional deformability. *Biol. Cell*, v.82, p.59-65. 1994.

CHIMICH, D.; FRANK, C.; SHRIVE, N.; DOUGALL, H.; BRAY, R. The effects of initial end contact on medial collateral ligament healing: A morphological and biomechanical study in a rabbit model. *J. Orthop. Res.*, v.9, p.37-47. 1991.

COOK JL¹, KHAN KM, PURDAM C. Achilles tendinopathy. *Man Ther.* Aug;7(3):121-30. 2002.

COVIZI, D.Z.; FELISBINO, S.L.; GOMES, L.; PIMENTEL, E.R.; CARVALHO, H.F. Regional adaptations in three rat tendons. *Tissue & Cell*, v.33,p.483-490. 2001.

CRIBB, M.; SCOTT, J.E. Tendon response to tensile stress: an ultrastructural investigation of collagen: proteoglycans interactions in stressed tendons. *J. Anat.*,v.187, p. 423-428. 1995.

CURAT, C. A.; MIRANVILLE, A.; SENGENÈS, C.; DIEHL, M.; TONUS, C.; BUSSE, R.; BOULOUMIÉ, A.. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes*, 53: 1285- 1292. 2004.

DANDONA, P.; ALJADA, A.; BANDYOPADHYAY, A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* 25: 4- 7. 2004.

DAVID P. BEASON, ANDREW F. KUNTZ, JASON E. HSU, KRISTIN S. MILLER, LOUIS J. SOSLOWSKY. Development and evaluation of multiple tendon injury models in the mouse. *Journal of Biomechanics* 45, 1550-1553. 2012.

ECKE, R. H.. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N Engl J Med.* 320: 1060- 1068. 1989.

ESQUISATTO, M.A.M.; JOAZEIRO, P.P.; PIMENTEL, E.R.; GOMES, L. Ultrastructural characteristics of tensional regions in tendons from rats of different ages. *Braz. J. Morphol. Sci.*, v.20,p.109-114. 2003.

EVANKO, S.P.; VOGEL, K.G. Ultrastructure and proteoglycan composition in the developing fibrocartilaginous region of bovine tendon. *Matrix*, v.10,p.420-36. 1990.

FARAHMAND, M.; AMIRI, P.; TEHRANI, F. R.; MOMENAN, A.A.; MIRMIRAN, P.; AZIZI F."What are the main barriers to healthy eating among families? A qualitative exploration of perceptions and experiences of Tehranian men". *Appetite*. S0195-6663. 2015.

FEDERICO, A.; D'AIUTO, E.; BORRIELLO, F.; BARRA, G.; GRAVINA, A. G.; ROMANO, M.; DE PALMA, R.. Fat: A matter of disturbance for the immune system. *World J Gastroenterol.* 16(38): 4762- 4772. 2010.

FEITOSA, V.L.; VIDAL, B.C.; PIMENTEL, E.R. Optical anisotropy of a pig tendon under compression. *J. Anat.*, v.200,p.105-111. 2002 .

FRANCESCHI, F.; PAPALIA, R.; PACIOTTI, M.; FRANCESCHETTI, E.; DI MARTINO, A.; MAFFULLI, N.; DENARO, V. Obesity as a risk factor for tendinopathy: a systematic review. *Int J Endocrinol*, p. 1- 10 2014.

FRANCESCO OLIVA, ALESSIO GIAIVIA AND NICOLA MAFFULLI. Physioathology of intratendinous calcific deposition., *BMC Medicine*, 10-95. 2012.

FRANK, C.; McDONALD, D.; BRAY, D. Collagen fibril diameters in the healing adult rabbit medial collateral ligament. *Connective Tissue Res.*,v.27,p.251-263. 1992.

GAÍVA, M.H.G.; COUTO, R.C.; OYAMA, L.M.; COUTO, G.E.C.; SILVEIRA, V.L.F.; RIBEIRO, E.B.; NASCI-MENTO, C.M.O. Polyunsaturated fatty acids rich diets: effect on adipose tissue metabolism in rats. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, v.86, p.371-7, 2001.

GOLDBERG, I. J. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res.* 37: 693- 707. 1996.

HAYEM, G. Tenology: a new frontier. *Joint Bone Spine*, v.68, p. 19-25. 2001.

HEREDIA, F. P.; GÓMEZ-MARTÍNEZ, S.; MARCOS, A.. Chronic and degenerative diseases Obesity, inflammation and the immune system. *Proc Nutrition Soc.* 71: 332–338. 2012.

HOUGLUM, P.A. Soft tissue healing and its impact on rehabilitation. *J.Sports Rehab.* v.1, p.19-39. 1992.

HUKINS, D.W.; ASPDEN, R.M. Composition and properties of connective tissues. *Trends in Biochem.Sc.*, v.10, p. 260-264. 1985.

JAFARI, L.; VACHON, P.; BEAUDRY, F.; LANGELIER, E.; Histopathological, biomechanical, and behavioral pain findings of Achilles tendinopathy using an animal model of overuse injury. *Physiol Rep.* 19;3(1). pii: e12265. 2015.

JAMES E. GAIDA, MAUREEN C. ASHER, SHONA L. BASS AND JILL L. COOK. Is adiposity under-recognised risk factor for tendinopathy? *Arthritis & Rheumatism* (Arthritis Care & Research) v 61, no. 6, , pp 840-849.2009.

JAMES, P. T.; LEACH, R.; KALAMARA, E.; SHAYEGHI, M.. The Worldwide Obesity Epidemic. *Obes. Res.* 9: S228- S233. 2001.

JEFFREY, H.; WEINREB, CHIRAG, SHETH, JOHN APOSTOLAKOS, MARY-BETH MCCARTHY, BENJAMIN BARDEN, MARK P. COTE, AUGUSTUS D. MAZZOCCA. Tendon structure, disease and imaging. *Muscles, ligaments and Tendon Journal*; 4(1): 66-73. 2014.

JÓZSA, L.; KANNUS, P. Human tendons: Anatomy, Physiology and Pathology. *Human Kinetics*, 574pp. 1997.

JUGE-AUBRY, C.E.; HENRICHOT, E.; MEIER, C. A. Adipose tissue: a regulator of inflammation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 19(4): 547- 566. 2005.

KÄLEBO, P.; ALLENMARK, C.; PETERSON, L.; SWÄRD, L. Diagnostic value of ultrasonography in partial ruptures of the Achilles tendon. *Am J. Sports Med.*, v.20, p.378-381. 1992.

KANNUS, P.; JÓZSA, L., Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon. A controlled study of 891 patients. *J. Bone Joint Surg. Am.*, v.73, p.1507-1525. 1991.

LEADBETTER, W.B. Cell-matrix response in tendon injury. *Clin Sports Med.* v.11, p.533-578. 1992.

LESIC, A.; BUMBASIREVIC, M. Disorders of the Achilles tendon. *Cur Orthop.*, v.18, p.6375.2004.

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

MICHAEL A. DAVID, KHYRIE H. JONES, JASON A. INZANA, MICHAEL J. ZUSCIK, HANI A. AWAD. Tendon repair is compromised in a high fat diet –induced mouse model of obesity and type 2 Diabetes. *Plos One* 9 (3) : 2014.

LOWE, M.R.; SHANK, L. M., MIKORSKI, R.; BUTRYN, M. L. Personal history of dieting and family history of obesity are unrelated: Implications for understanding weight gain proneness. *Eat Behav.* 17C:144-148. 2015.

MARCO FRANCHI, ALESSANDRA TRIRÈ, MARILISA QUARANTA, ESTER ORSINI AND VITTORIA OTTANI. Collagen structure of tendon relates to function. *The scientific world Journal* 7, 404-420. 2007.

MELLO, M.L.; GODO, C.; VIDAL, B.C.; ABUJADI, J.M. Changes in macromolecular orientation on collagen fibers during the process of tendon repair in the rat. *Ann. Histochem.* v.20, p.145-152. 1975.

MERRILEES, M.J.; FLINT, M.H. Ultrastructural study of tension and pressure zones in a rabbit flexor tendon. *Am J Anat.*, v.157, p.87-106. 1980.

MICHELLE ABATE, FRANCESCO OLIVA, COSIMA SCHIAVONE, VINCENZO SALINI. Achilles tendinopathy in amateur runners : role of adiposity (tendinopathies and obesity). *Muscles, ligament and tendons journal* 2(1): 44- 48. 2012.

MIDWOOD, K.S.; WILLIAMS, L.V.; SCHWARZBAUER, J.E. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, v.36, p.1031-1037. 2004.

MONTEIRO, J. C., GOMES, M. L.; TOMIOSSO, T. C.; NAKAGAKI, W. R.; SBERVELHERI, M. M.; FERRUCCI, D. L.; PIMENTEL, E. R.; DOLDER, H. More resistant tendons obtained from the association of *Heteropterys aphrodisiaca* and endurance training. *BMC Complement Altern Med.* V. 28;11:51. 2011.

MUTSARES, S.E.; BISHOP, J.E.; MCGROUTHER, G.; LAURENT, G.J. Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, v.29, p.5-17. 1997.

OGDEN, C. L.; CARROLL, M. D.; CURTIN, L. R. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999–2004. *JAMA* 295: 1549-1555. 2006.

PATTERSON KANE, J. C.; BECKER, D. L.; RICH, T. The pathogenesis of tendon microdamage in athletes : the horse as a natural model for basic cellular research, *J. Comp. Path.*, vol. 147, 227-247. 2012.

PODOLIN, D.A.; WEY, Y.; PAGLIASSOTTI, M.J. Effects of a high-fat diet and voluntary wheel running on gluconeogenesis and lipolysis in rats. *Journal of Applied Physiology*, v.86, n.4, p.1374-80, 1999.

REDONDO-ALONSO L¹, CHAMORRO-MORIANA G, JIMÉNEZ-REJANO JJ, LÓPEZ-TARRIDA P, RIDAO-FERNÁNDEZ C. Relationship between chronic pathologies of the supraspinatus tendon and the long head of the biceps tendon: systematic review. *BMC Musculoskelet Disord.* 8;15:377. 2014.

RICHMOND J. S. A.; FUKUCHI, R. K.; EZZAT, A.; SCHNEIDER, K.; SCHNEIDER, G.; EMERY, C. A. Are joint injury, sport activity, physical activity, obesity, or occupational activities predictors for osteoarthritis? A systematic review,” *The Journal of Orthopaedic and Sports Physical herapy*, vol. 43, no. 8, pp. 515– 519, 2013.

RUTH CHIQUET-EHRISMANN, R.; TUCKER, R. P. Tenascins and the Importance of Adhesion. *Cold Spring Harb Perspect Biol* , pp. 678- 686. 2011.

RUTTEN, M. J.; JAGER, G. J.; BLICKMAN, J. G. From the RSNA refresher courses: US of the rotator cuff: pitfalls, limitations, and artifacts. *Radiographics.* 26(2):589-604. 2006.

SCOTT, C.; WEARING, P. H. D.; SUE, L.; HOOPER, P. H. D.; NICOLE, L.; GRIGG, P. H. D. Overweight and obesity alters the cumulative transverse strain in the Achilles tendon immediately following exercise. *Journal of bodywork movement therapies* 17, 316-321. 2013.

SANDERS, J.E.; GOLDSTEIN, B.S. Collagen fibril diameters increase and fibril densities decrease in skin subjected to repetitive compressive and shear stresses. *J.Biomech.*, v.34, p.1581-1587. 2001.

SCHWARZBAUER, J. E.; DE SIMONE, D. W. FIBRONECTINS, Their Fibrillogenesis, and In Vivo Functions. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, pp. 345-355. 2011.

SHARMA, P.; MAFFULLI, N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. *J Musculoskelet Neuronal Interact.*, v.6, p. 181-190. 2006.

VOGEL, K.G.; KOOB, T.J. Structural specialization in tendon under compression. *Int. Rev. Cytol.*, v.115. p. 267-293. 1989.

VOGEL, K.G.; KELLER, E.J.; LENHOFF, R.J.; CAMPBELL, K.; T.J. Proteoglycan synthesis by fibroblast cultures initiated from regions of adult bovine tendon subjected to different mechanical forces. *Eur J Cell Biol.*, v.41,p.102-112.1986.

XU, H.; BARNES, G. T.; YANG, Q.; TAN, G.; YANG, D.; CHOU, C. J.; SOLE, J.; NICHOLS, A.; ROSS, J. S.; TARTAGLIA, L. A.; CHEN, H.. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 112: 1821-1830. 2003.

SMITH, R.K.W.; BIRCH, H.L.; GOODMAN, S.; HEINEGÅRD, D.; GOODSHIP, A.E. The influence of ageing and exercise on tendon growth and degeneration-hypotheses for the initiation and prevention of strain-induced tendinopathies. *Comp. Biochem. and Phys. Part A*, v.133, p. 1039-1050. 2002.

SPIESZ, E. M.; THORPE, C. T.; CHAUDHRY, S.; RILEY, G. P.; BIRCH, H. L.; CLEGG, P. D.; SCREEN, H. R. Tendon extracellular matrix damage, degradation and inflammation in response to in-vitro overload exercise. *J Orthop Res.* pp. 78-89. 2015.

SUGANAMI, T.; NISHIDA, J.; OGAWA, Y. A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes: role of free fatty acids and tumor necrosis factor alpha. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 25: 2062- 2068. 2005.

THOMOPOULOS, S.; PARKS, W. C.; RIFKIN, D. B.; DERWIN, K. A. Mechanisms of tendon injury and repair. *J Orthop Res.* 29-36. 2015.

VIDAL, B.C.; CARVALHO, H.F. Aggregational state and molecular order of tendons as a function of age. *Matrix*, v.10, p. 48-57. 1990.

VILARTA, R.; VIDAL, B.C. Anisotropic and biomechanical properties of tendons modified by exercise and denervation: aggregation and macromolecular order in collagen bundles. *Matrix*, v.9, p. 55-61. 1989.

VISSCHER, T. L. S.; SEIDELL, J. C. The public health impact of obesity. *Annu. Rev. Public Health*, 22: 355-375. 2001.

WEARING, S. C.; HENNIG, E. M.; BYRNE, N. M.; STEELE, J. R.; HILLS, A. P. "Musculoskeletal disorders associated with obesity: a biomechanical perspective," *Obesity Reviews*, vol. 7, no. 3, pp. 239–250, 2006.

WEISBERG, S. P.; MCCANN, D.; DESAI, M.; ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R. L.; FERRANTE, A. W.. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 112: 1796- 1808. 2003.

WELLEN, K. E.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest.* 115: 1111-1119. 2005.

WILLIAMS, J.P.G. Achilles tendon lesions in sport. *Sports Med.*, v.3,p.114-135. 1986.

WOO, S. L-Y.; HILDEBRAND, K.; WATANABE, N.; FENWICK, J.A.; PAPAGEORGIOU, C.D.; WANG, J.H-C. Tissue engineering of ligament and tendon healing. *OrthopTissue Engineer.*, v.367S, p. S312-S323. 1999.

WOOD, L. K.; BROOKS, S. V. Ten weeks of treadmill running decreases stiffness and increases collagen turnover in tendons of old mice. *J Orthop Res.* 2015.

WHO – World Health Organization. Diet, food supply and obesity in the pacific. Regional Office for the Western Pacific. 2003.

WHO – World Health Organization. The challenge of obesity in the WHO european region and the strategies for response. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe. 2007.

WHO – World Health Organization. Obesity and overweight fact sheet # 311.2009.

YOUNG. B.B; GORDON, M.K.; BIRK, D.E. Expression of type XIV collagen in developing chicken tendons: Association with assembly and growth of collagen fibrils. *Dev. Dyn.*, v.217, p. 430-439. 2000.

YAN, R.; BASTIAN, N. D.; GRIFFIN, P. M. Association of food environment and food retailers with obesity in US adults. *Health Place.* 33C:19-24. 2015.