



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Renata dos Santos Guarnieri

**Efeitos hepáticos dos ciclos de treino e destreino, do
treinamento intervalado de alta intensidade, em modelo
experimental induzido por dieta hiperlipídica**

Rio de Janeiro

2024

Renata dos Santos Guarnieri

Efeitos hepáticos dos ciclos de treino e destreino, do treinamento intervalado de alta intensidade, em modelo experimental induzido por dieta hiperlipídica

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Sandra Barbosa da Silva

Rio de Janeiro

2024

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

G916 Guarnieri, Renata dos Santos.
Efeitos hepáticos dos ciclos de treino e destreino, do treinamento intervalado de alta intensidade, em modelo experimental induzido por dieta hiperlipídica/ Renata dos Santos Guarnieri. – 2024.
85 f.

Orientadora: Prof.^a Dra. Sandra Barbosa da Silva

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental.

1. Esteatose hepática - Teses. 2. Gorduras na dieta - Teses. 3. Trajetória do peso do corpo. 4. Treinamento intervalado de alta intensidade. I. Silva, Sandra Barbosa da. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 616.391

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

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

Assinatura

Data

Renata dos Santos Guarnieri

Efeitos hepáticos dos ciclos de treino e destreino, do treinamento intervalado de alta intensidade, em modelo experimental induzido por dieta hiperlipídica

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 20 de fevereiro de 2024.

Banca examinadora:

Prof.^a Dra. Sandra Barbosa da Silva (Orientadora)

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof.^a Dra. Grazielle Vilas Bôas Huguenin

Universidade Federal Fluminense

Prof.^a Dra. Cristiane Matsuura

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Rio de Janeiro

2024

DEDICATÓRIA

Esse trabalho é dedicado à minha filha amada. Que a importância deste projeto possa impactá-la a crer que uma mulher forte e resiliente pode realizar seus sonhos, desde que esteja munida de coragem e resiliência.

AGRADECIMENTOS

As páginas dessa dissertação traduzem o empenho de dois anos de muito trabalho, estudos e dedicação somado a muitos percalços no caminho. Não foi fácil chegar até aqui, aliás, eu duvidei todos os dias de que seria capaz, mas aceitei o combate, cumpri a carreira e guardei a fé nesse coração que hoje é só gratidão.

Primeiramente, agradeço à minha orientadora Sandra Barbosa por todo suporte e dedicação ao longo desse tempo. Seu apoio intelectual, seus cuidados e até mesmo os puxões de orelha me fizeram desenvolver e renascer todos os dias. Muito obrigada!

Não poderia deixar de agradecer aos professores Carlos Alberto Mandarim e Márcia Águila por me receberem no LMMC e por terem preenchido meus dias com tantos ensinamentos e desafios. Vocês são inspiradores!

Eu jamais conseguiria concluir esse trabalho sem a presença da minha filha. Julia, você foi o meu suporte diário ouvindo minhas queixas, me fortalecendo nos momentos em que eu me sentia incapaz, afinal, para você eu sou a melhor, né? A vida com você é a concretização de um milagre. Com toda certeza, eu nasci para ser sua mãe e você para ser meu anjo.

Agradeço a meus pais amados, Edson e Maria, que sempre intercederam por mim, cuidaram de mim e me ajudaram a cuidar da minha filha durante minhas ausências (o que já fazem há um bom tempo, são experientes nisso). E por falar em ausência, que não foram poucas, juro que vou compensá-los. Obrigada por se preocuparem comigo, com minha saúde, minha alimentação e mais que tudo: obrigada por todo amor.

Quero agradecer, também, ao grande culpado por tudo que tenho vivido, que é conhecido pela alcunha de Mozudo. João é o nome dele. Eu não consigo entender como alguém pode confiar tanto em mim. Ele me fez pedir demissão de um trabalho que sugava o meu emocional, me matriculou em uma universidade particular e me disse: “só estuda, porque você vai alcançar grandes coisas”. Sempre ultrapassamos desafios, mas os últimos dois anos passaram dos limites, entretanto seguimos juntos. Obrigada por não me permitir desistir.

Agora é o momento de agradecer à toda equipe LMMC porque a vida acadêmica é tudo, menos fácil. Obrigada a todos e em especial à Tamiris, que de P.G. foi promovida à amiga, obrigada por tudo! Liipe, obrigada por todas as gargalhadas e

as conversas sérias também, que não foram muitas, mas rolou. Renata Spezani, nossos nomes foram inspirados pelo mesmo motivo e nossa amizade selada por uma canção, você é incrível. Minha doce Kay, inteligente, espontânea, sem Insta e muito fofa. Thaty, nosso furacão que resolve, que nos levanta e nos faz acreditar que tudo tem uma solução. Guilherme, meu parceiro de projeto, um cara super do bem, simplista ao extremo, sempre disposto a nos fazer sorrir e acreditar que tudo vai dar certo. Julie, Matheus Fabiano, Thiago e Pedro, vocês se tornaram pérolas em minha vida. Paty, obrigada pelo suporte, saudades de você.

Durante esse tempo tive o suporte de duas pessoas que foram a calma que eu precisava para trabalhar: Aline Penna e Andrea, vocês não fazem ideia do quão acolhedoras são suas vozes e suas formas de trabalhar. Aprendi muito com vocês e quero muito a amizade de vocês para sempre.

Fora do LMMC também tenho amigos que me apoiaram durante toda a caminhada. Em especial eu gostaria de agradecer à Carol, minha amiga/irmã que mesmo de longe, sempre me deu suporte, palavras de incentivo, me ouviu chorar tantas vezes ao telefone e sempre tinha as palavras certas. Melyssa e Adrielly, minhas amigas e defensoras, vocês moram no meu coração.

Obrigada aos meus amigos em geral, que acompanham minha evolução, meu desenvolvimento profissional e que dividiram comigo o sonho do mestrado. Agora é hora de colher os frutos e comemorar mais essa conquista. Obrigada a todos!

Minha Yupi, minha filha de quatro patas, sem sombra de dúvidas, você foi a minha maior companheira de isolamento. Todas as vezes que eu ia para o quarto estudar, lá ia ela junto querendo ficar ao meu lado. Amo você!

Por último e por ser a mais importante, agradeço à minha avó, Zulmira, *in memoriam*. Essa nordestina corajosa que saiu do Rio Grande do Norte para o Rio de Janeiro, aos 30 anos, com seu filho único nos braços, para escrever uma linda história de lutas e vitórias. Minha avó me ensinou que ser mulher é para poucas, porém essas poucas conquistam o extraordinário. Obrigada, vó! Saudades.

Agradecimento oficial a Capes. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Viver é melhor que sonhar.

Belchior

RESUMO

GUARNIERI, Renata dos Santos. *Efeitos hepáticos dos ciclos de treino e destreino, do treinamento intervalado de alta intensidade, em modelo experimental induzido por dieta hiperlipídica*. 2024. 85 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

A obesidade é fator de risco para o desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), considerada uma das principais causas do comprometimento funcional do fígado. A prática de exercício físico associada à ingestão de uma dieta equilibrada são a primeira linha de tratamento DHGNA, porém sustentar a longo prazo esse novo estilo de vida é um desafio e a recuperação do peso corporal um fato recorrente. A recuperação de peso corporal pode levar a mudanças metabólicas potencialmente prejudiciais, algumas das quais permanecem pouco claras. Entre as modalidades de exercício, o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) tem ganhado notoriedade por ser composto por breves sessões, o que facilita a questão da falta de tempo para se dedicar à prática frequente. Com o objetivo de estudar os efeitos hepáticos após a perda e recuperação de peso, oriundos de ciclos de treino, destreino e retreino obtidos via HIIT, em modelo experimental de camundongo com obesidade, 80 camundongos C57Bl/6 (3 meses de idade) foram alimentados com dieta controle (C, 10% de lipídios, n=40) ou dieta rica em gordura saturada (HF, 50% lipídios, n=40) durante 12 semanas. Após esse período, os animais foram redivididos em 8 grupos, em que não treinaram durante todo o experimento (NT); treinaram durante todo o experimento (T); treinaram, destreinaram e retreinaram (TNT) e os que treinaram e destreinaram (NTN); através do treinamento intervalado de alta intensidade, sem alterações em suas dietas. Para as análises foram realizados: acompanhamento semanal da massa corporal (MC) e da pressão arterial sistólica (PAS), testes bioquímicos, teste oral de tolerância à glicose, estereologia hepática e RT-qPCR para os genes relacionados à lipogênese (*Srebp1c*, *Cherbp*, *fas* e *fat-cd36*), β -oxidação (*Ppara* e *Cpt1a*) e estresse do retículo endoplasmático (*Atf4*, *Chop* e *Gadd45*). Ao final do período de indução das alterações metabólicas foi observado um aumento significativo da MC do grupo HF-NT (+10%, p=0,003), da PAS, do perfil glicídico e lipídico, além de um aumento de +104% (p<0,001) da esteatose hepática, em relação ao grupo C-NT. Tais parâmetros foram significativamente reduzidos durante os ciclos de treinamento, assim como a expressão dos genes lipogênicos e do estresse do retículo endoplasmático, atrelado ao aumento da oxidação dos ácidos graxos hepáticos. Durante os ciclos de destreino, observou-se uma preservação da redução da massa corporal dos animais, que refletiu na manutenção das demais melhorias, com ênfase para os grupos que treinaram por dois ciclos (C-TNT e HF-TNT), que apresentaram parâmetros similares aos seus análogos que treinaram durante os 3 ciclos (C-T e HF-T). Nossos resultados indicam que a redução da esteatose hepática e demais melhorias metabólicas, oriundas dos ciclos de treinamento com o HIIT, perpetuaram durante os ciclos de destreino, ainda que os camundongos continuassem ingerindo dieta hiperlipídica.

Palavras chave: Doença hepática gordurosa não alcoólica. Esteatose hepática. HIIT. Perda e recuperação de peso. Treino e destreino.

ABSTRACT

GUARNIERI, Renata dos Santos. *Hepatic effects of training and detraining cycles, of high-intensity interval training, in an experimental obesity model induced by a high-fat diet*. 2024. 85 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Obesity is a risk factor for the development of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), considered one of the main causes of liver functional impairment. Practicing physical exercise associated with eating a balanced diet is the first line of NAFLD treatment, but sustaining this new lifestyle in the long term is a challenge and regaining body weight is a recurring issue. Body weight regain can lead to potentially harmful metabolic changes, some of which remain unclear. Among exercise modalities, high-intensity interval training (HIIT) has gained notoriety for being made up of brief sessions, which eases the issue of lack of time to dedicate to frequent practice. With the aim of studying the hepatic effects after weight loss and recovery, resulting from training, detraining and retraining cycles obtained via HIIT, in an experimental mouse model with obesity, 80 C57Bl/6 mice (3 months old) were fed with a control diet (C, 10% lipids, n=40) or a diet rich in saturated fat (HF, 50% lipids, n=40) for 12 weeks. After this period, the animals were redivided into 8 groups, in which they did not train during the entire experiment (NT); trained throughout the experiment (T); trained, untrained and retrained (TNT) and those who trained and detrained (NTN); through high-intensity interval training without changes to their diets. The following analyzes were carried out: weekly monitoring of body mass (BM) and systolic blood pressure (SBP), biochemical tests, oral glucose tolerance test, liver stereology and RT-qPCR for genes related to lipogenesis (*Srebp1c*, *Cherbp*, *Fas* and *Fat-cd36*), β -oxidation (*Ppara* and *Cpt1a*) and endoplasmic reticulum stress (*Atf4*, *Chop* and *Gadd45*). At the end of the period of induction of metabolic changes, a significant increase in MC in the HF-NT group (+10%, p=0.003), SBP, glucose and lipid profile was observed, in addition to an increase of +104% (p < 0.001) of hepatic steatosis, in relation to the C-NT group. These parameters were significantly reduced during training cycles, as well as the expression of lipogenic genes and endoplasmic reticulum stress, linked to increased oxidation of hepatic fatty acids. During the detraining cycles, a preservation of the reduction in the animals' body mass was observed, which reflected in the maintenance of other improvements, with emphasis on the groups that trained for two cycles (C-TNT and HF-TNT), which presented parameters similar to their analogues who trained during the 3 cycles (C-T and HF-T). Our results indicate that the reduction in hepatic steatosis and other metabolic improvements, arising from HIIT training cycles, continued during detraining cycles, even though the mice continued to ingest a high-fat diet.

Keywords: Non-alcoholic fatty liver disease. Hepatic steatosis. HIIT. Weight loss and recovery. Training and detraining.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Progressão da doença hepática gordurosa não alcóolica.....	18
Figura 2 - Prevalência mundial da doença hepática gordurosa não alcóolica.....	19
Figura 3 - Mecanismos moleculares da esteatose hepática.....	20
Figura 4 - Estresse do retículo endoplasmático	22
Figura 5 - Supostos mecanismos dos efeitos do exercício físico na redução da esteatose hepática.	24
Figura 6 - Ciclos de treino e destreino.....	26
Figura 7 - Desenho experimental.	35
Figura 8 - Evolução da massa corporal.....	43
Figura 9 - Evolução da pressão arterial sistólica	51
Figura 10 - Parâmetros do tecido adiposo.	54
Figura 11 - Fotografias da cavidade abdominal dos camundongos C57Bl/6.	56
Figura 14 - Massa hepática.....	63
Figura 15 - Triacilglicerol hepático.....	64
Figura 16 - Densidade de esteatose hepática.....	65
Figura 17 - Fotomicrografia do tecido hepático.	66
Figura 18 - Expressão gênica da via lipogênica hepática.	68
Figura 19 - Expressão gênica da via da β -oxidação hepática.	70
Figura 20 - Expressão gênica da via do estresse do retículo endoplasmático hepático.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das dietas ofertadas aos animais.	33
Tabela 2 - Sequência dos iniciadores senso e antisenso do RT-qPCR	41
Tabela 3 - ANOVA de medidas repetidas da massa corporal na fase HIIT.....	44
Tabela 4 - Ingestão alimentar, ganho ponderal e eficiência alimentar.	50
Tabela 5 - ANOVA de medidas repetidas da pressão arterial sistólica na fase HIIT .	52
Tabela 6 - Perfil glicêmico e bioquímica plasmática.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC	<i>Acety-coA carboxylase</i>
ATF4	<i>Activating transcription factor-4</i>
ATF6	<i>Activating transcription factor-6</i>
BiP/Grp78	<i>Binding immunoglobulin protein/Glucose-regulated protein 78</i>
CHERBP	<i>Carbohydrate-reponsive element-binding protein</i>
CHOP	<i>C/EBP Homologous Protein</i>
CPT1-A	<i>carnitine palmitoyltransferase 1A</i>
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
EA	Eficiência alimentar
EHNA	Esteatohepatite não-alcoólica
ERE	Estresse do retículo endoplasmático
FAS	<i>Fatty acid synthase</i>
FAT-CD36	<i>Fat acid translocase – cluster of differentiation 36</i>
GADD45	<i>Growth Arrest and DNA Damage Gene 45</i>
GAPDH	<i>Glyceraldehyde-3phosphate dehydrogenase</i>
GP	Ganho ponderal
IA	Ingestão alimentar
IRE1	<i>Inositol requiring enzyme 1</i>
LDN	Lipogênese <i>de novo</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
MC	Massa corporal
PAS	Pressão arterial sistêmica
PERK	<i>PKR-like eukaryotic initiation factor 2α kinase</i>
PPAR α	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor α</i>
PPAR γ	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i>
RI	Resistência à insulina
RE	Retículo endoplasmático
SREBP1c	<i>Sterol regulatory element-binding transcription factor 1</i>

TAG	Triacilglicerol
UPR	Resposta a proteínas mal-dobradas

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	15
1 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
1.1 Obesidade	17
1.2 Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA).....	17
1.3 Treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) e a doença hepática gordurosa não alcóolica (DHGNA)	23
1.4 Treino, destreino e retreino	25
1.5 Efeitos da perda e reganho de peso corporal.....	27
2 OBJETIVOS.....	31
2.1 Objetivo Geral	31
2.2 Objetivos específicos.....	31
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1 Animais e dietas	32
3.2 Massa corporal, consumo alimentar, perda ponderal, eficiência alimentar e pressão arterial sistólica	36
3.3 Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG).....	37
3.4 Eutanásia dos Animais e Extração dos Tecidos	38
3.5 Bioquímica plasmática.....	38
3.6 Índice de Adiposidade	38
3.7 Fígado.....	39
3.8 RT-qPCR (Transcriptase reversa-PCR quantitativo)	40
3.9 Análise de dados	42
4 RESULTADOS.....	43
4.1 Massa corporal (MC)	43
4.2 Ingestão alimentar (IA), ganho ponderal (GP) e eficiência alimentar (EA) ...	46
4.2 Pressão arterial sistólica (PAS)	51
4.3 Índice de adiposidade e distribuição do tecido adiposo	53
4.4 Metabolismo dos carboidratos	57
4.5 Bioquímica plasmática.....	60
4.6 Parâmetros hepáticos	63

5 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	72
CONCLUSÃO	76
REFERÊNCIAS.....	77
ANEXO A – Comitê de ética.....	84
ANEXO B – Submissão do artigo.....	85

INTRODUÇÃO

As taxas de sobrepeso e obesidade vêm acentuando progressivamente em escala global e têm sido motivo de preocupação para as entidades de saúde pública (1). Essa tendência é impulsionada por fatores como o sedentarismo e hábitos nutricionais pouco saudáveis e estão associados ao desenvolvimento de dislipidemias, resistência à insulina, doenças cardiovasculares e da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), entre outras (2).

A obesidade é uma doença metabólica multifatorial decorrente do aumento da deposição de tecido adiposo e que apresenta uma inflamação de baixo grau (3). Indivíduos com obesidade, intolerância à glicose e diabetes do tipo 2 (DM2) apresentam risco aumentado para o desenvolvimento e progressão da DHGNA (4, 5).

A DHGNA inicia com o acúmulo de lipídios nos hepatócitos em uma fase denominada esteatose hepática. Caso não tratada, a doença pode progredir para a esteatohepatite não alcoólica (EHNA), caracterizada pelo acúmulo de gordura associado à inflamação lobular (5). Até a fase da EHNA, a doença pode ser revertida através alterações do estilo de vida que envolvam a prática de exercício físico e dieta equilibrada, do contrário, os danos aos hepatócitos progridem para fibrose e cirrose, levando a uma disfunção do órgão e/ou o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (6).

Estima-se que a prevalência global doença seja de aproximadamente 25%, fazendo com que a DHGNA se torne a principal causa de morbimortalidade e futuramente, a maior causa de transplante de fígado (7).

Atualmente, não existe nenhum fármaco aprovado pela *Federal Drug Administration* (FDA) exclusivamente para o tratamento da DHGNA, sendo as alterações no estilo de vida a terapêutica padrão para a recuperação da saúde hepática (8). Uma redução de peso corporal total de 5% está associada à uma redução substancial no teor de esteatose hepática em cerca de 30%, já uma perda de 7-10% pode ser necessária para a redução da inflamação, entretanto, a manutenção da perda de peso a longo prazo tem sido um desafio (9).

A manutenção do peso corporal após uma redução de peso exige um equilíbrio energético capaz de alcançar o metabolismo ideal, o que compreende a regulação

das atividades enzimáticas e das funções hormonais; síntese e utilização de ATP, funções neurológicas e musculares equilibradas (10).

A recuperação de peso corporal após uma perda bem-sucedida é fato recorrente entre os indivíduos que se propõem a mudanças do estilo de vida que incluam dieta e a prática de exercício físico. A recuperação de peso corporal pode levar a mudanças metabólicas potencialmente prejudiciais, algumas das quais permanecem pouco claras (11).

Exercícios físicos estruturados podem levar à uma redução relativa de 20-30% da esteatose hepática, independente da perda de peso (12). Dessa forma, o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT, do inglês, *high intensity interval training*) tem ganhado notoriedade entre as modalidades de exercício (13), pois reduz o tecido adiposo visceral, melhora a aptidão cardiorrespiratória (14) e a sensibilidade à insulina (15), induz a biogênese mitocondrial (16) e reduz a gordura intra-hepática e fibrose (17).

Todavia, justificativas como viagens, mudanças na rotina diária, trabalho, lesões levam à interrupção do treinamento físico e destreinar faz com que as adaptações fisiológicas e metabólicas conquistadas sejam perdidas parcial ou totalmente (18). Os efeitos do destreino é diretamente proporcional ao tempo da paralização, da modalidade treinada, nível de aptidão física, faixa etária e gênero (19).

O destreino cursa com a progressão de doenças crônicas, como a DM2, e afeta negativamente a sensibilidade à insulina e os perfis lipídicos séricos (20). Um estudo de 2017 analisou os efeitos de um treinamento aeróbico intervalado de 4 meses, em humanos, e concluiu que para obter melhoras crônicas da saúde cardiovascular, manutenção do peso corporal e outras melhoras metabólicas são necessários ao menos dois períodos de treinamento, parecendo, assim, haver um benefício cumulativo (21).

Diante do exposto, a hipótese do presente trabalho é de que as mudanças no peso corporal, induzida por dieta hiperlipídica, concomitante aos ciclos de treino e destreino, através do HIIT, causarão alterações prejudiciais nos parâmetros hepáticos, ainda que outros fatores associados à obesidade forem melhorados.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Doença hepática gordurosa não alcóolica

A obesidade é uma doença metabólica multifatorial decorrente do aumento da deposição de tecido adiposo somado ao desenvolvimento de um estado inflamatório sistêmico de baixo grau (3). Indivíduos com obesidade fazem parte de um grupo de risco mais suscetível para o desenvolvimento de doenças como as dislipidemias, resistência à insulina, danos cardiovasculares e DHGNA (4, 5). A dieta ocidental, rica em ácidos graxos (AGs) saturados, está altamente associada ao desenvolvimento e progressão da obesidade e doenças associadas (22).

Estudos em modelo experimental com administração a longo prazo de uma dieta composta de 40 a 60% de lipídios saturados promove o aumento da síntese de citocinas inflamatórias, RI, hipertensão arterial sistêmica, obesidade (23) e acúmulo de gorduras no fígado (24, 25).

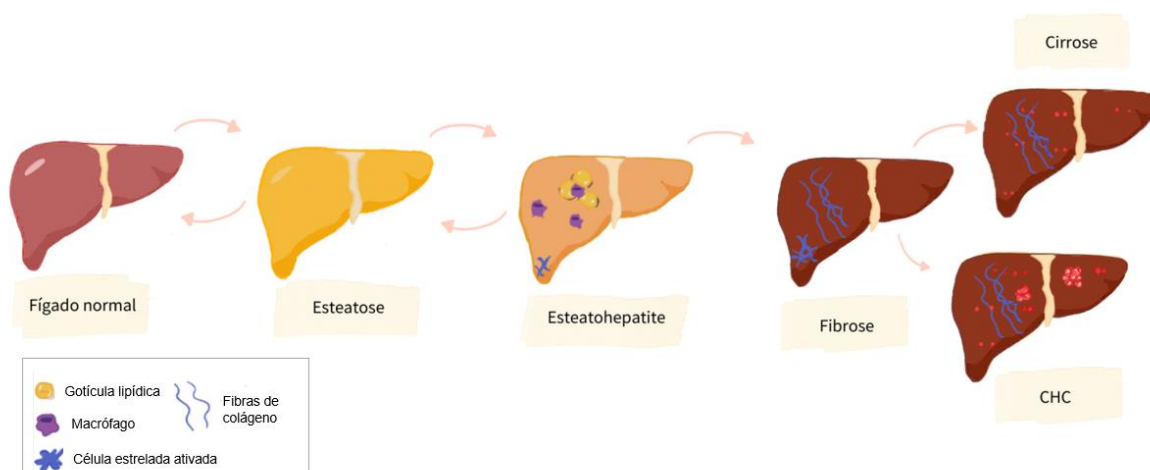
Alterações na homeostase lipídica, em decorrência da obesidade, podem acarretar danos aos hepatócitos e, conseqüentemente, prejuízos às funções hepáticas. A alta deposição de triacilglicerol (TAG) no citoplasma dos hepatócitos aumenta o risco da DHGNA, considerada uma das principais causas do comprometimento funcional do fígado (26).

O fígado é o principal órgão regulador do metabolismo dos lipídios e glicose (27), sendo os hepatócitos, o principal tipo celular presente no parênquima hepático, os responsáveis por controlar as variadas funções, entre elas a desintoxicação e processamento de xenobióticos ambientais (28). A alta deposição de TAG no citoplasma dos hepatócitos aumenta o risco da DHGNA (26), sendo esta, atualmente, descrita como um espectro de doenças hepáticas que ocupa o lugar de doença hepática mais comum no mundo, com uma prevalência global de aproximadamente 32% (29).

O primeiro estágio da DHGNA, representados na figura 1, é caracterizado pela esteatose hepática, onde observa-se um acúmulo de gordura intra-hepática maior de 5% do volume do fígado, independente de fatores como álcool, infecção viral ou doenças autoimunes (30). O próximo estágio da doença é a esteatohepatite não

alcoólica (EHNA), caracterizada por inflamação, balonização dos hepatócitos e ativação das células estreladas. Caso a progressão da doença não seja interrompida, pode evoluir para cirrose, com um estágio avançado de fibrose, perda de função dos hepatócitos e morte celular, podendo evoluir para o carcinoma hepatocelular (31).

Figura 1 - Progressão da doença hepática gordurosa não alcoólica



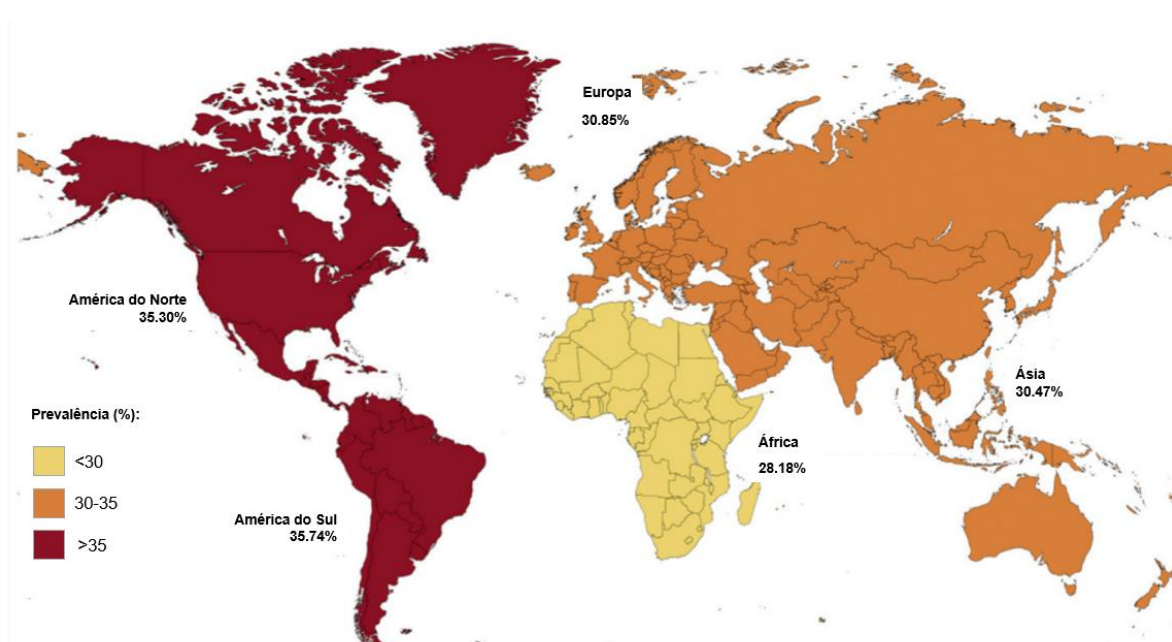
Legenda: a alta ingestão de alimentos ricos em gordura e de alta densidade energética, induzem o fígado normal a cursar à esteatose caracterizada pela presença de gotículas lipídicas. Consequentemente, as injúrias causadas ao fígado, cronicamente, progredem para a esteatohepatite, caracterizada pela presença de infiltrados inflamatórios, células em balonamento e uma ativação inicial das células estreladas, fases até então reversíveis. Caso continue progredindo, ocorre deposição de fibras colágenas na fase da fibrose e nesta fase o fígado começa a perder a função, podendo progredir para a cirrose e/ou para o carcinoma hepatocelular (CHC).

Fonte: a autora, 2024.

Diante da complexidade da doença, em 2020, foi proposta uma alteração no termo DHGNA para doença hepática gordurosa associada ao metabolismo (DHGM) (do inglês, metabolic associated fatty liver disease, MAFLD) (32). A alteração da nomenclatura foi sugerida para destacar o papel da desregulação metabólica sistêmica na progressão da DHGNA, além de ter introduzido algumas mudanças nos critérios do seu diagnóstico. Todavia, a nova nomenclatura tem sido alvo de críticas, sendo uma delas seguida do argumento de que uma mudança na nomenclatura seria melhor recebida quando os subtipos fisiopatológicos da doença fossem identificados e esclarecidos (7).

A DHGNA apresenta alta taxa de crescimento nos países ocidentais (26, 33), como visto na figura 2 e estima-se que sua prevalência global em adultos seja de aproximadamente 32% (7). Embora haja escassez de dados de regiões como África, Oceania e América do Sul, uma meta-análise (5.716 indivíduos) estimou a prevalência da DHGNA na América do Sul de cerca de 35,7% (34), muito devido a uma combinação de suscetibilidade genética (35) e uma maior prevalência de fatores de risco como o sedentarismo, a obesidade e o DM2 (36).

Figura 2 - Prevalência mundial da doença hepática gordurosa não alcóolica.



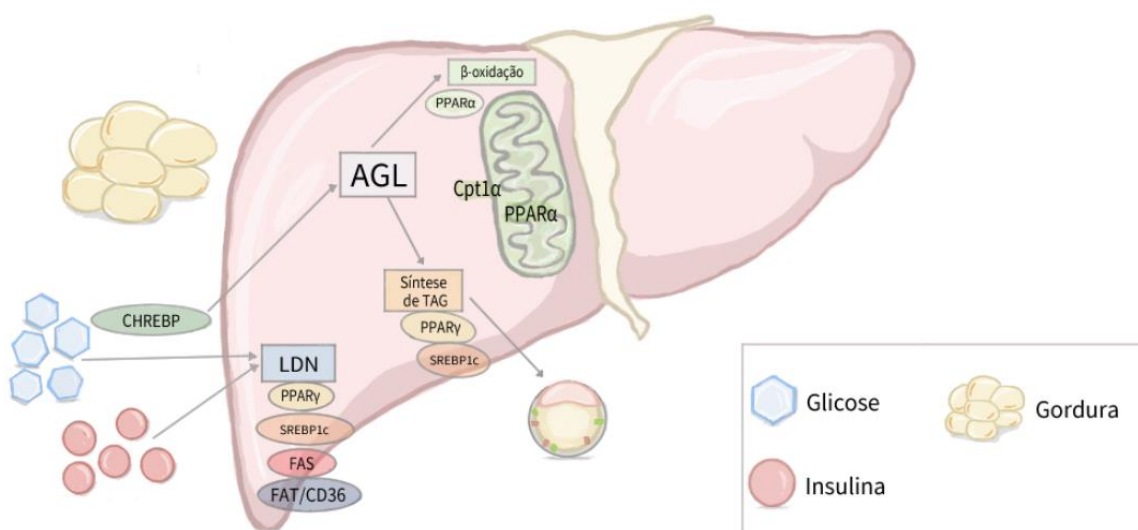
Legenda: A prevalência da doença hepática gordurosa não alcóolica em diferentes continentes.

Fonte: Adaptado de Teng, M. L. et al (37).

A patogênese da DHGNA não está totalmente elucidada (38), porém, a partir do avanço das pesquisas, a hipótese mais bem estabelecida na literatura discorre que a DHGNA seria melhor compreendida através da hipótese dos múltiplos fatores, onde o acúmulo de gordura no fígado, oriundo do excesso de peso corporal e RI representam o primeiro fator e uma combinação de susceptibilidades genéticas, hábitos alimentares, fatores relacionados ao estilo de vida, disfunção metabólica (principalmente a RI), e/ou alterações na microbiota intestinal são todos possíveis fatores para a progressão da DHGNA (39).

Os mecanismos moleculares envolvidos na esteatose hepática (figura 3) ainda não estão esclarecidos, porém já se sabe que existem três principais fontes de AGs hepáticos: os lipídios providos pela dieta, os AGs derivados do tecido adiposo e os sintetizados *de novo*. Os lipídios dietéticos são hidrolisados no lúmen intestinal e logo são sintetizados em TAGs, empacotadas em quilomícrons e entregues ao músculo e ao tecido adiposo. O remanescente é então transportado para o fígado, por endocitose mediada por receptor, levando à liberação de AGs nos hepatócitos (40).

Figura 3 - Mecanismos moleculares da esteatose hepática.



Legenda: A esteatose hepática decorre do aumento do influxo ou da diminuição do efluxo de lipídios do fígado. A lipólise aumentada do tecido adiposo branco fornece a principal fonte de ácidos graxos livres (AGL), porém há outras fontes como a síntese de novos AGL a partir da glicose, pela lipogênese *de novo* (LDN) ou proveniente da dieta. O fígado descarta o AGL através da β-oxidação ou pela exportação através da lipoproteína de muita baixa densidade, podendo, também, serem armazenados nos hepatócitos na forma de triacilglicerol em gotículas lipídicas. Abreviações: AGL – ácidos graxos livres; LDN – lipogênese *de novo*; TAG – triglicerídeo; PPAR γ – Peroxisome proliferator-activated receptor γ ; SREBP1c – Sterol regulatory element-binding protein 1c; FAS – fatty acid synthase; FAT/CD36 – translocase de ácidos graxos cd36; CHREBP – proteína de ligação ao element responsive ao carboidrato; PPAR α – Peroxisome proliferator-activated receptor α ; CPT1a – carnitine palmitointransferase 1a.

Fonte: a autora, 2024.

Na presença abundante de glicose circulante, o fígado age convertendo-a em AGs através de um processo denominado lipogênese *de novo* (LDN). A insulina plasmática ativa a proteína 1c de ligação ao elemento regulador de esteroide (SREBP1C), que regula positivamente genes lipogênicos como ácido graxo sintase

(FAS), acetil-CoA carboxilase (ACC) e estearoil CoA dessaturase 1 (SDC1) (41). A FAS é a enzima limitante da biossíntese de AGs (42).

A excessiva captação hepática de glicose ativa a proteína de ligação ao elemento em resposta a carboidratos (CHREBP), que eleva a transcrição da maioria dos genes lipogênicos e do piruvato quinase e também aumenta a disponibilidade de citrato para a síntese de AGs (43). Uma vez dentro do hepatócito, os AGs são esterificados em glicerol-3-fosfato e em colesterol para gerar TAG ou ésteres de colesterol, que poderão ser armazenados em gotículas lipídicas ou secretados na corrente sanguínea em formato de VLDL. O fígado também pode utilizar os AGs para síntese de lipídios complexos como os fosfolipídios (44).

Embora os AGs apresentem a capacidade de se difundirem através da bicamada lipídica, eles também podem ser facilmente absorvidos pelos hepatócitos através de proteínas presentes na membrana plasmática, como, por exemplo, a translocase de ácidos graxos / CD36 (FAT/CD36) (27). Ainda que a expressão hepática dessa proteína seja baixa, altos níveis de mRNA de FAT/CD36 estão correlacionados com o conteúdo hepático de TAG e é aumentada em pacientes com DHGNA (42).

A β -oxidação mitocondrial também colabora para o controle da concentração dos TAGs hepáticos (45). Esta via é suprimida no estado pós-prandial devido ao efeito lipolítico da insulina no tecido adiposo, dessa forma o fluxo de AGs não esterificados para o fígado é reduzido (46). Durante o estado de jejum, o glucagon facilita a oxidação dos AGs ativando a expressão do receptor ativado por proliferador de peroxissomo α (PPAR α), que é protagonista na regulação transcricional do metabolismo lipídico e glicídico (47).

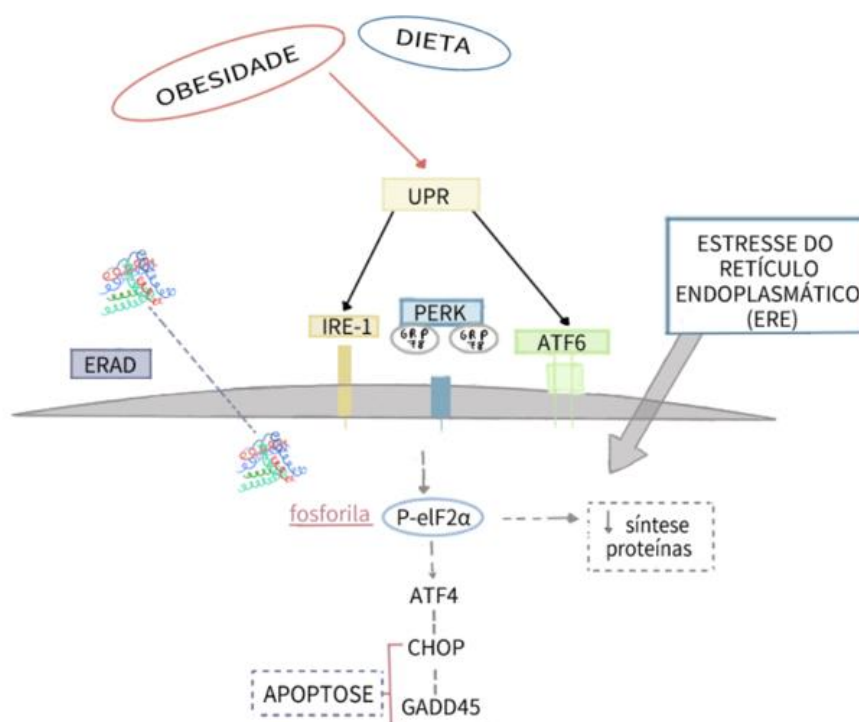
Recentemente, foi descrita uma nova via molecular denominada estresse do retículo endoplasmático (ERE), caracterizada pelo desequilíbrio entre a oferta de proteínas ao lúmen do retículo endoplasmático (RE) e a capacidade de dobra das proteínas. Quando a célula entra em ERE, o RE envia sinais ao citoplasma e ao núcleo, culminando a uma resposta adaptativa denominada resposta a proteína mal dobrada (UPR, do inglês, unfolded protein response) (48) com a finalidade da célula ser capaz de responder ao excesso de proteínas mal dobradas e, assim, reestabelecer a homeostase (49).

As proteínas que passam pela via da ERE são dobradas por chaperonas moleculares e transportadas para o complexo de golgi, porém as mal dobradas são

retidas no RE, translocadas para o citoplasmas e lá são degradadas pelos proteassomas (48).

A UPR é mediada por três proteínas membranares: fator 2 de iniciação eucariótica semelhante à PKR (PERK, do inglês, *PKR-like eukaryotic initiation factor 2 α kinase*); enzima 1 que requer inositol (IRE1, do inglês, inositol requiring enzyme 1) e fator ativador de transcrição 6 (ATF6, do inglês, activating transcription factor – 6) (50), como pode ser visto na figura 4.

Figura 4 - Estresse do retículo endoplasmático



Legenda: Em resposta à presença de proteínas mal dobradas, o retículo endoplasmático recruta as proteínas de ligação que estão ligadas às proteínas transmembranas da UPR (resposta a proteína mal-dobrada), quando livres a UPR ativa seus segundos mensageiros, podendo culminar em apoptose. Abreviações: IRE1 – Inositol requerendo a enzima 1/ inositol requiring enzyme 1; PERK – Fator 2 de iniciação eucariótica semelhante à PKR; ATF6 - ativando o fator de transcrição 6; eIF2 α – Fator de inibição translacional eucariótico 2 α ; ATF4 – fator de transcrição ativado 4; CHOP – proteína homóloga C/EBP; GADD45 – gene de parada de crescimento e dano de DNA 45.

Fonte: a autora, 2024.

A via do PERK é reguladora da lipogênese e sua ativação leva à fosforilação do fator de inibição translacional eucariótico 2 α (eIF2 α , do inglês, *eukaryotic*

translational initiation factor 2 α), que reduz a síntese proteica reduzindo a atividade do RE (50).

Quando o eIF2 α é fosforilado, o fator ativador de transcrição 4 (ATF4, do inglês, *activating transcription factor 4*) é ativado e a cascata continua com a indução da expressão de genes envolvidos no apoptose como a proteína homóloga X/EBP (CHOP, do inglês, *C/EBP homologous protein*). Dessa forma, o ciclo celular é retido, culminando com a morte celular em uma tentativa de proteger as células dos efeitos tóxicos desempenhados pelas proteínas mal dobradas (49).

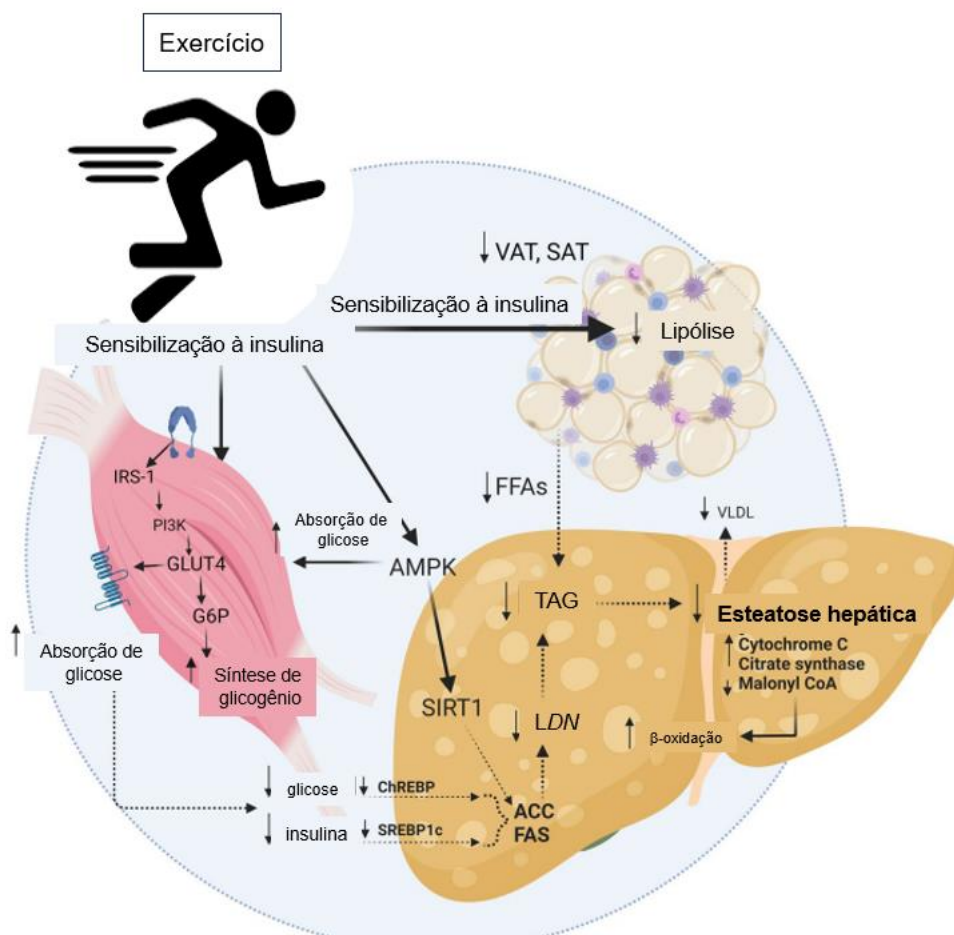
Uma vez ativado, o CHOP pode ativar as 3 vias da UPR, sendo a ativação do ATF4 o principal indutor. Assim, a síntese de proteínas é reduzida e o ERE atenuado, o que facilita a degradação de proteínas e colabora para o aumento da produção de chaperonas que auxiliam às proteínas se dobrarem corretamente. Caso o estresse do RE não seja resolvido, a célula terá sua função comprometida, podendo cursar com a apoptose (51).

1.3 Treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) e a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA)

O HIIT pode ser definido como breves sessões de exercícios de alta intensidade com períodos de recuperação ou descanso. A modalidade tem como foco principal a aptidão cardiorrespiratória, determinada por um VO_{2max} , que cursa com o aumento da resposta à atividade física regular (52).

A literatura descreve que o HIIT pode de reduzir as concentrações de lipídios hepáticos, melhorar a composição corporal e promover melhora dos eventos cardiovasculares em camundongos (53). Uma vez que o exercício físico apresenta supostos mecanismos eficazes (figura 5) em reduzir a concentração de tecido adiposo visceral e da gordura intra-hepática em humanos, o HIIT assume um papel promissor no tratamento da DHGNA (54).

Figura 5 - Supostos mecanismos dos efeitos do exercício físico na redução da esteatose hepática.



Legenda: Supostos mecanismos para os efeitos do exercício na redução da esteatose hepática. As setas sólidas indicam mecanismos melhorados; as setas tracejadas indicam mecanismos reduzidos. Abreviações: VAT – tecido adiposo visceral; SAT – tecido adiposo subcutâneo; TAG – triglicerídeo; SREBP-1c – proteína de ligação ao elemento regulador de esterol; ChREBP – proteína de ligação a elemento responsivo a carboidratos; LDN -lipogênese *de novo*; FAZ – sintase de ácido graxo; ACC - acetil-coenzima A carboxilase; VLDL – colesterol de lipoproteína de densidade muito baixa; AMPK – proteína quinase ativada por adenosina monofosfato; SIRT1 – sirtuína 1; IRS-1 – substrato 1 do receptor de insulina; PI3K – fosfatidilinositol-3-quinase; GLUT4 – transportador de glicose tipo 4; G6P – glicose 6-fosfato.

Fonte: Adaptado de Keating, S. E. et al. (55)

Um estudo examinou três parâmetros relacionados ao HIIT em pacientes com esteatohepatite não alcoólica, sendo eles: segurança, viabilidade e eficácia. O HIIT foi aprovado nos três parâmetros, ainda que os pacientes analisados apresentassem alto grau de multimorbidade, problemas musculoesqueléticos, obesidade e DM2. Neste

estudo, o HIIT demonstrou-se capaz de melhorar a resistência à insulina periférica (56).

O HIIT parece promover uma maior mobilização de lipídios, além de potencializar a atividade muscular esquelética em utilizá-los para síntese energética, como pode ser visto na figura 5. Estas evidências sugerem que a modalidade pode influenciar o equilíbrio lipídico e alterar a composição corporal (57). Sabe-se que pequenas reduções na adiposidade podem impactar no conteúdo de gordura hepática (58).

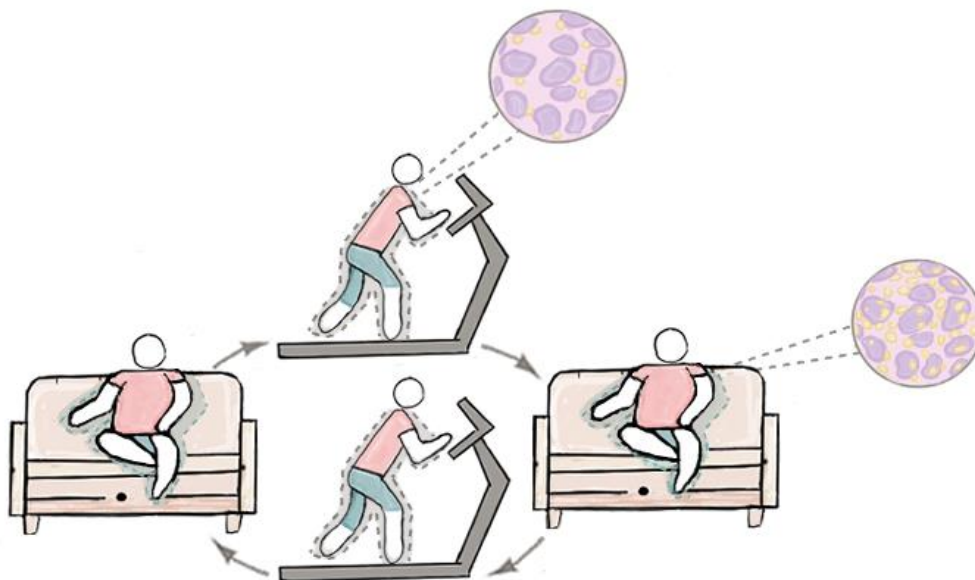
1.4 Treino, destreino e retreino

A sociedade moderna possui uma forma peculiar de viver, trabalhar e de se alimentar, o que resulta no aumento do sedentarismo. De acordo com a OMS, 23% dos adultos e 81% dos adolescentes, de idades entre 11 e 17 anos, em escala global, não são suficientemente ativos (59).

O exercício físico induz um aumento do gasto energético e está associado a vários benefícios à saúde, atuando na modulação da composição corporal, dos perfis lipídicos e garantindo a homeostase da glicose e a sensibilidade à insulina (60). Ademais, o treino, quando praticado de forma regular, pode auxiliar na regulação do metabolismo lipídico hepático e das concentrações de gorduras séricas, elevando a lipoproteína de alta densidade (HDL), reduzindo TAG e lipoproteína de baixa densidade (LDL) (61). Além disso, a prática regular de exercício físico pode aumentar a atividade de enzimas glicolíticas e aumentar, de forma significativa, o armazenamento de glicogênio muscular (62).

Por outro lado, interromper o treinamento físico, ou seja destreinar, faz com que as adaptações fisiológicas e metabólicas conquistadas sejam perdidas parcial ou totalmente (18). O destreino cursa com a progressão de doenças crônicas, como a obesidade, o DM2, e afeta negativamente a sensibilidade à insulina e os perfis lipídicos séricos, consequentemente corroborando para o aumento do depósito de gordura intra-hepática (figura 6) (20).

Figura 6 - Ciclos de treino e destreino



Legenda: Representação gráfica dos efeitos dos ciclos de treino na redução do peso corporal e menor deposição de gordura intra-hepática e, de forma antagônica, os efeitos do destreino contribuindo para o aumento da deposição de gordura e consequente aumento do peso corporal.

Fonte: A autora, 2024.

A transição de um comportamento ativo para o sedentário ou a inatividade física de fato, perturba o metabolismo glicídico, o que demonstra que o corpo humano foi criado para estar constantemente envolvido em atividades físicas regulares para seu adequado funcionamento e para prevenir doenças (20).

Os efeitos clínicos decorrentes dos períodos de treinamento e destreinamento têm sido objeto de interesse entre a comunidade científica, principalmente em pacientes com fatores de risco cardiovascular (21, 63-66). Esses estudos observaram que algumas adaptações promovidas pelo treino retornaram aos valores basais, tais como a oxidação lipídica, concentrações de TAG e a aptidão cardiorrespiratória, quando os indivíduos destreinavam. Entretanto, outras adaptações, como a composição corporal, concentrações de colesterol e HDL, perpetuavam durante 1 mês após o destreino.

Existem evidências de que os músculos esqueléticos previamente treinados readquirem alguns parâmetros, como por exemplo, área de fibra e força dinâmica, em um ritmo acelerado quando são novamente submetidos ao exercício após um longo

período de destreino (67). Este evento é conhecido como “memória muscular” e foi originalmente concebido como o resultado de uma capacidade de aprendizagem motora no sistema nervoso central (68).

Um estudo que avaliou os efeitos de um período de 4 anos ininterruptos de treinamento aeróbico intervalado concluiu que são necessários, ao menos, dois períodos de treinamento para uma resposta mais eficiente na melhora dos fatores de risco cardiovascular. Os pesquisadores viram que os indivíduos que treinavam por pelo menos 2 ciclos, onde treinavam 12 semanas, destreinavam por 7 semanas e voltavam a treinar por 16 semanas, a pressão arterial não retornava aos valores basais antes do início do protocolo de treinamento, além das significativas melhorias na aptidão cardiorrespiratória, da força, nos marcadores bioquímicos e na composição corporal, parecendo ocorrer uma melhora cumulativa (63).

Embora ainda não esteja totalmente elucidado, parece haver um efeito acumulativo relativo à modalidade do exercício e à repetição dos ciclos de treinamento que retarda a perda dos efeitos benéficos promovidos pelo treino. Dessa forma, quanto mais recorrentes forem os ciclos de retreinamento com o HIIT, ao destreinar, as variáveis clínicas retornariam mais lentamente aos seus valores basais (69).

1.5 Efeitos da perda e reganho de peso corporal

A manutenção do peso corporal após uma redução de peso exige um equilíbrio energético capaz de regular um metabolismo adequado, o que compreende a regulação das atividades enzimáticas e das funções hormonais; síntese e utilização de ATP, funções neurológicas e musculares equilibradas (10).

A perda de peso corporal em ritmo lento é bem sustentada em comparação a perda de peso brusca, porém acredita-se que uma perda de peso inicial mais substancial está positivamente correlacionada à manutenção de peso a longo prazo. Esta hipótese leva em consideração que uma maior perda de peso corporal no início da intervenção promova uma adaptação metabólica capaz de gerar funções metabólicas mais saudáveis (10).

Entretanto, a perda ponderal conquistada através de dietas muito restritivas requer cuidados e acompanhamento intensos. Ainda não há uma dieta ou programa

de exercícios específicos exclusivamente estabelecidos para a redução do peso corporal bem-sucedido. Atualmente, as estratégias utilizadas para controle do peso corporal visam atingir uma redução de 5% do peso a fim de manter ou recuperar um metabolismo saudável (70).

No período de repouso, a demanda energética necessária para manter o metabolismo basal é conhecida como taxa metabólica basal (TMB) e é responsável por oferecer energia necessária para atividades como respiração, manutenção da circulação sanguínea e cerebral, crescimento e reparo celular, entre outras. A TMB aumenta cerca de 0,05 kcal/min, de acordo com a perda ponderal de 1% (71).

O ganho de massa corporal geralmente ocorre por meio de perturbações metabólicas que promovem o aumento da ingestão alimentar em comparação ao gasto energético, o que resulta em um acúmulo excessivo de energia nos compartimentos adiposos (71).

A maioria das intervenções de estilo de vida, farmacológicas ou cirúrgicas, oferecem uma perda ponderal durante um período de 6 a 9 meses, seguido de um platô de peso corporal e logo após ocorre a recuperação. Dados indicam que apenas 15% dos indivíduos conseguem sustentar o uma perda provida pela dieta e apenas 10% através de intervenções farmacológicas (72). Sendo assim, reconhecer os mecanismos envolvidos na recuperação de peso corporal pode ajudar no manejo estratégico para reduzir os danos metabólicos e cardiovasculares associados à obesidade (73).

O reganho de peso corporal, o aumento da adiposidade e a RI são eventos corriqueiros após a interrupção da dieta e da prática de exercícios físicos. Em parte, esses eventos têm sido atribuídos, parcialmente, às ações hormonais estressoras e à inflamação local e sistêmica (74).

Os mecanismos moleculares desse empenho fisiológico do corpo em retornar ao peso anterior ainda não são bem compreendidos, mas já sabe-se que fatores como o tipo de parto, a menopausa, o envelhecimento, o ambiente obesogênico e algumas doenças podem contribuir para o reganho de peso corporal (75).

A via anorexígena é regulada por hormônios como a leptina (no tecido adiposo), o peptídeo semelhante a glucagon 1 (GLP1, do inglês, *glucagon-like peptide-1*), amilina e peptídeo YY, no trato gastrointestinal. Esses hormônios ativam as células sintetizadoras de pró-opiomelanocortina (POMC), que por sua vez liberam o hormônio estimulador de alfa-melanócitos, que se liga ao receptor da melanocortina-4,

sinalizando aos centros superiores para ativar a via anorexígena e reduzir o apetite. Na obesidade, estas vias já se apresentam desreguladas, resultando no aumento da ingestão alimentar e consequentemente, aumentando a massa do tecido adiposo (76).

Após uma perda de peso, pode ocorrer um aumento da concentração de hormônios orexígenos e uma redução dos hormônios anorexígenos, além da mudança das preferências alimentares migrarem para alimentos de alta densidade energética, ricos em açúcar e gordura gerando o ganho de peso (76).

A leptina é um hormônio que desempenha funções críticas na manutenção do peso por meio da termogênese adaptativa e durante o processo de emagrecimento, seus níveis diminuem para manter baixo o gasto energético e evitar que os estoques de TAGs se esgotem e, assim, garantir as funções biológicas essenciais do corpo. Este hormônio também parece desempenhar um papel na redução da atividade da tireoide e na diminuição da atividade do sistema nervoso simpático para diminuir a termogênese do músculo esquelético (11).

Um estudo do nosso grupo que avaliou os efeitos da perda e ganho de massa corporal em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica observou remodelamento dos tecidos adiposo e hepático, com repercussões negativas nos lipídios sanguíneos, na homeostase glicídica e nas concentrações de insulina e adipocinas. O trabalho também viu que a redução da massa corporal posterior a um ganho de peso, não foi capaz de promover o reparo dos danos associados a obesidade (24).

O estado de obesidade é acompanhado pela infiltração de macrófagos e outras células imunológicas no tecido adiposo, porém após a perda de peso corporal esse perfil imunológico não é totalmente revertido (73). Com isso, acredita-se que exista uma “memória obesogênica” ou “memória da obesidade” definida como uma combinação de fatores originários no desenvolvimento da obesidade e posterior a perda de peso, o que favorece ao ganho de peso corporal (77). Além disso, o ganho de peso parece favorecer a piora dos parâmetros de doenças como DM2, RI, doenças cardiovasculares, entre outras melhorados após uma perda ponderal significativa (78).

Indivíduos com obesidade apresentam baixos níveis de lipólise e oxidação lipídica e dietas de restrição calórica tendem a reduzir ainda mais tais parâmetros e persistem após a interrupção da perda de peso e acredita-se que o grau dessas

reduções está positivamente relacionado ao grau de reganho de peso. Para neutralizar a redução do gasto energético, lipólise e a oxidação lipídica é estimulado o aumento do exercício físico (carga, tempo ou modalidade). No entanto, por vários motivos, a adesão a longo prazo da prática de exercícios físicos é um desafio (73).

O ganho de peso corporal tem sido recorrente em indivíduos que interrompem os períodos de prática de exercícios, inclusive ex-atletas. Estudos apontam que os benefícios alcançados com o treinamento a longo prazo podem permanecer por um período de inatividade física, mas ainda não há um consenso que qual seria, exatamente, esse prazo (79-82).

As vias moleculares que envolvem a perda e recuperação de peso corporal após a ciclagem de treinamento físico, concomitante a ingestão de dieta hiperlipídica, ainda não estão esclarecidas na literatura, o que faz do presente trabalho relevante para o estudo do sobrepeso e obesidade.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar os efeitos hepáticos após a perda e recuperação de peso, oriundos de ciclos de treino/destreino/retraining obtidos via treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), em modelo experimental de camundongos com obesidade.

2.2 Objetivos específicos

- a) Induzir esteatose hepática e alterações metabólicas em camundongos C57Bl/6 através de dieta hiperlipídica;
- b) Criar ciclos alternados de treino e destreino, utilizando o treinamento intervalado de alta intensidade como ferramenta;
- c) Avaliar a Ingestão alimentar, massa corporal e pressão arterial;
- d) Estudar o metabolismo de carboidratos, insulina plasmática e análises bioquímicas plasmáticas;
- e) Analisar a morfologia hepática e realizar quantificação estereológica;
- f) Avaliar as vias de lipogênese, beta-oxidação, estresse do retículo endoplasmático no fígado através da expressão gênica.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e dietas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Animais da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (CEUA 015/2023), e todos os procedimentos ocorreram de acordo com as diretrizes de experimentação animal (NIH Publication No, 85-23, revisada em 1996). Foram utilizados camundongos C57Bl/6 machos que foram mantidos em micro-isoladores em estantes ventiladas (sistemaNexgen, Allentown Inc., PA, EUA), 5 animais por micro-isolador, e sob condições controladas diariamente, a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade 60%, ciclo 12h/12h claro/escuro, com acesso livre a comida e água.

Inicialmente, 80 camundongos C57Bl/6 machos, com 3 meses de idade, foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos ($n=40$, cada grupo) e receberam dietas diferentes ao longo de 12 semanas: dieta controle ou dieta hiperlipídica. As dietas foram preparadas pela PragSoluções (Jaú, SP, Brasil). O conteúdo mineral e vitamínico das dietas foi idêntico para as duas dietas e consistente com a recomendação do *American Institute of Nutrition* (AIN 93M). As composições das dietas ofertadas aos animais estão disponíveis na tabela 1.

Tabela 1 - Composição das dietas ofertadas aos animais

Nutrientes	Dietas	
	C	HF
Caseína ($\geq$ proteína 85%)	140,0	175,0
Amido de milho	620,7	347,7
Sacarose	100,0	100,0
Banha de porco	---	238,0
Óleo de soja	40,0	40,0
Fibras	50,0	50,0
Mix de vitaminas	10,0	10,0
Mix de minerais	35,0	35,0
Cisteína	1,8	1,8
Colina	2,5	2,5
Antioxidante	0,008	0,060
Total (g)	1000	1000
Energia (Kcal)	3802,8	5000
Carboidrato (% energia)	76	36
Proteínas (% energia)	14	14
Lipídios (% energia)	10	50

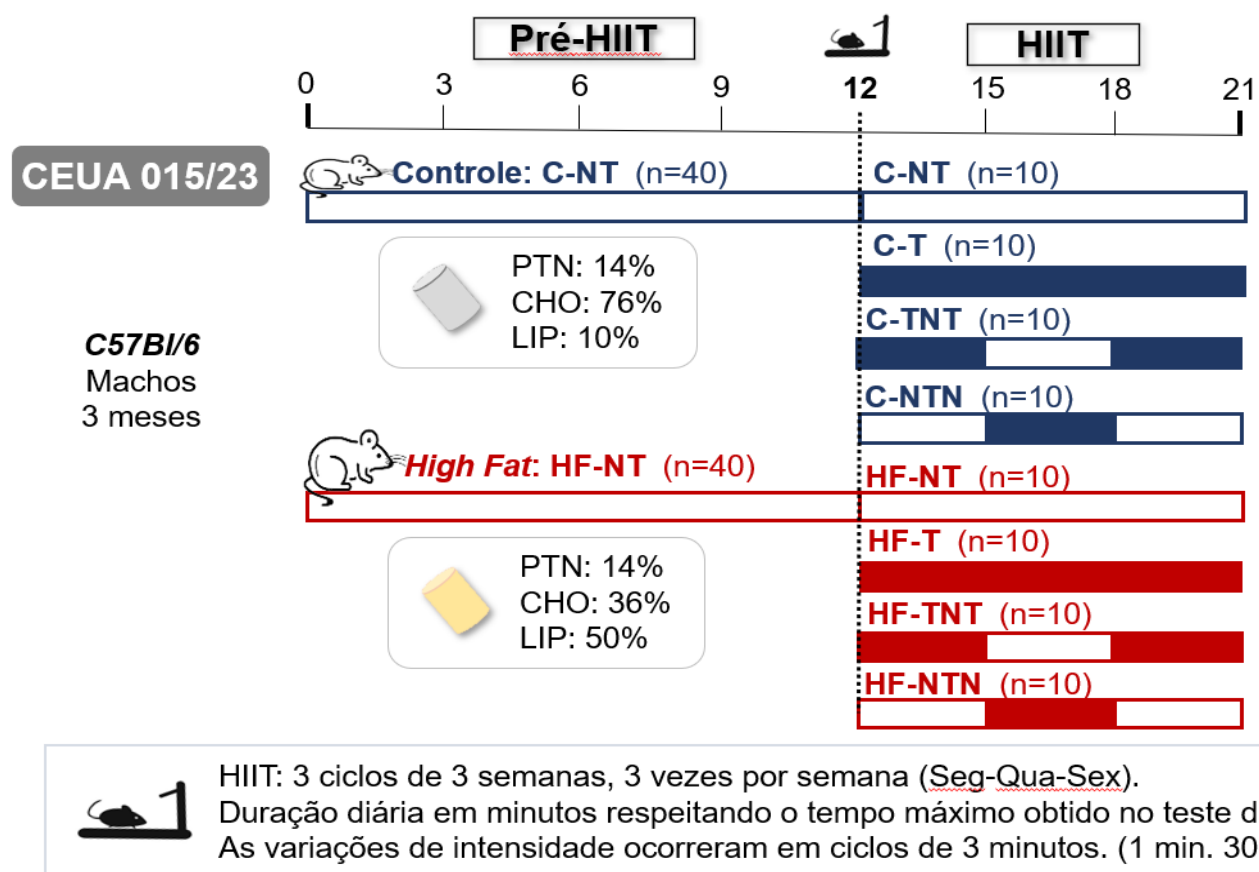
Ao fim das 12 semanas, os animais foram redivididos aleatoriamente em oito grupos (n=10 cada), sem alteração em suas dietas, para iniciar o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), de acordo com os ciclos treinado (T) e não treinado (N), cada ciclo com duração de 3 semanas, como pode ser visto na figura 7 e como segue:

- a. **C-NT** – Não treinado, alimentado com dieta controle;
- b. **C-T** – Treinado durante os 3 ciclos, alimentado com dieta controle;
- c. **C-TNT** – Treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3, alimentado com dieta controle;
- d. **C-NTN** – Não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3, alimentado com dieta controle;
- e. **HF-NT** – Não treinado, alimentado com dieta hiperlipídica;
- f. **HF-T** – Treinado durante os 3 ciclos, alimentado com dieta hiperlipídica;

g. **HF-TNT** – Treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3, alimentado com dieta hiperlipídica;

h. **HF-NTN** – Não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3, alimentado com dieta hiperlipídica.

Figura 7 - Desenho experimental



Legenda: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico, não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3.

Fonte: A autora, 2023.

3.2 Protocolo de Exercício Físico

Os camundongos atribuídos aos grupos que treinaram o HIIT foram familiarizados à uma esteira rolante (Treadmill Control LE 8710 – Panlab Havard Apparatus) durante 3 semanas, 3 vezes por semana em uma velocidade de 10m/min, com inclinação grau 0%, durante 10 a 15 min, a fim de minimizar o estresse dos animais. Os protocolos de exercícios foram desenvolvidos e adaptados com base na experiência anterior de treinamento de roedores em nossa instituição (83).

A fim de se avaliar as melhorias no desempenho do exercício com o HIIT, foram realizados testes de esforço, antes de se iniciar cada ciclo de treinamento, para observar e ajustar a intensidade de acordo com a evolução de cada animal. O teste de esforço baseou-se em incrementos de velocidade a cada 2 minutos a partir de uma velocidade mínima de 10m/min (83), sendo o término designado pela fadiga do animal, onde este se negava a correr. Diante dos resultados do teste de esforço, foram definidas as intensidades do treino para cada animal, baseado no VO₂ máximo obtido em teste, sendo o valor mínimo de 30% e o valor máximo de 80%. Na primeira semana foi utilizado como valor máximo os 80% para a intensidade máxima do exercício, na segunda semana o valor foi aumentado para 85% e na terceira para 90%. As variações de intensidade durante as sessões de ocorreram em ciclos de 3 minutos sendo 1 minuto de intensidade baixa (30%), e 2 minutos de intensidade alta (80%).

Os treinos foram realizados 3 dias por semana com variações de intensidade em ciclos de 3 minutos, sendo 1 minuto de baixa intensidade (30%) e 2 minutos de alta intensidade (80%) até a exaustão, com duração diária total em minutos de acordo com o teste de esforço.

3.2 Massa corporal, consumo alimentar, perda ponderal, eficiência alimentar e pressão arterial sistólica

A massa corporal (MC) foi avaliada semanalmente em uma balança de precisão (modelo B320H, Shimadzu, Brasil), apresentadas em grama (g) por animal.

O consumo alimentar foi determinado, diariamente, pela diferença entre a quantidade de ração oferecida (g) e a quantidade de sobra na caixa após 24 h e os resultados foram apresentados em grama por animal. O consumo de energia foi calculado através do produto do consumo de ração (g) e o conteúdo da dieta (kcal). A eficiência alimentar (EA), ou seja, o consumo de energia por grama de massa corporal adquirida, foi calculada através da razão entre o ganho de MC, em g/Kcal, de ração consumida por animal e os resultados apresentados em percentagem (%). A EA trata-se de um indicador da facilidade com que a energia consumida foi adicionada à MC.

A Pressão arterial sistólica (PAS) foi aferida semanalmente, com o auxílio de um pletismógrafo de cauda (Insight, Ribeirão Preto, SP, Brasil), com os animais conscientes. A fim de minimizar o estresse, os animais foram ambientados por 4 semanas antes do início do experimento, cada animal 1 vez por semana.

3.3 Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG)

O TOTG foi realizado em dois momentos: após as 12 semanas de dieta controle e hiperlipídica e após as 9 semanas de HIIT. Os animais foram submetidos a um período de jejum de 6h e logo após receberam 2 g/kg de glicose via gavagem orogástrica (25% em solução salina estéril, 0,9% NaCl) e, em seguida, o sangue foi coletado da via punção caudal aos 0, 15, 30, 60 e 120 minutos e com um glicosímetro foi medida a concentração da glicose no sangue (Accu-chek, Roche Diagnostics). A comparação entre grupos baseou-se na área sob a curva (versão Prism 7,0 para Windows; Software GraphPad, La Jolla CA, EUA). O tempo 0 minutos foi considerado a glicemia de jejum.

Adicionalmente, foram realizadas as avaliações referentes do índice de sensibilidade à insulina (QUICKI, *Quantitative Insulin Sensitivity Inspection Index*) e da resistência à insulina (HOMA-IR, *Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*), utilizando as fórmulas:

$QUICKI = 1 / \log(I0) + \log(G0)$, sendo I0 a insulina em jejum ($\mu IU/mL$) e G0 a glicemia em jejum (mg/dL);

$HOMA-IR = I0 \times G0 / 22,5$, sendo G0 a glicemia de jejum (mmol/L).

3.4 Eutanásia dos Animais e Extração dos Tecidos

Ao fim do experimento, os animais ficaram em jejum por 6h (com livre acesso à água), e, logo, foram anestesiados com Ketamina (240 mg/kg) e Xilazina (30 mg/kg) por via intraperitoneal. A cavidade torácica foi imediatamente aberta e a morte ocorreu por exsanguinação por punção cardíaca. Amostras de sangue foram obtidas por punção no átrio direito para posteriores análises. O sangue foi coletado por punção cardíaca, uma porção foi destinada para e outra parte foi centrifugada em temperatura ambiente para obter plasma (712g por 15 min), que foi armazenado individualmente a -80°C, para posteriores análises.

O fígado, e as gorduras epididimária, subcutânea, mesentérica e retroperitoneal foram cuidadosamente dissecados e pesados, sendo seus fragmentos armazenados à -80°C para análises moleculares, e o restante foi fixado em formalina (formaldeído 4% w/v, tampão fosfato 0.1 M, pH 7.2), preparada próximo ao uso, para serem processados para histologia.

3.5 Bioquímica plasmática

O colesterol total, os triglicérides plasmáticos, a alanina aminotransferase e a aspartato aminotransferase foram quantificados, pelo método colorimétrico enzimático, utilizando um espectrofotômetro automático e kits comerciais (Bioclin System II, Quibasa Ltda. Belo Horizonte, MG, Brasil). As concentrações de insulina e leptina foram quantificadas por kit comercial, Kit #EZRMI-13K, #EZML-82K (Millipore, MO, EUA), e Kit KMP0041 (Thermo Fisher Scientific), respectivamente.

3.6 Índice de Adiposidade

Após a eutanásia dos animais, as gorduras inguinal, epididimária e retroperitoneal foram cuidadosamente dissecadas e pesadas. Foi considerado o compartimento adiposo inguinal, a porção localizada entre a parte inferior da caixa

torácica e o meio da coxa; a gordura retroperitoneal, conectada à parede abdominal posterior próxima aos rins e a porção abdominal, dos ureteres e a gordura epididimária, localizada na parte inferior do abdômen e conectada ao epidídimo.

O cálculo do índice de adiposidade foi determinado como a razão entre a soma das massas dos tecidos adiposos, dividida pela massa corporal total, apresentada em porcentagem. A distribuição intra-abdominal é composta pelos compartimentos de tecido adiposo epididimário e retroperitoneal, enquanto o compartimento subcutâneo pelo tecido adiposo inguinal.

3.7 Fígado

O fígado foi dissecado, pesado e, parte das amostras foram divididas em fragmentos de todos os lobos que foram coletados e fixados por 48 horas (formaldeído a 4% w/v, 0,1M de tampão fosfato, pH 7,2) por 48 horas em temperatura ambiente.

Os fragmentos foram incorporados no Paraplast Plus (Sigma-Aldrich, St, Louis, MO, EUA), e seccionados em uma espessura de 5µm e corados com hematoxilina e eosina. Imagens digitais foram capturadas com a utilização de um microscópio BX51 (Olympus, Tóquio; Japão) e uma câmera Infinity 1-5c (Lumenera, Ottawa, Canadá).

A densidade de volume (Vv) de hepatócitos e de esteatose hepática foram estimadas por contagem de pontos, em pelo menos 10 campos aleatórios por animal. Resumidamente, um quadro com 36 pontos de teste foi sobreposto a imagens microscópicas digitais do fígado. O Vv [esteatose hepática] foi obtido como a razão entre os pontos que atingem as gotas de gordura (Pp [esteatose, fígado]) e os pontos totais do sistema (PT): $Vv [esteatose, fígado] = Pp [esteatose hepática] / PT$ (84).

A análise dos triglicerídeos hepáticos foi realizada em amostras de 50 mg de fígado congeladas, ultrassonicadas em equipamento modelo LB-130 CP (Labormetric, Miami, FL, EUA), utilizando 1 mL de isopropanol como solvente. Em seguida, o homogeneizado foi centrifugado a 712 g por 15 min e 5 µL do sobrenadante foram transportados para um analisador automático K55 (Bioclin System II, Quibasa Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil).

3.8 RT-qPCR (Transcriptase reversa-PCR quantitativo)

O RT-qPCR foi realizado para detectar a expressão do mRNA de genes relacionados ao metabolismo lipídico hepático. O RNA total do fígado foi extraído usando Trizol (Invitrogen, CA, EUA). A concentração de mRNA foi determinada por espectroscopia usando o equipamento NanoVue (GE Life Sciences), 1µg de RNA foi aliquoteado e a DNAase (Invitrogen) foi adicionado. O cDNA foi sintetizado utilizando iniciadores Oligo (dT) e transcriptase reversa Superscript III (Invitrogen, CA, EUA). O PCR foi realizado usando o termociclador Biorad CFX96 e SYBR Green (Invitrogen, CA, EUA). O gene da GAPDH foi usado como um controle endógeno para corrigir a expressão dos genes alvo. A eficiência da corrida dos genes alvo e do gene endógeno foi aproximadamente igual, sendo calculada por diluições seriadas do cDNA. As reações de PCR foram realizadas seguindo um programa de desnaturação e ativação da polimerase (4 min a 95°C), com 44 ciclos, cada um consistindo de 95°C por 10s e 60°C por 15s, seguido por uma curva de fusão (60-95°C, com uma taxa de aquecimento de 0,1°C/s). Os controles negativos consistiram em que o cDNA foi substituído por água desionizada. A relação de expressão relativa de mRNA foi calculada pela equação $2^{-\Delta\Delta C_t}$, onde C_t expressa a diferença entre o número de ciclos dos genes alvo e o controle endógeno. Os iniciadores foram projetados usando o software on-line Primer3 web versão 4,0,0. Sequências de iniciadores sentido e antisentido utilizadas para amplificação são descritas na tabela 2.

Tabela 2 - Sequência dos iniciadores senso e antisenso do RT-qPCR

Gene mRNA	5' à 3'	3' à 5'
<i>Gapdh</i>	CTGACTTCAACAGCGACACC	GTGGTCCAGGGGTCTTACTC
<i>Srebp1c</i>	AGCAGCCCCTAGAACAAACA	TCTGCCTTGATGAAGTGTGG
<i>Cherbp</i>	TCGAGGAAGGCACTACACCT	CACCCACTGGAAGCTGGTAT
<i>Fas</i>	TCGAGGAAGGCACTACACCT	CACCCACTGGAAGCTGGTAT
<i>Fat-cd36</i>	GCCCAATGGAGCCATCTTTG	AGCTGCTACA GCCAGATTCA
<i>Ppara</i>	TCGGA CTGGTCTTCTTGAT	TCTTCCCAAAGCTCCTTCAA
<i>Cpt1a</i>	GCAGAGCACGGCAAAATGA	GGCTTTCGACCCGAGAAGAC
<i>Atf4</i>	CCGAGATGAGCTTCCTGAAC	ACCCATGAGGTTTCAAGTGC
<i>Chop</i>	CTGCCTTTCACCTTGGAGAC	CGTTTCCTGGGGATGAGATA
<i>Gadd45</i>	GCGAGAACGACATCAACATC	GTTCGTCACCAGCACACAGT

Legenda: gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (*Gapdh*), proteína de ligação ao elemento regulador de estero 1c (*Srebp-1c*), proteína de ligação ao elemento responsivo ao carboidrato (*Cherbp*), ácido graxo sintase (*Fas*), translocase de ácidos graxos cd36 (*Fat-cd36*) receptores ativados por proliferadores de peroxissomos alfa (*Ppara*), carnitine palmitoiltransferase 1a (*Cpt1a*), fator 4 ativador da transcrição (*Atf4*), proteína homóloga ao C/EBP (*Chop*), gene de parada de crescimento e dano de DNA 45 (*Gadd45*).

3.9 Análise de dados

A distribuição normal e a homoscedasticidade foram testadas usando o teste de Kolmogorov. Para analisar os dois grupos durante o pré-HIIT, foi utilizado o test T-student e no pós-HIIT, já com os oito grupos, o ANOVA de um fator e correção de Brown-Forsythe and Welch. Durante a fase HIIT, também foi utilizado o ANOVA de medidas repetidas e pós teste de Tukey, para análises da massa corporal e pressão arterial sistêmica. O software utilizado foi o GraphPadPrism, versão 9.5.0, CA, EUA. Os resultados são apresentados com média $\pm$ desvio padrão, e o valor $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

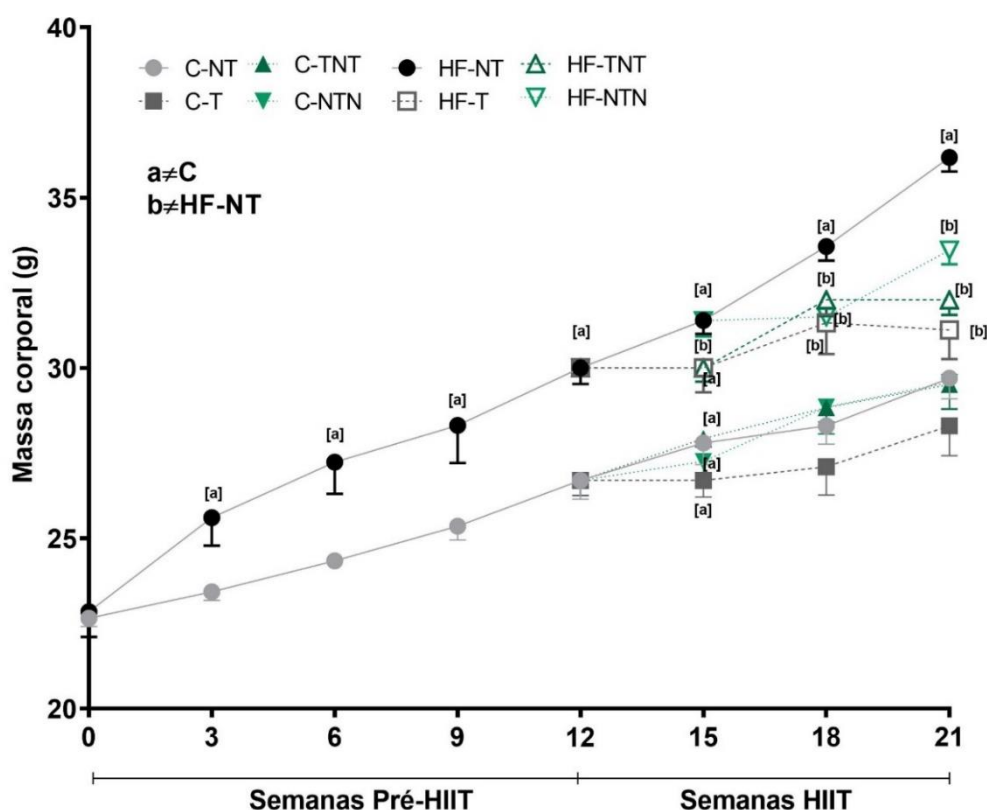
4 RESULTADOS

4.1 Massa corporal (MC)

Fase Pré-HIIT

A partir da 3ª semana de experimento, o grupo HF-NT apresentou um aumento significativo da MC ($p < 0,001$) em comparação ao grupo C-NT. Tal aumento progrediu para +12% ($p < 0,001$) na 6ª semana, figura 1. Ao fim das primeiras 12 semanas (Pré-HIIT), a MC do grupo HF-NT apresentou um aumento significativo (+10%, teste t, $p = 0,003$) quando comparado ao grupo C-NT, figura 8.

Figura 8 - Evolução da massa corporal.



Legenda: Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo $< 0,05$ e $n = 5$. Representa: [a] $\neq$ C-NT e [b] $\neq$ HF-NT. Nas semanas pré-HIIT, teste t-Student com correção de Welch. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico, não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3.

Fase HIIT

Durante a fase do HIIT, foi realizada o ANOVA de medidas repetidas e pós teste de Tukey para avaliar a evolução da MC dos animais em momentos diferentes dos 3 ciclos, (cada ciclo com a duração de 3 semanas) onde os animais treinavam, não treinavam e/ou voltavam a treinar. As comparações obedeceram às seguintes combinações cronológicas: semana 15 (Ciclo 1: semana 15 vs semana 12); semana 18 (ciclo 2: semana 18 vs semana 15) e semana 21 (ciclo 3: semana 21 vs semana 18), como pode ser visto na tabela 3.

Tabela 3 - ANOVA de medidas repetidas da massa corporal na fase HIIT

Grupos	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3
C-NT	+4%	+7%	+4%
C-T	-	+5%	-
C-TNT	+5%	-	-
C-NTN	+5%	+4%	+3%
HF-NT	+14%	+10%	+8%
HF-T	+9%	+7%	+3%
HF-TNT	+9%	+5%	+7%
HF-NTN	+13%	+4%	+5%

Legenda: Os dados representam a comparação da evolução da massa corporal dos grupos durante dos três ciclos de treino e destreino. Teste estatístico utilizado, ANOVA de medidas repetidas e pós teste de Tukey, $p < 0,05$ significativo. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico, não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3.

O grupo HF-NT apresentou um maior ganho de MC durante os 3 ciclos de treino, semana 15: +14% ($p < 0,001$), semana 18: +10% ($p < 0,001$) e semana 21: +8%

($p < 0,001$). Já o grupo HF-T apresentou aumento atenuado da MC nas semanas 15, 18 e 21: +9% ($p < 0,001$), +7% ($p = 0,03$) e +3% ($p = 0,02$), respectivamente.

O grupo HF-TNT, ao final do primeiro ciclo de treino (T), apresentou aumento significativo de +9% na MC ($p = 0,003$) na semana 15. Após o segundo ciclo, sem treino (N), o aumento na MC foi de +5% ($p = 0,03$), semana 18. A fim do terceiro ciclo, onde retornou a treinar (T), o aumento significativo na MC foi +7% ($p = 0,002$).

O grupo HF-NTN, que realizou apenas um ciclo de treino, iniciou o primeiro ciclo (semana 15) sem treino (N) e sua MC apresentou aumento significativo de +13% ($p = 0,003$). Após o ciclo de treino (T), o aumento da MC foi de +4% ($p = 0,003$) e de volta ao último ciclo sem treino (N), o aumento da MC foi de +5% ($p = 0,003$).

Quanto aos grupos que receberam a dieta controle, o grupo C-NT (que não treinou em nenhum ciclo) apresentou um aumento significativo na MC de +4% ($p = 0,04$), +7% ($p < 0,007$) e +4% ($p = 0,005$), respectivamente nas semanas 15, 18 e 21. Já o grupo C-T não apresentou diferença significativa na sua MC na semana 15 ($p = 0,06$); entretanto, apresentou um aumento significativo (+5%, $p = 0,04$) na semana 18 e manteve sem aumento na semana 21 ($p > 0,99$).

O grupo C-TNT, apresentou um aumento significativo de +5% da MC ao fim do primeiro ciclo de treino (T), na semana 15, porém, tanto no ciclo sem treino (N), quanto no último ciclo que voltou a treinar (T), não houve diferença significativa da MC ($p = 0,13$ e $p = 0,24$, respectivamente).

Em relação ao grupo C-NTN, que passou por dois ciclos sem treino, apresentou um aumento significativo da MC (+5%, $p = 0,003$) no primeiro ciclo sem treinar (N); após treinar um ciclo (T), houve aumento de +4% na MC ($p < 0,001$), já no ciclo seguinte, sem treino (N), o aumento da MC foi de +3% ($p = 0,06$).

Fase Pós-HIIT

Após o fim das semanas do HIIT foi realizado o ANOVA de um fator e pós teste de Dunnett T3 para comparar a evolução da MC entre os diferentes grupos. O grupo HF-NT apresentou aumento significativo da MC de +29% ($p < 0,0001$) quando comparado ao grupo C-NT. Entretanto, quando comparado a MC do grupo HF-NT

com o grupo HF-T, observou-se uma redução significativa da MC do grupo HF-T (-11%, $p=0,0010$), figura 8.

De modo semelhante, os grupos que treinaram durante um ou dois ciclos, HF-TNT (-9%, $p=0,0002$) e HF-NTN (-8%, $p=0,0004$), apresentaram MC significativamente menor do que o grupo HF-NT. Os grupos HF-TNT ($p=0,7882$) e HF-NTN ($p=0,7449$) não apresentaram diferença significativa da MC quando comparados ao grupo HF-T. Também não houve diferença significativa da MC final entre os grupos HF-NTN e HF-TNT, figura 8.

Quanto aos grupos que receberam a dieta controle, ao fim do experimento, não foi observada diferença significativa na MC do grupo C-T, quando comparados ao grupo C-NT. Os grupos que ciclaram o treino em um ou dois ciclos, CTNT ($p=0,7655$) e CNTN ($p=0,7359$) também não apresentaram diferença significativa da MC quando comparados ao grupo C-T, tampouco houve diferença significativa da MC entre os grupos C-NTN e C-TNT ($p>0,9999$), figura 8.

4.2 Ingestão alimentar (IA), ganho ponderal (GP) e eficiência alimentar (EA)

Os animais alimentados com dieta controle e hiperlipídica apresentaram a ingestão alimentar (IA) (por grama de ração) semelhante durante todo o experimento. Entretanto, o ganho ponderal (GP) a eficiência alimentar (EA) foi significativamente inferior nos grupos que receberam a dieta controle (C-NT, C-T, C-TNT e C-NTN) em comparação aos seus homólogos que receberam a dieta hiperlipídica (HF-NT, HF-T, HF-TNT e HF-NTN).

A fim de observarmos as alterações durante os ciclos de treino, destreino e retreino, analisamos os resultados da IA, GP e EA, comparando o início e fim de cada ciclo, como segue: ciclo 1 (semana 15 vs. semana 12), ciclo 2 (semana 18 vs. semana 21) e ciclo 3 (semana 21 vs. semana 18).

Ciclo 1: semana 15 vs. semana 12.

Ao fim do ciclo 1, visto na tabela 4, os animais os animais do grupo HF-NT não apresentaram diferença na IA em relação ao grupo C-NT ($p>0,99$). Entretanto, os grupos que treinaram neste ciclo, HF-T e HF-TNT, apresentaram um aumento da IA respectivamente +5% ($p=0,04$) e +7% ($p=0,002$) em comparação ao grupo HF-NT. De forma similar se comportaram os grupos alimentados com dieta controle, onde foi observado um aumento da IA nos grupos C-T (+7%, $p=0,002$) e C-TNT (+7, $p=0,001$) em comparação ao grupo C-NT.

Quanto ao GP, o grupo HF-NT, conforme esperado, apresentou um aumento de +263% ($p<0,001$) em comparação ao grupo C-NT. Entretanto, os demais grupos não apresentaram diferença significativa, o que pode ser visto na tabela 4.

A EA do grupo HF-NT apresentou um aumento de +412% ($p<0,001$) em comparação ao grupo C-NT. Foi observada redução da EA nos grupos que treinaram os três ciclos (HF-T, -38%, $p<0,001$) e curiosamente uma redução ainda maior no grupo que treinou por 2 ciclos (HF-TNT, -44%, $p<0,001$), como visto na tabela 4.

Ciclo 2: semana 18 vs. semana 15.

Ao fim do ciclo 2, como visto na tabela 4, os animais os animais do grupo HF-NT continuaram não apresentando diferença na IA em relação ao grupo C-NT ($p>0,99$). Todavia, os grupos que treinaram neste ciclo, HF-T e HF-NTN, apresentaram um aumento da IA respectivamente +5% ($p=0,03$) e +7% ($p<0,001$) em comparação ao grupo HF-NT; assim como o grupo que não treinou neste ciclo (HF-TNT) prosseguiu apresentando um aumento da IA (+5%, $p=0,03$). Já os grupos alimentados com dieta controle que treinaram, C-T e C-NTN, apresentaram um aumento da IA de +6% ($p=0,01$) e +5% ($p<0,001$), respectivamente em comparação ao seu análogo que não treinou. O grupo que C-TNT (que não treinou neste ciclo) apresentou redução da IA (-4%, $p=0,009$) em comparação ao grupo C-NT.

Em relação ao GP, o grupo HF-NT continuou apresentando um aumento significativo (+106%, $p<0,001$) em relação ao grupo C-NT (figura 13). Entretanto,

todos os grupos de dieta hiperlipídica que treinaram apresentaram uma redução do GP em relação ao grupo HF-NT: HF-T (-33%, $p<0,001$), HF-TNT (-38%, $p<0,001$) e HF-NTN (-37%, $p<0,001$). A mesma redução foi observada nos grupos alimentados com dieta controle, onde houve uma redução do GP dos grupos HF-T, HF-TNT e HF-NTN de -62% ($p<0,001$), -54% ($p<0,001$) e -48% ($p<0,001$), respectivamente.

A EA permaneceu aumentada no grupo HF-NT (+144%, $p<0,001$) em comparação ao seu análogo alimentado com dieta controle. Entretanto, todos os grupos hiperlipídicos que treinaram ou não neste ciclo apresentaram reduções significativas similares da EA em comparação ao grupo HF-NT: HF-T (-30%, $p=0,003$); HF-TNT (-30%, $p=0,001$) e HF-NTN (-36%, $p<0,001$). Também foi vista uma redução da EA nos grupos de dieta controle que treinaram ou não durante este ciclo em comparação ao grupo C-NT: C-T (-31%, $p=0,02$); C-TNT (-38%, $p=0,02$) e surpreendentemente o grupo C-NTN apresentou uma redução de -57% ($p<0,001$).

Ciclo 3: semana 21 vs. semana 18

Ao fim do ciclo 3 (tabela 4), a IA do grupo HF-NT permaneceu sem diferença significativa em comparação ao grupo C-NT ($p=0,94$). Os grupos HF-T (+4%, $p=0,006$), HF-TNT (+5%, $p=0,001$) e HF-NTN (+3%, $p=0,02$) continuaram apresentando aumento da IA em comparação ao seu análogo que não treinou em nenhum ciclo (HF-NT). Já os grupos alimentados com dieta controle que treinaram nesse ciclo, C-T (+6%, $p<0,001$) e C-TNT (+5%, $p=0,001$), apresentaram aumento da IA em comparação ao grupo C-NT.

O GP do grupo HF-NT permaneceu aumentado (+138%, $p<0,001$) em relação ao grupo C-NT. Entretanto, tanto os grupos que treinaram (HF-T, -115%, $p<0,001$ e HF-TNT, -109, $p<0,001$) quanto o grupo que não treinou neste ciclo (HF-NTN, -61%, $p<0,001$) apresentaram uma redução do GP em relação ao grupo HF-NT. Já nos grupos de dieta controle, apenas os grupos que treinaram neste ciclo apresentaram redução do GP (C-T, -133%, $p<0,001$ e C-TNT, -131%, $p<0,001$) em comparação ao grupo C-NT.

A EA do grupo HF-NT permaneceu aumentada (+184%, $p<0,001$) em relação ao grupo C-NT. Já os demais grupos de dieta hiperlipídica (HF-T, -112%, $p<0,001$;

HF-TNT, -106%, $p < 0,001$ e HF-NTN, -68%, $p < 0,001$) apresentaram redução significativa em relação ao grupo HF-NT. Já os grupos alimentados com dieta controle, C-T e C-TNT, apresentaram uma redução de -140% ($p < 0,001$) e -133% ($p < 0,001$), respectivamente. Entretanto, o grupo C-NTN não apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo C-NT ($p = 0,72$).

Tabela 4 - Ingestão alimentar, ganho ponderal e eficiência alimentar

	C-NT	C-T	C-TNT	C-NTN	HF-NT	HF-T	HF-TNT	HF-NTN
Semana 12								
Ingestão alimentar (g/dia)	2.7±0,04				2.6±0,05			
Ganho ponderal (g)	3,7±0,21				6,1±1,3 ^a			
Eficiência alimentar (%)	142,3±16,2				244,9±10,2 ^a			
Semana 15								
Ingestão alimentar (g/dia)	2.6±0.07	2.7±0.04 ^a	2.7±0.03 ^a	2,6±0.06 ^{e,f}	2.5±0.07 ^a	2.7±0,06 ^b	2.7±0,05 ^b	2.5±0,08 ^{c,d}
Ganho ponderal (g)	0.7±0.2	0,7±0.3	0.9±0.1	0.8±0,1	2.5±0.2 ^a	2.2±0.2	2.2±0.2	2.5±0.3
Eficiência alimentar (%)	26.3±11.2	35.2±7.8	43.1±12.8	45.4±12.9	134.8±14.9 ^a	83.8±11.8 ^b	75.5±11 ^b	140.2±13.4 ^{b,c}
Semana 18								
Ingestão alimentar (g/dia)	2.6±0.1	2.7±0.1 ^a	2.6±0.05 ^c	2.7±0.02 ^{a,d}	2.6±0.05	2.8±0.04 ^b	2.7±0.1 ^b	2.8±0.05 ^b
Ganho ponderal (g)	1,7±0.2	0.6±0.3 ^a	0.8±0.2 ^a	0.9±0.1 ^a	3.5±0.3 ^a	2.3±0.4 ^b	2.2±0.3 ^b	2.2±0.3 ^b
Eficiência alimentar (%)	64.97±9	45.0±9 ^a	40.3±13.4 ^a	27.8±6 ^{a,c}	158.6±19.4 ^a	110.5±17.1 ^b	110.7±22.3 ^b	101.9±6.4 ^b
Semana 21								
Ingestão alimentar (g/dia)	2.7±0,05	2.8±0,03 ^a	2.8±0,04 ^a	2.7±0,04 ^{c,d}	2.6±0,03	2.7±0,04 ^b	2.7±0,06 ^b	2.7±0,04 ^b
Ganho ponderal (g)	1.3±0.3	-0.4±0.2 ^a	-0.4±0.1 ^a	0.7±0.4 ^{e,f}	3.0±0.5 ^a	-0.4±0.3 ^b	-0.3±0.3 ^b	1.1±0.6 ^{b,c,d}
Eficiência alimentar (%)	39.9±8.5	-16,3±3.1 ^a	-13.4±2.1 ^a	33.4±3.7 ^{c,d}	113.5±17.9 ^a	-13.8±2.5 ^b	-7.1±6.8 ^b	36.2±18.1 ^{b,c,d}

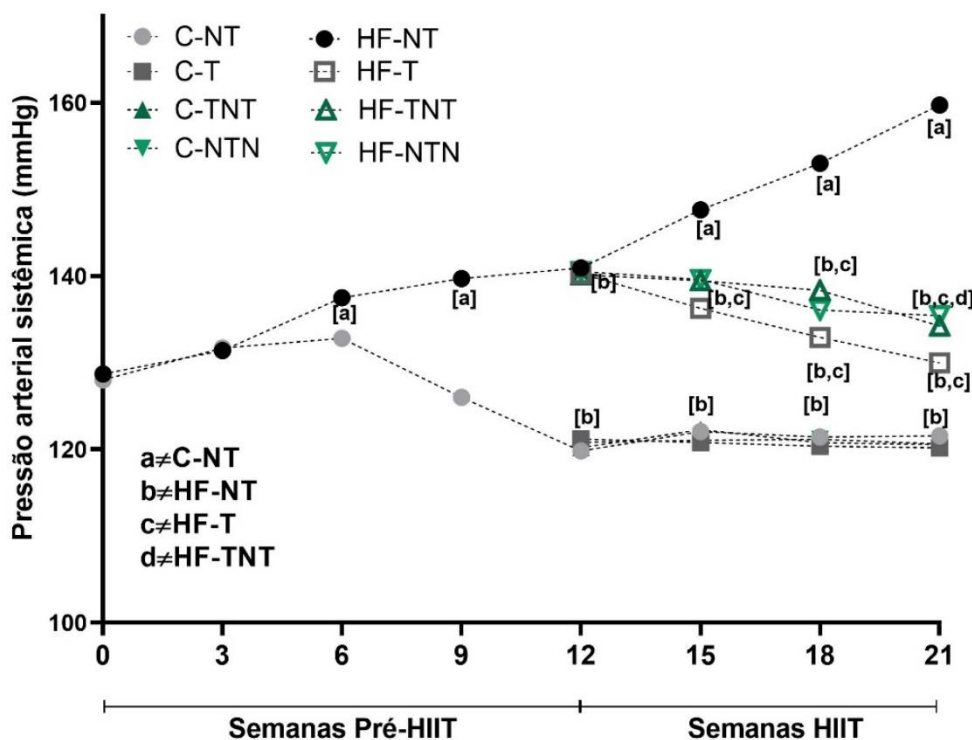
Legenda: Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo <0,05 e n=5. Representa: [a] ≠ C-NT; [b] ≠ HF-NT; [c] ≠ HF-T; [d] ≠ HF-TNT; [e] ≠ C-T; [f] ≠ C-TNT. Nas semanas pré-HIIT, teste t-Student com correção de Welch. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico, não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3.

4.2 Pressão arterial sistólica (PAS)

Fase Pré-HIIT

OS grupos HF-NT e C-NT iniciaram o experimento sem apresentar diferença significativa entre si ($p=0,82$). Ao final das 12 semanas de indução das dietas o grupo HF-NT apresentou um aumento significativo da PAS (+16%, $p<0,001$) quando comparado ao seu análogo de dieta controle, figura 9.

Figura 9 - Evolução da pressão arterial sistólica



Legenda: Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo $<0,05$ e $n=5$. Representa: [a] $\neq$ C-NT, [b] $\neq$ HF-NT, [c] $\neq$ HF-T, [d] $\neq$ HF-TNT. Nas semanas pré-HIIT, teste t-Student com correção de Welch. Nas semanas HIIT, o ANOVA de um fator e correção de Brown-Forsythe and Welch. $P<0,05$ significativo. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico, não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3.

Fase HIIT

Durante as semanas de treinamento, o grupo HF-NT continuou apresentando aumento significativo da PAS em comparação ao grupo C-NT, em tempo cronológico: na semana 15 (+4%, $p<0,001$), semana 18 (+7%, $p<0,001$) e semana 21 (+4%, $p<0,001$) o que pode ser visto na tabela 5. Já o grupo HF-T apresentou uma redução significativa da PAS na semana 15 (-3%, $p<0,001$), semana 18 (-5%, $p<0,001$) e semana 21 (-7%, $p<0,001$).

Tabela 5 - ANOVA de medidas repetidas da pressão arterial sistólica na fase HIIT

Grupos	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3
C-NT	-	-	-
C-T	-	-	-
C-TNT	-	-	-
C-NTN	-	-	-
HF-NT	+4%	+18%	+21%
HF-T	-3%	-5%	-7%
HF-TNT	-1%	-1%	-3%
HF-NTN	-	-2%	-2%

Legenda: Os dados representam a comparação da evolução da massa corporal dos grupos durante dos três ciclos de treino e destreino. Teste estatístico utilizado, ANOVA de medidas repetidas e pós teste de Tukey, $p < 0,05$ significativo. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico, não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3.

O grupo HF-TNT, que treinou por um ou 2 ciclos, comparado ao grupo HF-NT, apresentou uma redução da PAS de -1% ($p=0,02$) ao fim do primeiro ciclo de treino (semana 15). Na semana 18 (ciclo sem treinar), a PAS sistólica seguiu com redução significativa (-1%, $p=0,02$) e ao fim do segundo ciclo de treino (semana 21), a redução da PAS foi mantida significativa (-3%, $p=0,001$).

Já o grupo HF-NTN, que treinou o primeiro ciclo, não treinou no segundo ciclo e voltou a treinar no terceiro ciclo, quando comparado ao grupo HF-NT, ao final do primeiro ciclo, não foi observada diferença significativa da PAS ($p=0,12$), porém ao fim do ciclo de treino (semana 18) foi observado redução significativa de -2% (ANOVA de um fator e pós teste de Dunnett T3, $p<0,001$). Ao fim do segundo ciclo sem treinar (semana 21), não houve diferença significativa na PAS ($p=0,17$).

Fase Pós-HIIT

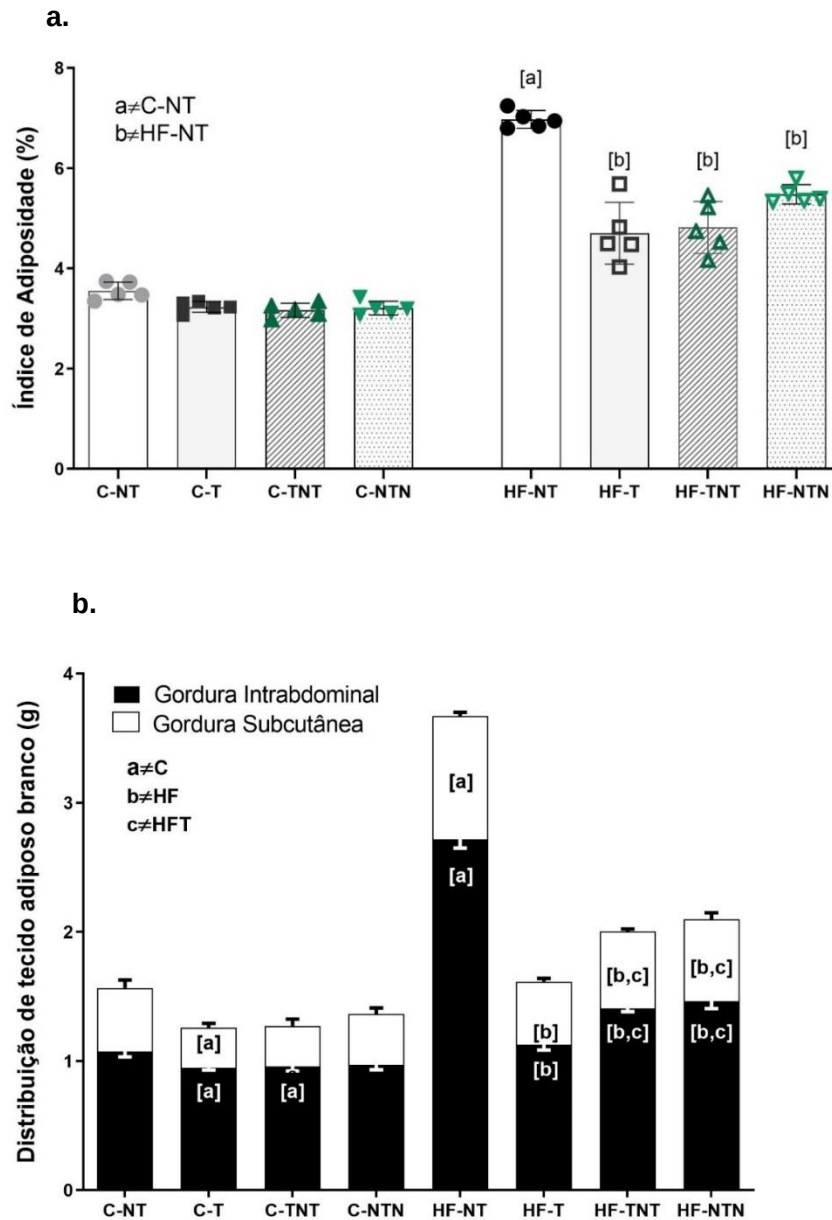
Ao término do experimento, os grupos que receberam a dieta controle permaneceram sem apresentar diferenças significativas na PAS. Já o grupo HF-NT apresentou aumento significativo da PAS (+33%, $p<0,001$) em comparação ao grupo C-NT, figura 9. O grupo HF-T, que treinou os três ciclos, apresentou uma redução de -20% ($p<0,001$) quando comparado ao grupo HF-NT, tabela 5.

Quanto aos grupos que ciclaram entre treino e destreino, estes também apresentaram redução expressiva da PAS quando comparados ao grupo HF-NT, e bem similar ao grupo que treinou por todo experimento, onde: HF-TNT, -17% ($p=0,02$) e HF-NTN, -16% ($p<0,001$), tabela 5.

4.3 Índice de adiposidade e distribuição do tecido adiposo

O grupo HF-NT apresentou aumento da massa de gordura intra-abdominal (+153%, $p<0,001$) e subcutânea (+93%, $p<0,001$) quando comparado ao grupo C-NT (figura 10 a). Os ciclos de treino reduziram os compartimentos de gorduras intra-abdominal e subcutâneas, respectivamente dos: HFT, -58% e -48% ($p<0,001$, $p<0,001$); HFTNT, -48% e -37% ($p<0,001$, $p<0,001$) e HFNTN -46% e -33% ($p<0,001$, $p<0,001$) em comparação ao grupo HF-NT.

Figura 10 - Parâmetros do tecido adiposo.

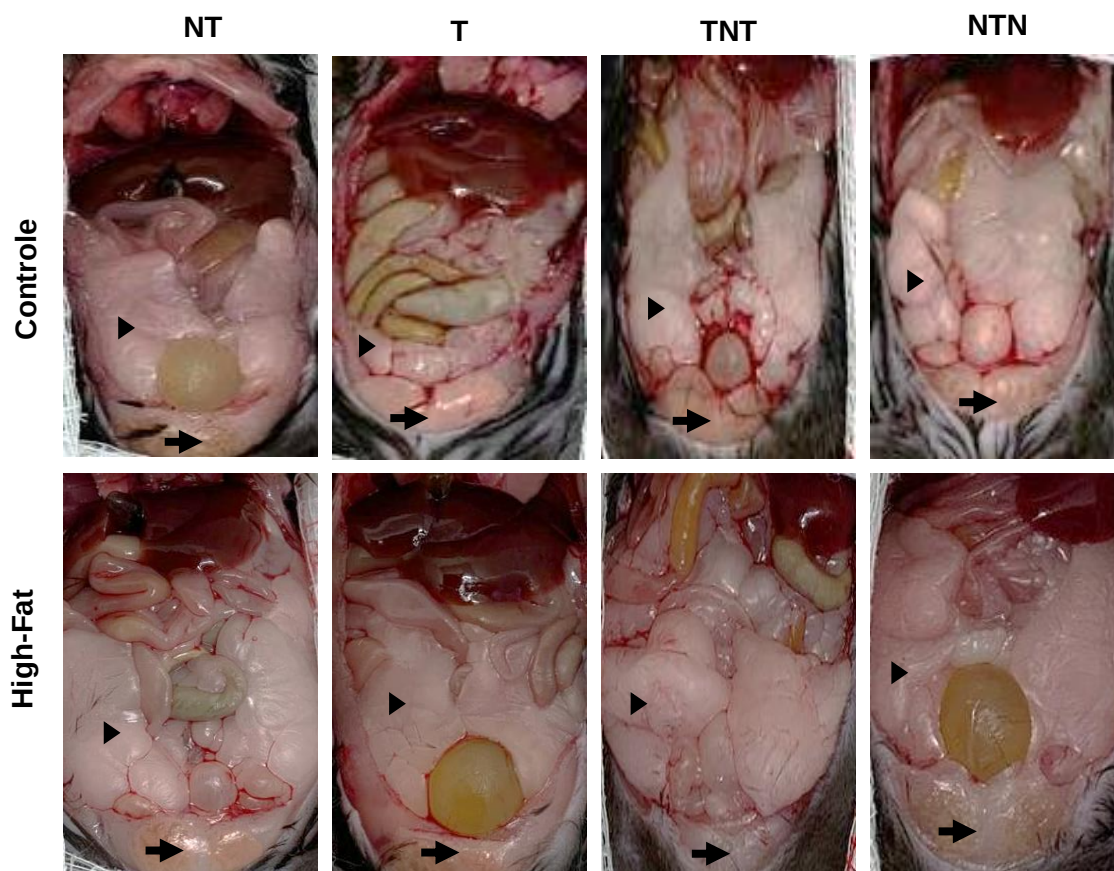


Legenda: Na figura a, índice de adiposidade e em b, distribuição de tecido adiposo. Representa: [a] ≠ C-NT, [b] ≠ HF-NT, [c] ≠ HF-T. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3. Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo <0,05 e n=5. Análise estatística utilizada: ANOVA de um fator e correção de Brown-Forsythe and Welch.

Os compartimentos de tecido adiposo estão apresentados de acordo com a distribuição intra-abdominal e subcutânea, figura 10 b. Considerando o tempo destinado ao treino, foi observado um aumento tanto da massa de gorduras intra-abdominal quanto subcutânea nos grupos que ciclaram o HIIT em comparação ao grupo HFT: o grupo HFTNT apresentou aumento de +24% de gordura intra-abdominal e +21% na subcutânea ($p < 0,001$ e $p = 0,002$, respectivamente); assim como o grupo HFNTN apresentou +30% ($p < 0,001$) e +29% ($p = 0,02$). Não houve diferença significativa entre os grupos HFNTN e HFTNT em nenhum parâmetro ($p = 0,93$ e $p = 0,68$, gorduras intra-abdominal e subcutânea, respectivamente), figura 10 b.

Houve uma redução das gorduras intra-abdominal (-11%, $p = 0,02$) e subcutânea (-36%, $p = 0,02$) do grupo CT quando comparado ao grupo C-NT. O HIIT também promoveu redução no grupo CTNT tanto na gordura intra-abdominal (-10%, $p = 0,03$) e subcutânea (-36%, $p = 0,02$), figura 10 b.

Figura 11 - Fotografias da cavidade abdominal dos camundongos C57Bl/6.



Legenda: Nas fotografias observa-se no grupo HF-NT houve maior deposição de tecido adiposo epididimário (cabeça de seta) e subcutâneo (seta) quando comparada ao grupo C-NT. Os ciclos de treinamento com o HIIT reduziram a quantidade de tecido adiposo nos grupos comparados a suas contrapartes, corroborando com os dados apresentados no gráfico acima. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3.

Fonte: A autora, 2023.

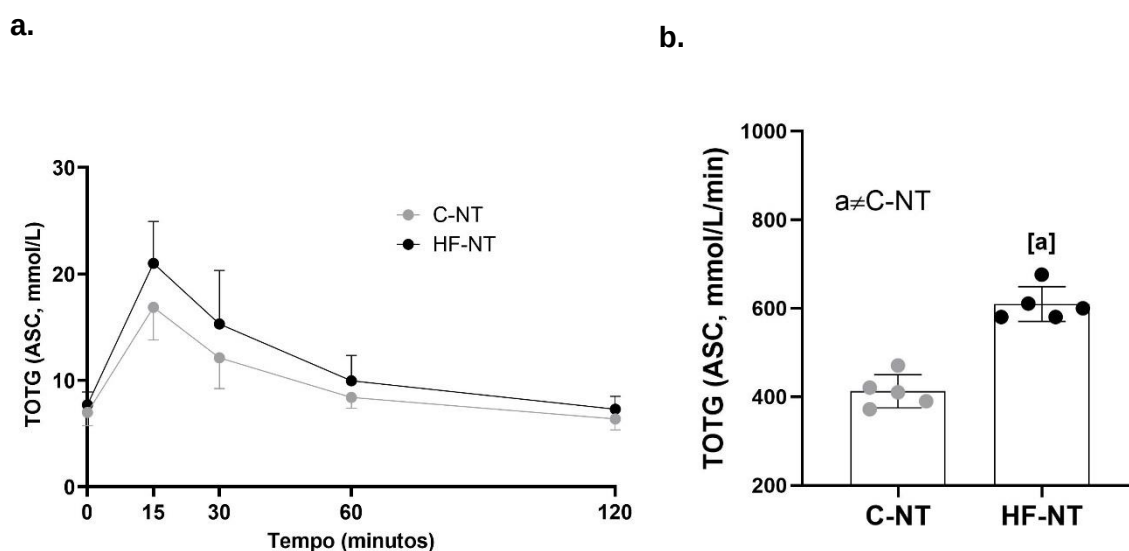
4.4 Metabolismo dos carboidratos

Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

Fase Pré-HIIT

O TOTG realizado no final do pré-HIIT mostrou que os dos animais do grupo HF-NT, apresentaram intolerância a glicose quando comparado ao grupo C-NT, demonstrado com maior área sob a curva (ASC) (+42%, $p < 0,001$), mostrando um atraso no restabelecimento ao padrão basal da glicemia após sobrecarga de glicose, figura 12.

Figura 12 – Teste de tolerância à glicose na fase Pré-HIIT



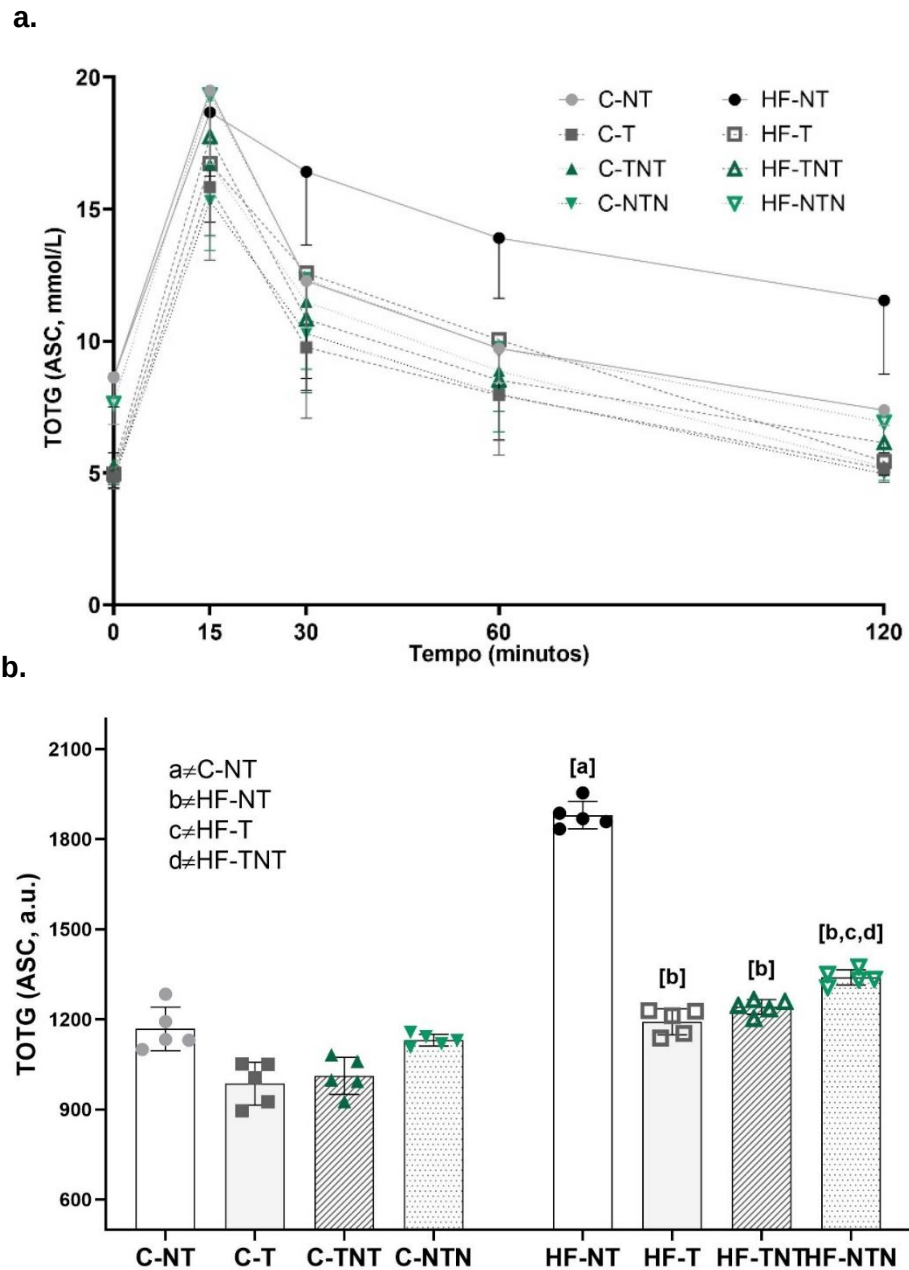
Legenda: em a, é apresentado a área sob a curva do teste oral à glicose no período pré-HIIT; em b, o gráfico da área sob a curva no período pré-HIIT. Grupos: C-NT, controle não treinado; HF-NT, hiperlipídico não treinado. Análise estatística utilizada: teste t-Student com correção de Welch e $P < 0,05$ significativo.

Fase Pós-HIIT

Ao final do HIIT, os grupos alimentados com dieta controle não apresentaram diferenças significativas entre si, já o grupo HF-NT apresentou maior intolerância à glicose (+61%, $p < 0,001$) quando comparado ao grupo C-NT. Quanto aos grupos que receberam dieta hiperlipídica e que treinou os 3 ciclos (HF-T: -37%, $p < 0,001$), quanto os grupos que ciclaram o treino (HF-TNT: -34%, $p < 0,001$ e HF-NTN: -29%, $p < 0,001$)

apresentaram redução significativa na ASC em comparação ao grupo HF-NT, na figura 13.

Figura 13 – Teste de tolerância à glicose na fase Pós-HIIT



Legenda: em a, é apresentado a área sob a curva do teste oral à glicose no período pós-HIIT; em b, o gráfico da área sob a curva no período pós-HIIT. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3. Análise estatística utilizada: ANOVA de um fator e correção de Brown-Forsythe and Welch.

Glicemia de jejum

Quanto à glicemia em jejum, os grupos alimentados com a dieta controle não apresentaram diferença significativa entre si. O grupo HF-NT apresentou um aumento significativo (77%, $p < 0,001$) em comparação ao grupo C-NT. Já os grupos que receberam a dieta hiperlipídica e que treinaram, apresentaram redução da glicemia de jejum: HF-T (-40%, $p < 0,001$), HF-TNT (-39%, $p = 0,001$) e HF-NTN (-24%, $p = 0,02$) quando comparados ao grupo HF-NT, tabela 6.

Insulina plasmática

A concentração de insulina plasmática dos grupos alimentados com dieta controle não apresentou diferença significativa.

O grupo HF-NT apresentou aumento significativo (+72%, $p < 0,001$) quando comparado ao grupo C-NT. Todos os grupos que receberam dieta hiperlipídica e que treinaram, apresentaram melhora em comparação ao grupo HF-NT: HF-T (-21%, $p < 0,001$), HF-TNT (-20%, $p < 0,001$) e HF-NTN (-15%, $p = 0,002$), tabela 6.

QUICKI e HOMA-IR

A sensibilidade à insulina foi detectada através do QUICKI. Não foi observada diferença significativa entre os grupos controle. O grupo HF-NT apresentou uma redução da sensibilidade à insulina quando comparado ao grupo C-NT (-9%, $p = 0,006$). Todos os grupos que receberam dieta hiperlipídica e que treinaram constante ou por algum ciclo, apresentaram melhora na sensibilidade à insulina quando comparados ao grupo HF-NT: HF-T (+10%, $p = 0,006$); HF-TNT (+7%, $p = 0,002$) e HF-NTN (+7%, $p = 0,01$), tabela 6.

O grupo HF-NT apresentou o maior índice de HOMA-IR, ou seja, uma maior resistência à insulina quando comparado ao grupo C-NT (+101%, $p = 0,007$). O HIIT melhorou a resistência à insulina dos grupos HF-T (-52%, $p = 0,007$), HF-TNT (-40%, $p = 0,03$) e HF-NTN (-38%, $p = 0,03$) em comparação ao grupo HF-NT, tabela 6. Entre os grupos controle não foi observada diferença significativa.

4.5 Bioquímica plasmática

Triglicerídeos plasmáticos

Não foram observadas diferenças significativas na dosagem plasmática de triglicerídeos entre os grupos alimentados com dieta controle. Entretanto, o grupo HF-NT apresentou um aumento significativo (+56%, $p<0,001$) em comparação com o grupo C-NT. Os subgrupos de dieta hiperlipídica apresentaram diferenças significativas relacionadas ao HIIT em comparação ao grupo HF-NT com ênfase na redução de -27% no grupo HF-T ($p<0,001$), -24% no grupo HF-TNT ($p<0,001$) e -8% no grupo HF-NTN ($p<0,001$), tabela 6.

Colesterol total plasmático

O grupo HF-NT apresentou um aumento de +52% em relação ao grupo C-NT ($p<0,001$), o que reflete os prejuízos causados pela dieta hiperlipídica. Os grupos que treinaram os 3 ciclos, HF-T, assim como o grupo que ciclou o treino, HF-TNT, apresentaram reduções significativas em comparação com o grupo HF-NT, respectivamente: -21% ($p<0,001$) e -13% ($p=0,002$), tabela 6. Entre os grupos alimentados com dieta controle, apenas o grupo C-NTN apresentou diferença de +5% ($p=0,04$) em relação ao grupo C-TNT.

Alanina aminotransferase (ALT)

Foi observado um aumento significativo da ALT no grupo HF-NT (+26%, $p=0,006$) quando comparado ao grupo C-NT, entretanto, todos os grupos que treinaram apresentaram melhora quando comparados ao grupo que não treinou: HF-T (-23%, $p=0,002$), HF-TNT (-16%, $p=0,03$) e HF-NTN (-11%, $p=0,02$). Entre os grupos de dieta controle, o grupo C-T apresentou uma redução de -18% ($p=0,03$) quando comparado ao grupo C-NT, tabela 6.

Aspartato aminotransferase

Os grupos de dieta controle não apresentaram diferenças significativas na concentração de AST, já o grupo HF-NT apresentou um aumento de +127% ($p < 0,001$) quando comparado ao grupo C-NT. Entretanto, o grupo HF-T (-40%, $p = 0,002$) e os que ciclaram o treino, HF-TNT (-39%, $p < 0,001$) e HF-NTN (-33%, $p = 0,004$), apresentaram reduções significativamente similares nas concentrações de AST em relação ao grupo HF-NT, tabela 6.

Leptina plasmática

O grupo HF-NT apresentou um aumento da concentração de leptina em relação ao grupo C-NT (+520%, $P < 0,001$), tabela 6. Todavia, todos os grupos que treinaram ou ciclaram entre períodos em que treinaram ou não treinaram apresentaram redução significativa quando comparados ao grupo HF-NT: HF-T (-63%, $P < 0,001$); HF-TNT (-61%, $P < 0,001$) e HF-NTN (-45%, $P < 0,001$). Quanto aos grupos de dieta controle, apenas o grupo C-NTN não apresentou diferença significativa na concentração de leptina quando comparado ao grupo C-NT ($P > 0,99$).

Tabela 6 – Bioquímica plasmática

	C-NT	C-T	C-TNT	C-NTN	HF-NT	HF-T	HF-TNT	HF-NTN
Glicemia de jejum (mmol/L)	0.3±0.03	0.3±0.02	0.3±0.02	0.3±0.01	0.5±0.03 ^[a]	0.3±0.03 ^[b]	0.3±0.04 ^[b]	0.3±0.03 ^[b]
Insulina (pg/mL)	12.3±0.6	12.1±0.4	11.7±1.0	12.9±0.5	21.2±0.7 ^[a]	16.7±0.6 ^[b]	16.9±0.5 ^[b]	17.9±0.4 ^[b]
QUICKI	0.3±0.04	0.3±0.02	0.3±0.01	0.3±0.02	0.3±0.01 ^[a]	0.3±0.01 ^[b]	0.3±0.01 ^[b]	0.3±0.01 ^[b]
HOMA-IR	2.8±0.6	2.6±0.3	2.5±0.4	3.2 ±0.4	5.5±1.0 ^[a]	2.7±0.4 ^[b]	3.3±0.3 ^[b]	3.4±0.5 ^[b]
Triacilglicerol (mg/dL)	57.0±0.4	56.1±0.3	56.6±0.5	56.1±1.0	88.7±0.5 ^[a]	64.5±0.6 ^[b]	66.7±0.5 ^[b,c]	81.6±1.0 ^[b,c,d]
Colesterol total (mg/dL)	114.3±5.8	106.3±5.1	110.2±2.1	115.3±1.4 ^[f]	173.5±5.6 ^[a]	136.6±3.8 ^[b]	150.6±4.8 ^[b,c]	167.2±3.8 ^[c,d]
ALT (mg/dL)	24.0±1.6	19.6±1.3 ^[a]	23.6±2.4	23.2±1.6	30.2±1.6 ^[a]	23.4±1.1 ^[b]	25.8±0.8 ^[b]	26.8±0.8 ^[c]
AST (mg/dL)	90.4±14.8	79.2±3.6	90.4±10.2	100.6±14.3	205.2±15.9 ^[a]	123.0±6.3 ^[b]	123.8±7.1 ^[b]	136.2±5.9 ^[b]
Leptina (10 ⁻² pg/mL)	24.1±2,7	15.0±0,9 ^[a]	17.0±0,9 ^[a]	24.3±2,4 ^[d,e]	149,2±5.8 ^[a]	54,5±7.9 ^[b]	58,6±11.3 ^[b]	81,5±6.2 ^[b,c]

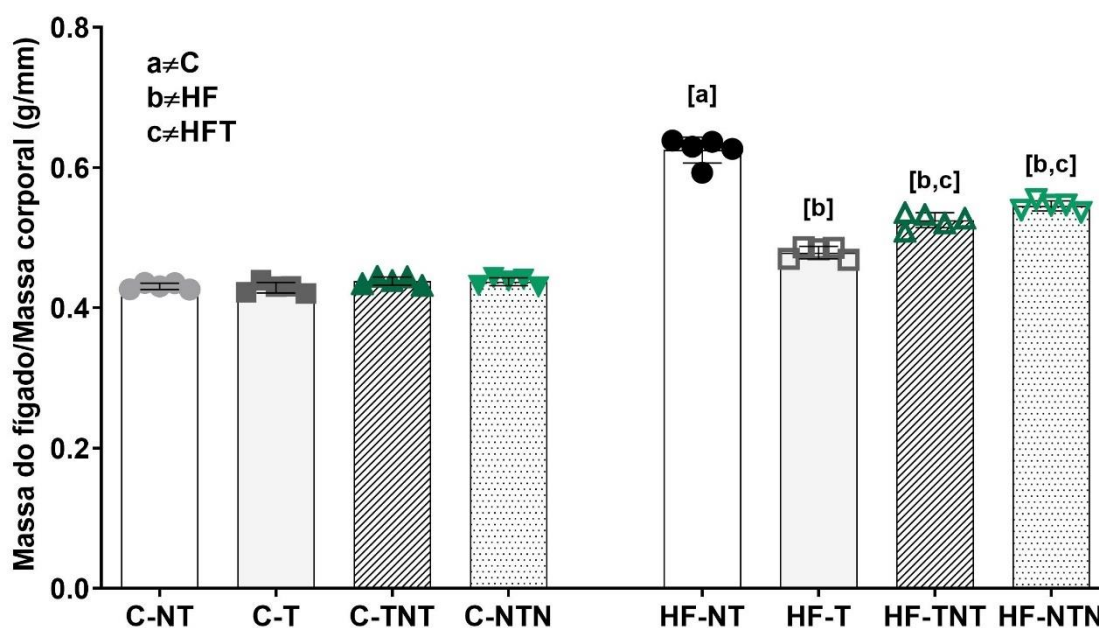
Legenda: Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo <0,05 e n=5. Representa: [a] ≠ C-NT; [b] ≠ HF-NT; [c] ≠ HF-T; [d] ≠ HF-TNT; [e] ≠ C-T; [f] ≠ C-TNT. Nas semanas pré-HIIT, teste t-Student com correção de Welch. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico, não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3.

4.6 Parâmetros hepáticos

Massa do fígado

Não houve diferença na massa hepática entre os grupos alimentados com dieta controle, porém o grupo HF-NT apresentou um aumento significativo (+45%, $p < 0,001$) quando comparado ao grupo C-NT. O HIIT reduziu da massa do fígado nos grupos HF-T (-21%, $p < 0,001$); HF-TNT (-16%, $p < 0,001$) e HF-NTN (-13%, $p = 0,004$) quando comparados ao grupo HFNT, figura 14.

Figura 12 - Massa hepática

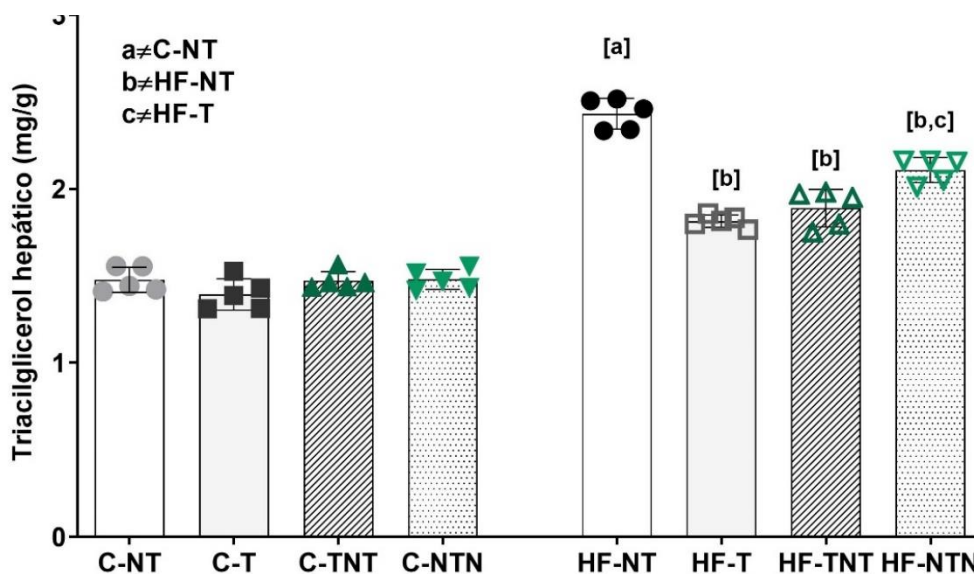


Legenda: Massa do fígado corrigido pela massa corporal. Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo $< 0,05$ e $n=5$. Representa: [a] $\neq$ C-NT, [b] $\neq$ HF-NT, [c] $\neq$ HF-T, [d] $\neq$ C-T, [e] $\neq$ C-TNT. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3. Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo $< 0,05$ e $n=5$. Análise estatística utilizada: ANOVA de um fator e correção de Brown-Forsythe and Welch.

Triacilglicerol hepático

Não houve diferença significativa entre os grupos de dieta controle. O grupo HF-NT apresentou um aumento do acúmulo de triglicerídeos hepáticos de +64% ($p < 0,0001$) quando comparado ao grupo C-NT. O grupo HF-T apresentou uma redução significativa dos triglicerídeos hepáticos de -25% ($p < 0,0001$) quando comparado ao grupo HF-NT. O HIIT também parece ter beneficiado a redução dos triglicerídeos hepáticos nos grupos que ciclaram o treinamento do HIIT quando comparados ao grupo HF-NT: o grupo HF-TNT apresentou a redução de -22% ($p < 0,001$) e o grupo HF-NTN, -13% ($p = 0,004$). Contudo, considerando o tempo destinado ao HIIT, o grupo HF-NTN apresentou um aumento significativo dos triglicerídeos plasmáticos (+16%, $p = 0,003$) quando comparado ao grupo HF-T e não houve diferença significativa entre os grupos HF-NTN e HF-T (+4%, $p = 0,92$), figura 15.

Figura 13 - Triacilglicerol hepático



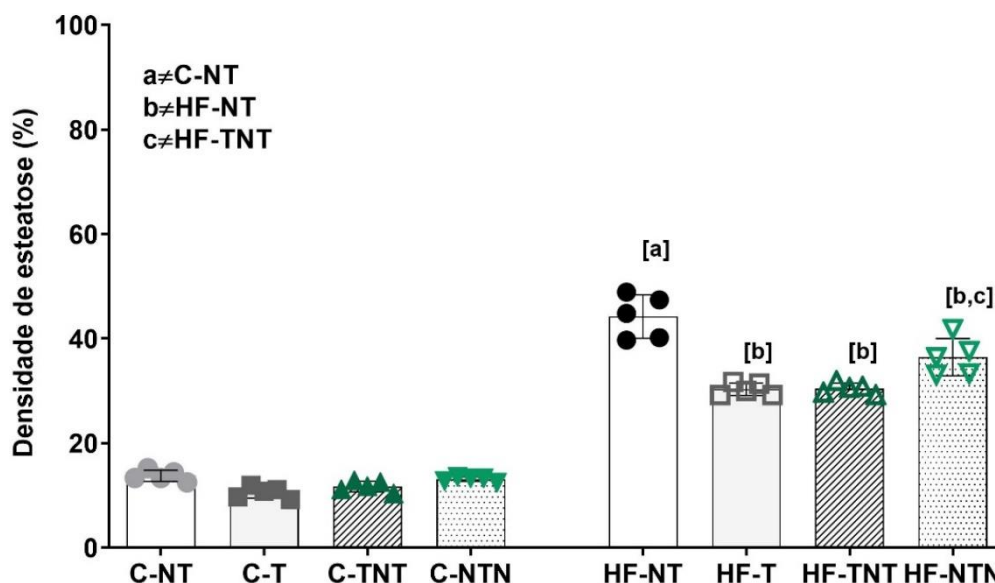
Legenda: Triacilglicerol hepático. Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo $< 0,05$ e $n=5$. Representa: [a] $\neq$ C-NT, [b] $\neq$ HF-NT, [c] $\neq$ HF-T, [d] $\neq$ C-T, [e] $\neq$ C-TNT. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3. Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo $< 0,05$ e $n=5$. Análise estatística utilizada: ANOVA de um fator e correção de Brown-Forsythe and Welch.

Esteatose hepática

O grupo HF-NT apresentou maior porcentagem de esteatose hepática (figura 16) quando comparado ao grupo C-NT (+104%, $p<0,001$). O HIIT promoveu benefícios na redução da densidade de esteatose hepática do grupo HF-T, que apresentou uma redução significativa, cerca de -38%, quando comparado com o grupo HF-NT ($p<0,001$).

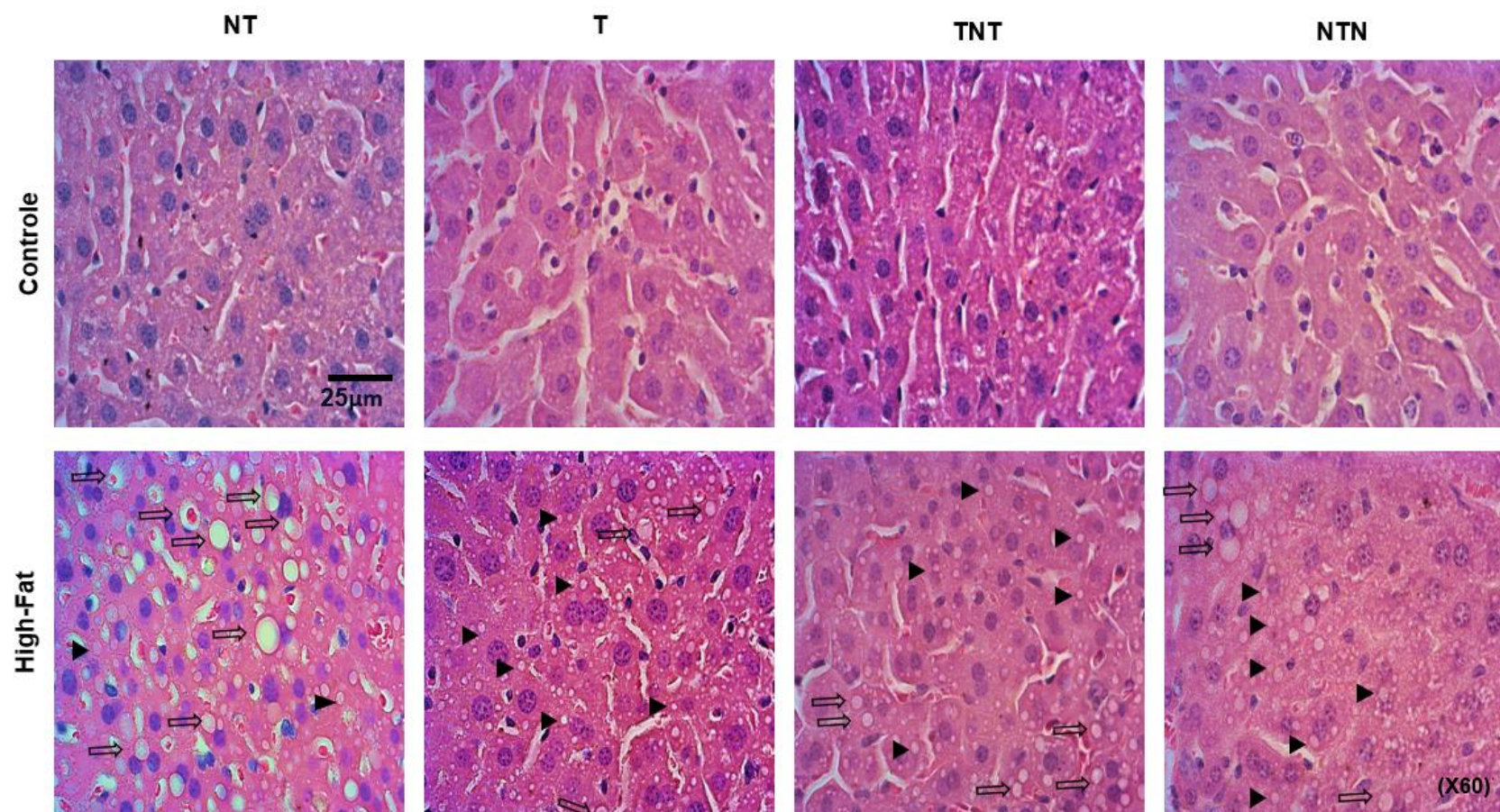
Os grupos que ciclaram o treinamento: HF-TNT (-29%, $p<0,001$) e HF-NTN (-13%, $p=0,03$) também apresentaram redução significativa da esteatose hepática quando comparados ao grupo HF-NT. Curiosamente, não houve diferença significativa ($p=0,45$) entre os grupos HF-TNT, que treinou por 2 ciclos e HF-T, que treinou em todos os ciclos.

Figura 14 - Densidade de esteatose hepática



Legenda: Triacilglicerol hepático. Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo $<0,05$ e $n=5$. Representa: [a] $\neq$ C-NT, [b] $\neq$ HF-NT, [c] $\neq$ HF-T, [d] $\neq$ C-T, [e] $\neq$ C-TNT. Grupos: C-NT, controle não treinado; C-T, controle treinado durante os 3 ciclos; C-TNT, controle treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; C-NTN, controle não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3; HF-NT, hiperlipídico não treinado; HF-T, hiperlipídico treinado durante os 3 ciclos; HF-TNT, hiperlipídico treinado no ciclo 1, não treinado no ciclo 2 e treinado no ciclo 3; HF-NTN, hiperlipídico não treinado no ciclo 1, treinado no ciclo 2 e não treinado no ciclo 3. Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo $<0,05$ e $n=5$. Análise estatística utilizada: ANOVA de um fator e correção de Brown-Forsythe and Welch.

Figura 15 - Fotomicrografia do tecido hepático



Legenda: A fotomicrografia do tecido hepático corado em H&E corrobora com os dados anteriores, em que o grupo HF-NT apresenta microgotículas (setas) e algumas macrogotículas lipídicas (cabeça de seta) nos hepatócitos em comparação com o grupo C-NT que apresenta o parênquima hepático preservado. Por outro lado, o grupo HL-T mostrou presença reduzida das gotículas lipídicas nos hepatócitos em comparação ao grupo HF-NT, barra de calibração 50µm; mesma ampliação para todas as imagens (60x).

Expressão gênica da via lipogênica hepática

A expressão do gene *Srebp1c* no grupo Hf-NT apresentou um aumento na expressão gênica, de +38% ($p=0,002$) quando comparado ao grupo C-NT. Houve menor expressão gênica de *Srebp1c* no grupo HF-T em relação ao grupo HF-NT (-25%, $p=0,01$), figura 18 a.

O grupo que treinou por 2 ciclos, HF-TNT, apresentou uma redução de -19% ($p=0,05$) quando comparado ao grupo HF-NT, entretanto, o grupo que treinou apenas 1 ciclo, HF-NTN, se comportou igual ao HF-NT ($p>0,99$), figura 18 a.

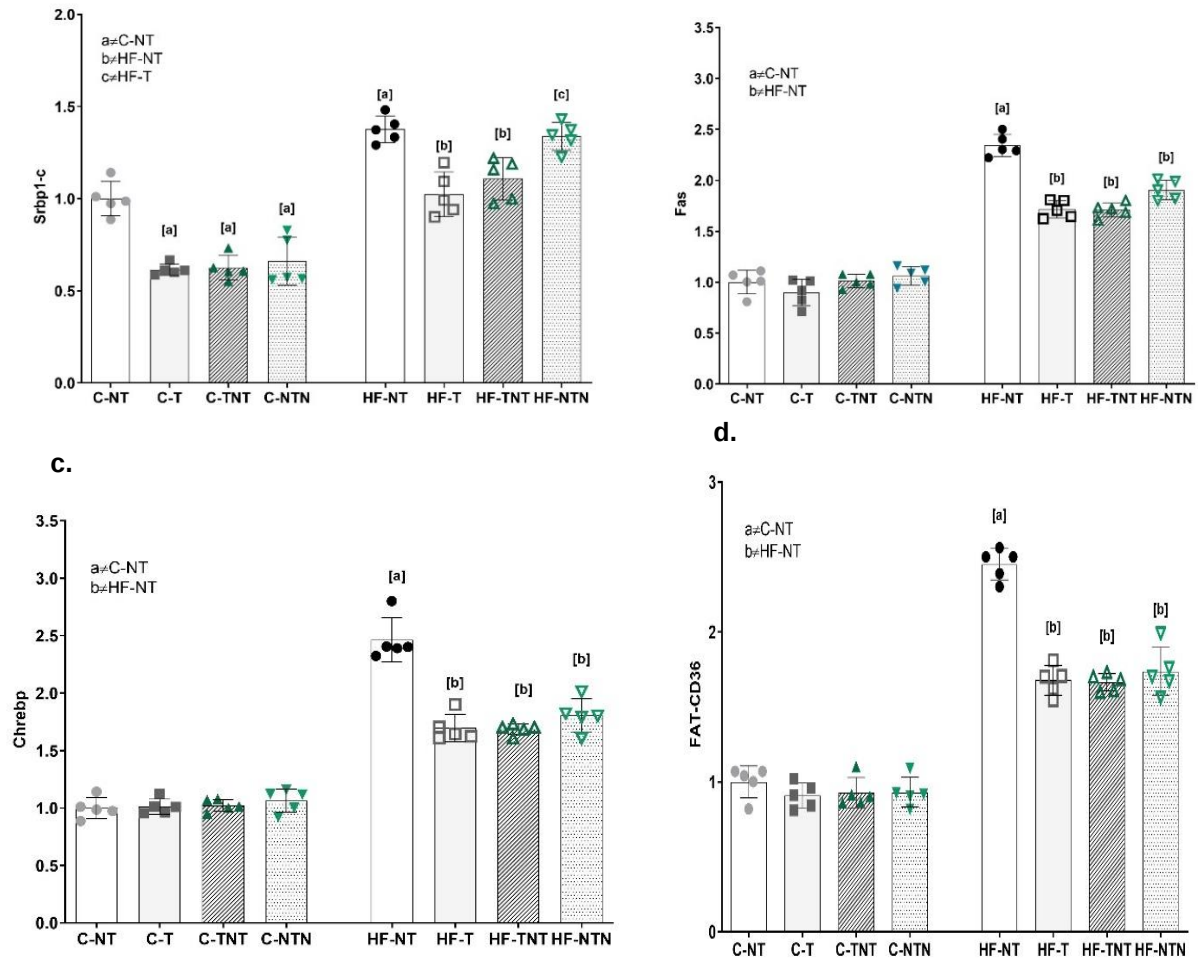
Quanto aos grupos controle, houve redução da expressão do gene *Srebp1c* em todos os grupos que treinaram nos diferentes ciclos: C-T, -38% ($p=0,004$); C-TNT, -37% ($p=0,003$) e C-NTN, -34% ($p=0,03$) quando comparados ao grupo C-NT, figura 18 a.

O *Cherbp*, figura 18 b, também apresentou aumento na expressão gênica no grupo HF-NT em relação ao grupo C-NT (+146%, $p<0,001$). Todavia, houve diminuição significativa em todos os grupos que treinaram: HF-T, -31% ($p=0,002$); HF-TNT, -31% ($p=0,01$) e HF-NTN, -27% ($p=0,008$) quando comparados ao grupo HF-NT.

A expressão gênica da *Fas* apresentou-se elevada no grupo HF-NT quando comparado ao grupo C-NT (+134%; $p<0,001$). Entretanto, os grupos que receberam dieta hiperlipídica e que treinaram por todo o experimento, inclusive os grupos que ciclaram entre períodos de treino e destreino, apresentaram menor expressão gênica dessa enzima: HF-T, -27% ($p<0,001$); HF-TNT, -27% ($p<0,001$) e HF-NTN, -19% ($p=0,003$) em relação ao grupo HF-NT, figura 18 c.

O gene *FAT-CD36*, apresentou aumento significativo de sua expressão no grupo HF-NT (+145%, $p<0,001$) quando comparado ao grupo C-NT. Entretanto, os dois grupos alimentados com dieta hiperlipídica, que ciclaram os períodos de treinamento, apresentaram reduções semelhantes na expressão gênica do *FAT-CD36* ao grupo que treinou durante os 3 ciclos: HF-T, -32% ($p<0,001$), HF-TNT, -32% ($p<0,001$) e HF-NTN, -29% ($p=0,001$) em comparação ao grupo HF-NT, figura 18 d.

Figura 16 - Expressão gênica da via lipogênica hepática

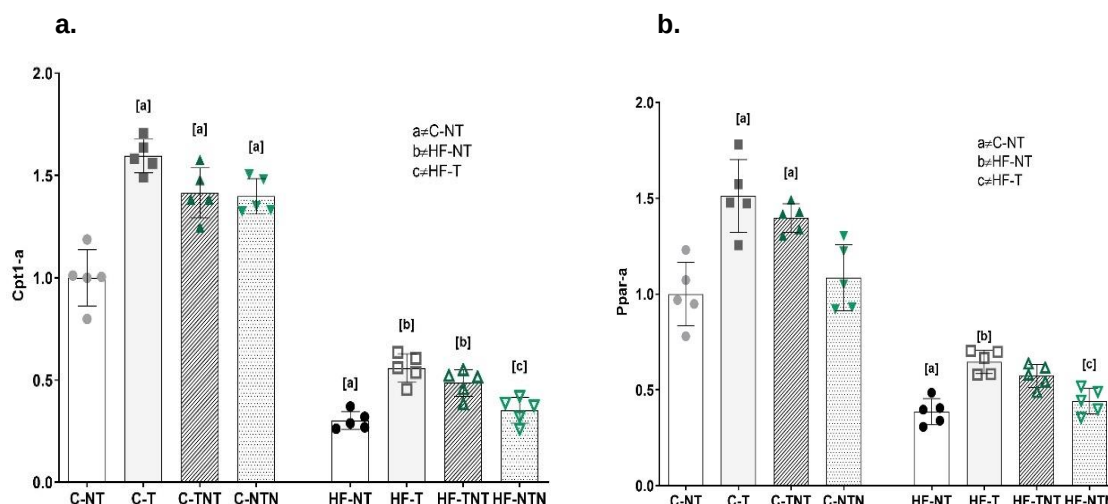


Legenda: Níveis de expressão gênica, em a, proteína de ligação ao elemento regulador de esteróis (Srbp1-c); em b, proteína de ligação ao elemento responsiva a carboidratos (Chrebp), em c, sintase de ácidos graxos (Faz) e em d, translocase de ácidos graxos (FAT-CD36). Os genes selecionados foram normalizados pela expressão gênica da proteína constitutiva gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (Gapdh). Representa: [a] ≠ C-NT, [b] ≠ HF-NT, [c] ≠ HF-T, [d] ≠ HF-TNT. Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo <0,05 e n=5. Análise estatística utilizada: ANOVA de um fator e correção de Brown-Forsythe and Welch.

Expressão gênica da via da β -oxidação hepática

O grupo HF-NT apresentou uma redução de -61% ($p=0,008$) da expressão gênica do *Ppara* em comparação com o grupo C-NT. Entretanto, o grupo HF-T apresentou aumento de +67% em comparação com o grupo HF-NT ($p=0,004$). O grupo HF-TNT também apresentou aumento da expressão do *Ppara* comparado ao grupo HF-NT (+48%, $p=0,03$). Não houve diferença significativa entre os grupos HF-TNT e HF-T ($p=0,86$), tampouco entre HF-NTN e HF-TNT ($p=0,17$). Os grupos de dieta controle, C-T e C-TNT, também apresentaram um aumento de +51% ($p=0,03$) e +40% ($p=0,04$), respectivamente, quando comparados a seu análogo que não treinou em nenhum ciclo, figura 19 a.

Os níveis do gene *Cpt1-a* foram mais baixos no grupo HF-NT em comparação ao grupo C-NT (-70%, $p=0,002$). Os ciclos de treinamento com o HIIT provocou a melhora da expressão gênica dos grupos HF-T (+85%, $p=0,004$) e HF-TNT (+60%, $p=0,02$) em comparação ao grupo HF-NT. Não houve diferença entre os grupos que ciclaram o treino HF-NTN e HF-TNT ($p=0,17$). De maneira semelhante se comportaram os grupos de dieta controle, onde houve um aumento de +60% ($p=0,001$) e +41% ($p=0,02$) dos grupos C-T e C-TNT, respectivamente, quando comparados ao grupo C-NT, figura 19 b.

Figura 17 - Expressão gênica da via da β -oxidação hepática

Legenda: Níveis de expressão gênica, em a, carnitina palmitoil transferase (Cpt1a) e em b, receptor ativado por proliferador de peroxissoma α . Os genes selecionados foram normalizados pela expressão gênica da proteína constitutiva gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (Gapdh). Representa: [a] $\neq$ C-NT, [b] $\neq$ HF-NT, [c] $\neq$ HF-T. Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo $<0,05$ e $n=5$. Análise estatística utilizada: ANOVA de um fator e correção de Brown-Forsythe and Welch.

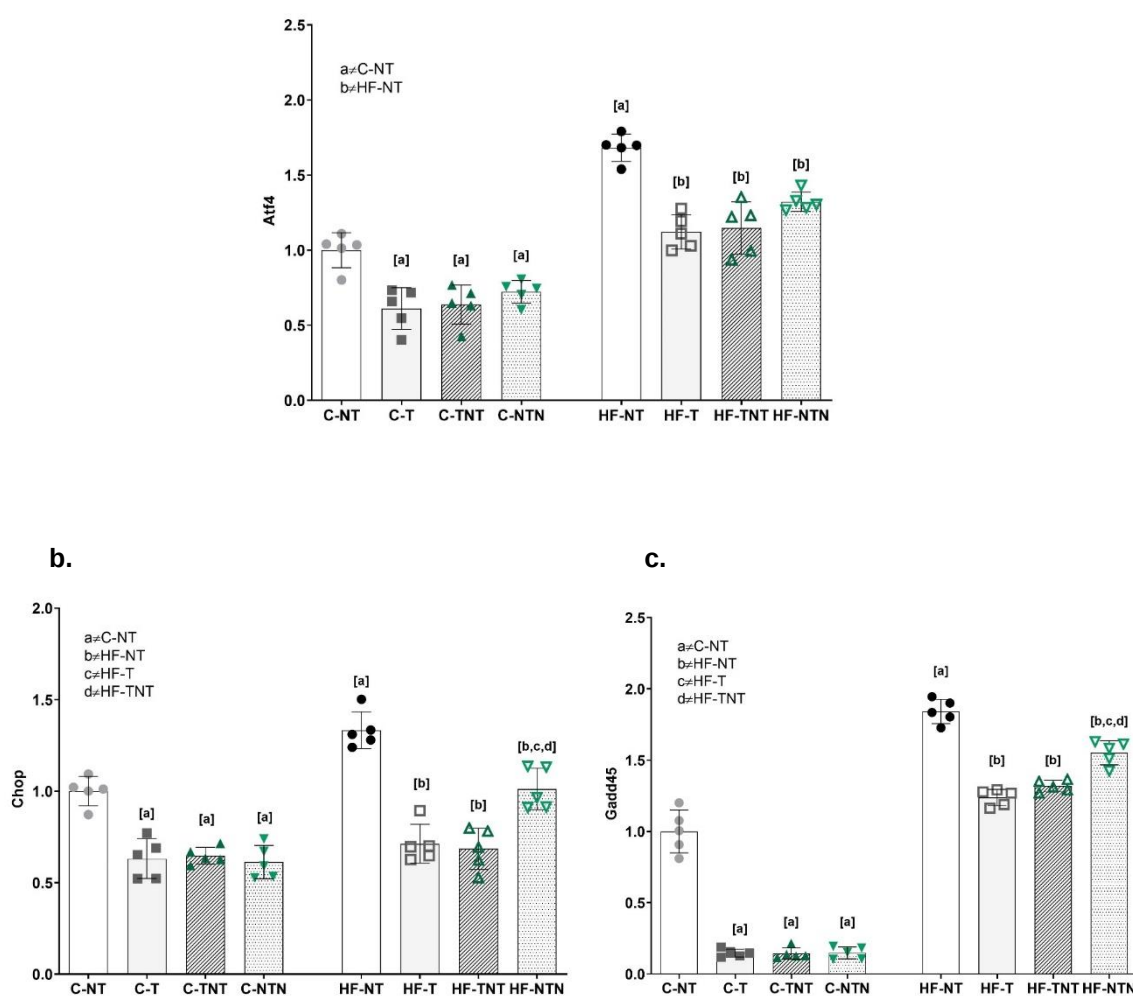
Expressão gênica da via do estresse do retículo endoplasmático hepática

A expressão gênica do *Atf4* no grupo HF-NT foi significativamente maior em relação ao grupo C-NT (+68%, $p<0,001$). Após o HIIT, todos os grupos alimentados com dieta hiperlipídica, que treinaram apresentaram expressão reduzida em relação ao grupo HF-NT: HF-T (-33%, $p<0,001$), HF-TNT (-32%, $p=0,01$) e HF-NTN (-21%, $p=0,003$). Os grupos de dieta controle que treinaram, C-T, C-TNT e C-NTN, também apresentaram redução quando comparados ao grupo C-NT: -39% ($p=0,02$), -36% ($p=0,03$) e -28% ($p=0,05$) respectivamente, dados representados na figura 20 a.

A expressão gênica de *Chop* (figura 20 b) foi maior no grupo HF-NT quando comparado ao grupo C-NT (+33%, $p=0,008$), e houve uma diminuição nos grupos HF-T, HF-TNT e HF-NTN em relação ao grupo HF-NT: -47% ($p<0,001$), -48% ($p<0,001$) e -24% (0,03), respectivamente. Observou-se, também, redução nos grupos de dieta controle que treinaram em relação ao grupo C-NT: C-T (-37%, $p=0,009$), C-TNT (-35%, $p=0,002$) e C-NTN (-39%, $p=0,002$).

O *Gadd45* apresentou uma expressão maior no grupo HF-NT em comparação ao grupo C-NT +84% ($p<0,0001$). Todavia, todos os HF-T, HF-TNT e HF-NTN apresentaram um decréscimo de -33% ($p<0,001$), -28% ($p<0,001$) e -17% ($p=0,01$) em comparação com o grupo HF-NT. Os grupos C-T, C-TNT e C-NTN também apresentaram redução na expressão do *Gadd45* em relação ao grupo C-NT: -85% ($p=0,003$), -87% ($p<0,001$) e -85% ($p<0,001$), dados apresentados na figura 20 c.

Figura 18 - Expressão gênica da via do estresse do retículo endoplasmático hepático.



Legenda: Níveis de expressão gênica, em a, fator 4 ativador da transcrição (*Atf4*); em b, proteína homóloga ao C/EBP (*CHOP*) e em c, gene de parada de crescimento e dano de DNA 45 (*G45*). Os genes selecionados foram normalizados pela expressão gênica da proteína constitutiva gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*Gapdh*). Representa: [a] $\neq$ C-NT, [b] $\neq$ HF-NT, [c] $\neq$ HF-T, [d] $\neq$ HF-TNT. Os dados são apresentados como média e desvio padrão e valor significativo $<0,05$ e $n=5$. Análise estatística utilizada: ANOVA de um fator e correção de Brown-Forsythe and Welch.

5 Discussão dos resultados

A perda de peso corporal pode ser facilmente alcançável através de alterações dietéticas e da prática de exercícios físicos, porém dos 80% dos indivíduos que conseguem uma redução significativa conseguem manter a perda de peso a longo prazo (85). A manutenção da perda de peso bem-sucedida está correlacionada à redução de doenças cardiovasculares, resistência à insulina e da prevenção e melhora DM2 (86).

O treinamento físico apresenta potencial efetivo na redução do percentual de gordura corporal e dos níveis séricos de TAG, colesterol total, além de auxiliar no equilíbrio da homeostase glicídica, todavia é observado grande evasão dos praticantes dessa intervenção devido à rotina diária e a interrupção do treinamento cursa com a piora dos parâmetros fisiológicos melhorados pelo exercício físico (87).

Estudos demonstram que a prática regular do HIIT promove uma redução de peso corporal moderada, entre 0,5 a 4kg, em adultos, o que tem sido associado a melhora de metabólicas comuns (88-91). Os resultados do presente estudo demonstram que após as 12 semanas do protocolo de treinamento, os grupos que treinaram durante todo o experimento ou ciclaram entre períodos de treino e destreino apresentaram redução moderada da MC em comparação aos grupos que permaneceram sem treinar, o que pode ser explicado pelo fato do HIIT apresentar potencial de elevar a densidade e capacidade mitocondrial levando ao aumento da oxidação de lipídica (92).

Foi observado, também uma menor EA e consequentemente em um menor GP nos grupos dos grupos alimentados com dieta hiperlipídica que treinaram por 3, 2 ou 1 ciclo em comparação ao grupo que não treinou em ciclo algum. Além o fato de os grupos que treinavam, destreinavam e retreinavam, apresentavam parâmetros similares aos grupos homólogos que treinaram durante os 3 ciclos. Tais resultados demonstram que a ciclagem de treinamento promoveu uma adaptação fisiológica capaz de gerar uma memória metabólica nos períodos de destreino (10) nos animais do grupo HF-TNT.

Nossos resultados apresentaram uma maior redução da PAS nos animais do grupo HF-TNT em comparação ao grupo HF-NTN, demonstrando que, quanto mais recorrentes forem os ciclos de treinamento, maior será a perduração dos benefícios

nos períodos de destreino (63). Em nossos achados, parece ter havido um efeito acumulativo relativo à modalidade do exercício e à repetição dos ciclos de retreinamento que retardou a perda dos efeitos benéficos promovidos pelo treino. A PAS dos animais treinados, não retornava aos valores basais do início do protocolo de treinamento quando destreinavam, o que conclui que o HIIT fornece melhorias miocárdicas (93), da aptidão vascular (69) e cardiorrespiratória (14) prolongadas até mesmo em períodos de destreino.

Animais alimentados com dieta hiperlipídica são modelos bem estabelecidos para o estudo das alterações da tolerância à glicose e a resistência à insulina (24, 94). No presente estudo, 12 semanas de protocolo de treinamento reduziram a área sob a curva no tempo de 2 horas, após a sobrecarga de exercício nos grupos que treinaram durante todo o experimento ou que ciclaram o protocolo de exercício. As melhorias no metabolismo glicídico nos grupos que treinaram estão intimamente associadas ao aumento da captação de glicose no músculo esquelético e melhora da sensibilidade à insulina (95). Além disso, é sabido que o exercício físico reduz a área sob a curva de glicose naqueles com intolerância a glicose ou diabetes tipo 2 (96).

Estudos demonstram que o HIIT pode melhorar a sensibilidade à insulina, independentemente da perda de peso e da adiposidade, em humanos ou animais sedentários, com obesidade ou diabetes tipo 2 (12, 97, 98) e os nossos resultados demonstram que os ciclos de destreino não apresentaram potencial para fazer com que estes parâmetros retornassem aos valores basais.

O exercício físico detém de mecanismos capazes de melhorar a sensibilidade periférica à insulina em pessoas com alterações metabólicas (99). Apesar do destreino causar perdas parciais ou totais das adaptações fisiológicas e metabólicas conquistadas durante a prática de exercícios (18), no presente estudo, o protocolo do treinamento aumentou a sensibilidade à insulina nos grupos que ciclaram o treinamento em concentrações similares ao grupo de treino durante todo o experimento.

Além de melhorar a sensibilidade à insulina, a prática regular de exercício físico é capaz de aumentar a lipólise, a massa muscular esquelética, a regulação da via da beta-oxidação, o transporte intracelular de lipídios e reduz o estresse oxidativo (100). Nosso trabalho observou que reduções significativas dos níveis de colesterol total e TAG plasmáticos em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica, o que é crucial para a regressão da doença hepática (53). O presente estudo demonstrou que

o consumo crônico de dieta hiperlipídica, rica em gordura saturada, pode colaborar para o acúmulo hepático de lipídios devido ao excesso de ingestão calórica, aumento da distribuição de ácido graxo ao fígado, oxidação inadequada de ácidos graxos e aumento da lipogênese de novo (24, 94, 101).

A respeito dos resultados da via lipogênica, os grupos da ciclagem do treinamento foi capaz de assegurar uma redução do gene *Srebp-1c* durante o destreino. O *Srebp-1c* é considerado o principal regulador da lipogênese, pois sua ativação leva à conversão do piruvato em AGL no fígado e uma elevação da expressão de genes que ativam a síntese e captação de colesterol, AGs e fosfolipídios (102).

O *Srebp1c* promove transcrição de genes lipogênicos como FAS, ACC e SDC1 (Stearoyl-CoA Desaturase 1) (41). Os grupos que cumpriram algum protocolo de treinamento também apresentaram uma redução da expressão dos genes *Cherbp* que, junto ao *Srebp-1c* ativam a maquinaria enzimática necessária para a conversão do excesso de glicose em AGs (43). Também foi observada uma redução da expressão do *Fas*, enzima limitante no passo final da biossíntese de AGs (42) contribuindo, assim, para a melhora da esteatose hepática como visto no presente estudo.

A metabolização de AGs parece ser fortemente influenciada por genes alvos do Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissoma- β/δ , que ativam os principais transportadores de membrana plasmática de AGL, como o *FAT/CD36*, que desempenha importante papel na absorção e translocação de AGs de cadeia longa através de difusão facilitada (42). Os grupos de dieta hiperlipídica que treinaram nos três diferentes grupos apresentaram uma menor expressão do *FAT/CD36*, o que pode estar correlacionado com menores concentrações de TAG hepático também observado.

Um estudo utilizou camundongos C57BL/6 para comparar o exercício de intensidade moderada com o HIIT e concluiu que este foi capaz de reduzir a expressão de genes envolvidos na lipogênese hepática (26). Esse achado sugere que a redução da síntese de AGs no fígado é o principal mecanismo pelo qual o HIIT se mostra superior ao exercício moderado na redução da esteatose hepática (54).

Diante disso, examinamos os genes envolvidos no ERE: ATF4, CHOP e GADD45. O ATF4 é um fator de transcrição que regula vários genes relacionados à UPR, incluindo a transcrição do CHOP (103), que por sua vez é um dos principais

indutores de apoptose por estagnar o ciclo celular através da indução da expressão do gene GADD45 (51). Nossos resultados mostraram que os três genes apresentaram aumento de suas expressões nos animais alimentados com dieta hiperlipídica. Todavia, o treinamento foi capaz de reduzir a expressão dos genes envolvidos no estresse do RE nos grupos que treinaram os 3 ciclos de 3 semanas e esta redução pôde ser observada inclusive nos grupos que destreinavam.

O treinamento físico com o elevou o gasto energético dos animais, inclusive dos grupos que ciclaram o treino, cursando com a redução da massa corporal, melhora da tolerância à glicose e sensibilidade à insulina. Os ciclos de treino também reduziram a expressão dos genes lipogênicos, concomitante com o aumento da expressão gênica do PPAR α e de genes do ERE, com consequente redução nos triglicérides hepáticos e percentual de esteatose hepática. Com base nessas melhorias metabólicas, principalmente o que concerne ao reganho de MC, este estudo mostrou o potencial terapêutico benéfico do treinamento na DHGNA mesmo em períodos de destreino, o que sugere haver uma preservação da resposta fisiológica do exercício.

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados demonstraram que o treinamento com o HIIT, assim como esperado, proporcionou benefícios significativos na redução da massa corporal, consequentemente auxiliando na redução da pressão arterial sistólica; na melhora do metabolismo glicídico e lipídico, assim como redução da esteatose hepática de todos os animais que treinaram por pelo menos 1 ciclo de 3 semanas.

Foi visto que os animais dos grupos que ciclavam o treinamento continuavam apresentando ganho de massa corporal porém em menores proporções em comparação aos grupos que se mantiveram sedentários durante todo o experimento. Dessa forma, podemos concluir que durante os períodos de destreino, os animais mantinham, de modo total ou parcial, os benefícios advindos dos períodos que treinaram e esses benefícios eram proporcionais ao maior número de períodos treinados.

Os grupos que treinaram por dois ciclos apresentaram melhoras mais significantes no controle do reganho de peso corporal, demonstrando, assim, que quanto mais repetidas forem os ciclos de treinamento, menor será o reganho de peso corporal.

REFERÊNCIAS

1. Lanza JF, Snoeren EMS. The cafeteria diet: A standardized protocol and its effects on behavior. *Neurosci Biobehav Rev*. 2021;122:92-119.
2. Aba N, Kocpinar EF, Ceylani T. The Hepatic Antioxidant System Damage Induced with the Cafeteria (CAF) Diet Is Largely Counteracted Using SCD Probiotics during Development of Male Wistar Rats. *Nutrients*. 2023;15(21).
3. Liu J, Zhang L, Fu J, Wang Q, Wang G. Circulating prolactin level is increased in metabolically healthy obesity. *Endocr Connect*. 2021;10(4):484-91.
4. Zamanian H, Shalhaf A, Zali MR, Khalaj AR, Dehghan P, Tabesh M, et al. Application of artificial intelligence techniques for non-alcoholic fatty liver disease diagnosis: A systematic review (2005-2023). *Comput Methods Programs Biomed*. 2023;244:107932.
5. Gan L, Chitturi S, Farrell GC. Mechanisms and implications of age-related changes in the liver: nonalcoholic Fatty liver disease in the elderly. *Curr Gerontol Geriatr Res*. 2011;2011:831536.
6. Gines P, Cardenas A, Arroyo V, Rodes J. Management of cirrhosis and ascites. *N Engl J Med*. 2004;350(16):1646-54.
7. Clayton-Chubb D, Kemp W, Majeed A, Lubel JS, Hodge A, Roberts SK. Understanding NAFLD: From Case Identification to Interventions, Outcomes, and Future Perspectives. *Nutrients*. 2023;15(3).
8. Darbhanga J, Krulikowski K, Riskin SI. Emerging Diagnostics and Therapeutics for Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Cureus*. 2023;15(10):e47821.
9. Glass LM, Dickson RC, Anderson JC, Suriawinata AA, Putra J, Berk BS, Toor A. Total body weight loss of $\geq 10\%$ is associated with improved hepatic fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci*. 2015;60(4):1024-30.
10. Keenan GS, Christiansen P, Hardman CA. Household Food Insecurity, Diet Quality, and Obesity: An Explanatory Model. *Obesity (Silver Spring)*. 2021;29(1):143-9.
11. Muller MJ, Enderle J, Bosy-Westphal A. Changes in Energy Expenditure with Weight Gain and Weight Loss in Humans. *Curr Obes Rep*. 2016;5(4):413-23.
12. Hashida R, Kawaguchi T, Bekki M, Omoto M, Matsuse H, Nago T, et al. Aerobic vs. resistance exercise in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review. *J Hepatol*. 2017;66(1):142-52.
13. Marquis-Gravel G, Hayami D, Juneau M, Nigam A, Guilbeault V, Latour E, Gayda M. Intensive lifestyle intervention including high-intensity interval training program improves insulin resistance and fasting plasma glucose in obese patients. *Prev Med Rep*. 2015;2:314-8.
14. Mora-Rodriguez R, Ortega JF, Hamouti N, Fernandez-Elias VE, Canete Garcia-Prieto J, Guadalupe-Grau A, et al. Time-course effects of aerobic interval training and detraining in patients with metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014;24(7):792-8.
15. Cocks M, Shaw CS, Shepherd SO, Fisher JP, Ranasinghe A, Barker TA, Wagenmakers AJ. Sprint interval and moderate-intensity continuous training have equal benefits on aerobic capacity, insulin sensitivity, muscle capillarisation and endothelial eNOS/NAD(P)H oxidase protein ratio in obese men. *J Physiol*. 2016;594(8):2307-21.

16. Shangguan R, Hu Z, Luo Y, Chen M, Lai X, Sun J, Chen S. Intramuscular mitochondrial and lipid metabolic changes of rats after regular high-intensity interval training (HIIT) of different training periods. *Mol Biol Rep.* 2023;50(3):2591-601.
17. Felli E, Nulan Y, Selicean S, Wang C, Gracia-Sancho J, Bosch J. Emerging Therapeutic Targets for Portal Hypertension. *Curr Hepatol Rep.* 2023;22(1):51-66.
18. Mujika I, Padilla S. Detraining: loss of training-induced physiological and performance adaptations. Part II: Long term insufficient training stimulus. *Sports Med.* 2000;30(3):145-54.
19. Leitaio L, Pereira A, Mazini M, Venturini G, Campos Y, Vieira J, et al. Effects of Three Months of Detraining on the Health Profile of Older Women after a Multicomponent Exercise Program. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(20).
20. de Jesus Leite MAF, Mariano IM, Dechichi JGC, Giolo JS, Goncalves AC, Puga GM. Exercise training and detraining effects on body composition, muscle strength and lipid, inflammatory and oxidative markers in breast cancer survivors under tamoxifen treatment. *Life Sci.* 2021;284:119924.
21. Avila-Gandia V, Ramos-Campo DJ, Garcia-Sanchez E, Luque-Rubia AJ, Lopez A, Lopez-Roman FJ. Training, detraining and retraining effects of moderate vs. high intensity exercise training programme on cardiovascular risk factors. *J Hypertens.* 2023;41(3):411-9.
22. Yang W, Jiang W, Guo S. Regulation of Macronutrients in Insulin Resistance and Glucose Homeostasis during Type 2 Diabetes Mellitus. *Nutrients.* 2023;15(21).
23. Flanagan AM, Brown JL, Santiago CA, Aad PY, Spicer LJ, Spicer MT. High-fat diets promote insulin resistance through cytokine gene expression in growing female rats. *The Journal of nutritional biochemistry.* 2008;19(8):505-13.
24. Barbosa-da-Silva S, da Silva NC, Aguila MB, Mandarin-de-Lacerda CA. Liver damage is not reversed during the lean period in diet-induced weight cycling in mice. *Hepatol Res.* 2014;44(4):450-9.
25. Aguila MB, Pinheiro Ada R, Parente LB, Mandarin-de-Lacerda CA. Dietary effect of different high-fat diet on rat liver stereology. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver.* 2003;23(5):363-70.
26. Fredrickson G, Barrow F, Dietsche K, Parthiban P, Khan S, Robert S, et al. Exercise of high intensity ameliorates hepatic inflammation and the progression of NASH. *Mol Metab.* 2021;53:101270.
27. Alves-Bezerra M, Cohen DE. Triglyceride Metabolism in the Liver. *Compr Physiol.* 2017;8(1):1-8.
28. Kim KH, Lee MS. Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis and Hormone-Based Therapeutic Approaches. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:485.
29. Biciusca T, Stan SI, Balteanu MA, Cioboata R, Ghenea AE, Danoiu S, et al. The Role of the Fatty Liver Index (FLI) in the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review. *Diagnostics (Basel).* 2023;13(21).
30. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol.* 2015;62(1 Suppl):S47-64.
31. Guo X, Yin X, Liu Z, Wang J. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Pathogenesis and Natural Products for Prevention and Treatment. *Int J Mol Sci.* 2022;23(24).
32. Coates AM, Joyner MJ, Little JP, Jones AM, Gibala MJ. A Perspective on High-Intensity Interval Training for Performance and Health. *Sports Med.* 2023;53(Suppl 1):85-96.

33. Pouwels S, Sakran N, Graham Y, Leal A, Pintar T, Yang W, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical management and effects of weight loss. *BMC Endocr Disord*. 2022;22(1):63.
34. Le MH, Yeo YH, Li X, Li J, Zou B, Wu Y, et al. 2019 Global NAFLD Prevalence: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2022;20(12):2809-17 e28.
35. Pinto Marques Souza de Oliveira C, Pinchemel Cotrim H, Arrese M. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Risk Factors in Latin American Populations: Current Scenario and Perspectives. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2019;13(2):39-42.
36. Gallardo-Rincon H, Cantoral A, Arrieta A, Espinal C, Magnus MH, Palacios C, Tapia-Conyer R. Review: Type 2 diabetes in Latin America and the Caribbean: Regional and country comparison on prevalence, trends, costs and expanded prevention. *Prim Care Diabetes*. 2021;15(2):352-9.
37. Teng ML, Ng CH, Huang DQ, Chan KE, Tan DJ, Lim WH, et al. Global incidence and prevalence of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Mol Hepatol*. 2023;29(Suppl):S32-S42.
38. Stefan N, Haring HU, Cusi K. Non-alcoholic fatty liver disease: causes, diagnosis, cardiometabolic consequences, and treatment strategies. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2019;7(4):313-24.
39. Pafili K, Roden M. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) from pathogenesis to treatment concepts in humans. *Mol Metab*. 2021;50:101122.
40. Cohen DE, Fisher EA. Lipoprotein metabolism, dyslipidemia, and nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*. 2013;33(4):380-8.
41. Hudgins LC, Hellerstein M, Seidman C, Neese R, Diakun J, Hirsch J. Human fatty acid synthesis is stimulated by a eucaloric low fat, high carbohydrate diet. *J Clin Invest*. 1996;97(9):2081-91.
42. Miquilena-Colina ME, Lima-Cabello E, Sanchez-Campos S, Garcia-Mediavilla MV, Fernandez-Bermejo M, Lozano-Rodriguez T, et al. Hepatic fatty acid translocase CD36 upregulation is associated with insulin resistance, hyperinsulinaemia and increased steatosis in non-alcoholic steatohepatitis and chronic hepatitis C. *Gut*. 2011;60(10):1394-402.
43. Lane EA, Choi DW, Garcia-Haro L, Levine ZG, Tedoldi M, Walker S, Danial NN. HCF-1 Regulates De Novo Lipogenesis through a Nutrient-Sensitive Complex with ChREBP. *Mol Cell*. 2019;75(2):357-71 e7.
44. Kawano Y, Cohen DE. Mechanisms of hepatic triglyceride accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol*. 2013;48(4):434-41.
45. Silveira LR, Pinheiro CH, Zoppi CC, Hirabara SM, Vitzel KF, Bassit RA, et al. [Regulation of glucose and fatty acid metabolism in skeletal muscle during contraction]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2011;55(5):303-13.
46. Sidossis LS, Stuart CA, Shulman GI, Lopaschuk GD, Wolfe RR. Glucose plus insulin regulate fat oxidation by controlling the rate of fatty acid entry into the mitochondria. *J Clin Invest*. 1996;98(10):2244-50.
47. Tahri-Joutey M, Andreoletti P, Surapureddi S, Nasser B, Cherkaoui-Malki M, Latruffe N. Mechanisms Mediating the Regulation of Peroxisomal Fatty Acid Beta-Oxidation by PPARalpha. *Int J Mol Sci*. 2021;22(16).
48. Yang Y, Zhou Q, Gao A, Chen L, Li L. Endoplasmic reticulum stress and focused drug discovery in cardiovascular disease. *Clin Chim Acta*. 2020;504:125-37.
49. Li T, Jiang S, Lu C, Hu W, Ji T, Han M, et al. Snapshots: Endoplasmic Reticulum Stress in Lipid Metabolism and Cardiovascular Disease. *Curr Issues Mol Biol*. 2018;28:14-28.

50. Rohrl C, Stangl H. Cholesterol metabolism-physiological regulation and pathophysiological deregulation by the endoplasmic reticulum. *Wien Med Wochenschr.* 2018;168(11-12):280-5.
51. Cao SS, Luo KL, Shi L. Endoplasmic Reticulum Stress Interacts With Inflammation in Human Diseases. *J Cell Physiol.* 2016;231(2):288-94.
52. Coates AM, Joyner MJ, Little JP, Jones AM, Gibala MJ. A Perspective on High-Intensity Interval Training for Performance and Health. *Sports Med.* 2023.
53. de Castro-de-Paiva P, Marinho TS, Mandarin-de-Lacerda CA, Aguila MB. Intermittent fasting, high-intensity interval training, or a combination of both have beneficial effects in obese mice with nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem.* 2022;104:108997.
54. Cigrovski Berkovic M, Bilic-Curcic I, Mrzljak A, Cigrovski V. NAFLD and Physical Exercise: Ready, Steady, Go! *Front Nutr.* 2021;8:734859.
55. Keating SE, Sabag A, Hallsworth K, Hickman IJ, Macdonald GA, Stine JG, et al. Exercise in the Management of Metabolic-Associated Fatty Liver Disease (MAFLD) in Adults: A Position Statement from Exercise and Sport Science Australia. *Sports Med.* 2023;53(12):2347-71.
56. Keating SE, Croci I, Wallen MP, Cox ER, Thuzar M, Pham U, et al. High-Intensity Interval Training is Safe, Feasible and Efficacious in Nonalcoholic Steatohepatitis: A Randomized Controlled Trial. *Dig Dis Sci.* 2023;68(5):2123-39.
57. 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.
58. Popa SG, Simion AM, Soare M, Arcomita D. Insulin resistance and hepatic steatosis in type 1 diabetes mellitus and their association with diabetic chronic complications. *Minerva Endocrinol (Torino).* 2023;48(1):27-34.
59. Xu T, Tao Y, Chen R, Strachan G, Cai X, Liu C. Effects of a physical activity promotion programme on body composition in emerging adults with physical inactivity: a study protocol of a randomised controlled trial. *BMJ Open.* 2023;13(10):e076123.
60. Richter EA, Hargreaves M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiol Rev.* 2013;93(3):993-1017.
61. Guo R, Liong EC, So KF, Fung ML, Tipoe GL. Beneficial mechanisms of aerobic exercise on hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2015;14(2):139-44.
62. Hargreaves M, Spriet LL. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. *Nat Metab.* 2020;2(9):817-28.
63. Morales-Palomo F, Ramirez-Jimenez M, Ortega JF, Lopez-Galindo PL, Fernandez-Martin J, Mora-Rodriguez R. Effects of repeated yearly exposure to exercise-training on blood pressure and metabolic syndrome evolution. *J Hypertens.* 2017;35(10):1992-9.
64. Clemente FM, Soylu Y, Arslan E, Kilit B, Garrett J, van den Hoek D, et al. Can high-intensity interval training and small-sided games be effective for improving physical fitness after detraining? A parallel study design in youth male soccer players. *PeerJ.* 2022;10:e13514.
65. Baltasar-Fernandez I, Losa-Reyna J, Carretero A, Rodriguez-Lopez C, Alfaro-Acha A, Guadalupe-Grau A, et al. Residual effects of 12 weeks of power-oriented resistance training plus high-intensity interval training on muscle dysfunction,

- systemic oxidative damage, and antioxidant capacity after 10 months of training cessation in older people with COPD. *Scand J Med Sci Sports*. 2023;33(9):1661-76.
66. Slentz CA, Houmard JA, Johnson JL, Bateman LA, Tanner CJ, McCartney JS, et al. Inactivity, exercise training and detraining, and plasma lipoproteins. STRRIDE: a randomized, controlled study of exercise intensity and amount. *J Appl Physiol* (1985). 2007;103(2):432-42.
 67. Sharples AP, Turner DC. Skeletal muscle memory. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2023;324(6):C1274-C94.
 68. Rutherford OM, Jones DA. The role of learning and coordination in strength training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1986;55(1):100-5.
 69. Abdolmaleki F, Heidarianpour A. The response of serum Glypican-4 levels and its potential regulatory mechanism to endurance training and chamomile flowers' hydroethanolic extract in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats. *Acta Diabetol*. 2018;55(9):935-42.
 70. Brown JC, Carson TL, Thompson HJ, Agurs-Collins T. The Triple Health Threat of Diabetes, Obesity, and Cancer-Epidemiology, Disparities, Mechanisms, and Interventions. *Obesity* (Silver Spring). 2021;29(6):954-9.
 71. American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines OEP. Executive summary: Guidelines (2013) for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Obesity Society published by the Obesity Society and American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Based on a systematic review from the The Obesity Expert Panel, 2013. *Obesity* (Silver Spring). 2014;22 Suppl 2:S5-39.
 72. Rosenbaum M, Foster G. Differential mechanisms affecting weight loss and weight loss maintenance. *Nat Metab*. 2023;5(8):1266-74.
 73. van Baak MA, Mariman ECM. Obesity-induced and weight-loss-induced physiological factors affecting weight regain. *Nat Rev Endocrinol*. 2023;19(11):655-70.
 74. Teich T, Pivovarov JA, Porras DP, Dunford EC, Riddell MC. Curcumin limits weight gain, adipose tissue growth, and glucose intolerance following the cessation of exercise and caloric restriction in rats. *J Appl Physiol* (1985). 2017;123(6):1625-34.
 75. Ganipiseti VM, Bollimunta P. Obesity and Set-Point Theory. StatPearls. Treasure Island (FL)2023.
 76. Garvey WT. Is Obesity or Adiposity-Based Chronic Disease Curable: The Set Point Theory, the Environment, and Second-Generation Medications. *Endocr Pract*. 2022;28(2):214-22.
 77. Schmitz J, Evers N, Awazawa M, Nicholls HT, Bronneke HS, Dietrich A, et al. Obesogenic memory can confer long-term increases in adipose tissue but not liver inflammation and insulin resistance after weight loss. *Mol Metab*. 2016;5(5):328-39.
 78. Caslin HL, Cottam MA, Pinon JM, Boney LY, Hasty AH. Weight cycling induces innate immune memory in adipose tissue macrophages. *Front Immunol*. 2022;13:984859.
 79. Chaouachi A, Ben Othman A, Makhlouf I, Young JD, Granacher U, Behm DG. Global Training Effects of Trained and Untrained Muscles With Youth Can be Maintained During 4 Weeks of Detraining. *J Strength Cond Res*. 2019;33(10):2788-800.
 80. Koundourakis NE, Androulakis N, Dermitzaki E, Venihaki M, Margioris AN. Effect of a 6-week supervised detraining period on bone metabolism markers and

their association with ergometrics and components of the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis in professional male soccer players. *J Bone Miner Metab.* 2019;37(3):512-9.

81. Park HY, Kim S, Kim Y, Park S, Nam SS. Effects of exercise training at lactate threshold and detraining for 12 weeks on body composition, aerobic performance, and stress related variables in obese women. *J Exerc Nutrition Biochem.* 2019;23(3):22-8.

82. Joo CH. The effects of short term detraining and retraining on physical fitness in elite soccer players. *PLoS One.* 2018;13(5):e0196212.

83. de Oliveira Sa G, Dos Santos Neves V, de Oliveira Fraga SR, Souza-Mello V, Barbosa-da-Silva S. High-intensity interval training has beneficial effects on cardiac remodeling through local renin-angiotensin system modulation in mice fed high-fat or high-fructose diets. *Life Sci.* 2017;189:8-17.

84. Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. *An Acad Bras Cienc.* 2003;75(4):469-86.

85. Martins C, Nymo S, Coutinho SR, Rehfeld JF, Hunter GR, Gower BA. Association between Fat-Free Mass Loss, Changes in Appetite, and Weight Regain in Individuals with Obesity. *J Nutr.* 2023;153(5):1330-7.

86. Obert J, Pearlman M, Obert L, Chapin S. Popular Weight Loss Strategies: a Review of Four Weight Loss Techniques. *Curr Gastroenterol Rep.* 2017;19(12):61.

87. Swift DL, McGee JE, Earnest CP, Carlisle E, Nygard M, Johannsen NM. The Effects of Exercise and Physical Activity on Weight Loss and Maintenance. *Prog Cardiovasc Dis.* 2018;61(2):206-13.

88. Tjonna AE, Lee SJ, Rognmo O, Stolen TO, Bye A, Haram PM, et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. *Circulation.* 2008;118(4):346-54.

89. Kessler HS, Sisson SB, Short KR. The potential for high-intensity interval training to reduce cardiometabolic disease risk. *Sports Med.* 2012;42(6):489-509.

90. Ramos JS, Dalleck LC, Borrani F, Beetham KS, Wallen MP, Mallard AR, et al. Low-Volume High-Intensity Interval Training Is Sufficient to Ameliorate the Severity of Metabolic Syndrome. *Metab Syndr Relat Disord.* 2017;15(7):319-28.

91. Madsen SM, Thorup AC, Overgaard K, Jeppesen PB. High Intensity Interval Training Improves Glycaemic Control and Pancreatic beta Cell Function of Type 2 Diabetes Patients. *PLoS One.* 2015;10(8):e0133286.

92. Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. *J Appl Physiol (1985).* 2011;111(6):1554-60.

93. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia.* 2017;60(1):7-23.

94. Petito-da-Silva TI, Souza-Mello V, Barbosa-da-Silva S. Empaglifozin mitigates NAFLD in high-fat-fed mice by alleviating insulin resistance, lipogenesis and ER stress. *Mol Cell Endocrinol.* 2019;498:110539.

95. Munoz VR, Botezelli JD, Gaspar RC, da Rocha AL, Vieira RFL, Crisol BM, et al. Effects of short-term endurance and strength exercise in the molecular regulation of skeletal muscle in hyperinsulinemic and hyperglycemic *Slc2a4*(+/-) mice. *Cell Mol Life Sci.* 2023;80(5):122.

96. Dela F, Ingersen A, Andersen NB, Nielsen MB, Petersen HHH, Hansen CN, et al. Effects of one-legged high-intensity interval training on insulin-mediated skeletal

muscle glucose homeostasis in patients with type 2 diabetes. *Acta Physiol (Oxf)*. 2019;226(2):e13245.

97. Calverley TA, Ogoh S, Marley CJ, Steggall M, Marchi N, Brassard P, et al. HIITing the brain with exercise: mechanisms, consequences and practical recommendations. *J Physiol*. 2020;598(13):2513-30.

98. Santana-Oliveira DA, Souza-Tavares H, Fernandes-da-Silva A, Silva-Veiga FM, Casimiro-Lopes G, Cristina Lisboa P, et al. Exercise prevents obesity by reducing gut-derived inflammatory signals to brown adipocytes in mice. *J Endocrinol*. 2023;259(1).

99. Gonzalez-Gil AM, Elizondo-Montemayor L. The Role of Exercise in the Interplay between Myokines, Hepatokines, Osteokines, Adipokines, and Modulation of Inflammation for Energy Substrate Redistribution and Fat Mass Loss: A Review. *Nutrients*. 2020;12(6).

100. Ko K, Woo J, Bae JY, Roh HT, Lee YH, Shin KO. Exercise training improves intramuscular triglyceride lipolysis sensitivity in high-fat diet induced obese mice. *Lipids Health Dis*. 2018;17(1):81.

101. Semmler G, Balcar L, Wernly S, Volkerer A, Semmler L, Hauptmann L, et al. Insulin resistance and central obesity determine hepatic steatosis and explain cardiovascular risk in steatotic liver disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1244405.

102. Yin X, Liu Z, Wang J. Tetrahydropalmatine ameliorates hepatic steatosis in nonalcoholic fatty liver disease by switching lipid metabolism via AMPK-SREBP-1c-Sirt1 signaling axis. *Phytomedicine*. 2023;119:155005.

103. Fusakio ME, Willy JA, Wang Y, Mirek ET, Al Baghdadi RJ, Adams CM, et al. Transcription factor ATF4 directs basal and stress-induced gene expression in the unfolded protein response and cholesterol metabolism in the liver. *Molecular biology of the cell*. 2016;27(9):1536-51.

ANEXO A – Comitê de ética

Comissão de Ética para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais (CEUA)

**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado “Efeito do treinamento intervalado de alta intensidade em ciclos de treino e destreino sobre parâmetros cardiometabólicos em modelo experimental.” registrado com o nº 015/2023, sob a responsabilidade de **Sandra Barbosa da Silva** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS (CEUA) / IBRAG / UERJ, em reunião de 08/02/2023.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	08/05/2025
Espécie / linhagem / raça	C57BL/6
Nº de animais	80
Peso / Idade	20g/3 meses
Sexo	Machos
Origem	Biotério setorial

Rio de Janeiro, 08 de fevereiro de 2023.

Dr. Claudio C. Filgueiras
Professor Associado
Matr. 33080-3
Coordenador
CEUA/IBRAG/UERJ

Dra. Yael A. Villaça
Professora Associada
Matr. 35066-0
Vice Coordenadora
CEUA/IBRAG/UERJ

ANEXO B – Submissão do artigo

O artigo exigido pela pós-graduação como requisito parcial para defesa está em fase final de elaboração.