

**ANÁLISE DE FIBRAS MUSCULARES POR ATPASE MIOFIBRILAR E
NADH-TR DE RATAS WISTAR COM ENDOMETRIOSE PÓS
ATIVIDADES FÍSICAS AERÓBIAS E ANAERÓBIAS**

VIVIAN FERREIRA DO AMARAL

CURITIBA

2018

**ANÁLISE DE FIBRAS MUSCULARES POR ATPASE MIOFIBRILAR E NADH-TR
DE RATAS WISTAR COM ENDOMETRIOSE PÓS ATIVIDADES FÍSICAS
AERÓBIAS E ANAERÓBIAS**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado
à Especialização em Medicina do Exercício
Físico na Promoção da Saúde realizada na
Universidade Federal do Paraná sob
orientação do **Prof^a. Dr Anderson Ulbrich**

CURITIBA

SUMÁRIO

RESUMO	iv
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vi
1 INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	4
3 MATERIAIS E MÉTODO	5
1.1 Protocolo de atividade física	5
1.2 Material	8
1.3 Análise histológica	8
1.4 Análise muscular	9
1.5 Análise Papanicolaou	10
1.6 Análise estatística	10
4 RESULTADOS	11
4.1 Comparação do peso na cirurgia, na reabertura e na eutanásia, conforme atividade física	11
4.2 Comparação das classificações de Keenan em relação aos pesos na cirurgia, na reabertura e na eutanásia, dentro de cada grupo	14
4.3 Comparação da quantidade de núcleos nas fibras musculares do músculo sóleo conforme atividade física	16
5 DISCUSSÃO	18
6 CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS	21

RESUMO

Endometriose é definida como a presença de tecido endometrial funcional fora do útero, causando diversos sintomas, como infertilidade, dor pélvica crônica, dispareunia, sangramento irregular e dismenorréia, resultantes de uma reação inflamatória. A atividade física executada de forma regular parece ter proteção antiinflamatória, uma vez que induz um aumento dos níveis sistêmicos de citocinas antiinflamatórias. Durante a prática de atividade física regular, a massa muscular de um indivíduo aumenta, e então são necessários mais núcleos para suprir essa célula. Desta forma pode-se afirmar que mais núcleos determinam uma maior massa muscular. O objetivo do estudo foi avaliar a quantidade de núcleos presentes em células musculares do músculo sóleo de ratas Wistar com endometriose experimental submetidas a um protocolo de atividade física aeróbia e anaeróbia. Foram submetidas à cirurgia de indução de endometriose peritoneal 40 ratas. Após 23 dias iniciaram-se as atividades físicas, sendo divididas em 4 grupos, que realizaram atividade aeróbia, atividade anaeróbia, ambas as atividades e grupo controle (sedentário). Foram coletados músculos sóleos, fixados em formol a 10% e processados para inclusão em parafina. Foram confeccionadas lâminas em branco, analisadas pelo Incell Analyzer 1000, um sistema de contagem automática de núcleos celulares. Todas as ratas obtiveram aumento de peso. O aumento de peso obtido pelas ratas que realizaram atividade física pode ser explicado pelo aumento da quantidade de núcleos das células musculares, ou seja, pelo aumento da massa magra. Sendo que os melhores resultados foram provenientes do grupo que realizou atividade anaeróbia ($p < 0,001$). Por outro lado, os melhores resultados de diminuição de Keenan foram obtidos do grupo que realizou atividade aeróbia ($p < 0,05$). O exercício aeróbio de baixa intensidade parece ser mais eficaz quando comparado ao anaeróbio e ao misto, no que se refere ao controle da doença. Porém o exercício anaeróbio até a exaustão mostra melhores resultados em ganho de massa magra ($p = 0,691$). A atividade física demonstrou a sua importância no controle da doença e pode ser indicada como coadjuvante no tratamento da endometriose em mulheres portadoras desta moléstia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Atividade aeróbia: Grupo 1 realizando 60 min de atividade física na esteira ergométrica	6
Figura 2. Coletes de peso para a prática de atividade física anaeróbia	6
Figura 3. Atividade anaeróbia: Rata do Grupo 2 em dois momentos: em A, indo ao fundo da piscina e em B, realizando um salto	7
Figura 4. Músculo Sóleo	9
Figura 5. Amostras do músculo sóleo de ratas	9
Figura 6. Coloração de Papanicolaou	10
Figura 7. Análise do peso por grupo	13

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização dos grupos do experimento	5
Tabela 2. Caracterização dos grupos do experimento após as atividades físicas	8
Tabela 3. Comparação do peso no grupo que realizou atividade aeróbia.....	11
Tabela 4. Comparação do peso no grupo que realizou atividade anaeróbia	12
Tabela 5. Comparação do peso no grupo que realizou ambas as atividades	12
Tabela 6. Comparação do peso no grupo controle.....	13
Tabela 7. Comparação do Keenan no grupo que realizou atividade anaeróbia	14
Tabela 8. Comparação do Keenan no grupo que realizou atividade anaeróbia	15
Tabela 9. Comparação do Keenan no grupo que realizou ambas as atividades	15
Tabela 10. Comparação do Keenan no grupo controle	16
Tabela 11. Comparação dos grupos em relação à intensidade núcleo/célula	17

1. INTRODUÇÃO

A endometriose é definida como a presença de tecido endometrial funcional fora do útero, causando diversos sintomas, como infertilidade, dor pélvica crônica, dispareunia, sangramento irregular e dismenorréia(1). É uma desordem ginecológica estrogênio-dependente benigna, que afeta 10 a 15% das mulheres em idade reprodutiva e pode atingir 40 a 60% das pacientes com história de infertilidade (2).

Evidências sugerem que a presença e a manutenção de sintomas como dismenorréia, em graus variáveis, dor pélvica acíclica, dispareunia de profundidade e alterações intestinais cíclicas como puxo e tenesmo, são resultados de uma reação inflamatória causada por estresse oxidativo. O fluido peritoneal destas pacientes é repleto de macrófagos ativos e citocinas pró-inflamatórias, principalmente IL-6. Essas pacientes também expressam muita enzima coxigenase 2 (COX-2) e conseqüente elevação de prostaglandinas (2)(3).

Estudos com animais em laboratório tem demonstrado a complexidade da interação exercício-sistema imune e confirmam que o exercício físico moderado melhora algumas respostas inflamatórias e a conseqüente dor pélvica (4). A atividade física executada de forma regular parece ter proteção antiinflamatória, uma vez que induz um aumento dos níveis sistêmicos de citocinas antiinflamatórias (2). Contudo, sessões agudas de exercícios anaeróbios aumentem a síntese de espécies reativas de oxigênio, com conseqüente aparecimento de lesões e resposta negativa do sistema imunológico. Mas, em uma situação de treinamento crônico, podem ocorrer adaptações favoráveis ao sistema antioxidante. Indivíduos treinados em atividades predominantemente anaeróbias apresentam estresse oxidativo reduzido e menor quantidade de lesões, quando comparados com indivíduos não treinados (5). Deste modo, é provável que a atividade física melhore o quadro clínico das mulheres com endometriose, uma vez que ele reduz a atividade de algumas citocinas pró-inflamatórias, envolvidas no mecanismo da dor.

O músculo esquelético é o tecido que ocupam maior volume nos vertebrados, cuja função inclui os movimentos da respiração, a locomoção e a postura (6). Essa afirmação é justificada em situações de sedentarismo, imobilização de membros, envelhecimento e longos períodos de repouso no leito, em que ocorrem diminuição e perda da força muscular, diminuição da massa muscular e redução do número e do

diâmetro das fibras musculares (7). O músculo esquelético é formado por fibras musculares, que são células multinucleares especializadas. As fibras musculares apresentam características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas distintas, o que confere ampla diversidade estrutural e funcional ao tecido muscular (8).

Inicialmente as fibras musculares eram classificadas em vermelhas, intermediárias e brancas. Posteriormente, foram denominadas de fibras dos tipos I e II de acordo com o padrão de reação para a atividade da ATPase miofibrilar (mATPase). Na atividade física estão envolvidas as fibras musculares do tipo I, que são fibras de contração lenta e fadiga difícil, que dependem de fosforilação oxidativa para obtenção de energia e, portanto, são ricas em mitocôndrias e em mioglobina; e as fibras tipo II, que são fibras de contração rápida e fadiga fácil, que utilizam glicólise anaeróbica para obtenção de energia e são pobres em mitocôndrias e mioglobina (9). Em relação ao treinamento de força, a diminuição ou aumento da massa magra são mediados respectivamente pela diminuição e aumento das fibras musculares tipo II (10).

Uma das características do músculo esquelético é sua plasticidade, sendo capaz de alterar sua morfologia, estrutura e fenótipo para suprir as demandas metabólicas e funcionais, regulado por genes envolvidos na síntese proteica, o que leva a um aumento da massa muscular ou degradação proteica (8)(11). Nos casos dos exercícios físicos, os programas de treinamento podem gerar sobrecarga progressiva no tecido muscular e promover microlesões nas fibras musculares, denominadas miotrauma adaptativo. O miotrauma adaptativo é descrito como fator fundamental para que o processo da hipertrofia muscular seja iniciado (8).

No processo de hiperplasia muscular ocorre o aumento do número de fibras musculares tipo I e tipo II, e cessa em um curto período após o desenvolvimento embrionário. Já a hipertrofia das fibras musculares predomina do período pós-natal. É observado um aumento do número de núcleos e de miofibrilas, em especial de fibras musculares tipo II. Assim, durante a prática de atividade física regular, a massa muscular de um indivíduo aumenta, e então são necessários mais núcleos para suprir essa célula. Desta forma pode-se afirmar que mais núcleos determinam uma maior massa muscular. Porém, ao contrário do que era previsto, após cessar a

prática de exercícios os núcleos não são extintos, mas ficam silentes. E este é o conceito de memória muscular (8).

Diversas causas, como as de origem metabólica ou histológica, provocam alterações das fibras musculares submetidas a exercícios regulares, por exemplo aumento de fibras musculares oxidativas e aumento o diâmetro das fibras musculares, o que sugere uma maior resistência à fadiga e um conseqüente melhor desempenho à atividade física (10)(11)(12).

Nesta pesquisa, busca-se verificar se essas alterações permitiriam um maior rendimento da prática das atividades com melhor aproveitamento energético, o que, sem dúvida, explicaria a melhora observada nos implantes endometriais quando comparados ao grupo controle.

2. OBJETIVO

Avaliar a quantidade de núcleos presentes em células musculares do músculo sóleo de ratas Wistar com endometriose experimental submetidas a um protocolo de atividade física aeróbia e anaeróbia

3. MATERIAIS E MÉTODO

Esse estudo caracterizou-se metodologicamente como experimental, sendo que os experimentos foram realizados seguindo as normas e princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e com a aprovação do núcleo de Bioética do Comitê de Ética no uso de animais (protocolo nº 774 – 1ª versão). Em 2013 foram realizadas as cirurgias para indução de endometriose peritoneal em 40 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, todas com três meses de idade, virgens, e com peso variando entre 215g e 251g. Três ratas vieram a óbito pela indução anestésica. Vinte e um dias depois foi feita a cirurgia de reabertura para verificar o implante endometrial e estabelecer protocolos.

3.1. PROTOCOLO DE ATIDADE FÍSICA

Após um mês da cirurgia de indução da endometriose, as ratas iniciaram as atividades físicas conforme divisão por grupo.

	TIPO DE ATIVIDADE	N
GRUPO 1	AERÓBIA	9
GRUPO 2	ANAERÓBIA	9
GRUPO 3	AMBAS ATIVIDADES	9
GRUPO 4	CONTROLE	10

Tabela 1. Caracterização dos grupos do experimento.

Na primeira semana foram feitas adaptações diárias dos animais aos equipamentos. Conforme o grupo, as ratas ficavam 30 min correndo na esteira ergométrica e/ou 10 min em nado livre na piscina sem coletes de peso. Da 2ª a 9ª semana as atividades passaram a ser 3 vezes por semana, sempre às segundas, quartas e sextas.

O Grupo 1 (N=9) realizou as atividades aeróbias, compreendida por caminhada na esteira por um período de 60 minutos. Durante a realização desta atividade física, a dificuldade encontrada foi em relação à esteira ergométrica. Trata-se de um aparelho de uso humano, que possui baias de vidros como adaptação às ratas, com abertura superior. Então, era comum que as ratas escapassem pela abertura superior ou sentassem, evitando a atividade física. Porém, já na segunda semana, foram colocadas caixas de ovos presos à uma tampa de madeira, e

colocados na abertura superior das baias, que evitaram que as ratas tentassem a fuga, se levantassem e até mesmo sentassem, sendo, então, obrigadas a correr e a realizar os 60min de exercício.



Figura 1. Atividade aeróbia: Grupo 1 realizando 60 min de atividade física na esteira ergométrica

O Grupo 2 (N=9) realizou atividade anaeróbia com saltos na piscina, com colete de peso ajustado ao tórax. A carga foi calculada pelo percentual do peso do animal, no mínimo 20%, e aumentadas conforme pesagem, variando entre 25g, 50g e 75g. Os coletes de peso foram confeccionados a partir de chumbos de pescaria, envoltos em látex de luvas de procedimento e micropore. Foram fixados a um elástico de algodão para se ajustarem ao tórax das ratas.

As ratas do Grupo 2 realizavam 3 séries de 12 saltos com coletes na piscina. Em princípio, elas apenas nadavam, mas com o colete, elas eram puxadas ao fundo da piscina e obrigadas a saltar, assim, somente neste momento os saltos foram contabilizados, Foi dado intervalo de 1 min de repouso entre cada série.

As ratas do Grupo 3 (N=9) realizaram atividades aeróbia e anaeróbia combinadas, sendo esteira ergométrica por 60 minutos e 3 séries de 12 saltos na piscina com colete de peso.

Todas as ratas que realizaram exercícios na água foram devidamente secadas com uma toalha para evitar possíveis infecções respiratórias. Na última semana de atividade física uma rata do Grupo 2 (atividade anaeróbia) veio a óbito no Biotério da PUC-PR por causas naturais. O mesmo tempo de nove semanas foi

respeitado às ratas do Grupo 4 (N=10), que durante a realização das atividades físicas permaneceram no Biotério.

Após o término das atividades físicas e considerando os óbitos ocorridos durante o experimento, o N de cada grupo ficou da seguinte forma:

	TIPO DE ATIVIDADE	N
GRUPO 1	AERÓBIA	9
GRUPO 2	ANAERÓBIA	8
GRUPO 3	AMBAS ATIVIDADES	9
GRUPO 4	CONTROLE	10

Tabela 2. Caracterização dos grupos do experimento após as atividades físicas

3.2. MATERIAL

No dia 05 de setembro de 2013 foi realizada uma operação por laparotomia para visualização, medição e ressecção dos implantes. As ratas foram novamente pesadas e submetidas à eutanásia, com retirada dos implantes e do músculo sóleo. Para fim de aproveitamento de material, podendo ser utilizados em outras pesquisas, também foram coletados sangue, Papanicolaou e foi feita a histerectomia.

Os implantes endometriais foram fixados em formol a 10%, processados para inclusão em parafina e analisados histologicamente no Laboratório de Patologia Experimental da PUC-PR.

3.3. ANÁLISE HISTOLÓGICA

As lâminas dos implantes foram coradas com HE (hematoxilina e eosina) e analisadas ao microscópio óptico para a confirmação de tecido endometrial. Elas foram classificadas segundo o método de Keenan (Keenan *et al*, 1999) explicado a seguir: (13)

Keenan 0 - nenhum epitélio

Keenan 1 – epitélio mal preservado, apenas células epiteliais ocasionais

Keenan 2 – epitélio moderadamente preservado, com infiltrado leucocitário

Keenan 3 – camada epitelial bem preservada

Para efeito de análise estatística o Keenan foi dividido em dois grupos, Keenan = 0 e 1 e Keenan = 2 e 3.

3.4. ANÁLISE MUSCULAR

Para a coleta dos músculos foi feita uma incisão na pele, não muito profunda, somente o suficiente para chegar até o tecido conjuntivo. Foram afastados os bordos da pele com uma pinça. Cuidadosamente foram removidos a gordura e o tecido conjuntivo adjacente. Os músculos sóleos foram coletados dos membros inferiores aleatoriamente, sem definição de lado específico.



Figura 3. Amostras do músculo sóleo de ratas

As amostras foram fixadas em formol a 10% e processadas para inclusão em parafina. Foram confeccionadas lâminas em branco, analisadas pelo Incell Analyzer 1000, um sistema de contagem automática de núcleos celulares.

3.5. ANÁLISE DE PAPANICOLAOU

As lâminas com material citológico colhidos do cérvix uterino das ratas foram coradas pela técnica de Papanicolaou nas dependências do Laboratório de Parasitologia da PUC/PR.

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram descritos por frequências e percentuais (variáveis qualitativas) ou por médias, medianas, valores mínimos, valores máximos e desvios

padrões (variáveis quantitativas). Para a comparação dos grupos definidos pela atividade física em relação às classificações de Keenan, foi usado o teste de Qui-quadrado. Em relação aos pesos, as comparações dos grupos foram feitas considerando-se o modelo da análise da variância (ANOVA) com um fator. Para as comparações dos pesos nos três momentos de avaliação (cirurgia, reabertura e eutanásia), dentro de cada grupo, foi usado o modelo de análise da variância (ANOVA) com medidas repetidas. A condição de normalidade das variáveis de peso foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Os dados foram analisados com o programa computacional IBM SPSS Statistics v.20.

4. RESULTADOS

4.1. COMPARAÇÃO DO PESO NA CIRURGIA, NA REABERTURA E NA EUTANÁSIA, CONFORME ATIVIDADE FÍSICA

Para cada grupo, testou-se a hipótese nula de que as médias de peso são iguais nos três momentos de avaliação (cirurgia, reabertura e eutanásia), versus a hipótese alternativa de que em pelo menos um dos momentos de avaliação a média de peso é diferente dos demais. No caso de rejeição da hipótese nula, os momentos de avaliação foram comparados dois a dois. Nas tabelas abaixo são apresentadas, para cada grupo, estatísticas descritivas do peso na cirurgia, na reabertura e na eutanásia. Também são apresentadas estatísticas descritivas das diferenças de peso entre as avaliações (reabertura – cirurgia, eutanásia – cirurgia e eutanásia – reabertura). Para estas diferenças, valores positivos indicam que houve um aumento de peso. Já valores negativos indicam que houve redução de peso.

PESO	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO	VALOR DE p
Cirurgia	9	236,0	237,0	222,0	246,0	7,0	<0,001
Reabertura	9	245,4	248,0	232,0	255,0	7,7	<0,001
Eutanásia	9	269,7	268,0	256,0	291,0	11,1	<0,001
Cirurgia x Reabertura	9	9,4	10,0	5,0	15,0	3,0	0,008
Eutanásia x Cirurgia	9	33,7	34,0	19,0	55,0	10,7	<0,001
Reabertura x Eutanásia	9	24,2	21,0	10,0	50,0	11,9	<0,001

*ANOVA com medidas repetidas, $p < 0,05$

Tabela 3. Comparação do peso no grupo que realizou atividade aeróbia

PESO	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO	VALOR DE p
Cirurgia	8	240,9	242,0	224,0	251,0	8,6	<0,001
Reabertura	8	251,5	252,5	236,0	264,0	8,4	<0,001
Eutanásia	8	285,4	283,0	260,0	320,0	18,4	<0,001
Cirurgia x Reabertura	8	10,6	10,5	3,0	18,0	6,3	0,029
Eutanásia x Cirurgia	8	44,5	37,0	27,0	74,0	16,8	<0,001
Reabertura x Eutanásia	8	33,9	31,0	23,0	56,0	11,6	<0,001

*ANOVA com medidas repetidas, $p < 0,05$

Tabela 4. Comparação do peso no grupo que realizou atividade anaeróbia

PESO	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO	VALOR DE p
Cirurgia	9	231,1	230,0	215,0	243,0	8,9	<0,001
Reabertura	9	247,9	238,0	232,0	269,0	14,1	<0,001
Eutanásia	9	273,7	272,0	249,0	310,0	17,3	<0,001
Cirurgia x Reabertura	9	16,8	9,0	-3,0	46,0	19,0	0,015
Eutanásia x Cirurgia	9	42,6	36,0	19,0	83,0	20,5	<0,001
Reabertura x Eutanásia	9	25,8	21,0	2,0	53,0	15,6	0,001

*ANOVA com medidas repetidas, $p < 0,05$

Tabela 5. Comparação do peso no grupo que realizou ambas as atividades

PESO	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO	VALOR DE p
Cirurgia	10	233,0	235,5	213,0	246,0	10,0	<0,001
Reabertura	10	251,3	253,5	232,0	264,0	10,4	<0,001
Eutanásia	10	275,7	271,0	261,0	313,0	15,7	<0,001
Cirurgia x Reabertura	10	18,3	20,0	4,0	37,0	10,1	0,001
Eutanásia x Cirurgia	10	42,7	38,5	15,0	89,0	20,3	<0,001
Reabertura x Eutanásia	10	24,4	21,5	11,0	52,0	12,8	<0,001

*ANOVA com medidas repetidas, $p < 0,05$

Tabela 6. Comparação do peso no grupo controle

Os resultados obtidos da análise de peso podem ser visualizados no gráfico abaixo.

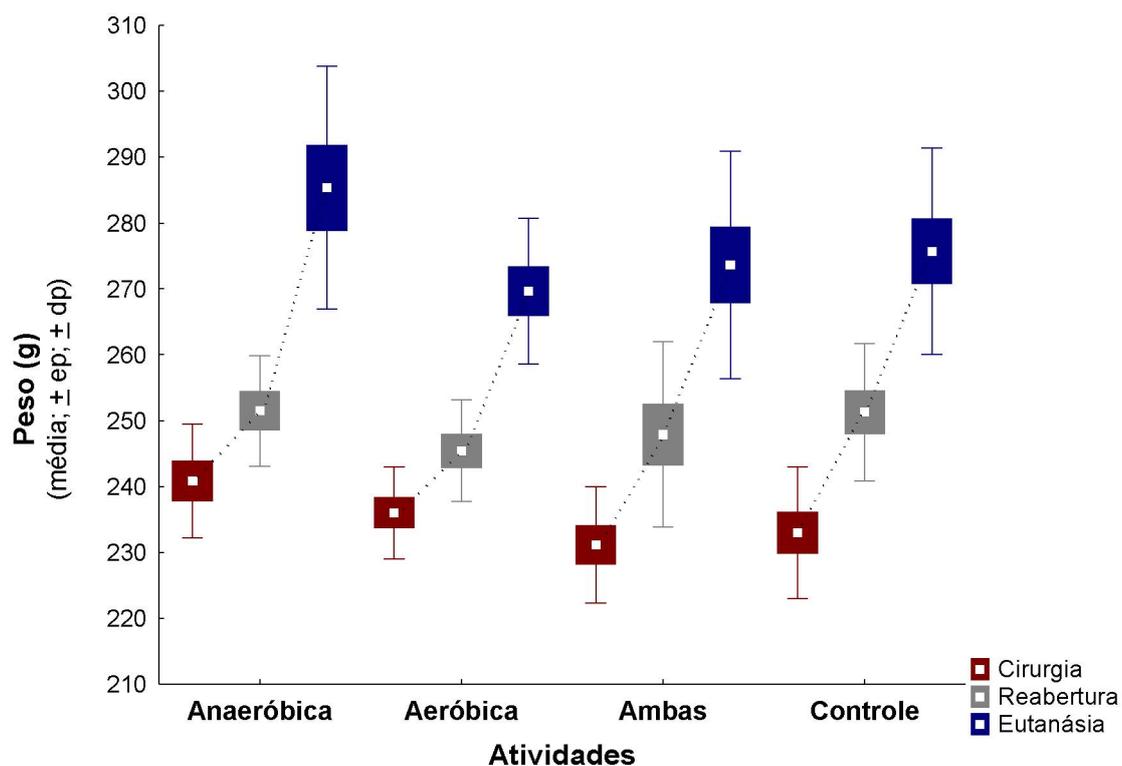


Figura 5. Análise do peso por grupo

4.2. COMPARAÇÃO DAS CLASSIFICAÇÕES DE KEENAN EM RELAÇÃO AOS PESOS NA CIRURGIA, NA REABERTURA E NA EUTANÁSIA, DENTRO DE CADA GRUPO

Nas tabelas a seguir são apresentadas, para cada grupo, estatísticas descritivas do peso na cirurgia, na reabertura e na eutanásia, considerando-se os casos com Keenan 0 ou 1 e os casos com Keenan 2 ou 3. Também são apresentadas estatísticas descritivas das diferenças de peso entre as avaliações (reabertura – cirurgia, eutanásia – cirurgia e eutanásia – reabertura). Para estas diferenças, valores positivos indicam que houve um aumento de peso. Já valores negativos indicam que houve redução de peso. Em função do pequeno número de casos em cada subgrupo definido pelas classificações de Keenan, não foram aplicados testes estatísticos.

PESO	KEENAN	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
Cirurgia	0 ou 1	3	237,7	237,0	230,0	246,0	8,0
	2 ou 3	6	235,2	236,5	222,0	242,0	7,1
Reabertura	0 ou 1	3	245,3	245,0	236,0	255,0	9,5
	2 ou 3	6	245,5	248,5	232,0	253,0	7,7
Eutanásia	0 ou 1	3	266,3	265,0	257,0	277,0	10,1
	2 ou 3	6	271,3	269,5	256,0	291,0	12,1
Cirurgia x Reabertura	0 ou 1	3	7,7	8,0	6,0	9,0	1,5
	2 ou 3	6	10,3	10,5	5,0	15,0	3,2
Eutanásia x Cirurgia	0 ou 1	3	28,7	27,0	19,0	40,0	10,6
	2 ou 3	6	36,2	34,0	24,0	55,0	10,8
Reabertura x Eutanásia	0 ou 1	3	21,0	21,0	10,0	32,0	11,0
	2 ou 3	6	25,8	21,5	14,0	50,0	13,1

Tabela 7. Comparação do Keenan no grupo que realizou atividade anaeróbia ($p < 0,05$)

PESO	KEENAN	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
Cirurgia	0 ou 1	4	243,0	242,0	237,0	251,0	5,9
	2 ou 3	4	241,0	241,0	224,0	249,0	11,3
Reabertura	0 ou 1	4	251,8	253,0	244,0	257,0	5,6
	2 ou 3	4	251,3	252,5	236,0	264,0	11,5
Eutanásia	0 ou 1	4	280,3	280,5	268,0	292,0	9,8
	2 ou 3	4	290,5	291,0	260,0	320,0	25,0
Cirurgia x Reabertura	0 ou 1	4	8,8	7,5	3,0	17,0	6,0
	2 ou 3	4	12,5	14,5	3,0	18,0	6,9
Eutanásia x Cirurgia	0 ou 1	4	37,3	33,5	27,0	55,0	12,8
	2 ou 3	4	51,8	48,5	36,0	74,0	18,9

Tabela 8. Comparação do Keenan no grupo que realizou atividade anaeróbia ($p < 0,05$)

PESO	KEENAN	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
Cirurgia	0 ou 1	5	229,4	227,0	215,0	241,0	10,7
	2 ou 3	4	233,3	231,0	228,0	243,0	6,7
Reabertura	0 ou 1	5	252,6	257,0	238,0	269,0	14,0
	2 ou 3	4	242,0	237,0	232,0	262,0	13,5
Eutanásia	0 ou 1	5	279,2	272,0	264,0	310,0	18,0
	2 ou 3	4	266,8	268,5	249,0	281,0	15,8
Cirurgia x Reabertura	0 ou 1	5	23,2	30,0	-3,0	46,0	23,8
	2 ou 3	4	8,8	7,0	2,0	19,0	7,4
Eutanásia x Cirurgia	0 ou 1	5	49,8	46,0	23,0	83,0	24,1
	2 ou 3	4	33,5	33,0	19,0	49,0	12,5
Reabertura x Eutanásia	0 ou 1	5	26,6	26,0	2,0	53,0	18,9
	2 ou 3	4	24,8	19,0	17,0	44,0	13,0

Tabela 9. Comparação do Keenan no grupo que realizou ambas as atividades ($p < 0,05$)

PESO	KEENAN	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
Cirurgia	0 ou 1	5	232,2	234,0	213,0	242,0	11,5
	2 ou 3	5	233,8	237,0	224,0	246,0	9,6
Reabertura	0 ou 1	5	246,2	253,0	232,0	255,0	10,8
	2 ou 3	5	256,4	261,0	246,0	264,0	7,9
Eutanásia	0 ou 1	5	272,0	271,0	263,0	291,0	11,3
	2 ou 3	5	279,4	275,0	261,0	313,0	19,8
Cirurgia x Reabertura	0 ou 1	5	14,0	14,0	5,0	21,0	6,4
	2 ou 3	5	22,6	23,0	4,0	37,0	12,0
Eutanásia x Cirurgia	0 ou 1	5	39,8	31,0	29,0	57,0	13,2
	2 ou 3	5	45,6	39,0	15,0	89,0	27,0
Reabertura x Eutanásia	0 ou 1	5	25,8	26,0	17,0	36,0	8,4
	2 ou 3	5	23,0	16,0	11,0	52,0	17,2

Tabela 10. Comparação do Keenan no grupo controle ($p < 0,05$)

4.3. COMPARAÇÃO DA QUANTIDADE DE NÚCLEOS NAS FIBRAS MUSCULARES DO MÚSCULO SÓLEO CONFORME ATIVIDADE FÍSICA

Testou-se a hipótese nula de que as médias de intensidade núcleo/célula são iguais nos 4 grupos, versus a hipótese alternativa de que pelo menos um grupo tem média diferente dos demais. Na tabela a seguir são apresentados os resultados obtidos. Foram selecionados de maneira aleatória 8 lâminas, pois o “n” mínimo dos grupos foi 8. Desta forma, para melhorar a comparação, foram definidos $n = 8$ para todos os grupos

GRUPO	N	MÉDIA	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO	VALOR DE p
ANAERÓBICA	8	1,094	1,097	1,079	1,107	10,7	0,691
AERÓBICA	8	1,091	1,090	1,080	1,104	8,1	0,691
AMBAS ATIVIDADES	8	1,091	1,089	1,081	1,104	8,8	0,691
CONTROLE	8	1,088	1,088	1,072	1,104	9,6	0,691

Tabela 11. Comparação dos grupos em relação à intensidade núcleo/célula

5. DISCUSSÃO

Analisando todos os grupos, observa-se que todos os animais obtiveram ganho de peso. Comparando-se os momentos Cirurgia e Eutanásia, tem-se que as ratas do grupo que realizaram atividade física anaeróbia ganharam em média 45 gramas. As que realizaram atividade física aeróbia foram as que menos tiveram aumento de peso, na média, 33 gramas. As ratas que realizaram ambas as atividades e as ratas do grupo controle tiveram o mesmo aumento de peso, 42 gramas. O aumento de peso pode ser justificado pelo processo inflamatório que a endometriose provoca, pelo estresse do exercício físico, pelo aumento de massa magra, que pode ser calculado pela quantidade de núcleos musculares, ou pelo envelhecimento.

Em relação à idade das ratas, temos que entre a indução da doença e a prática de atividade física elas variaram de 3 meses a 5 meses de idade. Segundo Andreollo *et al.*, 2012, 6 meses de idade na rata corresponde a 18 anos de idade em humanas, desta forma o envelhecimento não justifica o ganho de peso, pois as ratas eram adolescentes no momento do estudo. Por outro lado, pode-se levantar a hipótese de crescimento, estando esses animais em fase de desenvolvimento (15).

Quanto ao exercício físico, foi avaliada a intensidade núcleo/célula, que indiretamente indica a quantidade de núcleos musculares, de acordo com DIAS (2012). A hipertrofia das fibras musculares é observada pelo aumento do número de núcleos. O grupo que realizou atividade anaeróbia foi que teve mais núcleos. Os grupos que realizaram atividade aeróbia e ambas as atividades tiveram, na média, o mesmo valor. Já o grupo controle foi o que teve menos núcleos nas células musculares. Quando um indivíduo pratica exercícios físicos regularmente, a massa muscular aumenta, e são necessários mais núcleos para a demanda celular. Assim, podemos afirmar que as ratas que praticaram atividade física anaeróbia tiveram um aumento da massa muscular superior às ratas dos demais grupos. Durante a prática das atividades físicas, o exercício aeróbio em esteira era, em alguns momentos, manipulado pelas ratas, que faziam tentativas de fuga do aparelho ou simplesmente deitavam na esteira em movimento. Já na atividade anaeróbia, as ratas estavam com coletes de peso na piscina. Para não se afogarem, elas precisavam saltar e realizar o exercício, e não tinham nenhuma forma de manipular a atividade. Ao

saírem da piscina, essas ratas estavam em exaustão, o que não ocorria após a esteira. Assim, tem-se que o exercício pode aumentar a massa muscular desde que praticado até a exaustão, e por isso o grupo que realizou atividade anaeróbia teve maior aumento de núcleos (9).

Outro ponto a ser levantado é que as ratas receberam alimentação à base de ração específica em livre demanda, o que explicaria o fato de realizarem atividade física e aumentarem de peso e o aumento de peso nas ratas sedentárias. Para melhores resultados, a dieta deveria ser hiperproteica e com restrição calórica.

Obviamente que não se pode desconsiderar o estresse físico do exercício e nem o processo inflamatório da doença, e que estas condições poderiam causar aumento de peso nos animais. No entanto, este não foi o enfoque do trabalho. Sugere-se que novas pesquisas sejam realizadas com foco nas citocinas inflamatórias e mediadores do estresse, para que confirmem ou descartem estas possibilidades.

Analisando o Keenan temos que os melhores resultados foram obtidos no grupo que realizou atividade aeróbia. A caminhada de 60 min na esteira ergométrica é considerada um exercício de baixa intensidade em relação à atividade aplicada com os coletes de peso. Em menores porcentagens, os grupos que realizaram atividade anaeróbia e ambas as atividades também tiveram diminuição dos implantes endometriais, provando que a atividade física diminui o foco da doença quando comparados ao grupo controle. Apesar de todos os efeitos benéficos da prática de atividade física, durante ou após os exercícios físicos ocorre um aumento do consumo de oxigênio e ativação de vias metabólicas específicas, o que resulta na formação de radicais livres de oxigênio. Conforme SOUTHORN e POWIS (1988), essas moléculas de radicais livres estão aumentadas principalmente nos exercícios de alta intensidade e foram relacionadas ao envelhecimento e a um grande número de doenças. Também, os exercícios físicos são uma conhecida forma de estresse, capaz de disparar adaptações em resposta a uma maior produção de radicais livres, gerando uma série de alterações bioquímicas, psicológicas e comportamentais (16).

6. CONCLUSÃO

O aumento de peso obtido pelas ratas que realizaram atividade física pode ser explicado pelo aumento da quantidade de núcleos das células musculares, ou seja, pelo aumento da massa magra (8). Sendo que os melhores resultados foram provenientes do grupo que realizou atividade anaeróbia. Por outro lado, os melhores resultados de diminuição de Keenan foram obtidos do grupo que realizou atividade aeróbia.

O exercício aeróbio de baixa intensidade parece ser mais eficaz quando comparado ao anaeróbio e ao misto, no que se refere ao controle da doença. Porém o exercício anaeróbio até a exaustão mostra melhores resultados em ganho de massa magra.

A atividade física demonstrou a sua importância no controle da doença e pode ser indicada como coadjuvante no tratamento da endometriose em mulheres portadoras desta moléstia.

REFERÊNCIAS

1. KIM, S. H., CHAE, H. D., KIM, C.-H., & KANG, B. M. Update on the treatment of endometriosis. **Clinical and experimental reproductive medicine**, Seoul, Korea, v. 40, n. 2, 55–59. doi:10.5653/cerm.2013.40.2.55
2. BONOCHER, C. M., MONTENEGRO, M. L., ROSA E SILVA, J. C., FERRIANI, R. A., & MEOLA, J. Endometriosis and physical exercises: a systematic review. **Reproductive biology and endocrinology: RB&E**, Ribeirão Preto, São Paulo, v. 12, n. 4, 1-5, 2014, doi:10.1186/1477-7827-12-4
3. BURNEY, R. O., & GIUDICE, L. C. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. **Fertility and sterility**, San Francisco, Califórnia, v. 98, n. 3, 511–519, 2012. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.06.029
4. GONÇALVES, A. L., LUCIANO, E. Respostas inflamatórias em ratos wistar submetidos à atividade física. **Revista Brasileira Atividade Física e Saúde**, Rio Claro, São Paulo, v. 4, n. 1, 39–46, 1999. Disponível em: <<http://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/RBAFS/article/viewFile/1023/1188>>. Acesso em: 22 abr. 2014.
5. 9. CRUZAT, V. F., ROGERO, M. M., BORGES, M. C., TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 13, n. 5, 336–342, 2007. doi: 10.1590/S1517-86922007000500011
6. CARVALHO, R. F., SILVA, M. D. P. Cellular and molecular mechanisms that control muscular development and growth. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Botucatu, São Paulo, v.36, s.0, 21-31, 2007. doi: 10.1590/S1516-35982007001000003
7. SIMÕES, Lúcia Pedro. **Alteração das fibras musculares esqueléticas com o exercício aeróbio**. 2009. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2009
8. DIAS, H. B. A. **Morfologia e expressão dos MRF's no músculo esquelético de ratos submetidos a estímulo atrofico e recuperação por treinamento físico**. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado -Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/118877>>. Acesso em: 20 jul. 2015
9. BERTAGLIA, Raquel Santilone. **Avaliação bioquímica, morfológica e funcional do músculo estriado esquelético de ratos na insuficiência cardíaca**. 2011. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Botucatu, 2011.

10. AGUIAR, P. P. L., LOPES, C. R., VIANA, H. B., GERMANO, M. D. Evaluation of effects of resistance training strength in elderly. **Rev Kairós Gerontologia**, São Paulo, São Paulo, v. 17, n. 3, 201-217, 2014. Disponível em: <<http://revistas.pucsp.br/index.php/kairos/article/viewFile/22153/16231>>. Acesso em: 01 mar. 2015
11. CESAR, P., SAAD, B., GUIMARÃES, A., DAL, V., & BENEDICTO, L. Análise histológica e histoquímica das fibras dos músculos reto do abdome e intercostal paraesternal de ratos submetidos ao exercício da natação. **Rev Bras Med Esporte**, Presidente Prudente, São Paulo, v. 8, n. 4, 144–150, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbme/v8n4/v8n4a03>>. Acesso em: 22 abr. 2014.
12. ABATH NETO, Osório Lopes. **Estudo Clínico, histológico e molecular da miopatia centronuclear**. 2014. 208 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014
13. KEENAN, J. A., WILLIAMS-BOYCE, P. K., MASSEY, P. J., CHEN, T. T., CAUDLE, M. R., BUKOVSKY, A. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with the immune modulators loxoribine and levamisole. **Fertil Steril**. San Francisco, Califórnia, v. 72, n. 1, 135–141, 1999. doi: 10.1016/s0015-0282(99)00157-0
14. HEDRICH, H.J., BULLOCK, G. The Laboratory Mouse. **Elsevier Academic Press**. 1st edition, 656 p., 2004. ISBN: 9780123364258
15. ANDREOLLO, N. A., SANTOS, E. F., ARAÚJO, M. R., LOPES, L. R. Rat's age versus human's age: what is the relationship? **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, Campinas, São Paulo, v. 25, n. 1, 49-51, 2012, doi:10.1590/S0102-67202012000100011
16. SOUTHRON, P. A., POWIS, G. Free radicals in medicine: Involvement in human disease. **Mayo Clin Proc**, Rochester, MN, v. 63, 390–408, 1988. doi: 10.1016/S0025-6196(12)64862-9