RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 23/08/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA

Bruna Bologna Catinelli

Avaliação do impacto do exercício aquático sobre a miopatia de ratas prenhes com diabetes moderado

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Tocoginecologia.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Marilza Vieira Cunha Rudge
Coorientadora: Prof.ª Dr.ª Angélica Mércia Pascon Barbosa
Coorientadora: Prof.ª Dr.ª Patrícia de Souza Rossignoli

Botucatu
2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA

Bruna Bologna Catinelli

Avaliação do impacto do exercício aquático sobre a miopatia de ratas prenhes com diabetes moderado

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Tocoginecologia.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Marilza Vieira Cunha Rudge
Coorientadora: Prof.ª Dr.ª Angélica Mércia Pascon Barbosa
Coorientadora: Prof.ª Dr.ª Patrícia de Souza Rossignoli

Botucatu
2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Catinelli, Bruna Bologna.
Avaliação do impacto do exercício aquático sobre a miopatia de ratas prenhes com diabetes moderado / Bruna Bologna Catinelli. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu
Orientador: Marilza Vieira Cunha Rudge
Coorientador: Patrícia de Souza Rossignoli
Coorientador: Angélica Mércia Pascon Barbosa
Capes: 40103005

1. Diabetes. 2. Exercício. 3. Gravidez. 4. Desenvolvimento muscular.

Palavras-chave: Diabetes; Exercício; Gestação; Miogênese.

Bruna Bologna Catinelli

Avaliação do impacto do exercício aquático sobre a miopatia de ratas prenhes com diabetes moderado

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Tocoginecologia

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Marilza Vieira Cunha Rudge
Corientadora: Prof.ª Dr.ª Angélica Mércia Pascon Barbosa
Coorientadora: Prof.ª Dr.ª Patrícia de Souza Rossignoli

Comissão Examinadora da Defesa de Tese:

_____
Prof.ª Dr.ª Marilza Vieira Cunha Rudge
Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP

_____
Prof ª. Dr. Luis Sobrevia
Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

_____
Prof ª. Drª Cristiane Rodrigues Pedroni
Faculdade de Filosofia e Ciências – UNESP

_____
Prof. Dr. Nilton José dos Santos
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

_____
Profa. Dra. Caroline Baldini Prudencio
Universidade Federal de São Carlos - UFSCar

Botucatu, 23 de agosto de 2024

Dedicatórias

Este trabalho é dedicado à mulher que me inspira, me escuta, que sempre me diz que tudo vai ficar bem e que eu vou conseguir: minha mãe. Com seu jeito direto e prático de encarar a vida, você me ensina muito e me ajudou todos os dias a chegar até aqui.

Agradecimentos

À **minha mãe, Luciana,** por nunca medir esforços para me ver crescer, muitas vezes deixando de fazer por si para fazer por mim. Por sempre me apoiar e, à sua maneira, me garantir que tudo daria certo, mesmo diante de um caminho difícil. Obrigada por sempre acreditar em mim.

À **minha família**, em especial aos meus **avós, tios e primos**, por serem tão presentes e especiais em minha vida, me incentivando e acompanhando cada passo, cada conquista e compreendendo as minhas ausências.

Ao **meu noivo, Caio**, por acompanhar cada passo ao longo desses 4 anos, segurando minha mão e me ajudando a levantar nos momentos mais difíceis. Seu apoio, carinho, tranquilidade, paciência e amor sincero tornaram (e tornam) a trajetória mais fácil, com segurança e a certeza de que tenho com quem contar. Amo você.

À **Profa. Dra. Patrícia de Souza Rossignoli**, coorientadora deste trabalho e minha grande amiga. Serei eternamente grata pelo nosso encontro nessa vida. Obrigada por despertar em mim a paixão pela pesquisa e pela docência, por ter insistido e acreditado no meu potencial na graduação. Obrigada por continuar acreditando em mim, principalmente nos dias em que eu não acreditei que conseguiria chegar até aqui. Obrigada por existir, por ser o ser humano que é e por ter o melhor ombro amigo (sempre com muitas palavras sinceras, mesmo que sejam doloridas). Estendo este agradecimento à sua família (Marcus, Felipe e Marina), pelo carinho, pelos momentos de convivência e por sempre me acolherem como se eu também fosse membro da família. Vocês moram em meu coração.

À **Profa. Dra. Angélica Mércia Pascon Barbosa,** por ter acreditado em mim, na minha proposta e por ser fundamental para que este dia chegasse. Minha eterna admiração pela sua competência, entusiasmo e amor pelo que faz. Sua paixão pela Fisioterapia Uroginecológica é minha fonte de inspiração. Obrigada pela coorientação deste trabalho, sempre com muita dedicação, objetividade, companheirismo e regada a ensinamentos. Obrigada por me permitir, ao longo destes 4 anos, te acompanhar no Ambulatório de Fisioterapia junto aos alunos de Graduação, acreditando em meu trabalho para além da pesquisa. Eu devo a você grande parte da minha evolução como Fisioterapeuta.

À **Profa. Emérita Marilza Vieira Cunha Rudge**, por ter acolhido a minha proposta com entusiasmo e por acreditar no meu trabalho. É uma honra trabalhar em uma equipe liderada por uma mulher forte, competente e brilhante como a senhora. Como a senhora diz: “O trem está passando”, e agradeço por não ter perdido a

oportunidade de entrar nesse trem de oportunidade de crescimento pessoal e profissional.

À **Aline Medolago Carr,** minha eterna companheira de laboratório. Muito obrigada por me ajudar tanto nessa trajetória. Sem dúvidas o caminho até aqui seria mais difícil sem você ao meu lado. Obrigada por tornar os finais de semana e feriados no laboratório mais leves com o seu bom humor, companheirismo e amizade. Obrigada por ouvir minhas angústias, por sempre me apoiar e me dar forças quando tudo parecia desmoronar. Obrigada por me acompanhar em cada etapa deste trabalho, mesmo à distância, e me ajudar a encontrar soluções para cada dificuldade encontrada.

Aos meus amigos e companheiros de pós-graduação, em especial à **Caroline Baldini, Raíssa Escandiusi e Rafael Guilen**, um agradecimento especial por toda paciência, carinho e por todo o aprendizado. Me orgulho muito por ter a oportunidade de trabalhar com pesquisadores como vocês, que são exemplos de dedicação, ética e trabalho duro. Vocês me inspiram.

À **todos os meus amigos** que me acompanharam nessa trajetória, torcendo e celebrando as conquistas nos momentos bons e estendendo a mão nos momentos de dificuldade. A amizade de vocês e a presença em minha vida é essencial.

Aos **meus alunos**, pela oportunidade de contribuir para a formação deles. Obrigada por me motivarem a ser uma profissional melhor, por confiarem e acreditarem no meu trabalho.

À família que é o **Grupo de Pesquisa Diamater** pelo companheirismo, ajuda e ensinamentos. Vocês foram fundamentais para meu crescimento pessoal e profissional ao longo da pós-graduação. Quanta honra e privilégio poder trabalhar e contar com vocês.

À todos os **funcionários da Unesp de Botucatu e da FFC/Unesp Marília**, em especial à **Unidade de Pesquisa Experimental (Unipex)** da Faculdade de Medicina, ao **Laboratório de Ciências Fisiológicas (LACIFI/FFC Unesp)** por terem possibilitado o desenvolvimento deste estudo.

Aos **pesquisadores** do Laboratório de Matriz Extracelular pela disponibilidade, atenção e contribuições na realização do estudo.

Ao **Laboratório de Embriologia** da Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA), em especial à **Prof. Dra. Maria Angélica Spadella** e à Rosa Maria por

enriquecer este trabalho com todo o suporte nas análises e nas dúvidas que surgiram.

Aos funcionários do **Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia** da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), por nos orientar pelas burocracias acadêmicas.

Às vidas de todos os **animais** de laboratório que utilizamos em nossos experimentos, espero ter colaborado no avanço da ciência para que em breve não sejam mais necessários em qualquer tipo de estudo.

Às **agências brasileiras de fomento à pesquisa**: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo projeto temático Diamater (processo n°2016/01743-5); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de doutorado (Processo 88887.481402/2020-00).

Epígrafe

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.*”*

Madre Teresa de Calcutá

Resumo da Tese

Catinelli, B. B. Avaliação do impacto do exercício aquático sobre a miopata de ratas prenhes com diabetes moderado. 2024. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Brasil.

O Diabetes *Mellitus* Gestacional (DMG) está relacionado à perda involuntária de urina que ocorre pela primeira vez durante a gestação, definida como incontinência urinária específica da gestação (IU-EG). A miopatia diabética gestacional (MiDG) foi evidenciada no músculo reto abdominal (MRA) de gestantes e de ratas prenhes e na uretra de ratas prenhes. A prática de exercício aquático durante a prenhez de ratas com diabetes moderado se mostrou eficaz na reversão da MiDG do MRA, porém não se sabe quais mecanismos participaram deste processo. Adicionalmente, não há estudos avaliando o impacto do exercício aquático sobre a MiDG da uretra. O objetivo deste trabalho é expandir a caracterização da reversão da MiDG e estudar o papel da miogênese, biogênese e inflamação no processo de reversão da MiDG no MRA, além de estudar o impacto do exercício na MiDG da uretra. No primeiro dia de vida de ratas de linhagem Wistar foi realizada a indução do diabetes moderado por Streptozotocin (100 mg/kg, via subcutânea). Aos 90 dias de vida, a confirmação do diabetes se deu pelo nível glicêmico entre 120-300 mg/dL (grupos diabéticos) e <120 mg/dL (grupos não-diabéticos) e, no dia 0 de prenhez, as ratas foram distribuídas entre os grupos não diabético sedentário (NDsed), não diabético exercitado (NDex), diabético sedentário (DSed) e diabético exercitado (Dex). O exercício aquático teve início no dia zero de prenhez e foi realizado até o dia 20 de prenhez (60 minutos/dia, 6 dias/semana). No 21º dia de prenhez, os animais foram eutanasiados e foi realizada a coleta de amostras de sangue, MRA, uretra e músculo sóleo. O MRA foi estudado por imunohistoquímica (fibras rápidas e lentas), imunofluorescência (células-satélite), expressão gênica (marcadores inflamatórios) e microscopia eletrônica de transmissão (mitocôndrias). As amostras de sangue foram utilizadas para quantificação de citocinas pró-inflamatórias, enquanto as amostras de sóleo foram utilizadas para determinação da atividade da enzima citrato sintase. A uretra foi estudada por Tricrômico de Masson para identificação de fibras colágenas e musculares, imunohistoquímica para marcação de fibras rápidas, fibras lentas e colágeno tipo I, e por Microscopia Eletrônica de Transmissão. As comparações múltiplas entre os grupos foi realizada pelo teste t-student e foi considerado limite de significância <0.05. O exercício aquático durante a prenhez aumentou número de células-satélite e a razão célula-satélite/fibra no grupo Dex, com diminuição do número de fibras rápidas e lentas. Além disso, o exercício aquático também aumentou o número e área de mitocôndrias no grupo Dex, e manteve a atividade da enzima citrato sintase no grupo Dex similar ao grupo NDsed, em contraste ao aumento observado no grupo Dsed. Não foi observada diferença entre os grupos na quantificação e expressão de TNF-α, IL-6 and IL-1β no MRA e no plasma. O papel da miogênese e da biogênese mitocondrial na melhora do perfil morfológico do MRA foi demonstrada pelo aumento das razões célula-satélite/fibra e mionúcleo/fibra, e aumento das razões número de mitocôndrias/fibra e área de mitocôndrias/fibra, além da relação positiva entre número de mitocôndrias e área da fibra. Em relação à uretra, o exercício aquático não alterou a histologia da uretra. Em contrapartida, ambos os grupos diabéticos apresentaram diminuição da área e número de fibras rápidas, e diminuição do número de fibras lentas. Em relação à deposição de colágeno, o exercício aquático manteve a área total de colágeno, colágeno em músculo estriado e colágeno em músculo liso similares entre os grupos Dex e NDsed, em contraste ao aumento evidenciado em Dsed. Em contrapartida, o exercício aquático aumentou a deposição de colágeno tipo I em Dex.

A análise ultraestrutural mostrou ausência de rupturas de sarcômero no grupo Dex, diferentemente do grupo Dsed, enquanto linhas Z desorganizadas foram observadas nos grupos NDex, Dsed e Dex. Portanto, conclui-se que os principais mecanismos envolvidos na reversão da MiDG do MRA são a miogênese e biogênese mitocondrial, demonstrados pelo aumento do número de células-satélite, aumento de área e número de mitocôndrias, bem como o restabelecimento da atividade da citrato sintase. Em contrapartida, a prática de exercício aquático durante a prenhez de ratas diabéticas reverteu parcialmente a MiDG na uretra, demonstrada pela deposição de colágeno similar ao grupo não diabético e pela melhora no perfil ultraestrutural da uretra. Novos estudos com diferentes modalidades de exercício, assim como diferentes modalidades terapêuticas são necessários para entender a atenuação do dano causado pelo diabetes à uretra.

Thesis Abstract

Catinelli, B. B. Role of swimming exercise during pregnancy on diabetes-induced myopathy in rats. 2024. Thesis (Doctorate) - Botucatu Medical School (FMB), São Paulo State University (UNESP), Brazil.

Gestational Diabetes Mellitus (GDM) is related with pregnancy-specific urinary incontinence (PS-UI). Diabetic-induced myopathy (DiM) was evidenced in the rectus abdominis muscle (RAM) in both human and animal models, and in the urethra in diabetic pregnant rats. In preclinical study, we have demonstrated the reversal of DiM by swimming exercise (SE) in mild hyperglycemic pregnant rats. However, the mechanisms involved in the reversal has not been reported. In addition, the study of swimming exercise (SE) as therapeutic strategy to DiM in the urethra is scarce. The aim of the present study is to expand the characterization of DiM in the RAM and investigate the role of myogenesis, mitochondrial biogenesis and inflammation in the reversal of the RAM DiM, and also investigate the effect of SE in the urethra DiM in pregnant rats. Mild hyperglycemic pregnant rats' model was obtained by a unique subcutaneous injection of 100 mg/kg streptozotocin (diabetic group) on the first day of life in Wistar female newborns. At 90 days of life, after diabetes confirmation (glycemia 120-300 mg/dL in diabetic groups) the rats were mated and randomly allocated to remain sedentary or subjected to a SE protocol. The SE protocol started at gestational day 0 and consisted in of 60 min/day for 6 days/week in a period of 20 days in a swim tunnel. On day 21, rats were euthanized, and RAM, blood samples, urethra and the soleus muscle were collected. The RAM was studied by immunostaining (fast- and slow- fiber type and muscle stem cells content), real-time PCR (expression of pro-inflammatory markers) and transmission electron microscopy (mitochondria). Blood samples were used to quantification of plasma pro-inflammatory markers, while soleus muscle was used to determine citrate synthase activity. The urethra was studied by Masson's Thrichrome to identification of muscle and collagen fibers, immunohistochemistry (fast and slow-twitch fibers and collagen type I staining) and by Transmission Electron Microscopy. Multiple comparison between groups was performed using Student t-test, and statistical significance was considered $p<0.05$. SE increased MuSCs number and MuSCs number/myonuclei number ratio in Dex group, with decreased fast and slow-twitch fibers number. Also, SE increased mitochondria area and diameter in Dex group, and returned citrate synthase activity to similar level as NDsed group, in contrast with the increase in Dsed group. No difference was found in the expression and quantification of TNF-α, IL-6 and IL-1β in both RAM and plasma. The role of myogenesis and mitochondria biogenesis in the RAM morphological improvements was demonstrated by the increase in MuSCs number/fiber ratio and myonuclei number/fiber ratio and increase in mitochondria number/fiber and mitochondria area/fiber, in addition to the positive relationship between mitochondria number and fiber area. Regarding the effect of SE on DiM in urethra, SE promoted no changes in urethra histology. However, Dex and Dsed groups had decreased fast-twitch fiber area and number and decreased slow-twitch fiber number. Also, Dex group showed similarity in total collagen area, collagen in striated muscle area and collagen in smooth muscle area compared with NDsed group, in contrast with the increase in Dsed group. However, SE increased collagen type I area in Dex group. Ultrastructural analysis showed absence of sarcomeres disruption area in Dex group, in contrast with the Dsed group, while disorganized Z lines were found in NDex, Dsed and Dex groups. Thus, we conclude that myogenesis and mitochondria biogenesis are the main mechanisms involved in the reversal of the RAM DiM by SE in pregnant rats, demonstrated by the increase in MuSCs number, increased mitochondria area and

number and the restoration of citrate synthase activity. In urethra, SE reversed partially the DiM, demonstrated by the similar collagen deposition as non-diabetic condition and the improvement in the ultrastructural profile. Further studies with different types of exercise, as well as different therapeutic strategies are needed to the full comprehension of the attenuation of DiM in the urethra of diabetic pregnant rats.

Lista de Figuras

Contextualização

Figura 1 Estrutura e organização do músculo esquelético. **37**

7Figura 2 Estrutura e composição da uretra (A); Marcação de fibras de colágeno tipo I e tipo III na uretra (B); Marcação de fibras rápidas e lentas no músculo estriado da uretra (C). **39**

Figura 3 Imagens representativas do aumento do depósito de colágeno no tecido uretral e diminuição de músculo estriado (A) e a co-localização e alteração na proporção de fibras rápidas e lentas (B)..... **41**

Figura 4 Achados morfológicos no músculo reto abdominal de ratas prenhes com diabete moderado e diabete grave. Diminuição de fibras lentas e aumento de fibras rápidas mostradas nas figuras e gráfico…… **42**

Figura 5 (A) Modelo conceitual do papel da integração entre DMG, IUEG e MRA-MAP miopatia como nova tríade na determinação da prevalência de IU e DMAP a longo prazo. (B) Variáveis Preditoras, Moderadoras, Mediadoras e de Desfecho…… **43**

Artigo 1

Figure 1 **(A)** Generation of MHP rats model during pregnancy: STZ subcutaneously injection in the first day of life to induce diabetes and subcutaneous injection of citrate buffer for non-diabetic group; the mating period; confirmation of hyperglycemia during pregnancy and the swimming exercise protocol. **(B)** The sample of muscle and blood obtention and molecular mechanisms underlying the reversal of DiM through the swimming exercise in diabetic pregnant rats: Muscle stem cells analysis as a marker of myogenesis, Mitochondrial biogenesis either in RAM or soleus muscle and quantification of pro-inflammatory markers in both RAM and plasma.……..... **65**

Figure 2 Graphs representing fiber number (A), fast-twitch fiber number (B) and slow twitch fiber number (C). Representative images of the immunohistochemical sections of rat rectus abdominis muscle (RAM), obtained from CellSens Dimension (Olympus Corporation®) Version 1.16 image analysis sofware—(https://www.olympus-lifescience.com/en/sofware/cellsens/). RAM samples were stained with fast-twitch fiber (D-G) and slow-twitch fiber (H-K) in non-diabetic sedentary (NDsed), non-diabetic exercised (NDex), diabetic sedentary (Dsed) and diabetic exercised (Dex) groups. Values are means±S.D (n=5/group. *p<0.05; **p<0.01). Scale bar: 200μm. Magnification: 20x……. **70**

Figure 3 Representative image of swimming exercise reversal of diabetic-induced myopathy, demonstrated by the increased area and diameter of fast and slow-twitch fibers and reduced number of fast and slow-twitch fibers in Dex group. RAM muscle atrophy was also

demonstrated in Dsed group by reduced total muscle area and reduced fiber diameter……. **71**

Figure 4 Graphs representing muscle stem cells number, myonuclei number and myonuclei/muscle stem cells ratio (A-C). Representative images of the immunofluorescence sections of rat rectus abdominis muscle (RAM), obtained from CellSens Dimension (Olympus Corporation®) **72** Version 1.16 image analysis sofware—(https://www.olympus-lifescience.com/en/sofware/cellsens/). RAM samples were stained with DAPI (D, H, L, P), Pax7 (E, I, M, Q), merged (DAPI + Pax7) (F, J, N, R) and merged (DAPI + Pax7) with color inversion (G, K, O, S). Values are means±S.D (n=5/group. *p<0.05). Scale bar: 20μm. Magnification: 40x…….

Figure 5 Representative image of intermyofibrillar mitochondria (white arrows) obtained by Transmission Electon Microscopy. Graphs representing mitochondria number (A) and area (B), and citrate synthase activity (C) in non-diabetic sedentary (NDsed), non-diabetic exercised **73** (NDex), diabetic sedentary (DSed) and diabetic exercised (Dex) groups. Values are expressed as means±S.D. *p<0.05; ****p<0.0001. Scale bar: 2 μm. Magnification: 4800x……..

Figure 6 Graphs representing MuSCs/fiber ratio (A), myonuclei/fiber ratio (B), mitochondria number/fiber ratio (C), mitochondria area/fiber ratio (D) and Pearson's correlation for mitochondria number and fiber area (E) and mitochondria number and fiber diameter (F) in non-diabetic **75** sedentary (NDsed), non-diabetic exercised (NDex), diabetic sedentary (Dsed) and diabetic exercised (Dex) groups. Values are means±S.D (n=5/group. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001; ****p<0.0001)…….

Artigo 2

Figure 1 Experimental sequence of the study……... **91**

Figure 2 (A) Masson's Thrichrome sections of rat urethra, obtained from CellSens Dimension (Olympus Corporation®) Version 1.16 image analysis software of non-diabetic sedentary (NDsed), non-diabetic exercised (NDex), diabetic sedentary (Dsed) and diabetic exercised (Dex). (B) total area, striated muscle area, smooth muscle area, **95** urothelium area and lumen area. Values are means±S.D. *p<0.05. Scale bar: 100μm. Magnification: 4x…….

Figure 3 (A) Immunohistochemichal sections of rat urethra, stained with fast and slow myosin heavy chain and obtained from CellSens Dimension **97** (Olympus Corporation®) Version 1.16 image analysis sofware—(https://www.olympus-lifescience.com/en/sofware/cellsens/) to qualitative and quantitative analysis in non-diabetic sedentary (NDsed), non-diabetic exercised (NDex), diabetic sedentary (Dsed) and diabetic exercised (Dex). Scale bar: 100μm. Magnification: 4x. (B) Fast-twitch area, fast-twitch number, fast-twitch number/total area

ratio and fast-twitch number/striated muscle area ratio. (C) Slow-twitch fiber area, slow-twitch fiber number, slow-twitch number/total area ratio and slow-twitch number/striated muscle area ratio. Values are means±S.D. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001; ****p<0.0001……..

Figure 4 (A) collagen area, collagen in striated muscle, collagen in smooth muscle and collagen area / total area ratio in non-diabetic sedentary (NDsed), non-diabetic exercised (NDex), diabetic sedentary (Dsed) and diabetic exercised (Dex). (B) Immunohistochemical sections of rat urethra, stained with collagen type I, obtained from CellSens Dimension (Olympus Corporation®) Version 1.16 image analysis sofware—(https://www.olympus-lifescience.com/en/sofware/cellsens/) (C) collagen I area and collagen I area/collagen area ratio. Values are means±S.D. *p<0.05; ***p<0.001. Scale bar: 20µm. Magnification: 40x…… **98**

Figure 5 Electron micrographs of urethral striated muscle from non-diabetic sedentary (NDsed) (A and B), non-diabetic exercised (NDex) (C and D), diabetic sedentary (Dsed) (E and F) and diabetic exercised (Dex) (G and H). The micrographs show well organized myofibrills (A, red arrows) forming intact sarcomeres (S), disorganized Z lines (C, D, F and H, red arrows), myelin figures (blue arrows), lipid droplets (pink arrows), sarcomeres disruption (orange arrows), glycogen granules (yellow arrows) and intermyofibrillar and subsarcolemal mitochondria (green arrows). Scale bar: 2µm…….. **99**

Lista de Tabelas

Artigo 1

Table 1	Primers sequence for use in real-time PCR assays…….	**69**
Table 2	Gene expression in the RAM and plasma concentration of pro-inflammatory markers according to groups……	**74**

Lista de abreviações

Português e Inglês

Lista de abreviações em Português

DMG	Diabetes *mellitus* Gestacional
DMAP	Disfunção Muscular do Assoalho Pélvico
IU-EG	Incontinência Urinária Específica da Gestação
IU	Incontinência Urinária
DM	Diabetes *mellitus*
MiDG	Miopatia diabética gestacional
MRA	Músculo reto abdominal
MAP	Músculos do assoalho pélvico
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
IL-6	Interleucina 6
IL-1β	Interleucina 1β
IL-4	Interleucina 4
IL-10	Interleucina 10
FMB	Faculdade de Medicina de Botucatu
UNESP	Universidade Estadual Paulista
LACIFI	Laboratório de Ciências Fisiológicas

Lista de abreviações em Inglês

GDM	Gestational Diabetes Mellitus
DM	Diabetes Mellitus
PFM	Pelvic Floor Muscle
RAM	Rectus Abdominis Muscle
DiM	Diabetic- induced Myopathy
PS-UI	Pregnancy Specific Urinary Incontinence
Long-UI	Long-term Urinary Incontinence
SE	Swimming Exercise
MuSCs	Muscle Stem Cells
MHP	Mild Hyperglycemic Pregnancy
STZ	Streptozotocin
NDsed	Non-Diabetic Sedentary
NDex	Non-Diabetic Exercised
DSed	Diabetic Sedentary
Dex	Diabetic Exercised
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test
H&E	Hematoxylin & Eosin
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
RT	Reverse transcription
qRT-PCR	Quantitative real-time PCR
TNF-α	Tumour Necrosis Factor alpha
IL-6	Interleukin-6
IL-1β	Interleukin-1β
PBS	Phosphate Buffer Saline
BSA	Bovine Serum Albumine Solution
CS	Citrate Synthase

Sumário

Seção 1 **Trajetória acadêmica** **30**
Seção 2 **Contextualização** **34**
Introdução…… **35**
Condições fisiológicas da estrutura muscular esquelética…… **36**
Caracterização da miopatia induzida pelo diabete gestacional em modelos pré-clínicos……..... **39**
Avanços do conhecimento sobre MiDG e IU-EG obtidos pelo DIAMATER - Projeto temático - FAPESP……..... **42**
Prática de exercício na reversão da MiDG..... **44**
Potenciais mecanismos envolvidos na reversão da MiDG……..... **45**
Referências……. **50**

Seção 3 **Artigos** **58**
Artigo 1…… **59**
Abstract…….. **61**
Introduction……. **61**
Material and methods…… **63**
Results……. **69**
Discussion……... **75**
References…….. **80**
Artigo 2……. **87**
Abstract…… **89**
Introduction……. **89**
Material and Methods…… **91**
Results……. **95**
Discussion…… **100**
References…….. **104**

Seção 4 **Perspectivas acadêmicas e científicas** **110**
Seção 5 **Diamater Study Group** **112**
Seção 6 **Anexos** **114**

Seção 1
Trajetória Acadêmica

Tudo começou em 2014, quando ingressei no curso de Fisioterapia na FFC/UNESP Marília. Esta universidade, a qual tenho muito respeito, carinho e gratidão me proporcionou experiências incríveis durante os 4 anos de graduação, especialmente ao conhecer a imensidão da minha profissão e todas as áreas que poderia atuar. Durante o primeiro e segundo anos de faculdade me encantei pela didática da Profa. Patrícia Rossignoli, que conseguiu, com maestria, tornar o entendimento da Bioquímica e da Fisiologia do Exercício uma tarefa muito mais fácil. A sua simplicidade nas explicações e o seu amor pela docência me motivaram a estreitar os laços e desenvolver um projeto de pesquisa com foco na prática de exercício físico.

A Profa. Patrícia prontamente me atendeu e me acolheu, ouvindo minhas ideias e me guiando. A princípio, minha ideia era trabalhar com a prática de exercício físico e diabetes, mas para minha grata surpresa, a Profa. Patrícia me apresentou à Profa. Angélica Pascon, cuja experiência em trabalhos clínicos e pré-clínicos com diabetes gestacional já era vasta nesta época. Com a parceria estabelecida e projeto definido, em 2016 passei a integrar o grupo de pesquisa “Diabetes e Gravidez - clínico e experimental” (Faculdade de Medicina de Botucatu - FMB/UNESP), liderado pela Profa. Marilza Rudge. Foi neste ano que tive meu primeiro contato com a pesquisa básica, envolvendo a experimentação animal. Sem dúvidas, foi um dos maiores desafios da vida científica, mas com o apoio das professoras e o treinamento adequado, as dificuldades foram superadas. A pesquisa desenvolvida ao longo dos anos de graduação deu origem ao Trabalho de Conclusão de Curso, intitulado “Avaliação do efeito da prática de exercício em ambiente aquático sobre o estresse oxidativo em ratas prenhes”, apresentado em dezembro de 2017.

Devo destacar que a Profa. Patrícia Rossignoli e a Profa. Angélica Pascon foram as grandes incentivadoras para que eu escolhesse dar o próximo passo na minha formação: ingressar na pós-graduação. A Profa. Patrícia, com o seu olhar apurado, sempre me alertou em relação ao meu perfil para a carreira acadêmica e científica. A Profa. Angélica, minha grande inspiradora e referência como Fisioterapeuta em Saúde da Mulher, me mostrou que eu poderia unir minhas duas paixões: saúde da mulher e fisiologia do exercício.

Graças a elas e à parceria estabelecida em 2016, fui apresentada à Profa. Marilza Rudge, da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP), onde dei início

o Mestrado em Tocoginecologia no ano de 2018, no qual desenvolvi atividade de pesquisa pré-clínica junto ao Laboratório de Ciências Fisiológicas da FFC/UNESP campus de Marília e Laboratório de Matriz Extracelular (IBB/UNESP campus Botucatu), com foco em elucidar o papel do exercício aquático na morfologia dos músculos reto abdominal e estriado uretral de ratas prenhes diabéticas, sendo contemplada com bolsa de Mestrado FAPESP (Proc. nº 2018/03361-8). Os resultados obtidos neste trabalho foram publicados no periódico Scientific Reports (Qualis A2 na área Medicina III e Fator de Impacto 4.997) (Anexo 3). Além das atividades de pesquisa, ao longo dos 2 anos de Mestrado participei de atividades de docência (Estágio Supervisionado de Docência e Programa de Aperfeiçoamento à Docência no Ensino Superior - PAADES nas disciplinas de Fisiologia do Exercício e Bioquímica), sob supervisão da Profa. Patrícia Rossignoli; participei de congressos e eventos online, cursei disciplinas oferecidas pelo programa de pós-graduação, atuei como colaboradora em diversos projetos de pesquisa desenvolvidos no laboratório e coautora de artigos publicados em periódicos junto ao Diamater Study Group.

Com a vontade de continuar contribuindo para o avanço do conhecimento na área da Saúde da Mulher, defendi a Dissertação de Mestrado em fevereiro de 2020, com a matrícula efetivada no Doutorado em Tocoginecologia pela FMB/UNESP. Contudo, logo após o início do Doutorado, fomos atingidos pela pandemia de COVID-19, que resultou no fechamento das universidades e dos laboratórios por um período maior do que imaginávamos, limitando nossa atuação, especialmente na coleta de dados. Tal acontecimento desafiou nossa capacidade de adaptação, mas conseguimos superar e dar andamento à nossa proposta.

Ao longo dos 4 anos de Doutorado continuei desenvolvendo atividades de pesquisa pré-clínica junto ao Laboratório de Ciências Fisiológicas da FFC/UNESP campus de Marília e Laboratório de Matriz Extracelular (IBB/UNESP campus Botucatu), relacionadas ao meu projeto, mas também colaborando com outros trabalhos em andamento, cujos resultados vêm originando publicações junto ao Diamater Study Group (Anexos 1-10).

Além das atividades de pesquisa, tenho muito orgulho em destacar que o período de Doutorado foi marcado por uma das melhores experiências que pude ter: atuar como docente no ensino superior. Em março de 2021 iniciei minha trajetória como docente na Faculdade de Ensino Superior do Interior Paulista (FAIP - Marília,

SP) e, desde então, tive a oportunidade de ministrar diversas disciplinas, como Anatomia Humana, Eletrotermoterapia, Bioquímica e Biofísica, Fisiologia Humana, Avaliação cinético-funcional e, no ano de 2023, Fisioterapia em Urologia, Ginecologia e Obstetrícia, que é o foco de toda a minha formação, finalizando meu ciclo nesta faculdade. A partir de fevereiro de 2023, também me tornei docente das disciplinas Fisioterapia Aplicada às Disfunções Ginecológicas, Obstétricas e Urológicas I e II, na Faculdades Integradas de Bauru (FIB). Além de ter a experiência como docente nas disciplinas mencionadas, continuei realizando as atividades de estágio de docência na UNESP entre os anos de 2020 a 2023 no programa PAADES, na disciplina de Fisiologia do Exercício (Anexo 11), sob supervisão da Profa. Patrícia Rossignoli (que continua me encantando e inspirando com a sua didática impecável); no Estágio Supervisionado em Saúde da Mulher (Anexo 12) e na disciplina de Fisioterapia em Uroginecologia e Obstetrícia, ambas supervisionadas pela Profa. Angélica Pascon, que me proporcionou experiências únicas e enriquecedoras, especialmente na aplicação do conhecimento teórico à prática clínica baseada em evidências, e segue contribuindo, todos os dias, para o meu crescimento como fisioterapeuta, docente, pesquisadora e mulher.

Finalmente, ao longo dos 4 anos de Doutorado, também pude ter a experiência de avaliar trabalhos científicos de alunos de diversos cursos de graduação da UNESP, participando como avaliadora no Congresso de Iniciação Científica (CIC/UNESP) (Anexo 13), além de fazer parte da banca examinadora de mais de 20 trabalhos de conclusão de curso e de residência em diversas instituições, como UNESP, FAIP, FIB e FAMEMA (Anexos 14-21). Posso afirmar, sem dúvidas, que os últimos 4 anos foram fundamentais para uma formação acadêmica completa, vivenciando a pesquisa e a docência em toda a sua essência, sentindo os sabores de se fazer o que ama, enfrentando as dificuldades, gerenciando os problemas que surgiram e, acima de tudo, desenvolvendo um trabalho com ética, respeito, responsabilidade e comprometimento.

Seção 2
Contextualização

Avanços do conhecimento sobre miopatia diabética gestacional, incontinência urinária específica da gestação e papel do exercício como recurso terapêutico não-farmacológico: clínico e pré-clínico

Introdução

De acordo com a American Diabetes Association (ADA), a classificação do diabetes *mellitus* (DM) compreende o Diabetes tipo 1, Diabetes tipo 2, Diabetes *mellitus* gestacional (DMG) e outros tipos de diabetes (1).

O DM tipo 1 é caracterizado pela destruição das células-β pancreáticas, sendo desordem de origem autoimune que resulta na deficiência absoluta de insulina. A ausência de secreção de insulina leva ao estado de hiperglicemia, necessitando o uso de insulina para controle da doença. O diagnóstico do DM tipo 1 é mais comum em crianças, mas não descarta-se o desenvolvimento em indivíduos adultos (1).

O DM tipo 2 é o mais comum entre a população, correspondendo a 90-95% dos casos de diabetes. A hiperglicemia desenvolve-se gradualmente, devido a deficiência relativa de insulina e resistência periférica à insulina, cuja origem está relacionada a fatores como obesidade e sedentarismo, e comorbidades como hipertensão e dislipidemia (1). Portanto, é o tipo de diabetes que, a princípio, não requer uso de insulina para controle da hiperglicemia, mas sim de medicamentos anti-hiperglicemiantes e secretagogos.

Já o diabetes mellitus gestacional (DMG) é definido como qualquer grau de intolerância à glicose, diagnosticada pela primeira vez durante a gestação, sem qualquer diagnóstico de diabetes tipo 1 ou tipo 2 prévio à gestação (1) e está relacionado a diversas complicações materno-fetais, como risco aumentado de hipoglicemia neonatal, macrossomia fetal, aborto espontâneo e pré-eclâmpsia (2). O DMG é, geralmente, um indicativo de disfunção de células-β pancreáticas, o que predispõe a mãe a desenvolver diabetes, especialmente do tipo 2, após o parto (2).

Outros tipos específicos de diabetes podem ser desenvolvidos por outras causas, como defeitos genéticos na ação da insulina, induzidos por uso de medicamentos, doenças do pâncreas exócrino, secundárias a infecções e síndromes genéticas (1).

Condições fisiológicas da estrutura muscular esquelética

Para o entendimento da miopatia diabética gestacional, a compreensão da estrutura muscular em condições fisiológicas é fundamental.

O músculo esquelético é composto por vários tipos de tecido, como as células musculares, tecido nervoso, sangue e tecido conjuntivo que reveste o músculo. Externamente, os músculos são revestidos por uma camada de tecido conjuntivo denominada epimísio, enquanto os feixes individuais de fibras musculares são revestidos pelo perimísio, e cada fibra muscular é revestida pelo endomísio e, logo abaixo, pela membrana basal (3,4).

Cada fibra muscular individual consiste em um cilindro estreito e alongado que se estende por todo o comprimento do músculo. Diferentemente de outras células do organismo, as células musculares são multinucleadas e com aparência estriada. Abaixo da lâmina basal existe um grupo de células precursoras musculares chamadas células-satélite, que exercem papel central na regeneração e reparo muscular. No citoplasma da célula muscular estão localizadas as proteínas contráteis, as organelas celulares e as miofibrilas (3,4).

As miofibrilas são estruturas numerosas e filamentosas que compõem as fibras musculares, onde estão localizadas as proteínas contráteis do músculo, actina e miosina, que conferem a aparência estriada do músculo esquelético. As miofibrilas são subdivididas em sarcômeros, separados entre si pelas linhas Z. Os sarcômeros são compostos por uma faixa escura, denominada banda A, determinada pela presença dos filamentos de miosina, e por uma faixa clara, denominada banda I, determinada pela presença dos filamentos de actina. No centro do sarcômero é encontrada parte do filamento de miosina que não se sobrepõe ao filamento de actina, chamada de zona H (3-5) (Figura 1).

As numerosas miofibrilas são conectadas entre si por meio de canais membranosos, conhecidos como retículo sarcoplasmático, cuja função é o armazenamento de cálcio que será liberado para a contração muscular. Estendendo-se do sarcolema, passando pelo retículo sarcoplasmático e atravessando toda a fibra muscular encontram-se os túbulos transversos, cuja função é facilitar a propagação do potencial de ação e a abertura dos canais de cálcio, atuando diretamente em todo o processo que antecede a contração. muscular (3,4).

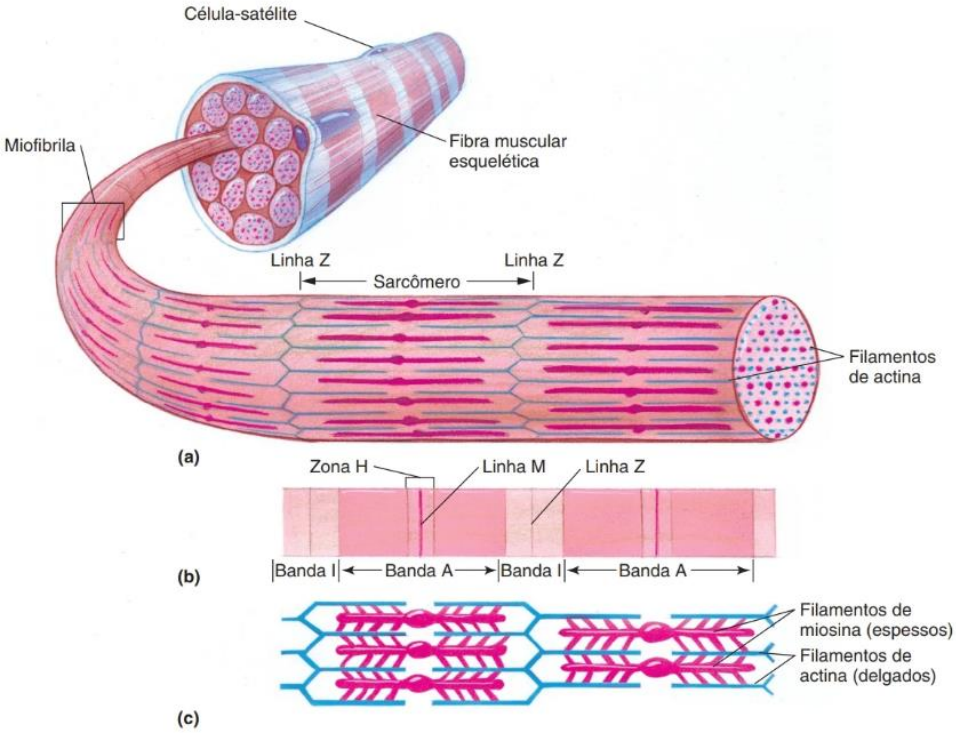


Figura 1: estrutura e organização do músculo esquelético. Fonte: Powers, 2017 (3).

As fibras musculares diferenciam-se pelas suas propriedades histológicas e bioquímicas. Portanto, podem ser divididas em duas categorias gerais: fibras lentas, de tipo I, e fibras rápidas, de tipo II.

As fibras musculares de tipo I têm características oxidativas, com amplo volume mitocondrial e circundadas por mais capilares comparadas às fibras tipo II. Estas características conferem às fibras de contração lenta alta capacidade de metabolismo aeróbio e alta resistência à fadiga. Em contrapartida, a produção de força e potência máximas geradas pelas fibras tipo I é menor comparada às fibras tipo II (3,4).

As fibras do tipo II são subdivididas em IIa e IIx. As fibras de tipo IIx têm alta capacidade glicolítica, com menor número de mitocôndrias e, portanto, menor capacidade aeróbica e menor resistência à fadiga. Entretanto, a alta quantidade de enzimas glicolíticas conferem alta capacidade anaeróbia. Diante de tais características, as fibras do tipo IIx são as que mais geram força e potência entre todos os tipos de fibras musculares. As fibras do tipo IIa são conhecidas como fibras intermediárias, e contêm características bioquímicas e de fadiga intermediárias entre as características das fibras de tipo IIx e I. Por esse motivo, teoricamente, as fibras de

tipo IIa podem ser vistas como fibras que exibem uma mistura de características das fibras de tipos I e IIx (3,4).

Anatomia e função do músculo reto abdominal

Anatomicamente, o músculo reto do abdome (MRA) localiza-se em toda a extensão da parede anterior do abdome, originando-se na superfície das costelas V-VII e no processo xifoide do esterno, e inserindo-se na sínfise púbica (6). O MRA é composto por fibras musculares de diferentes tamanhos, com mionúcleos localizados na periferia das fibras, e apresenta maior proporção de fibras rápidas em sua composição, sendo considerado músculo com característica glicolítica (7). Cada fibra muscular é envolta por colágeno, principalmente colágeno tipo I e III enquanto pequeno grupo de fibras é envolvido por uma fina camada de tecido conectivo (7,8).

Com ação de flexão da coluna vertebral e compressão do abdomen para auxílio na defecação, na expiração forçada e na micção (6), o MRA desempenha ação sinérgica com os músculos do assoalho pélvico no mecanismo da continência urinária (9,10).

Estrutura e composição da uretra

Diferentemente do MRA, a uretra é composta por diferentes tecidos. Internamente, a uretra é formada pelo lúmen, que apresenta luz irregular e parcialmente colabada formada por epitélio estratificado pavimentoso e lâmina própria. Envolvendo a lâmina própria encontram-se duas camadas de músculo liso dispostas de forma longitudinal e circular, caracterizando a camada intermediária da uretra. Externamente, uma camada de fibras musculares estriadas, orientada circularmente, circunscreve a uretra ao longo de toda sua extensão (11) (Figura 2).

Em relação às fibras do músculo estriado uretral, sua composição é, predominantemente, de fibras rápidas (tipo II), localizadas em uma camada externa espessa, em toda a circunferência. Já as fibras lentas (tipo I) estão localizadas em fina camada interna, com fibras individuais e pequenas Adicionalmente, fibras de colágeno tipo I e tipo III estão localizadas entre as fibras musculares estriadas e lisas (11).

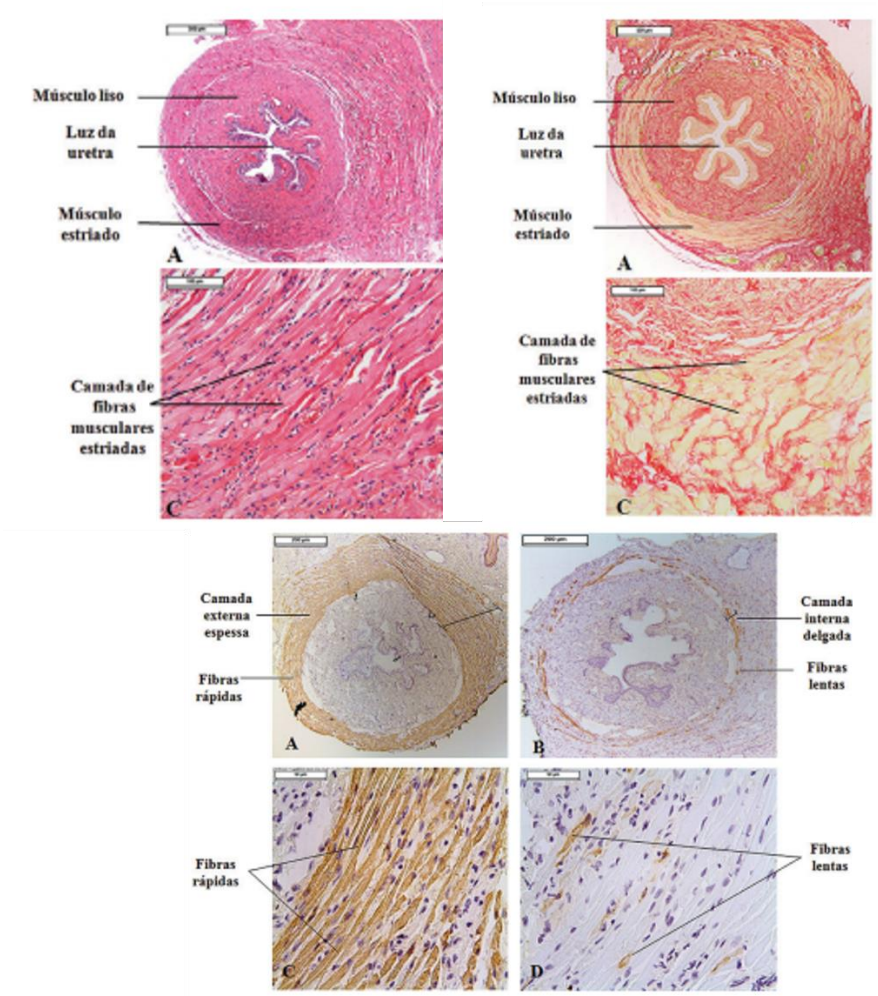


Figura 2: Estrutura e composição da uretra (A); Marcação de fibras de colágeno tipo I e tipo III na uretra (B); Marcação de fibras rápidas e lentas no músculo estriado da uretra (C). Fonte: Piculo et al., 2014 (11).

Caracterização da miopatia induzida pelo diabete gestacional em modelos pré-clínicos

O grupo de pesquisa “Diabetes e Gravidez: Clínico e Experimental” investiga, desde 2006, a relação entre o DMG, disfunções musculares do assoalho pélvico (DMAP) e Incontinência Urinária Específica da Gestação (IU-EG). Sabe-se que o DMG está associado a diversas complicações materno-fetais (2), incluindo a incontinência urinária (IU) que ocorre pela primeira vez durante a gestação, definida como IU-EG (12,13).

Está evidenciado que a gestação é fator de risco independente para a ocorrência da IU, ou seja, há maior ocorrência de IU-EG, com chances aumentadas de recidiva dos episódios de IU em gestações subsequentes (12). Ao associar a gestação ao quadro de DMG, o estudo de Barbosa et al., 2011 mostrou aumento da

incidência de IU-EG e até 2 anos pós-parto cesárea em mulheres com DMG. Para se ter dimensão dos efeitos do diabetes na taxa de incidência de IU, 50.8% das mulheres diagnosticadas com DMG reportaram IU-EG e, destas, 44.4% reportaram IU 2 anos pós-parto, confirmando que existe relação entre DMG, IU, IU-EG e DMAP (13).

Está clara na literatura a relação entre DM tipo 1 e tipo 2 e alteração na estrutura, função e saúde muscular, condição denominada miopatia diabética (14,15). Em ambos os tipos de diabetes, a diminuição do tamanho e quantidade de miofibrilas, do conteúdo de glicogênio, do tamanho e número de mitocôndrias e diminuição da população de células satélite são as principais alterações encontradas no músculo esquelético (14,15), que resultam em mudanças no metabolismo muscular, ou seja, o músculo se torna metabolicamente inflexível e não consegue transitar facilmente entre a oxidação de gorduras e carboidratos na geração de energia em resposta à insulina, além de apresentar dificuldades no início do reparo e regeneração tecidual (15). Consequentemente, as alterações estruturais e metabólicas levam ao comprometimento da função muscular, incluindo a diminuição da força e da resistência à fadiga, comumente encontradas em pacientes diabéticos (14,15). Contudo, as evidências a respeito da fisiopatologia do DMG na miopatia induzida pelo diabete gestacional (MiDG) ainda são pouco conhecidas.

Diante dos resultados clínicos de Barbosa et al., 2011 (13) e do pouco conhecimento a respeito da fisiopatologia do DMG na MiDG, especialmente em músculos envolvidos na continência urinária, nosso grupo de pesquisa iniciou a etapa de investigação translacional "*bench to bedside*", que envolveu a realização de estudos pré-clínicos, com o objetivo de identificar alterações estruturais em músculos envolvidos na continência urinária, contribuindo para o avanço do conhecimento a respeito da fisiopatologia do DMG na MiDG e sua relação com a IU-EG. A investigação translacional foi iniciada em ratas prenhes com diabetes de intensidade grave (16) e moderada (17), comprovando que o diabetes e a prenhez alteram o músculo estriado esquelético e a matriz extracelular uretral.

Em relação ao diabetes grave (glicemia >300 mg/dL), o estudo do músculo estriado uretral evidenciou adelgaçamento, atrofia, desorganização e rompimento de fibras, associado à perda da localização anatômica normal das fibras rápidas e lentas e diminuição na proporção de fibras rápidas (Figura 3B) (16,18).

Alterações semelhantes foram encontradas no estudo de Piculo et al., 2014

(17), no qual o músculo estriado uretral foi estudado em condições de diabete moderado (glicemia entre 120-300 mg/dL), evidenciando o adelgaçamento, atrofia, desorganização das fibras musculares, perda da localização anatômica normal dos tipos de fibras com co-localização, ou seja, fibras se distribuem desordenadamente entre si, e diminuição na proporção de fibras rápidas em relação às fibras lentas, com aumento da deposição de colágeno na área de músculo estriado e aumento no número de vasos sanguíneos (Figura 3).

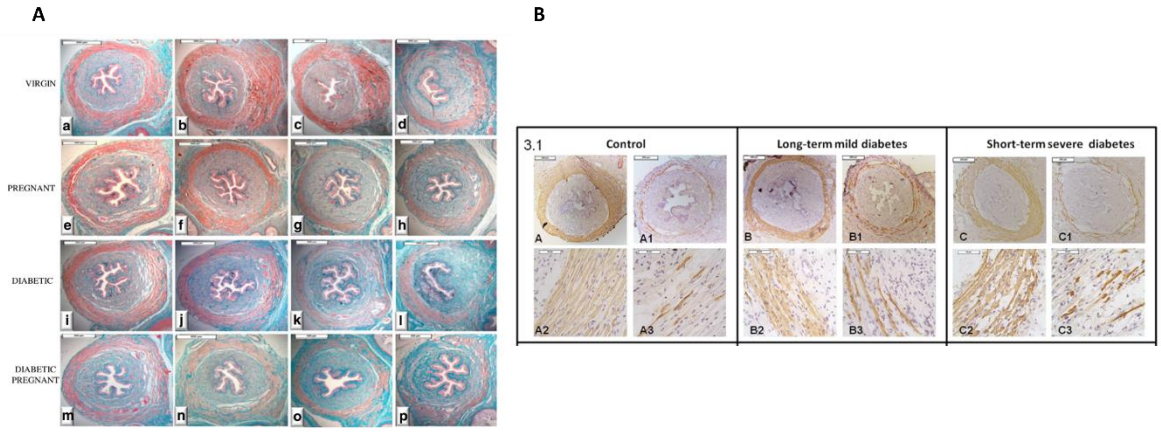


Figura 3: imagens representativas do aumento do depósito de colágeno no tecido uretral e diminuição de músculo estriado (A) e a co-localização e alteração na proporção de fibras rápidas e lentas (B). Fonte: Piculo et al., 2014; Marini et al., 2017 (16,17).

A análise profunda e ampliada das alterações da matriz extracelular decorrentes da hiperglicemia, Marini et al., 2018 (19) demonstrou alteração na organização e distribuição de colágeno, que se apresentou em maior quantidade na área de músculo estriado, além do aumento da razão de colágeno tipo I/III e diminuição dos níveis de glicosaminoglicanas totais. Tais alterações sugerem que a atrofia muscular associada ao aumento de depósito de colágeno pode estar relacionada a um tecido mais rígido, alterando as propriedades biomecânicas da uretra, prejudicando o fechamento uretral e, consequentemente, a continência urinária (19,20), contribuindo, pelo menos em partes, para o entendimento do aumento da taxa de incidência de IU-EG diagnosticadas com DMG.

Os achados morfológicos na uretra foram o estímulo para a continuidade nas investigações, desta vez em outro músculo envolvido no mecanismo de continência urinária, o MRA, ainda em modelos pré-clínicos.

Vesentini et al., 2018 (7) demonstrou que também ocorrem alterações morfológicas no MRA de ratas prenhes. Em condições de diabetes grave foi

evidenciado aumento do número de fibras lentas e rápidas, enquanto no modelo de diabetes moderado foi detectado aumento do número de fibras lentas e diminuição do número de fibras rápidas (Figura 4). Ao contrário do que foi evidenciado no músculo estriado uretral, o MRA não apresentou diferença relacionada à área de colágeno, mas a própria adaptação da estrutura muscular observada frente à hiperglicemia pode contribuir para a MiDG.

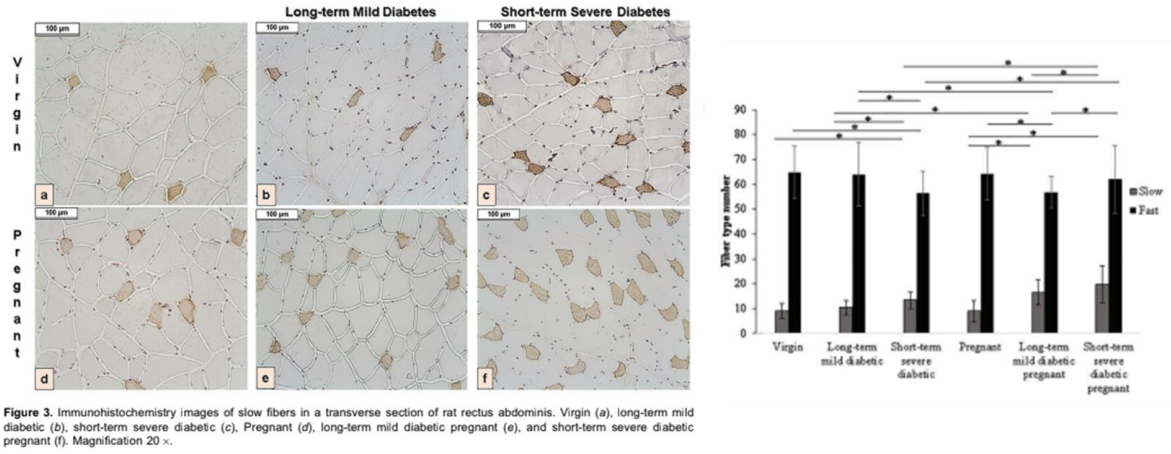


Figure 3. Immunohistochemistry images of slow fibers in a transverse section of rat rectus abdominis. Virgin (*a*), long-term mild diabetic (*b*), short-term severe diabetic (*c*), Pregnant (*d*), long-term mild diabetic pregnant (*e*), and short-term severe diabetic pregnant (*f*). Magnification 20 ×.

Figura 4: Achados morfológicos no músculo reto abdominal de ratas prenhes com diabete moderado e diabete grave. Diminuição de fibras lentas e aumento de fibras rápidas mostradas nas figuras e gráfico. Fonte: Vesentini et al., 2018 (7).

<u>Avanços do conhecimento sobre MiDG e IU-EG obtidos pelo DIAMATER - Projeto temático - FAPESP</u>

Os achados pré-clínicos foram fundamentais para a consolidação do DIAMATER - Projeto Temático FAPESP (2016/01743-5), que teve como um dos principais objetivos caracterizar o perfil biomolecular da MiDG dos músculos do assoalho pélvico (MAP) e do MRA de gestantes com DMG e IU-EG, comparando com gestantes não DMG ou IU-EG (21) (Figura 5). O modelo conceitual, estabelecido da integração entre DMG, IUEG e MiDG tem a funcionalidade dos MAP e MRA como variáveis moderadoras que têm sido investigadas, buscando a consolidação da tríade DMG-IUEG-MiDG e sua potencial associação com a IU pós-parto (Figura 5).

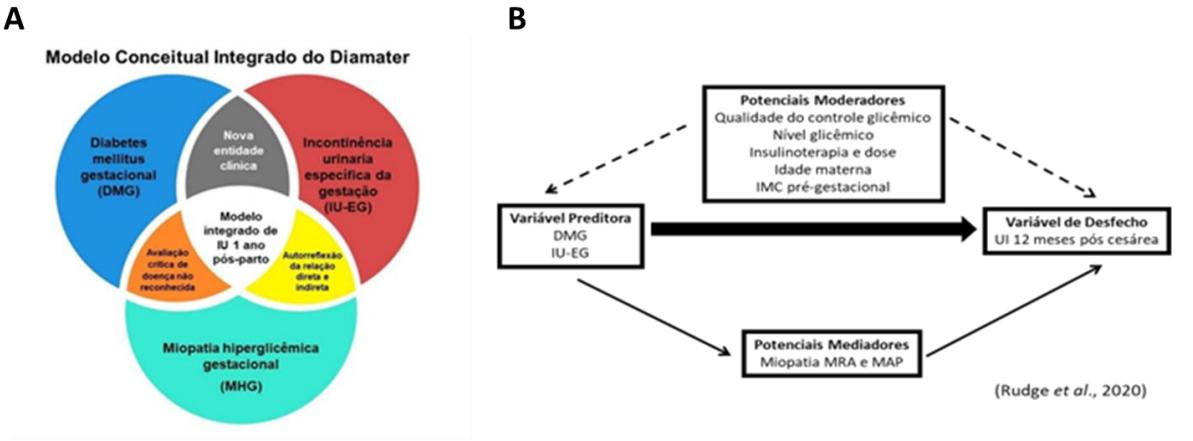


Figura 5: (A) Modelo conceitual do papel da integração entre DMG, IUEG e MRA-MAP miopatia como nova tríade na determinação da prevalência de IU e DMAP a longo prazo. (B) Variáveis Preditoras, Moderadoras, Mediadoras e de Desfecho. Rudge et al., 2020 (21).

É necessário destacar os principais achados clínicos do DIAMATER. Em relação às alterações estruturais do MRA de gestantes com DMG e IU-EG, a MiDG foi confirmada no estudo de Vesentini et al., 2020 (8), evidenciando importantes alterações morfológicas, como diminuição do número e da área de fibras rápidas, aumento do número e da expressão de fibras lentas, contudo diminuição da área deste tipo de fibra, e diminuição da área de colágeno. Tais alterações são semelhantes às alterações morfológicas encontradas em modelo pré-clínico (7,22) e podem contribuir para o desenvolvimento da IU-EG em gestantes com DMG.

Outros achados importantes foram as alterações na adaptação fisiológica dos MAP de gestantes com DMG no período entre 24-28 semanas e 34-48 semanas gestacional, observadas por meio da ultrassonografia tridimensional (3D) (23), adicionalmente às alterações funcionais evidenciadas, como diminuição da atividade de repouso dos MAP e em contrações sustentadas, tanto durante a gestação quanto 18-24 meses pós-parto (24,25), diminuição da contratilidade, distensibilidade e mobilidade dos MAP de gestantes com DMG (26), representando prejuízo da função dos MAP ao longo da gestação. As alterações estruturais e funcionais vêm acompanhadas de alterações moleculares, como diminuição da expressão de genes relacionados à estrutura/integridade muscular, síntese de proteínas e capacidade de regeneração muscular diante de danos, e alteração na manutenção e geração de energia pela glicose (27). Os achados morfológicos, moleculares, funcionais e ômicos evidenciados em gestantes com DMG, assim como em ratas prenhes diabéticas caracterizam a MiDG.

Neste sentido, a diminuição da atividade dos MAP, assim como a diminuição da expressão de genes importantes para manutenção da estrutura, função e saúde muscular em gestantes diagnosticadas com DMG, podem predispor ao desenvolvimento de DMAP e, consequentemente, ao desenvolvimento de IU-EG e IU pós-parto, sendo consistente com os achados clínicos de Barbosa et al., 2011 (13), no qual gestantes com DMG tiveram maior incidência de IU e DMAP 2 anos pós-parto.

Prática de exercício na reversão da MiDG

Diante dos resultados clínicos e pré-clínicos que têm sido evidenciados pelo grupo de pesquisa, ao longo de quase 20 anos de estudos, tornou-se fundamental a busca por recursos terapêuticos com potencial para prevenir ou reparar os danos ao MRA e MAP, causados pela MiDG. Neste sentido, é imprescindível o destaque à prática de exercícios físicos durante a gestação/prenhez, que passou a ser uma das vertentes de estudo do nosso grupo de pesquisa.

A literatura evidencia a importância da prática de exercício físico, independentemente do tipo de diabetes, para a melhora do controle glicêmico, da captação de glicose pelo músculo esquelético, da melhora da sensibilidade à insulina e do ganho de massa muscular, prevenindo os efeitos deletérios do diabetes na musculatura (28-30). Tanto o treino aeróbico quanto o resistido, realizados separadamente ou combinados, apresentam efeitos positivos no músculo esquelético, como ganho de força, resistência, aumento da quantidade e funcionalidade de mitocôndrias, diminuição do estresse oxidativo e prevenção de lesão celular, melhora da capacidade aeróbica e, consequentemente, melhora da qualidade de vida de indivíduos acometidos com diabetes tipo 1 e tipo 2 (28,30). Efeitos semelhantes também foram evidenciados em modelo animal, no qual ratos com diabetes tipo 2 apresentaram melhora nos níveis glicêmicos, diminuição de peso, diminuição dos níveis de substâncias pró-oxidantes e pró-inflamatórias, além de aumento do tamanho de fibras rápidas e lentas, indicando ganho de massa muscular (31).

Analisando os efeitos da prática de exercício, especificamente durante a gestação, é bem estabelecido o seu potencial para prevenir e tratar o DMG, visto que a prática regular de exercício físico promove o controle glicêmico por meio do aumento da sensibilidade à insulina, aumentando a captação de glicose pelo músculo esquelético (32-35).

Diferente do que se pensava até poucos anos atrás, exercícios aeróbicos podem ser praticados de maneira segura por gestantes com ou sem DMG (35,36), sendo exercícios em solo e aquático altamente recomendados (37,38). Tendo em vista que exercícios de alto impacto, com risco de cair e com riscos de traumas abdominais devem ser evitados, o exercício aquático se torna ideal para a gestante, além de se mostrar mais eficaz na prevenção do DMG e no controle glicêmico (36,38). Os principais *guidelines* recomendam que gestantes, diabéticas ou não, se exercitem, por no mínimo, 30 minutos, todos os dias da semana ou na maioria deles, atingindo, pelo menos, 150 minutos por semana de exercício físico de intensidade moderada (33-35,37).

Fato é que os efeitos do exercício na MiDG são pouco explorados, especialmente em relação às alterações já evidenciadas no MRA e no músculo estriado uretral. Somos pioneiro ao evidenciar a reversão da miopatia do MRA de ratas prenhes com diabete moderado, por meio da prática de exercício aquático durante a prenhez (39).

O MRA de ratas prenhes com diabetes moderado submetidas ao exercício aquático apresentou aumento da área total de músculo, da área e diâmetro de fibras rápidas e lentas, além de diminuição da deposição de colágeno tipo I e da razão colágeno I/III, evidenciando que a prática de exercício durante os 21 dias de prenhez reverteu as alterações morfológicas no MRA, tornando-o semelhante ao MRA de ratas não diabéticas (39). Tais achados demonstram, pela primeira vez, a importância da prática de exercício na reversão da MiDG .

Potenciais mecanismos envolvidos na reversão da MiDG

A partir dos resultados evidenciados por Catinelli et al., 2022 (39), fundamentou-se a proposta do presente estudo, cujo objetivo é compreender quais foram os mecanismos acionados na reversão da miopatia diabética do MRA pela prática de exercício aquático durante a prenhez. O presente estudo também apresenta o efeito do exercício aquático na estrutura da uretra de ratas prenhes com diabetes moderado, com o foco principal no músculo estriado uretral.

Para o entendimento dos mecanismos acionados na reversão da miopatia diabética do MRA pelo exercício aquático, é imprescindível destacar e explorar os mecanismos envolvidos na instalação da miopatia diabética. O estado inflamatório

crônico, caracterizado pelo aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, é comum em pacientes com qualquer tipo de diabetes (15). Níveis aumentados de TNF-α e IL-6 parecem estar envolvidos no desenvolvimento da resistência à insulina no músculo esquelético. Em conjunto com a secreção aumentada desses marcadores, independentemente da resistência à insulina no músculo esquelético, pode haver ativação de vias de sinalização de degradação de proteínas, ao mesmo tempo que ocorre prejuízo da síntese de proteínas, resultando em atrofia muscular (40,41).

Em mulheres com DMG existe aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias, influenciado, em grande parte, pelos hábitos de vida adotados pela gestante, como alimentação desequilibrada e sedentarismo, que interferem no controle glicêmico. Além do prejuízo na saúde e função do músculo esquelético decorrente do estado inflamatório, a literatura evidencia que o aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias pode ter potencial para alterar a regulação central e periférica da micção, alterando diretamente a atividade do músculo detrusor, contribuindo para a ocorrência de IU-EG (42).

O estado de inflamação crônica desencadeado pelo diabetes também pode influenciar na diminuição do número e função das células satélite, estruturas definidas como células-tronco adultas específicas e abundantes no tecido muscular, que desempenham importante função na manutenção, crescimento, reparo e regeneração do músculo esquelético. Estas estruturas são anatomicamente caracterizadas por sua localização periférica, entre a lâmina basal e a membrana que separa as fibras musculares (43).

No músculo esquelético adulto e saudável, as células-satélite encontram-se em estado quiescente, ou seja, permanecem metabolicamente ativas, mas não se encontram em divisão. Há de se considerar que em resposta aos danos musculares ou ao exercício físico, as células-satélite são ativadas e podem iniciar o processo de proliferação, se renovando e diferenciando em novas fibras musculares maduras (43).

Em condições patológicas, como o diabetes tipo 1 e tipo 2, há mudanças no comportamento das células-satélite, como diminuição da capacidade proliferativa, impactando negativamente na regeneração muscular e, cronicamente, prejudicando a saúde e a função muscular (15,43). As células-satélite do músculo esquelético de pacientes diabéticos parecem, também, colaborar com a redução da capacidade de oxidação dos lipídeos, no aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias,

prejuízo no transporte de glicose e resistência à insulina (15).

Embora esteja claro o prejuízo da função das células satélite no diabetes, os mecanismos que levam a tal alteração ainda não estão totalmente elucidados. O estresse oxidativo e os fatores inflamatórios são os principais mecanismos envolvidos, revelando que o acúmulo de espécies reativas de oxigênio e a secreção aumentada de citocinas pró-inflamatórias contribuem para o prejuízo na função das células satélite, especificamente no processo de proliferação e diferenciação em fibras musculares maduras (43).

A alteração no metabolismo muscular também parece estar envolvida na instalação da miopatia diabética, considerando que alterações morfológicas estão relacionadas a alterações bioenergéticas no músculo esquelético. A estrutura, função e atividade oxidativa mitocondrial participam ativamente deste processo (44).

A literatura revela que o músculo esquelético de pacientes com DM tipo 1 apresenta capacidade oxidativa diminuída, mesmo sem alterações no número, tamanho e densidade de mitocôndrias, contribuindo para o estabelecimento de alterações morfológicas no músculo esquelético, visto que a desregulação metabólica representa uma das primeiras alterações musculares decorrentes da hiperglicemia intracelular (44). Além disso, a diminuição crônica da capacidade oxidativa mitocondrial pode resultar em aumento do influxo da enzima lactato desidrogenase, o que possivelmente estaria relacionado ao aumento da liberação de citocinas pró-inflamatórias (14).

Alterações mitocondriais também foram evidenciadas em indivíduos com DM tipo 2, caracterizadas por diminuição do número de mitocôndrias intermiofibrilares, tamanho e atividade mitocondrial (15,45).

A literatura também evidencia alterações específicas do DMG nos marcadores mitocondriais no MRA de gestantes. Boyle et al., 2014 (46) mostrou diminuição da expressão de proteínas relacionadas à função e biogênese mitocondrial, bem como diminuição na atividade de enzimas específicas envolvidas nas etapas da fosforilação oxidativa, sugerindo que há alteração na capacidade oxidativa do músculo esquelético decorrente do DMG. Tal alteração pode ser fator determinante para a excessiva intolerância à glicose na gestação (46). Vale ressaltar que não há estudos clínicos e pré-clínicos que utilizam medidas diretas a respeito da quantidade e do tamanho mitocondrial no MRA em condições de DMG, tornando fundamental esta investigação.

Fica evidente que os mecanismos explorados na presente revisão podem contribuir diretamente para a instalação da MiDG no MRA e MAP. O diabetes tem papel determinante no aparecimento de alterações específicas no ambiente muscular, como a alteração na estrutura, função e atividade mitocondrial, o estabelecimento do estado inflamatório crônico e a diminuição da população de células-satélite. A comunicação entre os mecanismos citados resulta em alterações morfológicas previamente conhecidas no músculo esquelético, como atrofia muscular, alteração na proporção dos tipos de fibras, aumento do depósito de colágeno e, consequentemente, alterações na função muscular. Até o momento não há evidências sobre a atuação destes mecanismos especificamente na MiDG no MRA.

Considerando os benefícios da prática de exercício físico durante a gestação (25-31) e seu papel na reversão da miopatia diabética evidenciados, até o momento, por meio de análises morfológicas (39), é imprescindível o entendimento do potencial de atuação do exercício sobre os mecanismos destacados.

Os exercício aeróbico e resistido, ferramentas não farmacológicas muito importantes no tratamento do diabetes, exercem efeitos significativos na redução do estado inflamatório sistêmico e no músculo esquelético DM tipo 2, reduzindo os níveis de citocinas pró-inflamatórias, como TNF-α, IL-6 e IL-1β, e elevando os níveis de marcadores antinflamatórios, como a IL-4 e IL-10 (33,40,41), inibindo as vias de degradação muscular e ativando vias relacionadas à síntese de proteínas, contribuindo para o ganho muscular (40). Adicionalmente, o exercício atua como protetor do quadro de resistência à insulina mediado pelo TNF-alfa (47).

Os efeitos benéficos da prática de exercício na atenuação do estado inflamatório crônico se estendem também para indivíduos com DM tipo 1, contudo mesmo após 12 semanas de treinamento combinado (exercício aeróbico e resistido) o músculo esquelético ainda apresentou alterações nos marcadores de função mitocondrial, de estado pró-inflamatório e nos marcadores de crescimento/atrofia muscular, mostrando que a capacidade de adaptação muscular ao exercício é reduzida em indivíduos com DM tipo 1 (48).

Embora os benefícios da prática de exercício serem consistentes a respeito da diminuição do estado inflamatório no músculo de pacientes diabéticos, não há evidências sobre o impacto da prática de exercício nos marcadores inflamatórios em qualquer músculo esquelético de gestantes com DMG e sobre o impacto da prática

de exercício aquático durante a prenhez nos marcadores inflamatórios no MRA de ratas com diabete moderado.

O exercício também tem potencial para modular as alterações no número e ativação das células satélite. A literatura aponta que a prática de exercício físico, aguda ou crônica, eleva o número de células satélite no músculo esquelético humano e em modelos animais (49). Em adultos sedentários foi evidenciado o aumento do número de células satélite em fibras tipo I, acompanhado por aumento do número de núcleos e hipertrofia deste tipo de fibra após a prática de exercício aeróbico (50). A prática de exercício resistido apresentou efeitos semelhantes à prática de exercício aeróbico, aumentando o número de células satélite em fibras tipo I (51) e tipo II (52), demonstrando forte relação entre o número de células satélite e o aumento da área de secção transversa de fibras tipo II (51).

Em condições patológicas, como DM tipo 1 e tipo 2, no qual há prejuízo no número e função de células satélite, as evidências são limitadas e pouco foi elucidado sobre o papel do exercício físico nesta estrutura fundamental para a regeneração muscular. A literatura aponta que a prática de exercício aumenta o número de células satélite (53) e a expressão de marcadores que indicam ativação das células satélite no músculo esquelético de ratos diabéticos, revertendo a disfunção induzida pelo diabetes (49,53,54). É válido ressaltar que não há estudos a respeito do impacto da prática de exercício durante a gestação no número e função de células satélite em qualquer músculo estriado esquelético, o que torna a presente proposta o primeiro trabalho a analisar tal marcador no MRA de ratas prenhes com diabetes moderado.

A prática de exercício também exerce efeito sobre a estrutura, função e atividade mitocondrial. A prática de exercício aeróbico de moderada ou alta intensidade atua na melhora da capacidade aeróbica do músculo esquelético, acompanhada de aumento da atividade da enzima citrato sintase e de enzimas relacionadas ao complexo da cadeia respiratória mitocondrial (55,56), além aumentar o número de mitocôndrias e os marcadores de biogênese mitocondrial (55,57). O aumento do número de mitocôndrias é acompanhado pela diminuição de seu volume em relação ao tamanho do citoplasma, indicando que estas estruturas estão “diluídas” no músculo. Esta característica está relacionada ao aumento da área de secção transversa do músculo e ganho de força (58).

Em condições patológicas, como o diabetes, os efeitos da prática de exercício

são similares àqueles observados pela prática de exercício por indivíduos não diabéticos, sendo o exercício capaz de modular a quantidade de mitocôndrias e a sua função, resultados evidenciados pelo aumento da expressão de proteínas relacionadas à biogênese e atividade mitocondrial (57,59,60). Os efeitos da prática de exercício aquático durante a gestação sobre a estrutura e atividade mitocondrial no músculo esquelético, em condição de DMG, são desconhecidos, o que torna o presente estudo inédito ao analisar estes aspectos no MRA de ratas prenhes com diabetes moderado.

A partir dos avanços do conhecimento apresentados na presente contextualização, o estudo proposto é pioneiro ao analisar os mecanismos acionados na reversão da miopatia do MRA de ratas prenhes com diabetes moderado, com foco na análise de células-satélite, do perfil inflamatório e da estrutura e atividade mitocondrial. A expansão do estudo para a investigação do potencial do exercício para reversão das alterações morfológicas induzidas pelo diabetes na uretra também reforça o ineditismo desta proposta, representando o avanço do conhecimento acerca do exercício como uma das principais propostas de tratamento para a MiDG, com potencial para subsidiar pesquisas clínicas em andamento pelo nosso grupo de pesquisa, o Diamater Study Group.

Referências

1. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, et al., American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Care in Diabetes—2023. Diabetes Care 2023; 46(Suppl. 1):S19–S40
2. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, et al., American Diabetes Association. 15. Management of diabetes in pregnancy: Standards of Care in Diabetes—2023. Diabetes Care 2023;46(Suppl. 1):S254–S266.
3. Powers SK. Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho. (9th edição). Editora Manole; 2017.
4. Mukund K, Subramaniam S. Skeletal muscle: A review of molecular structure and function, in health and disease. Wiley interdisciplinary reviews. *Systems biology and medicine*, 2020; 12(1), e1462.

5. Hall JE, Hall ME. Guyton & Hall - Tratado de Fisiologia Médica. (14th edição). Grupo GEN; 2021.
6. Tortora GJ. Principios De Anatomia Humana. 14th ed. Grupo GEN; 2019. 1040p.
7. Vesentini G, Marini G, Piculo F, Damasceno DC, Matheus SMM, Felisbino SL, et al. Morphological changes in rat rectus abdominis muscle induced by diabetes and pregnancy. Braz J Med Biol Res. 2018;51(4):e7035.
8. Vesentini G, Barbosa AMP, Floriano JF, Felisbino SL, Costa SMB, Piculo F, Marini G, Nunes SK, Reyes DRA, Marcondes JPC, Hallur RLS, Rozza AL, Magalhães CG, Costa R, Abbade JF, Corrente JE, Calderon IMP, Matheus SMM, Rudge MVC; Diamater Study Group. Deleterious effects of gestational diabetes mellitus on the characteristics of the rectus abdominis muscle associated with pregnancy-specific urinary incontinence. Diabetes Res Clin Pract. 2020 Aug;166:108315.
9. Sapsford RR, Hodges PW. The effect of abdominal and pelvic floor muscle activation on urine flow in women. International urogynecology journal, 2012; 23(9), 1225–1230.
10. Ptaszkowski K, Paprocka-Borowicz M, Słupska L, Bartnicki J, Dymarek R, Rosińczuk J, Heimrath J, Dembowski J, Zdrojowy R. Assessment of bioelectrical activity of synergistic muscles during pelvic floor muscles activation in postmenopausal women with and without stress urinary incontinence: a preliminary observational study. Clinical interventions in aging, 2015; 10, 1521–1528.
11. Piculo F. et al. Morfologia da uretra. In: Guia ilustrado da morfologia do tecido uretral de ratas [online]. São Paulo: Editora UNESP, 2014, pp. 31-40. ISBN 978-85-68334-51-5
12. Hvidman L, Hvidman L, Foldspang A, Mommsen S, Bugge Nielsen J. Correlates of urinary incontinence in pregnancy. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct. 2002;13(5):278-83.
13. Barbosa AM, Dias A, Marini G, Calderon IM, Witkin S, Rudge MV. Urinary incontinence and vaginal squeeze pressure two years post-cesarean delivery in primiparous women with previous gestational diabetes mellitus. Clinics (Sao Paulo). 2011;66(8):1341-6.

14. Monaco CMF, Perry CGR, Hawke TJ. Diabetic Myopathy: current molecular understanding of this novel neuromuscular disorder. Curr Opin Neurol. 2017 Oct;30(5):545-552.
15. D'Souza DM, Al-Sajee D, Hawke TJ. Diabetic myopathy: impact of diabetes mellitus on skeletal muscle progenitor cells. Front Physiol. 2013 Dec; 20;4:379.
16. Marini,G, Barbosa AMP, Damasceno DC, Matheus SMM, Castro RA, Girão MJBC, Rudge MVC. Morphological changes in the fast vs slow fiber profiles of the urethras of diabetic pregnant rats. Urogynaecologia International Journal 2011; v. 25, n. 1.
17. Piculo F, Marini G, Barbosa AM, Damasceno DC, Matheus SM, Felisbino SL, Daneshgari F, Rudge MV. Urethral striated muscle and extracellular matrix morphological characteristics among mildly diabetic pregnant rats: translational approach. Int Urogynecol J. 2014 Mar;25(3):403-15.
18. Marini G, Piculo F, Vesentini G, Barbosa AM, Damasceno DC, Matheus SM, Hijaz A, Daneshgari F, Rudge MV. Effects of short-term severe and long-term mild STZ-induced diabetes in urethral tissue of female rats. Neurourol Urodyn. 2017 Mar;36(3):574-579.
19. Marini G, Piculo F, Vesentini G, Damasceno DC, Delella FK, Calderon IMP, Daneshgari F, Felisbino SL, Barbosa AMP, Rudge MVC. The influence of hyperglycemia on the remodeling of urethral connective tissue in pregnant rats. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2018 Feb;221:81-88.
20. Marini G, Rinaldi J de C, Damasceno DC, Felisbino SL, Rudge MVC. Alterações da matriz extracelular causadas pelo diabetes: o impacto sobre a continência urinária. Rev Bras Ginecol Obstet. 2014 Jul;36(7):328–33.
21. Rudge MVC., Souza FP, Abbade JF. *et al.* Study protocol to investigate biomolecular muscle profile as predictors of long-term urinary incontinence in women with gestational diabetes mellitus. BMC Pregnancy Childbirth 2020, 117.
22. Vesentini G, Barbosa AMP, Damasceno DC, Marini G, Piculo F, Matheus SMM, Hallur RLS, Nunes SK, Catinelli BB, Magalhães CG, Costa R, Abbade JF, Corrente JE, Calderon IMP, Rudge MVC; DIAMATER Study Group. Alterations in the structural characteristics of rectus abdominis muscles caused by diabetes

and pregnancy: A comparative study of the rat model and women. PLoS One. 2020 Apr 3;15(4):e0231096.

23. Sartorão Filho CI, Pinheiro FA, Prudencio CB, Nunes SK, Takano L, Enriquez EMA, Orlandi MIG, Junginger B, Hallur RLS, Rudge MVC, Barbosa AMP. Impact of gestational diabetes on pelvic floor: A prospective cohort study with three-dimensional ultrasound during two-time points in pregnancy. Neurourol Urodyn. 2020 Nov;39(8):2329-2337.
24. Prudencio CB, Rudge MVC, Pinheiro FA, Sartorão Filho CI, Nunes SK, Pedroni CR, Junginger B, Barbosa AMP. Negative impact of gestational diabetes mellitus on progress of pelvic floor muscle electromyography activity: Cohort study. PLoS One. 2019 Nov 7;14(11):e0223261.
25. Prudencio CB, Nunes SK, Pinheiro FA, Sartorão Filho CI, Nava GTA, Salomoni SE, Pedroni CR, Rudge MVC, Barbosa AMP; Diamater Study Group. Gestational diabetes is associated with alteration on pelvic floor muscle activation pattern during pregnancy and postpartum: Prospective cohort using electromyography assessment. Front Endocrinol (Lausanne). 2022 Oct 6;13:958909.
26. Pinheiro FA, Sartorão Filho CI, Prudencio CB, Nunes SK, Pascon T, Hallur RLS, Takano L, Enriquez EMA, Catinelli BB, Carr AM, Junginger B, Rudge MVC, Barbosa AMP; Diamater Study Group. Pelvic floor muscle dysfunction at 3D transperineal ultrasound in maternal exposure to gestational diabetes mellitus: A prospective cohort study during pregnancy. Neurourol Urodyn. 2022 Jun;41(5):1127-1138.
27. Alves FCB, Oliveira RG, Reyes DRA, Garcia GA, Floriano JF, Shetty RHL, Mareco EA, Dal-Pai-Silva M, Payão SLM, Souza FP, Witkin SS, Sobrevia L, Barbosa AMP, Rudge MVC, Diamater Study Group. Transcriptomic Profiling of Rectus Abdominis Muscle in Women with Gestational Diabetes-Induced Myopathy: Characterization of Pathophysiology and Potential Muscle Biomarkers of Pregnancy-Specific Urinary Incontinence. Int J Mol Sci. 2022 Oct 25;23(21):12864.
28. Zanuso S, Sacchetti M, Sundberg CJ, Orlando G, Benvenuti P, Balducci S. Exercise in type 2 diabetes: genetic, metabolic and neuromuscular adaptations. A review of the evidence. Br J Sports Med. 2017 Nov;51(21):1533-1538.

29. Shen L, Meng X, Zhang Z, Wang T. Physical Exercise for Muscle Atrophy. Adv Exp Med Biol. 2018;1088:529-545.
30. Bassi-Dibai D, Santos-de-Araújo AD, Dibai-Filho AV, de Azevedo LFS, Goulart CDL, Luz GCP, Burke PR, Garcia-Araújo AS, Borghi-Silva A. Rehabilitation of Individuals With Diabetes Mellitus: Focus on Diabetic Myopathy. Front Endocrinol (Lausanne). 2022 Apr 14;13:869921.
31. Alaca N, Uslu S, Gulec Suyen G, Ince U, Serteser M, Kurtel H. Effects of different aerobic exercise frequencies on streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetic rats: Continuous versus short bouts and weekend warrior exercises. J Diabetes. 2018 Jan;10(1):73-84.
32. Cordero, Y, Motolla MF, Vargas J, Blanco M, Barakat R. Exercise in associated with a reduction in gestational diabetes mellitus. Medicine & Science in Sports & Exercise 2014; 47(7):1328-1333.
33. Colberg SR, Castorino K, Jovanovič L. Prescribing physical activity to prevent and manage gestational diabetes. World journal of diabetes 2013;4(6):256–62.
34. Di Biase N, Balducci S, Lencioni C, Bertolotto A, Tumminia A, Dodesini AR et al. Review of general suggestions on physical activity to prevent and treat gestational and pre-existing diabetes during pregnancy and in postpartum. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases 2018.
35. American Diabetes Association 5. Lifestyle management: standards of medical care in diabetes 2019. Diabetes Care, v. 42, Supplement 1, p. S46-S60.
36. Barakat R, Perales M, Bacchi M, Coteron J, Refoyo I. A program of exercise throughout pregnancy. Is it safe to mother and newborn? American journal of health promotion 2014; 29(1):2-8.
37. American College of Obstetricians and Gynecologists et al. ACOG Committee Opinion No. 650: Physical activity and exercise during pregnancy and the postpartum period. Obstet Gynecol 2015; 126(6):135-42
38. Barakat R, Perales M, Cordero Y, Bacchi M, Motolla M. Influence of Land or Water Exercise in Pregnancy on Outcomes: A Cross-sectional Study. Medicine and science in sports and exercise 2017; 49(7):1397-1403.
39. Catinelli BB, Rossignoli PS, Floriano JF *et al.* Reversal of diabetic-induced myopathy by swimming exercise in pregnant rats: a translational intervention study. Sci Rep 2022; 12, 7375.

40. Perry BD, Caldow MK, Brennan-Speranza TC, Sbaraglia M, Jerums G, Garnham A, Wong C, Levinger P, Asrar Ul Haq M, Hare DL, Price SR, Levinger I. Muscle atrophy in patients with Type 2 Diabetes Mellitus: roles of inflammatory pathways, physical activity and exercise. Exerc Immunol Rev. 2016;22:94-109.
41. Dalle S, Koppo K. Is inflammatory signaling involved in disease-related muscle wasting? Evidence from osteoarthritis, chronic obstructive pulmonary disease and type II diabetes. Exp Gerontol. 2020 Aug;137:110964.
42. França DCH, França EL, Sobrevia L, Barbosa, AMP, Honorio-França AC, Rudge MVC, Diamater Study Group. Integration of nutrigenomics, melatonin, serotonin and inflammatory cytokines in the pathophysiology of pregnancy-specific urinary incontinence in women with gestational diabetes mellitus. Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease 2023; *1869*(6), 166737.
43. Fujimaki S, Wakabayashi T, Takemasa T, Asashima M, Kuwabara T. Diabetes and stem cell function. Biomed Res Int. 2015;2015:592915.
44. Monaco CMF, Hughes MC, Ramos SV, Varah NE, Lamberz C, Rahman FA, McGlory C, Tarnopolsky MA, Krause MP, Laham R, Hawke TJ, Perry CGR. Altered mitochondrial bioenergetics and ultrastructure in the skeletal muscle of young adults with type 1 diabetes. Diabetologia 2018*; 61*(6), 1411–1423.
45. Nielsen J, Mogensen M, Vind BF, Sahlin K, Højlund K, Schrøder HD, Ortenblad N. Increased subsarcolemmal lipids in type 2 diabetes: effect of training on localization of lipids, mitochondria, and glycogen in sedentary human skeletal muscle. American journal of physiology. Endocrinology and metabolism 2010, *298*(3):E706–E713.
46. Boyle KE, Hwang H, Janssen RC, DeVente JM, Barbour LA, Hernandez TL, Mandarino LJ, Lappas M, Friedman JE. Gestational diabetes is characterized by reduced mitochondrial protein expression and altered calcium signaling proteins in skeletal muscle. PloS one 2014; *9*(9): e106872.
47. Golbidi S, Badran M, Laher I. Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise in diabetic patients. Exp Diabetes Res. 2012;2012:941868.
48. Minnock D, Annibalini G, Valli G, Saltarelli R, Krause M, Barbieri E, De Vito G. Altered muscle mitochondrial, inflammatory and trophic markers, and reduced

exercise training adaptations in type 1 diabetes. The Journal of physiology 2022; 600(6):1405–1418.

49. Fujimaki S, Kuwabara T. Diabetes-Induced Dysfunction of Mitochondria and Stem Cells in Skeletal Muscle and the Nervous System. Int J Mol Sci. 2017 Oct 14;18(10):2147.
50. Fry CS, Noehren B, Mula J, Ubele MF, Westgate PM, Kern PA, Peterson CA. Fibre type-specific satellite cell response to aerobic training in sedentary adults. J Physiol. 2014 Jun 15;592(12):2625-35.
51. Blocquiaux S, Gorski T, Van Roie E, Ramaekers M, Van Thienen R, Nielens H, Delecluse C, De Bock K, Thomis M. The effect of resistance training, detraining and retraining on muscle strength and power, myofibre size, satellite cells and myonuclei in older men. Exp Gerontol. 2020 May;133:110860.
52. Moore DR, Kelly RP, Devries MC, Churchward-Venne TA, Phillips SM, Parise G, Johnston AP. Low-load resistance exercise during inactivity is associated with greater fibre area and satellite cell expression in older skeletal muscle. J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2018 Aug;9(4):747-754.
53. Fujimaki S, Wakabayashi T, Asashima M, Takemasa T, Kuwabara T. Treadmill running induces satellite cell activation in diabetic mice. Biochem Biophys Rep. 2016 Jul 28;8:6-13.
54. Arabzadeh E, Shirvani H, Ebadi Zahmatkesh M, Riyahi Malayeri S, Meftahi GH, Rostamkhani F. Irisin/FNDC5 influences myogenic markers on skeletal muscle following high and moderate-intensity exercise training in STZ-diabetic rats. 3 Biotech. 2022 Sep;12(9):193.
55. Wyckelsma VL, Levinger I, McKenna MJ, Formosa LE, Ryan MT, Petersen AC, Anderson MJ, Murphy RM. Preservation of skeletal muscle mitochondrial content in older adults: relationship between mitochondria, fibre type and high-intensity exercise training. The Journal of physiology 2017*; 595*(11):3345–3359.
56. Fritzen AM, Thøgersen FB, Thybo K, Vissing CR, Krag TO, Ruiz-Ruiz C, Risom L, Wibrand F, Høeg LD, Kiens B, Duno M, Vissing J, Jeppesen TD. Adaptations in Mitochondrial Enzymatic Activity Occurs Independent of Genomic Dosage in Response to Aerobic Exercise Training and Deconditioning in Human Skeletal Muscle. Cells 2019*; 8*(3): 237.

57. Lee H, Song W. Exercise and Mitochondrial Remodeling in Skeletal Muscle in Type 2 Diabetes. Journal of obesity & metabolic syndrome 2018; 27(3):150–157.
58. Parry HA, Roberts MD, Kavazis AN. Human Skeletal Muscle Mitochondrial Adaptations Following Resistance Exercise Training. International journal of sports medicine *2020;41*(6):349–359.
59. Joseph AM, Hood DA. Relationships between exercise, mitochondrial biogenesis and type 2 diabetes. Medicine and sport science 2014; *60:* 48–61.
60. Mthembu SXH, Mazibuko-Mbeje SE, Ziqubu K, Nyawo TA, Obonye N, Nyambuya TM, Nkambule BB, Silvestri S, Tiano L, Muller CJF, Dludla PV. Impact of physical exercise and caloric restriction in patients with type 2 diabetes: Skeletal muscle insulin resistance and mitochondrial dysfunction as ideal therapeutic targets. Life sciences 2022*; 297:* 120467.

Seção 3
Artigos