



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

**Centro Biomédico**

**Faculdade de Ciências Médicas**

**Lorena da Silva Paes**

**Efeitos de diferentes intensidades de treinamento aeróbico isocalórico sobre a função endotelial microvascular e marcadores de estresse oxidativo em ratos submetidos à dieta hiperlipídica**

**Rio de Janeiro**

**2019**

Lorena da Silva Paes

**Efeitos de diferentes intensidades de treinamento aeróbico isocalórico sobre a função endotelial microvascular e marcadores de estresse oxidativo em ratos submetidos à dieta hiperlipídica**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliete Bouskela

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

P127 Paes, Lorena da Silva.

Efeitos de diferentes intensidades de treinamento aeróbico isocalórico sobre a função endotelial microvascular e marcadores de estresse oxidativo em ratos submetidos à dieta hiperlipídica / Lorena da Silva Paes. – 2019.

165 f.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Eliete Bouskela

Doutorado (Tese) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. Microcirculação - Teses. 2. Exercícios aeróbicos – Teses. 3. Estresse oxidativo – Teses. 4. Obesidade – Teses. 5. Ratos Wistar. I. Bouskela, Eliete. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 613.25

Bibliotecária: Thais Ferreira Vieira - CRB/7 - 5302

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Lorena da Silva Paes

**Efeitos de diferentes intensidades de treinamento aeróbico isocalórico sobre a função endotelial microvascular e marcadores de estresse oxidativo em ratos submetidos à dieta hiperlipídica**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em: 23 de Janeiro de 2019

Banca Examinadora: \_\_\_\_\_

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliete Bouskela (Orientadora)  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Matsuura  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria das Graças Coelho de Souza  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr<sup>a</sup>. Renata Frauches Medeiros Coimbra  
Universidade Federal Fluminense

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr<sup>a</sup>. Eliza Prodel Coelho  
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2019

## DEDICATÓRIA

À minha família, por todo o amor e incentivo.  
Sem ela, eu não teria chegado até aqui.

## AGRADECIMENTOS

À professora Eliete Bouskela, por ter me orientado, incentivado e dado todo o suporte para o desenvolvimento desta pesquisa;

Aos membros da banca, por terem aceitado o convite para avaliar este trabalho;

À professora Maria das Graças de Souza, por revisar esta Tese e ter contribuído de forma ímpar para o desenvolvimento deste trabalho;

À professora Cristiane Matsuura e Daniel Medeiros, do Laboratório de Farmacologia e Psicobiologia da UERJ, pela colaboração com os experimentos de estresse oxidativo;

Ao Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional da UERJ, especialmente ao técnico Jonathan Pereira, pela colaboração com os exames DEXA;

À professora Samara Machado e Luciana Penedo do Laboratório de Ciências Radiológicas da UERJ, por colaborarem com os experimentos de pletismografia;

Aos bioteristas Cláudio Natalino e Paulo José, pelo cuidado dos animais.

À Fátima Zely Cyrino, pela amizade e enorme assistência no dia-a-dia da bancada;

À Lara Holmes e Dani Signorelli pela amizade, ajuda e companhia durante a rotina intensa de experimentos;

À todos os amigos do BioVasc, que contribuíram de alguma forma com este trabalho;

Quanto à família...

Aos meus pais Luiz e Risete, pelo incentivo e suporte inestimáveis para chegar até aqui;

À Luis Otavio, por compreender minha ausência, me incentivar e seguir sempre ao meu lado, mesmo à distância;

À Nuno, Isa, Enrico e Bernardo, pelo incentivo e pelas 'doses' de alegria adicionadas à rotina da "Tia Lorena";

À Sônia Maria Ribeiro, 'Vovó' Leonor e Tia Renée pelo incentivo e carinho de sempre.

*And miles to go before I sleep*

*Robert Frost*

## RESUMO

PAES, Lorena da Silva. *Efeitos de diferentes intensidades de treinamento aeróbico isocalórico sobre a função endotelial microvascular e marcadores de estresse oxidativo em ratos submetidos à dieta hiperlipídica*. 2019. 165 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Na obesidade, permanece incerto se a alta intensidade de treinamento aeróbico apresenta, de fato, maior vantagem em relação à intensidade moderada para a melhora da função endotelial microvascular; sobretudo quando o volume de exercício é controlado pelo dispêndio energético. Também é necessário elucidar se a alta intensidade induz realmente adaptações benéficas na função endotelial, ou se poderia exacerbar o estresse oxidativo e danos sobre a função endotelial que podem ser desencadeados pela obesidade *per se*. Esta Tese de Doutorado investigou o efeito de duas intensidades de treinamento aeróbico, realizado com sessões isocalóricas, sobre a função endotelial microvascular e marcadores de estresse oxidativo vascular em ratos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica. Assim, ratos Wistar (n=18 animais / grupo) foram alimentados com dieta controle (C) ou hiperlipídica (H) por 12 semanas, e depois subdivididos nos grupos: sedentários–CS e HS; treinamento moderado contínuo– CM e HM; treinamento intervalado de alta intensidade– CH e HH. Durante 6 semanas, HM e CM treinaram em velocidade correspondente à 65% VO<sub>2</sub> de reserva (VO<sub>2RES</sub>), e CH e HH, com estímulos a 85%VO<sub>2RES</sub> intercalados com 60%VO<sub>2RES</sub>; sendo a duração controlada pelo dispêndio energético. Após a intervenção, todos os grupos foram submetidos à análise da composição corporal, do perfil metabólico e da capacidade cardiorrespiratória. A reatividade microvascular foi analisada em dois sítios musculares distintos. Amostras de aorta também foram coletadas para os ensaios de estresse oxidativo. Os principais resultados mostraram que, em comparação à HS, os grupos de treinamento HM e HH exibiram, similarmente, melhora da vasodilatação dependente do endotélio em músculo cremaster (HS vs. HM: 22,9% P=0,01; HS vs. HH: 19,7% P=0,02) e em músculos adutores (HS vs. HM: 13,4% P=0,03; HS vs. HH: 18,2% P=0,001), bem como aumento da biodisponibilidade de NO (HS vs. HM: 23,9%; P=0,04; HS vs. HH: 25,1% P=0,04). Porém, apenas a alta intensidade foi responsável por aumentar a atividade de Glutathione Peroxidase (HS vs. HH: P=0,03; CS vs. CH: P=0,007), mesmo sob o aumento da peroxidação lipídica (CS vs. CH: P=0,005; HS vs. HH: P=0,04); e também foi capaz de aprimorar a vasodilatação dependente do endotélio de animais eutróficos (CS vs. CH – cremaster: 26,3%; P=0,02; adutores: 19,2%; P=0,01). Em conclusão, no contexto da obesidade, apenas a alta intensidade pareceu ser mais eficiente para melhorar a capacidade antioxidante vascular, mas o gasto calórico total das sessões de treinamento revelou-se mais importante do que a intensidade para o aprimoramento da reatividade microvascular dos animais observados.

Palavras-chave: Microcirculação. Função endotelial. Estresse oxidativo. Obesidade. Ratos Wistar. Treinamento aeróbico.

## ABSTRACT

PAES, Lorena da Silva. *Effects of different intensities of aerobic isocaloric exercise training upon microvascular endothelial function and biomarkers of oxidative stress in rats fed a high fat diet*. 2019. 165 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

In obesity, it remains unclear if high intensity aerobic training is superior to moderate intensity for improvements on endothelial function in microvasculature; mainly when exercise volume is matched by energy expenditure. Additionally, it is necessary to clarify if the high intensity training really improves microvascular endothelial function, or could exacerbate oxidative stress and impairments on endothelial function which are triggered by obesity *per se*. This study investigated the effects of two intensities of aerobic training, performed with isocaloric exercise bouts upon microvascular endothelial function and biomarkers of vascular oxidative stress in rats fed a high fat diet. Thus, Wistar rats (n=18 per group) were randomly assigned to standard chow diet (C) or high fat diet (H) for 12 weeks prior to be assigned into the groups: sedentary– CS and HS; moderate intensity continuous training– CM and HM; high intensity interval training– CH and HH. Over 6 weeks, CM and HM groups performed treadmill running at speeds corresponding to 65% oxygen uptake reserve ( $VO_{2RES}$ ), and CH and HH trained at 85%  $VO_{2RES}$  interspersed with 60%  $VO_{2RES}$ , with the duration controlled by energy expenditure. At the end of intervention, all groups had assessed: body composition, metabolic profile and cardiorespiratory capacity. Experiments of microvascular reactivity were performed in two distinct muscles. Aorta fragments were collected to perform assays of oxidative stress. Regarding the main results, HM and HH groups similarly improved endothelium dependent vasodilation in cremaster muscle (HS vs. HM: 22,9% P=0,01; HS vs. HH: 19,7% P=0,02), in adductors hindlimb (HS vs. HM: 13,4% P=0,03; HS vs. HH: 18,2% P=0,001) and also NO bioavailability (HS vs. HM: 23,9%; P=0,04; HS vs. HH: 25,1% P=0,04). Nevertheless, only high intensity training was able to improve Glutathione peroxidase activity (HS vs. HH: P=0,03; CS vs. CH: P=0,007), despite the increase of lipid peroxidation (CS vs. CH: P=0,005; HS vs. HH: P=0,04). High intensity was also able to improve endothelium dependent vasodilation in lean animals (CS vs. CH – cremaster: 26,3%; P=0,02; adutores: 19,2%; P=0,01). In conclusion, in obesity context, only high intensity aerobic training seems to be efficient to improve vascular antioxidant capacity, but total caloric expenditure of exercise sessions (volume) appeared to be more significant than intensity training to induce beneficial outcomes upon microvascular reactivity in the observed animals.

Keywords: Microcirculation. Endothelial function. Oxidative stress. Obesity. Wistar rats. Aerobic training.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Timeline do período experimental.....	44
Figura 2-	Sistema de Calorimetria Indireta <i>Oxylet</i> .....	47
Figura 3-	Coleta de consumo de O <sub>2</sub> em repouso (VO <sub>2REP</sub> ).....	48
Figura 4-	Sessão isocalórica.....	51
Figura 5-	Treinamento em esteira rolante.....	53
Figura 6-	Relatório do DEXA.....	55
Figura 7-	Sistema de microscopia intravital.....	58
Figura 8-	Preparação do músculo cremaster.....	59
Figura 9-	Preparação dos músculos adutores.....	62
Figura 10-	Evolução do peso corporal (fase piloto).....	69
Figura 11-	Composição corporal avaliada pelo DEXA (fase piloto).....	70
Figura 12-	Teste de tolerância à insulina e à glicose – TTI / TTG (fase piloto)....	73
Figura 13-	Evolução do peso corporal.....	77
Figura 14-	Ganho de peso corporal.....	79
Figura 15-	Curvas de consumo energético.....	81
Figura 16-	Velocidade máxima de corrida do teste incremental.....	86
Figura 17-	Avaliação do Consumo de O <sub>2</sub> em Excesso Pós-Exercício (EPOC)....	87
Figura 18-	Consumo pico de oxigênio (VO <sub>2PICO</sub> ).....	90
Figura 19-	Velocidade máxima de corrida.....	90
Figura 20-	Gordura corporal avaliada pelo DEXA.....	93
Figura 21-	Massa magra avaliada pelo DEXA.....	95
Figura 22-	Resultados do teste de tolerância à insulina (TTI).....	97
Figura 23-	Resultados do teste de tolerância à glicose (TTG).....	99
Figura 24-	Reatividade microvascular no cremaster – grupos C.....	103
Figura 25-	Imagens de experimentos no cremaster – grupos C.....	104
Figura 26-	Reatividade microvascular no cremaster – grupos H.....	105
Figura 27-	Imagens de experimentos no cremaster – grupos H.....	106
Figura 28-	Reatividade vascular nos músculos adutores – grupos C.....	108
Figura 29-	Reatividade vascular nos músculos adutores – grupos H.....	110
Figura 30-	Biodisponibilidade de NO nos músculos adutores .....	112

Figura 31- Resumo dos principais achados.....	164
---	-----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Informação nutricional das dietas experimentais.....	45
Tabela 2-	Valores de <i>baseline</i> antes de cada intervenção.....	75
Tabela 3-	Peso inicial e final de cada intervenção.....	78
Tabela 4-	Ingestão alimentar e consumo energético.....	82
Tabela 5-	Resultados da sessão isocalórica .....	84
Tabela 6-	Variação do $VO_{2PICO}$ e da velocidade máxima ( $\Delta\%$ ).....	91
Tabela 7-	Resultados do perfil lipídico.....	100
Tabela 8-	Biomarcadores de estresse oxidativo.....	114

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
ACSM	<i>American College of Sports Medicine</i>
ATP	Adenosina Trifosfato
ANOVA	Análise de variância
AUC	<i>Area under curve</i> (Área sob a curva)
BioVasc	Laboratório de pesquisas clínicas e experimentais em biologia vascular
Ca <sup>2+</sup>	Cálcio
CaMK	<i>Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase</i>
CAT	Catalase
CEA	Coeficiente de eficiência alimentar
cm.s <sup>-1</sup>	Centímetros. segundo <sup>-1</sup>
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CS	Grupo com dieta C sedentário
CM	Grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo
CH	Grupo com dieta C e treinamento intervalado de alta intensidade
CMM	Coeficiente de massa magra
DAC	Doença arterial coronariana
DEXA	Absortometria por dupla emissão de raios-x
DIO	<i>Diet-induced obesity</i> (obesidade induzida por dieta)
DM2	Diabetes Tipo II
DNPB	2,4-dinitrofenilhidrazina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDRF	<i>Endothelium-derived relaxing factor</i> (Fator hiperpolarizante derivado do endotélio)
eNOS	Óxido Nítrico Sintase endotelial
EPM	Erro Padrão da Média
EPOC	Consumo de Oxigênio em Excesso Pós-Exercício
ERN	Espécies Reativas ao Nitrogênio

EROs	Espécies Reativas ao Oxigênio
ET-1	Endotelina-1
FMD	Vasodilatação mediada pelo fluxo ( <i>Flow mediated vasodilation</i> )
g	gramas
GMPc	Monofosfato de Guanosina cíclica
GPX	Glutathione Peroxidase
HDL	<i>High-density lipoprotein</i> (lipoproteína de alta densidade)
HIIT	<i>High-intensity interval training</i> (treinamento intervalado de alta intensidade)
HS	Grupo com dieta H e sedentário
HM	Grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo
HH	Grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade
h	horas
H <sup>+</sup>	Hidrogênio
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule 1</i> (molécula de adesão intercelular 1)
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
IL-6	Interleucina-6
K <sup>+</sup>	Potássio
kcal	Kilocalorias
LDL	<i>Low density lipoprotein</i> (lipoproteína de baixa densidade)
LDPI	<i>Laser Doppler Perfusion Imaging</i>
l.min <sup>-1</sup>	Litros.minuto <sup>-1</sup>
M	Molar
MCP-1	<i>Monocyte Chemotactic Protein-1</i> (proteína quimiotática de monócitos)
MICT	<i>Moderate-intensity continuous training</i> (treinamento contínuo de intensidade moderada)
min	Minutos
mmHg	Milímetros de mercúrio
mA	Miliamperes
MDA	Malondialdeído
MUFA	<i>Monounsaturated fatty acid</i> (ácidos graxos monoinsaturados)
ml.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup>	Militros.kilograma <sup>-1</sup> .minuto <sup>-1</sup>

NEFA	<i>Non-esterified fatty acids</i> (ácidos graxos não-esterificados)
NOS	Óxido Nítrico Sintase
NO	Óxido Nítrico
NPY	Neuropeptideo Y
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Ânion superóxido
OH <sup>-</sup>	íon hidroxil
ONOO <sup>-</sup>	peroxinitrito
O <sub>2</sub>	Oxigênio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCr	Creatina Fosfato
PGI <sub>2</sub>	Prostaciclina
PVAT	<i>Perivascular adipose tissue</i> (Tecido adiposo perivascular)
ROI	<i>Region of interest</i> (região de interesse)
SFA	Saturated fatty acid (ácidos graxos saturados)
sGC	Guanilato Ciclase solúvel
SNP	Nitroprussiato de Sódio
SOD	Superóxido Dismutase
STPD	<i>Standard Temperature, Pressure and Dry</i> (ou padrão de temperatura, pressão e umidade)
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
UCP-1	Proteína Desacopladora-1
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
VCAM-1	<i>Vascular cell adhesion protein 1</i> (proteína 1 de adesão celular vascular)
VLDL	<i>Very low density lipoprotein</i> (lipoproteína de muito baixa densidade)
VO <sub>2</sub>	Consumo de oxigênio
VO <sub>2</sub> max	Consumo máximo de oxigênio
VO <sub>2</sub> rep	Consumo de oxigênio em repouso
VO <sub>2</sub> res	Consumo reserva de oxigênio

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\geq$	Maior ou igual que
$\leq$	Menor ou igual que
$>$	Maior que
$<$	Menor que
$=$	Igual
$\pm$	Mais ou menos
%	Porcentagem
$\mu\text{m}$	Micrometros
$\beta$	Beta
$\alpha$	Alfa
N	tamanho amostral
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$\Delta$	Delta (variação)
$\sim$	Aproximadamente

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
1	<b>FUNDAMENTOS TEÓRICOS</b> .....	18
1.1	<b>A obesidade e o sobrepeso</b> .....	18
1.1.1	<u>Alterações vasculares relacionadas à obesidade e ao sobrepeso</u> .....	19
1.2	<b>O estresse oxidativo</b> .....	20
1.3	<b>A microcirculação</b> .....	22
1.3.1	<u>Estrutura e função</u> .....	22
1.3.2	<u>O endotélio</u> .....	24
1.3.2.1	Vasodilatação e vasoconstrição dependente do endotélio.....	25
1.3.3	<u>A reatividade vascular</u> .....	27
1.3.3.1	Métodos de avaliação da reatividade vascular.....	28
1.3.4	<u>Fisiopatologia das alterações microcirculatórias na obesidade e sobrepeso</u> .....	29
1.4	<b>O exercício aeróbio</b> .....	31
1.4.1	<u>Características da prescrição do treinamento</u> .....	31
1.4.1.1	Treinamento contínuo de intensidade moderada (MICT).....	33
1.4.1.2	Treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT).....	33
1.4.1.3	Avaliação do dispêndio energético nas sessões de exercício.....	34
1.4.2	<u>Exercício aeróbio e estresse oxidativo</u> .....	35
1.4.3	<u>Efeitos do exercício aeróbio sobre as alterações vasculares e o estresse oxidativo na obesidade e sobrepeso</u> .....	36
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	39
2.1	<b>Objetivo geral</b> .....	39
2.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	39
3	<b>HIPÓTESES</b> .....	40
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	41
4.1	<b>Considerações éticas</b> .....	41
4.2	<b>Desenho experimental</b> .....	41
4.2.1	<u>Animais e grupos</u> .....	41
4.2.2	<u>Esquema dos experimentos</u> .....	42

4.2.3	<u>Dieta hiperlipídica</u> .....	44
4.3	<b>Avaliação do peso corporal e da ingestão alimentar</b> .....	45
4.4	<b>Testes de consumo de oxigênio (VO<sub>2</sub>)</b> .....	45
4.4.1	<u>Equipamentos e sistemas</u> .....	46
4.4.2	<u>Teste de esforço máximo</u> .....	47
4.4.3	<u>VO<sub>2</sub> repouso</u> .....	48
4.4.4	<u>Sessões isocalóricas</u> .....	49
4.4.4.1	Consumo de oxigênio em excesso pós-exercício (EPOC).....	52
4.4.5	<u>Protocolo de treinamento</u> .....	53
4.5	<b>Avaliação da composição corporal</b> .....	53
4.6	<b>Testes de tolerância à insulina e à glicose (TTI e TTG)</b> .....	56
4.7	<b>Avaliação da reatividade microvascular no cremaster</b> .....	56
4.7.1	<u>Procedimentos cirúrgicos</u> .....	57
4.7.2	<u>Equipamentos e sistemas</u> .....	57
4.7.3	<u>Protocolo experimental</u> .....	58
4.8	<b>Avaliação da reatividade vascular nos músculos adutores</b> .....	60
4.8.1	<u>Procedimentos cirúrgicos</u> .....	60
4.8.2	<u>Equipamentos e sistema</u> .....	61
4.8.3	<u>Protocolo experimental</u> .....	62
4.8.3.1	Avaliação da reatividade vascular através das variações do fluxo sanguíneo.....	62
4.8.3.2	Avaliação da contribuição do NO sobre as variações de fluxo induzidas pela vasodilatação endotélio-dependente com ACh .....	63
4.9	<b>Avaliação do perfil lipídico</b> .....	64
4.10	<b>Avaliação do estresse oxidativo</b> .....	64
4.10.1	<u>Preparo das amostras</u> .....	64
4.10.2	<u>Determinação da peroxidação lipídica</u> .....	64
4.10.3	<u>Determinação da atividade de enzimas antioxidantes</u> .....	65
4.10.3.1	Superóxido dismutase (SOD) .....	65
4.10.3.2	Catalase (CAT) .....	66
4.10.3.3	Glutathiona peroxidase (GPx) .....	66
4.11	<b>Tratamento estatístico</b> .....	66
5	<b>RESULTADOS</b> .....	68

5.1	<b>Fase Piloto</b> .....	68
5.2	<b>Período Experimental – Valores basais (<i>Baseline</i>)</b> .....	74
5.3	<b>Evolução do peso corporal</b> .....	75
5.4	<b>Ingestão alimentar e consumo energético</b> .....	80
5.5	<b>Protocolo de treinamento – sessões isocalóricas</b> .....	84
5.6	<b>Consumo de O<sub>2</sub> em excesso pós-exercício (EPOC)</b> .....	86
5.7	<b>Capacidade cardiorrespiratória</b> .....	89
5.8	<b>Composição corporal</b> .....	91
5.9	<b>Testes de tolerância à insulina e à glicose (TTI e TTG)</b> .....	96
5.10	<b>Perfil lipídico</b> .....	100
5.11	<b>Reatividade microvascular no músculo cremaster</b> .....	101
5.12	<b>Reatividade (micro)vascular nos músculos adutores</b> .....	107
5.12.1	<u>Avaliação da contribuição do NO sobre a variação de fluxo induzida pela vasodilatação endotélio-dependente com ACh</u> .....	111
5.13	<b>Perfil hemodinâmico nos experimentos no cremaster e nos músculos adutores</b> .....	113
5.14	<b>Biomarcadores de estresse oxidativo</b> .....	113
6	<b>DISCUSSÃO</b> .....	115
6.1	<b>Sobre os achados de peso, consumo e composição corporal</b> .....	117
6.1.1	<u>Em relação à dieta hiperlipídica</u> .....	117
6.1.2	<u>Em relação ao treinamento aeróbio</u> .....	121
6.2	<b>Sobre as sessões de treinamento isocalóricas e dados de EPOC</b> ..	124
6.3	<b>Sobre os achados de capacidade cardiorrespiratória</b> .....	126
6.4	<b>Sobre os achados de tolerância à glicose, à insulina e perfil lipídico</b> .....	128
6.4.1	<u>Em relação à dieta hiperlipídica</u> .....	128
6.4.2	<u>Em relação ao treinamento aeróbio</u> .....	130
6.5	<b>Sobre os achados de reatividade microvascular</b> .....	131
6.5.1	<u>Em relação à dieta hiperlipídica</u> .....	133
6.5.2	<u>Em relação ao treinamento aeróbio</u> .....	136
6.6	<b>Sobre os achados de MDA vascular e atividade de enzimas antioxidantes</b> .....	140
	<b>CONCLUSÃO</b> .....	145

<b>REFERÊNCIAS</b> .....	146
<b>APÊNDICE – Resumo dos achados</b> .....	164
<b>ANEXO – Parecer da Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais</b> .....	165

## INTRODUÇÃO

Na obesidade e no sobrepeso, o treinamento aeróbio de intensidade moderada a alta é capaz de produzir diversos efeitos benéficos sobre indicadores cardiovasculares e metabólicos, como a capacidade cardiorrespiratória, composição corporal e função endotelial (1–3). Dentre esses indicadores, a função endotelial tem sido extensivamente estudada, pois representa um preditor significativo de eventos cardiovasculares adversos (4,5).

O acúmulo de adiposidade visceral e as alterações metabólicas coexistentes promovem um estado inflamatório crônico de baixo grau, pró-aterogênico e vasoconstritor (5,6). Tais condições aumentam a liberação de mediadores pró-inflamatórios por adipócitos e o estresse oxidativo, ocasionando prejuízos na função endotelial (7,8). Entretanto, uma rotina de exercícios aeróbios pode exercer um papel protetor e regulatório vascular, capaz de aumentar a produção de defesas antioxidantes, a biodisponibilidade do óxido nítrico (NO), e melhorar a resposta vasodilatadora e a função endotelial (9,10).

O problema é que a dose-ótima de exercício para maximizar tais adaptações ainda permanece incerta (11). Enquanto há evidências sugerindo que o treinamento de alta intensidade seria melhor para obtê-las (3,12), há outras demonstrando que, sob condições isocalóricas (ou seja, mesmo volume de exercício), a intensidade moderada seria igualmente eficiente (13–16).

Além disso, não se sabe se algumas respostas agudas estimuladas pelo exercício intenso poderiam aumentar a vulnerabilidade do endotélio de indivíduos obesos ou com sobrepeso à danos funcionais, uma vez que o excesso de adiposidade *per se* está relacionado com estresse oxidativo, inflamação crônica e lesão endotelial (12). Na verdade, algumas respostas agudas do exercício de alta intensidade podem influenciar na magnitude do *shear stress*, e causar alterações no fluxo sanguíneo (i.e. retrógrado e oscilatório) e na reatividade vascular (13,17,18). Em tese, no exercício intenso há uma maior produção de espécies reativas ao oxigênio (EROs) (19), o que poderia afetar a biodisponibilidade do NO, a integridade do endotélio e a homeostase vascular (13,20).

Diante desses achados controversos, permanece incerto se determinadas cargas de trabalho apresentam, de fato, maior vantagem em relação às outras, na

prescrição do exercício aeróbio. Além disso, não está totalmente elucidado se o exercício aeróbio intenso induz a desfechos benéficos na função microvascular de indivíduos obesos, ou se poderia exacerbar uma condição pré-existente de vulnerabilidade e disfunção endotelial. Assim, permanece a pergunta: qual a dose-ótima de exercício a ser aplicada nas rotinas de treinamento aeróbio para promover benefícios vasculares na obesidade ou no sobrepeso?

Para subsidiar uma melhor compreensão sobre o tema abordado, serão descritos nos tópicos a seguir os principais efeitos deste tipo de treinamento sobre os indicadores em questão, bem como delineados os objetivos e as respectivas hipóteses da presente Tese de Doutorado.

## 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 1.1 A obesidade e o sobrepeso

A obesidade e o sobrepeso são caracterizados pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, resultado de um balanço energético positivo que acarreta distúrbios sistêmicos no organismo e problemas significativos de saúde (21). Além da avaliação clínica, os índices de massa corporal (IMC)  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$  e entre  $25\text{--}30 \text{ kg/m}^2$  definem a obesidade e o sobrepeso, respectivamente. Segundo a OMS, a obesidade e o sobrepeso são consideradas doenças crônicas epidêmicas, que atinge indivíduos de países com diferentes níveis de desenvolvimento, independentemente de faixa etária, sexo ou etnia (22).

A etiologia da doença é complexa e multifatorial. Pode ser resultado de alterações no comportamento alimentar, no metabolismo energético, sedentarismo, hereditariedade, distúrbios hormonais, distúrbios neurológicos ou de condições psicossociais (23). O que torna a obesidade um problema significativo de saúde pública são os distúrbios cardiometabólicos inerentes, pois estão associados à redução da expectativa de vida e grande impacto na população, principalmente do ponto de vista sócio-econômico (8,22).

Globalmente, os índices de obesidade têm crescido ao longo dos anos, e tem sido difícil para muitos países controlarem esse crescimento, sobretudo os menos desenvolvidos. Na América Latina, por exemplo, existe uma preocupação de que, políticas públicas em saúde sejam discutidas e elaboradas o quanto antes na tentativa de acompanhar a rápida transição do baixo peso corporal e desnutrição para sobrepeso e obesidade; uma tendência observada recentemente na população infantil dos países dessa região (24).

No Brasil, estimativas recentes mostraram uma prevalência de obesidade em torno de 11% em homens, 20% em mulheres e 10% em crianças. Os dados de sobrepeso são mais alarmantes, uma vez que 52% dos homens e 58% das mulheres se enquadram nesta categoria. Tudo isso direcionou o país a ocupar a 5ª posição no *ranking* dos 10 países onde mais de 50% dos indivíduos obesos de todo

o mundo vivem, estando atrás apenas de Estados Unidos, China, Índia e Rússia (22,24).

O aumento do sedentarismo e do consumo de alimentos com alto teor de lipídios e carboidratos têm favorecido o crescimento da doença no mundo todo. A soma desses fatores resulta no acúmulo de gordura no organismo, bem como o desenvolvimento inerente de alterações metabólicas, inflamatórias, hormonais e hemodinâmicas. Com o tempo, tais alterações predis põem o indivíduo à uma série de doenças que aumentam o risco cardiovascular, tais como: dislipidemia, diabetes tipo II (DM2), hipertensão arterial, aterosclerose e doença arterial coronariana (DAC) (25,26).

### 1.1.1 Alterações vasculares relacionadas à obesidade e ao sobrepeso

As alterações vasculares iniciam de forma complexa e silenciosa, mas podem ser detectadas antes mesmo do diagnóstico efetivo da obesidade, quando há acúmulo de adiposidade visceral e aumento do IMC. Elas se tornam mais significativas à medida que as alterações metabólicas e hormonais se agravam, e a proliferação de adipócitos aumenta (6).

No segmento da microcirculação, o excesso de adiposidade é conhecido por ocasionar alterações estruturais e disfunção microvascular (27). Prejuízos na ação da insulina sobre os microvasos e processos inflamatórios crônicos que iniciam nos adipócitos são capazes de afetar o recrutamento capilar, desregular a função endotelial e levar ao predomínio da vasoconstrição nas arteríolas (5,28). Da disfunção endotelial emergem os processos iniciais de formação da placa de ateroma, com leucócitos mononucleares sendo atraídos para o endotélio arterial por moléculas de adesão celular (VCAM-1, ICAM-1) (29).

O processo inflamatório se agrava com a infiltração de partículas de LDL no espaço sub-endotelial das artérias, ocasionada pelo excesso de gordura no organismo (5). Isto porque a oxidação dessas partículas aumenta a produção de espécies reativas (EROs), citocinas e macrófagos no endotélio. O avanço desse processo resulta em aterosclerose – doença progressiva que causa o estreitamento do lúmen do vaso, formação de trombos e redução da complacência arterial (30).

Todas essas alterações vasculares, sobretudo as que ocorrem na microcirculação, aumentam a resistência vascular periférica, e conseqüentemente, a pressão arterial. A elevação da pressão é uma alteração hemodinâmica considerável na obesidade e no sobrepeso, que ocorre em função da maior reabsorção tubular do sódio e do desvio da natriurese pressórica (31). A maior ativação do sistema renina-angiotensina e da leptinemia (proporcional ao tecido adiposo) também podem aumentar a atividade simpática, que medeia a elevação da pressão (25,32). O fato é que hipertensão dificulta a passagem do sangue e a oxigenação de tecidos, o que implica em maior risco de eventos graves, como o infarto agudo do miocárdio e o acidente vascular encefálico (30,33).

Em outras palavras, à medida que o indivíduo permanece ao longo dos anos com elevado peso corporal e adiposidade acumulada, os danos (micro)vasculares se agravam, as alterações hemodinâmicas se cronificam e o comprometimento de órgãos-alvo (rins, cérebro e coração) tende à ser irreversível.

## 1.2 Estresse oxidativo

O aumento do consumo de oxigênio e a ativação de algumas vias metabólicas em condições de defesa do organismo resultam na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) ou nitrogênio (ERN) (12,34). As EROs, que têm papel importante nas funções fisiológicas, podem ser divididas em radicais livres e em compostos não radicalares (35). O termo “espécies reativas” tem sido adotado para se referir em conjunto a ambos os compostos (36), sem dividir suas respectivas atuações. A formação de radicais ocorre em cenário de reações redox, onde átomos/moléculas ficam ao menos com um elétron desemparelhado, que permite a transferência de elétrons com moléculas vizinhas. Dentre os principais radicais estão o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) e o íon hidroxil ( $OH^{\cdot}$ ) – que é altamente reativo e tem forte potencial oxidativo (34,37).

Os compostos não radicalares são menos instáveis que os radicais, mas têm capacidade similar de reagir com moléculas ao redor. Esses compostos podem ser formados pela dismutação de outras espécies reativas. Por exemplo, o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) é um metabólito formado quando o ânion superóxido é dismutado.

Apesar de seu baixo potencial oxidativo, é considerado citotóxico por sua capacidade de produzir radicais hidroxil (34,37). Dentre todos os radicais, o hidroxil tem a maior capacidade reativa e pode causar inativação, ou mutação do DNA (37).

De modo geral, a formação de EROs está envolvida em vários processos normais do metabolismo, que são necessários para a manutenção da homeostase. Produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular e sinalização são alguns exemplos onde há formação de EROs (38). No entanto, quando há aumento da produção de EROs, o sistema antioxidante age de maneira regulatória, impedindo que esse aumento de EROs provoque danos celulares (36).

Do contrário, quando o aumento da produção de EROs se sobrepõe à capacidade de atuação do sistema antioxidante resulta em estresse oxidativo (39). O estresse oxidativo é uma condição onde há desequilíbrio no balanço redox por radicais livres, que pode ocasionar danos variados aos componentes celulares (12). Basicamente, ele é caracterizado por um conjunto de eventos: a) aumento da produção de EROS; b) redução da efetividade dos antioxidantes; c) distúrbio no balanço redox; d) dano celular (i.e. peroxidação lipídica da membrana, dano proteico, ou quebra de DNA) (36).

Nas alterações vasculares derivadas da obesidade ou do sobrepeso, o estresse oxidativo é um dos principais processos envolvidos na inflamação do tecido adiposo acumulado. O aumento de macrófagos estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias, exacerba a produção de EROs e ERN e aumenta a expressão da óxido nítrico sintase induzível (iNOS). O NO reage com o  $O_2^{\cdot-}$ , produz  $ONOO^-$  e outros compostos que perpetuam o quadro inflamatório (8). Diferentemente das alterações vasculares, o aumento da produção de EROs no exercício aeróbio resulta em adaptações benéficas no sistema antioxidante, e decorre de taxas elevadas de atividade mitocondrial e consumo de oxigênio (36). O efeito do estresse oxidativo em ambos os contextos de doença e exercício físico serão descritos com mais detalhes, nas seções à seguir.

## 1.3 A microcirculação

### 1.3.1. Estrutura e Função

Formada basicamente por arteríolas, capilares, vênulas e microlinfáticos, a microcirculação é um sistema que tem como principal função adequar a oferta tecidual de oxigênio à demanda celular (40). É através deste sistema que ocorre a remoção de metabólitos e a nutrição tecidual, os quais são cruciais para manter a integridade e a funcionalidade dos órgãos. Além do papel central no transporte de O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, nutrientes e hormônios, a microcirculação é conhecida por abranger outros processos fisiológicos fundamentais, tais como: angiogênese, coagulação, resposta imunológica, controle da pressão arterial e ajuste da temperatura corporal (41).

Na definição clássica, a microcirculação está situada na porção do leito vascular onde os vasos possuem diâmetro máximo na faixa de 100 – 150 µm (42). No entanto, essa definição estritamente morfológica vem dando lugar à uma definição mais funcional, na qual o tônus miogênico passou a ser considerado (40). O tônus miogênico é um mecanismo intrínseco do músculo liso, que contrai em resposta à distensão da parede vascular. Assim, todas as arteríolas e pequenas artérias que apresentam variações no tamanho do lúmen em resposta ao aumento de pressão são consideradas integrantes da microcirculação, independentemente do diâmetro (40,43).

Em uma breve descrição do sistema, pequenas artérias e arteríolas são típicos vasos de resistência, que controlam a distribuição do fluxo sanguíneo de acordo com a demanda tecidual. Esse controle é feito através da vasodilatação e da vasoconstrição, onde o diâmetro dos vasos é ajustado conforme a necessidade (41). Portanto, quando há diminuição ou aumento da biodisponibilidade de O<sub>2</sub> em determinado tecido, as arteríolas dilatam ou contraem a fim de aumentar ou reduzir o fluxo naquele local. Além do controle do fluxo, esses ajustes também influenciam na resistência vascular periférica, na filtração capilar, no retorno venoso, e por conseguinte, na pressão arterial (43).

Do ponto de vista morfofuncional, a presença de músculo liso, esfíncteres e inervação perivascular nas arteríolas é o que proporciona as alterações de diâmetro,

que ocorrem em resposta à estímulos neurais, metabólicos e humorais (40). Em adição, a predominância do tônus miogênico nas arteríolas exerce um papel protetor, atenuando o impacto da pressão relativamente alta das artérias sobre os microvasos (41). Assim, ao ajustar o calibre em função de variações de pressão, elas protegem os órgãos e respectivos capilares de danos ocasionados por hipertensão e hiperperfusão.

Os capilares são considerados vasos de troca, cujas paredes são mais finas e bastante permeáveis à água e outras moléculas. Os processos de troca são proporcionados pela própria estrutura, formada por endotélio, lâmina basal e pericitos (44). Embora parte do fornecimento de O<sub>2</sub> possa acontecer nas arteríolas terminais, o maior sítio de difusão para os tecidos é formado, de fato, no segmento dos capilares. Estes vasos têm a menor faixa de diâmetro do sistema, mas a maior área de secção transversa, o que possibilita uma ampla superfície de troca (43,45).

Diferentemente de outros microvasos, a distinção entre os capilares é feita com base na estrutura, que está relacionada ao grau de permeabilidade e também depende da demanda do órgão onde os capilares estão inseridos (44). Ou seja, os capilares de órgãos que necessitam da passagem de grandes moléculas (ex: fígado), apresentam aberturas e poros proporcionalmente maiores do que aqueles capilares cujo os órgãos lidam apenas com o fluxo de íons e pequenas moléculas (ex: músculo esquelético) (43) .

Após os capilares, o sangue alcança as vênulas, que apresentam uma camada de músculo liso bem menos espessa em relação à das arteríolas. Por causa da localização, qualquer ajuste no calibre venular altera a resistência pós-capilar, a pressão hidrostática nos capilares e a perfusão tecidual (43). Na resposta inflamatória, as vênulas pós-capilares formam um sítio microcirculatório propício para rolamento, adesão e transmigração de leucócitos (44). As vênulas dão origem às pequenas veias, que possuem elevada capacidade de armazenamento de sangue. A partir delas, o fluxo sanguíneo segue para as grandes veias, retornando para a macrocirculação e coração (43).

Em última análise, a heterogeneidade é a principal característica da microcirculação. Arteríolas, capilares e vênulas se diferenciam no mais amplo sentido: quanto à estrutura, à organização nos tecidos, e à maneira de responder aos estímulos (40). Contudo, apesar dessas diferenças, todos eles têm em comum a presença de um componente-chave: o endotélio.

### 1.3.2 O endotélio

Considerado um órgão endócrino, o endotélio é composto por uma camada contínua de células endoteliais, que reveste a parede interna de todos os vasos sanguíneos, vasos linfáticos e câmaras cardíacas (46). A localização estratégica entre músculo liso e o lúmen do vaso permite que o endotélio responda à estímulos químicos e mecânicos, provenientes do sangue, da parede vascular e do interstício. Hipóxia, forças hemodinâmicas, neurotransmissores, íons e acúmulo de radicais livres são alguns deles (5,47).

Quando íntegro, o endotélio exerce um papel vasculoprotetor e produz substâncias vasoativas que atuam de forma modulatória sobre o músculo liso, e sobre o próprio endotélio. Tais substâncias são responsáveis por regular o tônus vascular, a adesão leucocitária, a coagulação, a agregação plaquetária, fibrinólise e a proliferação de células musculares lisas vasculares (CMLV) (46,48). Quando lesionado, o endotélio passa a ter dificuldade em regular esses processos e se torna disfuncional, à medida que a síntese de fatores pró-inflamatórios e a vasoconstrição sobrepõem-se aos níveis ótimos (49,50).

O papel vasculoprotetor do endotélio é conferido, sobretudo, com a ajuda do glicocálice – uma rede composta por proteoglicanos e glicoproteínas ligadas à moléculas solúveis do plasma e do endotélio. Localizada entre as células endoteliais e o sangue, esta rede negativamente carregada atua como uma barreira seletiva, que ajuda na regulação da permeabilidade vascular e adesão leucocitária (51,52). A ligação da enzima superóxido dismutase (ecSOD) com proteoglicanos e glicoproteínas também é importante, pois protege contra danos vasculares em estados pró-oxidantes (53). Portanto, quaisquer alterações fisiopatológicas que modifiquem a composição dessa barreira, afetam, conseqüentemente, a homeostase vascular.

### 1.3.2.1 Vasodilatação e vasoconstrição dependente do endotélio

De maneira autônoma, o músculo liso e a inervação simpática vascular podem mediar a vasoconstrição e a vasodilatação sem depender necessariamente do endotélio (54). Sob a ação de neurotransmissores e hormônios, ambas se fazem presentes nas arteríolas, controlando o suprimento de sangue para órgãos e tecidos. No entanto, a maioria dos estímulos químicos e físicos requer a síntese de substâncias vasoativas pelo endotélio, que interagem de forma efetiva com o músculo liso para promover vasodilatação e vasoconstrição (43,55).

No que se refere à vasodilatação dependente do endotélio, o óxido nítrico (NO) é considerado uma das substâncias mais importantes para o controle do fluxo sanguíneo e do tônus vascular. Em condições fisiológicas, a síntese do NO se deve, principalmente, ao *shear stress* (ou *estresse por cisalhamento*) (56). Contudo, ele também pode ser sintetizado a partir da liberação de outras substâncias, tais como: bradicinina, serotonina, adenosina e acetilcolina (ACh) (43).

O *shear stress* é um estímulo mecânico no qual as hemácias exercem fricção sobre as células endoteliais à medida que o sangue flui pelo vaso (13). Nesse caso, o endotélio funciona como um mecanotransdutor que ativa a síntese de NO a partir das deformações mecânicas causadas pelo fluxo sobre as células endoteliais (57). Esse estímulo é responsável por manter um nível basal de vasodilatação, que é fundamental para a manutenção do tônus vascular (58). Do contrário, uma tendência vasoconstritora mediada pelo tônus miogênico prevaleceria, e um significativo impacto na pressão sistêmica seria observado.

O NO é formado a partir da L-arginina pela ação da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) – a isoforma predominante da enzima na vasculatura. Ao converter a L-arginina em L-citrulina, a eNOS sintetiza NO e aumenta sua biodisponibilidade. Assim, o NO se difunde para as CMLV e ativa a enzima guanilato ciclase solúvel (sGC), aumentando os níveis da guanosina 3'-5'-monofosfato cíclica (GMPc) e diminuindo a concentração de  $Ca^{2+}$  intracelular. O resultado disso é a hiperpolarização de CMLV, o relaxamento do músculo liso e a vasodilatação (59,60).

A despeito de uma participação mais discreta na vasodilatação dependente do endotélio em condições normais, a prostaciclina ( $PGI_2$ ) atua sinergicamente com o NO, sobretudo em processos inflamatórios e de reparo à dano vascular. A  $PGI_2$  é

um potente anti-agregante plaquetário e o aumento de sua produção está associado à processos de coagulação, onde é necessário limitar a extensão da formação de trombos na vasculatura (5).

O fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) também tem ação vasodilatadora, exatamente por sua ação hiperpolarizante sobre CMLV. Sua importância reside na manutenção do tônus vascular quando há redução da biodisponibilidade do NO; e apesar de sua identidade química não ter sido completamente elucidada, sabe-se que o EDRF promove a vasodilatação através da ativação de canais de  $K^+$  (59,61).

No que tange à vasoconstrição, a endotelina 1 (ET-1) tem potente efeito vasoconstrictor e pró-aterogênico, mas precisa se ligar à receptores específicos no músculo liso para que tais efeitos ocorram (49). *Shear stress*, hipóxia e aumento da produção de radicais livres são alguns dos fatores que estimulam a liberação de ET-1 pelo endotélio (62). Após a sua liberação, canais de  $Cl^-$  se abrem e os de  $K^+$  se fecham, despolarizando as CMLV (43).

O tromboxano  $A_2$  ( $TXA_2$ ) também causa vasoconstrição. Ele é um pró-agregante plaquetário e sua liberação pelas células endoteliais pode ser estimulada pela própria ET-1. Em processos inflamatórios crônicos,  $TXA_2$ , algumas prostaglandinas e ET-1 medeiam eventos que induzem ao aumento da permeabilidade vascular, proliferação celular e de EROs (5,49). Nesse sentido, o aumento da produção do ânion superóxido ( $O_2^-$ ) também causa vasoconstrição, dado a sua capacidade de se combinar com o NO e produzir peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), diminuindo a biodisponibilidade de NO (63).

Na microcirculação, dois mecanismos importantes lançam mão da vasoconstrição e a vasodilatação para regular a distribuição do fluxo local: a reatividade vascular e a vasomotricidade (64,65). Embora eles estejam integrados quanto ao objetivo, se dissociam no sentido da magnitude de resposta. Na vasomotricidade, vasos pré-capilares, contraem e relaxam ritmicamente aumentando o fluxo sanguíneo médio (66) diminuindo a resistência microvascular (67). Em contrapartida, níveis elevados de vasoconstrição ou vasodilatação podem ser alcançados com a reatividade vascular (64,68).

### 1.3.3 A reatividade vascular

A reatividade vascular é um mecanismo fisiológico proeminente, no qual o órgão e o fluxo sanguíneo local se adaptam às demandas teciduais agudas e crônicas (64). Ela pode ser avaliada através de variações do diâmetro de artérias e arteríolas, assim como pela variação do volume de sangue circulante, sob aplicação de substâncias vasoativas, isquemia e reperfusão, ou estímulo elétrico (69).

A reatividade é uma das formas de avaliar a função endotelial, e pode ser feita sob a perspectiva micro ou macrovascular. Em ambas as perspectivas, a ideia central é 'desafiar' o endotélio e a parede vascular a responderem proporcionalmente à altura dos estímulos fornecidos (69,70). Assim, a capacidade dos microvasos de reagirem à tais estímulos varia amplamente, e depende da integridade do endotélio e das demandas de fluxo impostas ao organismo, aguda e cronicamente.

A redução da reatividade vascular reflete um quadro de disfunção endotelial, que pode ser definido por alterações no relaxamento vascular dependente do endotélio, em que os efeitos vasoconstritores sobrepõem-se aos efeitos vasodilatadores. Nesse contexto, a reatividade encontra-se prejudicada em função do comprometimento das células endoteliais e da biodisponibilidade reduzida do NO (71).

De um modo geral, enquanto o comprimento do vaso e a viscosidade do sangue são relativamente constantes, a variável que causa maior impacto na resistência ao fluxo é o diâmetro do vaso (43). Com base na equação de Poiseuille, uma pequena mudança no raio gera uma grande mudança na resistência ao fluxo, tornando qualquer alteração na microcirculação de grande influência para pressão sanguínea (72). Por esse motivo, a reatividade microvascular representa uma das variáveis mais importantes na avaliação da saúde cardiovascular.

### 1.3.3.1 Métodos de avaliação da reatividade vascular

Em humanos, um método bastante utilizado para avaliar a reatividade vascular é a dilatação mediada pelo fluxo (FMD). A vasodilatação proeminente ocorre como resultado de uma hiperemia reativa após oclusão da artéria braquial, e reflete a capacidade do endotélio reagir de forma proporcional ao aumento do *shear-stress* e da difusão do NO para as CMLV (73). Embora a FMD seja avaliada em um vaso de condutância, a magnitude da vasodilatação pós-isquêmica é determinada, ao menos em parte, pela função microcirculatória (48). Além disso, a FMD tem forte associação com avaliação da reatividade de artérias coronárias – método invasivo que mede a velocidade do fluxo sanguíneo coronário e a produção máxima de vasodilatação microvascular através de um cateter, valendo-se do princípio Doppler (69,74).

A reatividade também pode ser examinada pela variação do fluxo sanguíneo ou do diâmetro vascular, após a aplicação substâncias vasoativas como a Acetilcolina (ACh) e o Nitroprussiato de Sódio (SNP) (70,75). Enquanto a ACh estimula a vasodilatação através de receptores M<sub>3</sub> no endotélio, o SNP é usado como comparativo de vasodilatação endotélio-independente, pois é um doador exógeno de NO e estimula diretamente o relaxamento de CMLV (69,70).

As variações do fluxo podem ser quantificadas pela fluxometria por Laser Doppler (*Laser Doppler Perfusion Imaging - LDPI*), que tem sido adotada tanto na pesquisa clínica quanto na experimental. A LDPI não é invasiva e fornece uma avaliação quantitativa da perfusão tecidual à nível microvascular, baseando-se no efeito Doppler de um feixe de raios refletidos por células sanguíneas em movimento. Em humanos, as substâncias vasoativas podem ser aplicadas na região de interesse de forma subdermal, através de eletrodos (iontoforese) (76,77) para avaliar a reatividade. Em animais, métodos invasivos são inevitáveis para expor órgãos e regiões de interesse que serão analisados na LDPI.

Tratando-se de modelo animal, a variação do diâmetro de arteríolas também pode ser observada por microscopia intravital, em resposta à protocolos que estimulem reatividade *in vivo*. Esses protocolos valem-se da aplicação tópica de vasodilatadores ou vasoconstrictores em doses cumulativas (5,75), em preparações cirúrgicas como a bolsa da bochecha do hamster (*hamster cheek pouch*), músculo

cremaster, cérebro e mesentério (78–81). Além da ACh e do SNP, outras substâncias vasoativas também são descritas na literatura, tais como: Fenilefrina, Endotelina, Insulina e Adenosina (79,82,83).

Outra possibilidade existente em modelo animal são os experimentos *in vitro*. A técnica de banho de órgãos é comumente usada para avaliar a vasorreatividade de artérias isoladas em resposta às substâncias vasoativas (84–86). Diferentemente dos experimentos *in vivo*, a vasodilatação e a vasoconstricção traduzem-se nas mudanças de tensão do vaso, medidas por miógrafos ou sistemas digitais (76). Quanto à reatividade microvascular, a canulação com micropipeta viabiliza a realização de experimentos *in vitro* em arteríolas isoladas. Rosseguini et al. (2010), por exemplo, valeram-se desta técnica associada ao microscópio invertido para investigar o padrão de vasodilatação de arteríolas de primeira e terceira ordem (1A e 3A), em resposta à estímulos metabólicos locais (87).

Embora os experimentos *in vitro* tenham boa reprodutibilidade e permitam identificar mudanças vasculares rápidas e transitórias induzidas pelos estímulos aplicados, os experimentos *in vivo* asseguram que os processos biológicos de todo o organismo estejam presentes enquanto a função endotelial é avaliada (76). Para a pesquisa translacional isto pode ser útil, uma vez que os eventos que ocorrem no domínio vascular não estão isentos da influência dos demais sistemas, e não se limitam apenas ao músculo liso e ao endotélio.

#### 1.3.4 Fisiopatologia das alterações microcirculatórias na obesidade e no sobrepeso

O quadro pró-inflamatório e as alterações metabólicas que se estabelecem com o excesso de adiposidade é o ponto de partida para as alterações microcirculatórias na obesidade e no sobrepeso. Esse quadro implica no aumento da geração de EROs, estresse oxidativo e vasoconstricção (39,88), que se sustenta de forma cíclica e tem contribuição de diferentes vias.

O início do problema reside na hipertrofia dos adipócitos, com uma alteração denominada de rarefação capilar. Na rarefação, a quantidade de capilares perfundidos são reduzidos e um menor aporte sanguíneo é fornecido aos adipócitos (5,89). Com isso, um quadro de hipóxia e necrose celular se estabelece, dando

origem à infiltração de macrófagos e à um processo inflamatório crônico mediado por EROs, adipocinas e células do sistema imune (8,90).

A produção de EROs reduz a atividade do transportador de glicose (GLUT-4), o que contribui para que haja um excedente de glicose no organismo e resistência à insulina (91). Nesse quadro de resistência, a via de sinalização da insulina (que estimularia as células endoteliais a produzir NO) fica prejudicada, enquanto que a liberação de ET-1 é supra-regulada, levando à um desequilíbrio na resposta vascular. Com predomínio da liberação de ET-1 em detrimento da biodisponibilidade do NO, a vasoconstrição aumenta e a geração de outras espécies reativas também (5,20).

Em adição, o peroxinitrito, que é uma espécie reativa de nitrogênio (ERN) formada pela reação do aniôn superóxido ( $O_2^-$ ) com o NO (36), pode diminuir a biodisponibilidade da tetrahydrobiopterina (BH4), co-fator essencial na produção da eNOS (59). Na ausência de BH4, ocorre desacoplamento da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), que produz  $O_2^-$  em vez de NO (39). O  $O_2^-$  *per se* tem potencial vasoconstritor, capaz inativar o NO e comprometer a vasodilatação (49).

Outra via que contribui para a disfunção endotelial é o aumento de ácidos graxos não-esterificados (NEFA), que inibe, a vasodilatação induzida pela insulina via diminuição da liberação de NO e promove vasoconstrição via aumento da produção de ET-1 (5,6). Independente disso, a presença de NEFA está relacionada ao aumento de partículas de LDL, que penetram no espaço subendotelial, onde a ação de macrófagos aumenta, culminando em estresse oxidativo, lesão endotelial e aterosclerose (6).

A contribuição de algumas adipocinas também pode ser destacada nesta tríade composta por inflamação, estresse oxidativo e redução da vasodilatação. A leptina, por exemplo, exerce efeitos vasculares adversos, apesar de seu papel regulador do apetite. Quando seus níveis estão elevados, ela induz à agregação plaquetária, promove proliferação e hipertrofia de CMLV (64) e piora a distensibilidade da parede arterial (8). Além disso, tem sido associada com o aumento da atividade do sistema nervoso simpático renal, conduzindo à hipertensão arterial (32).

O TNF- $\alpha$  e a IL-6 são adipocinas clássicas envolvidas na resposta inflamatória. Ambas são largamente produzidas pelo tecido adiposo branco e medeiam a resistência à insulina (92). O TNF- $\alpha$  pode diminuir a resposta

vasodilatadora a partir do seu papel redutor da atividade da eNOS e como ativador de geração de EROs (12). Em adição, ele aumenta os níveis circulantes de angiotensina II, que tem potente ação vasoconstritora sobre as CMLV (7).

Sobre a IL-6, os adipócitos e macrófagos contribuem para estimular a sua produção, a qual inibe as ações metabólicas da insulina no fígado e estimula a produção de proteína C-reativa (5,8). Apesar dessa contribuição nos processos inflamatórios, alguns estudos mostraram que a IL-6 desempenha um papel anti-inflamatório em condições de exercício físico. Nesse caso, o aumento da produção de IL-6 pelas fibras musculares é capaz de inibir a produção de TNF- $\alpha$ , estimular a produção de outras citocinas anti-inflamatórias e favorecer a lipólise e a oxidação de lipídios (93).

## **1.4 Exercício Aeróbio**

### 1.4.1 Características da prescrição do treinamento

O termo *Exercício Aeróbio* é utilizado para denominar atividades físicas de natureza rítmica, que são praticadas de modo regular e envolvem o recrutamento de grandes grupos musculares por período prolongado ( $\geq 10$  min). A produção de energia para este tipo de atividade provém, predominantemente, da oxidação de substratos como carboidratos e gorduras, via fosforilação oxidativa. A mobilização de taxas mais altas de ácidos graxos e considerável gasto calórico obtido com este tipo de exercício é a principal justificativa para a prescrição em indivíduos obesos, com sobrepeso (ou mesmo hígidos), reduzindo a tendência ao acúmulo da adiposidade e aumentando a capacidade física (94).

Em termos de prescrição do treinamento, existem três métodos que são comumente adotados: o intervalado de alta intensidade (HIIT), o contínuo moderado (MICT) e o contínuo de alta intensidade (94). De maneira geral, o treinamento aeróbio feito com intensidade moderada a alta é capaz de produzir efeitos crônicos benéficos em indivíduos obesos e eutróficos, especialmente sobre indicadores cardiovasculares e metabólicos. Todavia, para que tais adaptações ocorram é

necessária a combinação de algumas variáveis adotadas na prescrição do exercício, que são (11):

- a) Volume total: É a interação entre intensidade, duração e frequência do exercício, que determina o dispêndio energético global da atividade;
- b) Intensidade: Descreve a carga de trabalho utilizada sobre o sistema cardiovascular. É expressa como uma porcentagem da carga máxima, que pode ser obtida através da avaliação física individual. No exercício aeróbio, a carga é habitualmente determinada pelos percentuais da frequência cardíaca máxima (%FC max), ou de reserva (%FC<sub>RES</sub>); e pelos percentuais de consumo máximo de O<sub>2</sub> (%VO<sub>2</sub> max), ou consumo de reserva de O<sub>2</sub> (% VO<sub>2RES</sub>);
- c) Duração: É a quantidade de tempo que dura cada sessão de exercício. Vale considerar que à medida que aumenta a intensidade, a duração necessária para atingir determinado gasto calórico (volume) diminui;
- d) Frequência: É expressa pelo número de vezes na semana que o exercício é realizado. A recomendação é de 3 a 5 vezes na semana, dependendo do volume de exercício. No entanto, uma frequência semanal elevada não reflete ganhos adicionais na aptidão física, além de estar associada ao aumento nas incidências de lesões, sobretudo em populações específicas;
- e) Tipos de exercício: Os exercícios aeróbios podem envolver grandes grupamentos musculares em atividades rítmicas ou dinâmicas, como a corrida, caminhada, ciclismo ou natação. Em exercícios nos quais o indivíduo sustenta a própria massa corporal, como na corrida ou caminhada, o custo energético bruto do exercício tende a ser maior.

#### 1.4.1.1 Treinamento contínuo de intensidade moderada (MICT)

O treinamento contínuo (*moderate intensity continuous training* - MICT), ou de *endurance* é caracterizado pela execução de exercícios com duração prolongada e manutenção do organismo em *steady-state* (95). A intensidade moderada assegura a continuidade do exercício, e segundo as diretrizes, pode variar entre as seguintes faixas: 40–59% da  $FC_{RES}$  OU do  $VO_{2RES}$ ; 64–76% da  $FC_{max}$ ; 46–63% do  $VO_{2max}$  (11). Do ponto de vista metabólico, o elevado dispêndio energético obtido com este tipo de exercício deve-se à participação constante da via oxidativa na síntese e ressíntese de ATP. Os carboidratos e lipídios são os principais substratos metabolizados e podem ser obtidos de fontes extra-musculares (i.e, glicose absorvida pelo trato gastrointestinal, glicogênio hepático e de ácidos graxos livres, produzidos pela lipólise) (95).

#### 1.4.1.2 Treinamento intervalado de alta intensidade

O treinamento intervalado de alta intensidade (*high intensity interval training* - HIIT) é composto por exercícios em que são executados estímulos repetidos na alta intensidade por um determinado período de tempo, alternados com períodos de recuperação em uma faixa de intensidade mais baixa. Basicamente, o HIIT apresenta quatro formatos: a) estímulos repetidos submáximos curtos (< 45 s); b) estímulos repetidos submáximos mais longos (2 – 4 min); c) sequência de estímulos máximos ( $\leq 10$  s); d) *sprints* intervalados (20 – 30s) (96).

Este tipo de protocolo de treinamento oferece uma ampla faixa de intensidade e duração a ser trabalhada, o que permite que diversas variações sejam aplicadas, de acordo com o estado de saúde e objetivo do indivíduo (94). Assim, é possível realizar uma quantidade maior de exercício na alta intensidade, o que normalmente não seria viável se o exercício progredisse de maneira contínua (96).

Por intercalar estágios de alta intensidade com *steady-state*, o HIIT tem contribuições de diferentes vias metabólicas. Ambos os sistemas anaeróbio (hidrólise de PCr, glicólise) e aeróbio (oxidativo) produzem energia para as sessões

de HIIT, sendo o carboidrato o principal substrato utilizado. A oxidação lipídica também é importante, principalmente em períodos de recuperação do estímulo, e quando a duração da sessão é prolongada. Embora exista uma concepção baseada no senso comum, de que a produção de energia no HIIT venha exclusivamente da glicólise anaeróbia, muitos autores têm elucidado que todas as vias metabólicas estão ativadas quando a atividade contrátil inicia, e que o montante de contribuição de cada via é que varia conforme a sessão de exercício progride (95).

#### 1.4.1.3 Avaliação do dispêndio energético nas sessões de exercício aeróbio

A avaliação do gasto calórico durante o exercício tem sido adotada principalmente nos programas de treinamento de indivíduos obesos e com sobrepeso, como forma de controlar o volume de exercício e seu efeito no balanço energético. Nas diretrizes mais recentes do *American College of Sports Medicine* (ACSM), um volume de treinamento de 1000 kcal/semana foi recomendado para a população em geral, a ser alcançado com a realização de atividades físicas de intensidade moderada à vigorosa (11).

O controle do dispêndio energético permite diversificar o programa de treinamento, trabalhando com a prescrição de protocolos de diferentes intensidades e tipos de exercício. Essa diversificação torna o programa mais dinâmico e aumenta a motivação e o engajamento do participante, otimizando o alcance das metas propostas com a intervenção (97).

No âmbito da pesquisa, alguns estudos têm controlado o dispêndio energético ao compararem os efeitos do MICT com o HIIT sobre marcadores cardiovasculares e de aptidão física (1,98–100). Isto porque, sessões de exercício com maior intensidade podem, igualmente, associar-se à um custo calórico maior em comparação com sessões de menor intensidade, introduzindo um fator de confundimento que dificulta ilações sobre as relações entre intensidade, volume e os desfechos encontrados. A partir dessa necessidade, o termo ‘sessões isocalóricas’ emergiu na literatura, designado à protocolos de treinamento que trabalham em diferentes faixas de intensidade mas controlam o dispêndio energético durante o exercício, igualando o volume do treinamento (101).

Basicamente, há dois métodos de estimativa do dispêndio energético, adotado para proceder com as sessões isocalóricas. Um deles é a medida do consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) por calorimetria indireta, que assume a equivalência de 5 kcal para cada 1L de  $O_2$  consumido (101). O outro é predição do  $VO_2$  pela FC alvo, monitorada durante a sessão de exercício. Nesse caso, equações são utilizadas para estimar o dispêndio energético com base na medida da FC (102).

#### 1.4.2. Exercício aeróbio e estresse oxidativo

No exercício, os principais locais onde ocorre um aumento da produção de EROs são o músculo esquelético e o coração, em função do aumento da atividade contrátil (36). Nesse caso, as mitocôndrias são uma das principais fontes produtoras de EROs, uma vez que o exercício eleva a taxa de consumo de oxigênio e de radicais provenientes da cadeia de citocromos (34). Para equilibrar esse aumento de EROs decorrente da atividade contrátil, o sistema antioxidante também tem sua atividade aumentada.

As peças-chave que contribuem para a efetividade deste sistema são a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPX), pois evitam o acúmulo dos radicais hidroxil e peróxido de hidrogênio. Basicamente, a SOD dismuta o ânion superóxido para formar peróxido de hidrogênio, enquanto a CAT elimina este metabólito formando duas moléculas de água ( $H_2O$ ) e uma de oxigênio ( $O_2$ ). A GPX converte a glutathione reduzida (GSH) à sua forma oxidada (GSSG), produzindo água e álcool, eliminando o peróxido de hidrogênio (34). Embora a glutathione (GSH) seja um antioxidante não enzimático, ela também ganha destaque com papel protetor, pois dentre outras funções, atua como substrato para a enzima GPX (36).

Do ponto de vista bioquímico, o aumento da atividade dessas enzimas é um dos principais desfechos esperados com uma rotina de exercícios aeróbicos. Estudos vêm demonstrando que as exposições regulares ao estresse induzido pelo exercício aumentam de forma crônica a resistência ao estresse oxidativo (12,19), e também é capaz de conferir um efeito cardioprotetor (103,104). Em contrapartida, um aumento da magnitude desse estresse físico, causado por uma 'dose' mais alta

de exercício, poderia desafiar demasiadamente o sistema antioxidante, desequilibrar as reações redox e ocasionar estresse oxidativo a nível sistêmico (12,18,105). Essa ação protetora dos antioxidantes como adaptação ao treinamento físico depende de uma série de fatores, tais como idade, sexo e condicionamento físico. Porém, a manipulação da intensidade e da duração ainda parece ser preponderante para obter desfechos positivos ou negativos neste contexto (19,106).

Níveis elevados de SOD e GPX têm atribuído ao exercício de alta intensidade um *status* de superioridade na resistência contra o estresse oxidativo (36,107,108), a despeito de estar associado com a maior produção de espécies reativas e danos teciduais (9,60). A intensidade moderada também é capaz de estimular a atividade de enzimas antioxidantes, estimulando de forma moderada a produção de EROs. Na verdade, o treinamento moderado tem sido descrito como 'suficiente' para conferir esse efeito protetor.

Há evidências de que, quando o exercício é realizado em intensidades menores (i.e. leve à moderada), mas com longa duração (60–90 min./dia), pode regular positivamente a atividade antioxidante sem elevar os riscos de dano por estresse oxidativo (9,106). Diante de tais informações, pode-se dizer que o aumento da intensidade para indivíduos saudáveis resulta em maior defesa antioxidante (108,109). Isso é importante, tendo em vista a expressiva contribuição do estresse oxidativo para a formação de distúrbios vasculares e metabólicos (8,110).

O que ainda se mantém controverso é o efeito do estresse oxidativo induzido pelo aumento da intensidade em certas populações. Em indivíduos obesos, por exemplo, foi encontrado que o treinamento aeróbico intenso pode otimizar ganhos no sistema antioxidante e, conseqüentemente, em marcadores cardiovasculares (3). Outros estudos não encontraram mudanças no sistema e também não atribuíram à ele a melhora de tais marcadores com a alta intensidade (99).

#### 1.4.3 Efeitos do treinamento aeróbico sobre as alterações vasculares e estresse oxidativo na obesidade e sobrepeso

Na obesidade e no sobrepeso, uma série de evidências têm demonstrado que uma rotina de exercícios aeróbicos é capaz de melhorar a função endotelial

micro/macrovacular, aumentar a densidade capilar funcional, reduzir a permeabilidade de vênulas pós-capilares, inibir a formação de processos aterogênicos e melhorar a distensibilidade de artérias de condutância. (3,5,111). Tais efeitos estruturais e funcionais convergem para a redução do risco cardiovascular, reafirmando a importância da modificação no estilo de vida como fator de prevenção e de tratamento da doença (11).

Dentre todos os desfechos, a melhora da disfunção endotelial têm recebido uma atenção particular, por ser uma das primeiras alterações vasculares detectadas com o acúmulo de adiposidade, e um dos principais precursores de graves distúrbios hemodinâmicos e doenças cardiovasculares (29). Uma recente revisão verificou um efeito positivo do treinamento sobre a função endotelial de adultos obesos e com sobrepeso, avaliada pela FMD na artéria braquial (111). Na microcirculação, ganhos sobre a vasodilatação endotélio-dependente nas arteríolas corroboram tais efeitos benéficos obtidos com o treinamento (112,113). Em que pesem as evidências, dois questionamentos à respeito desses efeitos surgem mediante à variação dos protocolos de exercício na literatura, e subsidiam as hipóteses elaboradas nesta pesquisa de doutorado.

Primeiro, ainda não foi completamente elucidado se os efeitos do treinamento aeróbio sobre a função endotelial nesse contexto devem-se à intensidade, ou ao gasto calórico induzido pela atividade. Por um lado, adaptações benéficas na função endotelial são verificadas somente após uma rotina de exercícios intensos (10,24,99). As exposições repetidas da vasculatura ao maior *shear stress* e fluxo sanguíneo parecem ser responsáveis por um efeito superior na biodisponibilidade do NO e vasodilatação (13). Por outro lado, o aumento mínimo do dispêndio energético promovido pelo exercício parece ser suficiente para induzir à um padrão favorável de fluxo sanguíneo, estimular a produção de NO e a vasodilatação, independentemente da intensidade (114–116) . Assim, permanece a pergunta: qual a dose-ótima de exercício a ser aplicada nas rotinas de treinamento aeróbio para promover benefícios vasculares na obesidade e no sobrepeso?

O outro questionamento se refere ao estresse oxidativo induzido pelo treinamento intenso. A elevada produção de EROs induzido pelo exercício de alta intensidade gera adaptações benéficas em indivíduos saudáveis (19), mas não está totalmente elucidado se o mesmo ocorre em indivíduos obesos e com sobrepeso. Nesses indivíduos, a elevação aguda de EROs induzida pelo exercício (117) poderia

reduzir a biodisponibilidade do NO e agravar um quadro de disfunção endotelial pré-existente, decorrente do excesso de adiposidade (5,118).

Nesse caso, a escassez de evidências impede a confirmação absoluta de um desfecho positivo com o treinamento intenso nessa população, e acaba justificando a elaboração de novos estudos que investiguem se determinadas cargas de trabalho apresentam, de fato, maior vantagem em relação às outras. Tendo em mente esta lacuna, a presente tese de doutorado investigou em modelo animal, a existência de uma relação dose-dependente da intensidade do exercício sobre a melhora da função endotelial microvascular e marcadores de estresse oxidativo, conjuntamente.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

A presente Tese de Doutorado teve por objetivo investigar o efeito de diferentes intensidades de treinamento aeróbico, realizado com sessões isocalóricas, sobre a função endotelial microvascular e marcadores de estresse oxidativo vascular em ratos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica.

### 2.2 Objetivos específicos

- a) Comparar os efeitos das intensidades moderada e alta de treinamento aeróbico isocalórico sobre a vasodilatação endotélio-dependente avaliada através da reatividade microvascular em ratos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica;
- b) Verificar se as duas intensidades de treinamento propostas induzem efeitos locais e sistêmicos diferenciados sobre a função endotelial desses animais. Assim, a reatividade microvascular foi avaliada em sítios musculares recrutados (m. adutores) e não-recrutados (cremaster) durante o exercício físico;
- c) Verificar se essas duas intensidades produzem diferenças sobre a biodisponibilidade de NO, avaliada por experimentos de reatividade com inibidor de enzima envolvida na produção de NO;
- d) Avaliar na aorta desses animais, os efeitos das duas intensidades de treinamento sobre a atividade de enzimas antioxidantes (CAT, SOD, GPx) e peroxidação lipídica (TBARS), representando biomarcadores de estresse oxidativo vascular;
- e) Comparar os efeitos das intervenções propostas sobre marcadores de risco cardiometabólico nesses animais, tais como: composição corporal, capacidade cardiorrespiratória, perfil lipídico, tolerância à glicose e sensibilidade à insulina nesses roedores.

### 3 HIPÓTESES

Como hipótese primária desta Tese de Doutorado, acredita-se que a alta intensidade de treinamento (HIIT) seria responsável por melhorar a capacidade cardiorrespiratória, a composição corporal, a sensibilidade à insulina e a atividade de enzimas antioxidantes de ratos submetidos à dieta hiperlipídica. Porém, o dispêndio energético equalizado entre protocolos de HIIT e MICT seria suficiente para aprimorar a função endotelial microvascular nesses animais.

Nesse sentido, cabe investigar a hipótese de que, diferentes intensidades de treinamento poderiam induzir também efeitos vasculares locais e sistêmicos diferentes nesses animais. Ou seja, os efeitos observados sobre a função endotelial de músculos não-recrutados durante o exercício podem ser diferentes daqueles que ocorrem à nível local, em músculos com alto grau de recrutamento e demanda metabólica induzida pela atividade.

Em outra hipótese elaborada para este estudo, o HIIT poderia não gerar adaptações benéficas vasculares nesses animais, considerando que eles estariam expostos à um cenário de exposições repetidas de elevada produção de EROS e estresse tecidual. Seguindo este raciocínio, os efeitos da alta intensidade de treinamento poderiam exacerbar a possível presença do estresse oxidativo, causando prejuízos sobre a função endotelial micro e macrovascular. Em outras palavras, esses animais submetidos ao HIIT poderiam ter ganhos adicionais nos indicadores de aptidão física, mas em detrimento da função endotelial e de danos teciduais ocasionados por aumento do estresse oxidativo.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Considerações éticas

A presente tese teve aprovação do seu projeto de pesquisa pela Comissão de Ética no Uso de Animais, do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, sob o número de protocolo CEUA/024/2015 (anexo). Durante todo o período experimental, os animais foram mantidos em condições adequadas, alocados em gaiolas no biotério do Laboratório de Pesquisas Clínicas e Experimentais em Biologia Vasculare (BioVasc), com acesso livre à água filtrada e ração, com temperatura de  $21,0 \pm 1,0$  °C, ciclo diurno/noturno de 12 horas.

### 4.2 Desenho experimental

#### 4.2.1 Animais e grupos

Para os experimentos deste projeto de pesquisa foram utilizados 118 ratos machos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar com peso médio inicial de  $279 \pm 3$  g (2 meses de idade), provenientes da fornecedora de animais de laboratório ANILAB (Paulínia, São Paulo, Brasil). No início do período experimental, os animais foram divididos em dois grupos principais: grupo 'H' – alimentado com dieta hiperlipídica (H); grupo 'C' – alimentado com dieta controle. O grupo 'C' recebeu ração padrão comercializada para roedores (Nuvilab CR1, Quimtia, Brasil), e o grupo 'H' recebeu uma ração com elevado teor de gordura, produzida no próprio BioVasc.

Ao completar 12 semanas de intervenção com as diferentes dietas, esses animais foram subdivididos nos seguintes grupos:

- a) CS: Dieta C sem exercício (sedentário) (n=18);
- b) CM: Dieta C + treinamento moderado contínuo – MICT (n=18);

- c) CH: Dieta C + treinamento intervalado de alta intensidade – HIIT (n=18);
- d) HS: Dieta H sem exercício (sedentário) (n=18);
- e) HM: Dieta H + treinamento moderado contínuo – MICT (n=18);
- f) HH: Dieta H + treinamento intervalado de alta intensidade – HIIT (n=18).

Os animais foram distribuídos nos respectivos subgrupos de acordo com a capacidade cardiorrespiratória e com o peso corporal. Assim, foi possível garantir que todos os grupos estivessem em condições equivalentes ao começar o período de treinamento. É digno de nota que a mesma dieta foi mantida para os respectivos grupos C e H durante todo o período experimental, de forma que apenas os efeitos do treinamento físico fossem investigados.

#### 4.2.2 Esquema dos experimentos

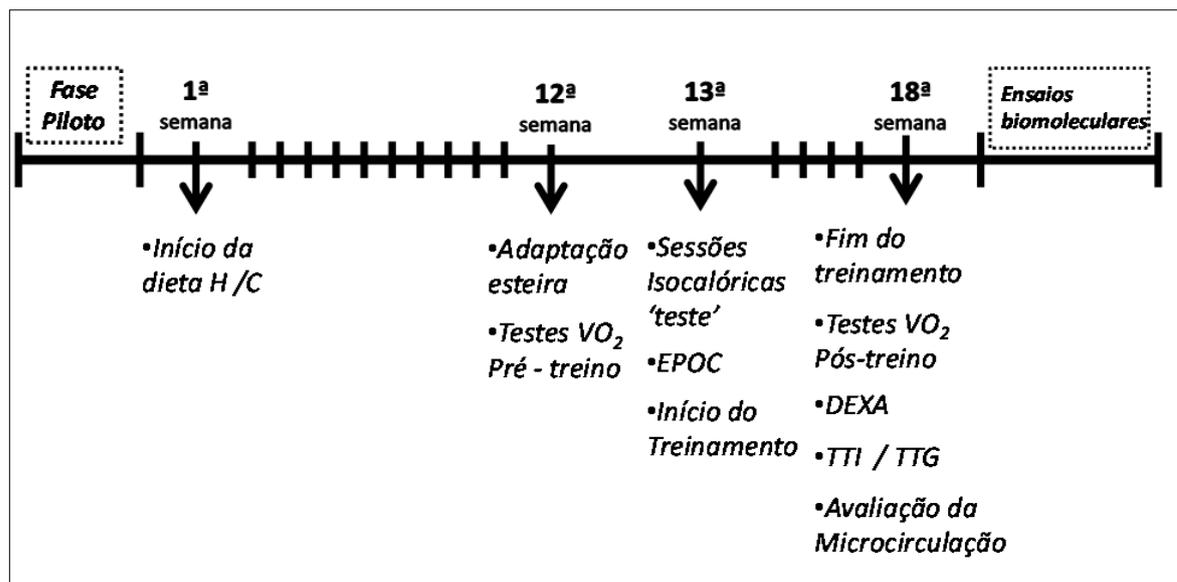
Inicialmente, a presente Tese de Doutorado contou com uma fase piloto, cuja finalidade foi examinar apenas os efeitos da intervenção com a dieta H sobre o ganho de peso, a composição corporal, e indicadores de resistência à insulina nos animais. Deste modo, dados de ingestão alimentar e de peso corporal foram coletados ao longo de 18 semanas em alguns animais da amostra (n = 5 alimentados com dieta C; n = 5 animais alimentados com dieta H). No final desse período, a composição corporal foi avaliada através do exame de Absorciometria por dupla emissão de raios-X (DEXA), e as gorduras retroperitoneal e epididimal desses animais foram coletadas para a pesagem. Testes de tolerância à insulina (TTI) e à glicose (TTG) também foram realizados.

Após verificar os efeitos da dieta H na Fase Piloto, o período experimental propriamente dito transcorreu da seguinte forma (Figura 1): durante 12 semanas, os animais receberam apenas a dieta C ou H. Na 12ª semana, eles foram familiarizados com a esteira rolante (adaptação) e foram submetidos ao teste de  $VO_{2PICO}$ , para avaliar a capacidade cardiorrespiratória, e estabelecer a carga de trabalho a ser utilizada no treinamento (teste de  $VO_{2PICO}$  pré-treino).

Com a carga de trabalho definida, os grupos CM, HM, CH e HH realizaram uma sessão isocalórica 'teste', para confirmar o tempo necessário para atingir o gasto calórico proposto para a sessão. Esta sessão também foi necessária para avaliar o comportamento do consumo excessivo de O<sub>2</sub> pós-exercício (EPOC). Assim, os grupos iniciaram o treinamento aeróbio em esteira rolante, por 6 semanas. Durante esse período, os animais dos grupos CS e HS permaneceram sedentários, apenas recebendo suas respectivas dietas na gaiola.

Entre a 17<sup>a</sup> e a 18<sup>a</sup> semana, com o fim do treinamento, todos os grupos tiveram a composição corporal avaliada pelo DEXA e foram reavaliados quanto à capacidade cardiorrespiratória, através de um segundo teste de VO<sub>2PICO</sub> (teste VO<sub>2PICO</sub> pós-treino). O TTI e o TTG também foram realizados neste período.

Depois dessas avaliações pós-treinamento, os animais foram anestesiados e submetidos aos experimentos de avaliação da reatividade microvascular *in vivo*. Imediatamente após cada experimento, amostras de aorta e outros tecidos foram coletadas, congeladas em nitrogênio líquido e estocadas em freezer à -80°C para os ensaios dos biomarcadores de estresse oxidativo. Amostras de soro coletadas também também foram estocadas em freezer -80°C para análises de perfil lipídico.

Figura 1– *Timeline* do período experimental

Nota: O período experimental é compreendido entre a 1ª e a 18ª semana. Na 1ª semana, os animais foram divididos em grupos alimentados com dieta controle (C) ou hiperlipídica (H). Na 12ª semana, os grupos C e H foram subdivididos nos grupos de treinamento (ou sedentários). O período encerrou na 18ª semana com o fim do treinamento, e com experimentos de microcirculação. Uma fase piloto antecedeu o período experimental, e os experimentos de biomarcadores de estresse oxidativo e perfil lipídico foram realizados após o término do período, em amostras congeladas.

Fonte: A autora, 2019.

#### 4.2.3 Dieta Hiperlipídica

A composição da dieta fornecida aos grupos H (dieta H) foi baseada em dietas *high-fat*, previamente descritas na literatura (119,120), utilizadas para induzir obesidade em ratos de diferentes linhagens. Na Tabela 1 estão resumidas as informações nutricionais das dietas experimentais utilizadas.

Tabela 1 – Informação nutricional das dietas experimentais

	Controle (C)	Hiperlipídica (H)
<b>Composição (%)</b>		
Ração Padrão <sup>A</sup>	100	60
Banha Suína <sup>B</sup>	-	20
Leite Condensado <sup>C</sup>	-	20
<b>Macronutrientes (%)</b>		
Proteínas	22	15
Lipídios	4	24
Carboidratos	56	43
<b>Valor energético total (kcal/g)</b>	3,78	4,50

Legenda:<sup>A</sup>Ração para roedores Nuvilab CR1– Nuvilab, Quimtia, Brasil; <sup>B</sup> Leite condensado Glória® Quatá alimentos, Brasil; <sup>C</sup>Banha suína Sadia®– BRF, Brasil. Na dieta H, a ração padrão é utilizada na versão farelada.

Fonte: A autora, 2019.

### 4.3 Avaliação do peso corporal e da ingestão alimentar

A massa corporal dos animais de todos os grupos foi medida semanalmente por balança digital (Toledo® modelo 9094, São Paulo, SP, Brasil). A partir desses dados foram calculados: ganho de peso, AUC e variação do peso corporal. A ingestão alimentar e o consumo energético foram avaliados através da sobra da ração deixada por cada grupo em sua gaiola, que era pesada semanalmente.

O consumo energético semanal foi estimado com base no valor energético da dieta (kcal/g) e no valor médio ingestão alimentar (g). O Coeficiente da Eficiência Alimentar (CEA) também foi calculado, dividindo o ganho de peso (g) pela ingestão alimentar (g) no mesmo período (121).

### 4.4 Testes de consumo de oxigênio (VO<sub>2</sub>)

No período pré-treinamento, os animais foram submetidos à três testes distintos de VO<sub>2</sub>: teste de esforço máximo (VO<sub>2</sub>PICO), teste de consumo de oxigênio

em repouso ( $VO_{2REP}$ ) e sessão isocalórica 'teste'. O teste de  $VO_{2PICO}$  teve como objetivo avaliar a capacidade cardiorrespiratória dos animais, antes e depois do período de treinamento. Este teste também foi necessário para estimar a carga de trabalho das sessões de exercício, estabelecida em 60% e 85%  $VO_{2RES}$  para a alta intensidade, e 65%  $VO_{2RES}$  para a moderada.

O teste de  $VO_{2REP}$  serviu para calcular a carga de trabalho pelo %do  $VO_{2RES}$ , uma vez que a diferença entre o  $VO_{2PICO}$  e  $VO_{2REP}$  resulta no  $VO_{2RES}$ . Na sessão isocalórica de teste, os grupos CM, CH, HM e HH executaram uma sessão de exercício nas respectivas intensidades, com medida do  $VO_2$ . Este teste serviu para confirmar se o dispêndio energético das sessões era equivalente para todos os grupos. Dependendo do resultado dessa sessão, era feito o ajuste da duração da sessão em função do dispêndio energético, igualando o volume para toda a amostra.

#### 4.4.1 Equipamentos e sistemas

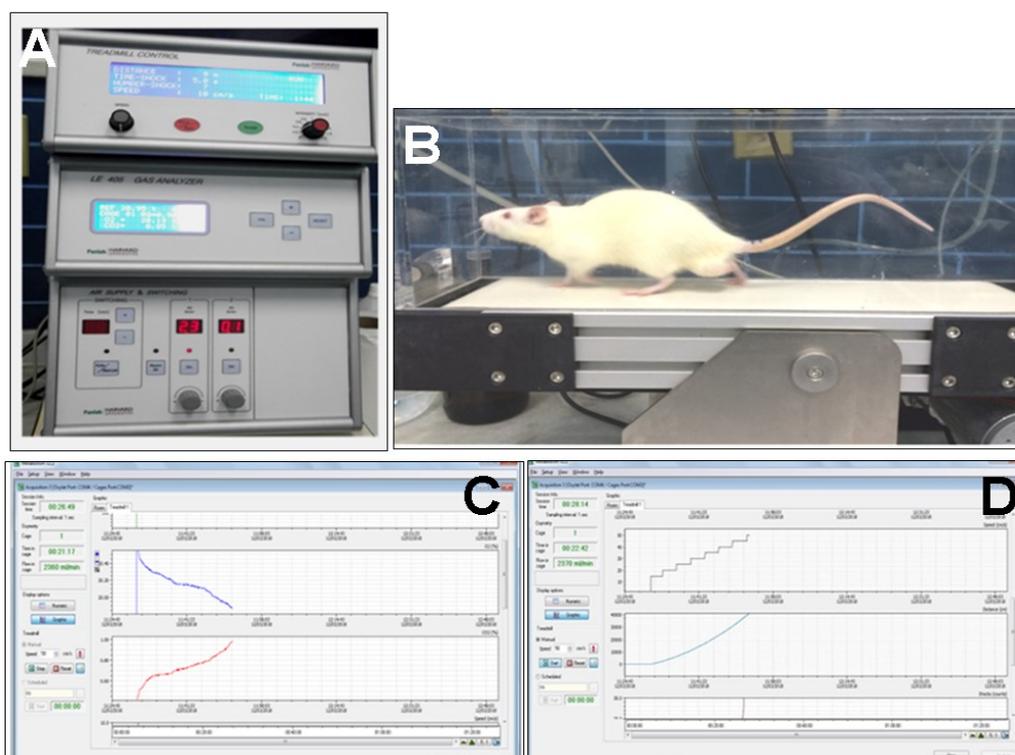
Os testes de  $VO_2$  foram realizados através do *Oxylet* (Panlab Harvard Apparatus, Barcelona, Espanha) – um sistema de calorimetria indireta de circuito aberto, que permite a medida das concentrações de gases (%) de pequenos roedores. Em uma breve descrição, o sistema é composto por três equipamentos interconectados: uma bomba de fluxo de ar, um analisador de gases com sensores de  $O_2$  e  $CO_2$  e uma câmara de acrílico hermeticamente vedada, onde fica a esteira rolante na qual o animal se exercita. Através de dois tubos de polietileno, a bomba de fluxo fornece um volume do ar ambiente para a câmara, enquanto amostras do ar efluente da câmara são coletadas e analisadas pelo analisador de gases (Figura 2).

Durante o teste, as concentrações de  $O_2$  e  $CO_2$  do interior da câmara são visualizadas em tempo real pelo software *Metabolism* (versão 2.2.02, Panlab, SL, Barcelona, Espanha) com frequência amostral de 1 segundo, usando um computador acoplado (Dell vostro 260s, Dell computadores, RS, Brasil). Esses valores registrados pelo analisador são usados para calcular o  $VO_2$  relativo – aquele em que se considera o peso corporal do animal ( $ml.kg.min^{-1}$ ).

Antes de cada teste, o analisador era calibrado com dois cilindros de gás (White Martins Ltda, Osasco, São Paulo, SP, Brasil), contendo mistura padrão

primário, ambas balanceadas com nitrogênio (1,5% CO<sub>2</sub>, 50,01%O<sub>2</sub>; e 0% CO<sub>2</sub>, 20,04% O<sub>2</sub>). As condições padrão de temperatura, pressão e umidade - *STPD* (21°C, 761 mmHg, 60%) - do local da coleta também foram mantidas sempre próximas do recomendado, para todos os experimentos.

Figura 2 – Sistema de Calorimetria Indireta *Oxy/et*.



Legenda: Composição de fotografias mostrando os componentes do sistema e seu funcionamento. (A) Bomba de fluxo de ar, analisador de gases e unidade de comando da esteira rolante; (B) esteira rolante em câmara de acrílico hermeticamente vedada; (C) imagens representativas das curva de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> durante um teste de esforço máximo, exibidas em computador acoplado ao sistema; (D) imagens representativas das curvas de velocidade e distância exibidas durante o teste pelo software, caracterizando o protocolo de teste escalonado.

Fonte: A autora, 2019.

#### 4.4.2 Teste de esforço máximo – VO<sub>2</sub>PICO

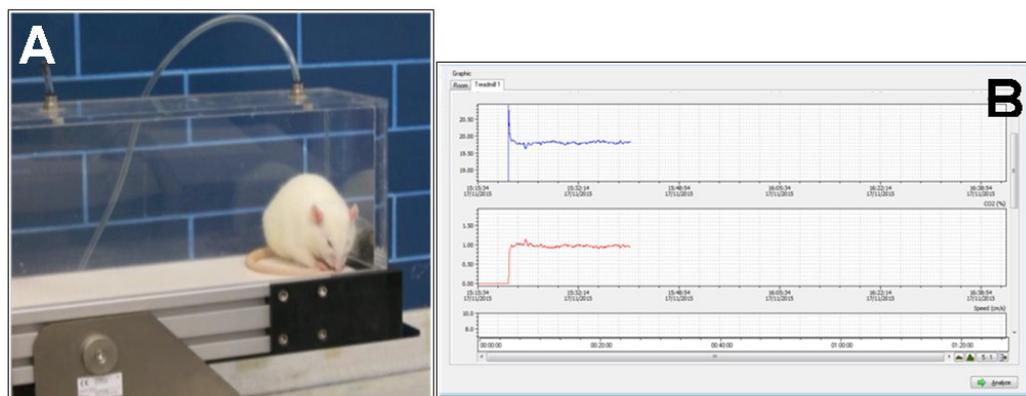
Antes do teste, os animais realizaram quatro dias de adaptação em esteira rolante por 10 minutos e baixa velocidade (10 – 15 m.min<sup>-1</sup>). No 5º dia, os animais foram submetidos ao teste de VO<sub>2</sub>PICO pré-treinamento, com o protocolo de teste de

esforço escalonado. O teste iniciava com  $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$  e a velocidade era incrementada em  $3 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$  a cada 3 minutos, até alcançarem-se os valores máximos de  $\text{VO}_2$  (122). O critério de interrupção do teste foi a observação de fadiga no animal, identificada quando este se encostava à grade de choque e não dava continuidade à corrida. A corrente elétrica da grade de choque foi mantida dentro da menor faixa possível ( $0,2 - 0,3 \text{ mA}$ ), para evitar ao máximo o estresse do animal e quaisquer interferências no resultado do teste. O fluxo de ar fornecido para a câmara se manteve constante em todos os estágios do teste, estabelecido em  $2,4 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$  (101), seguindo as recomendações do fabricante. O mesmo teste foi repetido no período pós-treinamento, para avaliar os possíveis ganhos sobre a capacidade cardiorrespiratória.

#### 4.4.3 Teste de $\text{VO}_2$ em repouso – $\text{VO}_{2\text{REP}}$

No período pré-treinamento, os animais tiveram o  $\text{VO}_{2\text{REP}}$  coletados durante 30 minutos, sendo que apenas a média dos 5 minutos finais foi considerada para o resultado do teste. Neste caso, o animal permanecia dentro da câmara de acrílico, sem nenhuma movimentação da esteira rolante, sob fluxo de ar constante de  $1,0 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$  (Figura 3).

Figura 3 – Coleta do consumo de  $\text{O}_2$  em repouso ( $\text{VO}_{2\text{REP}}$ )



Legenda: Composição de fotografias mostrando a coleta do  $\text{VO}_{2\text{REP}}$ : (A) Animal mantido dentro da câmara de acrílico por 30 min. para a coleta; (B) Imagens representativas da curva de  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$  exibidas em um computador durante a coleta.

Fonte: A autora, 2019.

#### 4.4.4 Sessões Isocalóricas

Após a realização dos testes de  $VO_{2PICO}$  e  $VO_{2REP}$ , os animais foram submetidos à uma sessão isocalórica de teste, antes de iniciar o período de treinamento. Em termos práticos, o protocolo dessas sessões foi dividido em duas etapas. A primeira consistiu em calcular o tempo da sessão de exercício considerando os resultados do teste de  $VO_{2PICO}$  e  $VO_{2REP}$ . A segunda foi executar uma sessão de exercício com medida de  $VO_2$  para confirmar se aquele tempo estimado era suficiente para atingir o gasto calórico proposto para a sessão. Nesse caso, o dispêndio energético total proposto foi de 5,0 kcal, tendo como base os valores reportados por um estudo experimental anterior (123).

O tempo da sessão foi estimado a partir de uma sequência de quatro equações simples, descritas na literatura. Primeiro, os valores do  $VO_{2REP}$  e  $VO_{2PICO}$  obtidos nos testes eram usados para calcular o  $VO_2$  alvo ( $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ ) – que é o  $VO_2$  produzido a cada minuto de exercício, realizado dentro da zona de intensidade proposta (Equação 1). Em seguida, o  $VO_2$  alvo era convertido em  $VO_2$  alvo absoluto ( $L.min^{-1}$ ), onde o  $VO_2$  alvo deixa de ser normalizado pelo peso corporal (Equação 2). Então, esse valor de  $VO_2$  alvo absoluto era convertido em dispêndio energético alvo ( $kcal.min^{-1}$ ), assumindo que para cada 1L de  $O_2$  consumido são dispendidas 5 kcal (Equação 3). Por último, o dispêndio energético total proposto para a sessão era dividido pelo resultado do dispêndio energético alvo, para obter a duração da sessão de treino (Equação 4).

$$VO_2 \text{ alvo} = (VO_{2PICO} - VO_{2REP}) \times \% \text{ da intensidade} + VO_{2REP} \quad (1)$$

$$VO_2 \text{ alvo absoluto} = (VO_2 \text{ alvo} \div 1000) \times \text{peso corporal do animal (kg)} \quad (2)$$

$$\text{Dispêndio energético alvo} = VO_2 \text{ alvo absoluto} \times 5 \text{ kcal} \quad (3)$$

$$\text{Duração (min.)} = \frac{\text{Dispêndio energético total (kcal)}}{\text{Dispêndio energético alvo (kcal.min}^{-1}\text{)}} \quad (4)$$

Na segunda etapa, os animais de cada grupo realizaram uma sessão isocalórica sob o monitoramento do analisador metabólico, para confirmar se aquele tempo estimado era suficiente para atingir as 5 kcal. Nesta sessão, os valores de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (%) exibidos pelo software eram tabulados em uma planilha, e convertidos em tempo real para dispêndio energético (kcal.min<sup>-1</sup>). Isto permitiu que o avaliador tomasse conhecimento do custo calórico total da sessão à medida que a quantidade de kcal dispendidas era somada a cada minuto (Figura 4-A, 4-B). Os cálculos utilizados para a realização das sessões isocalóricas estão descritos em mais detalhes no estudo de Paes et al. (2016) (101).

Figura 4 – Sessão isocalórica (continua)

Acquired data - C:\Users\Lorena\Desktop\DADOS DOUTORADO LORENA\DADOS EXERCÍCIO\Sessoes isocaloricas MEDIDO SET 2016\ISO OXYLET\ISO MEDIDO EPOC CTR HIIT 3.mtb

Session Info  
 Session time: 01:17:34  
 Sampling interval: 1 sec  
 Display options: Numeric, Graphic  
 Autoscroll Off

Numeric  
 Room: Treadmill 1

Absolute Time	Relative time	Flow (ml/min)	O2 (%)	CO2 (%)	Speed (cm/s)	Distance (cm)	Shocks	Shock time (s)
05/09/2016 13:27:23	00:19:11	2400,00	19,86	0,97	30,00	13597,50	1,00	468,00
05/09/2016 13:27:24	00:19:12	2410,00	19,86	0,97	30,00	13627,50	1,00	469,00
05/09/2016 13:27:25	00:19:13	2430,00	19,86	0,97	30,00	13657,50	1,00	470,00
05/09/2016 13:27:26	00:19:14	2430,00	19,86	0,98	30,00	13687,50	1,00	471,00
05/09/2016 13:27:27	00:19:15	2410,00	19,86	0,98	30,00	13717,50	1,00	472,00
05/09/2016 13:27:28	00:19:16	2440,00	19,86	0,98	30,00	13747,50	1,00	473,00
05/09/2016 13:27:29	00:19:17	2420,00	19,86	0,98	30,00	13777,50	1,00	474,00
05/09/2016 13:27:30	00:19:18	2400,00	19,86	0,98	30,00	13807,50	1,00	475,00
05/09/2016 13:27:31	00:19:19	2400,00	19,86	0,98	30,00	13837,50	1,00	476,00
05/09/2016 13:27:32	00:19:20	2390,00	19,86	0,99	30,00	13867,50	1,00	477,00
05/09/2016 13:27:33	00:19:21	2420,00	19,85	0,99	30,00	13897,50	1,00	478,00
05/09/2016 13:27:34	00:19:22	2430,00	19,84	1,00	30,00	13927,50	1,00	479,00
05/09/2016 13:27:35	00:19:23	2430,00	19,83	1,01	30,00	13957,50	1,00	480,00
05/09/2016 13:27:36	00:19:24	2440,00	19,83	1,01	30,00	13987,50	1,00	481,00
05/09/2016 13:27:37	00:19:25	2420,00	19,82	1,02	30,00	14017,50	1,00	482,00
05/09/2016 13:27:38	00:19:26	2420,00	19,82	1,02	30,00	14047,50	1,00	483,00
05/09/2016 13:27:39	00:19:27	2410,00	19,82	1,03	30,00	14077,50	1,00	484,00
05/09/2016 13:27:40	00:19:28	2430,00	19,81	1,03	30,00	14107,50	1,00	485,00
05/09/2016 13:27:41	00:19:29	2400,00	19,81	1,03	30,00	14137,50	1,00	486,00
05/09/2016 13:27:42	00:19:30	2400,00	19,81	1,03	30,00	14167,50	1,00	487,00
05/09/2016 13:27:43	00:19:31	2420,00	19,81	1,03	30,00	14197,50	1,00	488,00
05/09/2016 13:27:44	00:19:32	2430,00	19,81	1,03	30,00	14227,50	1,00	489,00
05/09/2016 13:27:45	00:19:33	2440,00	19,81	1,03	30,00	14257,50	1,00	490,00

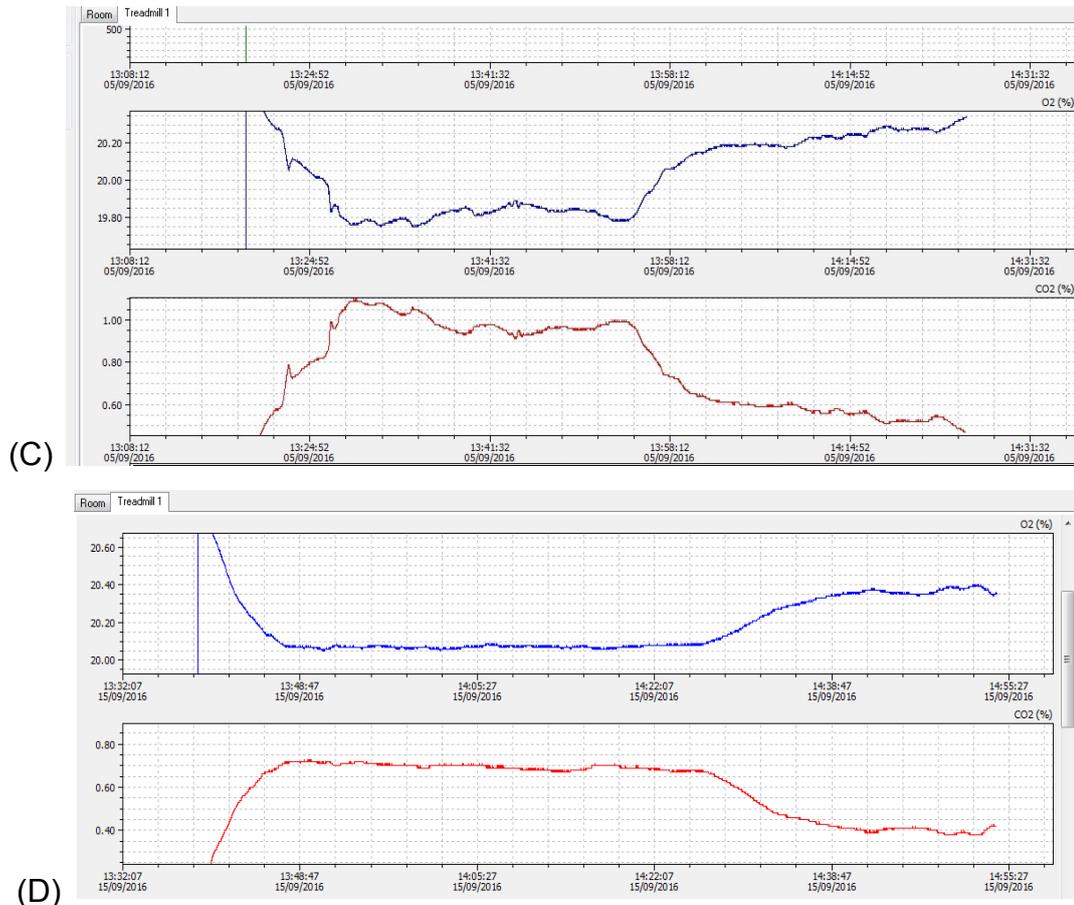
(A)

K46

MINUTE	Room air O2 (%)	Room air CO2 (%)	Flow (ml/min)	O2 (%)	CO2 (%)	VO2 (L/min)	KCAL
1	20,7	0,08	2400	20,24	0,47	0,011030253	0,055151267
2	20,7	0,08	2400	20,25	0,45	0,010789105	0,053945523
3	20,7	0,08	2400	20,12	0,57	0,013904204	0,069521019
4	20,7	0,08	2400	20,09	0,61	0,014625231	0,073126154
5	20,7	0,08	2400	20,01	0,69	0,016543294	0,082716469
6	20,7	0,08	2400	19,99	0,73	0,017027104	0,08513552
7	20,7	0,08	2400	19,95	0,76	0,017984109	0,089920545
8	20,7	0,08	2400	19,95	0,76	0,017984109	0,089920545
9	20,7	0,08	2400	19,95	0,76	0,017984109	0,089920545
10	20,7	0,08	2400	19,95	0,77	0,017986377	0,089931887
11	20,7	0,08	2400	19,91	0,78	0,018938484	0,094692422
12	20,7	0,08	2400	19,87	0,81	0,019894887	0,099474433
13	20,7	0,08	2400	19,85	0,82	0,020371713	0,101858565
14	20,7	0,08	2400	19,85	0,82	0,020371713	0,101858565
15	20,7	0,08	2400	19,84	0,83	0,02061138	0,103056902
16	20,7	0,08	2400	19,84	0,84	0,020613979	0,103069894
17	20,7	0,08	2400	19,84	0,83	0,02061138	0,103056902
18	20,7	0,08	2400	19,84	0,83	0,02061138	0,103056902
19	20,7	0,08	2400	19,85	0,84	0,02037685	0,101884252
20	20,7	0,08	2400	19,83	0,85	0,020853676	0,104268381

(B)

Figura 4 – Sessão isocalórica (conclusão)



Legenda: Imagens representativas de uma sessão isocalórica de teste. (A) valores de  $O_2$  e  $CO_2$  (%) exibidos pelo software *Metabolism* em tempo real durante a sessão; (B) planilha onde esses valores de  $O_2$  e  $CO_2$  eram plotados, permitindo que o avaliador calculasse o dispêndio energético (kcal) a cada minuto da sessão em tempo real; (C) curva representativa de  $O_2$  (azul) e  $CO_2$  (vermelho) durante uma sessão isocalórica de HIIT (D) curva representativa de  $O_2$  (azul) e  $CO_2$  (vermelho) durante uma sessão isocalórica de exercício contínuo moderado.

Fonte: A autora, 2019.

#### 4.4.4.1 Avaliação do Consumo de $O_2$ em Excesso Pós-Exercício (EPOC)

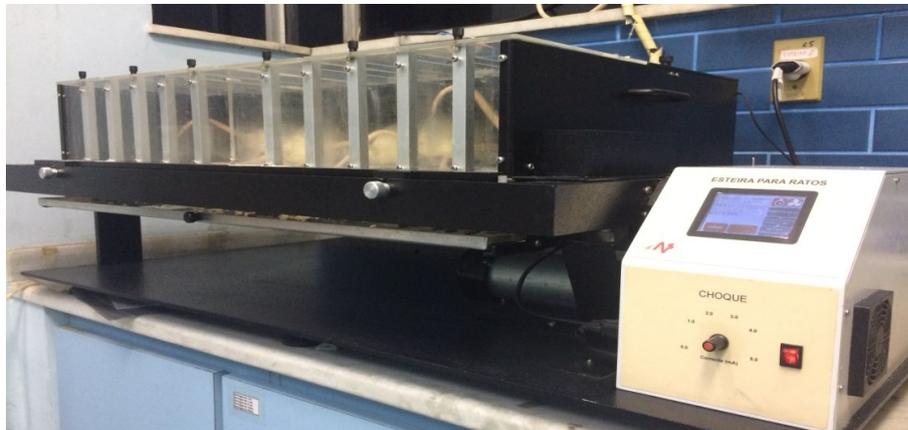
Ao final da sessão isocalórica de teste, o EPOC (*Excess Post-Exercise Oxygen Consumption*) foi coletado por 30 minutos em parte da amostra para avaliar o gasto calórico e o comportamento do  $VO_2$  após o término do exercício. Nesse caso, as seguintes variáveis foram analisadas: a) área sob a curva (AUC) – gradiente do  $VO_2$  calculado para o tempo de observação do EPOC; b) dispêndio energético total – quantidade de kcal dispendidas durante os 30 minutos pós-

exercício; c)  $VO_2$  inicial – média do  $VO_2$  obtido nos 3 primeiros minutos da coleta do EPOC; d) amplitude – variação entre  $VO_2$  final e inicial no período de EPOC

#### 4.4.5 Protocolo de treinamento

Um dia após a sessão isocalórica de teste, os grupos deram início ao treinamento aeróbio em esteira rolante (AVS Projetos, São Carlos, SP, Brasil) (Figura 5), com a duração estimada pelo dispêndio energético. Os grupos CM e HM treinaram na velocidade correspondente a 65% do  $VO_{2RES}$ , caracterizando o protocolo de MICT. O protocolo de HIIT executado pelos grupos CH e HH consistiu em estímulos de 4 min. a 85%  $VO_{2RES}$ , intercalados com recuperação de 3 min. a 60%  $VO_{2RES}$  (11). O treinamento teve duração de seis semanas, com frequência semanal de cinco vezes.

Figura 5 – Treinamento em esteira rolante



Nota: Fotografia da esteira rolante com seis baias, utilizada nas sessões de treinamento.

Fonte: A autora, 2019.

#### 4.5 Avaliação da Composição Corporal

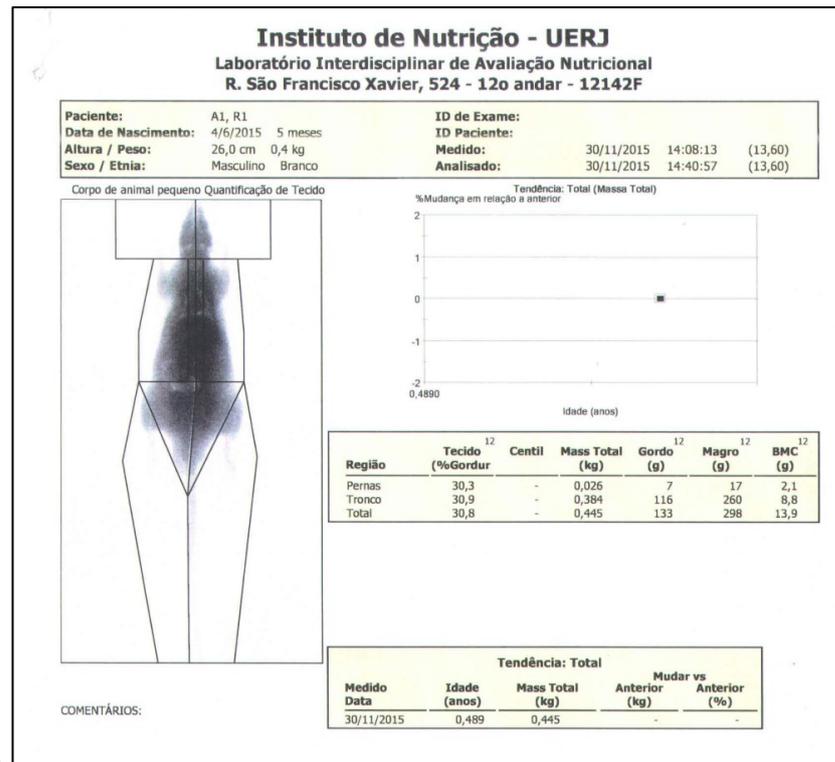
A composição corporal de todos os grupos foi avaliada após o período de treinamento (entre a 17<sup>a</sup> e a 18<sup>a</sup> semana do período experimental), pelo método

DEXA - Absorciometria por raios-X de dupla energia (Lunar iDXA, G.E. HealthCare, Madison, WI, EUA). Os exames foram realizados em colaboração com o Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional, do Instituto de Nutrição da UERJ. Para isso, os animais foram anestesiados com Cloridrato de Cetamina (65 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) via intraperitoneal, posicionados em decúbito ventral com a cauda alinhada à coluna vertebral sobre a superfície do equipamento, na qual o scanner era realizado.

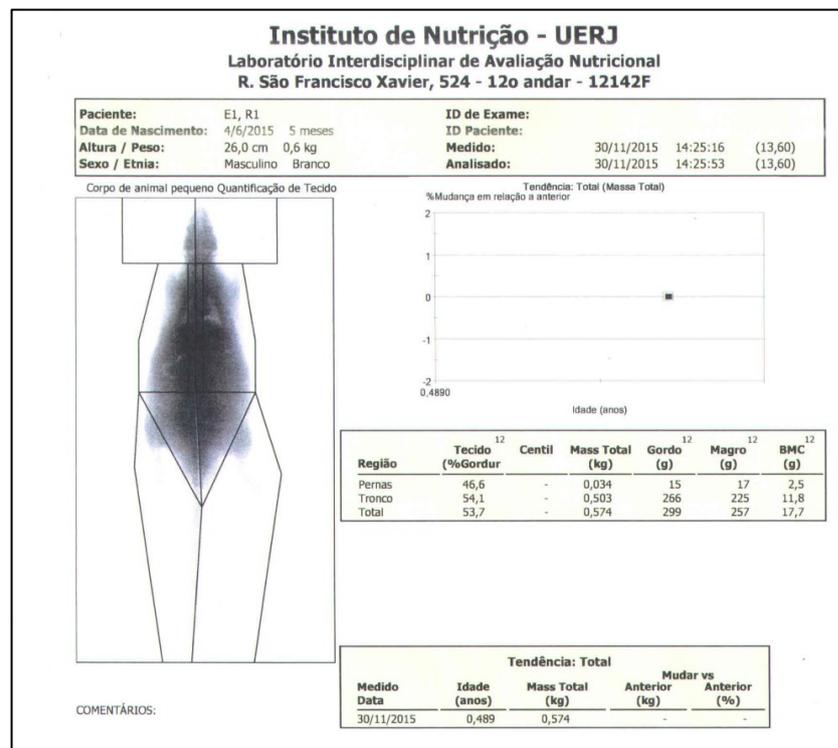
O equipamento foi devidamente calibrado e as equações para estimativa da composição corporal de pequenos animais foram utilizadas pelo software do equipamento, seguindo as recomendações do fabricante. O DEXA é um método não invasivo de avaliação da composição corporal, que quantifica diretamente a massa mineral óssea, a massa isenta de gordura e a massa gorda em diferentes compartimentos corporais.

De acordo com a literatura, o método tem boa reprodutibilidade e é válido como alternativa ao padrão-ouro de análise de composição corporal, através da extração química da carcaça do animal (124). Os resultados de massa magra, percentual de gordura e massa gorda eram detalhados em um relatório fornecido pelo software, após a realização do exame. O Coeficiente de massa magra (CMM) – que normaliza a massa magra pela massa corporal total – também foi calculado, tendo como base os valores de massa magra absoluta (g).

Figura 6- Relatório do DEXA



(A)



(B)

Legenda: Imagens representativas de exames DEXA realizados pelo Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional, do Instituto de Nutrição da UERJ (LIAN). (A) Animal com dieta controle; (B) Animal com dieta hiperlipídica. Dados de massa gorda, massa magra e % de gordura são usados para avaliar a composição corporal.

Fonte: A autora, 2019.

#### **4.6 Testes de Tolerância à Glicose e à Insulina (TTI e TTG)**

No TTG, os grupos permaneceram em jejum por 8 horas até a glicemia basal ser quantificada na cauda dos animais por um glicosímetro (OneTouch Ultra, Milpitas, CA, EUA). Em seguida, aplicava-se uma injeção intraperitoneal de glicose (D-Glucose G8270, Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, EUA) na concentração de 2 g/kg para medir a glicemia em 15, 30, 60, 90 e 120 minutos após a injeção. A partir dos valores de glicemia coletados nesses seis pontos, a área sob a curva (AUC) foi calculada.

No TTI, os grupos permaneceram em jejum por 5 horas até a medida da glicemia basal. Em seguida, aplicava-se uma injeção intraperitoneal de insulina (Humulin R, Eli Lilly and Company, Indianápolis, IN, EUA) na concentração de 0,75 UI/kg e media-se a glicemia em 15, 30, 45 e 60 minutos após a injeção. A partir dos valores de glicemia coletados nesses cinco pontos, a área sob a curva (AUC) foi calculada.

#### **4.7 Avaliação da reatividade microvascular – Músculo Cremaster**

Ao finalizar o treinamento (pelo menos 72 horas após a última sessão), parte dos animais da amostra (n = 48; 8 animais /grupo) foram submetidos à preparação cirúrgica do músculo cremaster para avaliar a reatividade *in vivo*, por microscopia intravital. Nesses experimentos, os animais foram anestesiados com Cloridrato de Cetamina (90 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) via IP, e canulados para administração de reforço anestésico via jugular. Os animais foram mantidos com temperatura corporal estável (36°C) por manta térmica (modelo LB750, Uppsala Processdata AB, Suécia) e tiveram frequência cardíaca e a pressão arterial aferidas por um pletismógrafo (modelo V2.11, Insight Equipamentos, Ribeirão Preto, SP, Brasil).

#### 4.7.1 Procedimentos cirúrgicos

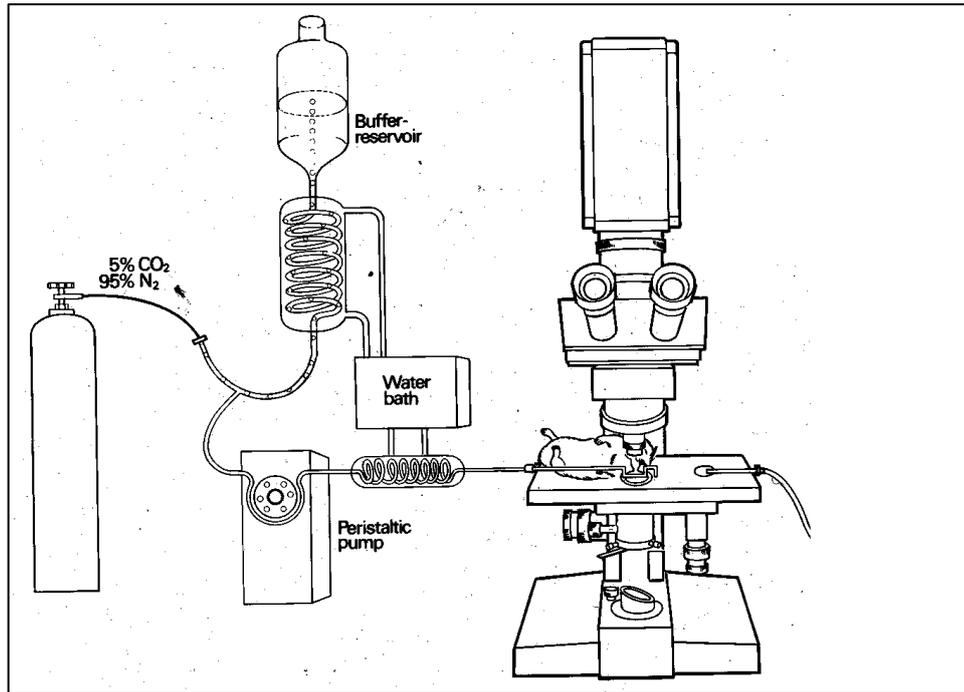
O procedimento inicial consistiu na dissecação do cremaster e na limpeza do tecido conjuntivo que envolve o músculo (Figura 8-A), antes de isolá-lo em uma placa de acrílico. Nesse caso, uma incisão longitudinal foi feita na região ventral do tecido, e um bisturi elétrico foi utilizado para cauterização. Pinos metálicos foram usados para fixar o tecido numa superfície elevada de silicone, que fica sobreposta à placa de acrílico (Figura 8-B). O testículo, o epidídimo e o coxim adiposo inguinal foram separados e descartados, conforme descrito na literatura (125).

A partir desse momento, o tecido exposto na placa permaneceu imerso em solução tampão de HEPES com  $\text{HCO}_3^-$ , aquecida a  $36,5^\circ\text{C}$ , contendo: NaCl 110,0; KCl 4,7;  $\text{CaCl}_2$  2,0;  $\text{MgSO}_4$  1,2;  $\text{NaHCO}_3$  18,0; ácido N'-2'hidroxiletílpiperazine-N'-2-etanosulfônico (HEPES) 15,39; e HEPES sal de  $\text{Na}^+$  14,61. A mistura de 95% de N e 5% de  $\text{CO}_2$  contida em cilindro de gás também foi utilizada para manter o pH em 7,4 e a pressão de  $\text{O}_2$  entre 12 – 15 mmHg na preparação, através da solução (Figura 8).

#### 4.7.2 Equipamentos e sistemas

O sistema que mantinha a solução HEPES em níveis ótimos de pH e temperatura para os experimentos era composto por: reservatório, cilindro de gás (White Martins Ltda., Osasco, São Paulo, SP, Brasil), com a mistura de 95% de N e 5% de  $\text{CO}_2$ , e banho-maria (modelo 1130 A, VWR Scientific, Niles, IL, EUA). O reservatório ficava acoplado ao cilindro e ao banho, e a solução percorria todo o sistema antes de chegar à preparação por uma bomba peristáltica (modelo Minipuls 3, Gilson Inc, Middleton, WI, EUA) (Figura 7). Outro sistema que foi usado neste experimento é o sistema fechado de imagem – composto por microscópio intravital (Leica DMLFS, Wetzlar, Alemanha), câmera de vídeo, monitor e gravador de DVD. Com ele foi possível visualizar e gravar as arteríolas, para analisar posteriormente o diâmetro delas.

Figura 7- Sistema de microscopia intravital



Nota: Desenho esquemático do sistema de perfusão que manteve a preparação durante o experimento. O reservatório com a solução HEPES (*buffer reservoir*) é conectado ao cilindro de gás e ao sistema de aquecimento, composto pelo banho (*water bath*) e serpentinas. A solução chega à preparação no microscópio intravital por de uma bomba de peristáltica (*peristaltic pump*).

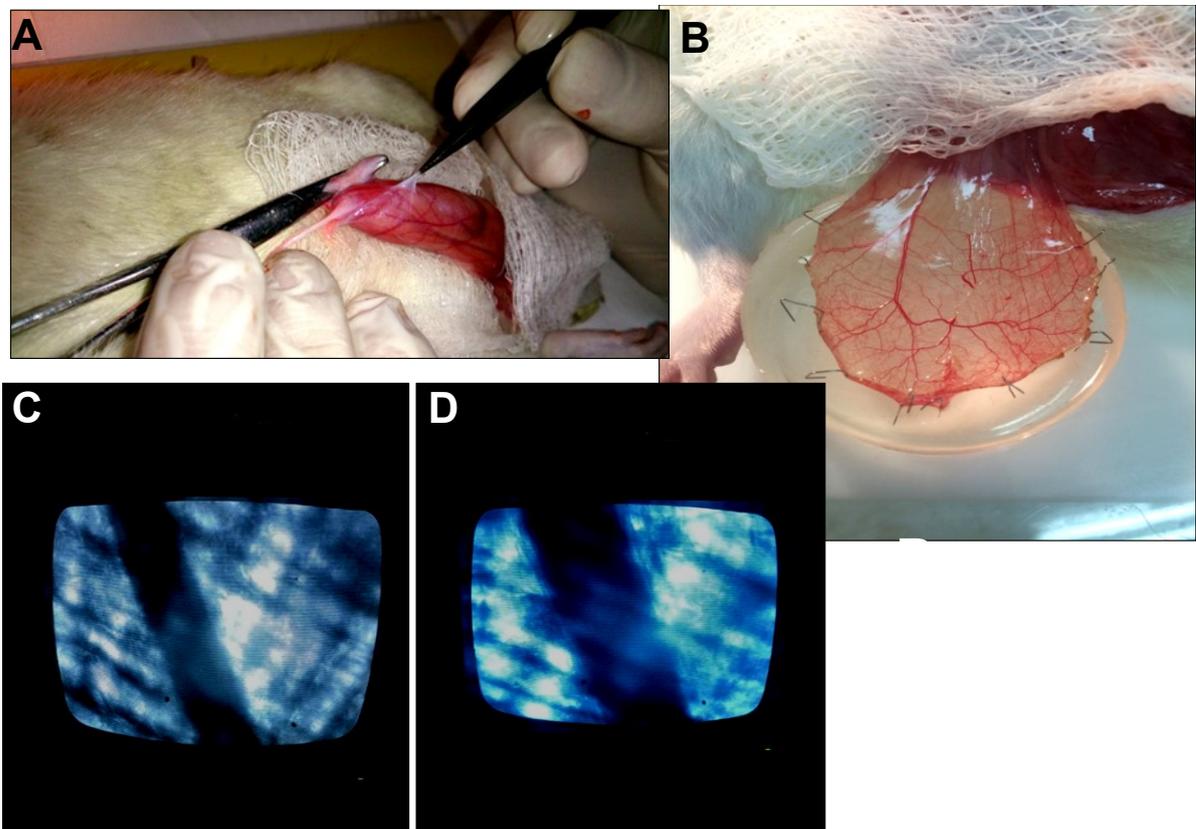
Fonte: Extraído de Svensjö, 2005 (126).

#### 4.7.3 Protocolo experimental

O protocolo iniciava com a etapa de acomodação, na qual a preparação do cremaster permanecia no microscópio por 30 minutos sem quaisquer manipulação, para estabilizar o estado microcirculatório normal. Nesta etapa foi feita a aplicação tópica de solução salina (0,9%), para obter o diâmetro das arteríolas no período basal. Em seguida, concentrações de Acetilcolina (ACh) (Acetylcholine Chloride, Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) ou de Nitroprussiato de Sódio (SNP) (Sodium Nitroprusside, Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) eram aplicadas também topicamente, nas concentrações de  $10^{-8}M$ ,  $10^{-6}$  e  $10^{-4}M$  por 10 minutos cada uma. Após cada aplicação, três campos contendo pelo menos uma arteríola eram gravados por 1 minuto para a medida do diâmetro (Figura 8-C, Figura 8-D).

Todas as substâncias foram adicionadas à solução de superfusão por uma bomba de infusão (modelo 55–2222, Harvard Apparatus, Massachusetts, EUA). Essa sequência de concentrações crescentes de ACh ou SNP teve como objetivo formar uma curva dose-resposta cumulativa, que serviu para avaliar a vasodilatação endotélio dependente e independente, respectivamente. As imagens obtidas de cada campo foram analisadas através do software *Image J* (versão 1.50i, NIH, Bethesda, MD, EUA).

Figura 8 – Preparação do músculo cremaster



Nota: Composição de fotografias mostrando as etapas da preparação: (A) Dissecção do cremaster e limpeza do tecido conjuntivo; (B) músculo cremaster após ser isolado e fixado em anel de silicone, na placa de acrílico; (C) imagem de uma arteríola do cremaster obtida durante o período basal do experimento, visualizada em monitor acoplado ao microscópio intravital; (D) imagem da mesma arteríola após aplicação de ACh  $10^{-4}$  M.

Fonte: A autora, 2019.

## 4.8 Avaliação da reatividade (micro)vascular – músculos adutores

Com o fim do treinamento, outra parte da amostra (N = 60; 10 animais / grupo) foi submetida à preparação cirúrgica dos músculos adutores da pata para avaliar a reatividade (micro)vascular *in vivo*, pela fluxometria LDPI. A LDPI foi adotada devido à possibilidade de examinar o fluxo microvascular nesta região valendo-se de baixo grau de invasividade e pouca complexidade na manutenção da preparação, sem a necessidade de manter isolado o músculo de interesse, como é feito com a microscopia intravital. De maneira similar aos experimentos no cremaster, os animais foram anestesiados com Cloridrato de Cetamina (90 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) via intraperitoneal, mantidos com temperatura corporal estável (36°C), tendo a frequência cardíaca e pressão arterial igualmente monitoradas.

### 4.8.1 Procedimentos cirúrgicos

Primeiro, a dissecação na região superficial-medial da pata era feita para a remoção da pele e do tecido conjuntivo. Dessa forma, os músculos adutores e uma pequena porção do vasto medial ficavam expostos para avaliar a microcirculação (Figura 9-A; Figura 9-B). De forma inerente, algumas artérias acabaram ficando parcialmente expostas nesta preparação, tendo em vista suas respectivas localizações anatômicas.

Após essa etapa de dissecação e exposição, uma janela feita de tecido escuro era posicionada em cima da preparação a fim de isolar a região muscular de interesse. Isto evitou que tecido adiposo e conjuntivo que permaneceram em alguns pontos da preparação após a dissecação, interferissem na análise da perfusão tecidual. Para evitar o ressecamento da preparação, a região muscular exposta foi mantida hidratada com solução salina (0,9%), por bomba de infusão (modelo 55-2222, Harvard Apparatus, Massachusetts, EUA), na taxa de 300 µl/min. Em decúbito dorsal, o animal teve a janela muscular posicionada embaixo do feixe de luz laser no fluxômetro, à uma distância de ±15 cm (Figura 9-C).

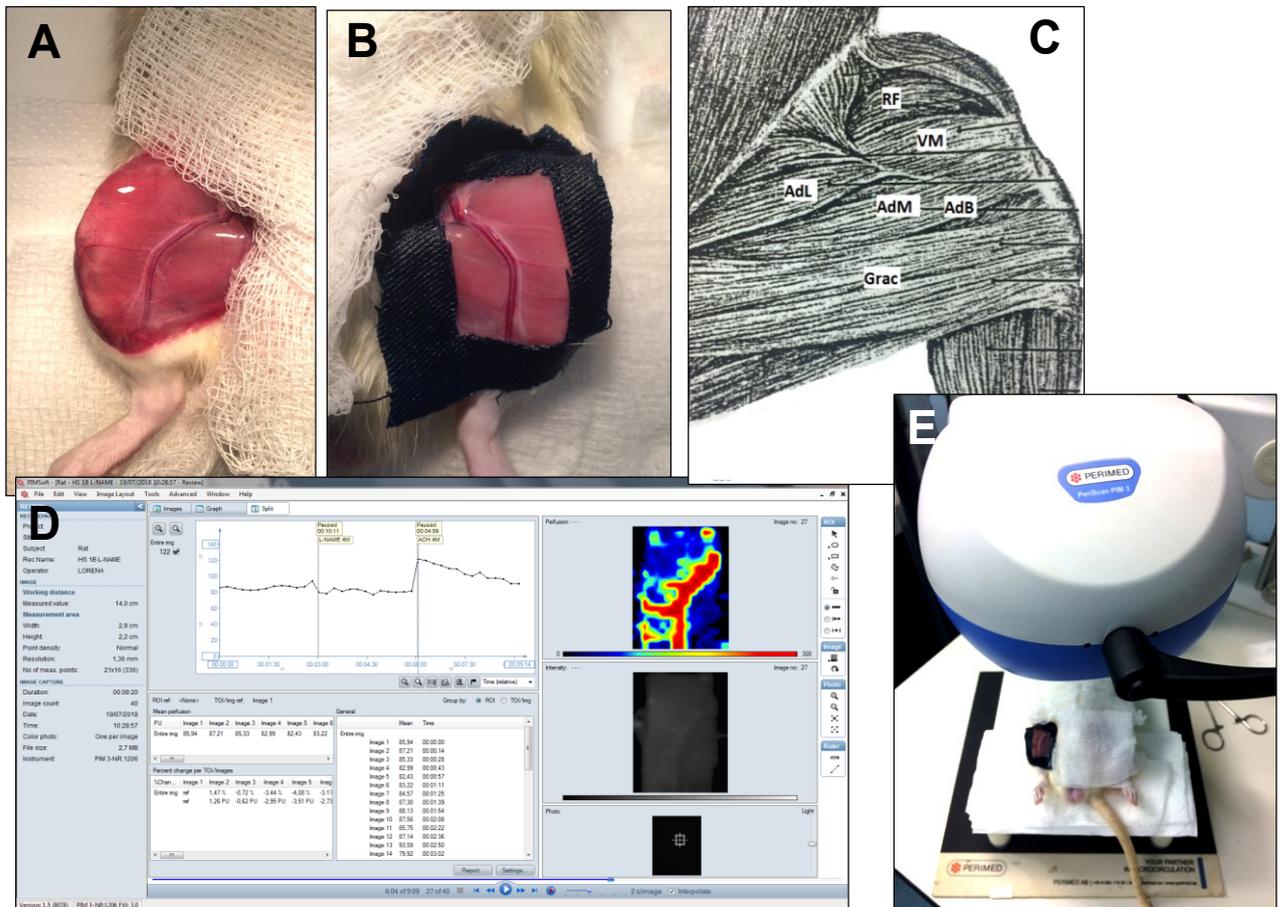
#### 4.8.2 Equipamentos e sistemas

O sistema de fluxometria PeriScan PIM 3 (Perimed AB, Estocolmo, Suécia) foi usado para identificar as variações na perfusão tecidual em resposta aos estímulos de vasodilatação fornecidos durante o experimento de reatividade. O sistema é composto por uma unidade de scanner e sistema óptico (por onde é emitida e detectada a luz laser), e por um computador acoplado (onde as variações no fluxo são analisadas em tempo real). Basicamente, o sistema opera detectando mudanças na frequência da luz laser emitida sobre o tecido ao interagir com células em movimento, como as hemácias.

Através de um espelho em movimento, o laser é refletido do tecido para um fotodetector, sendo processado por um software (PIMSoft, Perimed, Estocolmo, Suécia), que na sequência, gera uma imagem bi-dimensional colorida do fluxo sanguíneo (127,128) (Figura 9-D). Em outras palavras, o efeito Doppler é observado na interação entre a luz laser e as hemácias, traduzido graficamente como pontos coloridos. O equipamento trabalha com um comprimento de onda do laser de 670 nm, e a profundidade da medida fica entre 0,5 – 1 mm, aproximadamente.

Os valores médios de perfusão (%) são calculados a partir de imagens obtidas da região de interesse (*region of interest* – ROI), definida de acordo com a área pré-definida pelo avaliador, pela ferramenta pre-scan. Em seguida, o software permite exportar todos os dados coletados em formato específico (*ROI calculation table*) para uma planilha em Excel (127).

Figura 9 – Preparação dos músculos adutores



Legenda: Composição de fotografias mostrando as etapas da preparação dos músculos adutores: (A) exposição da camada superficial dos adutores; (B) janela para avaliar a região muscular de interesse; (C) músculos que compõem a região de interesse – RF: reto femoral; VM: vasto medial; AdL: Adutor Longo; AdM: Adutor Magno; AdB: Adutor breve; Gracil: Grácil. (D) preparação exposta para análise da perfusão no Laser Doppler Periscan PIM3; (E): imagem representativa do software PIMSoft durante um experimento de reatividade.

Fonte: Imagem (C) – Hebel e Stromberg (1976) p.22 (129). Demais imagens – A autora, 2019.

#### 4.8.3 Protocolo experimental

##### 4.8.3.1 Avaliação da reatividade vascular através de variações do fluxo sanguíneo

O protocolo de avaliação da reatividade vascular nos músculos adutores da pata também teve início com a fase de acomodação, onde era aplicada topicamente solução salina (0,9%) por 20 minutos para avaliar o fluxo sanguíneo basal. Em

seguida, a reatividade era avaliada através da aplicação tópica de ACh (Acetylcholine Chloride, Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) por 5 minutos, nas concentrações  $10^{-8}$  M,  $10^{-6}$  M e  $10^{-4}$  M. Após cada aplicação, a luz da sala era apagada e os valores de perfusão eram analisados pelo fluxômetro PeriScan PIM3 por 3 minutos.

Os mesmos procedimentos foram repetidos para examinar a vasodilatação endotélio-independente. Nesse caso, o SNP (Sodium Nitroprusside, Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) era aplicado durante 5 minutos nas mesmas concentrações, para avaliar a perfusão pelo fluxômetro nas mesmas condições dos experimentos com ACh. As aplicações das soluções nesta preparação foram feitas com o auxílio de uma cânula e uma bomba de infusão (modelo 55-2222, Harvard Apparatus, Massachusetts, EUA), com fluxo de 300  $\mu$ l /min.

#### 4.8.3.2 Avaliação da contribuição do NO sobre as variações de fluxo induzidas pela vasodilatação endotélio-dependente com ACh

Para verificar a contribuição do NO para a vasodilatação endotélio-dependente, experimentos com L-NAME (N-nitro<sup>G</sup>-L-Arginine Methyl Ester, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) e ACh também foram realizados em músculos adutores, observando as variações de fluxo em resposta à estas substâncias. O L-NAME inibe a produção do NO via eNOS, e permite avaliar a sua biodisponibilidade na região de interesse.

Nesses experimentos, após obter os valores de perfusão no *baseline*, o L-NAME a  $10^{-4}$  M foi aplicado topicamente na preparação durante 8 minutos. Em seguida, a ACh  $10^{-4}$  M foi adicionada na preparação e a vasodilatação máxima promovida pela ACh na presença do L-NAME ( $A_{Ch+L-NAME}$ ) foi mensurada. A biodisponibilidade do NO foi calculada a partir dos valores de vasodilatação máxima induzidos por ACh na presença e na ausência do L-NAME, de acordo com a fórmula descrita por Durrant et al. (2009) (130):

NO biodisponibilidade

$$(\%) = \text{Vasodilatação máxima}_{(A_{Ch+L-NAME})} - \text{Vasodilatação máxima}_{(A_{Ch})} \quad (5)$$

## **4.9 Avaliação do perfil lipídico**

No término dos experimentos de reatividade, amostras de sangue da veia cava foram coletadas em tubo BD Vacutainer® para quantificar os marcadores de perfil lipídico: Colesterol total, Triglicerídeos, HDL, LDL e VLDL. O sangue coletado foi centrifugado (18°C, 3000 rpm, 10 min) e alíquotas de soro foram estocadas em freezer -80°C antes dos ensaios. Os níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos e HDL foram determinados por kit comercial de ensaio colorimétrico Bioclin (Quibasa Ltda., Belo Horizonte, MG, Brasil). Os níveis de LDL foram estimados a partir da equação de Friedewald et al. (131).

## **4.10 Avaliação do estresse oxidativo**

### 4.10.1 Preparo das amostras

Após os experimentos de reatividade, os animais ainda anestesiados tiveram a aorta torácica coletada e armazenada em tubo Eppendorf®. Os fragmentos da aorta (200 mg) foram homogeneizados em tampão PBS 0.1 M (0.1 M NaCl, 0.1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O, 0.1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0.1 M KCl, 6 mM EDTA, pH 7.5). As amostras foram mantidas em gelo durante a homogeneização, e depois, foram centrifugadas à 10000 rpm por 10 minutos a 4°C, e o sobrenadante foi coletado. Todas as amostras foram estocadas a -80°C antes de proceder com os experimentos de biomarcadores de estresse oxidativo.

### 4.10.2 Determinação da peroxidação lipídica

Os danos nas estruturas lipídicas de membrana foram quantificados pela formação de subprodutos da lipoperoxidação (malondialdeído – MDA), que são

substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O MDA reage com o ácido tiobarbitúrico gerando uma substância de cor rosa, que é analisada por espectrofotometria. Os procedimentos adotados nestes experimentos feitos em aorta basearam-se no método originalmente descrito por Draper et al. (1993) (132).

Nesse caso, 50 µl da suspensão da amostra foram adicionados em 1000 µl de ácido tricloroacético a 10%. As amostras foram homogeneizadas por um processador ultrassônico e centrifugadas a 10000 rpm, 4°C, por 30 segundos. O sobrenadante foi misturado ao ácido tiobarbitúrico a 0,67% e aquecido durante 30 minutos em banho seco à 100°C. Os níveis de TBARS foram determinados através da leitura do subproduto por absorvância a 532 nm (Fluostar Omega, BMG Labtech, Ortenberg, Germany), utilizando 1,1,3,3- tetrametoxi propano como padrão. A concentração de TBARS foi expressa como nmol/g de aorta.

#### 4.10.3 Determinação da atividade de enzimas antioxidantes

##### 4.10.3.1 Superóxido Dismutase (SOD)

O método de avaliação da atividade da SOD baseia-se na habilidade da enzima, (independentemente da isoforma) em inibir a auto-oxidação do pirogalol – um composto químico aromático que reage rapidamente com o radical  $O_2^-$  (133). No experimento, o Pirogalol (20 mM) foi adicionado à solução tampão Tris-HCl (0,05 M) em uma cubeta estrangulada para realizar a leitura por espectrofotômetro, com o comprimento de onda de 325 nm (Fluostar Omega, BMG Labtech, Ortenberg, Germany) através de ensaio colorimétrico (Cayman Chemical Company, USA) (133,134).

#### 4.10.3.2 Catalase (CAT)

A CAT é uma enzima que catalisa a degradação do  $H_2O_2$ , e na reação, uma das moléculas do  $H_2O_2$  é oxidada a oxigênio molecular e a outra é reduzida à  $H_2O$  (69). Desse modo, o método usado nos ensaios de atividade da CAT baseia-se justamente na taxa de decomposição do  $H_2O_2$ . Para os experimentos foram utilizados 50  $\mu$ L do homogenato de aorta em cubetas de quartzo, onde foi adicionado 1 mL de tampão PBS com peróxido de hidrogênio (25 mL de tampão para 40  $\mu$ L de  $H_2O_2$ ). A leitura foi feita nos tempos 0, 30 e 60 segundos, também por um espectrofotômetro, no comprimento de onda 240 nm (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Scientific, USA).

#### 4.10.3.3 Glutathiona peroxidase (GPx)

Neste ensaio, a atividade da GPx é avaliada pela taxa de desaparecimento da NADPH, conforme descrito pelo protocolo de Paglia & Valentine (135). Em breve descrição, foram adicionados 200  $\mu$ L do homogenato de aorta em uma solução tampão (PBS). Após 10 minutos de incubação, foram adicionados 200  $\mu$ L de NADPH e 200  $\mu$ L de  $H_2O_2$  à essa solução, que foi homogeneizada e submetida à leitura por espectrofotometria no comprimento de onda de 340 nm, por 5 minutos, com intervalos de 10 segundos (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Scientific, USA).

### 4.11 Tratamento Estatístico

A normalidade da distribuição dos dados foi verificada por teste Kolmogorov-Sminorv. Dados da Fase Piloto foram comparados por teste não-paramétrico Mann-Whitney U. No período experimental, os dados com medidas Pré e Pós, ou curvas dose-resposta (i.e,  $VO_{2PICO}$ , evolução do peso corporal, curva glicêmica) foram comparados por ANOVA two-way, seguida de verificação *post hoc* de Fisher. Para

dados de consumo energético, DEXA, perfil lipídico, TTI/TTG foi utilizada ANOVA one-way (*post hoc* de Bonferroni). Para dados de reatividade microvascular, e estresse oxidativo foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis (*post hoc* de Dunn). Em todos os casos, adotou-se um valor de  $P \leq 0,05$  como limiar de significância estatística. Os cálculos foram realizados com o auxílio do software GraphPad Prism versão 6.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

## 5 RESULTADOS

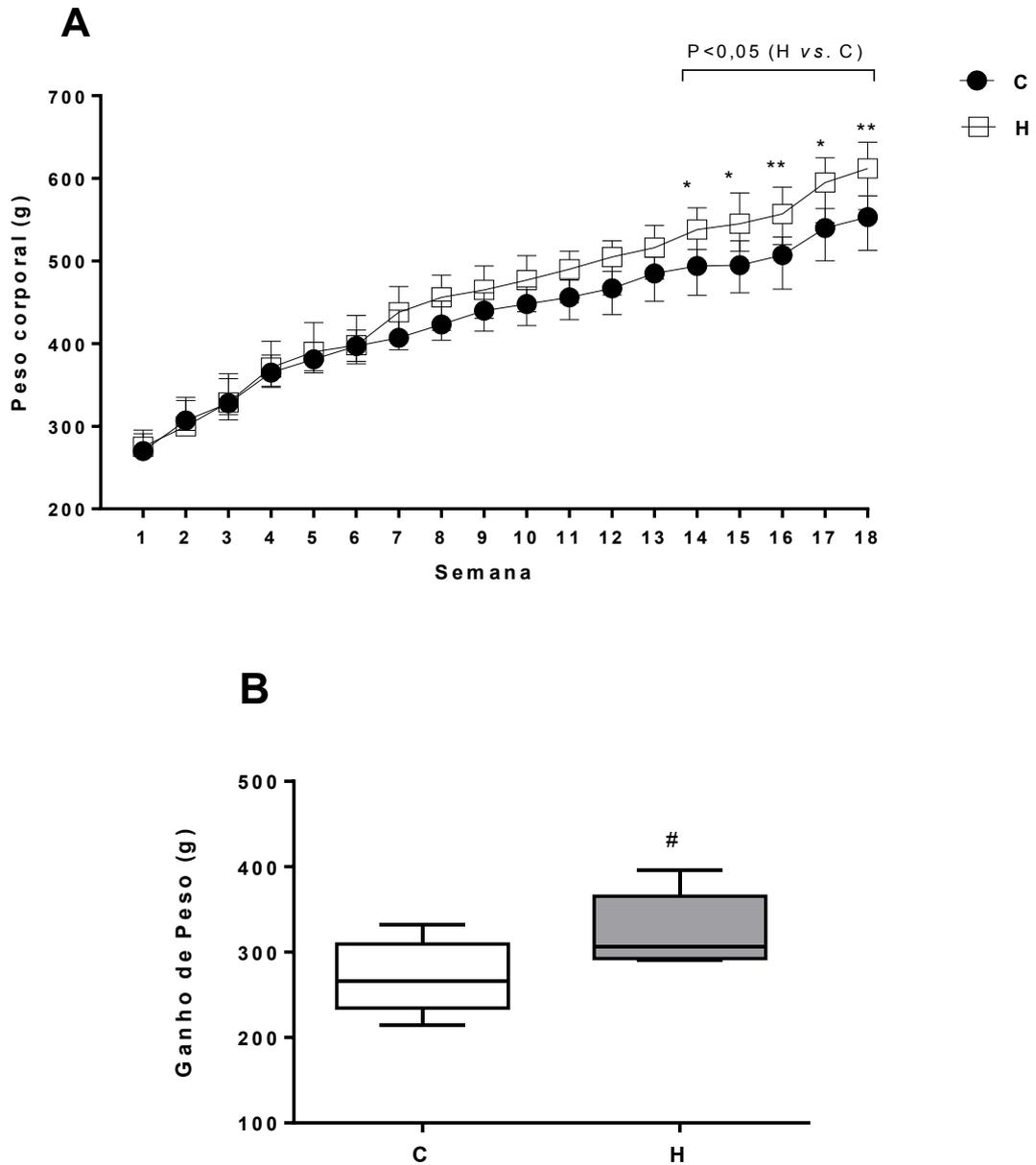
### 5.1 Fase piloto

O projeto de pesquisa que deu origem à presente Tese de Doutorado contou com uma fase piloto, antes de iniciar o período experimental propriamente dito. Esta fase serviu para observar o efeito das dietas experimentais (C e H) sobre o peso corporal, nível de adiposidade e possíveis alterações metabólicas em uma parte dos animais da amostra.

Na Figura 10 estão os resultados de peso corporal (Fig.10-A) e o ganho de peso (Fig.10-B) dos grupos C e H nessa fase. O grupo H demonstrou elevação significativa do peso corporal em relação ao grupo C apenas a partir da 14<sup>a</sup> semana, quando os seguintes valores (g) foram encontrados: 14<sup>a</sup> semana –  $530 \pm 18$  vs.  $487 \pm 16$ ,  $P = 0,04$ ; 15<sup>a</sup> semana –  $546 \pm 18$  vs.  $493 \pm 18$ ,  $P = 0,01$ ; 16<sup>a</sup> semana –  $555 \pm 18$  vs.  $499 \pm 18$ ,  $P = 0,008$ ; 17<sup>a</sup> semana –  $587 \pm 19$  vs.  $533 \pm 19$ ,  $P = 0,01$ ; 18<sup>a</sup> semana –  $604 \pm 20$  vs.  $547 \pm 20$ ,  $P = 0,006$ . O ganho de peso de H também mostrou-se superior ao do grupo com dieta C ( $324 \pm 19$  g vs.  $270 \pm 19$  g,  $P = 0,05$ ). Quando a AUC do peso corporal foi calculada, não foram encontradas diferenças entre os grupos (CS:  $7341 \pm 231$  vs. H:  $7794 \pm 239$ ;  $P = 0,53$ ).

A ingestão alimentar e consumo energético também foram avaliados nesta etapa do projeto. O grupo H teve uma ingestão alimentar reduzida ( $H = 23,5 \pm 0,9$  g vs.  $C = 27,5 \pm 1$  g;  $P = 0,007$ ), mas de forma compensatória, teve o mesmo consumo energético médio de C ( $H = 105,9 \pm 4$  g vs.  $C = 103,9 \pm 3$  g;  $P = 0,72$ ). O Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de H ficou acima de C, mas não houve diferenças entre os grupos ( $H = 0,0241 \pm 0,002$  vs.  $C = 0,0170 \pm 0,002$  g;  $P = 0,07$ ).

Figura 10 – Evolução do peso corporal (fase piloto)



Legenda: (A): Curva de peso corporal durante o período em que foram testados os efeitos das dietas C e H; (B) ganho de peso corporal avaliado após as 18 semanas desse período. Barra horizontal e \* representam  $P \leq 0,05$  vs. C da 14ª a 18ª semana (Fig. A). #  $P \leq 0,05$  vs. C (Fig. B). Resultados expressos como mediana (1º - 3º quartil). N= 5 animais / grupo. Grupo C: alimentado com dieta controle; grupo H: alimentado com dieta hiperlipídica.

Fonte: A autora, 2019.

Na Figura 11 estão os resultados de composição corporal examinados pelo DEXA: percentual de gordura (Figura 11-A), massa gorda (Figura 11-B), massa magra (Figura 11-C), e coeficiente de massa magra - CMM (Figura 11-D). O grupo

com dieta H apresentou o percentual de gordura significativamente maior do que o grupo C ( $44,1 \pm 1,9\%$  vs.  $27,9 \pm 5,1\%$ ;  $P = 0,02$ ), mas não diferiram nos valores de massa gorda ( $243,3 \pm 45\text{ g}$  vs.  $129,3 \pm 12\text{ g}$ ;  $P = 0,20$ ). O mesmo ocorreu com a massa magra, onde foram encontradas diferenças entre os valores de CMM ( $C = 0,70 \pm 0,01$ ;  $H = 0,54 \pm 0,04$ ;  $P = 0,02$ ), mas não entre os valores absolutos ( $C = 331,5 \pm 13\text{ g}$ ;  $H = 293,3 \pm 17\text{ g}$ ;  $P = 0,20$ ). O nível elevado de adiposidade foi corroborado pela expressiva quantidade de gordura retroperitoneal e epididimal encontrada no grupo H, que diferiu da quantidade de gordura do grupo C (Retroperitoneal:  $C = 5,2 \pm 0,8\text{ g}$  vs.  $H = 17,9 \pm 2,3\text{ g}$ ;  $P = 0,007$ . Epididimal:  $C = 3,6 \pm 0,6\text{ g}$  vs.  $H = 12,0 \pm 1,2\text{ g}$ ;  $P = 0,007$ ).

Figura 11 – Composição corporal avaliada pelo DEXA  
(fase piloto) (continua)

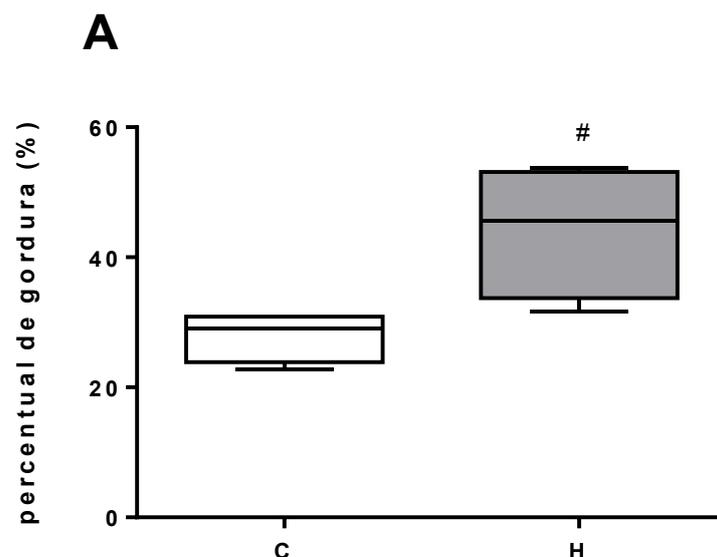


Figura 11 – Composição corporal avaliada pelo DEXA  
(fase piloto) (continuação)

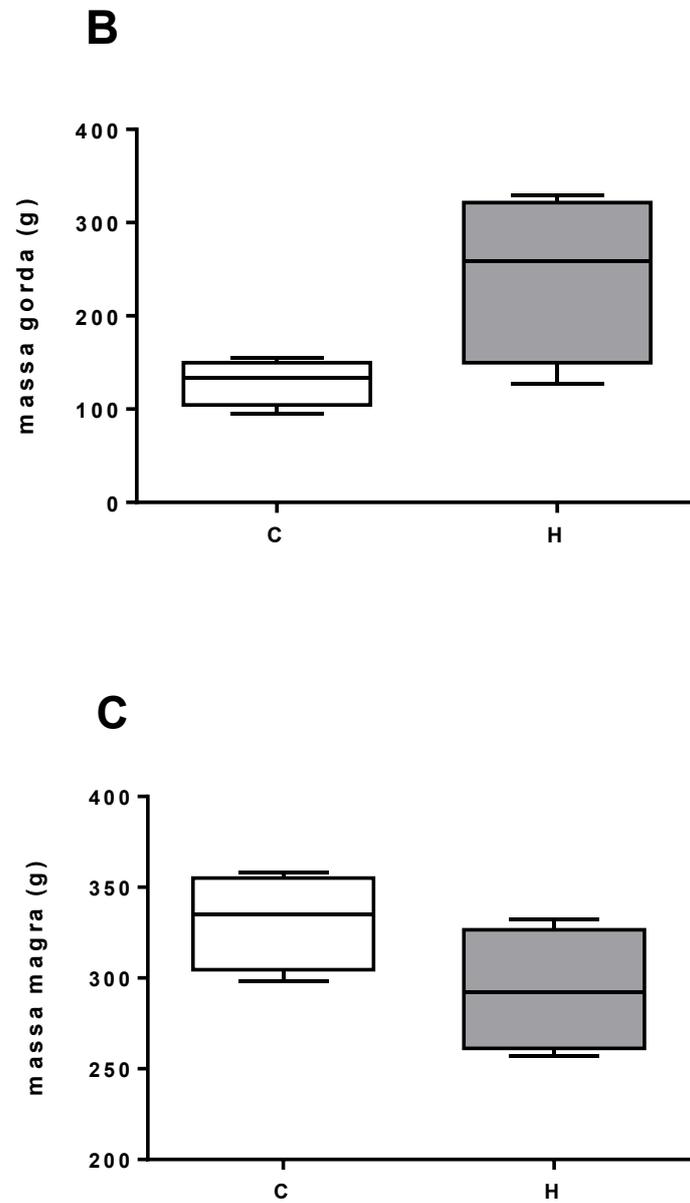
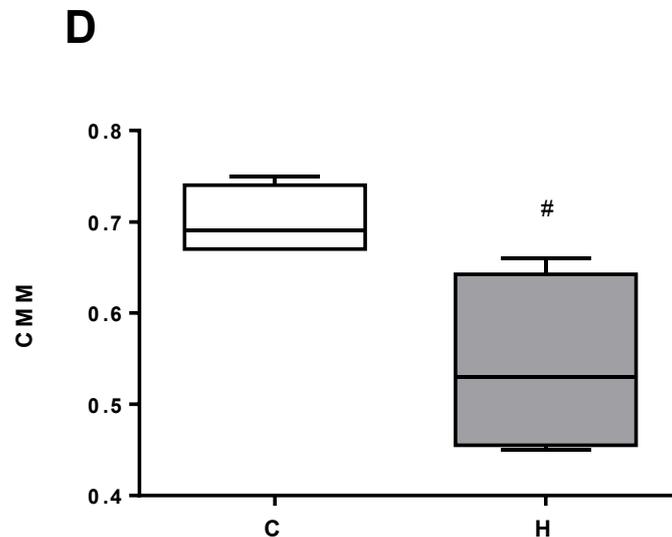


Figura 11 – Composição corporal avaliada pelo DEXA  
(fase piloto) (conclusão)

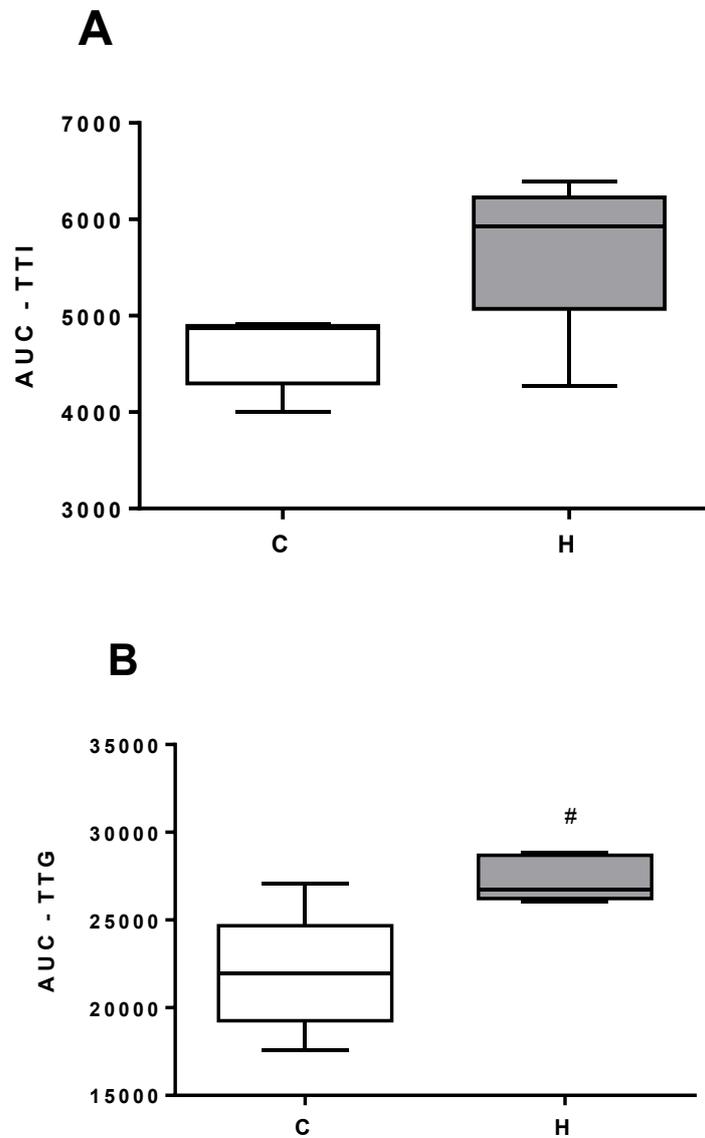


Legenda: (A): Percentual de gordura (%); (B): massa gorda (g); (C): massa magra (g); (D): CMM: coeficiente de massa magra. #  $P \leq 0,05$  vs. grupo C. Valores expressos como mediana (1° - 3° quartil). N= 5 animais/ grupo. Grupo C: alimentado com dieta controle; grupo H: alimentado com dieta hiperlipídica.

Fonte: A autora, 2019.

Os resultados do TTI e TTG, expressos como mediana (1° - 3° quartil) da AUC de glicemia, são apresentados nas Figuras 12-A e 12-B, respectivamente. No TTI, não houve diferenças entre os grupos alimentados com dieta H ou C ( $5705 \pm 368$  vs.  $4652 \pm 172$ ;  $P = 0,08$ ), mas no TTG, os grupos C e H diferiram significativamente entre si, ( $21966 \pm 1521$  vs.  $27318 \pm 576$ ;  $P = 0,05$ ). A glicemia em jejum também foi maior no grupo H em comparação ao grupo C ( $102,5 \pm 1,6$  mg/dL vs.  $89,0 \pm 1,7$  mg/dL;  $P = 0,02$ ).

Figura 12 – Teste de tolerância à insulina e à glicose (TTI e TTG) (fase piloto)



Legenda:(A): AUC da glicemia em resposta ao TTI; (B) AUC da glicemia em resposta ao TTG. #  $P \leq 0,05$  vs. grupo C. Valores nos gráficos expressos como mediana (1º - 3º quartil). N = 5 animais / grupo. Grupo C: alimentado com dieta controle; grupo H: alimentado com dieta hiperlipídica.

Fonte: A autora, 2019.

## 5.2 Período Experimental – Valores basais (*Baseline*)

Na Tabela 2 estão os dados coletados na 1ª e na 12ª semana do Período Experimental. Os dados da 1ª semana representam os valores de *baseline* em relação à intervenção com as diferentes dietas (C e H); os dados da 12ª semana representam o *baseline* dos animais quanto à intervenção com o treinamento físico, que iniciou na 13ª semana do período experimental. Além do peso, a glicemia em jejum e o  $VO_{2PICO}$  foram incluídos na avaliação da 12ª semana, por representarem os valores basais de capacidade cardiorrespiratória e perfil metabólico pré-treinamento.

Na 1ª semana, não foram encontradas diferenças no peso corporal entre os grupos ( $P = 0,85$ ). Na 12ª semana, o peso de todos os grupos com dieta H mostrou elevação significativa em relação aos grupos com dieta C. Além disso, a glicemia em jejum de quase todos os grupos com dieta H foi significativamente superior àqueles com dieta C na 12ª semana; com exceção dos grupos HS e HM, que não diferiram do grupo CM (HS vs. CS:  $P = 0,003$ ; HM vs. CS:  $P = 0,005$ ; HH vs. CS:  $P = 0,002$ ; HS vs. CM:  $P = 0,06$ ; HM vs. CM:  $P = 0,07$ ; HH vs. CM:  $P = 0,04$ ; HS vs. CH:  $P = 0,01$ ; HM vs. CH:  $P = 0,02$ ; HH vs. CH:  $P = 0,01$ ). Os grupos também não mostraram diferenças em relação ao  $VO_{2PICO}$ , sendo similares no período pré-treinamento (Pre) ( $P = 0,76$ ).

Tabela 2 – Valores de *baseline* antes de cada intervenção

Variável	Grupo						P
	CS	CM	CH	HS	HM	HH	
<b>1ª semana</b>							
Peso (g)	282±6	293±10	289±11	288±8	298±10	297±9	0,85
<b>12ª semana</b>							
Peso (g)	443±6	443±7	442±5	505±11 <sup>abc</sup>	506±9 <sup>abc</sup>	504±11 <sup>abc</sup>	<0,0001
Glicemia (mg/dL)	82,4±1	84,1±1	83,3±1	89,8±1 <sup>ac</sup>	89,6±1 <sup>ac</sup>	90±2 <sup>abc</sup>	<0,0001
VO <sub>2</sub> PICO (ml.kg. <sup>-1</sup> min. <sup>-1</sup> )	60,9±1	60,6±1	62,7±2	62,1±2	60,0±2	59,0±1	0,76

Legenda: Dados da 1ª semana foram coletados antes da intervenção com as dietas C e H. Dados da 12ª semana foram coletados antes do treinamento aeróbico. Resultados expressos como média±EPM. <sup>a</sup>P≤0,05 vs. CS. <sup>b</sup>P≤0,05 vs. CM. <sup>c</sup>P≤0,05 vs. CH. N= 18 animais / grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

### 5.3 Evolução do peso corporal

A Figura 13 mostra a evolução do peso corporal durante o período experimental (Figura 13-A), bem como a AUC com base nesses valores (Figura 13-B). A Figura 14 mostra o ganho de peso em três momentos distintos do período experimental: a) entre a 1ª e a 12ª semana – onde os grupos receberam apenas a dieta C ou H; b) entre a 13ª e a 18ª semana – onde os grupos com dieta C ou H treinaram em diferentes intensidades; c) entre a 1ª e a 18ª semana – que compreende o período experimental completo, independentemente das intervenções. A Tabela 3 expõe o peso médio de cada grupo na 1ª, 12ª e 18ª semana do período experimental.

Cinco semanas após iniciar a intervenção, a maioria dos grupos com dieta H começou a apresentar peso corporal (g) significativamente maior do que os grupos C (CS vs. HM: P = 0,009; CS vs. HH: P = 0,03; CM vs. HM: P = 0,01; CM vs. HH: P =

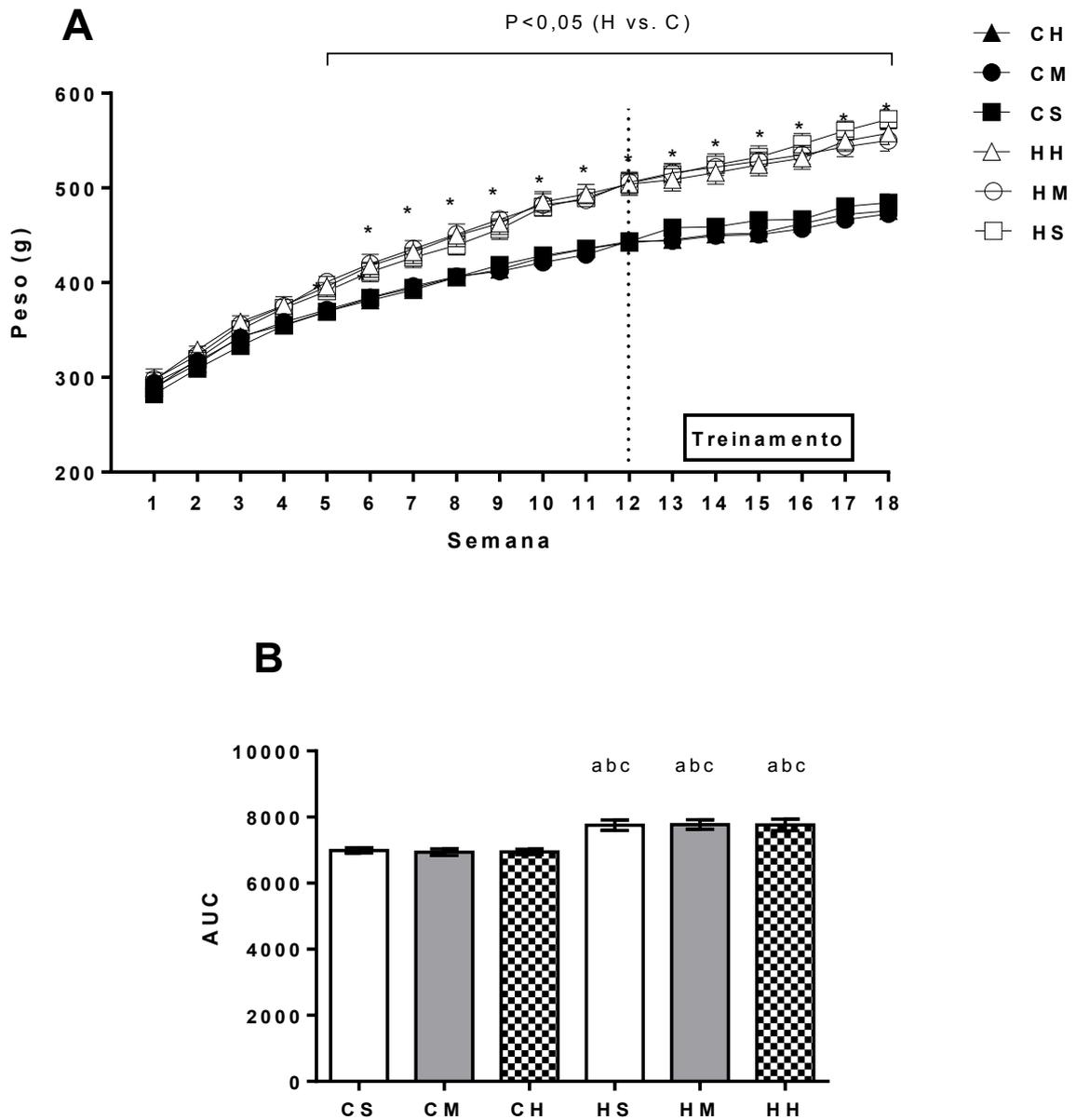
0,04; CH vs. HM:  $P = 0,01$ ; CH vs. HH:  $P = 0,03$ . *Peso*: CS =  $369 \pm 4$ ; CM =  $371 \pm 8$ ; CH =  $369 \pm 5$ ; HS =  $391 \pm 9$ ; HM =  $400 \pm 8$ ; HH =  $395 \pm 10$ ) (Figura 13-A).

Em seis semanas, tais diferenças estenderam-se à todos os grupos H (CS vs. HS:  $P = 0,02$ ; CS vs. HM:  $P = 0,003$ ; CS vs. HH:  $P = 0,005$ ; CM vs. HS:  $P = 0,02$ ; CM vs. HM:  $P = 0,004$ ; CM vs. HH:  $P = 0,007$ ; CH vs. HS:  $P = 0,01$ ; CH vs. HM:  $P = 0,001$ ; CH vs. HH:  $P = 0,003$ . *Peso*: CS =  $383 \pm 4$ ; CM =  $384 \pm 8$ ; CH =  $381 \pm 6$ ; HS =  $411 \pm 10$ ; HM =  $419 \pm 8$ ; HH =  $417 \pm 12$ ), que permaneceram com o peso corporal elevado em relação aos grupos C até a 18ª semana (CS, CM, CH vs. HS, HM, HH:  $P < 0,0001$ . *Peso*: CS =  $484 \pm 8$ ; CM =  $472 \pm 7$ ; CH =  $475 \pm 6$ ; HS =  $572 \pm 9$ ; HM =  $550 \pm 11$ ; HH =  $557 \pm 11$ ) (Figura 13-A). Em nenhum momento houve diferenças entre os grupos treinados e sedentários de H (HM vs. HS:  $P = 0,93$ ; HH vs. HS:  $P = 0,96$ ) ou de C (CM vs. CS:  $P = 0,76$ ; CH vs. CS:  $P = 0,81$ ), e tampouco entre as intensidades de treinamento (HM vs. HH:  $P = 0,97$ ; CM vs. CH:  $P = 0,94$ ).

Além da curva, o peso médio de cada grupo foi avaliado no início e no final de cada intervenção proposta. Neste caso, houve diferença entre os grupos 12 semanas após o início da dieta H, que corresponde ao período Pre-treinamento (12ª semana: CS, CM e CH vs. HS, HM, HH:  $P < 0,0001$ ); e no final do período experimental, no período Pos-treinamento (18ª semana: CS, CM e CH vs. HS, HM, HH:  $P < 0,0001$ ). Esses dados estão expostos na Tabela 3.

O mesmo padrão de diferenças foi encontrado na AUC, considerando os elevados valores que todos os grupos H apresentaram em relação aos grupos C (CS vs. HS:  $P = 0,0008$ ; CS vs. HM:  $P = 0,0005$ ; CS vs. HH:  $P = 0,0007$ ; CM vs. HS:  $P = 0,0003$ ; CM vs. HM:  $P = 0,0002$ ; CM vs. HH:  $P = 0,0002$ ; CH vs. HS:  $P = 0,0003$ ; CH vs. HM:  $P = 0,0002$ ; CH vs. HH:  $P = 0,0003$ ), sem quaisquer diferenças em relação ao treinamento ( $P > 0,99$ ) (Figura 13-B).

Figura 13 – Evolução do peso corporal



Legenda: (A): Peso corporal ao longo das 18 semanas do período experimental; (B): AUC do peso corporal no período experimental. Barra horizontal e asteriscos representam  $P \leq 0,05$  vs. CS, CM e CH da 5ª a 18ª semana (Fig. A). <sup>a</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CS. <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM. <sup>c</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CH (Fig. B). Resultados expressos como média  $\pm$  EPM. N = 18 animais / grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

Tabela 3 – Peso inicial e final de cada intervenção

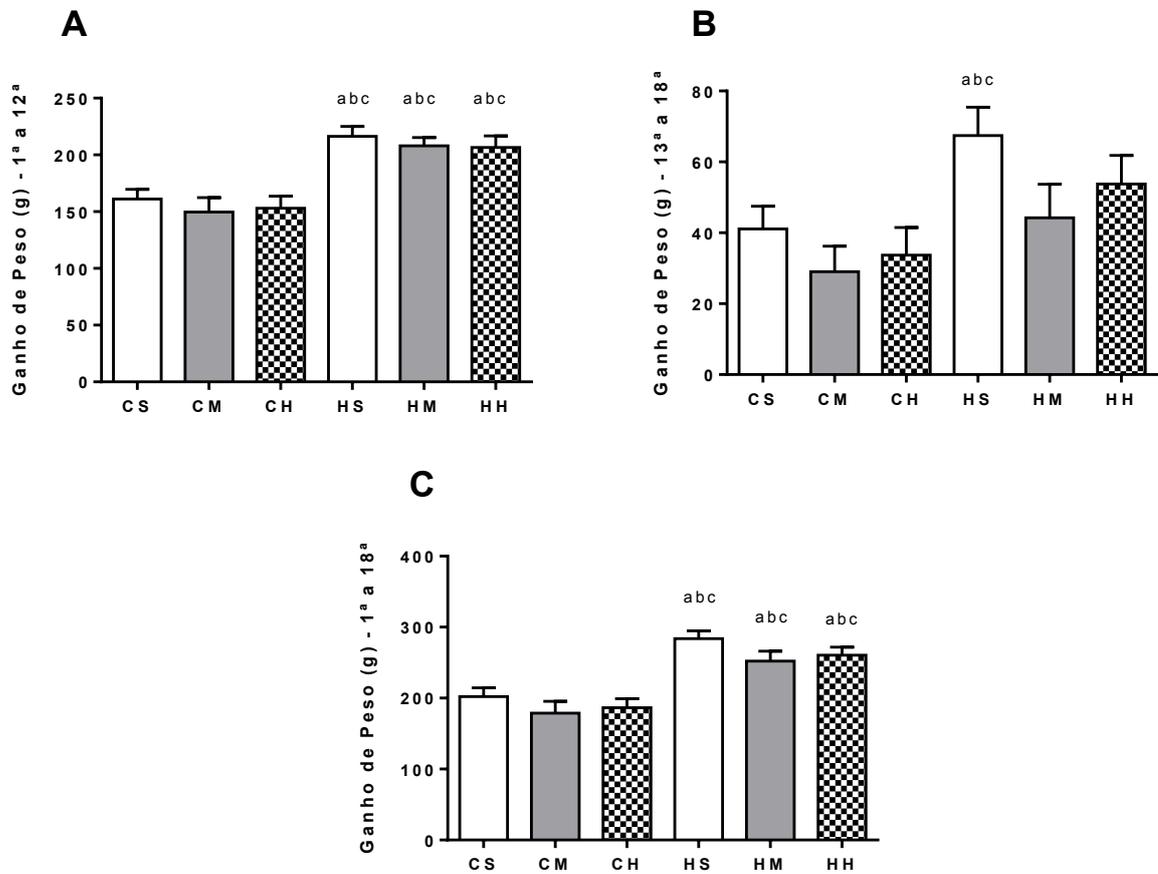
Grupo	Variável		
	Peso corporal (g)		
	1ª Semana <i>Baseline</i>	12ª Semana <i>Pre-treinamento</i>	18ª Semana <i>Pos-treinamento</i>
<b>CS</b>	282,3 ± 6,7	443,4 ± 5,9	484,5 ± 8,9
<b>CM</b>	293,9 ± 10,9	443,7 ± 7,2	472,7 ± 7,8
<b>CH</b>	289,3 ± 11,0	442,3 ± 5,1	475,9 ± 6,6
<b>HS</b>	288,7 ± 8,3	505,1 ± 11,5 <sup>abc</sup>	572,6 ± 9,8 <sup>abc</sup>
<b>HM</b>	298,1 ± 10,7	506,1 ± 9,4 <sup>abc</sup>	550,3 ± 11,2 <sup>abc</sup>
<b>HH</b>	297,4 ± 9,0	504,0 ± 11,5 <sup>abc</sup>	557,8 ± 11,7 <sup>abc</sup>
<b>P</b>	0,85	<0,0001	<0,0001

Legenda: Peso corporal dos grupos na 1ª semana (baseline), na 12ª semana (pré-treinamento) e na 18ª semana (pós-treinamento) do período experimental. <sup>a</sup> P ≤ 0,05 vs. CS. <sup>b</sup> P ≤ 0,05 vs. CM. <sup>c</sup> P ≤ 0,05 vs. CH. Resultados expressos como média ± EPM. N = 18 animais / grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

Quanto ao ganho de peso corporal, diferenças foram encontradas entre todos os grupos C e H no intervalo entre a 1ª e 12ª semana (Figura 14-A), que compreende apenas a intervenção com as dietas (CS vs. HS: P = 0,002; CS vs. HM: P = 0,01; CS vs. HH: P = 0,02; CM vs. HS: P < 0,0001; CM vs. HM: P = 0,0009; CM vs. HH: P = 0,001; CH vs. HS: P = 0,0002; CH vs. HM: P = 0,002; CH vs. HH: P = 0,003) e entre os grupos C e H no período integral (Figura 14-C) (CS vs. HS: P = 0,0004; CS vs. HM: P = 0,04; CS vs. HH: P = 0,03; CM vs. HS: P < 0,0001; CM vs. HM: P = 0,002; CM vs. HH: P = 0,0004; CH vs. HS: P < 0,0001; CH vs. HM: P = 0,009; CH vs. HH: P = 0,002). Nas 6 semanas de treinamento (Figura 14-B), apenas o grupo HS diferiu significativamente dos grupos C (CS: P = 0,05; CM: P = 0,01 e CH: P = 0,04), sem apresentar quaisquer diferenças adicionais (HS vs. HM: P = 0,59; HS vs. HH: P > 0,99).

Figura 14 – Ganho de peso corporal



Legenda: Ganho de peso corporal (g) observado em 3 intervalos distintos: 1ª a 12ª semana – período antecedente ao treinamento físico, onde os grupos receberam dieta C ou H (Fig. A); 13ª – 18ª semana – período de treinamento físico (Fig. B); 1ª – 18ª semana: período experimental completo (Fig. C). <sup>a</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CS. <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM. <sup>c</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CH. Resultados expressos como média  $\pm$  EPM. N = 18 animais / grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

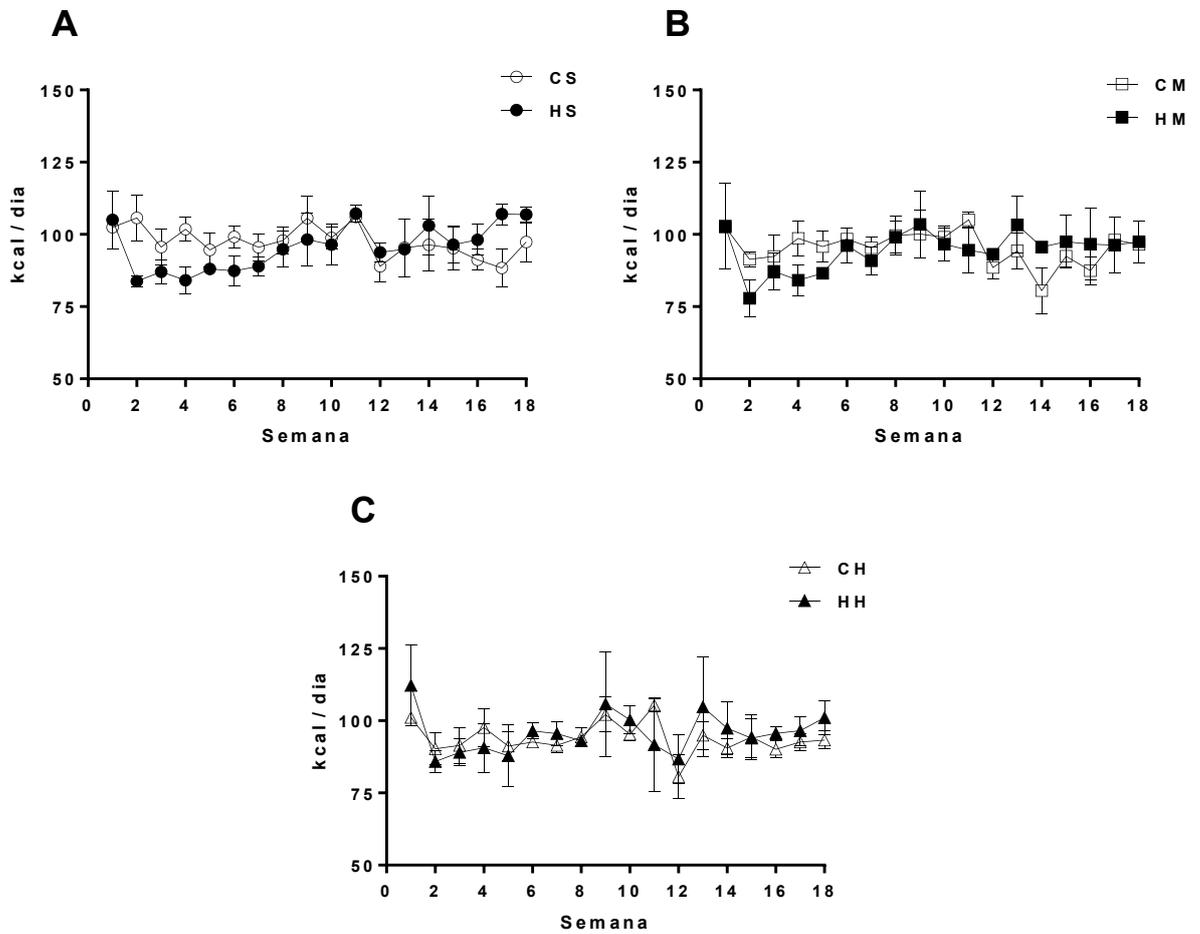
Fonte: A autora, 2019.

#### **5.4 Ingestão alimentar e consumo energético**

A Figura 15 mostra as curvas de consumo energético ao longo do período experimental. A Tabela 4 mostra os resultados da ingestão alimentar e do consumo energético dos grupos em três momentos distintos do período experimental: a) entre a 1<sup>a</sup> e a 12<sup>a</sup> semana – onde os grupos receberam apenas a dieta C ou H; b) entre a 12<sup>a</sup> e a 18<sup>a</sup> semana – onde os grupos com dieta C ou H treinaram em diferentes intensidades; c) entre a 1<sup>a</sup> e a 18<sup>a</sup> semana – que compreende o período experimental completo, independentemente das intervenções.

Os dados de ingestão alimentar referem-se à quantidade média de ração consumida diariamente por cada animal (g). O consumo energético refere-se ao valor médio de quilocalorias (kcal) consumido também diariamente por cada um, e o consumo cumulativo é a soma dos valores semanais de consumo.

Figura 15 – Curvas de consumo energético



Legenda: Curvas de consumo energético no período experimental. (A): CS e HS.(B): CM e HM; (C) CH e HH. Resultados expressos como média±EPM. N = 15 animais / grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

Tabela 4 – Ingestão alimentar e consumo energético

Grupo	Ingestão (g)	P	Consumo (kcal)	P	Cumulativo (kcal)	P
<b>1ª – 12ª Semana</b>						
CS	26,3±0,4		99,4±1,5		1192±17	
CM	25,7±0,3		97,2±1,3		1167±18	
CH	25,0±0,5	<0,0001	94,5±1,8	0,13	1134±6	0,47
HS	20,7±0,4 <sup>abc</sup>		92,9±2,2		1115±34	
HM	20,6±0,5 <sup>abc</sup>		92,7±2,2		1112±57	
HH	21,0±0,5 <sup>abc</sup>		94,6±2,3		1113±72	
<b>13ª – 18ª Semana</b>						
CS	24,8±0,3		93,9±1,4		563±30	
CM	24,2±0,7		91,5±2,6		549±11	
CH	24,5±0,	<0,0001	92,6±0,8	0,003	556±22	0,47
HS	22,5±0,4 <sup>abc</sup>		101,1±2,1 <sup>abc</sup>		606±10	
HM	21,7±0,2 <sup>abc</sup>		97,8±1,1		586±35	
HH	21,8±0,3 <sup>abc</sup>		98,2±1,6		589±44	
<b>1ª – 18ª Semana</b>						
CS	25,8±0,3		97,5 ±1,2		1756±46	
CM	25,2±0,4		95,3±1,3		1716±21	
CH	24,9±0,3	<0,0001	93,8±1,2	0,62	1690±28	0,81
HS	21,2±0,4 <sup>abc</sup>		95,6±1,8		1721±44	
HM	20,9±0,3 <sup>abc</sup>		94,4±1,6		1699±81	
HH	21,3±0,4 <sup>abc</sup>		95,8±1,6		1724±92	

Legenda: Média por animal de ingestão alimentar, consumo energético e consumo cumulativo (*cumulative intake*) nos 3 intervalos do período experimental: 1ª – 12ª semana: período antecedente ao treinamento físico; 13ª – 18ª semana: período de treinamento físico; 1ª – 18ª semana: período experimental completo. <sup>a</sup> P≤0,05 vs. CS; <sup>b</sup> P≤0,05 vs. CM; <sup>c</sup> P≤0,05 vs. CH. Resultados expressos como média±EPM. N = 15 animais / grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

Conforme era esperado, todos os grupos com dieta H consumiram uma quantidade significativamente menor de ração em relação àqueles com dieta C (P < 0,0001), que de forma compensatória, manteve equivalente o consumo energético

entre os grupos ( $P = 0,62$ ). O mesmo comportamento foi observado no período anterior ao treinamento (1<sup>a</sup> – 12<sup>a</sup> semana), no qual os grupos diferiram quanto à ingestão de ração ( $P < 0,0001$ ), mas não de quilocalorias ( $P = 0,13$ ).

No período que compreende as seis semanas de treinamento (13<sup>a</sup> – 18<sup>a</sup> semana), somente HS mostrou um consumo energético maior do que o dos grupos C (HS vs. CS:  $P = 0,03$ ; HS vs. CM:  $P = 0,008$ ; HS vs. CH:  $P = 0,02$ ), ainda que a quantidade de ração consumida tenha sido menor à desses grupos (HS vs. CS:  $P = 0,002$ ; HS vs. CM:  $P = 0,03$ ; HS vs. CH:  $P = 0,01$ ). A mesma resposta não foi verificada em HM e HH, que mantiveram seus respectivos valores de consumo energético sem diferenças para os grupos C (HM vs. CS:  $P = 0,66$ ; HM vs. CM:  $P = 0,08$ ; HM vs. CH:  $P = 0,23$ ; HH vs. CS:  $P = 0,48$ ; HH vs. CM:  $P = 0,06$ ; HH vs. CH:  $P = 0,16$ ), mesmo consumindo menor quantidade de ração (HM vs. CS:  $P < 0,0001$ ; HM vs. CM:  $P = 0,0015$ ; HM vs. CH:  $P = 0,0004$ ; HH vs. CS:  $P = 0,0001$ ; HH vs. CM:  $P = 0,002$ ; HH vs. CH:  $P = 0,0006$ ).

Apesar dessa resposta diferenciada do grupo HS em relação à CH e CM, não houve diferenças quando o consumo foi avaliado de forma cumulativa (*cumulative intake*) ( $P > 0,99$ ). Na verdade, nenhum grupo apresentou diferenças nesta variável, tanto no período integral ( $P = 0,81$ ) quanto nos três intervalos específicos ( $P = 0,47$ ). Esses dados confirmam os resultados encontrados para a curva de consumo ao longo das 18 semanas (Figura 15), onde não foram detectadas diferenças significativas, considerando a interação entre tempo e grupo ( $P = 0,95$ ).

Ao analisar o coeficiente de eficiência alimentar (CEA), que reflete a razão entre o ganho de peso (g) e o consumo alimentar (g), houve diferenças entre alguns grupos ( $P = 0,0016$ ), e os seguintes resultados foram encontrados: CS:  $131 \pm 0,1$ ; CM:  $117 \pm 0,1$ ; CH:  $125 \pm 0,9$ ; HS:  $229 \pm 0,2$ ; HM:  $208 \pm 0,3$ ; HH:  $205 \pm 0,2$ . O grupo HS teve valores significativamente elevados em relação à todos os grupos C (HS vs. CS:  $P = 0,05$ ; HS vs. CM:  $P = 0,007$ ; HS vs. CH:  $P = 0,01$ ). Não houve diferença entre HS e os demais grupos H ( $P > 0,99$ ); entre HM e os grupos C (HM vs. CS:  $P > 0,99$ ; HM vs. CM:  $P = 0,28$ ; HM vs. CH:  $P = 0,54$ ); e entre HH e os grupos C (HH vs. CS:  $P > 0,99$ ; HH vs. CM:  $P = 0,21$ ; HH vs. CH:  $P = 0,43$ ).

## 5.5 Protocolo de treinamento – Sessões Isocalóricas

Para o protocolo de treinamento com sessões isocalóricas, o volume e a carga de trabalho dos grupos CM, CH, HM e HH foram comparados através do dispêndio energético total do exercício, e do  $VO_2$  alvo – que reflete o ritmo de trabalho realizado. Ambas as variáveis foram estimadas e, posteriormente, medidas na sessão isocalórica de teste. Em tese, o  $VO_2$  alvo deveria ser maior nos grupos de treinamento HIIT do que no MICT, ao passo que o dispêndio energético total seria similar, uma vez que as sessões foram concebidas para serem isocalóricas. A Tabela 5 indica que isto foi, efetivamente, o que ocorreu, uma vez que os grupos obtiveram valores similares de dispêndio energético na sessão de teste (CM =  $4,9 \pm 0,1$  kcal, CH =  $4,8 \pm 0,1$  kcal, HM =  $4,8 \pm 0,1$  kcal, HH =  $4,7 \pm 0,1$  kcal;  $P = 0,72$ ), mas diferiram no  $VO_2$  de trabalho (CM =  $21,4 \pm 0,6$  ml.min.<sup>-1</sup>, CH =  $25,4 \pm 0,7$  ml.min.<sup>-1</sup>, HM =  $23,3 \pm 1,1$  ml.min.<sup>-1</sup>, HH =  $27,7 \pm 1,7$  ml.min.<sup>-1</sup>;  $P = 0,0009$ ).

Tabela 5 – Resultados da sessão isocalórica

Variável	Grupo			
	CM	CH	HM	HH
<b>Dispêndio Energético Total (kcal)</b>				
<i>Estimado</i>	5,0	5,0	5,0	5,0
<b>Dispêndio Energético Total (kcal)</b>				
<i>Medido</i>	4,9 (0,1)	4,8 (0,1)	4,8 (0,1)	4,7 (0,1)
<b><math>VO_2</math> Alvo (ml.min.<sup>-1</sup>)</b>				
<i>Estimado</i>	22,2 (0,6)	25,7 (0,9) <sup>b</sup>	24,3 (1,4)	29,6 (1,9) <sup>e</sup>
<b><math>VO_2</math> Alvo (ml.min.<sup>-1</sup>)</b>				
<i>Medido</i>	21,4 (0,7)	25,4 (0,8) <sup>b</sup>	23,3 (1,2)	27,7 (1,8) <sup>e</sup>
<b>Tempo (min.)</b>				
<i>Estimado</i>	46,4 (1,4)	40,1 (1,4) <sup>b</sup>	41,8 (2,4)	36,3 (2,1)
<b>Tempo (min.)</b>				
<i>Medido</i>	47,1 (1,5) <sup>*</sup>	38,7 (1,2) <sup>b</sup>	43,1 (1,9)	35,7 (2,1) <sup>e</sup>

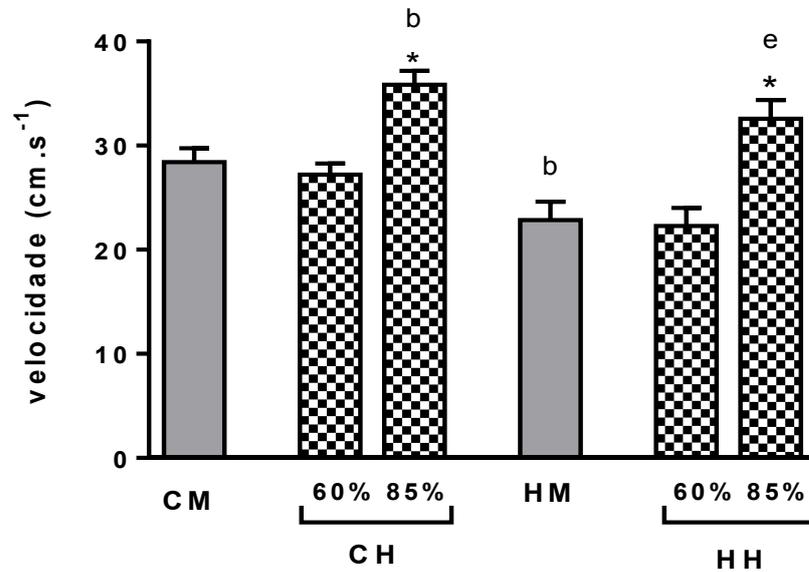
Legenda: Valores estimados e medidos de cada variável das sessões isocalóricas de teste. <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM; <sup>e</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HM; <sup>\*</sup>  $P \leq 0,05$  vs. tempo estimado. Resultados expressos em média  $\pm$  EPM. N = 18 animais/ grupo. CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

Na Tabela 5 também constam os valores previamente estimados do tempo, do  $VO_2$  alvo e do dispêndio energético total, que foram comparados com os valores medidos na sessão de teste. Neste caso, nenhum grupo apresentou diferença entre o  $VO_2$  alvo estimado e medido (CM:  $P = 0,12$ ; CH:  $P = 0,58$ ; HM:  $P = 0,50$ ; HH:  $P = 0,28$ ), e entre o dispêndio energético total nas mesmas condições (CM:  $P = 0,63$ ; CH:  $P = 0,15$ ; HM:  $P = 0,43$ ; HH:  $P = 0,21$ ). No que se refere ao tempo, somente os animais do grupo CM executaram uma sessão de exercício significativamente mais longa do que o previsto, a fim de alcançar o dispêndio energético proposto (CM: 46 min. vs. 47 min.  $P = 0,04$ ). O restante dos grupos não apresentou diferenças significativas entre o tempo medido e estimado para a sessão de treino (CH:  $P = 0,29$ ; HM:  $P = 0,50$ ; HH:  $P = 0,31$ ).

Além do  $VO_2$  alvo, outra variável que também refletiu os diferentes ritmos de trabalho dos grupos de treinamento de alta e moderada intensidade foi a velocidade de corrida. Na Figura 16 observam-se as diferenças entre as velocidades dos grupos CH e CM ( $36 \text{ cm.s}^{-1}$  vs.  $28 \text{ cm.s}^{-1}$ ;  $P = 0,0007$ ), e HH e HM ( $33 \text{ cm.s}^{-1}$  vs.  $23 \text{ cm.s}^{-1}$ ;  $P = 0,002$ ). Em ambos os grupos CH e HH, as velocidades de estímulo ( $85\% VO_{2RES}$ ) e de recuperação ( $60\% VO_{2RES}$ ) também diferiram significativamente entre si (CH:  $85\% = 36 \text{ cm.s}^{-1}$  vs.  $60\% = 27 \text{ cm.s}^{-1}$ ,  $P < 0,0001$ ; HH:  $85\% = 33 \text{ cm.s}^{-1}$  vs.  $60\% = 22 \text{ cm.s}^{-1}$ ,  $P = 0,0006$ ), caracterizando desta forma, a execução de um protocolo de HIIT.

Figura 16 – Velocidade de corrida dos grupos de treinamento



Legenda: Velocidade de corrida correspondente à 60% do  $VO_{2RES}$  nos grupos CM e HM; velocidade correspondente à 85% do  $VO_{2RES}$  (estímulo) e à 60% do  $VO_{2RES}$  (recuperação) nos grupos CH e HH; representadas por média±EPM. <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM; <sup>e</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HM; \*  $P \leq 0,05$  vs. 60% do  $VO_{2RES}$ . N = 18 animais / grupo. CM: grupo com C e treinamento contínuo de moderada intensidade; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

## 5.6 Consumo de O<sub>2</sub> em Excesso Pós-Exercício (EPOC)

Na Figura 17 estão as variáveis do EPOC, analisadas durante 30 minutos após a sessão isocalórica de teste. Embora as sessões tenham sido executadas em diferentes intensidades, não foram encontradas diferenças na AUC do  $VO_2$  ( $P = 0,95$ ) (Figura 17-B), ou na quantidade de kcal dispendidas pelos grupos ( $P=0,31$ ) (Figura 17-D). Por outro lado, o  $VO_2$  inicial foi significativamente maior nos grupos CH e HH em relação aos respectivos grupos de treinamento moderado (CH vs. CM:  $P=0,04$ ; HM vs. HH:  $P=0,005$ ), confirmando o efeito das diferentes cargas de trabalho sobre o  $VO_2$  no exercício (Figura 17-A). A amplitude do  $VO_2$  alcançada por CH e HH também foi superior em relação à amplitude dos respectivos CM e HM

(CH:  $36,5 \pm 3,5$  vs. CM:  $26,6 \pm 2,3$ ; HH:  $36,6 \pm 3,1$  vs. HM:  $23,8 \pm 2,0$ ). Nesse caso, nível de significância estatística foi alcançado por grupos que treinaram HIIT em comparação ao MICT (HH vs. HM:  $P = 0,02$ ; CH vs. CM:  $P = 0,02$ ) (Figura 17 – C).

Figura 17 – Avaliação do Consumo de  $O_2$  em Excesso Pós-Exercício (EPOC) (continua)

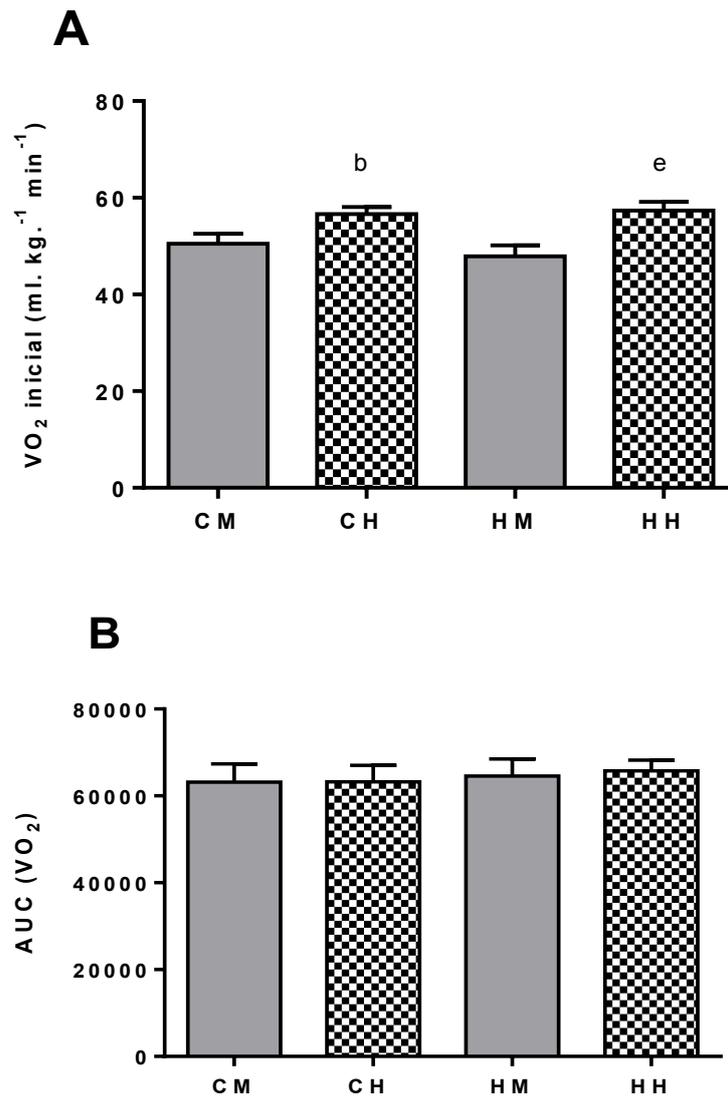
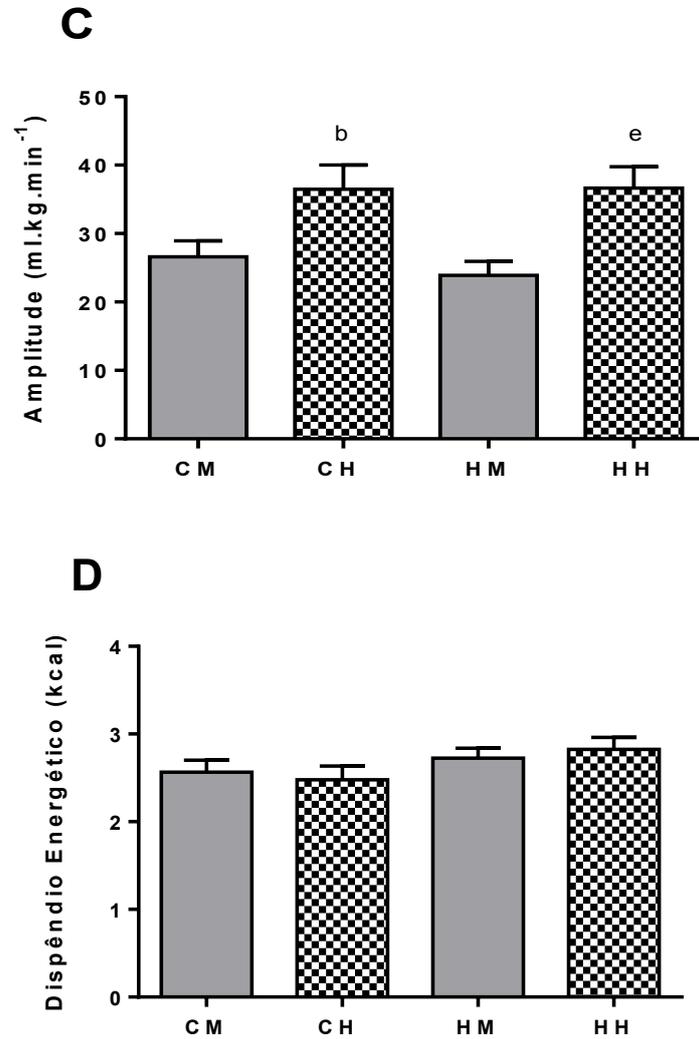


Figura 17 – Avaliação do Consumo de O<sub>2</sub> em Excesso Pós-Exercício (EPOC) (conclusão)



Legenda: (A): VO<sub>2</sub> inicial, medido nos 3 primeiros minutos após o término da sessão; (B): AUC do VO<sub>2</sub> durante o período de EPOC; (C): Amplitude do VO<sub>2</sub> durante o período de EPOC; (D): Dispendio energético total durante o período de EPOC. <sup>b</sup> P≤0,05 vs. CM. <sup>e</sup> P≤0,05 vs. HM. Resultados expressos em média±EPM. N= 7 - 9 animais/ grupo. CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

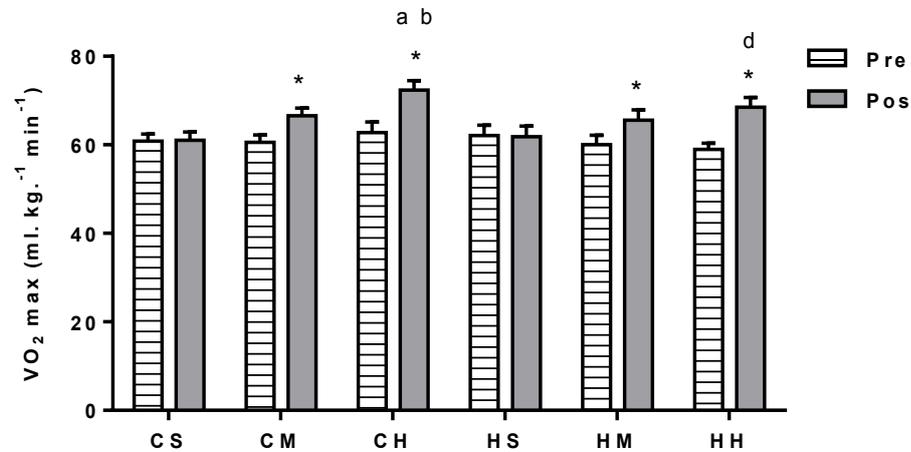
Fonte: A autora, 2019.

## 5.7 Capacidade cardiorrespiratória

As Figuras 18 e 19 exibem os dados do teste máximo de exercício incremental, que serviu para avaliar a capacidade cardiorrespiratória dos grupos antes (Pre) e após (Pos) as 6 semanas de treinamento com diferentes intensidades. Neste caso, comparações intragrupos (Pos vs. Pre) e intergrupos foram analisadas, e os resultados foram representados pela média  $\pm$  EPM.

Sem exceção, todos os grupos que treinaram tiveram aumento do  $VO_{2PICO}$  no período Pós-treinamento em relação ao Pre (CM:  $60,6 \pm 1,7$  vs.  $66,6 \pm 1,6$   $P = 0,0036$ ; CH:  $62,8 \pm 2,3$  vs.  $72,4 \pm 2,1$   $P < 0,0001$ ; HM:  $60,0 \pm 2,1$  vs.  $65,5 \pm 2,3$   $P = 0,01$ ; HH:  $58,9 \pm 1,3$  vs.  $68,5 \pm 2,2$   $P < 0,0001$ ); sem diferenças para os grupos sedentários (CS:  $60,9 \pm 1,5$  vs.  $61,0 \pm 1,8$   $P = 0,94$ ; HS:  $62,1 \pm 2,3$  vs.  $61,8 \pm 2,3$   $P = 0,92$ ). Em adição, os mesmos grupos de treinamento demonstraram um incremento significativo da velocidade máxima do teste Pos vs. Pre (CM:  $42,6 \pm 1,5$  vs.  $53,3 \pm 2,6$   $P < 0,0001$ ; CH:  $44,3 \pm 1,3$  vs.  $61,3 \pm 1,9$   $P < 0,0001$ ; HM:  $39,6 \pm 2,2$  vs.  $51,7 \pm 2,1$   $P < 0,0001$ ; HH:  $44,8 \pm 1,3$  vs.  $56,5 \pm 1,6$   $P < 0,0001$ ), e similarmente, sem diferenças para os grupos sedentários (CS:  $41,0 \pm 1,2$  vs.  $40,5 \pm 1,4$   $P = 0,81$ ; HS:  $39,0 \pm 1,9$  vs.  $39 \pm 1,7$   $P = 0,81$ ).

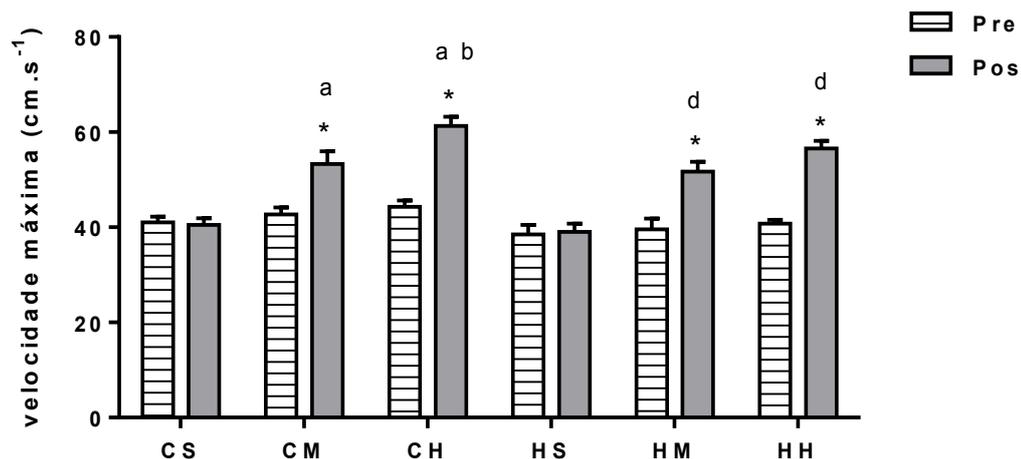
Na comparação intergrupos, onde os resultados da capacidade cardiorrespiratória pós-treinamento foram analisados separadamente, somente CH e HH demonstraram maior  $VO_{2PICO}$  em relação aos seus congêneres sedentários CS (CH vs. CS:  $P = 0,0002$ ; HH vs. HS:  $P = 0,03$ ), sem haver quaisquer diferenças para os demais grupos (CM vs. CS:  $P = 0,06$ ; HM vs. HS:  $P = 0,23$ ). Diferenças significativas também foram localizadas entre as intensidades de treinamento, mas apenas nos grupos controles (CH vs. CM:  $P = 0,02$ ; HM vs. HH:  $P = 0,31$ ). Ao contrário dos resultados observados para o  $VO_{2PICO}$ , uma velocidade de corrida significativamente maior foi encontrada no teste máximo de todos os grupos que treinaram em relação aos respectivos grupos sedentários (CM vs. CS:  $P < 0,0001$ ; CH vs. CS:  $P < 0,0001$ ; HM vs. HS:  $P < 0,0001$ ; HH vs. HS:  $P < 0,0001$ ), havendo as mesmas diferenças entre intensidades de treinamento (CH vs. CM:  $P = 0,01$ ; HH vs. HM:  $P = 0,92$ ).

Figura 18 – Consumo pico de oxigênio ( $VO_{2PICO}$ )

Legenda:  $VO_{2PICO}$  obtido a partir do teste de exercício incremental máximo, realizado antes (Pre) e após (Pos) as 6 semanas de treinamento aeróbio. \*  $P \leq 0,05$  vs. Pre; <sup>a</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CS (Pos). <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM (Pos). <sup>d</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HS (Pos). Resultados expressos em média  $\pm$  EPM. N= 18 animais/ grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

Figura 19 – Velocidade máxima do teste de exercício incremental



Legenda: Velocidade máxima alcançada pelos grupos no teste de exercício incremental máximo, realizado antes (Pre) e após (Pos) as 6 semanas de treinamento aeróbio. \*  $P \leq 0,05$  vs. Pre; <sup>a</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CS (Pos). <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM (Pos). <sup>d</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HS (Pos). Resultados expressos em média  $\pm$  EPM. N= 18 animais/ grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

Ao menos em parte, os resultados da variação ( $\Delta\%$ ) exibidos na Tabela 6 refletem os achados descritos acima. Neste caso, uma maior variação foi encontrada no  $VO_{2PICO}$  de CH e HH em comparação à dos respectivos grupos CS e HS (CH vs. CS:  $P = 0,01$ ; HH vs. HS:  $P = 0,01$ ) e na velocidade máxima; onde todos os grupos de treinamento diferiram dos grupos sedentários, independentemente da intensidade (CM vs. CS:  $P = 0,02$ ; CH vs. CS:  $P = 0,0001$ ; HM vs. HS:  $P = 0,01$ ; HH vs. HS:  $P = 0,0001$ ).

Tabela 6 – Variação do  $VO_{2PICO}$  e da velocidade máxima ( $\Delta\%$ )

Grupo	Variável	
	$VO_{2PICO}$ ( $\Delta\%$ )	Velocidade máxima ( $\Delta\%$ )
CS	-0,6 (-4,1 – 3,5)	0,0 (-11,4 – 3,1)
CM	7,9 (1,7 – 14,4)	22,2 (12,5 – 40,0) <sup>a</sup>
CH	12,9 (4,7 – 25,1) <sup>a</sup>	37,5 (25,0 – 50,0) <sup>a b</sup>
HS	-0,4 (-8,8 – 4,2)	0,0 (0,0 – 11,5)
HM	4,8 (1,4 – 16,0)	25,4 (12,5 – 40,5) <sup>d</sup>
HH	6,2 (4,7 – 22,8) <sup>d</sup>	37,5 (35,4 – 50,0) <sup>d e</sup>
<b>P</b>	0,0013	< 0,0001

Legenda: Variação ( $\Delta\%$ ) do  $VO_{2PICO}$  e da velocidade máxima referente ao período Pre e Pos treinamento. <sup>a</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CS. <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM <sup>d</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HS. <sup>e</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HM. Resultados expressos como mediana (1<sup>o</sup>–3<sup>o</sup> quartil). N = 18 animais / grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

## 5.8 Composição Corporal

Nas Figuras 20 e 21 estão os dados de composição corporal obtidos através do DEXA, após o período de treinamento. As variáveis analisadas foram: massa gorda (Figura 19 – A); percentual de gordura (Figura 19 – B); massa magra (Figura

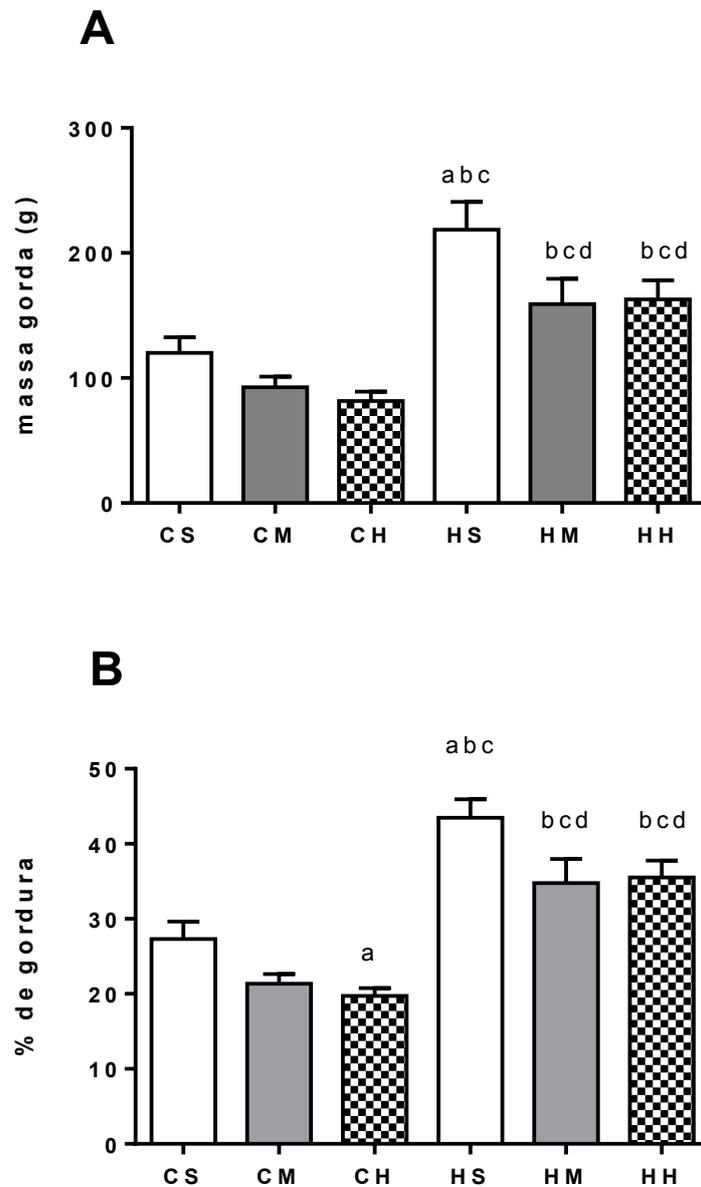
20 – A); coeficiente de massa magra (CMM), onde se normaliza a massa magra absoluta pela massa corporal total (Figura 20 – B).

No tocante aos resultados de gordura corporal, os grupos apresentaram os seguintes valores percentuais (%) e absolutos (g), respectivamente: CS –  $28 \pm 2$  e  $126 \pm 12$ ; CM –  $21 \pm 1$  e  $87 \pm 7$ ; CH –  $19 \pm 1$  e  $76 \pm 5$ ; HS –  $44 \pm 2$  e  $225 \pm 23$ ; HM –  $34 \pm 3$  e  $154 \pm 22$ ; HH –  $34 \pm 2$  e  $161 \pm 16$ .

Na massa gorda, o grupo HS exibiu valores maiores do que todos os grupos C ( $P < 0,0001$ ), e também em relação aos seus congêneres treinados HM ( $P = 0,01$ ) e HH ( $P = 0,03$ ). Nenhum grupo de treinamento C apresentou diferenças em relação à CS (CM vs. CS:  $P = 0,49$ ; CH vs. CS:  $P = 0,16$ ). Os grupos HM e HH diferiram de CM ( $P = 0,02$  e  $P = 0,01$ ) e de CH ( $P = 0,005$  e  $P = 0,002$ ), mas não de CS ( $P > 0,99$  e  $P = 0,61$ ), respectivamente.

No % de gordura, diferenças adicionais foram localizadas entre os grupos. Ambos HM e HH apresentaram valores menores do que HS ( $P = 0,01$  e  $P = 0,01$ ), e o mesmo ocorreu com CH, que diferiu de CS ( $P = 0,03$ ). Porém, não houve diferenças entre CM e CS ( $P = 0,13$ ). O grupo HS teve % de gordura maior do que todos os grupos C, sem exceção ( $P < 0,0001$ ), mas HM e HH exibiram valores superiores apenas em relação aos grupos CM ( $P = 0,0005$  e  $P = 0,0004$ ) e CH ( $P < 0,0001$ ), respectivamente. Ou seja, não houve diferenças entre HM e HH em relação à CS ( $P = 0,29$  e  $P = 0,27$ ).

Figura 20 – Gordura corporal avaliada pelo DEXA



Legenda: (A): massa gorda absoluta (g). (B): Percentual de gordura corporal (%).<sup>a</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CS. <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM. <sup>c</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CH. <sup>d</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HS. Resultados expressos como média  $\pm$  EPM. N = 10 animais / grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

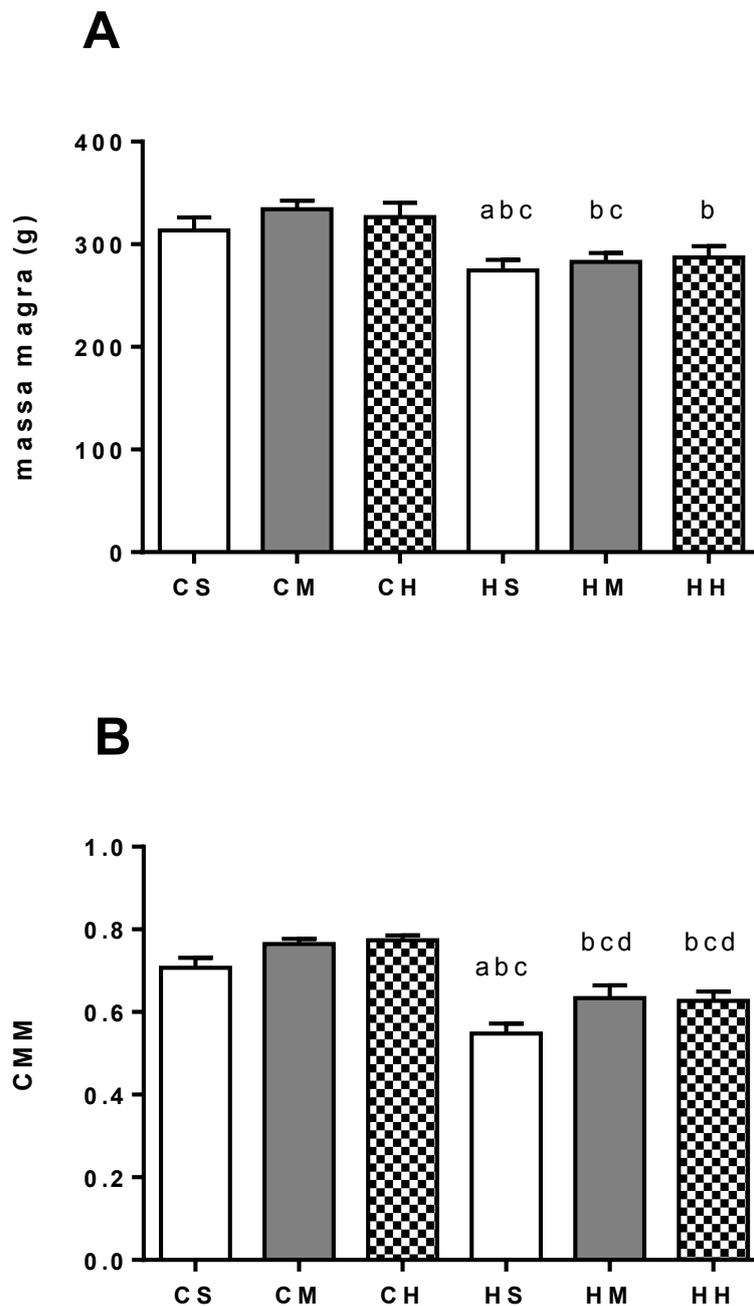
Quanto aos resultados de massa magra, foram encontrados os seguintes valores absolutos (g) e relativos (CMM), respectivamente: CS –  $318 \pm 12$  e  $0,70 \pm$

0,02; CM –  $330 \pm 8$  e  $0,77 \pm 0,01$ ; CH –  $320 \pm 14$  e  $0,77 \pm 0,01$ ; HS –  $269 \pm 10$  e  $0,53 \pm 0,02$ ; HM –  $279 \pm 9$  e  $0,63 \pm 0,03$ ; HH –  $283 \pm 11$  e  $0,62 \pm 0,02$ .

Na análise dos valores absolutos, o grupo HS apresentou médias significativamente menores do que todos os grupos C (HS vs. CS:  $P = 0,01$ ; vs. CM:  $P = 0,001$ ; vs. CH:  $P = 0,01$ ), mas sem diferenças em relação aos congêneres treinados ( $P > 0,99$ ). O grupo HM exibiu menor massa magra em comparação à de CM e CH ( $P = 0,009$  e  $P = 0,05$ ), mas não à CS ( $P = 0,07$ ). O grupo HH diferiu de CM ( $P = 0,02$ ), mas não de CH ( $P = 0,12$ ) ou de CS ( $P = 0,16$ ).

Na análise do CMM, o grupo HS apresentou menor coeficiente em comparação à todos os grupos ( $P < 0,0001$ ), inclusive seus congêneres treinados (HM vs. HS:  $P = 0,01$ ; HH vs. HS:  $P = 0,04$ ). Os grupos de treinamento HM e HH não diferiram de CS ( $P = 0,34$  e  $P = 0,16$ ), mas mostraram menores valores em relação aos grupos de treinamento C (CM vs. HM:  $P = 0,002$ ; CM vs. HH:  $P = 0,0008$ ; CH vs. HM:  $P = 0,001$ ; CH vs. HH:  $P = 0,0003$ ).

Figura 21 – Massa magra avaliada pelo DEXA



Legenda: (A): CMM – coeficiente de massa magra. (B): massa magra absoluta. <sup>a</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CS. <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM. <sup>c</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CH. <sup>d</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HS. Resultados expressos como média  $\pm$  EPM. N = 10 animais / grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

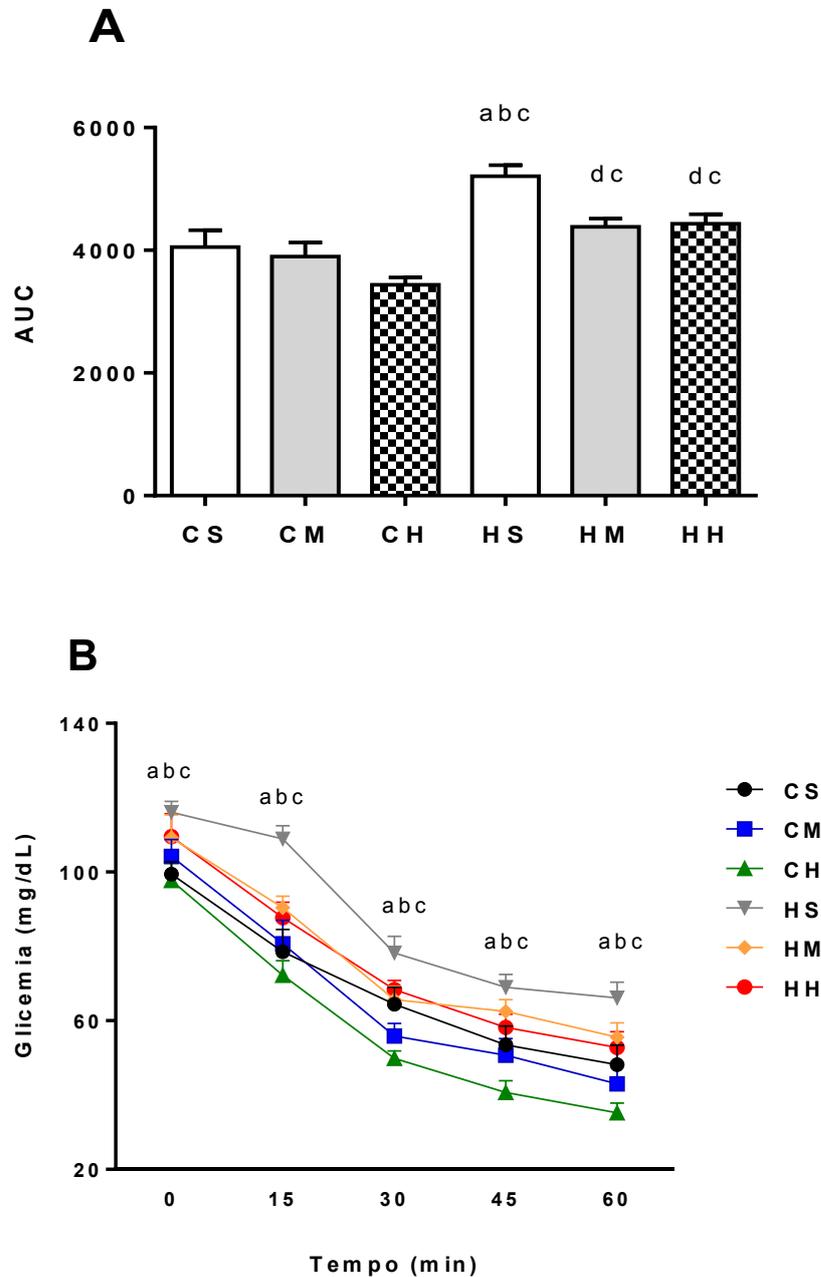
## 5.9 Testes de tolerância à insulina e à glicose (TTI / TTG)

As Figuras 22 e 23 mostram os resultados do TTI e do TTG, expressos como média  $\pm$  EPM. A glicemia coletada durante esses dois testes foi avaliada através da AUC (Figuras 22-A e 23-A), e dos valores absolutos (mg/dL) – que formaram a curva glicêmica em resposta à administração intraperitoneal de insulina (Figura 22-B; Figura 23-B), ou glicose.

No TTI, a AUC de HS diferiu de maneira significativa em relação à todos os grupos com dieta C (HS vs. CS:  $P=0,0004$ ; HS vs. CM:  $P<0,0001$ ; HS vs. CH:  $P<0,0001$ ), inclusive aos seus congêneres treinados (HM:  $P=0,002$  e HH:  $P=0,003$ ). Na curva glicêmica do TTI, houve variações significantes em todos os tempos analisados (15, 30 45 e 60 minutos), sobretudo em função dos valores relativamente elevados de glicemia de HS.

Analisando os principais resultados, apenas HS inicia o teste com a glicemia significativamente maior do que os grupos C (HS vs. CS:  $P = 0,005$ ; HM vs. CS:  $P = 0,04$ ; HS vs. CH:  $P = 0,002$ ). Após 15 minutos da aplicação de insulina, HS exibiu maior glicemia em relação aos grupos C (CS:  $P = 0,0002$ ; CM:  $P = 0,0001$ ; CH:  $P < 0,0001$ ) e também à HM ( $P=0,002$ ) e HH ( $P=0,0005$ ). Em 30 minutos, a glicemia de HS manteve-se elevada em relação aos grupos C (CS:  $P= 0,02$ ; CM:  $P = 0,0002$ ; CH:  $P <0,0001$ ), diferindo apenas de HM ( $P=0,03$ ). Em 45 minutos, as diferenças em relação aos grupos C permaneceram (CS:  $P = 0,01$ ; CM:  $P = 0,002$ ; CH:  $P < 0,0001$ ) e estenderam-se à HH ( $P=0,01$ ), mas não à HM ( $P=0,30$ ). Em 60 minutos, esse padrão de resposta se mantém e HS termina o teste diferindo dos grupos C e HH (CS:  $P = 0,003$ ; CM:  $P = 0,0001$ ; CH:  $P < 0,0001$ ; HH:  $P=0,02$ ). Durante o teste, também houve variações significantes entre CS e CH, em função da queda expressiva da glicemia deste grupo treinado. Essa resposta foi observada aos 30 ( $P=0,01$ ), 45 ( $P=0,03$ ) e 60 minutos de teste ( $P=0,03$ ). Contudo, a AUC deste grupo não foi diferente de CS ( $P=0,11$ ).

Figura 22 – Resultados do teste de tolerância à insulina (TTI)



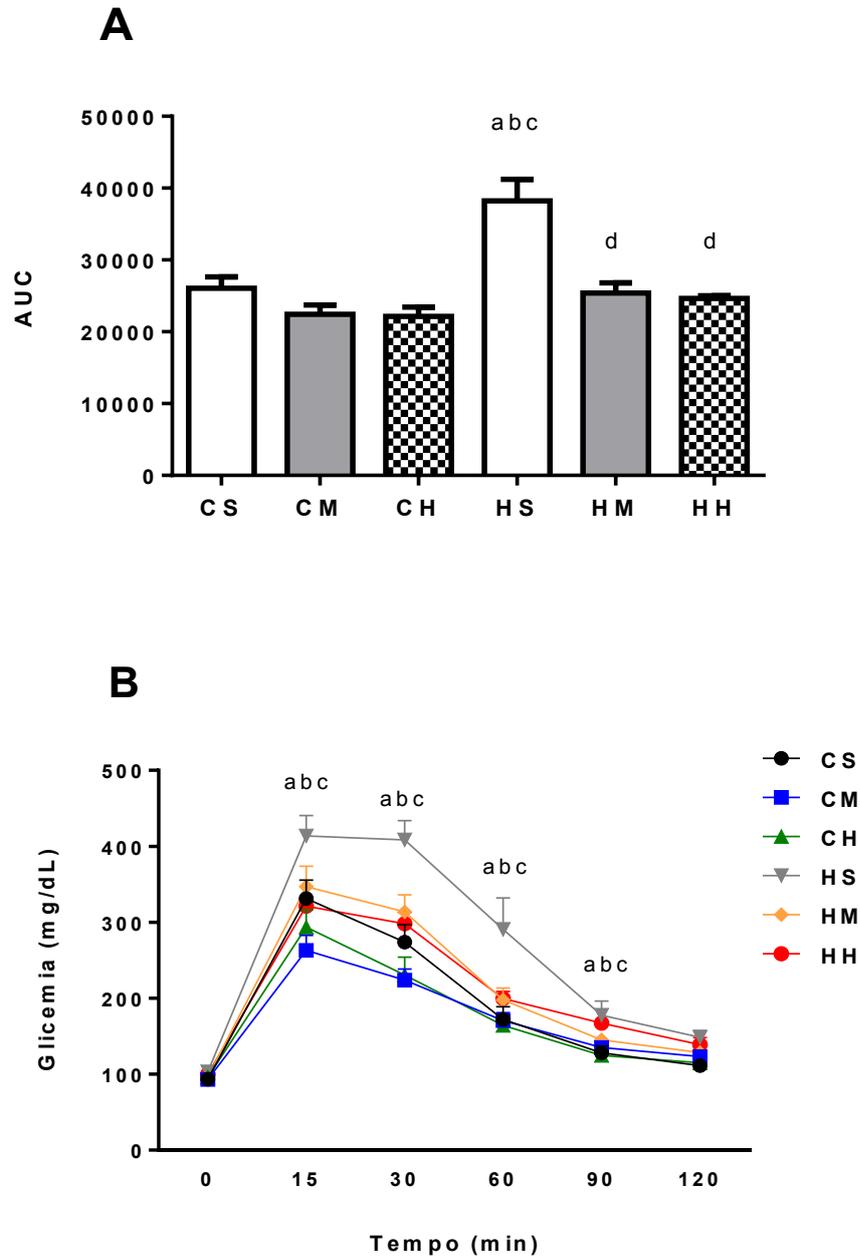
Legenda: (A): Área sob a curva (AUC) calculada a partir dos valores de glicemia coletados durante o TTI. (B): Curva com valores de glicemia coletados durante o TTI, desde o tempo 0 (basal) até 60 minutos após administração intraperitoneal de insulina (final do teste). <sup>a</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CS. <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM. <sup>c</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CH. <sup>d</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HS. Resultados expressos como média  $\pm$  EPM. N = 10 animais/grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

No TTG, a AUC de HS foi maior em comparação à de todos os outros grupos: CS ( $P < 0,0001$ ), CM ( $P < 0,0001$ ), CH ( $P < 0,0001$ ), HM ( $P = 0,02$ ) e HH ( $P = 0,0004$ ). Tal resultado se deve ao comportamento da curva glicêmica de HS, que se manteve elevada em até 1 hora após a administração de glicose intraperitoneal. Neste caso, diferenças foram encontradas em 15 minutos (CS:  $P = 0,002$ ; CM:  $P < 0,0001$ ; CH:  $P < 0,0001$ ; HM:  $P = 0,0001$ ; HH:  $P < 0,0001$ ), 30 minutos (CS:  $P < 0,0001$ ; CM:  $P < 0,0001$ ; CH:  $P < 0,0001$ ; HM:  $P < 0,0001$ ; HH:  $P < 0,0001$ ) e 60 minutos após a injeção (CS:  $P < 0,0001$ ; CM:  $P < 0,0001$ ; CH:  $P < 0,0001$ ; HM:  $P < 0,0001$ ; HH:  $P < 0,0001$ ).

Depois da metade do teste, aos 90 minutos, o grupo HS manteve a glicemia maior do que a de todos os grupos controle (CS:  $P = 0,008$ ; CM:  $P = 0,02$ ; CH:  $0,02$ ), mas deixou de apresentar diferenças significativas em relação à HM ( $P = 0,45$ ) e HH ( $P = 0,14$ ). Além disso, diferenças também foram detectadas entre as curvas glicêmicas de CS e a de seus congêneres submetidos ao treinamento, tendo CM e CH exibido uma queda significativa da glicemia aos 15 minutos do teste (CS vs. CM:  $P = 0,0001$ ; CS vs. CH:  $P = 0,02$ ). No TTG, somente alguns grupos H apresentaram a glicemia inicial maior do que a de alguns grupos C (HS vs. CS:  $P = 0,01$ ; HM vs. CS:  $P = 0,01$ ; HS vs. CH:  $P = 0,01$ ; HM vs. CH:  $P = 0,01$ ; HH vs. CH:  $P = 0,05$ ).

Figura 23 – Resultados do teste de tolerância à glicose (TTG)



Legenda: (A): Área sob a curva (AUC) calculada a partir dos valores de glicemia coletados durante o TTG. (B): Curva com valores de glicemia coletados durante o TTG, desde o tempo 0 (basal) até 120 minutos após administração intraperitoneal de glicose. <sup>a</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CS. <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM. <sup>c</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CH. <sup>d</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HS. Resultados expressos como média  $\pm$  EPM. N = 10 animais /grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

## 5.10 Perfil Lipídico

Na Tabela 7 encontram-se os resultados do perfil lipídico de todos os grupos, avaliados pelo colesterol total, triglicerídeos, e fração de HDL-c e LDL-c. O colesterol total de HS foi significativamente maior em comparação à todos os grupos (CS:  $P = 0,0005$ ; CM:  $P = 0,0004$ ; CH:  $P = 0,0001$ ; HM:  $P = 0,0004$ ; HH:  $P = 0,0004$ ), e nenhum grupo C de treinamento diferiu de seu congênere sedentário CS ( $P > 0,99$ ). Os valores de triglicerídeos de HS também foram maiores do que os de CS ( $P = 0,04$ ), CM ( $P = 0,03$ ) e CH ( $P = 0,01$ ), mas não aos de HM ( $P = 0,10$ ) e HH ( $P = 0,20$ ). Quanto aos resultados de HDL-c, não houve diferenças entre os grupos ( $P = 0,64$ ). Similarmente ao colesterol total, o LDL-c de HS foi superior em comparação à de todos os grupos (CS:  $P = 0,04$ ; CM:  $P = 0,01$ ; CH:  $P = 0,01$ ), inclusive de seus congêneres treinados (HM:  $P = 0,01$  e HH:  $P = 0,008$ ).

Tabela 7 – Resultados do perfil lipídico

Grupo	Variável			
	Colesterol Total	Triglicerídeos	HDL- c	LDL- c
CS	69,0± 3,6	43,8± 8,4	41,4± 3,2	21,4±5,2
CM	68,8± 4,3	42,9± 6,0	46,2± 2,4	18,4±3,7
CH	65,5± 3,0	39,5± 2,7	43,3± 4,2	19,5±3,2
HS	99,1± 8,3 <sup>abc</sup>	86,2± 26,9 <sup>abc</sup>	39,4± 1,9	42,4±7,2 <sup>abc</sup>
HM	68,5± 3,5 <sup>d</sup>	51,7±14,1	47,4± 5,2	19,8±6,1 <sup>d</sup>
HH	68,3± 4,7 <sup>d</sup>	55,7±14,9	45,7± 4,3	17,6±4,7 <sup>d</sup>
<b>P</b>	0,0001	0,01	0,64	0,03

Legenda: Valores médios de colesterol total, triglicerídeos, colesterol HDL (HDL-c) e colesterol LDL-c (LDL-c) <sup>a</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CS. <sup>b</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CM. <sup>c</sup>  $P \leq 0,05$  vs. CH. <sup>d</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HS. Resultados expressos como média ± EPM. N= 8 animais/ grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade.

Fonte: A autora, 2019.

### 5.11 Reatividade microvascular no músculo cremaster

As Figuras 24 e 26 exibem os valores medianos (1<sup>o</sup>-3<sup>o</sup> quartil) de vasodilatação endotélio-dependente (ACh) e independente (SNP) dos grupos C e H, respectivamente. Nas Figuras 25 e 27 estão imagens representativas dos experimentos no cremaster dos grupos C e H, seguindo a mesma sequência.

O nível de vasodilatação em resposta à diferentes concentrações de ACh ou SNP foi comparada entre os grupos (comparação intergrupos), e também dentro de cada grupo (comparação intragrupos) – onde foram analisadas variações em relação ao baseline. O *baseline* refere-se ao período que antecede a aplicação inicial de ACh ou SNP. Desta forma, os valores de vasodilatação observados nos experimentos foram expressos como percentual (%) de mudança de diâmetro em relação ao baseline, considerado como 100%.

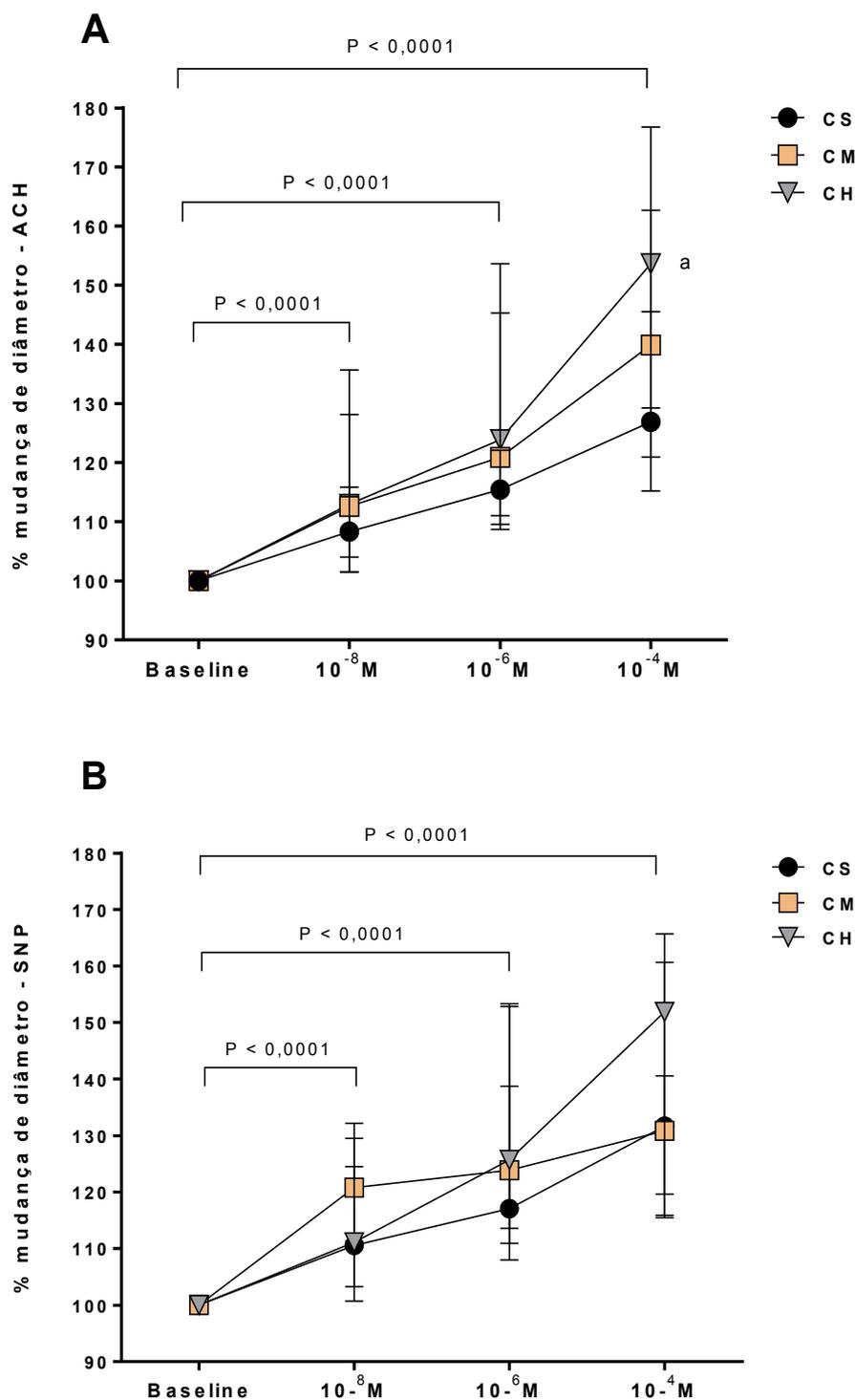
No baseline, os diâmetros médios das arteríolas não variaram entre si (vasodilatação endotélio dependente:  $P = 0,82$ ; vasodilatação endotélio independente:  $P = 0,06$ ) e apresentaram os seguintes valores absolutos para ACh e SNP, respectivamente: CS –  $79,0 \pm 17 \mu\text{m}$  e  $78,3 \pm 18 \mu\text{m}$ , CM –  $75,6 \pm 19 \mu\text{m}$  e  $75,4 \pm 19 \mu\text{m}$ ; CH –  $70,3 \pm 21 \mu\text{m}$  e  $68,2 \pm 20$ ; HS –  $81,1 \pm 25 \mu\text{m}$  e  $82,3 \pm 24 \mu\text{m}$ ; HM –  $80,7 \pm 20 \mu\text{m}$  e  $68,2 \pm 13 \mu\text{m}$ ; HH –  $78,2 \pm 24 \mu\text{m}$  e  $78,2 \pm 19 \mu\text{m}$ .

No que se refere à vasodilatação endotélio-dependente, somente CH apresentou vasodilatação significativamente maior em relação ao CS (CH vs. CS: 26,7%,  $P = 0,008$ ; CM vs. CS: 13,7%,  $P = 0,59$ ) na maior concentração de ACh ( $10^{-4}$  M). Além disso, HM e HH alcançaram uma resposta vasodilatadora superior à do grupo HS nesta mesma concentração (HM vs. HS: 22,9%; HH vs. HM: 19,7%;  $P = 0,0044$ ). O grupo HS exibiu menor vasodilatação em relação aos grupos C em  $10^{-4}$  M (HS vs. CH: 40,9%  $P < 0,0001$ ; HS vs. CM: 27,2%,  $P = 0,04$ ; HS vs. CS: 14,2%  $P = 0,01$ ). Nas demais concentrações de ACh, não houve diferenças entre os grupos ( $10^{-8}$  M:  $P = 0,11$ ;  $10^{-6}$  M:  $P = 0,06$ ). O mesmo aconteceu com a vasodilatação endotélio-independente, na qual não foram detectadas diferenças entre os grupos em nenhuma das concentrações de SNP ( $10^{-8}$  M:  $P = 0,43$ ;  $10^{-6}$  M:  $P = 0,90$ ;  $10^{-4}$  M:  $P = 0,45$ ).

Na comparação intragrupos, todos apresentaram diferenças em relação ao baseline em  $10^{-6}$ M e  $10^{-4}$ M de ACh (CS:  $P = 0,0004$  e  $P < 0,0001$ ; CM:  $P < 0,0001$ ;

CH:  $P < 0,0001$ ; HS:  $P = 0,005$  e  $P < 0,0001$ ; HM:  $P = 0,0027$  e  $P < 0,0001$ ; HH:  $P = 0,0004$  e  $P < 0,0001$ ), assim como em  $10^{-6}M$  e  $10^{-4}M$  de SNP ( $P < 0,0001$ ). Com exceção do grupo HH, todos os grupos dilataram significativamente com  $10^{-8}M$  de ACh e SNP em relação ao baseline (CS:  $P = 0,03$  e  $P = 0,0023$ ; CM:  $P = 0,0007$  e  $P < 0,0001$ ; CH:  $P = 0,0004$  e  $P = 0,0001$ ; HS:  $0,01$  e  $P = 0,02$ ; HM:  $P = 0,01$  e  $P < 0,0001$ ; HH:  $P = 0,48$  e  $P = 0,0025$ ).

Figura 24 – Reatividade microvascular no cremaster – grupos C.

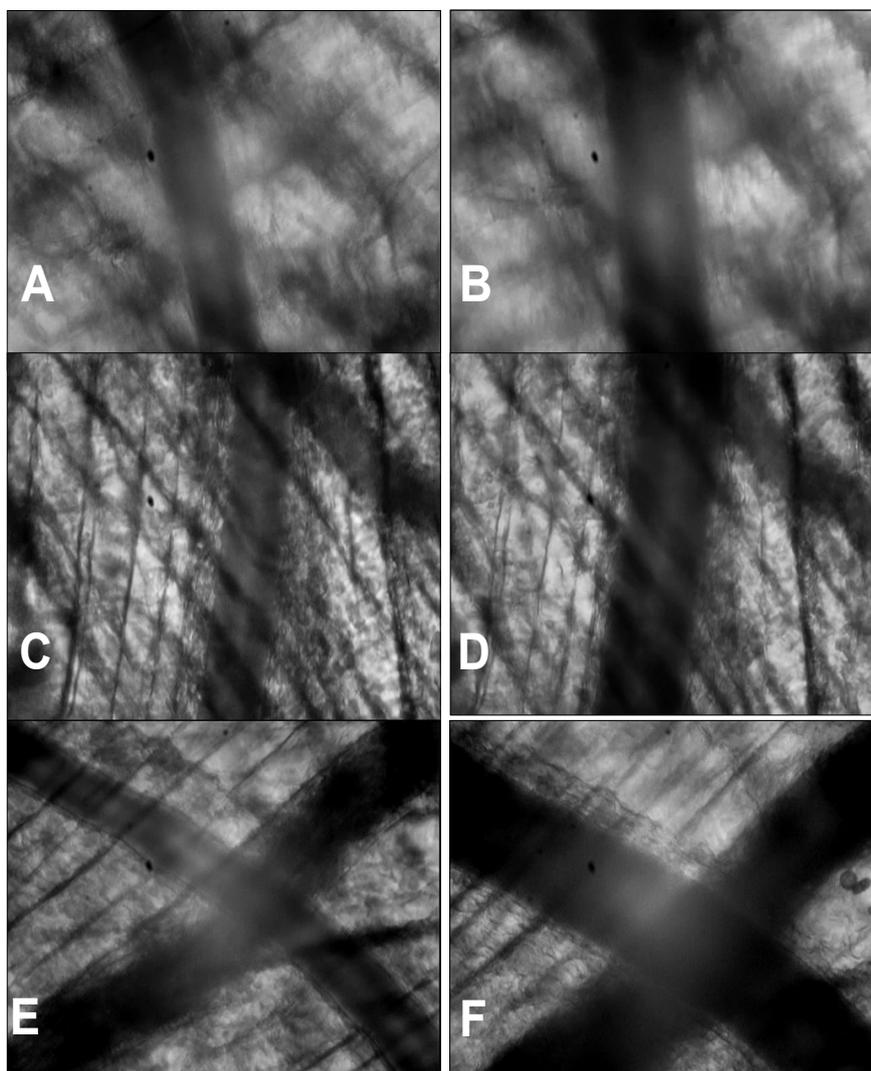


Legenda: Resposta vasodilatadora (%) dos grupos C à aplicação crescente de ACh (Fig. A) e de SNP (Fig. B) a  $10^{-8}$  M,  $10^{-6}$  M e  $10^{-4}$  M. Resultados expressos como mediana (1<sup>o</sup>-3<sup>o</sup> quartil). <sup>a</sup> $P \leq 0,05$  vs. CS. Barras horizontais representam  $P \leq 0,05$  vs. *baseline*. N= 8 animais/ grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; ACh: acetilcolina; SNP: nitroprussiato de sódio.

Fonte: A autora, 2019.

Figura 25 – Imagens de experimentos no cremaster – grupos

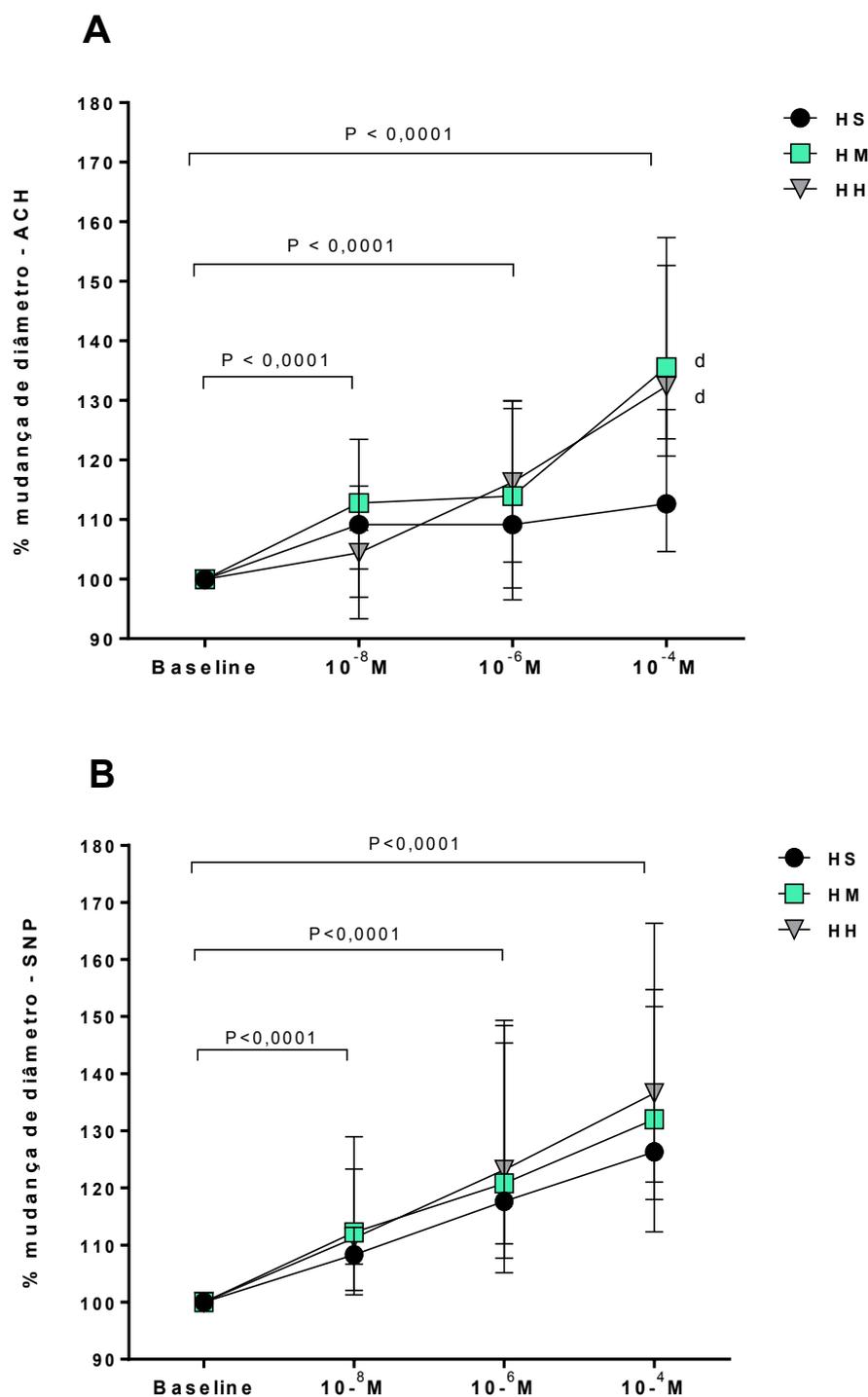
C



Legenda: Imagens representativas de campos gravados por sistema de microscopia intravital, durante o experimento de reatividade microvascular em cremaster. (A): Campo com arteríola de um animal CS no período basal – 64 $\mu$ m. (B): Mesmo campo de animal CS após a aplicação tópica de ACh à 10<sup>-4</sup>M – 85 $\mu$ m. (C): Campo com uma arteríola de um animal CM no período basal – 65 $\mu$ m. (D): Mesmo campo de animal CM após a aplicação tópica de ACh à 10<sup>-4</sup>M – 99  $\mu$ m. (E): Campo com uma arteríola de um animal do grupo CH no período basal – 59 $\mu$ m. (F): Mesmo campo após a aplicação tópica de ACh à 10<sup>-4</sup>M – 104 $\mu$ m. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade; ACh: Acetilcolina.

Fonte: A autora, 2019.

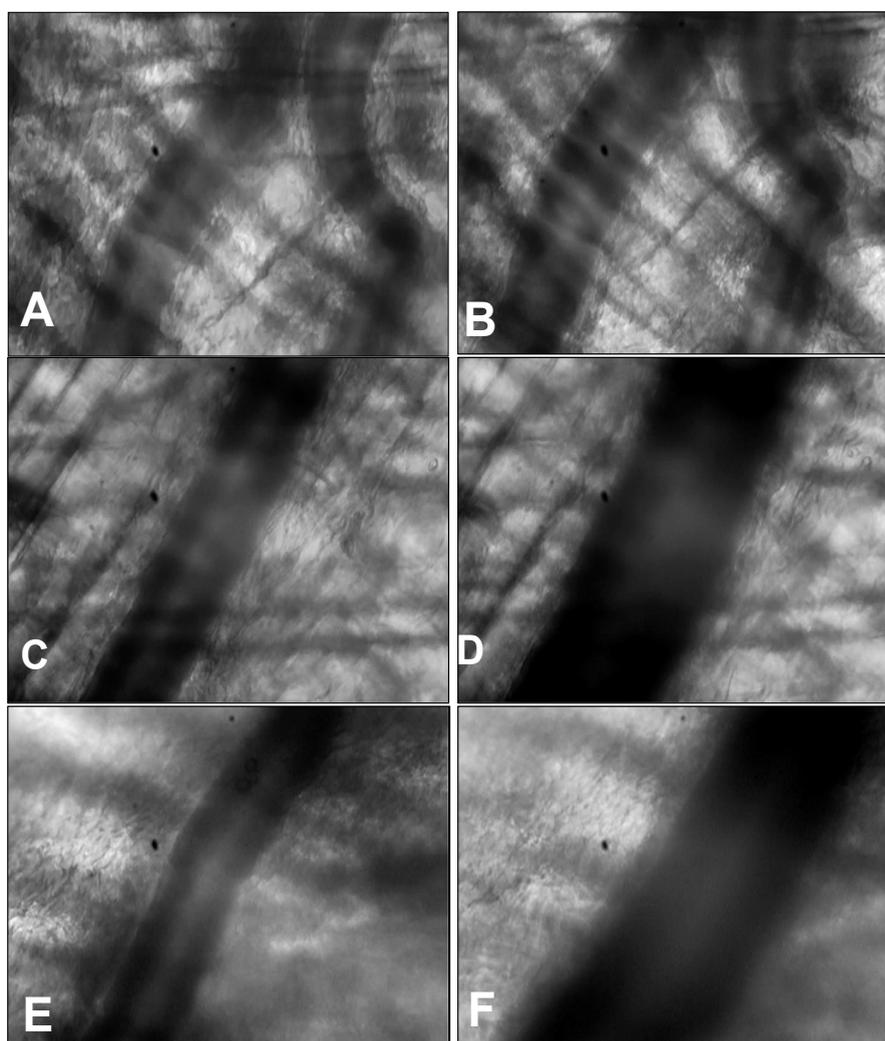
Figura 26 – Reatividade microvascular no cremaster – grupos H.



Legenda: Resposta vasodilatadora (%) dos grupos H à aplicação crescente de ACh (Fig. A) e de SNP (Fig. B) a  $10^{-8}$  M,  $10^{-6}$  M e  $10^{-4}$  M. Resultados expressos como mediana (1<sup>o</sup>-3<sup>o</sup> quartil). <sup>d</sup>  $P \leq 0,05$  vs. HS. Barras horizontais representam  $P \leq 0,05$  vs. *baseline*. N= 8 animais/ grupo. HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade. ACh: acetilcolina. SNP: nitroprussiato de sódio.

Fonte: A autora, 2019.

Figura 27 – Imagens de experimentos no cremaster – grupos H



Legenda: Imagens representativas de campos gravados por sistema de microscopia intravital, durante o experimento de reatividade microvascular em cremaster. (A): Campo com uma arteríola de um animal HS no período basal – 76 $\mu$ m. (B): Mesmo campo de animal HS após a aplicação tópica de ACh à 10<sup>-4</sup>M – 88 $\mu$ m. (C): Campo com uma arteríola de um animal HM no período basal – 88 $\mu$ m. (D): Mesmo campo de animal CM após a aplicação tópica de ACh à 10<sup>-4</sup>M – 140  $\mu$ m. (E): Campo com uma arteríola de um animal do grupo HH no período basal – 55 $\mu$ m. (F): Mesmo campo após a aplicação tópica de ACh à 10<sup>-4</sup>M – 99 $\mu$ m. HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade. ACh: acetilcolina.

Fonte: A autora, 2019.

## 5.12 Reatividade (micro)vascular dos músculos adutores

As Figuras 28 e 29 exibem os resultados de fluxo sanguíneo dos músculos adutores, analisado por LDPI durante os experimentos de reatividade. Para comparar as alterações de fluxo entre os diferentes grupos, os valores obtidos após cada aplicação com ACh e SNP foram expressos como percentual (%) de mudança do fluxo em relação ao baseline, considerado como 100%. O *baseline* refere-se ao período inicial do experimento, que antecede a aplicação de ACh ou SNP. Comparações intragrupos e intergrupos também foram feitas com estes experimentos, analisando diferenças dentro de cada grupo em relação ao baseline, bem como entre os grupos experimentais.

No baseline, não houve diferenças entre os grupos (ACh:  $P = 0,32$ ; SNP:  $P = 0,13$ ), e os seguintes valores de fluxo foram encontrados para os experimentos com ACh e SNP, respectivamente: CS –  $113,1 \pm 10\%$  e  $111,6 \pm 8\%$ , CM –  $113,7 \pm 7\%$  e  $128,7 \pm 6\%$ ; CH –  $97,3 \pm 7\%$  e  $113,1 \pm 9\%$ ; HS –  $99,5 \pm 7\%$  e  $104,8 \pm 6\%$ ; HM –  $94,3 \pm 7\%$  e  $102,4 \pm 7\%$ ; HH –  $96,2 \pm 6\%$  e  $107,5 \pm 5\%$ .

Após a aplicação da maior concentração de ACh ( $10^{-4}M$ ), os grupos de treinamento HM, HH e CH variaram o fluxo de forma significativa em relação aos respectivos grupos sedentários (CH vs. CS:  $P = 0,018$ ; HM vs. HS:  $P = 0,03$ ; HH vs. HS:  $P = 0,001$ ). HS mostrou uma menor variação de fluxo em comparação aos demais grupos (CS: 133,1%; CM: 147,9%; CH: 155,0%; HS: 124,2%; HM: 137,6%; HH: 142,4%), e diferenças foram detectadas somente em relação à CM e CH (HS vs. CH:  $P = 0,0008$ ; HS vs. CM:  $P = 0,03$ ), com valor de  $P$  marginal em relação à CS ( $P=0,06$ ).

Em  $10^{-6}M$ , HS também teve menor variação no fluxo do que os demais grupos (CS: 107,4%; CM: 114,2%; CH: 116,3%; HS: 105,2%; HM: 115,0%; HH: 114,1%), mas diferenças significativas não foram encontradas ( $P = 0,09$ ). Em  $10^{-8}M$ , HS mostrou, novamente, menor valor em relação aos demais (CS: 101,7%; CM: 103,8%; CH: 107,1%; HS: 101,3%; HM: 104,2%; HH: 105,9%), mas diferiu significativamente apenas de CH ( $P = 0,03$ ).

Nos experimentos com SNP, não foram detectadas diferenças entre os grupos, em nenhuma das concentrações aplicadas ( $10^{-4} M$ :  $P = 0,40$ ;  $10^{-6} M$ :  $P = 0,57$ ;  $10^{-8} M$ :  $P = 0,50$ ), tendo sido encontrados os seguintes valores de mudança de

fluxo:  $10^{-4}$  M – CS: 171,5%; CM: 148,4%; CH: 155,1%; HS: 145,4%; HM: 153,7%; HH: 142,4%;  $10^{-6}$  M – CS: 123,3%; CM: 107,7%; CH: 116,3%; HS: 126,4%; HM: 114,2%; HH: 114,1%;  $10^{-8}$  M – CS: 101,8%; CM: 101,5%; CH: 107,1%; HS: 105,7%; HM: 104,1%; HH: 105,9%. A despeito de CS ter mostrado um valor aparentemente maior de fluxo em  $10^{-4}$ M, ele não diferiu de forma significativa dos outros grupos (CS vs. CM:  $P = 0,46$ ; CS vs. CH:  $P > 0,99$ ; CS vs. HS:  $P > 0,99$ ; CS vs. HM:  $P > 0,99$ ; CS vs. HH:  $P > 0,99$ ).

Figura 28 – Reatividade (micro)vascular nos músculos adutores – grupos C (continua)

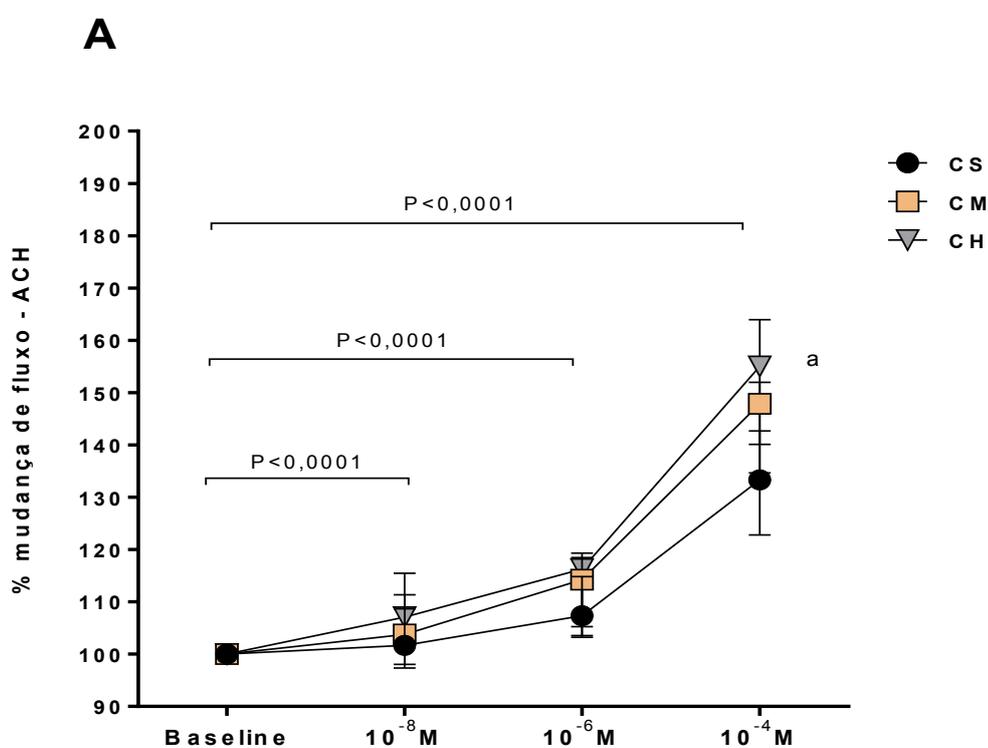
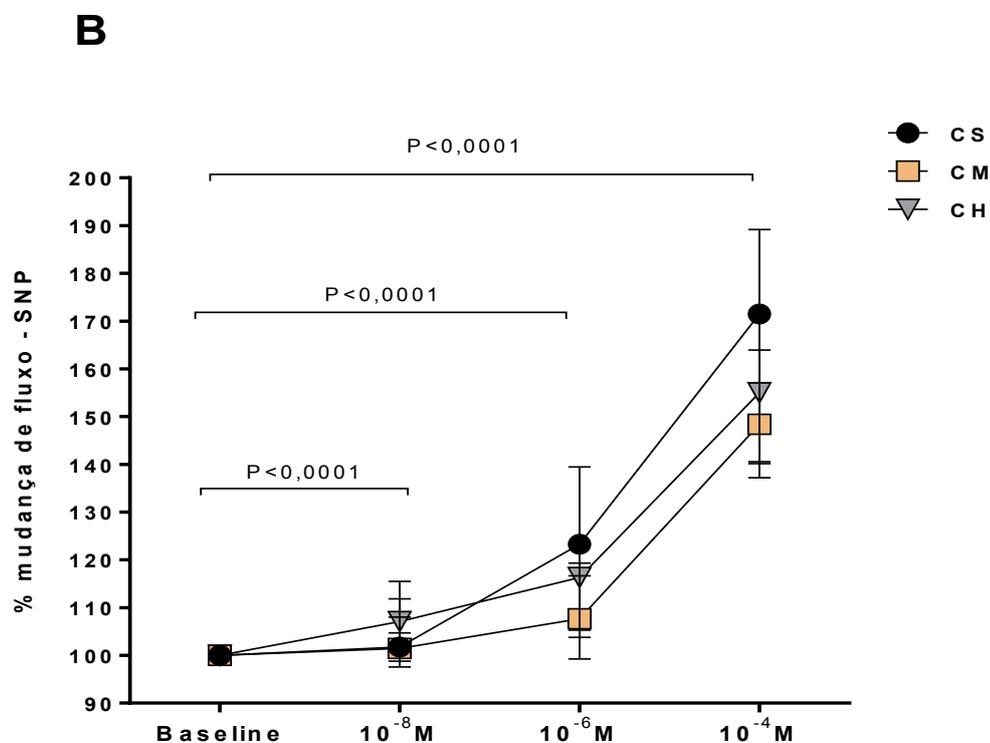


Figura 28 – Reatividade (micro)vascular nos músculos adutores – grupos C (conclusão)



Legenda: Mudança de fluxo sanguíneo (%) em resposta à aplicação crescentes de ACh (Fig. A) e de SNP (Fig. B) a 10<sup>-8</sup> M, 10<sup>-6</sup> M e 10<sup>-4</sup> M nos grupos C. Resultados expressos como mediana (1<sup>o</sup>–3<sup>o</sup> quartil). <sup>a</sup> P≤0,05 vs. grupo CS. Barras horizontais representam P≤0,05 vs. baseline. N = 10 animais/grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com dieta C e treinamento intervalado de alta intensidade. ACh: acetilcolina. SNP: nitroprussiato de sódio.

Fonte: A autora, 2019.

Figura 29 – Reatividade (micro)vascular nos músculos adutores – grupos H (continua)

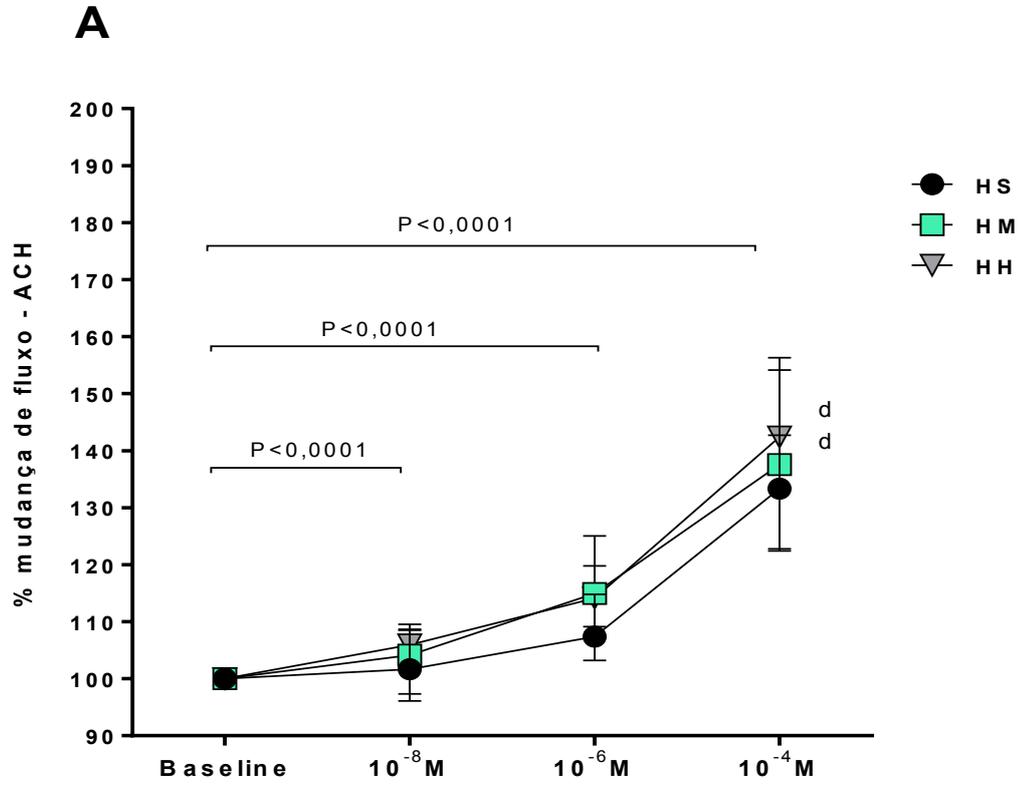
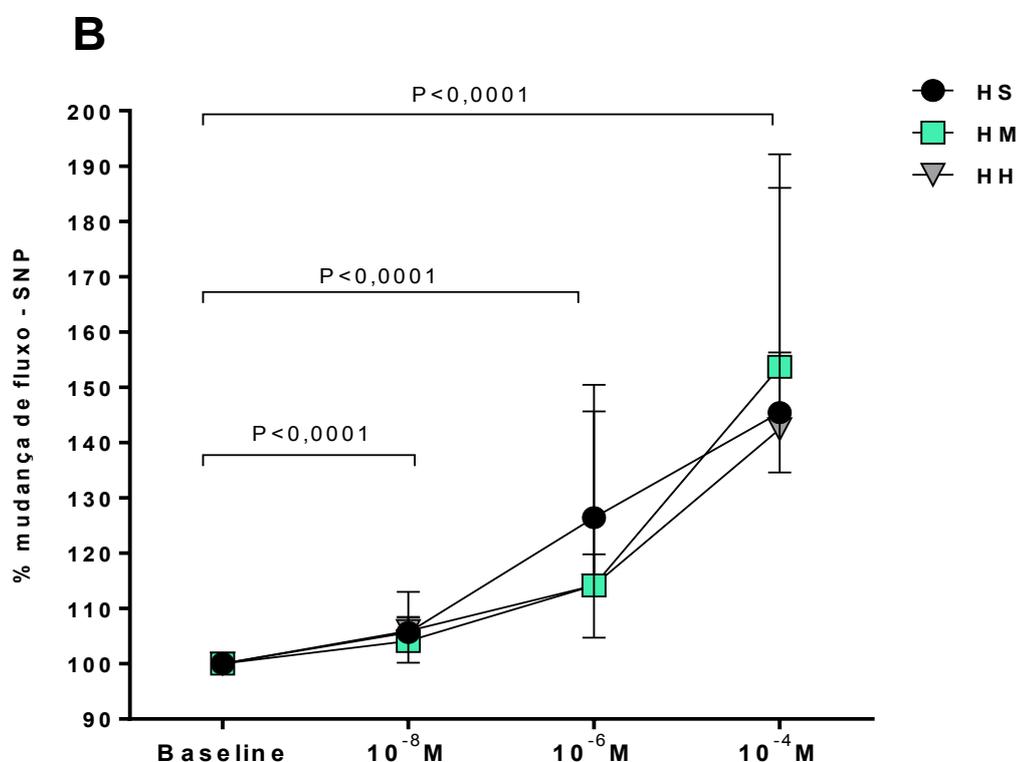


Figura 29 – Reatividade (micro)vascular nos músculos adutores – grupos H (conclusão)



Legenda: Mudança do fluxo sanguíneo (%) em resposta à aplicação crescente de ACh (Fig. A) e de SNP (Fig. B) a  $10^{-8}$  M,  $10^{-6}$  M e  $10^{-4}$  M, nos grupos H. <sup>d</sup>  $P \leq 0,05$  vs. grupo HS. Barras horizontais representam  $P \leq 0,05$  vs. *baseline*. Resultados expressos como mediana (1<sup>o</sup>-3<sup>o</sup> quartil). N = 10 animais/grupo. HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade. ACh: acetilcolina. SNP: nitroprussiato de sódio.

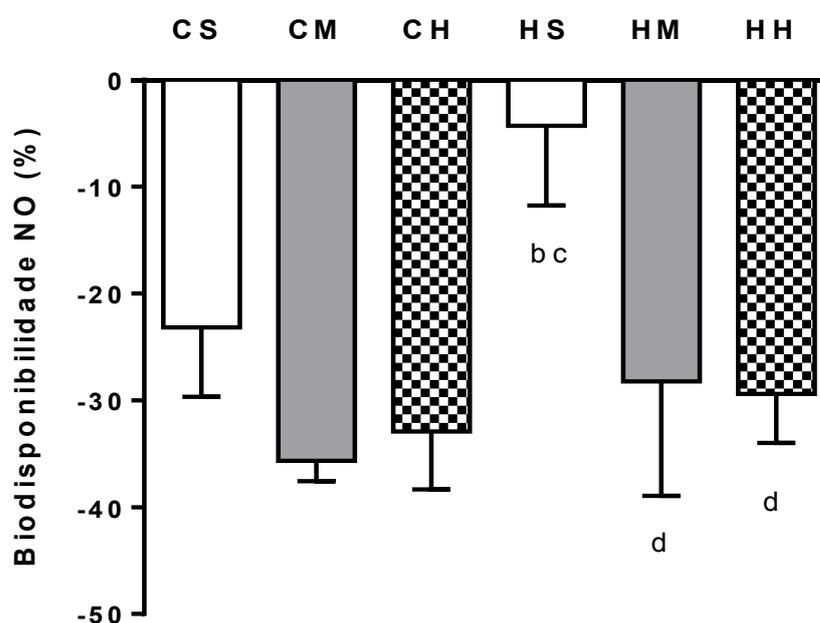
Fonte: A autora, 2019.

### 5.12.1 Contribuição do NO para a vasodilatação endotélio-dependente induzida por ACh em músculos adutores

A Figura 30 mostra a biodisponibilidade do NO nos músculos adutores, avaliada a partir dos resultados dos experimentos feitos com ACh na presença do inibidor L-NAME, e com ACh apenas. Os resultados negativos refletem de forma proporcionalmente inversa, o grau de contribuição do NO na vasodilatação endotélio-dependente. Os seguintes valores médios de biodisponibilidade de NO foram encontrados: CS:  $-23,1 \pm 6$ ; CM:  $-35,6 \pm 1$ ; CH:  $-32,9 \pm 5$ ; HS:  $-4,3 \pm 7$ ; HM: -

28,2 ± 10; HH: -29,4 ± 4; P = 0,02. Quanto às diferenças estatísticas, os grupos de treinamento HH e HM apresentaram maior biodisponibilidade de NO em comparação ao grupo HS (P=0,02 e P=0,02); HS diferiu de CM (P=0,007) e de CH e (P=0,004), mas não de CS (P=0,06); e também não houve diferença entre CH ou CM em relação à CS (P=0,34 e P=0,23).

Figura 30 – Biodisponibilidade do NO nos músculos adutores



Legenda: Biodisponibilidade do NO (%) avaliada através da diferença entre a vasodilatação máxima induzida por ACh a 10<sup>-4</sup>M na presença do L-NAME<sub>(ACh+L-NAME)</sub> e na ausência do inibidor<sub>(ACh)</sub>, expresso como média ± EPM. <sup>b</sup> P<0,05 vs. CM. <sup>c</sup> P<0,05 vs. CH. <sup>d</sup> P<0,05 vs. HS. N = 6 animais / grupo. CS: grupo com dieta C sedentário; CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo; CH: grupo com dieta C e treinamento intervalado de alta intensidade. HS: grupo com dieta H sedentário; HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo; HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade. L-NAME: N-nitro<sup>G</sup>-L-Arginine Methyl Ester. ACh: acetilcolina. NO: óxido nítrico.

Fonte: A autora, 2019.

Não houve diferença entre os grupos com a aplicação de L-NAME a 10<sup>-4</sup>M (P = 0,73), ou com a aplicação consecutiva de ACh a 10<sup>-4</sup>M (P = 0,88). O fluxo no baseline também mostrou-se similar (CS: 105,4%; CM: 97,9%; CH: 107,7%; HS: 83,2%; HM: 104,2%; HH: 89,4%) (P = 0,17). Ao comparar as mudanças de fluxo

dentro de cada grupo em relação ao baseline (comparação intragrupos) nesses experimentos com inibição, apenas CS teve redução significativa da perfusão após a aplicação do L-NAME (CS: -10,2% P = 0,02; CM: -8,2% P = 0,07; CH: -7,7% P = 0,13; HS: -6,1% P = 0,19; HM: -4,3% P = 0,35; HH: -8,7% P = 0,06). Após a aplicação de ACh na presença do L-NAME, todos os grupos aumentaram significativamente o fluxo em relação ao baseline (CS: 15,3% P = 0,0014; CM: 15% P = 0,0018; CH: 12,4% P = 0,015; HS: 11,8% P = 0,012; HM: 13,3% P = 0,005; HH: 23,5% P < 0,0001).

### **5.13 Perfil hemodinâmico dos animais em experimentos no cremaster e nos músculos adutores**

A pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) foram monitorados para avaliar o perfil hemodinâmico durante os experimentos no cremaster e nos músculos adutores. Na PAM, não houve diferenças entre os grupos (P = 0,73), que apresentaram os seguintes valores, expressos como média ± EPM (em mmHg): CS – 104,8 ± 3,9; CM – 108,3 ± 5,4; CH – 104,2 ± 3,5; HS – 107,4 ± 2,6; HM – 107,2 ± 3,4; HH – 112,1 ± 2,9. A FC também se manteve similar entre os grupos (P = 0,60), que exibiram os seguintes valores, expressos como média ± EPM (em bpm): CS – 301,1 ± 29,3; CM – 353,4 ± 30,7; CH – 339 ± 18,2; HS – 305,1 ± 15,8; HM – 339,3 ± 30; HH – 339,6 ± 20,4.

### **5.14 Biomarcadores de estresse oxidativo vascular**

A Tabela 8 mostra os resultados dos ensaios de atividade de enzimas Catalase (CAT), Superóxido Dismutase (SOD) e Glutathione Peroxidase (GPx), e dos ensaios de peroxidação lipídica, que estimou os níveis de MDA com base na produção de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS).

No que se refere à peroxidação lipídica, apenas os grupos CH e HH apresentaram maiores níveis de MDA (estimado por TBARS), em relação à CS

( $P=0,005$ ) e HS ( $P=0,04$ ), respectivamente. Ainda que os grupos com dieta H tenham alcançado valores superiores em TBARS em comparação aos respectivos grupos com dieta C, não houve diferenças significativas entre os grupos ( $P>0,99$ ).

No que se refere às enzimas antioxidantes, novamente CH e HH mostraram aumento da atividade de GPx em relação à CS ( $P=0,007$ ) e HS ( $P=0,01$ ), respectivamente. Na SOD, apesar dos elevados valores dos grupos HM e HH vs. HS, não houve diferenças entre esses grupos ( $P=0,43$  e  $P>0,99$ ). Apenas HM demonstrou aumento significativo em relação à CM ( $P = 0,0081$ ), e não houve diferenças adicionais entre os grupos C e H nesta enzima (CS vs. HS:  $P = 0,70$ , CH vs. HH:  $P = 0,12$ ). Na CAT, também não foram detectadas diferenças entre os grupos, ainda que CH e HH tenham demonstrado atividade enzimática média maior à de seus congêneres sedentários ( $P > 0,99$ ).

Tabela 8 – Biomarcadores de estresse oxidativo

Grupo	Variável			
	TBARS	SOD	CAT	GPX
CS	100,7 ± 13	0,066 ± 0,005	0,26 ± 0,05	0,0038 ± 0,001
CM	116,9 ± 4	0,070 ± 0,012	0,32 ± 0,09	0,0092 ± 0,002
CH	480 ± 83 <sup>a</sup>	0,098 ± 0,025	0,75 ± 0,23	0,0207 ± 0,009 <sup>a</sup>
HS	143,4 ± 21	0,153 ± 0,035	0,30 ± 0,14	0,0075 ± 0,0002
HM	137,3 ± 17	0,207 ± 0,027 <sup>b</sup>	0,25 ± 0,06	0,0157 ± 0,007
HH	501 ± 114 <sup>d</sup>	0,175 ± 0,049	0,60 ± 0,23	0,0305 ± 0,010 <sup>d</sup>
<b>P</b>	0,0019	0,0007	0,38	0,0015

Legenda: Resultados de TBARS (pmol/mg de ptn), SOD (U/mL), CAT (U/mg de ptn) e GPX (mmol/min/mg de ptn) expressos como média±EPM. <sup>a</sup>  $P\leq 0,05$  vs. CS. <sup>b</sup>  $P\leq 0,05$  vs. CM. <sup>d</sup>  $P\leq 0,05$  vs. CM N = 5–7 animais / grupo. MDA: Malondialdeído gerado por ensaio de TBARS. SOD: Atividade da enzima Superóxido Dismutase Total. CAT: Atividade da enzima Catalase. GPX: Atividade da enzima Glutathione Peroxidase. CS: grupo com dieta C sedentário. CM: grupo com dieta C e treinamento moderado contínuo. CH: grupo com C e treinamento intervalado de alta intensidade. HS: grupo com dieta H sedentário. HM: grupo com dieta H e treinamento moderado contínuo. HH: grupo com dieta H e treinamento intervalado de alta intensidade. TBARS: Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico. ptn: proteína

Fonte: A autora, 2019.

## 6 DISCUSSÃO

A presente Tese de Doutorado comparou os efeitos de HIIT e MICT sobre a função endotelial microvascular; enzimas antioxidantes e peroxidação lipídica vascular; e outros marcadores de risco cardiometabólicos em ratos com obesidade moderada, induzida por dieta hiperlipídica. Para comparar as duas intensidades, sessões de exercício isocalóricas foram adotadas, de maneira que os dois protocolos de treinamento fossem equalizados em volume pelo dispêndio energético.

Três perguntas foram essenciais para guiar as hipóteses deste estudo, bem como o desenho experimental: Na obesidade, é provável que o treinamento aeróbio induza a adaptações benéficas sobre a função endotelial microvascular, mas os ganhos podem ser atribuídos à intensidade, ou ao dispêndio energético induzido pelo exercício (i.e, volume)? Independente de ser volume ou intensidade, os efeitos sobre a função endotelial ocorrem de maneira sistêmica, ou apenas local – em músculos recrutados durante a atividade? A alta intensidade de treinamento é capaz de melhorar ou piorar a função endotelial, exacerbando um quadro de estresse oxidativo vascular pré-existente devido à obesidade?

Em tese, ganhos adicionais sobre alguns marcadores poderiam ocorrer com o treinamento de alta intensidade, mas o dispêndio energético promovido pelo exercício aprimoraria a função endotelial entre os grupos de maneira similar, independentemente da intensidade. Também se ponderou a hipótese de que, em animais com dieta hiperlipídica, os ganhos adicionais com a alta intensidade poderiam ocorrer em detrimento da função endotelial e de danos teciduais ocasionados por estresse oxidativo, considerando a tríade *'acúmulo de adiposidade; inflamação vascular mediada por acúmulo de EROS e disfunção endotelial'*.

De fato, os resultados deste estudo confirmaram que o gasto calórico das sessões de treinamento *per se* foi suficiente para melhorar a função endotelial microvascular no músculo cremaster de animais com dieta hiperlipídica. Porém, indo de encontro às hipóteses iniciais, a alta intensidade foi capaz de aprimorar a vasodilatação endotélio-dependente de todos os grupos de treinamento, não se confirmando quaisquer prejuízos com o HIIT sobre a função endotelial micro ou macrovascular.

Na prática, sessões de HIIT costumam ser prescritas conjuntamente às sessões de MICT para otimizar ganhos na aptidão física dos indivíduos de maneira geral (11,136–138). Mesmo assim, na tentativa de identificar cargas de trabalho ideais a serem prescritas nas rotinas de treinamento, os estudos têm investigado de maneira constante o efeito de diferentes intensidades de exercício aeróbio sobre uma série de marcadores de saúde e de performance, em contextos fisiopatológicos, ou desportivos (1,2,10,98,105,139,140).

Há um consenso sobre os efeitos do treinamento aeróbio sobre a melhora da aptidão física, sobretudo no  $VO_{2MAX}$  no perfil lipídico e na sensibilidade à insulina (11,109,141). Porém, ainda há divergências quanto ao papel da intensidade e do volume de treinamento (gasto energético) em tais adaptações (11,14,142,143). Sobre a alta intensidade às vezes pesa a desvantagem de estar associada ao maior risco de lesões, sendo contraindicada em alguns casos, dependendo do estado de saúde do indivíduo (144,145).

Tendo em mente essas questões, a presente Tese de doutorado parece contribuir com a literatura corrente, por adicionar seus achados àqueles de outros estudos que investigaram o papel da intensidade de treinamento aeróbio sobre diferentes marcadores de risco cardiometabólicos. Entretanto, este estudo se diferencia dos demais por ter investigado o papel da intensidade sobre a função endotelial microvascular em músculos recrutados e não-recrutados durante as sessões de exercício. Isto permitiu avaliar a existência de um efeito local ou sistêmico induzido pelo treinamento.

Ao longo desta seção, a maior parte dos resultados do presente estudo foram discutidos através de 'blocos', de modo que alguns desfechos obtidos apenas com a dieta hiperlipídica foram separados daqueles obtidos com o treinamento aeróbio. Com o intuito de facilitar a compreensão dos achados, no apêndice deste trabalho há um quadro ilustrativo que sumariza os desfechos obtidos com cada uma das intervenções (Figura 31).

## 6.1 Sobre os achados de peso, consumo e composição corporal

### 6.1.1. Em relação à dieta hiperlipídica

Um dos primeiros aspectos a serem discutidos em relação aos resultados de ganho de peso e adiposidade obtidos com a dieta hiperlipídica (H) é a escolha do modelo animal, e a sua susceptibilidade para desenvolver a obesidade. De acordo com a literatura, há vários modelos disponíveis que podem ser aplicados dependendo da proposta do estudo. Eles podem ter mutações genéticas que conduzem à obesidade, ou podem desenvolver o problema a partir de estímulos ambientais (146).

Por exemplo, ratos *Zucker (fa/fa)* desenvolvem obesidade e síndrome metabólica por alterações genéticas. Eles são espontaneamente hiperfágicos e se tornam obesos desde os primeiros meses de vida por deficiências relativas à leptina. Ratos *Wistar* são poligênicos e representam o modelo de obesidade induzida por dieta, com aumento de peso, adiposidade e algumas alterações metabólicas (146). Sem dúvida, cada modelo tem suas particularidades, e que devem ser consideradas na concepção do projeto de pesquisa.

No presente estudo, ratos *Wistar* foram utilizados na tentativa de mimetizar o desenvolvimento da obesidade e de alterações vasculares em humanos diante da ingestão crônica de gordura em níveis elevados (119,146). Os autores Hariri e Thibault (2010) explicam que, assim como humanos, esses animais dependem da interação entre *background* genético e estímulos ambientais para se tornarem obesos e resistentes à insulina (147).

Portanto, do ponto de vista translacional, parece ser preferível não eliminar a contribuição do estímulo alimentar quando se estuda os desfechos da obesidade, diferentemente do que é proposto por modelos geneticamente modificados (146). Existe ainda o argumento de que a patogênese da obesidade humana seria melhor representada por animais submetidos à dietas, pelo fato de que, mutações genéticas que causam obesidade e síndrome metabólica em roedores são raramente observadas em humanos (como a mutação na leptina, por exemplo) (146).

Além do modelo animal, o tempo e a composição da dieta também foram importantes para caracterizar a 'obesidade induzida por dieta' (*diet-induced obesity* – DIO) nos animais deste estudo, e classificá-los com 'obesidade moderada' segundo os critérios estabelecidos pela literatura (146). Esses critérios foram verificados desde a fase piloto, onde se observou em que medida a dieta hiperlipídica alteraria o peso e a composição corporal desses roedores.

Em termos quantitativos, o elevado consumo de gordura resultou em média de 40% a mais de ganho de peso e 18% a mais de peso absoluto de todos os grupos H em relação aos grupos C. Essa variação entre os grupos foi verificada a partir da 6ª semana do período experimental, e se estendeu até o fim do período experimental, reproduzindo achados previamente reportados em ratos *Wistar* submetidos à dietas hiperlipídicas (79,146,148–150). A caracterização da 'obesidade moderada' também se baseou no percentual de gordura avaliado pelo DEXA, que alcançou a média de 44,5% em HS em contraste com 28,2% de CS. Em ratos *Zucker*, que desenvolvem 'obesidade severa' e síndrome metabólica, por exemplo, esses valores variam em torno de 60% e 25%, respectivamente (151).

O fato da dieta H ter sido composta por alto teor de ácidos graxos saturados (SFA) e monoinsaturados (MUFA) contribuiu consideravelmente para o expressivo ganho de peso e acúmulo de gordura nos animais de HS, HM e HH. Alguns estudos têm elucidado que o perfil da gordura utilizada nas dietas obesogênicas é uma variável mais importante para a indução da obesidade do que a quantidade em si (147). Com o passar do tempo, o consumo deste tipo de dieta prejudica a capacidade de oxidação de gorduras pelo organismo, aumenta a atividade da lipoproteína lipase no tecido adiposo e levam à menor supressão da transcrição de genes lipogênicos, potencializando a deposição de gordura corporal (147,148).

A obesidade, seja ela 'severa' ou 'moderada', ocorre quando a ingestão de energia ultrapassa o dispêndio, levando a um balanço energético positivo. Ao longo do tempo, essa energia proveniente da gordura da dieta é depositada no tecido adiposo de forma cíclica, levando ao aumento de peso quando nenhuma intervenção é realizada (147,149). A maior eficiência alimentar (CEA) que apenas HS teve em relação aos grupos C ( $P = 0,0009$ ) refletiu esse balanço energético positivo, fazendo com que os animais criassem grandes 'estoques' de energia proveniente da dieta H sob a forma de gordura corporal (152). O consumo crônico de alto teor de gordura, como o da dieta H causa aumento do número (hiperplasia) e tamanho (hipertrofia)

dos adipócitos, estimulando a liberação de fatores pró-inflamatórios, como TNF- $\alpha$  e MCP-1, de forma cíclica. Alterações nos hormônios leptina, insulina e grelina, assim como nas sinalizações relativas ao SNC, também respondem pelo aumento progressivo de peso nesses animais (147,153); e tais alterações se tornam proeminentes quando a ingestão de gordura como fonte de energia ultrapassa os 40% (147).

Por causa da alta densidade energética da dieta fornecida, os grupos H reduziram a quantidade de ração ingerida a fim de compensar a quantidade de calorias consumida, mas, ainda assim, ganharam mais peso do que os grupos controles. O mesmo comportamento foi verificado por outros estudos, inclusive, com resultados de ingestão e consumo similares àqueles de C e H (79,148). Em contrapartida, alguns estudos com ratos da mesma linhagem observaram aumento no consumo de ração e de calorias, denotando um comportamento hiperfágico (149,154).

Na literatura, é controverso o padrão de comportamento alimentar desses roedores, e fatores como idade e linhagem dos animais; composição e tempo de dieta, influenciam sobre os achados. Alguns autores explicam que, a ativação de mecanismos sensoriais e o tipo de neurotransmissores liberados com o consumo de uma dieta *high-fat* faz com que ela se seja mais atrativa para esses animais, facilitando o aumento da ingestão. Um pobre efeito pós-ingestivo da gordura sobre a saciedade também ajudaria a aumentar a frequência e o volume das 'refeições' dos animais (147,155). Em contrapartida, outros autores afirmam que roedores são bastante sensíveis ao conteúdo energético do alimento e controlam bem a ingestão através da saciedade (148).

Na análise por intervalo do período experimental, os grupos H chegaram a aumentar discretamente a média do consumo após 12 semanas de dieta (1 a 12<sup>a</sup> = 92 kcal vs. 13<sup>a</sup> a 18<sup>a</sup> = 98 kcal), e HS chegou a apresentar diferenças em relação à alguns grupos com dieta C ( $P = 0,003$ ), como se estivessem desenvolvendo a hiperfagia paulatinamente. No entanto, isto não foi confirmado pelos resultados de ingestão, de consumo calórico cumulativo, e da curva de consumo durante as 18 semanas. Nesse sentido, experimentos adicionais observando oscilações de neuropeptídeo Y (NPY) em regiões hipotalâmicas poderiam elucidar se há presença de hiperfagia, e se realmente, as preferências por macronutrientes dos roedores mudam em resposta à dieta hiperlipídica (153).

A redução na quantidade de proteínas (-7%) na dieta H em relação à C também pode ter favorecido o ganho de peso nos grupos HS, HM e HH. Nas dietas hiperlipídicas, uma porcentagem desse macronutriente costuma ser reduzida para aumentar proporcionalmente a contribuição de lipídios como fonte de energia (146). Com um déficit protéico, existe a possibilidade dos animais terem ingerido uma quantidade 'extra' de energia enquanto tentavam compensar as necessidades específicas desse macronutriente (147). Inclusive, essa é uma das razões pela qual o modelo DIO é criticado na literatura, fazendo com que muitos pesquisadores argumentem a favor de modelos geneticamente modificados em estudos com obesidade (146).

O problema é que dietas pobres em proteínas, mas ricas em gorduras, são bastante consumidas no contexto da obesidade. Então, parece ser importante representar essa tendência alimentar nos estudos que abordam o assunto (156). Nos Estados Unidos, por exemplo, pesquisas mostram que o tamanho das porções de comida têm aumentado, a densidade energética da dieta também têm aumentado, mas a qualidade nutricional têm diminuído (157,158). Com o passar dos anos, o consumo deste tipo de dieta associado ao sedentarismo pode levar à uma condição descrita como obesidade sarcopênica – onde o declínio de massa muscular e da força aumenta proporcionalmente com o acúmulo de adiposidade visceral (157). De fato, os grupos com dieta H exibiram menor massa magra e maior adiposidade no DEXA em comparação aos grupos controles, mas não existem evidências sobre tal condição fisiopatológica em roedores (150,159,160).

Na verdade, as diferenças na massa magra desses animais parecem estar relacionadas à mecanismos menos complexos, que originam basicamente do acúmulo de adiposidade. Um deles é a inflamação crônica de baixo grau, que promove ciclicamente a liberação de adipocinas e ativação de macrófagos por causa do aumento de adipócitos(161). À medida que o quadro inflamatório persiste, há um acúmulo de danos em proteínas e DNA que levam à disfunção celular, e acabam interferindo nos processos de crescimento e regeneração do tecido muscular (162,163).

Outro fator que também pode influenciar na massa magra são os níveis de glicocorticóides elevados por causa do excesso de adiposidade. Em roedores obesos, os níveis de glicocorticóides aumentam, e conseqüentemente, interferem nas vias de sinalização da insulina, exercem efeitos catabólicos via aumento de

proteólise, inibição da síntese protéica, e indução da miostatina – um fator que regula negativamente a massa muscular (161,164). O aumento de triglicérides em tecido muscular também é outro ponto importante. Ele eleva o acúmulo de metabólitos derivados de ácidos graxos, que interferem na ativação de proteínas-chave da via da insulina, prejudicando as ações anabólicas do hormônio sobre o tecido muscular.

Embora todas as alterações discutidas nesta seção estejam bem elucidadas na literatura, experimentos adicionais seriam necessários para confirmar a existência delas em nossa amostra de animais. De qualquer modo, o fato de HM e HH, mesmo com dieta hiperlipídica, terem sido submetidos à 6 semanas de treinamento, fez com que os desfechos sobre a composição corporal e o ganho de peso fossem diferentes daqueles observados em HS. Estes desfechos obtidos com o treinamento serão discutidos a seguir.

### 6.1.2 Em relação ao treinamento aeróbio

No presente estudo, as sessões de exercício isocalóricas produziram efeitos interessantes sobre parâmetros de peso e composição corporal nos grupos avaliados. Um deles foi a redução similar de adiposidade nos grupos HM e HH, que ocorreu mesmo na ausência de reduções significativas do peso corporal. Portanto, não se confirmou a hipótese de que o HIIT teria um efeito superior em relação ao MICT, no que diz respeito à composição corporal.

De fato, não houve um impacto significativo do treinamento sobre a curva de peso, peso final (18<sup>a</sup> semana), ou ganho de peso nos grupos avaliados; o que vai de encontro à alguns achados previamente descritos em humanos e roedores (150,165,166). Em contrapartida, outros estudos, têm confirmado a ideia de que, adaptações benéficas sobre os níveis de adiposidade podem ocorrer mesmo na ausência da perda de peso (167,168). A recente metanálise de Wewege et al. (2017), por exemplo, demonstrou que o treinamento aeróbio teve um efeito muito maior sobre os níveis de adiposidade do que sobre a perda de peso; e que mesmo na ausência deste último desfecho, o treinamento induziu à uma queda substancial na gordura visceral de indivíduos obesos (143).

Em consonância com tais achados, o presente estudo mostrou que 6 semanas de treinamento aeróbio isocalórico foi eficaz em reduzir o % de gordura dos grupos HM e HH em relação à HS, mesmo sem haver quaisquer diferenças sobre o peso absoluto, ou ganho de peso. Entretanto, somente CH apresentou % de gordura reduzido em relação à CS, sob as mesmas condições de peso e ganho, respectivamente. Vale notar que essas mudanças ocorreram sem desencadear efeitos compensatórios sobre a ingestão e o consumo, que se mantiveram em níveis similares àqueles verificados antes do treinamento (*Ingestão pos vs. pre*: HM:  $P = 0,36$ ; HH:  $P = 0,52$ . *Consumo pos vs. pre*: HM:  $P = 0,31$ ; HH:  $P = 0,56$ ).

Em outras palavras, o dispêndio energético induzido pelo exercício foi determinante para que HM e HH mobilizassem a quantidade de energia 'extra' consumida pela dieta para trabalho muscular. Porém, o mesmo dispêndio não foi suficiente para produzir as mesmas adaptações em animais eutróficos, sendo a alta intensidade determinante neste caso. Na literatura, os achados disponíveis também são controversos e apontam para direções distintas.

Alguns atribuem ao HIIT os ganhos adicionais sobre a redução da adiposidade (1,98); outros demonstram que ambas as intensidades são igualmente capazes de melhorar essa variável, principalmente quando o volume de exercício é igual (137,143). Foi o caso do recente estudo de Zhang et al. (2017), que encontraram redução similar na gordura visceral de indivíduos obesos após 12 semanas de HIIT e MICT (169).

De certo modo, os resultados encontrados na nossa amostra eram esperados, pois o exercício *per se* é um estímulo eficiente para inibir a adipogênese, aumentar a biogênese mitocondrial e a capacidade de oxidar ácidos graxos pelas células musculares; o que contribui para a redução do tecido adiposo (170) (p.99-100). O exercício também aumenta a liberação de catecolaminas, e consequentemente, aumenta a lipólise via interação com receptores  $\beta$ -adrenérgicos no tecido adiposo (137,169). No fim, as evidências indicam que o HIIT pode otimizar essas respostas e promovê-las com maior magnitude em alguns contextos, mas não descartam o potencial de MICT para alcançá-las (137,171).

Sobre os resultados de ganho de peso, o fato de não ter ocorrido diferenças nos grupos de treinamento HM e HH em relação aos grupos C durante as 6 semanas de treinamento merece uma atenção particular (HM vs. CS:  $P > 0,99$ ; HM vs. CM:  $P = 0,88$ ; HM vs. CH:  $P > 0,99$ ; HH vs. CS:  $P > 0,99$ ; HH vs. CM:  $P = 0,14$ ; HH vs.

CH:  $P=0,36$ ), pois essa ausência de diferenças indica certa proximidade nas respostas de HM e HH com àquelas observadas em animais eutróficos, ao contrário do que ocorreu com HS. Inclusive, nesse período entre a 13<sup>a</sup> e 18<sup>a</sup> semana, o grupo HM chegou a exibir uma variação muito pequena de ganho de peso em relação à CS (HM vs. CS:  $\Delta = 7\%$ ;  $P>0,99$ ), diferentemente do que foi visto nas 12 semanas que antecederam ao treinamento (HM vs. CS:  $\Delta=29\%$ ;  $P=0,005$ ).

Seguindo essa linha, o % de gordura de HM e HH também não diferiu do grupo CS (HS vs. CS:  $P<0,0001$ ; HM vs. CS:  $P=0,29$ ; HH vs. CS:  $P=0,27$ ), o que demonstra mais uma vez, um padrão de proximidade dos animais com dieta H submetidos ao treinamento, com animais eutróficos sedentários. Ou seja, a falta de alcance de significância estatística nesses casos demonstrou um efeito benéfico do treinamento, pois, enquanto a dieta H aumentou expressivamente o ganho de peso e adiposidade nos animais sedentários, o treinamento aeróbio foi capaz de controlar esses ganhos em animais submetidos à mesma dieta, mas que se exercitaram regularmente.

Os resultados de massa magra encontrados após 6 semanas de treinamento também foram bem interessantes: as duas intensidades de treinamento foram capazes de aumentar a massa magra relativa de HM e HH em relação à HS; e fez com que HM e HH alcançassem valores próximos aos de CS. Assim, mais uma vez ficou claro que, nos grupos com dieta H, o sedentarismo foi responsável por aumentar as disparidades em relação aos grupos C enquanto que o treinamento pôde reduzi-las.

A ideia sobre o sedentarismo ser um 'fio condutor' para as alterações metabólicas e de composição corporal foi confirmada pelos autores Pedersen e Febbraio (2012), que explicam que, mesmo os curtos períodos de inatividade física estão associados com a diminuição da sensibilidade à insulina, acúmulo de tecido adiposo visceral e perda de massa muscular (164).

Os resultados também confirmaram que, ao reduzir o % de gordura, o treinamento foi capaz de reverter alguns efeitos negativos sobre a massa magra de HM e HH, independente da intensidade em que eles se exercitaram. Os efeitos antiinflamatórios promovidos pelo exercício podem estar envolvidos nesse quadro. O exercício é conhecido por estimular a produção de citocinas antiinflamatórias e inibir a produção das pró-inflamatórias (164). É o caso de IL-6; uma citocina estimulada pelo exercício, que inibe os efeitos deletérios que TNF- $\alpha$  exerce sobre a

regeneração muscular (163). O impacto negativo sobre a sinalização da insulina mediado por TNF- $\alpha$  também pode ser revertido com o exercício, permitindo que o hormônio exerça seus efeitos anabólicos em músculo esquelético (93,161).

Os efeitos antiinflamatórios se amplificam com a redução da adiposidade, pois o aumento da lipólise e da oxidação de ácidos graxos induzidos pelo exercício reduzem a quantidade de tecido adiposo e a inflamação mediada por adipocinas e macrófagos (172,173). Ou seja, se menos lipídios se acumulam, menos tecido adiposo é formado e menor é a liberação de citocinas – que interferem na regeneração e no crescimento muscular (161,163). Adicionalmente, o exercício também regula negativamente a miostatina, que está associada à redução da massa magra na obesidade (164). Em suma, é provável que esse conjunto de fatores esteja relacionado com a melhora da massa magra de HM e HH, contribuindo para que elas sejam mantidas no mesmo nível daquela de animais saudáveis.

## **6.2 Sobre as sessões de treinamento isocalóricas e dados de EPOC**

Normalmente, as sessões isocalóricas são adotadas por estudos que necessitam comparar diferentes cargas de trabalho e igualar o gasto calórico durante as sessões de treinamento (101,174). Isto porque vários desfechos induzidos pelo treinamento aeróbio devem-se, na verdade, ao aumento do volume e não da intensidade (143,171).

Nas sessões isocalóricas, o dispêndio deve ser estimado durante a sessão, para que a duração corresponda ao dispêndio total que se pretende alcançar. Em humanos, o método é bastante utilizado e há diferentes formas de estimar o dispêndio durante a atividade (17,98,99,102). Em roedores, a realidade é um pouco diferente, pois não há métodos tão simples para tais estimativas durante o exercício. Sistemas de calorimetria direta e indireta são indicados para esta finalidade, mas possuem alto custo e podem adicionar complexidade às rotinas de experimentos com roedores (101). Talvez esta seja a principal razão pela qual os estudos com modelo animal equalizem, até hoje, o volume de treinamento com base no trabalho total (i.e., massa corporal pela distância que os animais percorrem) (175,176).

As desvantagens no uso do trabalho total residem no fato de que, a distância fornece uma estimativa rudimentar sobre dispêndio energético em comparação ao  $VO_2$ , e não reflete com precisão a demanda metabólica imposta durante a atividade (72). Nesse sentido, um estudo prévio desenvolvido em nosso laboratório delineou sessões isocalóricas para ratos, e demonstrou que a distância percorrida pode ser equivalente entre os grupos, mas não significa que o gasto energético estimado pelo  $VO_2$  seja o mesmo (101). Assim, o presente trabalho diferencia-se dos demais estudos por ter equalizado o volume das sessões de MICT e HIIT valendo-se de um método preciso para estimar o dispêndio energético durante a atividade.

Um método similar de sessões isocalóricas foi utilizado no estudo clássico de Katch, Martin e Martin (1979), que parece ter sido um dos pioneiros na literatura ao igualar o gasto calórico da sessão de exercício entre grupos que treinaram em diferentes intensidades (123). Os dados daquele estudo foram relevantes para efeito de comparação, pois foram relatados valores do gasto calórico médio total de um rato *Wistar* em uma corrida na esteira. Em aproximadamente 60 minutos, o dispêndio energético variou entre 5,29 e 5,23 kcal, ratificando os resultados encontrados em nossa amostra, nas sessões isocalóricas de teste (CM:  $4,9 \pm 0,1$ ; CH:  $4,8 \pm 0,1$ ; HM:  $4,8 \pm 0,1$ ; HH:  $4,7 \pm 0,1$ ).

Além do dispêndio total, o  $VO_2$  alvo e o tempo de sessão também foram avaliados nas sessões isocalóricas de teste. No  $VO_2$  alvo, esperava-se que o HIIT exigisse um maior esforço relativo de animais de HH em comparação à CH, pois a sobrecarga no custo metabólico pelo excesso de adiposidade tende a ser maior (177). Porém, isto não foi confirmado; mesmo com HH exibindo valores acima de CH, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos (HH: 27,7 vs. CH: 25,4;  $P = 0,27$ ). Pela mesma razão acreditava-se que os animais de HH alcançariam o dispêndio total estimado em tempo menor do que CH, mas isto também não foi confirmado (HH: 35,7 vs. CH: 38,7;  $P = 0,49$ ).

Após as sessões, o EPOC foi mensurado em alguns animais para verificar possíveis diferenças no gasto energético induzidas pela intensidade. Há evidências que indicam que o EPOC aumenta proporcionalmente com a intensidade (178), e isto deve-se a diversos fatores, tais como: necessidade de reposição de estoques de  $O_2$  em músculo e sangue; aumento da respiração mitocondrial, remoção de lactato; ressíntese de energia; níveis elevados de catecolaminas, frequência cardíaca, ventilação e temperatura corporal (179).

No presente estudo, a AUC do  $VO_2$  não confirmou a existência dessa relação dose-resposta entre intensidade e EPOC (178), ainda que a amplitude alcançada pela curva de  $VO_2$  e o  $VO_2$  inicial dos grupos tenham sido nitidamente influenciados pelo HIIT. Outros estudos que investigaram menores intensidades também não confirmaram essa relação (178).

Em um primeiro momento, a avaliação do EPOC pareceu importante para saber se diferenças encontradas na adiposidade de alguns grupos poderiam ser explicadas pelas diferenças no gasto energético pós-exercício. Porém, em recente metanálise, os autores Andreatto et al. (2018) postularam que a magnitude dessas diferenças no EPOC é tão modesta que não causaria mudanças significativas na adiposidade, ou no peso corporal (171).

### **6.3 Sobre os achados de capacidade cardiorrespiratória**

O aumento do  $VO_{2PICO}$  era um desfecho supostamente esperado nos grupos de treinamento, sobretudo naqueles que realizaram o HIIT. O  $VO_{2MAX}$  (ou  $VO_{2PICO}$ ) é um indicador de capacidade cardiorrespiratória e reflete a taxa máxima de  $O_2$  que pode ser captado do ar ambiente, transportado e utilizado para a respiração celular durante a atividade (180). A melhora da capacidade cardiorrespiratória pode ser explicada pelo aumento da capacidade oxidativa dos músculos esqueléticos e do número de capilares por fibra muscular; aumento do débito cardíaco, volume de ejeção e cavidade ventricular esquerda; e melhor distribuição do fluxo sanguíneo e fornecimento de  $O_2$  para os tecidos ativos (94) (p.281-285). Apesar de alguns estudos terem observado aumento do  $VO_{2MAX}$  com o treinamento moderado (60-70%  $VO_{2MAX}$ ), o aumento da intensidade ( $\geq 80\%$   $VO_{2MAX}$ ) parece ser um fator-chave para promover tais adaptações (180).

Nesse sentido, os resultados mostraram que ambos HIIT e MICT aumentaram o  $VO_{2PICO}$  em todos os grupos que treinaram, mas somente HIIT fez com que os grupos tivessem  $VO_{2PICO}$  superior ao de seus congêneres sedentários. Tais diferenças foram refletidas pela velocidade máxima do teste de esforço, indicando que a performance aumentou com o treinamento, mas, principalmente, para aqueles

que treinaram com HIIT. Ou seja, o treinamento aeróbio é, de fato, uma estratégia potencial para aumentar a capacidade cardiorrespiratória, mas a alta intensidade otimiza os ganhos adicionais sobre essa variável.

Esses achados estão em consonância com aqueles disponíveis na literatura, e reproduzem exatamente os achados de capacidade cardiorrespiratória em humanos e roedores (174,181–184). Em termos quantitativos, a metanálise de Weston, Wisløff e Coombes (2013) elucidou que a melhora da capacidade cardiorrespiratória obtida com o HIIT sobre os grupos sedentários pode ser quase o dobro daquela obtida através do MICT (19.4% vs. 10.3%) (174). No presente estudo, os resultados encontrados com HIIT e MICT são muito próximos aos daquele estudo: o  $VO_{2PICO}$  dos grupos CH e HH aumentaram em média 15% enquanto CM e HM aumentaram apenas 7%.

Do ponto de vista celular, um dos principais mecanismos que respondem pela melhora da capacidade cardiorrespiratória de obesos treinados é a biogênese mitocondrial (140,174,176). Na obesidade ocorre disfunção mitocondrial por causa da produção excessiva de NADH e EROS na mitocôndria, desencadeada por uma sobrecarga de lipídios no organismo (6). A disfunção pode ser revertida com uma rotina de exercícios aeróbios, sobretudo com o HIIT. Há evidências de que o HIIT (mais do que o MICT) está relacionado ao aumento de PGC1- $\alpha$  – uma proteína expressa em tecidos com alto número de mitocôndrias e envolvida na conversão de fibras musculares do tipo IIb em IIa e I (140,174,176).

Assim, o aumento da biogênese mitocondrial induzido pelo treinamento aeróbio denota maior eficiência da respiração celular, aumento na diferença arterio-venosa de  $O_2$ , e conseqüentemente, aumento do  $VO_{2MAX}$  (180). Seria razoável especular o envolvimento desse mecanismo no aumento da capacidade cardiorrespiratória de todos os grupos que treinaram neste estudo. Porém, experimentos complementares precisariam ser feitos para saber se, há aumento de PGC1- $\alpha$  no tecido muscular desses animais, e se a sua expressão varia conforme eles treinam em diferentes intensidades.

Do ponto de vista morfológico, outro mecanismo relacionado com a melhora da capacidade cardiorrespiratória é o aumento da capilarização muscular, estimulado pelo aumento do *shear-stress* e da pressão nos capilares (180). O aumento da densidade capilar funcional (número de capilares com fluxo sanguíneo/mm<sup>2</sup>) permite que maior aporte de nutrientes e hormônios sejam feitos

para o músculo esquelético, e contribui para melhorar a sensibilidade à insulina com o treinamento, e a captação de glicose para atividade contrátil muscular (185). Esse aumento do número de capilares é mediado, basicamente, pelo VEGF – um fator que estimula a angiogênese por sinalizações mediada por eNOS e síntese de NO (186). Quanto à intensidade, alguns autores sugerem que o aumento da densidade capilar funcional aumenta proporcionalmente com o HIIT (140,174), enquanto outros sugerem que o aumento da capilarização ocorre de maneira similar, independente da intensidade (137,185).

Nas seções a seguir serão discutidas outras adaptações vasculares que influenciam positivamente na aptidão física de indivíduos obesos, considerando as diferenças entre as intensidades de treinamento.

#### **6.4 Sobre os achados de tolerância à glicose, à insulina e perfil lipídico**

##### 6.4.1. Em relação à dieta hiperlipídica

Analisando os resultados, os animais de HS tiveram menor sensibilidade à insulina e tolerância à glicose após 18 semanas com dieta H, denotando possivelmente um quadro de resistência à insulina. Esses parâmetros foram analisados através do comportamento das curvas de glicemia no TTI e TTG – dois testes funcionais que verificam a ação da insulina quanto à captação de glicose pelos tecidos, mediante um estímulo exógeno de insulina, ou de glicose (187). No mesmo contexto, outros estudos também encontraram resultados similares em animais com dieta *high-fat*, corroborando os desfechos obtidos no presente trabalho (79,188). Além da dieta, o sedentarismo também foi um fator-chave que contribuiu para este quadro; pois os dois grupos de treinamento HM e HH tiveram melhor desempenho nesses testes do que HS.

Basicamente, quando a disponibilidade da glicose aumenta no organismo, as células  $\beta$  pancreáticas são estimuladas a secretar insulina, e então, se estabelece uma ligação entre o *status* da glicose circulante e o metabolismo da glicose nos tecidos responsivos à insulina. Assim, de maneira coordenada, a insulina propicia a

captação e o estoque de glicose no fígado, no tecido adiposo e músculo esquelético, mantendo a glicose sanguínea em níveis ideais. Na resistência à insulina, a captação de glicose diminui em resposta às concentrações fisiológicas do hormônio; menos glicose é transportada para os tecidos, e ela se mantém elevada no sangue. De forma compensatória, a liberação de insulina por células  $\beta$  aumenta para dar conta do aumento da glicemia. Os níveis de insulina se mantêm elevados, mas não conseguem agir de forma eficiente sobre os tecidos, comprometendo a captação de glicose - sobretudo em fígado e músculos. À medida que o quadro progride, essas células se tornam disfuncionais e secretam menos insulina do que o necessário (170) (p.180, 207).

Diante da elevada ingestão de lipídios com a dieta hiperlipídica, há uma 'perda de espaço' da glicose para a grande quantidade de ácidos graxos a ser oxidada pelas vias metabólicas. Há acúmulo de NEFA e triglicerídeos, bem como de seus metabólitos gerados pela oxidação (i.e, diacilglicerol, acetil-CoA). Esse acúmulo de metabólitos interfere nas vias de sinalização da insulina, fosforilando proteínas importantes dessas vias, prejudicando a ação do hormônio sobre os receptores. O aumento do processo inflamatório no tecido adiposo mediado por citocinas e macrófagos também impacta nas vias de sinalização da mesma forma, sendo mais um fator que contribui para reduzir a sensibilidade à insulina (173).

Nos animais do presente estudo, a piora da sensibilidade à insulina e da captação da glicose ocorreu de forma paralela ao aumento do colesterol (total, triglicerídeos e LDL), avaliado através do perfil lipídico. Ao menos em parte, isto confirma a presença dos mecanismos mencionados acima. Embora não tenha sido avaliado os níveis de citocinas, ou a infiltração de linfócitos e monócitos no tecido adiposo, é provável que um processo inflamatório crônico tenha se estabelecido e contribuído para esse quadro. Além disso, a piora da sensibilidade à insulina em HS também pode estar relacionada à diminuição da reatividade microvascular nesse grupo.

À nível vascular, a insulina exerce efeitos importantes sobre o recrutamento capilar. Algumas de suas vias de sinalização, que estimulam o transporte da glicose, também estão envolvidas na produção de NO e no controle da secreção de ET-1 em células endoteliais. Quando há resistência à insulina e as sinalizações da via encontram-se prejudicadas, os efeitos da insulina sobre as células endoteliais de microvasos também são prejudicados. Com a progressão cíclica do quadro, ocorre

diminuição do recrutamento capilar, vasoconstricção, e conseqüentemente, redução da resposta vasodilatadora dependente do endotélio (42).

Conforme mencionado no início deste parágrafo, o sedentarismo pode ter sido um fator-chave para HS ter desencadeado um quadro formado por: aumento de colesterol, piora da sensibilidade à insulina e disfunção endotelial. Em contraste, o aumento similar do dispêndio energético com o exercício fez com que os grupos HM e HH exibissem condições melhores desse quadro, chegando à níveis próximos à de animais controles. Os resultados obtidos com o treinamento sobre o perfil lipídico, e o desempenho no TTI e TTG serão discutidos a seguir.

#### 6.4.2. Em relação ao treinamento aeróbio

Mesmo sob o regime da dieta hiperlipídica, os animais de HM e HH conseguiram criar adaptações metabólicas eficientes para oxidar as quantidades de ácidos graxos e glicose excedente no organismo. Em comparação à HS, os grupos HM e HH tiveram menores níveis séricos de colesterol, bem como maior sensibilidade à insulina e mobilização da glicose para trabalho muscular. Segundo a literatura, o exercício aeróbio pode ser considerado um 'mimético' da insulina e uma estratégia útil para aumentar a captação de glicose, bem como regular os níveis glicêmicos quando há resistência à insulina ou DM2 (170) (p.218). Isso justifica porque os animais de HM e HH tiveram melhores resultados no TTI e TTG em comparação à HS.

Com o aumento da contração muscular e do dispêndio de energia durante o exercício, as taxas de algumas enzimas reguladoras do metabolismo aumentam (AMPK, CaMK). Essas enzimas aumentam a migração de GLUT-4 de para a membrana celular, estimulando a captação de glicose. Ao elevar os níveis de PGC-1 $\alpha$ , também aumenta a atividade mitocondrial e a oxidação de ácidos graxos; e menos lipídios se acumulam, melhorando a sensibilidade à insulina (170) (p.221-223).

Com o exercício, as reservas de glicogênio sendo depletadas e para restaurá-las na recuperação pós-exercício, a glicose é mobilizada para sintetizar o glicogênio e restaurar esses estoques, o que aumenta a ação da insulina. Do mesmo modo, uma

maior quantidade de ácidos graxos intramuscular é mobilizada durante o exercício, então, menor é o acúmulo de NEFA e melhor é a sensibilidade à insulina (105,162).

Numa sessão típica de MICT, há um predomínio na oxidação de lipídios; taxas máximas de oxidação de NEFA são alcançadas e a lipólise se mantém contínua no tecido adiposo (sobretudo intramuscular) (95) (p.169). Quanto ao HIIT, existe uma concepção equivocada de que a produção de energia seja predominantemente anaeróbia e haja menor contribuição do metabolismo oxidativo de carboidratos e lipídios, devido aos estímulos na alta intensidade. Pelo contrário, a maior taxa de trabalho ( $VO_2$  alvo) requer maior taxa de ressíntese de ATP. Então, o HIIT aumenta a oxidação de carboidratos somada à de ácidos graxos, à medida que a duração do exercício progride alternando períodos de estímulo na alta intensidade e de recuperação (95) (p.197).

Na verdade, o aumento de PGC-1 e biogênese mitocondrial têm sido uma das principais adaptações metabólicas descritas com protocolos de HIIT, pela literatura (137). Alguns autores afirmam que o HIIT é superior ao MICT para gerar tais desfechos e reduzir a resistência à insulina e os níveis de colesterol na obesidade (136,174,189), mas isso é bastante controverso e tem sido contestado por outros autores. Há uma série de estudos indicando esses mesmos desfechos com o treinamento de intensidade moderada. Por exemplo, Shirvani e Arabzadeh publicaram um estudo recente que mostra aumento de PGC-1 $\alpha$  após 8 semanas, em ratos treinados com HIIT ou MICT (190). Em humanos, a metanálise de Gordon-Fisher mostrou melhora da sensibilidade à insulina e do perfil lipídico com os ambos HIIT e MICT em homens obesos ou com sobrepeso, e sugere que não há superioridade de qualquer uma das intensidades sobre outra na melhora desses marcadores (191).

## **6.5 Sobre os achados de reatividade microvascular**

Neste estudo, a função endotelial foi avaliada através de experimentos de reatividade com ACh, os quais permitiram analisar a vasodilatação endotélio-dependente dos animais em resposta ao exercício crônico, bem como à obesidade induzida por dieta hiperlipídica. Para tal proposta, dois sítios musculares com

características distintas foram utilizados: músculo cremaster e músculos adutores. Em termos funcionais, o cremaster é um músculo estriado, porém não-esquelético; que não tem função locomotora, mas sim, de proteção e termorregulação testicular (192). Em contraste, os adutores podem receber uma maior quantidade de fluxo de acordo com a demanda metabólica, à medida que são recrutados pela atividade, e aumentam a densidade microvascular em resposta ao treinamento aeróbio (193,194). Respectivamente, ambos os sítios permitiram avaliar a reatividade microvascular e (micro)vascular *in vivo*, diferenciando os efeitos sistêmicos e locais produzidos pelo treinamento físico sobre a função endotelial (85,192).

No músculo cremaster, a vasodilatação endotélio dependente foi avaliada somente em arteríolas por microscopia intravital, enquanto que no 'pool' de músculos adutores, a vasodilatação foi avaliada por LDPI, sem dissociar as respostas de micro e macrovasos. Por causa disso, o termo '(micro)vascular' foi adotado, para se referir à função endotelial avaliada nessas circunstâncias; onde não foram dissociadas as contribuições de micro e macrovasos durante a análise da perfusão, mas também não se deixou de avaliar a reatividade microvascular. Estudos com humanos valem-se de uma abordagem similar para avaliar a função endotelial vascular com a pletismografia de oclusão venosa. Ela fornece dados sobre a resposta vasodilatadora geral através das variações do fluxo sanguíneo regional (5,195).

À primeira vista, o fato de reunir artérias e arteríolas na mesma preparação pode parecer uma limitação, pois estes vasos podem ter padrões diferentes de resposta vasodilatadora (196). Mas, neste caso, avaliar a reatividade desta maneira integrada pode ter sido uma vantagem, no sentido de ter uma perspectiva abrangente da condição do endotélio em cada sítio anatômico avaliado. Vale lembrar que a disfunção endotelial microvascular é considerada um processo sistêmico, que pode ocorrer de maneira similar em múltiplos tecidos do organismo (5).

Na verdade, os dois métodos adotados atenderam às características vasculares de cada sítio muscular, bem como a sua funcionalidade. Em termos vasculares, o cremaster tem predomínio de microvasos e é irrigado por uma única artéria cremastérica – ramo da epigástrica inferior (192). Os músculos adutores, porém, são amplamente perfundidos por artérias musculares e arteríolas (197). Portanto, faz sentido que para ter uma avaliação abrangente da função endotelial

em cada sítio muscular, as particularidades de cada rede vascular devem ser consideradas integralmente.

#### 6.5.1. Em relação à dieta hiperlipídica

A disfunção endotelial no grupo HS se traduziu na vasodilatação reduzida de arteríolas do cremaster na maior concentração de ACh. Nos músculos adutores, essa diferença se refletiu até certo ponto, pois HS exibiu uma resposta vasodilatadora atenuada comparada àquela de grupos controles ( $P=0,0001$ ), mas não diferiu significativamente de CS (HS vs. CS:  $-11,3\%$ ;  $P=0,50$ ). Nos dois sítios avaliados, HS chegou a aumentar o calibre dos vasos mediante a ACh, mostrando que algum nível de reatividade conseguiu ser alcançado em relação ao *baseline*. Porém, ao analisar os resultados de HS em relação aos demais grupos, pode-se confirmar a disfunção endotelial microvascular no cremaster, e ao menos, um prognóstico endotelial ruim em músculos adutores, após meses de exposição à dieta hiperlipídica e ao sedentarismo.

Conforme mencionado no início desta seção, a disfunção endotelial microvascular é um processo sistêmico, que pode ocorrer de maneira similar em várias regiões do organismo (5). No entanto, o fato de diferenças na reatividade terem sido unânimes no cremaster, mas não nos adutores, pode ser justificado pelas características vasculares heterogêneas de cada sítio analisado (*vascular beds*), e o papel fisiológico de cada um deles (198). Ambos os sítios contribuem para a resistência vascular periférica (199), mas eles lidam com diferenças na demanda metabólica, nos níveis de perfusão basal, e na proporção de artérias que suprem cada região (85,200).

Essa ideia é corroborada pelo estudo de O'Brien et al. (1998) com animais obesos, no qual eles explicam que diferenças no papel fisiológico de cada vasculatura podem resultar em diferentes níveis de reatividade, e que a atenuação da resposta vasodilatadora em artérias maiores podem avançar em um curso de tempo diferente do de arteríolas e de artérias menores (196). Além disso, em uma abrangente revisão sobre os 30 anos de pesquisa em disfunção endotelial e doença vascular, Vanhoutte et al. (2017) elucidaram que, em casos de disfunção endotelial

'clássica', onde a síntese de NO é inibida, dilatações em artérias maiores (como aquelas nos músculos adutores) podem ser mediadas por EDHF. Assim, o EDHF pode ter sido responsável por assumir, pelo menos temporariamente, a resposta vasodilatadora em adutores (201).

Outra questão que também pode ser discutida é a proporção do tecido adiposo perivascular (PVAT) sobre a rede vascular de cada sítio analisado. Em condições fisiológicas, PVAT tem potente efeito anti-aterogênico e de proteção tecidual, mas em estados fisiopatológicos (como o da obesidade), PVAT se torna disfuncional e começa a promover infiltração de macrófagos e liberação adipocinas pró-inflamatórias que atuam diretamente nos vasos, causando disfunção endotelial (202). Em cremaster de ratos obesos, Yudkin, Eringa e Stehouwer (2005) observaram que a presença de 'cuffs' de PVAT em arteríolas que supriam o tecido pioravam a sinalização da insulina, a produção de NO por esta via, ao aumento de TNF- $\alpha$ , e ao aumento da adesão de leucócitos, que medeiam a inflamação local (203). Assim, faz sentido pensar que danos significantes sobre a função endotelial sejam sentidos primeiramente em regiões musculares como esta.

Na presença de obesidade e sobrepeso, está bem elucidado que a disfunção endotelial microvascular se estabelece por conta de algumas alterações no organismo: acúmulo de gordura visceral, dislipidemia, resistência à insulina, e inflamação crônica de baixo grau (6). Essas alterações se desenvolvem de maneira interligada no organismo, mas, isoladamente, elas podem responder pela disfunção endotelial (204).

Nos animais de HS, a presença de quase todas essas alterações foi constatada através dos experimentos realizados. As análises mostraram que a dieta H aumentou os níveis de colesterol, triglicerídeos e LDL-c, aumentou o % de gordura central dos animais, diminuiu a sensibilidade à insulina, e piorou a tolerância à glicose. Essas alterações parecem ter tornado o endotélio disfuncional ao longo do período experimental, e a redução na biodisponibilidade do NO pode ter sido um dos principais mecanismos envolvidos. Embora não tenha sido alcançado o limiar de significância estatística, a estimativa indireta da biodisponibilidade do NO revelou valores muito menores para HS em comparação àqueles de CS – que se manteve sedentário, porém com dieta controle (HS: -4,3% vs. CS: -23,1%, P=0,06). O método de quimioluminescência baseada em Ozônio, por exemplo, poderia ajudar a quantificar de forma mais acurada a biodisponibilidade do NO neste caso.

De qualquer modo, essas alterações afetam de forma indireta ou direta atividade da eNOS, e isso acaba inibindo a síntese de NO (204). Naquela revisão de Vanhoutte et al. (2017), os autores pontuaram: aumento de macrófagos e produção de EROS pelo tecido adiposo; redução da adiponectina e de seu efeito vascular sobre o acoplamento e ativação de eNOS; maior liberação de prostanóides vasoconstritores e de ET-1 pelo endotélio, pelo aumento da inflamação e de EROS; prejuízos na sinalização da insulina e nos receptores envolvidos na produção de NO via eNOS; diminuição da BH<sub>4</sub> em função do estresse oxidativo; aumento de NEFA, que aumenta a produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pelas CMLV e afeta a produção de NO via eNOS (201).

O PVAT também ganhou destaque neste caso, pois ele regula a infiltração de macrófagos e produção de citocinas pró-inflamatórias, que interferem diretamente na produção de NO em células endoteliais (205). Os resultados de vasodilatação com SNP confirmaram que o alcance dos danos vasculares em HS foi realmente limitado às células endoteliais, e não houve danos em CMLV. Na presença do SNP, como um doador exógeno de NO, o relaxamento do músculo liso vascular ocorreu de maneira equivalente, sem qualquer diferença entre os grupos (P=0,45).

Outros estudos experimentais também identificaram piora da vasodilatação devido à obesidade, e/ou resistência à insulina. Em hamsters, por exemplo, dois estudos desenvolvidos no Laboratório BioVasc em condições similares mostraram redução da vasodilatação endotélio dependente na bolsa da bochecha (206). No estudo de Sebai et al. (2012), ratos obesos *Zucker* mostraram menor vasodilatação de arteríolas do cremaster e de spinotrapézio em relação à animais controles (207). Naderali et al. (2001) também encontraram reatividade com ACh reduzida em artérias mesentéricas de ratos com obesidade induzida por dieta de cafeteria (208).

Ao que parece, as condições alimentares em que os animais de HS estiveram submetidos conduziu o organismo a uma sobrecarga no metabolismo de lipídios, que desencadeou o aumento do estoque de triglicerídeos em adipócitos, deixando-os hipertróficos e vulneráveis à ação de macrófagos e citocinas pró-inflamatórias (5,205).

O grande problema dessa adiposidade excessiva é o quadro cíclico que se forma na rede vascular, onde há: desequilíbrio na liberação de adipocinas (pró e anti-inflamatórias); aumento da liberação de EROS; estresse oxidativo; prejuízos na sinalização da insulina; redução da biodisponibilidade de NO. A partir daí, o tônus

vasoconstritor prevalece, o recrutamento de capilares diminui, e a disfunção microvascular se estabelece (42), piorando os padrões de fluxo sanguíneo, pressão arterial e a perfusão de órgãos e tecidos (6). Em adição, o elevado nível de colesterol também aumenta a oxidação de LDL-c, cujas partículas infiltram em fenestras endoteliais de artérias e favorecem a inflamação vascular, e a formação de placas de ateroma (5,6).

É razoável pensar que quanto maior fosse o tempo de exposição desses animais à gordura saturada e ao sedentarismo, maior seria o alcance dos danos vasculares, e mais difícil seria a condição de reverter esse quadro através de intervenções não-farmacológicas. Por isso é tão importante a detecção da disfunção endotelial em estágios iniciais (5); para que os danos em micro e macrovasos não atinjam maiores proporções e a aterosclerose não se estabeleça. Nesse sentido, uma intervenção eficiente para reversão desse cenário é a prescrição do exercício aeróbico regular, cujos benefícios sobre a saúde vascular serão discutidos a seguir.

#### 6.5.2. Em relação ao treinamento aeróbico

O primeiro achado a ser discutido é que os animais de HM e HH exibiram melhora da reatividade microvascular nos dois sítios musculares analisados, mostrando um efeito mediado pelo volume de exercício, e não pela intensidade. De fato, houve um efeito benéfico sistêmico sobre a função endotelial nas duas regiões analisadas com o treinamento, e o dispêndio energético induzido por HIIT e MICT foi suficiente para promover tais adaptações.

Muitos estudos corroboram a presença desse efeito sistêmico na reatividade de artérias e arteríolas, avaliando sítios musculares recrutados ou não recrutados durante o exercício (56,85,200,207,209,210). O problema é que, até o momento, há pouco conhecimento se isso varia ou não de acordo com a intensidade do exercício. Nesse sentido, este estudo adotou uma abordagem simplificada para verificar diferenças sistêmicas ou locais sobre a função endotelial microvascular. Diferentemente de outros estudos, não foram analisados músculos ou vasos isolados. Na verdade, pareceu ser mais útil e menos complexo, discutir a resposta vasodilatadora global de uma região muscular que tem maior perfusão sanguínea no

exercício, com a de uma região muscular como a do cremaster, que possui características predominantemente opostas.

Em cenários onde há disfunção endotelial e risco cardiometabólico aumentado, as exposições regulares ao aumento do fluxo sanguíneo com o exercício podem reverter os danos sobre a função endotelial (99,130,200,211,212). Seguindo essa linha, um estudo de revisão mostrou que, quando a função endotelial se encontra comprometida por alguma alteração metabólica ou doença crônica (i.e, hipercolesterolemia, DM2, obesidade), o treinamento aeróbio consistentemente preserva, ou restaura a vasodilatação de artérias e arteríolas próximo aos níveis normais, como aquelas de animais saudáveis (130,200).

São inúmeros os estudos que também encontraram melhora da função endotelial com distintos protocolos de treinamento aeróbio, e os efeitos não são restritos à redes vasculares específicas, mas sim, eles se estendem da micro à macrocirculação (200,213,214). Por exemplo, em ratos com alterações cardiometabólicas induzidas pela ingestão elevada de frutose, Medeiros et al. (2016) mostraram que o treinamento aeróbio moderado foi suficiente para reverter danos na reatividade vascular de aorta (215). Um estudo desenvolvido no BioVasc por Boa et al. (2014) também mostrou que hamsters nas mesmas condições tiveram melhora da função endotelial microvascular na *cheek-pouch* após 4 semanas de treinamento moderado-vigoroso (210). Em animais com obesidade induzida por dieta, ou por modificação genética, o exercício atenuou os danos na função endotelial de artérias ou arteríolas, melhorando a reatividade em resposta à ACh (75,207,216,217).

Alguns mecanismos interagem com o endotélio e CMLV, e melhoram a função endotelial pelo aumento da biodisponibilidade de NO (214). Basicamente, o exercício aumenta o fluxo sanguíneo laminar, aumenta o *shear stress*, aumenta algumas enzimas antioxidantes e a atividade da eNOS, que aumenta a biodisponibilidade do NO (56,214). Segundo Hambrecht e Kodja (2005), o *shear stress* está relacionado ao aumento de vários genes endoteliais que protegem de processos de apoptose, inflamação e estresse oxidativo, como o gene da eNOS, por exemplo (109). Esse aumento de NO ocorre em ambos os vasos de resistência e condutância (213,214) e é uma adaptação sistêmica importante, pois aprimora a capacidade de oxigenação dos tecidos em geral, além do tônus periférico.

Quando há permanência de processos inflamatórios e EROS (como no caso da obesidade e das alterações metabólicas), os padrões de fluxo reduzem o *shear*

*stress*, e conseqüentemente, os níveis de NO diminuem. Com isso, o tônus vasoconstritor prevalece e as CMLV aumentam a atividade contrátil; consumindo mais O<sub>2</sub> para manter essas altas taxas de trabalho celular. Do contrário, quando há aumento do fluxo sanguíneo e do shear stress, e os níveis ótimos de NO vascular são alcançados (como um efeito do exercício crônico), as arteríolas consomem menos O<sub>2</sub> e o trabalho contrátil de CMLV reduz, causando vasodilatação (218).

Ao melhorar a captação de glicose e a sensibilidade à insulina, o exercício mantém níveis ótimos de EROS, de estresse oxidativo, e equilibra o balanço entre citocinas pró e anti-inflamatórias liberadas pelo tecido adiposo (93,217), reduzindo processos inflamatórios que inibem a manutenção de níveis de NO vascular. Sobre os efeitos do treinamento na inflamação, o exercício aeróbio é capaz de diminuir o recrutamento de macrófagos em tecido adiposo (sobretudo em PVAT), e a expressão de ICAM-1 e VCAM-1, reduzindo a adesão leucocitária (214). Os experimentos de Orth et al. (2005), por exemplo, observaram menor adesão e rolamento de leucócitos em vênulas do cremaster de ratos após 5 semanas de treinamento moderado (192).

Os dados apresentados nesta Tese confirmaram, ao menos em parte, a presença desses mecanismos, visto a melhora da sensibilidade à insulina, da tolerância à glicose, e o aumento da biodisponibilidade de NO em músculos de animais de HM e HH. Os resultados dos experimentos com inibição por L-NAME mostraram que ambos MICT e HIIT aumentaram a contribuição de NO para a vasodilatação dependente do endotélio (P=0,007 e P=0,01), e denotaram um papel importante do treinamento aeróbio em aumentar a biodisponibilidade de NO na obesidade, onde esteve nitidamente reduzida. Esses dados também mostram que não houve qualquer prejuízo sobre o endotélio com o HIIT, como havia sido postulado no início deste estudo.

Na verdade, esse é outro achado que precisa ser discutido. Tanto os dados de biodisponibilidade de NO quanto os de reatividade mostraram que não houve qualquer prejuízo sobre a função endotelial de animais obesos submetidos ao HIIT. Pelo contrário, mesmo exibindo maior VO<sub>2</sub> alvo e maior peroxidação lipídica em relação ao MICT, os grupos de HIIT aumentaram a reatividade microvascular. A ideia de que a alta intensidade talvez agravasse um comprometimento endotelial na microvasculatura surgiu da possibilidade de que, a maior presença de EROS por

conta do exercício intenso levaria à inibição de NO e à formação de radicais livres como peroxinitrito (109).

Em adição, essa a ideia teve como base alguns desfechos com exercício agudo e crônico de alta intensidade (17,18,84). Como efeito crônico, houve aumento da vasodilatação endotélio dependente com a intensidade moderada, mas não alta (18). Como efeito agudo, alguns achados mostraram: disfunção endotelial em artérias de condutância; aumento de vasoconstritores como ET-1; e elevado estresse oxidativo, horas após o exercício intenso (>70% VO<sub>2MAX</sub>) (13,17,219). No entanto, tudo indica que essas alterações são transitórias e benéficas. Na literatura, há evidências de que repetidas exposições da vasculatura ao exercício intenso podem temporariamente alterar o sistema vascular, mas cronicamente dão suporte para que adaptações benéficas se estabeleçam (219). O aumento da densidade capilar funcional, a maior atividade de eNOS e o aumento de enzimas antioxidantes são as principais adaptações mencionadas pelos estudos que compararam o HIIT com outros protocolos de treinamento (99,185,219).

Ao comparar HIIT e MICT em ratos com síndrome metabólica, Haram et al. (2009) mostraram que os dois protocolos melhoraram a função endotelial, mas apenas HIIT aumentou a expressão de eNOS (176) e biodisponibilidade de NO. Por um lado, tais resultados se assemelham àqueles encontrados em animais de HM e HH; por outro lado, os achados de biodisponibilidade de NO contrastam com os desta Tese, e comparações se tornam difíceis devido às diferenças no modelo animal utilizado (LCR rats), ao tipo de rede vascular analisada, e, principalmente, ao protocolo de exercício utilizado (com volume controlado pela distância, e não pelo dispêndio energético) (176).

Em humanos, o estudo de Cocks et al. (2013) indicou aumento similar de conteúdo de eNOS em endotélio microvascular de indivíduos sedentários treinados na alta e moderada (185). Em termos comparativos, tal estudo exhibe grandes diferenças de protocolos de treinamento e de condição física dos sujeitos, e mesmo assim, ambas as intensidades mostraram adaptações benéficas microvasculares.

As diferenças nos modelos utilizados, nos protocolos de treinamento, na manipulação das variáveis desses protocolos têm reproduzido achados bastante distintos quanto aos efeitos do HIIT e MICT. Uma recente metanálise concluiu que o HIIT parece ser mais eficiente que MICT para melhorar a função vascular, mas reconhece que a variabilidade nos desfechos secundários (VO<sub>2MAX</sub>, % gordura), e

nas amostras destes estudos dificultam ‘bater o martelo’ à respeito da superioridade do HIIT nesse sentido (213). Seguindo essa linha, Holloway e Spriet (2015), em uma *crosstalk proposal*, alertaram sobre os efeitos controversos do HIIT em condições de doença cardiovascular, e a necessidade de um melhor conhecimento sobre as adaptações moleculares e celulares antes de preconizá-lo como um único modelo de treinamento a ser seguido (220).

Há algum tempo, Jasperse e Laughlin (2009) alertaram sobre a necessidade de se investigar melhor as adaptações vasculares com o treinamento, por causa da quantidade de fatores que podem influenciar neste caso (i.e, duração do protocolo de treinamento; ramificação da rede vascular examinada; particularidades do músculo estudado) (200). Tendo em mente os benefícios adicionais atribuídos ao HIIT nas pesquisas recentes (136,137,174,213), a intensidade do treinamento pode ser um fator a mais na influência dessas respostas, e seguindo esse raciocínio, os achados da presente Tese parecem contribuir de algum modo para elucidar essa questão.

De fato, o HIIT tem mostrado ser capaz de otimizar ganhos na função vascular, sobretudo em indivíduos saudáveis (174,213), e os resultados de reatividade microvascular em animais de CH confirmaram que apenas a alta intensidade foi capaz de aprimorar a resposta vasodilatadora mediada pelo endotélio. Porém, ao pensar na aplicação prática de todos esses achados discutidos, os desfechos positivos sobre a função endotelial parecem ser obtidos com mais segurança mediante a progressão do treinamento, alternando sessões de MICT e HIIT.

## **6.6 Sobre os achados de peroxidação lipídica e atividade de enzimas antioxidantes vascular**

Primeiramente, ao discutir os achados dos biomarcadores de estresse oxidativo deve-se considerar que a aorta foi usada como uma ‘representante vascular’ para a análise desses marcadores. Essa abordagem foi usada por outro estudo que também analisou a função endotelial na rede microvascular e valeu-se da aorta para analisar a expressão de eNOS e iNOS (206). Embora a aorta seja um

vaso de condutância, assume-se que alterações biomoleculares nesse vaso possam ser similares àquelas de artérias musculares e arteríolas, sobretudo porque as alterações no endotélio tendem a ocorrer sistemicamente (5). Tal ideia se aplica tanto para o incremento no sistema antioxidante (que é esperado em resposta ao exercício), quanto para danos teciduais por estresse oxidativo (que é esperado em maior grau na obesidade).

Apesar de ter sido postulado um aumento da peroxidação lipídica vascular em animais de HS, não houve aumento dessa variável nesse grupo. Outro resultado interessante é que, os níveis de MDA aumentaram nos grupos CH e HH, assim como os níveis de GPX – indicando um efeito compensatório do sistema antioxidante nessa intensidade de treinamento. Além disso, animais de HM e HH mostraram valores maiores de atividade de enzima antioxidante em relação aos grupos CM e CH. Isto porque, quando a intensidade relativa é equivalente entre indivíduos obesos e eutróficos, os obesos exibem marcadores de estresse oxidativo aumentados em relação àqueles não obesos (117)

Segundo a literatura, todas essas respostas são passíveis de ocorrer (107,221–223), e os desfechos encontrados com o treinamento aeróbico ou dieta *high-fat* sobre o estresse oxidativo parecem ser um pouco controversos. Na verdade, os desfechos variam muito em função do tecido avaliado e do tipo de protocolo de treinamento utilizado (221,222,224), e tais variações parecem aumentar mais ainda quando as duas intervenções estão associadas (dieta *high-fat* + exercício).

Em tese, o sistema antioxidante trabalha de maneira coordenada com a produção de espécies reativas a fim de proteger o tecido de danos causados por processos oxidativos (36). Contudo, existe um tempo para que tais adaptações ocorram, e é possível que marcadores de danos encontrem-se aumentados mesmo após algumas semanas de exercício aeróbico (222). De um modo geral, a maioria dos estudos relaciona o exercício crônico à redução do estresse oxidativo, mas essas adaptações são tecido-dependente e podem ocorrer de maneira diversificada no organismo.

Essa ideia é corroborada pelos achados de Liu et al. (2000), que após 8 semanas de treinamento aeróbico intenso encontraram aumento de MDA em alguns tecidos (coração, músculo esquelético), e em outros não (fígado e cérebro) (222). Nesse estudo eles indicam que o exercício crônico intenso pode deixar ‘rastros’ de estresse oxidativo acumulado, e ter um efeito duplo; isto é, ao mesmo tempo em que

aumenta a formação de oxidantes e causa estresse oxidativo, também ativa enzimas antioxidantes atenuando esse efeito (222). Embora aquele estudo não tenha avaliado a aorta, é razoável pensar que tal efeito se estenda à essa artéria, o que confirmaria os resultados encontrados deste estudo. Seguindo essa linha, o aumento de MDA pode não ter sido deletério, e sim, refletir apenas uma adaptação benéfica onde defesas antioxidantes são ativadas para lidar com altas taxas de formação de ROS (225).

Embora CAT e SOD tenham exibido valores maiores após o HIIT (e até após o MICT), apenas a enzima GPX foi significativamente aumentada. Segundo Ji e colaboradores, a velocidade da síntese dessas enzimas pode diferir bastante à medida que elas lidam com o estresse oxidativo (225). Enquanto a atividade da SOD costuma ser constantemente maior e mais uniforme nos alguns tecidos, dismutando  $O_2^-$ , a GPX destrói produtos finais da peroxidação lipídica e normalmente tem sua atividade reduzida. Talvez isso explique porque apenas ela esteja expressivamente aumentada com o exercício, diferente do que foi visto em SOD ou CAT(225).

Ao revisar brevemente a literatura, esta Tese de Doutorado parece trazer achados originais quanto ao estresse oxidativo vascular em resposta ao MICT e ao HIIT, em modelo de obesidade. Ao que parece, os estudos que compararam HIIT e MICT sobre marcadores de estresse oxidativo o fizeram em outros tecidos, que não a aorta (226), ou não investigavam a obesidade dentro de suas propostas (227). Foi o caso de Lu et al. (2015), que comparou os efeitos de MICT e HIIT sobre marcadores de estresse oxidativo em miocárdio de ratos infartados. Naquele estudo, as duas intensidades de treinamento aumentaram os níveis de MDA em relação ao controle, mas também aumentaram GPX de forma compensatória (227). Em aorta, apenas dois estudos com roedores investigaram marcadores de estresse oxidativo em resposta ao treinamento. Um deles foi com ratos obesos; onde os autores encontraram maior atividade de todas as enzimas antioxidantes e redução de MDA após 8 semanas de treinamento (103). O outro foi com ratos com alterações cardiometabólicas; onde os autores encontraram aumento da expressão das antioxidantes após o treinamento vigoroso por 8 semanas, mas não estimaram MDA (215).

Ou seja, os achados podem variar bastante dependendo do tecido analisado, do protocolo de treinamento adotado, e do modelo fisiopatológico que se propõe investigar. Tudo isso dificulta comparações entre achados dos estudos, e isso tem

sido reportado por alguns autores também (221,222,228). Esse raciocínio também se aplica aos marcadores de estresse oxidativo em resposta à modelos experimentais de obesidade. Dependendo do tempo e do tipo da dieta, do modelo animal utilizado e do tecido analisado, diferenças podem ser encontradas nos desfechos. No presente estudo, esperava-se um aumento significativo de TBARS na aorta dos animais de HS em comparação à CS, mas essa resposta não se confirmou.

De acordo com Vicent e Taylor (2006), o aumento do estresse oxidativo é inerente à obesidade e origina de alterações metabólicas, endócrinas e da própria adiposidade excessiva. Os dados de tal estudo indicam que há redução da defesa antioxidante e aumento da formação de ROS, formando uma resposta cíclica de estresse oxidativo sistêmico (117). Contudo, ao analisar dados de modelo de obesidade em animais, existem divergências quanto ao padrão de resposta de TBARS/ MDA e de produção de ROS.

Por exemplo, um estudo com camundongos com severa obesidade, dislipidemia e resistência à insulina (onde se esperava severo dano vascular) não houve aumento da produção de  $H_2O_2$  apenas em tecido adiposo, mas não em aorta (229). Outros dois estudos que analisaram estresse oxidativo num mesmo tipo de tecido na obesidade, encontraram divergências quanto à resposta de TBARS: um deles encontrou aumento após 13 semanas de dieta *high-fat* (224), enquanto o outro não viu qualquer alteração após 17 semanas de intervenção (226).

Tendo em mente os achados do presente estudo e aqueles da literatura, os marcadores de estresse oxidativo investigados nas condições 'exercício/obesidade' parecem simplesmente refletir alterações no equilíbrio redox, e não alterações teciduais vasculares propriamente dito. Em outras palavras, o fato de ter encontrado aumento de MDA vascular com o treinamento intenso pode simplesmente refletir alterações redox e respostas adaptativas celulares ao aumento da produção de ROS; assim como a ausência de aumento de MDA com a dieta hiperlipídica pode não isentar totalmente os animais de HS de um prognóstico fisiopatológico vascular ruim.

Essa ideia é corroborada pelo estudo de Brandes, Rezende e Schröder (2018), onde os autores recomendaram analisar alvos moleculares específicos ao investigar quadros fisiopatológicos, em vez de medir globalmente ROS e estresse oxidativo. Isto porque, qualquer interferência no estado redox (seja pela doença, ou

pelo exercício) irá resultar em mudanças compensatórias para neutralizá-las, e que ROS e estresse oxidativo parecem sinalizar esses processos apenas, sem exercer realmente um papel de 'causador' de efeitos deletérios no organismo (230).

Analisar em conjunto os resultados de estresse oxidativo na aorta com aqueles de função endotelial microvascular em diferentes tecidos parece ser importante para 'encaixar as peças' e formar um panorama vascular sobre os efeitos de MICT e HIIT na obesidade. As considerações finais sobre todos achados discutidos nesta Tese estão na próxima seção.

## CONCLUSÃO

As seguintes conclusões podem ser enunciadas com base nos resultados da presente Tese de Doutorado:

- a) O gasto calórico das sessões de treinamento *per se* foi suficiente para melhorar a reatividade microvascular no contexto da obesidade, e tudo indica que adaptações benéficas sobre função endotelial nesse caso, não dependem necessariamente da alta intensidade para acontecer;
- b) Ambos MICT e HIIT produzem efeitos locais e sistêmicos similares sobre a função endotelial, considerando que não houve distinção na resposta vasodilatadora entre sítios musculares recrutados e não recrutados pelo exercício dos animais avaliados;
- c) Não se confirmou quaisquer prejuízos com o HIIT sobre a reatividade microvascular, e o aumento do estresse oxidativo induzido por esse protocolo de treinamento não parece ser deletério para a vasculatura, mostrando que HIIT e MICT são alternativas válidas para induzir desfechos benéficos sobre diversos marcadores de risco cardiometabólicos, sobretudo na função endotelial.

Sugere-se a realização de estudos adicionais que investiguem o perfil inflamatório e o estresse oxidativo, de forma conjunta, a fim de elucidar os mecanismos pelos quais HIIT e MICT promovem efeitos benéficos vasculares no contexto da obesidade. Também seriam bem-vindos estudos translacionais que investigassem os efeitos à longo prazo de MICT e HIIT sobre a função endotelial em indivíduos obesos. Não se sabe se os benefícios vasculares obtidos com MICT e HIIT realmente se mantêm ao longo de meses de treinamento.

## REFERÊNCIAS

1. Irving B a., Davis CK, Brock DW, Weltman JY, Swift D, Barrett EJ, et al. Effect of exercise training intensity on abdominal visceral fat and body composition. *Med Sci Sports Exerc.* 2008;40(11):1863–72.
2. Trapp E, Heydari M, Freund J, Boutcher SH. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *Int J Obes.* 2008;32(4):684–91.
3. Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes JB, Skomedal T, Wisløff U, et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: A pilot study. *Circulation.* 2008;118(4):161–72.
4. Huang AL, Silver AE, Shvenke E, Schopfer DW, Jahangir E, Titas MA, et al. Predictive value of reactive hyperemia for cardiovascular events in patients with peripheral arterial disease undergoing vascular surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(10):2113–9.
5. das Gracas Coelho de Souza M, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Inflammation-induced microvascular dysfunction in obesity - A translational approach. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016;64(4):645–54.
6. Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature.* 2006;444(7121):875–80.
7. Boillot A, Zoungas S, Mitchell P, Klein R, Klein B, Ikram MK, et al. Obesity and the Microvasculature: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2013;8(2).
8. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol.* Nature Publishing Group; 2011;11(2):85–97.
9. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med.* 2008;44(2):126–31.
10. Ribeiro F, Alves AJ, Duarte JA, Oliveira J. Is exercise training an effective therapy targeting endothelial dysfunction and vascular wall inflammation? Vol. 141, *International Journal of Cardiology.* 2010. p. 214–21.
11. Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee IM, et al. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sport Exerc.* 2011;43(7):1334–59.

12. Huang C, Mcallister MJ, Slusher AL, Webb HE, Mock JT, Acevedo EO. Obesity-Related Oxidative Stress : the Impact of Physical Activity and Diet Manipulation. *Sport Med - Open. Sports Medicine - Open*; 2015;1–12.
13. Dawson EA, Green DJ, Cable NT, Thijssen DH. Effects of acute exercise on flow-mediated dilatation in healthy humans. *J Appl Physiol*. 2013;115(11):1589–98.
14. Kemmler W, Scharf M, Lell M, Petrasek C, von Stengel S. High versus moderate intensity running exercise to impact cardiometabolic risk factors: the randomized controlled RUSH-study. *Biomed Res Int*. 2014;2014:843095.
15. Martins C, Kazakova I, Ludviksen M, Mehus I, Wisloff U, Kulseng B, et al. High-Intensity Interval Training and Isocaloric Moderate-Intensity Continuous Training Result in Similar Improvements in Body Composition and Fitness in Obese Individuals Continuous Training. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2016;26:197–204.
16. Krause M, Rodrigues J, Ciara K, Paul OH, Davison G, Susta D, et al. The effects of aerobic exercise training at two different intensities in obesity and type 2 diabetes : implications for oxidative stress , low - grade inflammation and nitric oxide production. 2014;251–60.
17. Johnson BD, Padilla J, Wallace JP. The exercise dose affects oxidative stress and brachial artery flow-mediated dilation in trained men. *Eur J Appl Physiol*. 2012;112(1):33–42.
18. Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, et al. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: Role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation*. 2003;108(5):530–5.
19. Pingitore A, Lima G, Mastorci F, Quinones A, Iervasi G, Vassalle C. Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. *Nutrition*. 2015;31:916–22.
20. Bedard K, Krause K-H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*. 2007;87(1):245–313.
21. Organization WH. The Asia-Pacific perspective: redefining obesity and its treatment. Geneva, Switzerland: World Health Organization. 2000. p. 56.
22. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, Mullany EC, Biryukov S, Abbafati C, Abera SF, Abraham JP, Abu-Rmeileh NM, Achoki T, AlBuhairan FS, Alemu ZA, Alfonso R, Ali MK, Ali R, Guzman NA, Ammar W, Anwari P, Banerjee A, Barquera S, Basu GE. Europe PMC Funders Group Global , regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults 1980-2013 : A systematic analysis. *Lancet*. 2015;384(9945):766–81.
23. Haslam D, James P. Obesity. *Lancet*. 2005;366(9492):1197–209.

24. Abarca-Gómez L, Abdeen ZA, Hamid ZA, Abu-Rmeileh NM, Acosta-Cazares B, Acuin C, et al. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017;390(10113):2627–42.
25. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2005;96(9):939–49.
26. Montani JP, Antic V, Yang Z, Dulloo A. Pathways from obesity to hypertension: From the perspective of a vicious triangle. *Int J Obes*. 2002;26(October 2002):S28–38.
27. Villela NR, Kramer-aguiar LG. Linked To Obesity : the Role of. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2009;43(2).
28. Tesouro M, Cardillo C. Obesity, blood vessels and metabolic syndrome. *Acta Physiol*. 2011;203(1):279–86.
29. Sax FL, Cannon RO, Hanson C, Epstein SE. Impaired forearm vasodilator reserve in patients with microvascular angina. Evidence of a generalized disorder of vascular function? *N Engl J Med*. 1987 Nov 26;317(22):1366–70.
30. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002;420(12):868–74.
31. Rosa EC. Obesidade Visceral, Hipertensão Arterial e Risco Cárdio-Renal: Uma Revisão. 2005;49(1).
32. Rahmouni K, Correia MLG, Haynes WG, Mark AL. Obesity-associated hypertension: New insights into mechanisms. *Hypertension*. 2005;45(1):9–14.
33. Tchernof A, Despres J-P. Pathophysiology of Human Visceral Obesity: An Update. *Physiol Rev*. 2013;93(1):359–404.
34. Schneider C, Oliveira A. Radicais livrações de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Rev Bras Med do Esporte*. 2004;10(4):308–13.
35. Martelli F, Nunes FMF. Radicais livres: em busca do equilíbrio. *Cienc Cult*. 2014;66(3):54–7.
36. Powers S, Jackson M. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*. 2008;88(4):1243–76.
37. Ferreira, A.L.A.; Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Medicina (B Aires)*. 1997;43(1):61–8.
38. Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova*. 2006;29(1):113–23.

39. Wingler K, Hermans J, Schiffers P, Moens A, Paul M, Schmidt H. NOX 1, 2, 4, 5: counting out oxidative stress. *Br J Pharmacol*. 2011;164:866–83.
40. Bouskela E, Bottino D, Wiernsperger N. Microcirculation: Structural and functional specificities. In: Wiernsperger N, editor. *Microcirculation and Insulin Resistance*. Bentham Sciences; 2009. p. 1–13.
41. Guyton A, Hall J. *Tratado de Fisiologia Médica*. 11th ed. Rio de Janeiro: Elsevier Academic Press; 2006. 1128 p.
42. Serne E, Meijer R, Boer M, Jongh R, IJzerman R, Bakker W, et al. Microvascular Dysfunction: Potential Role in the Pathogenesis of Obesity-Associated Hypertension and Insulin Resistance. In: Wiernsperger N, editor. *Microcirculation and Insulin Resistance*. Bentham Sciences; 2009. p. 41–54.
43. Aires M de M. *Fisiologia Cardiovascular*. In: Aires M de M, editor. *Fisiologia*. 4th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2012. p. 1352.
44. Sugihara-Seki M, Fu BM. Blood flow and permeability in microvessels. *Fluid Dyn Res*. 2005;37:82–132.
45. Pittman RN. Oxygen gradients in the microcirculation. *Acta Physiol (Oxf)*. 2011;202(3):311–22.
46. Felizzola, LR; Sobrinho, JRR; Zorn, WGW; Van Belien B. O papel do endotélio vascular na fisiologia circulatória. *Cir Vasc Angiol*. 1996;12:129–36.
47. Newcomer SC, Thijssen DHJ, Green DJ. Effects of exercise on endothelium and endothelium/smooth muscle cross talk: role of exercise-induced hemodynamics. *J Appl Physiol*. 2011;111:311–20.
48. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115(10):1285–95.
49. Barton M, Baretella O, Meyer MR. Obesity and risk of vascular disease: Importance of endothelium-dependent vasoconstriction. *Br J Pharmacol*. 2012;165(3):591–602.
50. Loscalzo J. Endothelial injury, vasoconstriction, and its prevention. *Tex Heart Inst J*. 1995;22(2):180–4.
51. Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, Van Zandvoort MAMJ, Oude Egbrink MGA. The endothelial glycocalyx: Composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch Eur J Physiol*. 2007;454(3):345–59.
52. Popel A, Johnson P. Microcirculation and Hemorheology. *Annu Rev Fluid Mech*. 2005;37:43–69.
53. Gouverneur M, Van Den Berg B, Nieuwdorp M, Stroes E, Vink H. Vasculoprotective properties of the endothelial glycocalyx: Effects of fluid shear stress. *J Intern Med*. 2006;259(4):393–400.

54. Marshall JM. The influence of the sympathetic nervous system on individual vessels of the microcirculation of skeletal muscle of the rat. *J Physiol.* 1982;332(1):169–86.
55. Burnstock G. Release of vasoactive substances from endothelial cells by shear stress and purinergic mechanosensory transduction. *J Anat.* 1999;194(3):335–42.
56. McAllister RM, Newcomer SC, Laughlin MH. Vascular nitric oxide: effects of exercise training in animals. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2008;33(1):173–8.
57. Schreuder THA, Green DJ, Hopman MTE, Thijssen DHJ. Acute impact of retrograde shear rate on brachial and superficial femoral artery flow-mediated dilation in humans. *Physiol Rep.* 2014;2(1):1–8.
58. Moncada S. Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. *J R Soc Med.* 1999;92(4):164–9.
59. Félétou M, Köhler R, Vanhoutte PM. Endothelium-derived vasoactive factors and hypertension: Possible roles in pathogenesis and as treatment targets. *Curr Hypertens Rep.* 2010;12(4):267–75.
60. Rogers SC. The Significance of a Nitric Oxide Reserve and its Utilisation in the Human Circulation. Cardiff University; 2006.
61. Félétou M, Vanhoutte PM. Endothelium-derived hyperpolarizing factor: Where are we now? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(6):1215–25.
62. Dawson EA, Alkarmi A, Thijssen DHJ, Rathore S, Marsman DE, Timothy Cable N, et al. Low-flow mediated constriction is endothelium-dependent: Effects of exercise training after radial artery catheterization. *Circ Cardiovasc Interv.* 2012;5(5):713–9.
63. Son SM. Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Pathogenesis of Vascular Complications of Diabetes. *Diabetes Metab J.* 2012;36(3):190.
64. Wiernsperger N, Nivoit P, Bouskela E. Microcirculation in obesity: An unexplored domain. *An Acad Bras Cienc.* 2007;79(4):617–38.
65. De Souza M das GC, Bouskela E. Arteriolar diameter and spontaneous vasomotion: Importance of potassium channels and nitric oxide. *Microvasc Res.* 2013;
66. Ursino M, Cavalcanti S, Bertuglia S, Colantuoni A. Theoretical analysis of complex oscillations in multibranched microvascular networks. *Microvasc Res.* 1996 Mar;51(2):229–49.
67. Bertuglia S, Colantuoni A, Coppini G, Intaglietta M. Hypoxia- or hyperoxia-induced changes in arteriolar vasomotion in skeletal muscle microcirculation. *Am J Physiol.* 1991 Feb;260(2 Pt 2):H362-72.

68. Bouskela E, Grammp W. Spontaneous vasomotion in hamster cheek pouch arterioles in varying experimental conditions. *Am J Physiol.* 1992;262(2):H478–85.
69. Abularrage CJ, Sidawy AN, Aidinian G, Singh N, Weiswasser JM, Arora S. Evaluation of the microcirculation in vascular disease. *J Vasc Surg.* 2005;42(3):574–81.
70. Allen J, Howell K. Microvascular imaging: Techniques and opportunities for clinical physiological measurements. *Physiol Meas.* 2014;35(7).
71. Bahia L, Aguiar LG, Villela N, Bottino D, Godoy-Matos AF, Geloneze B, et al. Relationship between adipokines, inflammation, and vascular reactivity in lean controls and obese subjects with metabolic syndrome. *Clinics.* 2006;61(5):433–40.
72. Willians C, James D, Wilson C. *Mathematics and Science for exercise and sports.* New York: Routledge; 2008. 39,44-46.
73. Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS. Ultrasound Assessment of Flow-Mediated Dilatation. *Hypertension.* 2010;55(5):1075–85.
74. Wilson RF. Assessment of the human coronary circulation using a doppler catheter. *Am J Cardiol. Excerpta Medica;* 1991 May 21;67(14):44D–56D.
75. Xiang L, Naik J, Hester RL. Exercise-induced increase in skeletal muscle vasodilatory responses in obese Zucker rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;288(4):R987-91.
76. Storch AS, Mattos JD De, Alves R, Galdino S, Naly H, Rocha M. Methods of Endothelial Function Assessment : Description and Applications. 2017;30(3):262–73.
77. Briers D. Laser Doppler , speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging Laser Doppler , speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging. *Physiol Meas.* 2001;22:R35–66.
78. Gustafsson F, Holstein-Rathlou NH. Conducted vasomotor responses in arterioles: Characteristics, mechanisms and physiological significance. *Acta Physiol Scand.* 1999;167(1):11–21.
79. Marques-neto S, Castiglione R, Pontes A, Oliveira D, Ferraz E, Nascimento JH, et al. Effects of Incretin-Based Therapies on Neuro- Cardiovascular Dynamic Changes Induced by High Fat Diet in Rats. *PLoS One.* 2016;11(2):1–15.
80. Baez S. An open cremaster muscle preparation for the study of blood vessels by in vivo microscopy. *Microvasc Res.* 1973;5(3):384–94.
81. Leite R, Kraemer-Aguiar L, Boa B, Cyrino F, Nivoit P, Bouskela E. Muscle endothelial-dependent microvascular dysfunction in adulthood due to early postnatal overnutrition . *Microvasc Res.* 2012;84:94–8.

82. Bouskela E, Cyrino F, Wiernsperger N. Effects of Insulin and the combination of Insulin plus Metformin (Glucophage) on microvascular reactivity in control and diabetic hamsters. *Angiology*. 1997;48(6):503–14.
83. Panazzolo DG, Silva LHA Da, Cyrino FZGDA, Sicuro FL, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Gender differences in microcirculation: observation using the hamster cheek pouch. *Clinics (Sao Paulo)*. 2013;68(12):1537–42.
84. Zguira MS, Vincent S, Le Douairon Lahaye S, Malarde L, Tabka Z, Saiag B. Intense exercise training is not effective to restore the endothelial NO-dependent relaxation in STZ-diabetic rat aorta. *Cardiovasc Diabetol*. 2013;12:32.
85. Padilla J, Simmons GH, Bender SB, Arce-Esquivel AA, Whyte JJ, Laughlin MH. Vascular effects of exercise: endothelial adaptations beyond active muscle beds. *Physiology (Bethesda)*. 2011;26(3):132–45.
86. Moreau P, D'Uscio L V., Lüscher TF. Structure and reactivity of small arteries in aging. *Cardiovasc Res*. 1998;37(1):247–53.
87. Roseguini B, Davis M, Laughlin MH. Rapid vasodilation in isolated skeletal muscle arterioles: impact of branch order. *Microcirculation*. 2010;17(2):83–93.
88. Hadi H, Carr CS, Al Suwaidi J. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. *Vasc Health Risk Manag*. 2005;1(3):183–98.
89. Noon JP, Walker BR, Webb DJ, Shore AC, Holton DW, Edwards H V., et al. Impaired microvascular dilatation and capillary rarefaction in young adults with a predisposition to high blood pressure. *J Clin Invest*. 1997;99(8):1873–9.
90. Tahergorabi Z, Khazaei M. The Relationship Between Inflammatory Biomarkers and. *ARYA Atheroscler*. 2013;9(4):247–53.
91. Boden G, Homko C, Barrero CA, Stein TP, Chen X, Cheung P, et al. Excessive caloric intake acutely causes oxidative stress, GLUT4 carbonylation, and insulin resistance in healthy men. *Sci Transl Med. NIH Public Access*; 2015 Sep 9;7(304):304re7.
92. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115(5):911–20.
93. Petersen AMW, Pedersen BK. The role of IL-6 in mediating the anti-inflammatory effects of exercise. *J Physiol Pharmacol*. 2006;57(SUPPL. 10):43–51.
94. Powers S, Howley E. *Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e desempenho*. São Paulo: Manole; 2009. 646 p.
95. MacLaren D, Morton JP. *Biochemistry for sport and exercise metabolism*. West Sussex: Wiley-BlackWell; 2012. 249 p.

96. Buchheit M, Laursen PB. High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle: Part II: Anaerobic energy, neuromuscular load and practical applications. *Sport Med*. 2013;43(10):927–54.
97. Roxburgh BH, Nolan PB, Weatherwax RM, Dalleck LC. Is moderate intensity exercise training combined with high intensity interval training more effective at improving cardiorespiratory fitness than moderate intensity exercise training alone? *J Sports Sci Med*. 2014;13(3):702–7.
98. O'Donovan G, Owen A, Bird SR, Kearney EM, Nevill AM, Jones DW, et al. Changes in cardiorespiratory fitness and coronary heart disease risk factors following 24 wk of moderate- or high-intensity exercise of equal energy cost. *J Appl Physiol*. 2005;98(5):1619–25.
99. Sawyer BJ, Tucker WJ, Bhammar DM, Ryder JR, Sweazea KL, Gaesser GA. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on endothelial function and cardiometabolic risk markers in obese adults. *J Appl Physiol*. 2016;121(1):279–88.
100. Moholdt T, Madssen E, Rognmo O, Aamot IL. The higher the better? Interval training intensity in coronary heart disease. *J Sci Med Sport*. 2013;
101. Paes LS, Borges JP, Cunha FA, Souza MGC, Cyrino FZGA, Bottino DA, et al. Oxygen uptake, respiratory exchange ratio, or total distance: a comparison of methods to equalize exercise volume in Wistar rats. *Brazilian J Med Biol Res*. 2016;49(8):1–8.
102. Cunha FA, Catalao RP, Midgley AW, Gurgel J, Porto F, Farinatti PT. Do the speeds defined by the American College of Sports Medicine metabolic equation for running produce target energy expenditures during isocaloric exercise bouts? *Eur J Appl Physiol*. 2011;112(8):3019–26.
103. Barbosa VA, Luciano TF, Vitto MF, Cesconetto PA, Marques SO, Souza DR, et al. Exercise training plays cardioprotection through the oxidative stress reduction in obese rats submitted to myocardial infarction. *Int J Cardiol*. Elsevier Ireland Ltd; 2012;157(3):422–4.
104. Fallahi A, Gaeini A, Shekarfroush S, Khoshbaten A. Cardioprotective Effect of High Intensity Interval Training and Nitric Oxide Metabolites ( NO 2- , NO 3- ). *Iran J Public Heal*. 2015;44(9):1270–6.
105. Baker JS, Davies B. Evidence for Oxidative Stress Damage Following High Intensity Anaerobic Performance. *Open Sport Med J*. 2008;(March):9–13.
106. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu FK, Ji LL, et al. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am J Physiol*. 1993;265(6 Pt 2):H2094-8.
107. Powers SK, Lennon SL. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc*. 1999;58(4):1025–33.

108. Lennon SL, Quindry JC, French JP, Kim S, Mehta JL, Powers SK. Exercise and myocardial tolerance to ischaemia-reperfusion. *Acta Physiol Scand*. 2004;182(2):161–9.
109. Kojda G, Hambrecht R. Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise . Physical activity as an effective antioxidant therapy ? 2005;67:187–97.
110. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T. Cardiovascular Events in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation*. 2001;104:2673–8.
111. Son Y, Kim K, Jeon S, Kang M, Lee S, Park Y. Effect of Exercise Intervention on Flow-Mediated Dilation in Overweight and Obese Adults: Meta-Analysis. *Int J Vasc Med*. 2017;2017.
112. Machado MV, Vieira AB, da Conceição FG, Nascimento AR, da Nóbrega ACL, Tibirica E. Exercise training dose differentially alters muscle and heart capillary density and metabolic functions in an obese rat with metabolic syndrome. *Exp Physiol*. 2017 Dec 1;102(12):1716–28.
113. Favor JD La, Dubis GS, Yan H, White JD, Nelson MAM, Anderson EJ, et al. Microvascular Endothelial Dysfunction in Sedentary, Obese Humans is mediated by NADPH Oxidase; Influence of Exercise Training. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36(12):2412–20.
114. Vinet A, Karpoff L, Walther G, Startun A, Obert P, Goret L, et al. Vascular reactivity at rest and during exercise in middle-aged obese men: Effects of short-term, low-intensity, exercise training. *Int J Obes*. Nature Publishing Group; 2011;35(6):820–8.
115. Boyle LJ, Credeur DP, Jenkins NT, Padilla J, Leidy HJ, Thyfault JP, et al. Impact of reduced daily physical activity on conduit artery flow-mediated dilation and circulating endothelial microparticles. *J Appl Physiol*. 2013;115(10):1519–25.
116. Frisbee JC, Samora JB, Peterson J, Bryner R. Exercise training blunts microvascular rarefaction in the metabolic syndrome. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Nov;291(5):H2483-92.
117. Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes*. 2006;30(3):400–18.
118. Stapleton PA, James ME, Goodwill AG, Frisbee JC. Obesity and vascular dysfunction. *Pathophysiology*. 2008;15(2):79–89.
119. Buettner R, High-fat LCB. High-fat Diets : Modeling the Metabolic Disorders of Human Obesity in Rodents. 2007;15(4).
120. Martire SI, Holmes N, Westbrook RF, Morris MJ. Altered feeding patterns in rats exposed to a palatable cafeteria diet: increased snacking and its implications for development of obesity. *PLoS One*. Public Library of Science; 2013;8(4):e60407.

121. Freitas K de C, Amancio OMS, de Morais MB. High-performance inulin and oligofructose prebiotics increase the intestinal absorption of iron in rats with iron deficiency anaemia during the growth phase. *Br J Nutr.* 2012 Sep 28;108(6):1008–16.
122. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren M V, Irigoyen M-C, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol.* 2007 Jan;6:38.
123. Katch VL, Martin R, Martin J. Effects of exercise intensity on food consumption in the male rat. *Am J Clin Nutr.* 1979;32(7):1401–7.
124. Bertin E, Ruiz J-C, Mourot J, Peiniau P, Portha B. Evaluation of dual-energy x-ray absorptiometry for body composition assessment in rats. *J Nutr.* 1998;128(9):1550–4.
125. Bagher P, Segal SS. The mouse cremaster muscle preparation for intravital imaging of the microcirculation. *J Vis Exp.* 2011;(52):2–7.
126. Svensjö E. The Hamster Cheek Pouch as a Research Model of Inflammation. In: Sefro D, editor. *Microvascular Research: Biology and Pathology.* Elsevier; 2005.
127. Greco A, Ragucci M, Liuzzi R, Gargiulo S, Gramanzini M, Coda A, et al. Repeatability, Reproducibility and Standardisation of a Laser Doppler Imaging Technique for the Evaluation of Normal Mouse Hindlimb Perfusion. *Sensors.* 2012;13(1):500–15.
128. Eriksson S, Nilsson J, Stureson C. Non-invasive imaging of microcirculation: A technology review. *Med Devices Evid Res.* 2014;7:445–52.
129. Hebel R, Stromberg M. *Anatomy of the Laboratory Rat.* Baltimore: The Williams & Wilkins Company; 1976. 173 p.
130. Durrant JR, Seals DR, Connell ML, Russell MJ, Lawson BR, Folian BJ, et al. Voluntary wheel running restores endothelial function in conduit arteries of old mice: direct evidence for reduced oxidative stress, increased superoxide dismutase activity and down-regulation of NADPH oxidase. *J Physiol.* 2009;587(Pt 13):3271–85.
131. Friedewald W, Levy R, Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18:499–502.
132. Draper HH, Squires EJ, Mahmoodi H, Wu J, Agarwal S, Hadley M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radic Biol Med.* 1993;15(4):353–63.

133. Li X. Improved pyrogallol autoxidation method: A reliable and cheap superoxide-scavenging assay suitable for all antioxidants. *J Agric Food Chem.* 2012;60(25):6418–24.
134. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.* 1974;47(3):469–74.
135. Paglia D, Valentine W. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967;70(1):158–69.
136. Gibala MJ. Interval Training for Cardiometabolic Health: Why Such A HIIT? *Curr Sports Med Rep.* 2018;17(5):148–50.
137. MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *J Physiol.* 2017;595(9):2915–30.
138. Swain DP. Moderate or vigorous intensity exercise: which is better for improving aerobic fitness? *Prev Cardiol.* 2005;8(1):55–8.
139. Buchan DS, Ollis S, Young JD, Cooper S-M, Shield JPH, Baker JS. High intensity interval running enhances measures of physical fitness but not metabolic measures of cardiovascular disease risk in healthy adolescents. *BMC Public Health.* *BMC Public Health*; 2013;13(1):498.
140. Bartlett JD, Hwa Joo C, Jeong T-S, Louhelainen J, Cochran a. J, Gibala MJ, et al. Matched work high-intensity interval and continuous running induce similar increases in PGC-1 mRNA, AMPK, p38, and p53 phosphorylation in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2012;112(7):1135–43.
141. Sattelmair J, Pertman J, Ding EL, Kohl HW, Haskell W, Lee IM. Dose response between physical activity and risk of coronary heart disease: A meta-analysis. Vol. 124, *Circulation.* 2011. p. 789–95.
142. Tjønnå AE, Leinan IM, Bartnes AT, Jenssen BM, Gibala MJ, Winett RA, et al. Low- and High-Volume of Intensive Endurance Training Significantly Improves Maximal Oxygen Uptake after 10- Weeks of Training in Healthy Men. 2013;8(5):1–7.
143. Wewege M, van den Berg R, Ward RE, Keech A. The effects of high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training on body composition in overweight and obese adults: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2017;18(6):635–46.
144. Pavey TG, Peeters G, Bauman AE, Brown WJ. Does vigorous physical activity provide additional benefits beyond those of moderate? *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45(10):1948–55.
145. Mediano M, Pinto V, Mendes F, Silva G, Sousa A. Vigorous exercise in clinical practice: balancing risks and benefits. *Med Sci Sport Exerc.* 2014;46(5):1053.

146. Nilsson C, Raun K, Yan F, Larsen MO, Tang-christensen M. Laboratory animals as surrogate models of human obesity. *Acta Pharmacol Sin. Nature Publishing Group*; 2012;33(2):173–81.
147. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev.* 2010;23(May):270–99.
148. Kretschmer BD, Schelling P, Beier N, Liebscher C, Treutel S, Kr N, et al. Modulatory role of food , feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. 2005;76:1553–73.
149. Marques C, Meireles M, Norberto S, Leite J, Pestana D, Faria A, et al. High-fat diet-induced obesity Rat model : a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte. Taylor & Francis*; 2016;5(1):11–21.
150. Tófolo LP, da Silva Ribeiro TA, Malta A, Miranda RA, Gomes RM, de Oliveira JC, et al. Short-term moderate exercise provides long-lasting protective effects against metabolic dysfunction in rats fed a high-fat diet. *Eur J Nutr.* 2015;54(8):1353–62.
151. Rose BS, Flatt WP, Martin RJ, Lewis RD. Whole body composition of rats determined by dual energy X-ray absorptiometry is correlated with chemical analysis. *J Nutr.* 1998;128(2):246–50.
152. Kinzig KP, Taylor RJ. Maintenance on a ketogenic diet: Voluntary exercise, adiposity and neuroendocrine effects. *Int J Obes. Nature Publishing Group*; 2009;33(8):824–30.
153. Beck B. Neuropeptide Y in normal eating and in genetic and dietary-induced obesity. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2006;361(1471):1159–85.
154. Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Schölmerich J, et al. Defining high-fat-diet rat models: Metabolic and molecular effects of different fat types. *J Mol Endocrinol.* 2006;36(3):485–501.
155. Warwick ZS, Weingarten HP. Determinants of high-fat diet hyperphagia: experimental dissection of orosensory and postingestive effects. *Am J Physiol Integr Comp Physiol.* 1995 Jul;269(1):R30–7.
156. Unger RH. Minireview: Weapons of Lean Body Mass Destruction: The Role of Ectopic Lipids in the Metabolic Syndrome. *Endocrinology.* 2003;144(12):5159–65.
157. Shao A, Campbell WW, Chen CYO, Mittendorfer B, Rivas DA, Griffiths JC. The emerging global phenomenon of sarcopenic obesity: Role of functional foods; a conference report. *J Funct Foods. The Authors*; 2017;33:244–50.
158. Després J, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature.* 2006;444:881–7.
159. Shapira JF, Kircher I, Martin RJ. Indices of skeletal muscle growth in lean and obese Zucker rats. *J Nutr.* 1980;110(7):1313–8.

160. Miller CN, Kauffman TG, Cooney PT, Ramseur KR, Lynda M. Body Mass in Adult Rats. 2012;103(1):117–21.
161. Kemp JG, Blazev R, Stephenson DG, Stephenson GMM. Morphological and biochemical alterations of skeletal muscles from the genetically obese ( ob / ob ) mouse. *Int J Obes. Nature Publishing Group*; 2009;33(8):831–41.
162. Corcoran MP, Lamon-fava S, Fielding RA. Skeletal muscle lipid deposition and insulin resistance : effect of dietary fatty acids and exercise 1 – 3. 2007;662–77.
163. Degens H. The role of systemic inflammation in age-related muscle weakness and wasting. 2010;28–38.
164. Pedersen BK, Febbraio M a. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. Vol. 8, *Nature Reviews Endocrinology*. 2012. p. 457–65.
165. Gollisch KSC, Brandauer J, Jessen N, Toyoda T, Nayer A, Hirshman MF, et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;8(8):457–65.
166. Levin BE, Dunn-Meynell A a. Chronic exercise lowers the defended body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004 Apr;286(4):R771-8.
167. Levin BE, Dunn-meynell AA. Differential effects of exercise on body weight gain and adiposity in obesity-prone and -resistant rats. *Int J Obes*. 2006;(January):722–7.
168. Cortez MY, Torgan CE, Brozinick JT, Ivy JL. Insulin resistance of obese Zucker rats exercise trained at two different intensities. *Am J Physiol Metab*. 1991 Nov;261(5):E613–9.
169. Zhang H, Tong TK, Qiu W, Zhang X, Zhou S, Liu Y, et al. Comparable Effects of High-Intensity Interval Training and Prolonged Continuous Exercise Training on Abdominal Visceral Fat Reduction in Obese Young Women. *J Diabetes Res. Hindawi Publishing Corporation*; 2017;2017.
170. Wackerhage H. *Molecular exercise physiology: an introduction*. Routledge; 2014. 323 p.
171. Andreato L V., Esteves J V., Coimbra DR, Moraes AJP, Carvalho T. The influence of high-intensity interval training on anthropometric variables of adults with overweight or obesity: a systematic review and network meta-analysis. *Obes Rev. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111)*; 2019 Jan 18;20(1):142–55.
172. Sakurai T, Ogasawara J, Kizaki T, Sato S, Ishibashi Y, Takahashi M, et al. The effects of exercise training on obesity-induced dysregulated expression of adipokines in white adipose tissue. *Int J Endocrinol*. 2013;2013.

173. Hocking S, Samocha-Bonet D, Milner K-L, Greenfield JR, Chisholm DJ. Adiposity and Insulin Resistance in Humans: The Role of the Different Tissue and Cellular Lipid Depots. *Endocr Rev.* 2013 Apr 2;(C):1–38.
174. Weston KS, Wisløff U, Coombes JS. High-intensity interval training in patients with lifestyle-induced cardiometabolic disease: A systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med.* 2014;48(16):1227–34.
175. Moreira JB, Bechara LR, Bozi LH, Jannig PR, Monteiro AW, Dourado PM, et al. High- versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. *J Appl Physiol.* 2013;114(8):1029–41.
176. Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MOØ, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovasc Res.* 2009 Mar 1;81(4):723–32.
177. Norman A-C, Drinkard B, McDuffie JR, Ghorbani S, Yanoff LB, Yanovski JA. Influence of excess adiposity on exercise fitness and performance in overweight children and adolescents. *Pediatrics.* NIH Public Access; 2005 Jun;115(6):e690-6.
178. Borsheim E, Bahr R. Effect of exercise intensity, duration and mode on post-exercise oxygen consumption. *Sport Med.* 2003;33(14):1037–60.
179. Gaesser, G., & Brooks G. Metabolic bases of excess post-exercise oxygen consumption: a review. Vol. 16, *Medicine & Science in Sports & Exercise.* 1984. p. 29–43.
180. Midgley AW, McNaughton LR, Wilkinson M. Is there an Optimal Training Intensity for Enhancing the Maximal Oxygen Uptake of Distance Runners? *Sport Med.* 2006;36(2):117–32.
181. Gormley SE, Swain DP, High R, Spina RJ, Dowling EA, Kotipalli US, et al. Effect of intensity of aerobic training on VO<sub>2</sub>max. *Med Sci Sport Exerc.* 2008;40(7):1336–43.
182. Patch LD, Brooks GA. Effects of training on VO<sub>2</sub> max and VO<sub>2</sub> during two running intensities in rats. *Pflugers Arch.* 1980;386(3):215–9.
183. Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MO, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovasc Res.* 2009;81(4):723–32.
184. Wisloff U, Stoylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Rognmo O, Haram PM, et al. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients: a randomized study. *Circulation.* 2007;115(24):3086–94.

185. Cocks M, Shaw CS, Shepherd SO, Fisher JP, Ranasinghe AM, Barker TA, et al. Sprint interval and endurance training are equally effective in increasing muscle microvascular density and eNOS content in sedentary males. *J Physiol.* 2013;591(3):641–56.
186. Iemitsu M. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *AJP Hear Circ Physiol.* 2006;291(3):H1290–8.
187. McGuinness OP, Ayala JE, Laughlin MR, Wasserman DH. NIH experiment in centralized mouse phenotyping: the Vanderbilt experience and recommendations for evaluating glucose homeostasis in the mouse. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009 Oct;297(4):E849-55.
188. Machado MV, Vieira AB, da Conceição FG, Nascimento AR, da Nóbrega ACL, Tibirica E. Exercise training dose differentially alters muscle and heart capillary density and metabolic functions in an obese rat with metabolic syndrome. *Exp Physiol.* 2017 Dec 1;102(12):1716–28.
189. Batacan RB, Duncan MJ, Dalbo VJ, Tucker PS, Fenning AS. Effects of high-intensity interval training on cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of intervention studies. *Br J Sports Med.* 2017 Mar;51(6):494–503.
190. Shirvani H, Arabzadeh E. Metabolic cross-talk between skeletal muscle and adipose tissue in high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training by regulation of PGC-1 $\alpha$ . *Eat Weight Disord.* 2018 Feb 26;
191. Fisher G, Brown AW, Brown MMB, Alcorn A, Noles C, Winwood L, et al. High Intensity Interval- vs Moderate Intensity- Training for Improving Cardiometabolic Health in Overweight or Obese Males : A Randomized Controlled Trial. 2015;1–15.
192. Orth TA. Exercise training prevents the inflammatory response to hypoxia in cremaster venules. *J Appl Physiol.* 2005;98(6):2113–8.
193. Lash J, Bohlen HG. Functional adaptation of rat skeletal muscle arterioles to aerobic training. *J Appl Physiol.* 1992;72:2052–62.
194. Hudlicka O. Microcirculation in skeletal muscle Corresponding author : Muscles Ligaments Tendons J. 2011;1(1):3–11.
195. Tousoulis D, Antoniades C, Stefanadis C. Evaluating endothelial function in humans: A guide to invasive and non-invasive techniques. *Heart.* 2005;91(4):553–8.
196. O'Brien SF, McKendrick JD, Radomski MW, Davidge ST, Russell JC. Vascular wall reactivity in conductance and resistance arteries: differential effects of insulin resistance. *Can J Physiol Pharmacol.* 1998;76(1):72–6.
197. Sefyro D, D'amore P. *Microvascular Research: Biology and Pathology.* 1st ed. San Diego, CA: Elsevier Academic Press; 2006.

198. Padilla J, Newcomer SC, Simmons GH, Kreutzer K V, Laughlin MH. Long-term exercise training does not alter brachial and femoral artery vasomotor function and endothelial phenotype in healthy pigs. *Am J Physiol Hear Circ Physiol*. 2010;299(2):H379-85.
199. Tahawi Z, Orolinova N, Joshua IG, Bader M, Fletcher EC, Fletcher EC. Physiological and Genomic Consequences of Intermittent Hypoxia Selected Contribution: Altered vascular reactivity in arterioles of chronic intermittent hypoxic rats. Vol. 90, *J Appl Physiol*. 2007.
200. Jasperse JL, Laughlin MH. Endothelial function and exercise training: Evidence from studies using animal models. *Med Sci Sport Exerc*. 2009;38(3):445–54.
201. Vanhoutte PM, Shimokawa H, Feletou M, Tang EHC. Endothelial dysfunction and vascular disease – a 30th anniversary update. *Acta Physiol*. 2017;219(1):22–96.
202. Qi XY, Qu SL, Xiong WH, Rom O, Chang L, Jiang ZS. Perivascular adipose tissue (PVAT) in atherosclerosis: A double-edged sword. *Cardiovasc Diabetol*. *BioMed Central*; 2018;17(1):1–20.
203. Yudkin JS, Eringa E, Stehouwer C DA. “Vasocrine” signalling from perivascular fat: a mechanism linking insulin resistance to vascular disease. *Lancet*. 2005 May;365(9473):1817–20.
204. Williams IL, Wheatcroft S, Shah AM, Kearney MT. Obesity, atherosclerosis and the vascular endothelium: Mechanisms of reduced nitric oxide bioavailability in obese humans. *Int J Obes*. 2002;26(6):754–64.
205. Zhang H, Zhang C. Regulation of Microvascular Function by Adipose Tissue in Obesity and Type 2 Diabetes: Evidence of an Adipose-Vascular. *Am J Biomed Sci*. 2009;1(2):133–42.
206. Costa RRS, Villela NR, Souza M das GC, Boa BCS, Cyrino FZGA, Silva S V., et al. High fat diet induces central obesity, insulin resistance and microvascular dysfunction in hamsters. *Microvasc Res*. Elsevier Inc.; 2011;82(3):416–22.
207. Sebai M, Lu S, Xiang L, Hester RL. Improved functional vasodilation in obese Zucker rats following exercise training. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2011 Sep;301(3):H1090–6.
208. Naderali EK, Pickavance LC, Wilding JPH, Williams G. Diet-induced endothelial dysfunction in the rat is independent of the degree of increase in total body weight. *Clin Sci*. 2001;100:635–41.
209. Joyner MJ, Green DJ. Exercise protects the cardiovascular system: effects beyond traditional risk factors. *J Physiol*. 2009;587(Pt 23):5551–8.
210. Boa B, Costa R, Souza M, Cyrino F, Paes L, Miranda M, et al. Aerobic exercise improves microvascular dysfunction in fructose fed hamsters. *Microvasc Res*. 2014;93:34–41.

211. Vinet A, Karpoff L, Walther G, Startun A, Obert P, Goret L, et al. Vascular reactivity at rest and during exercise in middle-aged obese men: Effects of short-term, low-intensity, exercise training. *Int J Obes. Nature Publishing Group*; 2011;35(6):820–8.
212. Ribeiro PAB, Boidin M, Juneau M, Nigam A, Gayda M. High-intensity interval training in patients with coronary heart disease: Prescription models and perspectives. *Ann Phys Rehabil Med. Elsevier Masson SAS*; 2017;60(1):50–7.
213. Ramos JS, Dalleck LC, Tjonna AE, Beetham KS, Coombes JS. The Impact of High-Intensity Interval Training Versus Moderate-Intensity Continuous Training on Vascular Function: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Sport Med*. 2015;45(5):679–92.
214. Francescomarino S Di, Sciartilli A, Valerio V Di, Baldassarre A Di, Gallina S. The effect of physical exercise on endothelial function. *Sport Med*. 2009;39(10):797–812.
215. Medeiros RF, Gaique TG, Bento-Bernardes T, Motta NA V., Brito FCF, Fernandes-Santos C, et al. Aerobic training prevents oxidative profile and improves nitric oxide and vascular reactivity in rats with cardiometabolic alteration. *J Appl Physiol*. 2016;121(1):289–98.
216. Xu X, Ying Z, Cai M, Xu Z, Li Y, Jiang SY, et al. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. *AJP Regul Integr Comp Physiol*. 2011;300(5):R1115–25.
217. Fang J, Tang M. Exercise improves high fat diet-impaired vascular function. *Biomed Reports*. 2017;337–42.
218. Shibata M, Ichioka S, Kamiya A. Estimating oxygen consumption rates of arteriolar walls under physiological conditions in rat skeletal muscle. *AJP - Hear Circ Physiol*. 2005;289(1):H295–300.
219. Adams V. CrossTalk proposal: Acute exercise elicits damage to the endothelial layer of systemic blood vessels in healthy individuals. *J Physiol*. 2018;596(4):537–9.
220. Holloway T, Spriet L. CrossTalk proposal: High intensity interval training does have a role in risk reduction or treatment of disease. *J Physiol*. 2015;593(24):5215–7.
221. Pinho RA, Andrades ME, Oliveira MR, Pirola AC, Zago MS, Silveira PCL, et al. Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. *Cell Biol Int*. 2006;30(10):848–53.
222. Liu J, Yeo HC, Overvik-Douki E, Hagen T, Doniger SJ, Chyu DW, et al. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol*. 2000;89(1):21–8.

223. Kojda G, Hambrecht R, Powers SK, Lennon SL, Barbosa VA, Luciano TF, et al. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Cardiovasc Res*. Elsevier Ireland Ltd; 2002;88(3):1243–76.
224. Zacarias AC, Barbosa MA, Guerra-Sá R, De Castro UGM, Bezerra FS, de Lima WG, et al. Swimming training induces liver adaptations to oxidative stress and insulin sensitivity in rats submitted to high-fat diet. *Redox Rep*. Taylor & Francis; 2017;22(6):515–23.
225. Li li ji. Antioxidants and Oxidative Stress in Exercise. *Exp Biol Med*. 2000;(44453):283–92.
226. Delwing-de Lima D, Ulbricht ASSF, Werlang-Coelho C, Delwing-Dal Magro D, Joaquim VHA, Salamaia EM, et al. Effects of two aerobic exercise training protocols on parameters of oxidative stress in the blood and liver of obese rats. *J Physiol Sci*. Springer Japan; 2018;68(5):699–706.
227. Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Mol Med Rep*. 2015;12(2):2374–82.
228. Kakimoto PA, Kowaltowski AJ. Effects of high fat diets on rodent liver bioenergetics and oxidative imbalance. *Redox Biol*. Elsevier; 2016;8:216–25.
229. Furukawa S, Fujita T. Journal of Clinical Investigation -- Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin* .... 2004;114(12).
230. Brandes RP, Rezende F, Schröder K. Redox Regulation Beyond ROS. *Circ Res*. 2018;123(3):326–8.

## APÊNDICE – Resumo dos achados

A Figura 31 exibe um quadro que resume os achados da presente Tese de Doutorado. Nele estão os desfechos obtidos com a dieta hiperlipídica apenas (Dieta H) – onde o grupo HS foi comparado ao grupo CS; com as duas intensidades de treinamento (Treinamento HIIT ou MICT) – onde os grupos CM e CH foram comparados ao congênere CS; e com as duas intensidades de treinamento sob o regime da dieta hiperlipídica (Dieta H e Treinamento HIIT ou MICT) – onde os grupos HM e HH foram comparados ao congênere HS.

Figura 31 – Resumo dos principais achados

Variável	Intervenção				
	Dieta C Treinamento		Dieta H	Dieta H Treinamento	
	MICT	HIIT		MICT	HIIT
Peso corporal	↔		↑	↔	
Consumo energético	↔		↔	↔	
Capacidade cardiorrespiratória (VO <sub>2PICO</sub> )	↑	↑↑	↔	↑	↑↑
Adiposidade (% gordura)	↔		↓	↓	
Massa magra	↔		↓	↑	
Sensibilidade à insulina (TTI)	↔		↓	↑	
Tolerância à glicose (TTG)	↔		↑	↑	
Perfil lipídico (colesterol, triglicerídeos)	↔		↑	↓	
Função endotelial microvascular – cremaster	↔		↑	↑	
Função endotelial (micro)vascular – adutores	↔		↑	↑	
Biodisponibilidade de NO	↔		↔	↑	
Peroxidação lipídica – aorta	↔		↑	↔	↑
Enzimas antioxidantes – aorta	↔		↑	↔	↑

( ↑ ) Aumento; ( ↓ ) Redução; ( ↔ ) Sem alterações significativas; ( ↑↑ ) Aumento Pos vs. Pre e aumento vs. grupo sedentário

**MICT: Treinamento contínuo de intensidade moderada; HIIT: Treinamento intervalado de alta intensidade; Dieta H: dieta hiperlipídica; Dieta C: dieta controle**

Fonte: A autora, 2019.

## ANEXO – Parecer da Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA ROBERTO ALCANTARA GOMES

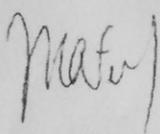


**COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS**

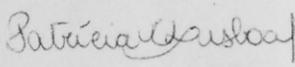
**CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº CEUA/024/2015 sobre "Estudo do impacto do estresse oxidativo gerado por diferentes intensidades de treinamento aeróbio isocalórico sobre a reatividade microvascular de ratos submetidos à dieta hiperlipídica" sob a responsabilidade de **Eliete Bouskela**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (CEUA), em **26/05/2015**. Este certificado expira em **26/05/2019**.

Rio de Janeiro, 26 de Maio de 2015.



\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Israel Felzenszwalb  
CEUA/IBRAG/UERJ



\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Patricia C. Lisboa  
CEUA/IBRAG/UERJ

/ass

☎ (21) 2587-6488 / 2587-6109 - Fax (21) 2284-9748  
biologia@uerj.br