Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro de Educação e Humanidades
Instituto de Educação Física e Desportos

Guilherme de Oliveira França

Cardioproteção induzida pelo exercício físico após lesão miocárdica em animais obesos: contínuo versus intervalado de alta intensidade

Rio de Janeiro
2019

Guilherme de Oliveira França

Cardioproteção induzida pelo exercício físico após lesão miocárdica em animais obesos: contínuo versus intervalado de alta intensidade

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Exercício e do Esporte, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Aspectos Biopsicossociais do Exercício Físico.

Orientadora: Prof[a]. Dra. Juliana Pereira Borges

Coorientador: Prof. Dr. Alessandro Rodrigues do Nascimento

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CEH/B

F814 França, Guilherme de Oliveira.
Cardioproteção induzida pelo exercício físico após lesão miocárdica em animais obesos: contínuo versus intervalado de alta intensidade / Guilherme de Oliveira França. – 2019.
57 f. : il.

Orientadora: Juliana Pereira Borges.
Coorientador: Alessandro Rodrigues do Nascimento.
Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Educação Física e Desportos.

1. Exercícios físicos – Aspectos fisiológicos – Teses. 2. Coração - Doenças – Teses. 3. Obesidade – Teses. 4. Reperfusão miocárdica – Teses. I. Borges, Juliana Pereira. II. Nascimento, Alessandro Rodrigues do. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Educação Física e Desportos. IV. Título.

CDU 612.766.1:616.12

Bibliotecária: Eliane de Almeida Prata. CRB7 4578/94

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

_____ _____
Assinatura Data

Guilherme de Oliveira França

Cardioproteção induzida pelo exercício físico após lesão miocárdica em animais obesos: contínuo versus intervalado de alta intensidade

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Exercício e do Esporte, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Aspectos Biopsicossociais do Exercício Físico.

Aprovada em 18 de março de 2019.

Banca Examinadora:

_____

Profª. Dra. Juliana Pereira Borges (Orientadora)

Instituto de Educação Física e Desportos - UERJ

_____

Prof. Dr. Alessandro Rodrigues do Nascimento (Coorientador)

Fundação Oswaldo Cruz

_____

Profª. Dra. Patrícia Maria Lourenço Dutra

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

_____

Profª. Dra. Eliete Dalla Corte Frantz

Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus familiares, por todo suporte, dedicação na minha formação pessoal e por nunca medirem esforços para que eu pudesse concretizar todos os meus objetivos. Serei eternamente grato por todas as abdicações que fizeram em prol dos meus sonhos. Fabinho, Dona Deia, Vovó Creusa, eu AMO vocês com todas as minhas forças.

À minha orientadora Juliana Borges, que me fez e faz crescer tanto no âmbito profissional, quanto no pessoal (você é FANTÁSTICA!) Devo muito a você por concluir este trabalho. Espero que essa parceria perdure por muitos anos. Utilizei essas mesmas palavras no meu TCC e não as retiro, pelo simples fato, que o meu carinho e admiração por você, só cresce. Se eu conseguir ser 20% da profissional que você é, me sentirei realizado. Obrigado, Ju!!

Aos meus eternos irmãos que a vida me deu. Em especial, Vitor Natan, Luizinho Godoy, Vander Grion, Guilherme Luizeto, Pedro Kneitz, Diego Avellar, Pedro Cherem. Cada um com o seu jeito e particularidades. Talvez papai do céu tenha me feito filho único, porque sabia que eu encontraria vocês nessa passagem!! Obrigado.

À minha parceira de jornada, na qual eu sou extremamente grato por todo companheirismo e cumplicidade. Costumo dizer que chegar até aqui foi muito bom, mas chegar com você, faz essa história ser perfeita!! Obrigado por tudo, senhorita Juliana Pereira Barros, vulgo Juju. Te amo!!!

Às agências de fomento FAPERJ, CNPq, e em especial à CAPES, pela bolsa de estudos.

E todas as pessoas marcantes na minha vida, que de certa forma contribuíram positivamente para que esse momento acontecesse.

Muito obrigado !!!!!!

“A vida não é o problema, é batalha, desafio
Cada obstáculo é uma lição, eu anuncio
É isso aí você não pode parar
Esperar o tempo ruim vir te abraçar
Acreditar que sonhar sempre é preciso
É o que mantém os irmãos vivos”

Racionais Mc’s

RESUMO

FRANÇA, Guilherme de Oliveira. *Cardioproteção induzida pelo exercício físico após lesão miocárdica em animais obesos*: contínuo versus intervalado de alta intensidade. 2019. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Exercício e do Esporte) – Insituto de Educação Física e Desportos, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Objetivo: Comparar o efeito cardioprotetor de sessões isocalóricas de exercício aeróbio intervalado de alta intensidade e contínuo em animais obesos após lesão miocárdica.**Métodos:** Ratos wistar machos adultos foram divididos em dois grupos, de acordo com a dieta utilizada: 1) ração comercial padrão(CTR); e 2) dieta hiperlipídica (HFD). Após 20 semanas de dieta, os animais alimentados com HFD foram randomicamente subdivididos em 3 grupos: 1) sedentário (HFD-SED); 2) exercício contínuo (HFD-CONT); e 3) exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT). Em seguida, os grupos HFD-CONT e HFD-HIIT foram submetidos a 4 sessões isocalóricas de exercício físico, sendo que o HFD-CONT manteve a intensidade a 50% do consumo máximo de oxigênio de reserva (VO_2R), enquanto o HFD-HIIT alternou a intensidade de 60%VO_2R (3 min) e 80%VO_2R (4 min). Para equilibrar o volume do exercício, a duração da sessão de exercício de cada animal foi calculada para elicitar um dispêndio energético de 5kcal. Após 24h das sessões de exercício ou sedentarismo, todos os grupos foram submetidos a lesão por isquemia reperfusão em modelo de coração isolado (Langendorff). **Resultados:** Os animais submetidos a dieta hiperlipídica, antes da realização do exercício, apresentaram maior pressão arterial média e diastólica, glicemia de jejum, massa corporal total e percentual de gordura e menor massa magra em relação ao grupo CTR. Curiosamente, quatro sessões de exercício contínuo ou HIIT reverteram a atrofia muscular causada pela dieta hiperlipídica, uma vez que somente o grupo HFD-SED apresentou menor massa de músculo gastrocnêmio e quadríceps em relação ao CTR. Em relação a função cardíaca após lesão miocárdica, o grupo HFD-HIIT apresentou maior percentual da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo em relação ao basal quando comparado aos demais grupos.Entretanto, a área de infarto do ventrículo esquerdo foi similar entre os grupos.**Conclusão:**Quatro sessões de exercício físico, seja contínuo ou HIIT, reverteram a atrofia muscular causada pela dieta hiperlipídica. No entanto, somente o protocolo HIIT conferiu cardioproteção aos animais obesos.

Palavras-chave: Exercício físico isocalórico. Lesão por isquemia / reperfusão. Langendorff.Obesidade.

ABSTRACT

FRANÇA, Guilherme de Oliveira. *Exercise-induced cardioprotection following myocardial injury in obese animals*: continuous versus high intensity interval. 2019. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Exercício e do Esporte) – Insituto de Educação Física e Desportos, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Aim: To compare the cardioprotective effect of isocaloric sessions of high intensity interval exercise and continuous exercise in obese animals following myocardial injury. **Methods:** Adult male wistar rats were divided into two groups, according to the diet used: 1) standard rat chow (CTR);or 2) high fat diet (HFD). After 20 weeks of diet, animals fed with HFD were randomly subdivided into 3 groups: 1) sedentary (HFD-SED); 2) continuous exercise (HFD-CONT); and 3) high intensity interval exercise (HFD-HIIT). Then, HFD-CONT and HFD-HIIT underwent4isocaloric aerobic exercise sessions, in which HFD-CONT maintained the intensity at 50% of maximal oxygen uptake reserve (VO2R) while HFD-HIIT altered 3 min of 60% VO2R and 4 min of 80% VO2R. To equalize exercise volume, the duration of exercise sessions of each animal was calculated to elicit 5 kcal of energy expenditure. After 24h of exercise sessions or sedentarism, all animals underwent ischemia reperfusion injury in an isolated heart model (Langendorff). **Results:** Animals fed with high fat diet, before performing exercise, exhibited higher mean and diastolic blood pressure, fasting blood glucose, total body mass, fat percentage and lower lean body mass than CTR. Curiously, four sessions of continuous or HIIT exercise restored muscle atrophy induced by high fat diet, as only HFD-SED presented lower mass of gastrocnemius and quadriceps muscles in relation to CTR. Concerning the cardiac function following myocardial injury, HFD-HIIT group presented higher percentage of left ventricle developed pressure related to baseline when compared to the other groups. However, left ventricle infarct area was similar among groups. **Conclusion:** Four sessions of physical exercise, either continuous or HIIT, restored muscle atrophy induced by high fat diet. However, only the HIIT protocol afforded cardioprotection against ischemia reperfusion injury in obese animals.

Keywords: Isocaloric physical exercise. Ischemia reperfusioninjury. Langendorff. Obesity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Foto da ração hiperlipídica 25

Figura 2 – Divisão dos grupos experimentais 26

Figura 3 – Representação esquemática do desenho experimental do estudo 27

Figura 4 – Teste incremental máximo realizado para determinação do $VO_{2máx}$ em esteira acoplada à analisador de gases 29

Figura 5 – Representação esquemática da montagem de Langendorff mostrando solução de Krebs sendo perfundida no coração através da bomba peristáltica fixada a 10 ml/min, após aquecimento a 37°C 31

Figura 6 – Exemplo de registro de pressão máxima (Pmáx) e mínima (Pmin) obtido no momento do desligamento da bomba peristáltica (isquemia) 32

Figura 7 – Imagens representativas obtidas no exame do DEXA para os grupos CTR (A) e HFD (B) 36

Tabela1 – Resultados biométricos obtidos no grupo submetido à dieta comercial padrão (CTR) e hiperlipídica (HFD) 36

Tabela2 – Função cardíaca antes e após lesão por isquemia/reperfusão em Langendorff nos grupos submetidos a dieta padrão (CTR), dieta hiperlipídica (HFD-SED), dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT) 45

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Glicemia de jejum obtida nos grupos submetidos a dieta padrão (CTR; n = 10) e hiperlipídica (HFD; n = 16) 34

Gráfico 2 – Pressão arterial sistólica (A), média (B) e diastólica (C) obtida nos grupos submetidos a dieta padrão (CTR; n = 10) e hiperlipídica (HFD; n = 10) 38

Gráfico 3 – Consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) obtido nos grupos submetidos a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 13) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 13) 39

Gráfico 4 – Velocidade média obtida nos grupos submetidos a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 13) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 13) 40

Gráfico 5 – Média da duração das sessões nos grupos submetidos a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 13) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 13) 40

Gráfico 6 – Massa de gordura epididimal (A), marrom (B) e inguinal (C) obtidas nos grupos controle (CTR; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e sedentário (HFD-SED; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 6) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 6) 42

Gráfico 7 – Massa do músculo gastrocnêmio (A) e quadríceps (B) obtida nos grupos controle (CTR; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e sedentário (HFD-SED; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 6) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 6) 43

Gráfico 8 – Massa do coração (A) e ventrículo esquerdo (B) obtida nos grupos controle (CTR; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e sedentário (HFD-SED; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 6) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 6) 44

Gráfico 9 – Percentual da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (VE) durante a lesão por isquemia e reperfusão em Langendorff dos grupos submetidos a dieta padrão (CTR), dieta hiperlipídica (HFD), dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT), dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT) 46

Gráfico 10 – Área de infarto do ventrículo esquerdo (VE) após lesão por isquemia reperfusão no Langendorff nos grupos submetidos a dieta padrão (CTR; n = 8), dieta hiperlipídica (HFD-SED; n = 6), dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 5), dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 7) 47

LISTA DE ABREVIAÇÕES

ANOVA	Análise de Variância
$CaCl_2$	Cloreto de Cálcio
CTR	Grupo controle submetido a ração comercial padrão e inatividade física
DAC	Doença arterial coronariana
DEXA	Densitometria por dupla emissão de raios-X
HIIT	Treinamento intervalado de alta intensidade
HFD	Dieta hiperlipídica
HFD-CONT	Grupo submetido a dieta hiperlipídicae exercício contínuo
HFD-HIIT	Grupo submetido a dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade
HFD-SED	Grupo submetido a dieta hiperlipídica e inatividade física
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IR	Isquemia/reperfusão
KCl	Cloreto de Potássio
KH_2PO_4	Fosfato Monopotássico
$MgSO_4$	Sulfato de Magnésio
NaCl	Cloreto de Sódio
NADH	Dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
$NaHCO_3$	Bicarbonato de Sódio
PA	Pressão arterial
PDVE	Pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo
Pmáx	Pressão máxima
Pmin	Pressão mínima
TTC	Trifeniltetrazólio
$VO_{2máx}$	Consumo máximo de oxigênio
VO_2R	Consumo máximo de oxigênio de reserva
VE	Ventrículo esquerdo

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO 13

1 **REVISÃO DA LITERATURA** 17

1.1 **Lesão por IR e Cardioproteção Induzida pelo Exercício Físico** 17

1.2 **Influência da Intensidade do Exercício na Cardioproteção** 19

1.3 **Cardioproteção Induzida Pelo Exercício Físico nas Comorbidades** 21

2 **OBJETIVOS** 23

2.1 **Objetivo Principal** 23

2.2 **Objetivos Específicos** 23

3 **MÉTODOS** 24

3.1 **Amostra e Desenho Experimental** 24

3.2 **Caracterização do Modelo de Obesidade** 27

3.3 **Determinação da Capacidade Máxima de Exercício** 28

3.4 **Protocolos de Exercício Físico** 30

3.5 **Preparação do Coração Isolado e Pesagem dos Tecidos** 30

3.6 **Função Cardíaca** 31

3.7 **Determinação da Área de Infarto** 33

3.8 **Análise Estatística** 33

4 **RESULTADOS** 34

4.0 **Efeito da Dieta na Glicemia, Composição Corporal e Pressão Arterial** .. 34

4.1 **Capacidade Máxima de Exercício e Sessões de Treino** 39

4.2 **Efeito da Dieta e Exercício Sobre a Composição Corporal** 41

4.3 **Efeito da Dieta e Exercício Sobre a Função Cardíaca** 44

4.4 **Efeito da Dieta e Exercício Sobre a Área de Infarto** 46

5 **DISCUSSÃO** 48

CONCLUSÃO 52

REFERÊNCIAS.....53

INTRODUÇÃO

Estudos epidemiológicos mostram que o índice de mortalidade proveniente de doenças cardiovasculares reduziu significativamente na última década [1,2]. Porém, as cardiopatias em geral, ainda acometem um grande número de indivíduos, tornando-as um grave problema de saúde pública.Dentre elas, a doença arterial coronariana (DAC), possui um destaque maior, tendo em vista que a mesma cresce de forma exponencial em pacientes adultos em plena idade produtiva.

A DAC se caracteriza, pela redução ou interrupção do fluxo sanguíneo arterial coronariano para uma determinada área do músculo cardíaco, gerando uma isquemia do miocárdio. Durante a isquemia, o suprimento de oxigênio destinado à mitocôndria cessa, interrompendo o ciclo de Krebs, fazendo com que a energia seja gerada pela glicólise. No entanto, essa alteração do metabolismo celular é acompanhada por um aumento nos níveis de lactato citosólico e redução do pH intracelular. Em conjunto, essas alterações levam à modificação do funcionamento de diversas bombas e canais iônicos que culminam em sobrecarga de cálcio e sódio no citosol, que por sua vez ativam enzimas, tais como as fosfolipases, proteases (principalmente a calpaína), endonucleases e ATPases, que estão associadas a peroxidação lipídica, produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), disfunção de proteínas contráteis, perda da função celular e em última instância, a morte celular [3]. Apesar da isquemia ser bastante deletéria ao miocárdio, o restabelecimento da perfusão sanguínea, ou seja, reperfusão, acarreta em danos superiores devido a descarga de EROs na mitocôndria, que induzem desde alterações funcionais e estruturais, até morte celular [4]. Esses danos são conjuntamente conhecidos como lesão por isquemia e reperfusão (IR) [5,6].

Diante desse quadro clínico grave, a ampliação de pesquisas na área biomédica é fundamental para que novas estratégias profiláticas e terapêuticas sejam estabelecidas e fomentadas no contexto das lesões por IR. Nesse sentido, o exercício físico regular desponta pelo seu efeito cardioprotetor [7,8].

Estudos mecanísticos sugeriram que essa proteção é multifacetária, e está associada desde alterações moleculares até modificações em fatores de risco para

doenças cardiovasculares. Dessa forma, Quindry e colaboradores [9] classificaram a cardioproteção induzida pelo exercício em quatro grandes categorias:

1) modificação de fatores de risco para doenças cardiovasculares, tais como hipertensão, diabetes mellitus, obesidade e dislipidemia [10,11];

2) remodelamento do ventrículo esquerdo (VE), em função da demanda hemodinâmica que o exercício regular induz [9];

3) reabilitação pós-evento cardíaco, observada pela redução da propensão e severidade de novos eventos isquêmicos em pacientes com doença cardiovascular [9];

4) pré-condicionamento cardíaco, caracterizado por um fenótipo cardíaco mais resistente a lesões miocárdicas posteriores à realização de exercício [4,10,12,13].

No que diz respeito ao pré-condicionamento cardíaco, sabe-se que o exercício aeróbio é capaz de promover cardioproteção contra IR através de um efeito intrínseco ao miocárdio [4,10,12,13], ou seja, adaptações bioquímicas específicas do miocárdio que ocorrem independentemente de alterações musculares e no fluxo sanguíneo. Nesse contexto, o estudo de McElroy e colaboradores [4] foi um dos pioneiros ao demonstrar que a prática regular de exercícios físicos reduz o tamanho da área do infarto em 30% em ratos submetidos à oclusão da artéria coronária. Mais de vinte anos após a descoberta de McElroy, curiosamente, foi demonstrado que poucas sessões de exercício aeróbio prévias à lesão por IR eram suficientes para promover incremento no débito cardíaco e melhora na função contrátil do miocárdio durante a lesão por IR [7].

No entanto, a intensidade de exercício necessária para induzir cardioproteção ainda não é clara. A maioria dos estudos existentes comparando intensidades de exercício distintas utilizaram métodos incorretos para equiparar o volume das sessões de exercício (como igualar a distância total percorrida), ou simplesmente não tiveram essa preocupação [14,15,16]. Além disso, esses estudos apresentam resultados conflitantes. Enquanto já foi demonstrado que cargas abaixo de 55-60%

do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) não protegem contra disfunção miocárdica após isquemia [17], Lennon e colaboradores [18] apontaram que sessões de exercício realizadas a 55% ou 75% do $VO_{2máx}$ resultaram em redução de, respectivamente, 20% e 10% no débito cardíaco de ratos submetidos a lesão por IR in vivo, enquanto os animais controle apresentaram redução de 40%. Em todo caso, em conjunto, esses resultados sugerem que o nível de cardioproteção adquirida com o exercício é dependente da sua intensidade.

Nesse contexto, o exercício intervalado de alta intensidade (HIIT, do inglês, *high intensity interval training*), no qual se intercala curtos períodos de exercício com alta e baixa intensidade na mesma sessão, merece destaque [11]. Com o intuito de sobrecarregar o sistema cardiovascular e estimular maiores adaptações em uma sessão de exercício mais curta, o HIIT tem sido cada vez mais prescrito para pacientes com doenças cardiovasculares [12,13]. De fato, estudos clínicos bem controlados em pacientes com insuficiência cardíaca apresentaram resultados interessantes apontando que o HIIT oferece maiores benefícios em relação ao condicionamento físico aeróbio [18], sensibilidade à insulina [19,20], biogênese mitocondrial e redução de gordura corporal [21] do que o exercício aeróbio contínuo. Como evidenciado por Wisloff e colaboradores[12], a intensidade do exercício foi demonstrada ser um fator importante para reverter o remodelamento do VE e outros componentes da síndrome metabólica, além de melhorar a capacidade aeróbia e a função endotelial de indivíduos cardiopatas.

Apesar dessas evidências, pouco se sabe sobre o efeito preventivo do HIIT na cardioproteção direta no miocárdio após lesão cardíaca.Uma das poucas evidências nesse sentido vem do estudo de Rahimi e colaboradores [22] que demonstraram que animais submetidos à lesão por IR regional após 5 sessões consecutivas de HIIT com 30 min de duração (5 min de aquecimento a 50% do VO_{2max} seguidos por 2 min a 95-105% do VO_{2max} intercalados por 2 min de recuperação a 65-75% do VO_{2max} e 3 min de “volta a calma” a 50% do VO_{2max}) apresentaram redução da área de infarto de, em média, 50% em relação a animais sedentários. Dessa forma, os autores concluíram que o HIIT protege o coração contra lesões por IR. No entanto, permanece a dúvida no que diz respeito à magnitude de cardioproteção contra insultos miocárdicos após o exercício contínuo versus HIIT [23].

Outro ponto importante que deve ser destacado é o modelo animal utilizado nos estudos existentes. Até o momento, não foram encontrados estudos acerca da cardioproteção induzida pelo exercício em animais com doença cardiometabólica instalada previamente à lesão por IR. Isso se torna importante tendo em vista que comprometimentos de ordem cardiometabólica causam alterações nos mecanismos fisiológicos regulatórios que podem influenciar a resposta cardioprotetora do exercício. Em adição, deve-se levar em conta que há uma maior prevalência de obesidade entre os adultos acometidos por infarto agudo do miocárdio (IAM). Dessa forma, pode-se dizer que um modelo de animal obeso seria àquele que mais se aproxima da prática clínica, e assim poderia ser considerado mais adequado para investigação da cardioproteção induzida pelo exercício.

Diante do exposto, entende-se o objetivo do presente estudo de comparar o efeito preventivo cardioprotetor de sessões isocalóricas de exercício aeróbio intervalado de alta intensidade e contínuo em animais obesos após lesão miocárdica.

1.REVISÃO DE LITERATURA

1.1Lesão por IR e Cardioproteção Induzida pelo Exercício Físico

A lesão miocárdica resultante da IR é um importante problema clínico, devidos aos possíveis danos cardíacos funcionais e/ou estruturais decorrentes da privação de oxigênio e do suprimento de nutrientes essenciais para o funcionamento cardíaco normal. Por conta desse processo, o ciclo de Krebs é interrompido, fazendo com que pouca energia seja proveniente do metabolismo oxidativo e para suprir essa demanda energética do miocárdio, o ATP celular passa a ser produzido majoritariamente pela glicólise anaeróbia. No entanto, além dessa alteração metabólica celular induzir acúmulo de lactato citosólico e diminuição do pH intracelular, ela não é capaz de fornecer o quantitativo adequado de ATP [24,25,26,27]. Em consequência, o funcionamento de atividades dos cardiomiócitos dependentes de ATP é prejudicado, como a $Na^{+}K^{+}$-ATPase, causando desequilíbrio iônico.

Diante desse quadro, há uma grande complexidade na sequência de eventos relacionados ao processo de isquemia e reperfusão, caracterizada por inúmeras alterações fisiológicas, que incluem: produção excessiva de radicais livres, sobrecarga de cálcio, membrana lipídica alterada e atuação dos leucócitos que favorecem a lesão celular, podendo levar à morte dos cardiomiócitos.

Pode-se distinguir três diferentes níveis de lesão do miocárdio que variam de acordo com a duração da isquemia miocárdica, [28,29], a saber:

- Reperfusão após 1 a 5 minutos de isquemia, que pode resultar em taquicardia ventricular ou fibrilação sem morte celular ou déficit na contratilidade ventricular;

- Reperfusão após 5 a 20 minutos de isquemia, quando, além das arritmias ocorre déficit reversível na contratilidade do miocárdio sem associação a morte celular. O processo patológico nesse nível parece ocorrer em função da

formação de EROs e alteração no funcionamento de diversos canais de íons, causando perda da homeostase do cálcio [30,31];

- Reperfusão após 20 minutos de isquemia, sendo que nessas circunstâncias além da arritmia, se iniciam as alterações irreversíveis, que causam morte celular, por necrose ou apoptose das células cardíacas (cardiomiócitos). Dessa forma, o IAM, caracterizado por cessação ou drástica redução da oferta de oxigênio em determinada região do coração, só ocorre quando a perfusão do miocárdio é prejudicada por períodos superiores a 20 minutos [28,29,31]

Diante da gravidade das lesões por IR, estratégias para impedir ou atenuar esses danos tornam-se fundamentais. Nesse sentido, já está bem descrito na literatura que o exercício aeróbio, tanto a longo quanto a curto prazo,é capaz de aumentar a tolerância do miocárdio à lesão por IR [32].

No que se refere ao treinamento físico, Bowles e Starnes [32] foram um dos primeiros a descrever as adaptações do miocárdio induzidas pela intervenção com exercício físico. Mais especificamente, ao utilizar o modelo de coração isolado, os autores relataram que os animais que fizeram treinamento físico (5 dias/semana durante 11-16 semanas) apresentavam melhor recuperação da função cardíaca após a isquemia miocárdica em comparação com animais sedentários [32]. De forma similar, Powers e colaboradores [5], em um estudo in vivo com ratos, também concluíram que o treinamento físico (10 semanas a 75-80% do $VO_{2máx}$) melhora o desempenho do miocárdio durante a IR.

Interessantemente, Demirel e colaboradores [7] demonstraram que mesmo o exercício de curta duração (3-5 dias consecutivos)já é suficiente para promover um efeito cardioprotetor. Nesse trabalho, os autores compararam três grupos: (i) controle sem exercício; (ii) três e (iii) cinco dias consecutivos de exercício em esteira por 60 minutos. Os resultados revelaram que, em comparação com o grupo controle, os grupos exercitados mantiveram maior pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE) durante o período de IR [7]. Posteriormente, outros estudos que envolveram lesões por IR após poucas sessões de exercício aeróbio verificaram

redução na área de infarto [7,10, 33] e melhora na função cardíaca [33,34,35,36],e, portanto, confirmaram os achados de Demirel [7].

No entanto, apesar de já ser claro o efeito cardioprotetor induzido pelo exercício físico, a intensidade mínima necessária para tal, ainda é alvo de discussão.

1.2 **Influência da Intensidade do Exercício na Cardioproteção**

Diversas organizações em saúde defendem que o exercício realizado de 3 a 6 vezes por semana durante, ao menos, 30 minutos com intensidade mínima de 40 a 60% do $VO_{2máx}$ já seria suficiente para promover significativos benefícios cardioprotetores [17]. No entanto,acumulam-se evidências demonstrando que a prática de exercícios físicos de alta intensidade proporciona maiores benefícios se comparada com intensidades moderadas, como maior redução do risco de doença arterial coronariana, diminuição da pressão arterial diastólica de repouso, melhora do controle glicêmico e capacidade aeróbia [19]. Kemi e colaboradores [37], por exemplo,submeteram ratos a 10 semanas de treinamento de alta (85-90% do VO_{2max}) ou moderada intensidade (65-70% do VO_{2max}) com 5 sessões semanais de 1h de duração, e observaram que oVO_{2max}, a dimensão dos cardiomiócitos e a capacidade contrátil apresentaram melhores resultados após exercício intenso em comparação àquele moderado. Dessa forma, os autores concluíram que as adaptações cardiovasculares ao treinamento são dependentes da intensidade preconizada. Haram e colaboradores [14], por sua vez, avaliaram o efeito do HIIT versus treinamento contínuo de moderada intensidade nos fatores de riscos para doenças cardiovasculares em animais com síndrome metabólica. Os autores evidenciaram que os ratos submetidos ao HIIT apresentaram uma magnitude maior de melhora sobre o VO_{2max}, função endotelial, pressão arterial e parâmetros metabólicos em vários tecidos comparados aos animais treinados em intensidade moderada. Em conclusão, os achados demonstraram que o treinamento físico reduz o impacto da síndrome metabólica, porém a magnitude do efeito depende da intensidade do exercício.

No que se refere à tolerância intrínseca ao estresse isquêmico cardíaco, esse conceito parece acontecer da mesma forma, ou seja, o nível de cardioproteção conferida pelo exercício diretamente ao miocárdio contra lesões por IR parece ser dependente da sua intensidade. Isso foi evidenciado no estudo de Lennon e colaboradores [18] que apontou que 3 sessões de exercício realizados a 55% ou 75% do $VO_{2máx}$ durante 60 min resultaram em redução de, respectivamente, 20% e 10% no débito cardíaco de ratos submetidos a lesão por IR no Langendorff, enquanto os animais controles apresentaram redução de 40%. De forma similar, Bowles e colaboradores [38] compararam a função cardíaca de ratos treinados durante 11-16 semanas com sessões de 60 min em intensidades baixa (20 m/min, 0% de inclinação), média (30 m/min, 5% de inclinação) ou alta (10 estímulos de 2 min a 60 m/min com recuperação de 2 min a 16 m/min, com inclinação a 5%). Ao fim do treinamento e após 25 min de isquemia e 45 min de reperfusão, o percentual de recuperação do débito cardíaco obtido nos grupos de baixa, média e alta intensidade (61±6, 68±9 e 73±5, respectivamente) foi significativamente maior comparado ao controle sedentário (36±7). Os resultados promissores de Bowles e colaboradores [38] levam a crer que o HIIT pode ser utilizado como uma nova estratégia mais eficiente de treinamento para indução de cardioproteção em relação ao exercício contínuo.

Como já dito, o HIIT é caracterizado por breves e intermitentes estímulos de atividade vigorosa, intercaladas por períodos curtos de repouso ou exercício de baixa intensidade [39]. Esse tipo de estímulo tem sido cada vez mais preconizado para indivíduos saudáveis e doentes por servir como uma alternativa eficaz ao treinamento contínuo de intensidade moderada, capaz de induzir mudanças similares ou superiores em marcadores fisiológicos [12,40,41] com menor duração da sessão [42]. Considerando que a falta de tempo continua sendo uma das principais barreiras para a participação em programas de exercícios regulares, algumas evidências sugerem que indivíduos adeptos do HIIT apresentam maior adesão ao treinamento que àqueles que realizam o exercício contínuo [43,44,45].

Ainda nesse contexto, o estudo de Rahimi e colaboradores [22] demonstrou que animais submetidos à lesão por IR regional após 5 sessões consecutivas de HIIT com 30 min de duração (5 min de aquecimento a 50% do VO_{2max} seguidos por 2 min a 95-105% do VO_{2max} intercalados por 2 min de recuperação a 65-75% do VO_{2max} e

3 min de “volta a calma” a 50% do VO_{2max}) apresentaram redução da área de infarto de, em média, 50% em relação a animais sedentários. Dessa forma, os autores concluíram que o HIIT protege o coração contra lesões por IR. No entanto, permanece a dúvida no que diz respeito à magnitude de cardioproteção contra insultos miocárdicos após o exercício contínuo versus HIIT [23].

Além disso, deve-se ressaltar que a maioria dos estudos investigando o papel cardioprotetor do HIIT não tiveram a preocupação de equiparar o volume de treinamento entre as sessões de alta e baixa intensidade [38], ou utilizaram métodos incorretos para tal, como equiparar a distância total entre os diferentes protocolos de exercício [14,15,16]. No entanto, já foi demonstrado que igualar a distância percorrida entre duas sessões de exercício com intensidades diferentes não garante mesmo volume [46]. O caráter isocalórico que as sessões de exercício devem apresentar quando são comparadas intensidades de exercício distintas é um ponto importante, pois ao igualar o volume de exercício entre as sessões, garante-se somente a intensidade como interveniente [15].

Em um dos poucos estudos utilizando sessões isocalóricas em modelo animal submetido a IAM, Moreira [16] constatou que, apesar do treinamento físico aeróbio em alta intensidade ter proporcionado resultados superiores ao protocolo de intensidade moderada em relação a capacidade funcional dos animais, as adaptações músculo-esqueléticas às diferentes intensidades de treinamento foram muito semelhantes em ambos os protocolos.

No entanto, não foram encontradas evidências no que se refere a cardioproteção contra lesão por IR induzida pelo exercício contínuo e HIIT, seja com volume de sessões equivalentes ou não.

1.3 **Cardioproteção Induzida Pelo Exercício Físico nas Comorbidades**

Apesar do efeito cardioprotetor induzido pelo exercício ser alvo frequente de pesquisas, alguns pontos devem ser melhor esclarecidos. Dentre eles, destaca-se a magnitude de cardioproteção obtida com o exercício na presença de doenças cardiometabólicas. Na prática clínica, as evidências existentes apontam que

indivíduos cardiopatas, hipertensos e obesos que praticam exercício físico regular têm menor risco cardiovascular devido ao melhor controle de fatores de risco, como hipertensão, obesidade, diabetes mellitus [10,11].

No entanto, evidências acerca da contribuição do treinamento físico na cardioproteção conferida diretamente ao miocárdio contra lesões cardíacas nesses pacientes são mais escassas. Nesse sentido, Zdrenghea e colaboradores [2] atribuíram o fenômeno do pré-condicionamento isquêmico ao exercício, ao verificarem que a depressão no segmento ST induzida pelo exercício agudo foi significativamente atenuada em pacientes com infarto prévio após realização de uma sessão de exercício. Similarmente, Lambiase e colaboradores [47] exercitaram pacientes com DAC previamente à intervenção coronariana percutânea e observaram que a deflação no segmento ST comum do procedimento foi reduzida. Apesar desses achados promissores, entende-se a limitação do estudo da cardioproteção contra lesões por IR na clínica, dada a necessidade de intervenção com exercício ser aplicada antes do evento isquêmico. Motivo esse que explica o fato da maioria das evidências nesse sentido serem originadas em estudos com modelos animais.

No entanto, os estudos com experimentação animal que se debruçaram sobre a cardioproteção induzida pelo exercício contra lesões cardíacas utilizaram modelos de animais saudáveis. Esse ponto torna-se importante tendo em vista que animais saudáveis não representam adequadamente o típico paciente cardiopata ou àqueles com síndrome metabólica ou obesidade, mais suscetíveis a acometimentos cardiovasculares tanto no desenvolvimento da doença, quanto no agravamento da mesma.

2. **OBJETIVOS**

2.1 **Objetivo Principal**

Comparar o efeito cardioprotetor de sessões isocalóricas de exercício aeróbio intervalado de alta intensidade e exercício contínuo em animais obesos após lesão miocárdica.

2.2 **Objetivos Específicos**

1. Verificar o efeito do exercício intervalado de alta intensidade e exercício contínuo na composição corporal de ratos obesos;
2. Verificar o efeito do exercício na função cardíaca e área de infarto após lesão por IR.

3 **MÉTODOS**

3.1 **Amostra e Desenho Experimental**

Todos os procedimentos realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/IOC) da Fundação Oswaldo Cruz, sob o número 039-2016, de acordo com a Lei 11794/08.

A amostra do estudo foi composta por ratos wistar machos adultos, com 6 semanas de idade,mantidos em condições controladas de umidade (60±10%), temperatura (21±2°C) e luz (ciclo de 12 horas claro/escuro), com livre acesso a ração e água.

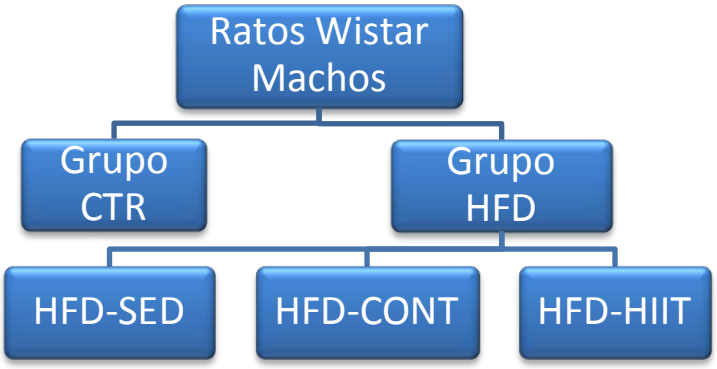
Os ratos foram divididos em dois grupos experimentais: 1) animais controles alimentados com ração comercial padrão (CTR); e 2) animais alimentados com dieta hiperlipídica (HFD) por 20 semanas [48]. A dieta hiperlipídica (Figura 1) foi composta por 50% daração comercial padrão, com adição de 20% de gordura animal (banha de porco), 13% de leite condensado, 16,5% de amido de milho e 0,5% de NaCl.

Figura 1 - Foto da ração hiperlipídica.

Fonte: O autor, 2019

Conforme demonstrado na Figura 2, após 20 semanas de dieta, período mínimo para que as alterações metabólicas induzidas pela dieta sejam observadas [48], os animais alimentados coma dieta hiperlipídica foram randomicamente divididos em 3 grupos: 1) sedentário (HFD-SED); 2) exercício contínuo (HFD-CONT); e 3) exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT).

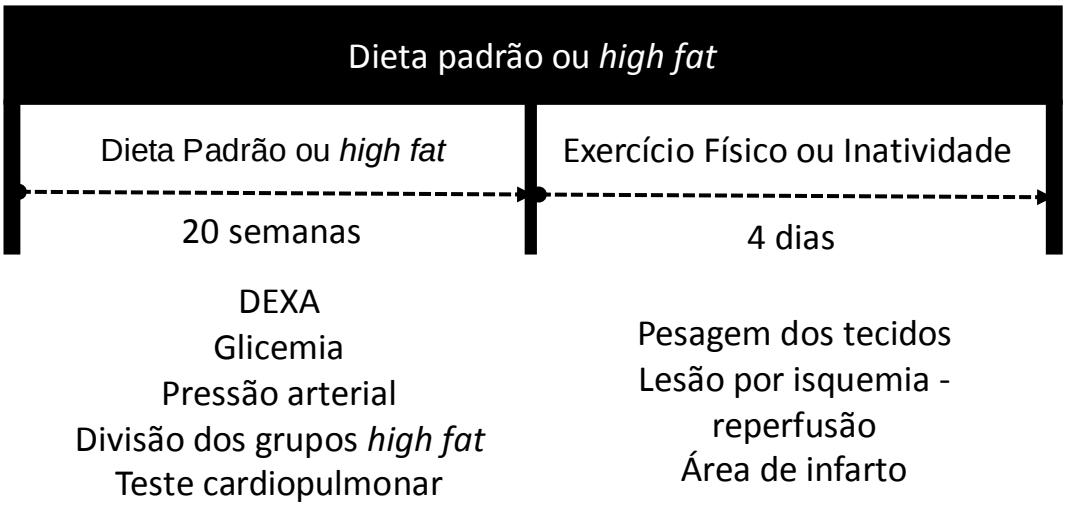
Figura 2 - Divisão dos grupos experimentais.



Fonte: O autor, 2019

A Figura 3 ilustra o desenho experimental do estudo. Resumidamente, após 20 semanas de dieta padrão ou hiperlipídica (HFD), alguns animais foram submetidos a avaliação quanto à composição corporal por densitometria por dupla emissão de raios-X (DEXA), glicemia de jejum e pressão arterial (PA). Em seguida, todos os animais submetidos a HFD foram subdivididos em um grupo sedentário (HFD-SED), exercício contínuo (HFD-CONT) e intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT), sendo que os animais dos grupos HFD-CONT e HFD-HIIT realizaram um teste cardiopulmonar máximo e posteriormente 4 sessões de exercício físico. Após 24 horas das sessões de exercício ou sedentarismo, todos os grupos foram submetidos a lesão por IR em modelo de coração isolado (Langendorff), pesagem de tecidos e avaliação da área de infarto do VE.

Figura 3 - Representação esquemática do desenho experimental do estudo.



Fonte: O autor, 2019

3.2 **Caracterização do Modelo de Obesidade**

Após o período de indução de obesidade através da dieta hiperlipídica, e antes do início do protocolo de exercício, alguns animais de CTR e HDF foram submetidos a aproximadamente 12h de jejum para a aferição da glicemia, realizada através de um corte na região caudal, utilizando um glicosímetro OneTouch Ultra (Johnson & Johnson, NJ, EUA).

Para constatação da obesidade, o percentual de gordura corporal de um subgrupo de CTR e HFD foi determinado ao final da 20ª semana de dieta hiperlipídica, através da técnica de DEXA (Lunar IDXA ME, GE Health Care) e quantificada pelo software Encore 2008 (GE Health Care versão 12. 20). A calibração do equipamento seguiu as recomendações do fabricante. Para a realização das análises, os animais foram anestesiados com quetamina e xilazina (0,3 e 0,3mg/kg; respectivamente) por via intraperitoneal (i.p.) e posicionados sob a área de escaneamento do aparelho emdecúbito ventral. O escaneamento foi feito

seguindo uma linha sagital demarcada pelo aparelho e que deveria passar sob o centro de alguns pontos anatômicos como o crânio, coluna vertebral, quadril e patas.

Em adição, foram realizadas medidas não-invasivas da PA em alguns animais conscientes dos grupos CTR e HFD, através de um sistema computadorizado de pletismografia caudal (BP-2000, Visitech blood pressure analysis system, USA). Os animais foram colocados numa caixa de contenção sobre a superfície aquecida (37°C) do aparelho. A cauda foi então colocada em manguitos e fixada com fita entre a fonte de luz e o sensor foto elétrico para a detecção dos pulsos de pressão. O fluxo sanguíneo nas caudas produzia ondas oscilatórias que eram digitalmente mostradas 200 vezes por segundo e analisadas durante uma rotina programável de inflagem e desinflagem dos manguitos. Os valores médios da PA foram obtidos após cada rotina do equipamento. As medidas da PA foram realizadas na 20ª semana de dieta para configurar as alterações metabólicas induzidas pela dieta. Antes das medidas finais da PA, os animais foram adaptados por três dias consecutivos ao aparelho para minimizar o estresse e consequentemente as interferências sobre os resultados.

3.3 **Determinação da Capacidade Máxima de Exercício**

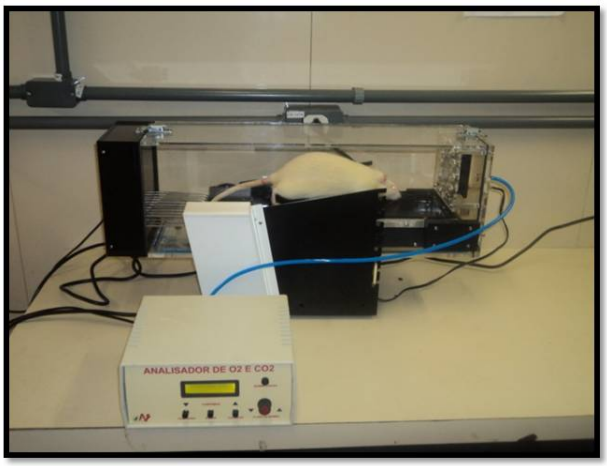
A capacidade máxima de exercício nos grupos HFD-CONT e HFD-HIIT foi determinada pelo $VO_{2máx}$ medido através de um sistema de calorimetria de circuito aberto, através da análise dos gases expirados, durante um teste incremental máximo (Figura 4). O teste foi realizado em esteira ergométrica, acoplada a uma caixa metabólica (AVS projetos, São Paulo, SP), com fluxo de entrada de ar mantido a 3500 ml/min. A fração de O_2foi medida continuamente a uma frequência de aquisição de 20 Hz (AQCAD, AVS projetos, São Paulo, SP). O $VO_{2máx}$ foi calculado utilizando a variação na fração de oxigênio (%) e o fluxo de ar da caixa metabólica, através da seguinte equação:

$$VO_{2máx}\ (ml/Kg*min) = \frac{(20{,}93 - \%\ O_2\ consumido) * Fluxo\ de\ ar / 100}{Peso\ do\ animal\ (Kg)}$$

Para a determinação do $VO_{2máx}$, inicialmente os animais permaneceram por 15 minutos na esteira sem se exercitar para a estabilização do aparelho. Em seguida, o teste foi iniciado com velocidade de 10 m/min e a cada 3 minutos a velocidade aumentava em 3 m/min até que a exaustão dos animais fosse constatada, ou seja, quando os animais não conseguiam manter o ritmo da corrida por pelo menos 5 segundos, mesmo recebendo estímulos elétricos da esteira (3.0mA).

Todos os animais foram adaptados à corrida na esteira por quatro sessões consecutivas com duração de 5 minutos a velocidade de 10 m/min nos dias anteriores ao teste.

Figura 4 - Teste incremental máximo realizado para determinação do $VO_{2máx}$ em esteira acoplada à analisador de gases.



Fonte: O autor, 2019

3.4 **Protocolos de Exercício Físico**

Entre 48 e 72 horas após o teste de determinação da capacidade máxima de exercício, todos os animais pertencentes aos grupos HFD-CONT e HFD-HIIT foram submetidos a 4 sessões de exercício físico em esteira ergométrica aplicadas em dias consecutivos (HT 2.0, Hectron Fitness Equipamentos, Rio de Janeiro, RJ) sempre realizadas no período da manhã.

A faixa de intensidade do exercício do grupo HFD-CONT foi constante e mantida a 50% do consumo máximo de oxigênio de reserva (VO_2R), enquanto o grupo HFD-HIIT realizou as sessões alternando a intensidade de 60%VO_2R (3 min) e 80%VO_2R (4 min). A intensidade baseada no VO_2R foi calculada através da seguinte equação:

$$VO_2R\ (ml/Kg*min) = (\text{fração da intensidade}) * (VO_{2máx} - VO_{2basal}) + VO_{2basal}$$

Para garantir o mesmo volume, a duração da primeira sessão de exercício de cada animal foi calculada individualmente em esteira ergométrica acoplada à analisador de gases (AVS projetos, São Paulo, SP)de forma a elicitar um dispêndio energético de 5 kcal, assumindo que cada 1L de O_2 consumido equivale a 5,0 Kcal [47].

3.5 **Preparação do Coração Isolado e Pesagem dos Tecidos**

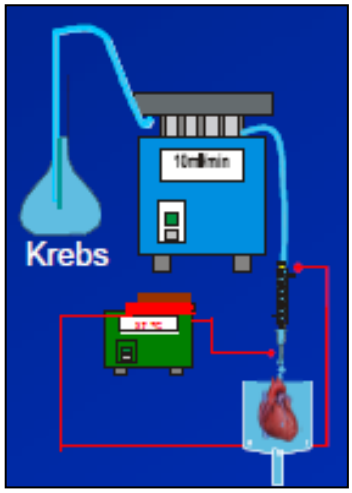
Vinte e quatro horas após a última sessão de exercício ou repouso, os animais de todos os grupos, previamente heparinizados (500 iu/Kg, ip.), foram eutanasiados por overdose de anestésico (quetamina: 0,5mg/kg e xilazina: 0,5mg/kg; ip.). Após realização de esternotomia mediana epericardiotomia, o coração foi rapidamente removido e instalado em um aparelho de coração isolado, de acordo com o método

de Langendorff (Figura 5). O coração permaneceu perfundido retrogradamente via circulação coronariana com solução de Krebs-Henseleit (mM: 118 NaCl, 4,7 KCl, 1,2 $MgSO_4$, 1,2 KH_2PO_4, 25 $NaHCO_3$, 10 glicose e 1,8 $CaCl_2$, pH 7,2; gasificado com 95% O_2 – 5% CO_2, 37◦C), distribuído com fluxo constante de 10 ml/min, através de bomba peristáltica (AVS projetos, São Paulo, SP).

Após 30 min de período basal para estabilização do sistema, o coração foi submetido a 30 min de isquemia global seguida de 1h de reperfusão. A isquemia foi realizada desligando a bomba peristáltica, e assim interrompendo o fluxo de solução de Krebs aerado, e na reperfusão, a bomba foi religada.

Após a morte dos animais e término do protocolo do Langendorff, o coração, VE, músculos gastrocnêmio e quadríceps e a gordura foram dissecados e pesados em balança analítica com precisão de 0,01g.

Figura 5 -Representação esquemática da montagem de Langendorff mostrando solução de Krebs sendo perfundida no coração através da bomba peristáltica fixada a 10 ml/min, após aquecimento a 37°C.

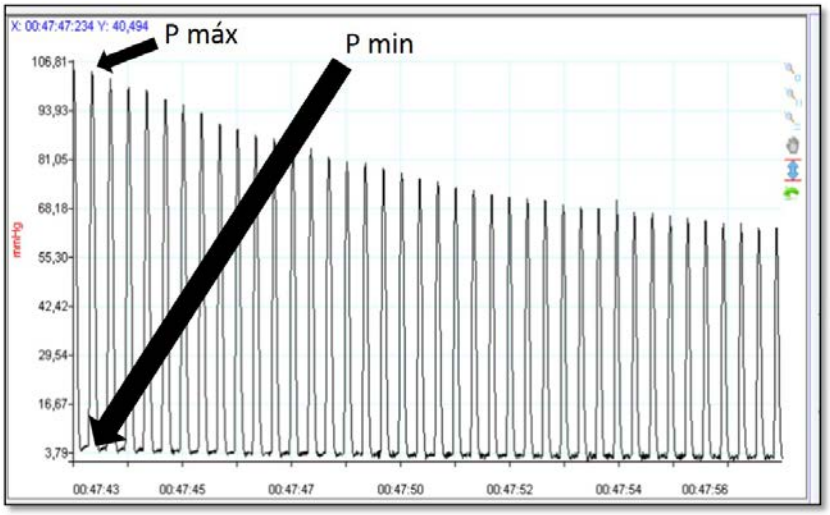


Fonte: Borges, 2014, f.3.4, pág. 32

3.6 **Função Cardíaca**

Para analisar a capacidade contrátil do coração, um balão de látex contendo solução fisiológica foi introduzido no VE, acoplado a um transdutor de força (AVS Projetos, SP, Brasil) e ajustado para uma pressão mínima entre 5-10 mmHg.Através do software AQCAD (versão 2.4.8, AVS Projetos, SP, Brasil), foram registradas durante todo o experimento a pressão máxima (Pmáx) e pressão mínima (Pmin) do VE. Os valores obtidos no último minuto do período basal e da reperfusão foram analisados pelo software ANCAD (versão 2.0.0 RC 4, AVS Projetos, SP, Brasil).A pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo(PDVE) foi calculada através da diferença entre a Pmáx e Pmin do ventrículo esquerdo, conforme demonstrado na Figura 6. Além disso, foram mensuradas também as velocidades máximas de aumento e queda da pressão no ventrículo esquerdo ($dP/dt_{máx}$ e dP/dt_{min}, respectivamente), ou seja, a variação da pressão em um determinado tempo, refletindo assim a capacidade de contratilidade e relaxamento cardíaco.

Figura 6 - Exemplo de registro de pressão máxima (Pmáx) e mínima (Pmin) obtido no momento do desligamento da bomba peristáltica (isquemia).



Fonte: O autor, 2019.

3.7 **Determinação da Área de Infarto**

No intuito de medir a área de infarto, após a reperfusão, o coração foi rapidamente removido do Langendorff, e mantido durante aproximadamente 1h em freezer (-20° C) para permitir que cortes transversais (2 mm de espessura) fossem realizados. Em seguida, os cortes foram incubados em solução tamponada (pH 7,4) de cloreto de trifeniltetrazolium (TTC) a 37 °C por 20 min. O TTC reage com o NADH e as enzimas desidrogenases presentes nos tecidos viáveis, de forma que essa reação leva ao aparecimento de uma coloração avermelhada. Durante a reperfusão, ocorre “wash out” da região isquêmica, o que leva a retirada do NADH e das enzimas desidrogenases das células mortas, fazendo com que não haja coloração nessa área infartada, permanecendo pálida. Após a coloração com TTC, os cortes foram imersos em solução de formalina 10% durante 30 min para permitir maior contraste entre as diferentes regiões.

Finalmente, as imagens dos cortes foram digitalizadas e a área total de infarto foi analisada pelo software Image J (*National Instituteof Health*, EUA), por um observador que não teve ciência de qual grupo cada imagem pertence. A área total de infarto foi então expressa como um percentual da área total do VE.

3.8 **Análise Estatística**

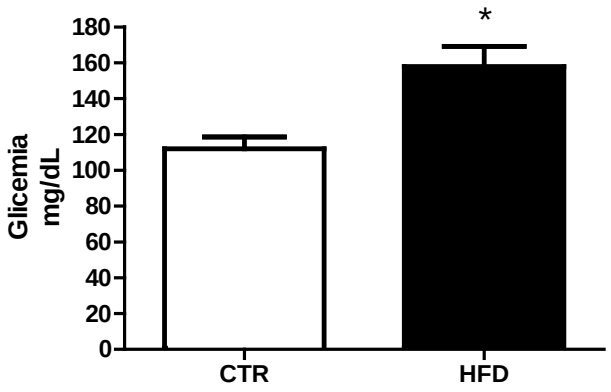
Os resultados foram apresentados como média ± desvio padrão da média. A normalidade dos dados foi confirmada através de teste de Shapiro-Wilk. A comparação entre as médias foi realizada através de análise de variância (ANOVA) de uma entrada seguida de teste *post-hoc* de Student-Newman-Keuls, exceto para as medidas da função cardíaca que foram testadas por ANOVA de duas entradas, seguida de teste *post-hoc* de Bonferroni. Diferenças com valor de $P < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

4 Resultados

4.0 **Efeito da Dieta na Glicemia, Composição Corporal e Pressão Arterial**

Uma amostra do grupo submetido a dieta padrão e dieta hiperlipídica antes do início do protocolo do exercício foi submetida à avaliação da glicemia de jejum, PA, e ao exame de DEXA para verificação da composição corporal e caracterização do modelo de obesidade. O Gráfico 1 demonstra que o grupo HFD apresentou maior glicemia de jejum em relação ao grupo CTR (111,9 ± 20,9 *vs*157,8 ± 45,3 mg/dL; P = 0,006).

Gráfico 1 - Glicemia de jejum obtida nos grupos submetidos a dieta padrão (CTR; n = 10) e hiperlipídica (HFD; n = 16).*P < 0,01 no Teste t de *Student* não-pareado.



Fonte: O autor, 2019

Conforme observado na Tabela 1, a análise do DEXA demonstrou que o grupo HFD apresentou maior massa corporal total, massa de gordura total, percentual de gordura total e menor massa magra em relação ao grupo CTR.

Na Figura 7 são apresentadas imagens representativas dos resultados do DEXA para os grupos CTR e HFD.

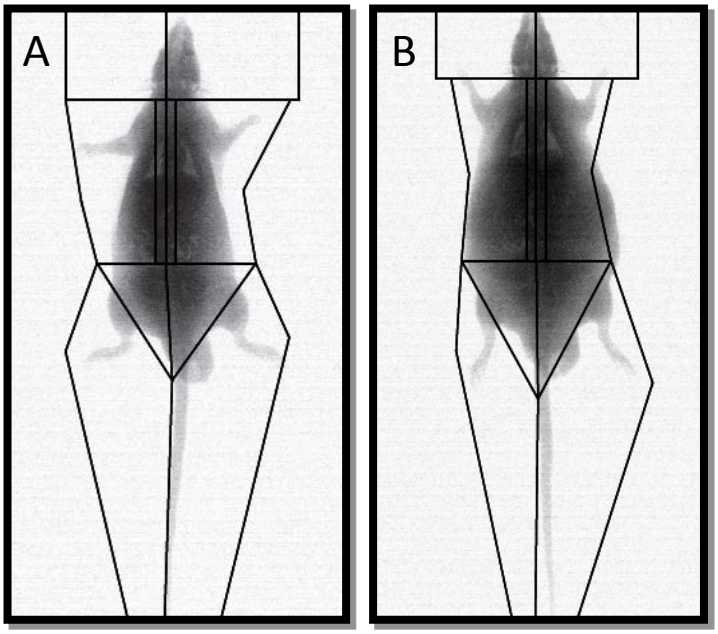
Tabela 1 - Resultados biométricos obtidos no grupo submetido à dieta comercial padrão (CTR) e hiperlipídica (HFD).

	CTR (n = 8)	**HFD (n = 7)**	**P***
Massa corporal total (g)	427,5 ± 19,7	530,1 ± 71,6	0,002
Massa de gordura total (g)	99,1 ± 13,4	272,6 ± 74,9	< 0,001
Gordura total (%)	23,9 ± 2,8	51,9 ± 9,4	< 0,001
Massa magra (g)	316,8 ± 16,6	241,1 ± 29,1	< 0,001

Resultados expressos em média ± desvio padrão. * Teste t de *Student* não-pareado.

Fonte: O autor, 2019

Figura 7 -Imagens representativas obtidas no exame do DEXA para os grupos CTR (A) e HFD (B).

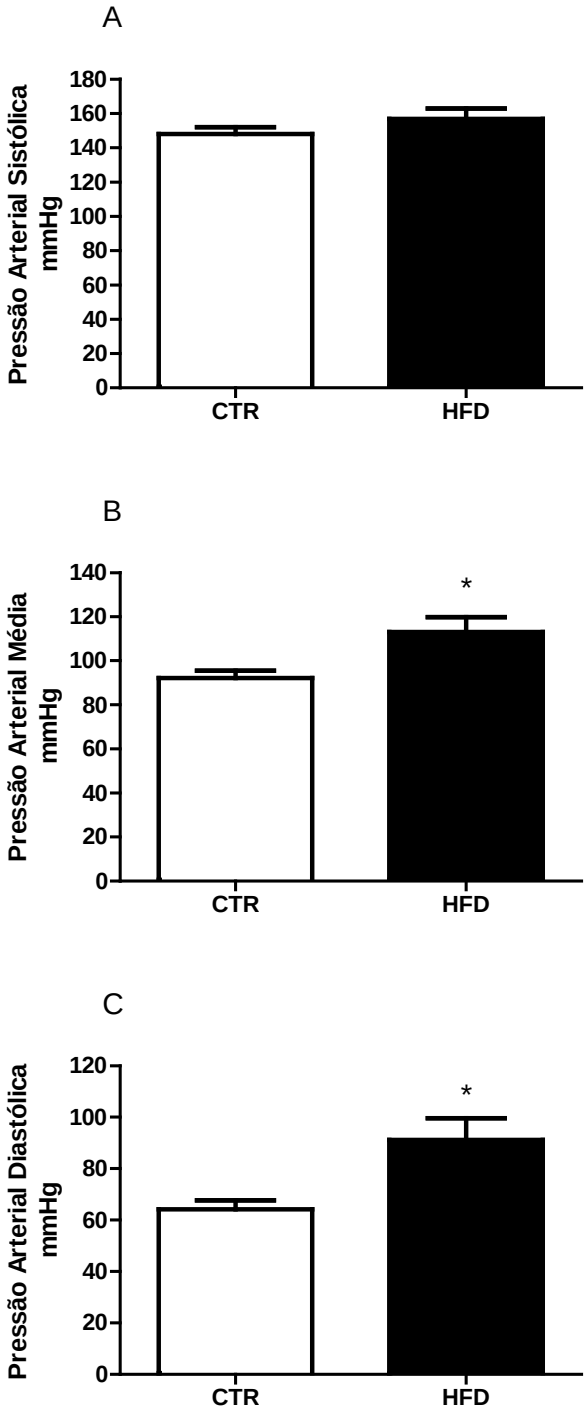


Fonte: O autor, 2019

A PA sistólica foi similar entre os grupos CTR e HFD (CTR: 147,9 ± 13,0 *vs* HFD: 156,7 ± 19,0 mmHg; P = 0,24; Gráfico 2A). No entanto, o grupo HFD apresentou resultado superior em relação ao CTR para a PA média (CTR: 92,1±

10,7*vs* HFD: 112,9 ± 21,3 mmHg; P = 0,01; Gráfico 2B) e diastólica(CTR: 64,1 ± 10,8*vs* HFD: 91,1 ± 26,9 mmHg; P = 0,008; Gráfico 2C).

Gráfico 2 - Pressão arterial sistólica (A), média (B) e diastólica (C) obtida nos grupos submetidos a dieta padrão (CTR; n = 10) e hiperlipídica (HFD; n = 10).*P < 0,01 no Teste t de *Student* não-pareado.

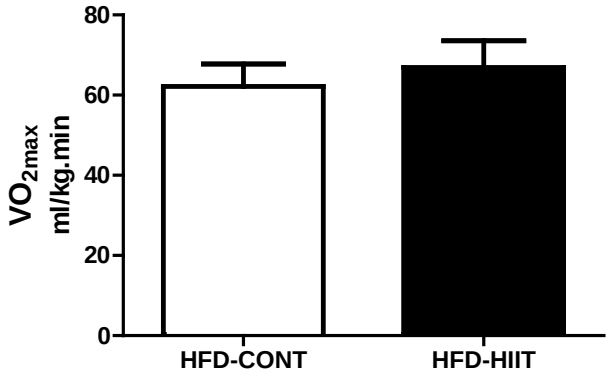


Fonte: O autor, 2019

4.1 **Capacidade Máxima de Exercício e Sessões de Treino**

Conforme observado no Gráfico 3, não houve diferença entre os grupos HFD-CONT e HFD-HIIT para o $VO_{2máx}$ medido durante o teste de capacidade máxima de exercício (HFD-CONT: 62,2 ± 19,5 *vs* HFD-HIIT: 66,9 ± 21,0 ml/Kg.min; P = 0,58).

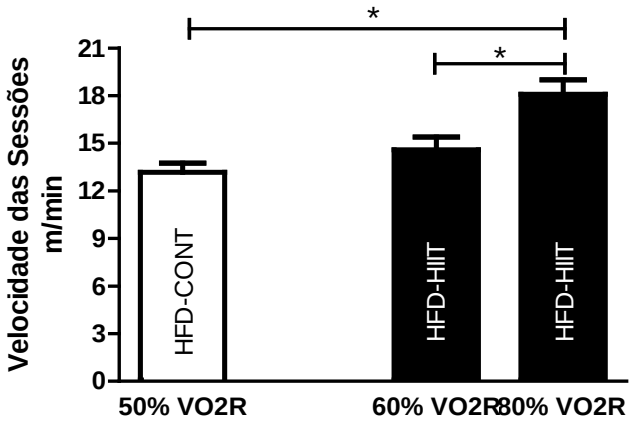
Gráfico 3 - Consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) obtido nos grupos submetidos a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 13) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 13).



Fonte: O autor, 2019

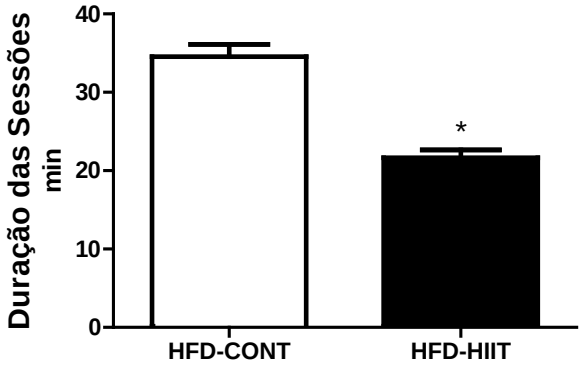
Os valores médios de velocidade e duração das sessões isocalóricas obtidos para os grupos HFD-CONT e HFD-HIIT estão apresentados nos Gráficos4 e 5; respectivamente. HFD-CONT se exercitou a 13,2±2,0 m/min, enquanto a velocidade da sessão variou entre 14,6±2,8 m/min e 18,1±3,2 m/min no HFD-HIIT. Foram encontradas diferenças significativas entre as velocidades correspondentes a 60% versus 80% VO_2R de HFD-HIIT (P < 0,01), 50% VO_2R do HFD-CONT versus 80% VO_2R de HFD-HIIT (P < 0,001), mas não houve diferença entre 50% VO_2R do HFD-CONT versus 60% VO_2R do HFD-HIIT (P = 0,16).

Gráfico 4 - Velocidade média obtida nos grupos submetidos a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 13) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 13). *P < 0,05.



Fonte: O autor, 2019

Gráfico 5 - Média da duração das sessões nos grupos submetidos a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 13) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 13). *P < 0,001.



Fonte: O autor, 2019

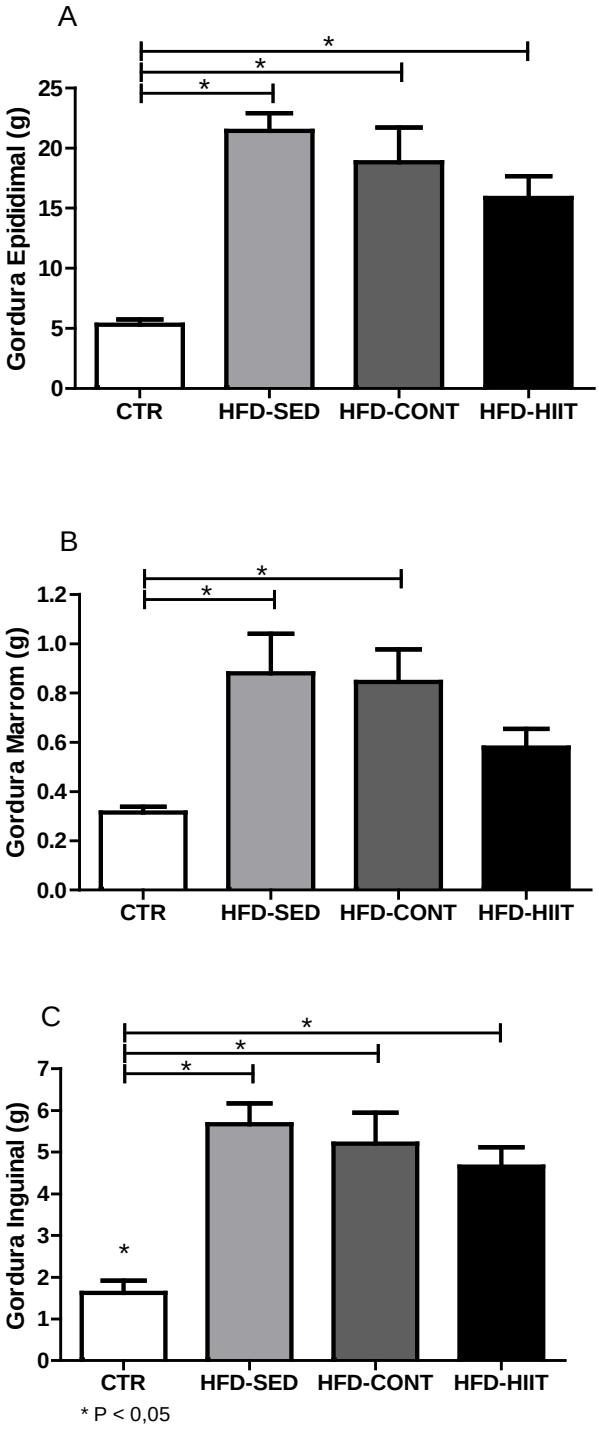
4.2 **Efeito da Dieta e Exercício Sobre a Composição Corporal**

Após a morte dos animais, a gordura, músculos gastrocnêmio e quadríceps, coração e VE foram dissecados e pesados em balança analítica com precisão de 0,01g.O gráfico 6 apresenta os resultados de gordura epididimal, marrom e inguinal obtidos nos grupos experimentais. Os grupos HFD-SED, HFD-CONT e HFD-HIIT apresentaram maior massa de gordura epididimal, marrom e inguinal em relação ao grupo controle, exceto o grupo HFD-HIIT que apresentou resultado similar ao controle para a gordura marrom (Gráfico 6B).

Interessantemente, o protocolo de exercício contínuo e HIIT foi capaz de reverter a atrofia muscular causada pela dieta hiperlipídica, uma vez que somente o grupo HFD-SED apresentou menor massa de músculo gastrocnêmio e quadríceps em relação aos demais grupos (Gráfico 7).

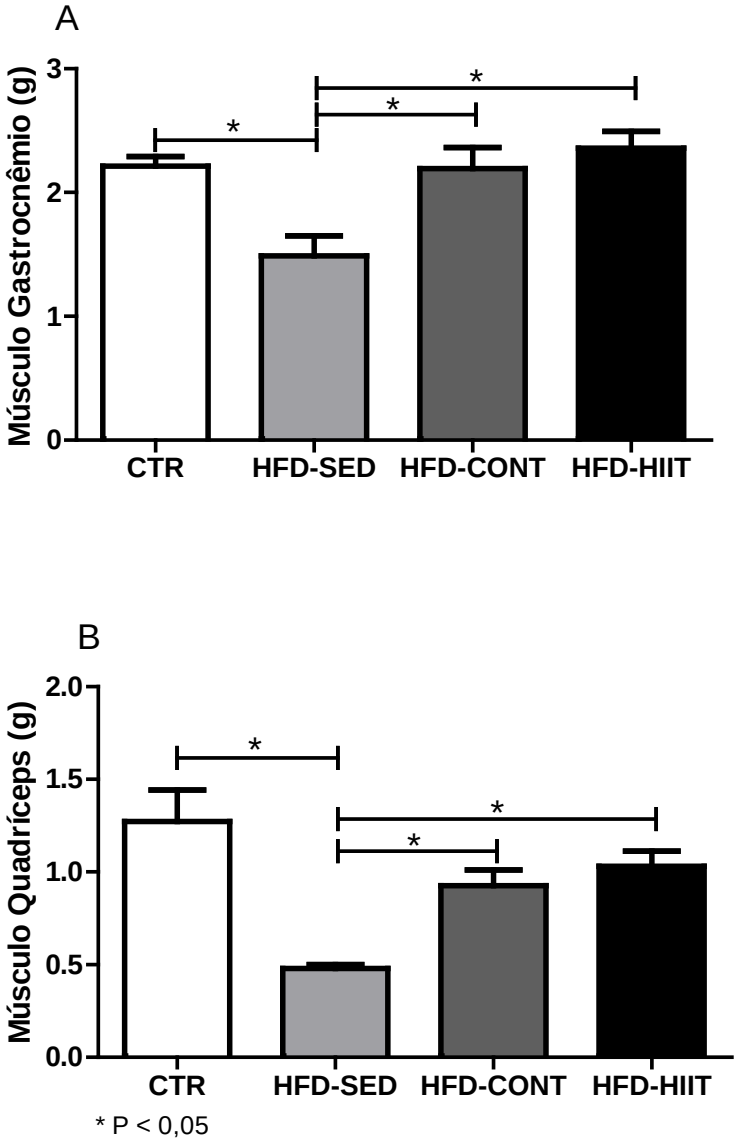
Não foram encontradas diferenças significativas para a massa de coração e VE entre os grupos (Gráfico 8).

Gráfico 6 - Massa de gordura epididimal (A), marrom (B) e inguinal (C) obtidas nos grupos controle (CTR; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e sedentário (HFD-SED; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 6) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 6).



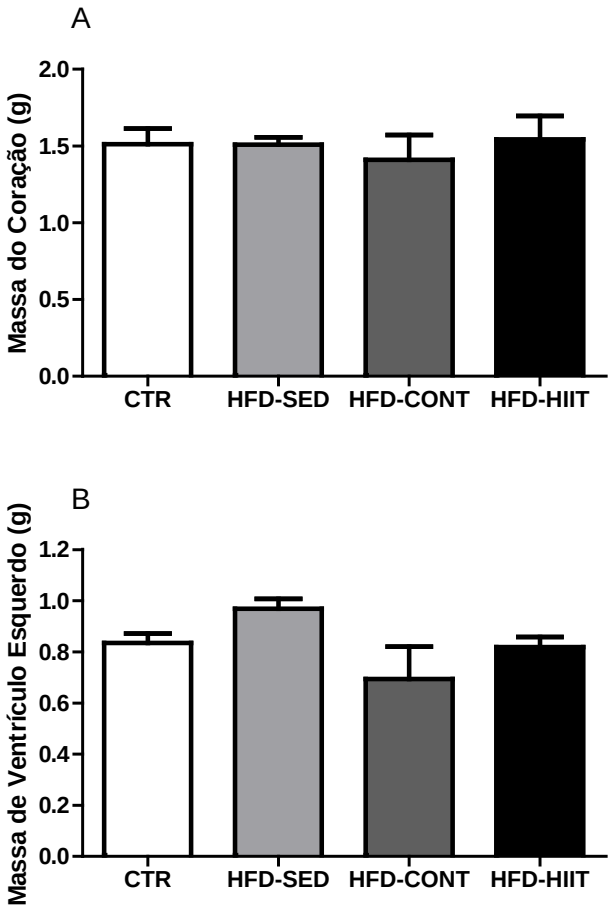
Fonte: O autor, 2019

Gráfico 7 - Massa do músculo gastrocnêmio (A) e quadríceps (B) obtida nos grupos controle (CTR; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e sedentário (HFD-SED; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 6) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 6).



Fonte: O autor, 2019

Gráfico 8 - Massa do coração (A) e ventrículo esquerdo (B) obtida nos grupos controle (CTR; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e sedentário (HFD-SED; n = 6), submetido a dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 6) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 6).



Fonte: O autor, 2019

4.3 **Efeito da Dieta e Exercício Sobre a Função Cardíaca**

A Tabela 2 apresenta os resultados da função cardíaca no período pré (basal) e pós-reperfusão no Langendorff.Não houve diferença entre os grupos no período basal. Já após a reperfusão, o grupo HFD-CONT apresentou menor P máx em relação aos demais grupos. Em relação a P min, os grupos HFD-CONT e HFD-HIIT

exibiram menor resultado quando comparados aos grupos CTR e HFD-SED, enquanto HFD-SED apresentou menor P min em relação ao CTR. Além disso, o grupo HFD-HIIT apresentou maior PDVE em relação a CTR e HFD-CONT.

Adicionalmente, o grupo HFD-HIIT apresentou maior percentual da PDVE após reperfusão em relação ao basal quando comparado aos demais grupos (HFD-HIIT: 103,5 ± 30,0 % *vs* CTR: 34,3 ±34,7; HFD-SED: 48,1 ± 34,4; HFD-CONT: 38,9 ± 53,7 %; P < 0,05; Gráfico 9).

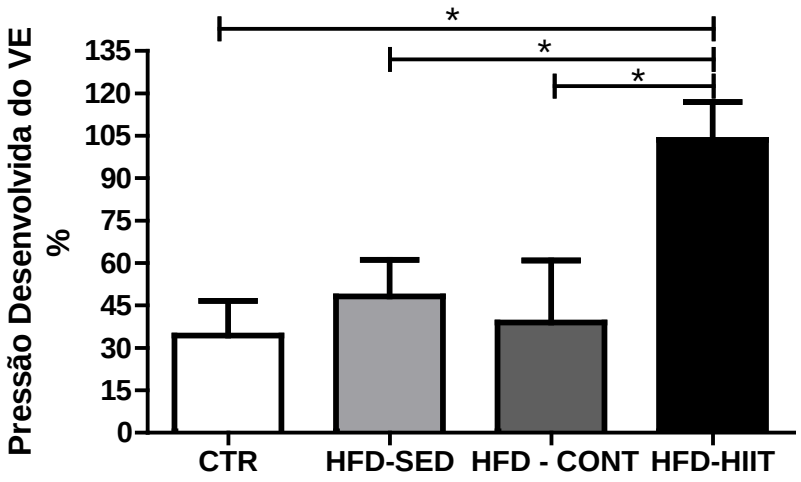
Tabela 2 - Função cardíaca antes e após lesão por isquemia-reperfusão em Langendorff nos grupos submetidos a dieta padrão (CTR), dieta hiperlipídica (HFD-SED), dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT) e dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT).

		CTR (n = 8)	HFD-SED (n = 7)	HFD-CONT (n = 6)	HFD-HIIT (n = 5)
P Max	Pré	82,86±14,14	74,78±22,51	78,71±40,34	71,63±11,72
	Pós	100,04±20,04[a]	88,16±23,84[b]	52,59±48,72[a,b,c]	93,48±19,21[c]
	Δ	17,18	13,38	-26,12	17,95
P min	Pré	12,96±2,71	7,49±3,41	8,51±4,44	7,28±6,27
	Pós	75,00±11,28[d,a,e]	52,39±29,44[d,b,f]	28,87±19,95[a,b]	28,43±16,42[e,f]
	Δ	62,04[a,e]	44,90	20,36[a]	21,22[e]
dP/dtmáx	Pré	1877,25±450,55	2189,71±655,96	1683,34±657,21	1894,60±223,17
	Pós	624,13±578,80	1085,71±929,61	847,14±1195,32	1345,80±476,54
	Δ	-1253,13	-1104,00	-836,20	-487,97
dP/dt min	Pré	-989,50±142,15	-1124,29±291,38	-805,83±176,88	-1081,40±168,64
	Pós	-424,75±374,06	-654,00±511,83	-484,58±615,08	-883,00±249,74
	Δ	564,75	470,29	321,26	305,46
PDVE	Pré	69,92±12,47	67,19±22,83	70,18±43,37	64,34±7,01
	Pós	25,04±26,10[e]	35,59±29,40	23,70±36,19[c]	65,07±13,95[e,c]
	Δ	-44,88	-31,59	-46,48	0,29

Resultados expressos em média ± desvio padrão. [a]P< 0,05 CTR *vs* HFD-CONT; [b]P< 0,05 HFD-SED *vs*HFD-CONT, [c] P < 0,05 HFD-HIIT *vs*HFD-CONT; [d] P < 0,05 CTR *vs* HFD-SED; [e] P < 0,05 CTR *vs* HFD-HIIT; [f] P < 0,05 HFD-SED*vs* HFD-HIIT.

Fonte: O autor, 2019

Gráfico 9 - Percentual da pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (VE) durante a lesão por isquemia e reperfusão em Langendorff dos grupos submetidos a dieta padrão (CTR), dieta hiperlipídica (HFD), dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT), dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT).



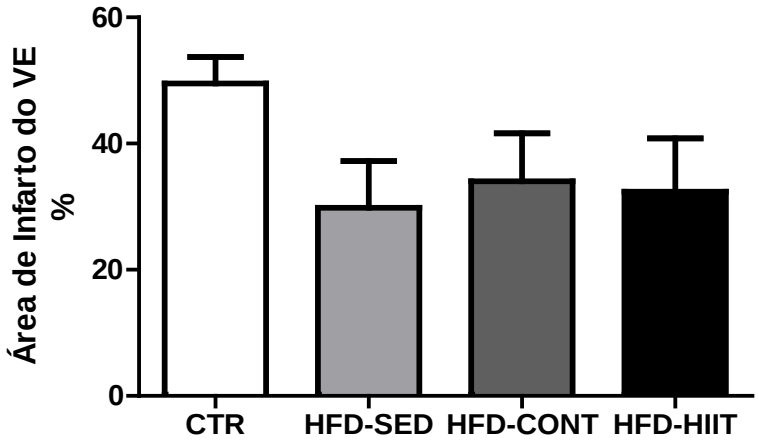
*P < 0,05

Fonte: O autor, 2019

4.4 **Efeito da Dieta e Exercício Sobre a Área de Infarto**

Como pode ser observado no Gráfico 10, os grupos apresentaram resultado similar para a área de infarto do VE após lesão por IR no Langendorff (CTR: 49,51 ± 11,96; HFD-SED: 29,81 ± 18,13; HFD-CONT: 34,04 ± 16,92; HFD-HIIT: 32,35 ± 22,34 %; P > 0,05).

Gráfico 10 - Área de infarto do ventrículo esquerdo (VE) após lesão por isquemia reperfusão no Langendorff nos grupos submetidos a dieta padrão (CTR; n = 8), dieta hiperlipídica (HFD-SED; n = 6), dieta hiperlipídica e exercício contínuo (HFD-CONT; n = 5), dieta hiperlipídica e exercício intervalado de alta intensidade (HFD-HIIT; n = 7).



Fonte: O autor, 2019

5 DISCUSSÃO

O objetivo primordial do trabalho foi comparar o efeito cardioprotetor de sessões isocalóricas de exercício aeróbio intervalado de alta intensidade e contínuo em animais obesos após lesão miocárdica. Assim, o principal achado do presente estudo foi que o protocolo de exercício HIIT conferiu efeito cardioprotetor superior contra lesão miocárdica em comparação ao contínuo em animais obesos. Além disso, buscou-se verificar o efeito do exercício HIIT e contínuo na composição corporal de ratos obesos. Nesse sentido, curiosamente, verificou-se que ambos os protocolos de exercício foram capazes de reverter a atrofia muscular induzida pela dieta hiperlipídica.

Nossos resultados indicaram alterações na pressão arterial, glicemia de jejum e composição corporal dos ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Tais resultados corroboram com achados de estudo prévio de nosso grupo de pesquisa [48], no qual os autores observaram maior deposição de gordura central, resistência à insulina, intolerância à glicose, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, hipertensão arterial, remodelamento cardíaco e rarefação da microcirculação no coração e no músculo esquelético de ratos alimentados com dieta hiperlipídica constituída dos mesmos ingredientes à utilizada no presente trabalho. Apesar de Nascimento e colaboradores [48] não terem relatado alterações na massa muscular dos animais alimentados com a dieta, sabe-se que a obesidade está relacionada amobilidade física prejudicada, disfunção e atrofia muscular [49,50].

De fato, já existem evidências de que animais alimentados com dieta hiperlipídica desenvolvem características típicas da Síndrome Consumptiva, ou Síndrome do *Wasting,* como fraqueza, redução do diâmetro da fibra e perda de massa muscular [49,50]. Nesse contexto, já foi demonstrado em estudos clínicos e experimentais que o treinamento físico é uma das estratégias usadas para combater a atrofia muscular induzida pela obesidade [51,52]. Kim e Lee [51], por exemplo, ao investigarem o papel de 8 semanas de treinamento físico aeróbio de baixa intensidade na síntese e degradação proteica do músculo plantar de ratas ooforectomizadas e alimentadas com dieta hiperlipídica, verificaram que o exercício

inibiu a degradação proteica induzida pela obesidade e menopausa. Apesar dessas evidências, não foi possível localizar estudos que tenham verificado o papel de exercício físico de curto prazo na atrofia muscular induzida pela obesidade.

Dessa forma, o presente estudo mostrou originalmente que apenas quatro sessões de exercício físico aeróbio, seja ele contínuo ou intervalado de alta intensidade, já foram suficientes para proporcionar benefícios na composição corporal dos ratos obesos. Esse achado pode contribuir com o entendimento acerca dos mecanismos pelos quais o exercício combate à atrofia muscular relacionada a obesidade. Acredita-se que a redução da massa muscular envolve a alteração de fatores de transcrição que regulam a expressão de genes responsáveis pela degradação e síntese proteica, como o PGC-1, que é uma família de coativadores de fatores de transcrição relacionada ao PPAR (receptores ativados por proliferador de peroxissoma [49].Considerando que ambos os exercícios de curto e longo prazo induzem a expressão do PGC-1 em animais e humanos [49], nossos achados podem indicar o envolvimento dessa via na restauração ocasionada pelo exercício da atrofia muscular induzida pela obesidade. No entanto, evidentemente, estudos adicionais são necessários para confirmar essa hipótese.

Outro ponto importante que deve ser destacado é o efeito da dieta hiperlipídica na função cardíaca dos animais. Nossos dados de PDVE obtidos antes do insulto cardíaco indicam que não houve comprometimento da função cardíaca induzida pelo modelo de obesidade. Isso justifica os resultados similares de função cardíaca e área de infarto após a lesão por isquemia reperfusão obtidos nos grupos controle e sedentário submetido a dieta hiperlipídica. Portanto, ainda permanece a dúvida a respeito de qual seria a magnitude de cardioproteção conferida pelo exercício em um modelo de disfunção cardíaca.

No que se refere aos efeitos cardioprotetores do exercício físico, os resultados de função cardíaca e área de infarto obtidos no grupo que realizou exercício contínuo sugerem que não houve cardioproteção contra o insulto cardíaco nessa faixa de intensidade (50% do VO_2R). Nossos resultados corroboram com os achados do estudo de Starnes e colaboradores [17], no qual ao final de um treinamento aeróbio na esteira por 16 semanas a 55-60% do $VO_{2máx}$, os ratos treinados apresentaram resultados similares aos sedentários para o trabalho cardíaco após lesão por IR (treinados: 51 ± 11% *VS* sedentários: 63 ± 9%). Portanto,

em conjunto, esses resultados sugerem que há um limiar crítico de intensidade de exercício, abaixo da qual não ocorre cardioproteção intrínseca contra lesões por IR. No entanto, de forma interessante, no presente trabalho, o grupo que se exercitou de forma contínua apresentou menor alteração da pressão mínima após o insulto cardíaco em relação aos grupos sedentários, demonstrando melhor função diastólica após o exercício contínuo. De fato, há evidência de que o exercício atenua a pressão mínima aumentada após IR [53], considerada um dos melhores parâmetros fisiológicos capazes de refletir a sobrecarga de cálcio [1].

Assim como o exercício contínuo, o protocolo do HIIT também foi capaz de preservar a função diastólica após o insulto cardíaco. E mais surpreendente foi o efeito do exercício sobre a função sistólica, uma vez que o grupo HIIT apresentou resultado superior de PDVE após a lesão cardíaca em relação aos demais grupos, incluindo o grupo submetido a exercício contínuo. Até então, não haviam relatos de estudos comparando os níveis de cardioproteção direta ao miocárdio conferida pelo exercício intervalado de alta intensidade versus o contínuo [23]. Esse resultado está alinhado com estudos prévios que demonstraram que o exercício intervalado de alta intensidade resulta em proteção cardiovascular através da redução de fatores de risco [54,55]. Apesar disso, o exercício HIIT não reduziu a área de infarto induzida pela lesão por IR. Diferentemente dos nossos resultados, Rahimi e colaboradores [22] verificaram redução de 50% da área de infarto de ratos treinados com HIIT durante 5 dias consecutivos em relação ao grupo controle sedentário. Essa discrepância nos resultados pode ser devido a diferença das intensidades utilizadas, pois no estudo em questão, a sessão de HIIT era constituída de 5 min de aquecimento e 3 min de volta à calma a 50% do $VO_{2máx}$, 6 estímulos de 2 min a 95-105% do $VO_{2máx}$ intercalados com 5 períodos de recuperação de 2 min a 65-75% do $VO_{2máx}$, ou seja, intensidade bem superior ao empregado no presente trabalho (4 min a 80%VO_2R intercalados com 3 min a 60%VO_2R). Além disso, a duração das sessões nos dois trabalhos também diferiu bastante. Enquanto Rahimi e colaboradores [22] aplicaram a sessão HIIT por em média 30 min, a duração da sessão de HIIT no presente trabalho foi, de aproximadamente, 20 min. Portanto, é possível que o volume da sessão de HIIT aqui empregado (5 Kcal) não tenha sido suficiente para promover redução na área de infarto do VE, mas ao mesmo tempo

foi capaz de preservar a funcionalidade do miocárdio, demonstrando possível dissociação entre a função cardíaca e área viável do VE.

A principal limitação do estudo reside na ausência de um grupo controle exercitado. A inclusão desse grupo iria permitir avaliação mais efetiva do efeito cardioprotetor na obesidade em relação aos controles saudáveis. No entanto, essa limitação não compromete o objetivo principal do estudo de comparar os dois protocolos de exercício no contexto da obesidade. Assim, permanece a dúvida se a magnitude de cardioproteção oferecida pelo exercício é diferente na saúde e na obesidade.

CONCLUSÃO

Em conclusão, quatro sessões de exercício físico aeróbio, seja contínuo ou HIIT, reverteram a atrofia muscular causada pela dieta hiperlipídica. No entanto, somente o protocolo HIIT foi capaz de preservar a função cardíaca após lesão miocárdica, e assim conferir cardioproteção aos animais obesos. Esse efeito foi possível mesmo com uma baixa duração da sessão (20 min) de HIIT. Portanto, esses resultados reafirmam a eficácia do HIIT em proporcionar benefícios utilizando um curto período de tempo. Isso representa uma grande vantagem do HIIT aos protocolos convencionais de exercício contínuo, que ao necessitar de menor tempo dispendido sem prejudicar os benefícios, facilita a adesão ao exercício regular.

REFERÊNCIAS

1. Frasier, C. R., Moore, R. L., & Brown, D. A. (2011). Exercise-induced cardiac preconditioning: how exercise protects your achy-breaky heart. *Journal of Applied Physiology*, *111*(3), 905-915.

2. Zdrenghea, D., Ilea, M., Predescu, D., &Potang, E. (1998). Ischemic preconditioning during successive exercise testing. *Romanian Journal of Internal Medicine*, *36*(3-4), 161-165.

3. Borges, J. P., &Lessa, M. A. (2015). Mechanisms involved in exercise-induced cardioprotection: a systematic review. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, *105*(1), 71-81.

4. McElroy, C. L., Gissen, S. A., &Fishbein, M. C. (1978). Exercise-induced reduction in myocardial infarct size after coronary artery occlusion in the rat. *Circulation*, *57*(5), 958-962.

5 Powers, S. K., Demirel, H. A., Vincent, H. K., Coombes, J. S., Naito, H., Hamilton, K. L., ... & Jessup, J. (1998). Exercise training improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *American Journal of Physiology*, *275*(5), R1468-R1477.

6. Borges, J. P., Verdoorn, K. S., Daliry, A., Powers, S. K., Ortenzi, V. H., Fortunato, R. S., ... &Lessa, M. A. (2014). Delta opioid receptors: the link between exercise and cardioprotection. *PLoS One*, *9*(11), e113541.

7. Demirel, H. A., Powers, S. K., Zergeroglu, M. A., Shanely, R. A., Hamilton, K., Coombes, J., & Naito, H. (2001). Short-term exercise improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *Journal of Applied Physiology*, *91*(5), 2205-2212.

8. Dickson, E. W., Hogrefe, C. P., Ludwig, P. S., Ackermann, L. W., Stoll, L. L., & Denning, G. M. (2008). Exercise enhances myocardial ischemic tolerance via an opioid receptor-dependent mechanism. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology,* 294(1), H402-H408.

9. Quindry, J.C., & L Hamilton, K. (2013). Exercise and cardiac preconditioning against ischemia reperfusion injury. *Current Cardiology Reviews*, *9*(3), 220-229.

10. Hamilton, K. L., Staib, J. L., Phillips, T., Hess, A., Lennon, S. L., & Powers, S. K. (2003). Exercise, antioxidants, and HSP72: protection against myocardial ischemia/reperfusion. *Free Radical Biology and Medicine*, *34*(7), 800-809.

11. Masson, G. S., Borges, J. P., da Silva, P. P. S., da Nóbrega, A. C. L., Tibiriçá, E., & Lessa, M. A. (2016). Effect of continuous and interval aerobic exercise training on baroreflex sensitivity in heart failure. *Autonomic Neuroscience*, *197*, 9-13.

12. Wisloff, U., Stoylen, A., Loennechen, J. P., Bruvold, M., Haram, P. M., Tjonna, A. E., ...& Bye, A. (2007). Superior Cardiovascular Effect Of Aerobic Interval-training Versus Moderate Continuous Training In Elderly Heart Failure Patients: a Randomized Study. *Circulation*, 115(24), 3086-3094.

13. Nilsson, B. B., Westheim, A., &Risberg, M. A. (2008). Long-term effects of a group-based high-intensity aerobic interval-training program in patients with chronic heart failure. *The American Journal of Cardiology*, *102*(9), 1220-1224.

14. Haram, P. M., Kemi, O. J., Lee, S. J., Bendheim, M. Ø., Al-Share, Q. Y., Waldum, H. L., ... &Wisløff, U. (2008). Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. Cardiovascular Research, 81(4), 723-732.

15. Hafstad, A. D., Boardman, N. T., Lund, J., Hagve, M., Khalid, A. M., Wisløff, U., ...&Aasum, E. (2011). High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. Journal of Applied Physiology, 111(5), 1235-1241.

16. Moreira, J. B., Bechara, L. R., Bozi, L. H., Jannig, P. R., Monteiro, A. W., Dourado, P. M., ... & Brum, P. C. (2013). High-versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. Journal of Applied Physiology, 114(8), 1029-1041.

17. Starnes, J. W., Taylor, R. P., &Ciccolo, J. T. (2005). Habitual low-intensity exercise does not protect against myocardial dysfunction after ischemia in rats. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*, *12*(2), 169-174.

18. Lennon, S.L.,Quindry, C.J., French, J.P, Kim, S., Mehta, J.L., & Powers, S.K. (2004). Exercise and myocardial tolerance to ischaemia-reperfusion. Acta Physiology Scandinavian, 182(2), 161-169.

19. Swain, D. P., & Franklin, B. A. (2006). Comparison of cardioprotective benefits of vigorous versus moderate intensity aerobic exercise. *The American Journal of Cardiology*, *97*(1), 141-147.

20.Haram, P. M., Kemi, O. J., Lee, S. J., Bendheim, M. Ø., Al-Share, Q. Y., Waldum, H. L., ... &Wisløff, U. (2008). Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovascular Research*, *81*(4), 723-732.

21. Daussin, F. N., Zoll, J., Dufour, S. P., Ponsot, E., Lonsdorfer-Wolf, E., Doutreleau, S., ... & Richard, R. (2008). Effect of interval versus continuous training on cardiorespiratory and mitochondrial functions: relationship to aerobic performance improvements in sedentary. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology,* 295(1), R264-R272.

22. Rahimi, M., Shekarforoush, S., Asgari, A. R., Khoshbaten, A., Rajabi, H., Bazgir, B., ...&Shakibaee, A. (2015). The effect of high intensity interval training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in wistar rats. EXCLI Journal, 14, 237-246.

23. Powers, S. K. (2017). Exercise: teaching myocytes new tricks. *Journal of Applied Physiology*, *123*(2), 460-472.

24. Ross, R. (1999). Atherosclerosis—an inflammatory disease. *New England Journal of Medicine*, *340*(2), 115-126.

25. Powers, S. K., Smuder, A. J., Kavazis, A. N., &Quindry, J. C. (2014). Mechanisms of exercise-induced cardioprotection. *Physiology*, *29*(1), 27-38.

26. Powers, S. K., Murlasits, Z., Wu, M., &Kavazis, A. N. (2007). Ischemia-reperfusion-induced cardiac injury: a brief review. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *39*(9), 1529-1536.

27. Newsholme EA, Leech AR, eds. Biochemistry for the medical sciences: John Wiley & Sons. 1983.

28. Powers, S. K., Quindry, J. C., &Kavazis, A. N. (2008). Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemia–reperfusion injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(2), 193-201.

29. Ferdinandy, P., Schulz, R., & Baxter, G. F. (2007). Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. *Pharmacological Reviews*, 59(4), 418-458.

30. Powers, S. K., Lennon, S. L., Quindry, J., & Mehta, J. L. (2002). Exercise and cardioprotection. *Current Opinion in Cardiology*, 17(5), 495-502.

31. Braunwald, E., &Kloner, R. A. (1982). The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation*, 66(6), 1146-1149.

32. Bowles, D. K., & Starnes, J. W. (1994). Exercise training improves metabolic response after ischemia in isolated working rat heart. *Journal of Applied Physiology*, 76(4), 1608-1614.

33. French, J. P., Hamilton, K. L., Quindry, J. C., Lee, Y., Upchurch, P. A., & Powers, S. K. (2008). Exercise-induced protection against myocardial apoptosis and necrosis: MnSOD, calcium-handling proteins, and calpain. *The FASEB Journal*, *22*(8), 2862-2871.

34. Quindry, J. C., Hamilton, K. L., French, J. P., Lee, Y., Murlasits, Z., Tumer, N., & Powers, S. K. (2007). Exercise-induced HSP-72 elevation and cardioprotection against infarct and apoptosis. *Journal of Applied Physiology*, 103(3), 1056-1062.

35. Frasier, C. R., Moukdar, F., Patel, H. D., Sloan, R. C., Stewart, L. M., Alleman, R. J., ...& Brown, D. A. (2013). Redox-dependent increases in glutathione reductase and exercise preconditioning: role of NADPH oxidase and mitochondria. *Cardiovascular Research*, 98(1), 47-55.

36. Yamashita, N., Hoshida, S., Otsu, K., Asahi, M., Kuzuya, T., & Hori, M. (1999). Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. *Journal of Experimental Medicine*, 189(11), 1699-1706.

37. Kemi, O. J., Haram, P. M., Loennechen, J. P., Osnes, J. B., Skomedal, T., Wisløff, U., &Ellingsen, Ø. (2005). Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovascular Research*, 67(1), 161-172.

38. Bowles, D. K., Farrar, R. P., & Starnes, J. W. (1992). Exercise training improves cardiac function after ischemia in the isolated, working rat heart. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 263(3), H804-H809.

39.Kilpatrick, M. W., Jung, M. E., & Little, J. P. (2014). High-intensity interval training: A review of physiological and psychological responses. *ACSM's Health & Fitness Journal*, *18*(5), 11-16.

40. Tjønna, A. E., Stølen, T. O., Bye, A., Volden, M., Slørdahl, S. A., Ødegård, R., ...&Wisløff, U. (2009). Aerobic interval training reduces cardiovascular risk factors more than a multitreatment approach in overweight adolescents. *Clinical Science*, 116(4), 317-326.

41. Hwang, C. L., Wu, Y. T., & Chou, C. H. (2011). Effect of aerobic interval training on exercise capacity and metabolic risk factors in people with cardiometabolic disorders: a meta-analysis. *Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention*, *31*(6), 378-385.

42. Gibala, M. J., & McGee, S. L. (2008). Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exercise and Sport Sciences Reviews*, *36*(2), 58-63.

43. Stutts, W. C. (2002). Physical activity determinants in adults: perceived benefits, barriers, and self efficacy. *Aaohn Journal*, *50*(11), 499-507.

44. Trost, S. G., Owen, N., Bauman, A. E., Sallis, J. F., & Brown, W. (2002). Correlates of adults' participation in physical activity: review and update. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *34*(12), 1996-2001.

45.Kimm, S. Y., Glynn, N. W., Mcmahon, R. P., Voorhees, C. C., Striegel-Moore, R. H., & Daniels, S. R. (2006). Self-perceived barriers to activity participation among sedentary adolescent girls. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *38*(3), 534-540.

46. Paes, L. S., Borges, J. P., Cunha, F. A., Souza, M. G. C., Cyrino, F. Z. G. A., Bottino, D. A., ... &Farinatti, P. (2016). Oxygen uptake, respiratory exchange ratio, or total distance: a comparison of methods to equalize exercise volume in Wistar rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *49*(8), e5200.

47. Lambiase, P. D., Edwards, R. J., Cusack, M. R., Bucknall, C. A., Redwood, S. R., &Marber, M. S. (2003). Exercise-induced ischemia initiates the second window of protection in humans independent of collateral recruitment. *Journal of the American College of Cardiology*, *41*(7), 1174-1182.

48. Nascimento, A. R., Machado, M., de Jesus, N., Gomes, F., Lessa, M. A., Bonomo, I. T., &Tibiriçá, E. (2013). Structural and functional microvascular alterations in a rat model of metabolic syndrome induced by a high-fat diet. *Obesity*, *21*(10), 2046-2054.

49..Hasan, M. M., Shalaby, S. M., El-Gendy, J., &Abdelghany, E. M. (2018). Beneficial effects of metformin on muscle atrophy induced by obesity in rats. *Journal of Cellular Biochemistry,* 120(4), 5677-5686.

50. Sishi, B., Loos, B., Ellis, B., Smith, W., du Toit, E. F., &Engelbrecht, A. M. (2011). Diet-induced obesity alters signalling pathways and induces atrophy and apoptosis in skeletal muscle in a prediabetic rat model. *Experimental Physiology*, *96*(2), 179-193.

51. Kim, H. J., & Lee, W. J. (2017). Low-intensity aerobic exercise training: inhibition of skeletal muscle atrophy in high-fat-diet-induced ovariectomized rats. *Journal of Exercise Nutrition &Biochemistry*, *21*(3), 19-25.

52. Benton, M. J., Whyte, M. D., &Dyal, B. W. (2011). Sarcopenic obesity: strategies for management. *The American Journal of Nursing*, *111*(12), 38-44.

53. Brown, D. A., Jew, K. N., Sparagna, G. C., Musch, T. I., & Moore, R. L. (2003). Exercise training preserves coronary flow and reduces infarct size following ischemia-reperfusion in rat heart. *Journal of Applied Physiology*, 95(6), 2510-2518.

54. Libonati, J. R., Kendrick, Z. V., & Houser, S. R. (2005). Sprint training improves postischemic, left ventricular diastolic performance. *Journal of Applied Physiology,*99(6), 2121-2127.

55. Ellingsen, Ø., Halle, M., Conraads, V., Støylen, A., Dalen, H., Delagardelle, C., ... &Videm, V. (2017). High-intensity interval training in patients with heart failure with reduced ejection fraction. *Circulation*, *135*(9), 839-849.

56. Borges, JP (2014) f.3.4 pág. 32. Figura 5 -Representação esquemática da montagem de Langendorff mostrando solução de Krebs sendo perfundida no coração através da bomba peristáltica fixada a 10 ml/min, após aquecimento a 37°C.