



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA DE SOBRAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

JONATHAN ELIAS RODRIGUES MARTINS

**EFEITO AGUDO DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE
(HIIT) NO BALANÇO REDOX DE RATAS SUBMETIDAS À DIETA
HIPERLIPÍDICA**

SOBRAL

2021

JONATHAN ELIAS RODRIGUES MARTINS

EFEITO AGUDO DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE (HIIT)
NO BALANÇO REDOX DE RATAS SUBMETIDAS À DIETA HIPERLIPÍDICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia.

Linha de pesquisa: Análises Integrativas de Sistemas Biológicos.

Orientadora: Profa. Dra. Valdevane Rocha Araújo.

SOBRAL

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M343e Martins, Jonathan Elias Rodrigues.

Efeito agudo do Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT) no balanço redox de ratas submetidas à dieta hiperlipídica / Jonathan Elias Rodrigues Martins. – 2021.

72 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Sobral, 2021.

Orientação: Profa. Dra. Valdevane Rocha Araújo.

1. Treinamento supraaeróbico. 2. Dieta anabólica. 3. Excesso de adiposidade. 4. Desequilíbrio redox. 5. Bioenergética. I. Título.

CDD 660.6

JONATHAN ELIAS RODRIGUES MARTINS

EFEITO AGUDO DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE (*HIIT*)
NO BALANÇO REDOX DE RATAS SUBMETIDAS À DIETA HIPERLIPÍDICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia.

Linha de pesquisa: Análises Integrativas de Sistemas Biológicos.

Aprovada em: 29/03/2021.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Valdevane Rocha Araújo (Orientadora)
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Prof. Dr. Luiz Vieira da Silva Neto (Examinador interno)
Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA)

Profa. Dra. Stela Mirla da Silva Felipe (Examinadora externa)
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

À minha mãe Ana Rodrigues Martins
(*In memoriam*).

AGRADECIMENTOS

À Deus, por proporcionar-me saúde, coragem, perseverança e maturidade para eu aproveitar cada momento de aprendizado nessa jornada científica.

À minha mãe, Ana Rodrigues Martins (*in memoriam*), que me deu todo o apoio, ensinamentos, carinho e amor do mundo para superar barreiras durante minha vida. Sou muito grato, especialmente por ter me tornado a pessoa que sou hoje.

À minha família, minha irmã Joelia Rodrigues Martins e minha tia Verônica Rodrigues Martins, por toda compreensão e apoio para que eu conquistasse meus sonhos em momentos difíceis para todos nós.

Ao professor Dr. Alex Ferraz Marreiro Ferraz (*in memoriam*), por todo o apoio e conhecimento promovido na carreira de seus alunos. Sou muito grato por ter aprendido como e quando “fazer ciência”.

À professora Dra. Valdevane Rocha Araújo, por me receber com carinho em seu grupo e me proporcionar apoio e oportunidades únicas de aprendizado e conhecimento.

À professora Dra. Vânia Marilande Ceccatto, por me iniciar na carreira científica e me incentivar sempre, além de disponibilizar seu laboratório (LABIEX) para a execução deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora: Dr. Luiz Vieira da Silva Neto e Dra. Stela Mirla da Silva Felipe, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões para a melhoria dessa dissertação.

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio (código 001).

Aos meus colegas de turma do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGB) da Universidade Federal do Ceará (UFC), por toda partilha de conhecimento e momentos de alegria durante esta fase de nossas vidas.

Aos professores e funcionários do PPGB-UFC, que ultrapassam as dificuldades existentes para exercer suas atividades, sem perder a motivação em nos ajudar quando necessário.

Às minhas amigas Mariana Hévila, Nádia Portela, Ivana Carneiro e Jéssica Híade, por todo companheirismo, apoio e carinho durante minha jornada acadêmica.

Aos colegas e amigos que a ciência me deu, Rodrigo Leite, Jefferson Pacheco, Edolo Jataí, Juliana Osório, Franciele Cristina, Fernanda Lima, João Eudes, Mariana Frota, Maria

Alice, Leonora Poti, Raquel Martins, Welton Godinho, Sérgio Vasconcelos, Dalton Alves e Isabele da Silva, por todas as colaborações diretas e indiretas para esta pesquisa.

Aos alunos de Iniciação Científica Sara, Israel, Solano, Fernando, Alessandro, Vitória e Dalila, pelo o esforço e dedicação para que o trabalho se desenvolvesse da melhor maneira possível.

Aos colegas do grupo LabDenner, por todos os momentos incríveis proporcionados durante esses anos de pesquisa e na vida pessoal.

Ao pesquisador e professor Ms. Said Goncalves da Cruz Fonseca, pelo desenvolvimento do material em estudo e parceria científica com o PPGB-UFC e LABIEX-UECE.

A todos os cidadãos brasileiros que contribuíram por meio de seus impostos para que esta pesquisa se tornasse possível.

À UFC pela formação humana e profissional concedida.

“O discernimento consiste em saber até onde
se pode ir”

Jean Cocteau.

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram (1) analisar os efeitos do treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) em ratas submetidas a dieta hiperlipídica sobre a homeostase redox e (2) identificar potenciais marcadores moleculares no tecido muscular estriado esquelético para futuras aplicações biotecnológicas. Foram utilizadas 36 ratas *Wistar*, as quais foram divididas em dois grupos de acordo com a dieta *ad libitum* durante 56 dias: grupo Dieta Padrão (SD, n=20) (380,0 kcal/100 g; Lipídeos = 4,0 g/100 g) e grupo Dieta Hiperlipídica (HFD, n=20) (406,9 kcal/100 g; Lipídeos = 14,2 g/100 g). Em sequência, os grupos foram subdivididos em SD Sedentário (SD, n=10), SD Exercício (SD-ex, n=10), HFD Sedentário (HFD, n=10) e HFD Exercício (HFD-ex, n=10). Os animais foram adaptados à esteira ergométrica durante duas semanas em baixa velocidade, cinco dias por semana. Após a adaptação, o teste incremental máximo (TIM) determinou a capacidade máxima dos animais. Então, foi realizada uma sessão aguda de HIIT supraaeróbico que consistiu em 5 séries de 5 minutos com descanso passivo de 5 minutos. Após a eutanásia, as gorduras perigonadal, subcutânea e visceral, além do músculo gastrocnêmio foram dissecados para posteriores análises bioquímicas dos parâmetros bioenergético (lactato), danos celulares (GSH) e atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT e GPX), além do perfil transcricional dos marcadores do balanço redox (Slc2a4, Cs, Pparg1- α , Fndc5, Nox4, Sod1, Sod2, Cat e Gpx1). A análise estatística foi conduzida utilizando teste *t* de Student não pareado e teste de Mann-Whitney para comparação dos grupos e ANOVA two-way e *post-hoc* de Bonferroni. Os dados coletados foram expressos em média \pm erro padrão da média com $P < 0,05$. Como resultados, não foram observadas diferenças significativas quanto as fases do ciclo estral entre os grupos. A massa adiposa total nos grupos HFD e HFD-Ex foi significativamente superior em relação aos grupos SD e SD-Ex. Os marcadores bioenergéticos Cs e Pparg1- α nas fibras brancas do grupo SD-Ex foram aumentados significativamente frente aos demais grupos; enquanto que, para fibras vermelhas, o aumento foi observado no grupo HFD-Ex. A expressão de Slc2a4 foi significativamente superior nas fibras brancas do grupo SD-Ex frente aos demais grupos; enquanto que, nas fibras vermelhas, esse aumento foi observado em ambos os grupos submetidos ao exercício (SD-Ex e HFD-Ex). A expressão de Fndc5 foi significativamente superior nas fibras brancas de ambos os grupos submetidos ao exercício físico (SD-Ex e HFD-Ex); enquanto que, nas fibras vermelhas, apenas o grupo SD-Ex apresentou resultados significativamente superiores quando comparado aos demais tratamentos. Ambos, atividade e transcrito da Cat foram significativamente superiores no grupo

HFD-Ex quando comparado ao grupo SD para as fibras vermelhas. A expressão relativa da Cat nas fibras brancas foi significativamente superior no grupo SD-Ex, quando comparado aos grupos SD e HFD. Por outro lado, a expressão relativa da GSH não diferiu entre os grupos em ambas, fibras vermelhas e brancas. Assim, pode-se concluir que o excesso de adiposidade pode prejudicar a defesa antioxidante de acordo com o tipo de fibra e que o HIIT poderia mitigar seus efeitos deletérios no músculo esquelético.

Palavras-chave: Treinamento supraaeróbico. Dieta anabólica. Excesso de adiposidade. Desequilíbrio redox. Bioenergética.

ABSTRACT

The aim of this study were (1) to analyze the effects of *high-intensity interval training* (HIIT) in *Wistar* rats submitted to a high-fat diet on redox homeostasis, and (2) to identify the potential molecular markers in skeletal muscle tissue for future biotechnological applications. Thirty-six *Wistar* rats were used, which were divided into two groups according to the *ad libitum* diet for 56 days: Standard Diet group (SD, n=20) (380.0 kcal/100 g; Lipids = 4.0 g/100 g) and Hyperlipidic Diet group (HFD, n=20) (406.9 kcal/100 g; Lipids = 14.2 g/100 g). Subsequently, the groups were subdivided into Sedentary SD (SD, n=10), Exercise SD (SD-Ex, n=10), Sedentary HFD (HFD, n=10) and Exercise HFD (HFD-Ex, n=10). The animals were adapted to the treadmill for two weeks at low speed, five days a week. After adaptation, a maximum incremental test (MIT) determined the maximum capacity of the animals. Then, a supraaerobic acute HIIT session was performed, which consisted of 5 sets of 5 minutes with passive rest of 5 minutes. The animals were euthanized and the perigonadal, subcutaneous and visceral fats, as well as the gastrocnemius muscle were dissected for subsequent biochemical analyzes of the bioenergetics parameters (lactate), cellular damage (GSH) and antioxidant enzymes activities (SOD, CAT and GPX). In addition, the transcriptional profile of the redox balance markers (Slc2a4, Cs, Pparg1- α , Fndc5, Nox4, Sod1, Sod2, Cat, and Gpx1) was also determined. Statistical analysis was performed using unpaired Student's *t* test and Mann-Whitney test for comparison of groups, as well as two-way ANOVA and Bonferroni's post-hoc test. The data were expressed as mean \pm standard error of the mean with significance probability of $P < 0.05$. As results, no significant differences were observed among groups regarding the phases of estrous cycle. The total fat mass in the HFD and HFD-Ex groups was significantly higher than SD and SD-Ex groups. As for the bioenergetics markers, a significant increase was observed in the expression of Cs and Pparg1- α in the white fibers of the SD-Ex group compared to the other groups; whereas for red fibers, the increase was observed in the HFD-Ex group. Slc2a4 expression was significantly higher in the white fibers of the SD-Ex group compared to the other groups; while in the red fibers, this increase was observed in both groups submitted to exercise (SD-Ex and HFD-Ex). Regarding Fndc5, its expression was significantly higher in the white fibers of both groups submitted to physical exercise (SD-Ex and HFD-Ex); whereas, in the red fibers, only the SD-Ex group presented increased results when compared to the other treatments. The relative expression of Cat in white fibers was significantly higher in SD-Ex group when compared to SD and HFD. On the other hand, the relative expression of GSH was

not different among groups in both white and red fibers. Based on these results, it can be concluded that excess adiposity can impair antioxidant defense according to the type of fiber and that HIIT could alleviate its deleterious effects on skeletal muscle.

Key words: Supraaerobic training. Anabolic diet. Excess adiposity. Redox imbalance. Bioenergetics.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Classificação dos graus do Índice de Massa Corpórea (IMC) para humanos e dos graus do Índice de Lee para animais de laboratório.....	22
Tabela 2	– Composição da dieta padrão e dieta hiperlipídica.....	34
Tabela 3	– Concentração e razão proteína/RNA das amostras de fibras brancas e vermelhas do músculo gastrocnêmio para submissão ao RT-qPCR.....	38
Tabela 4	– Sequências de <i>primers</i> utilizados para análise da expressão gênica por RT-qPCR.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Cadeia de produção de EROs de duas vias e promoção de danos	22
Figura 2	–	Desenho experimental	34
Figura 3	–	Body Weight	38
Figura 4	–	Fat massa distribution	39
Figura 5	–	Mass of gastrocnemius	40
Figura 6	–	External and internal load	41
Figura 7	–	Gene expression of the Fndc5 glycoprotein	42
Figura 8	–	Gene expression of bioenergetic markers	43
Figura 9	–	Gene expression of the Nox4 pro-oxidant enzyme	44
Figura 10	–	Gene expression of antioxidant enzymes	45
Figura 11	–	Reduced glutathione concentration (GSH) in gastrocnemius	46
Figura 12	–	Activity of antioxidant enzymes in gastrocnemius	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABESO	Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica
ANOVA	Análise de Variância
ATP	Adenosina Trifosfato
CAT	Catalase
cm	Centímetro
Cu	Cobre
DCNTs	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DM2	Diabetes Mellitus do tipo 2
DTNB	Ácido 5,5-ditionitrobenzoico
EROs	Espécies Reativas De Oxigênio
Fe	Ferro
Fndc5	Fibronectina Tipo III Contendo Domínio 5
g	Gramas
GLUT4	Transportador De Glicose 4
GPX	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione Reduzida
GSSG	Glutathione Oxidada
H ₂ O ₂	Peróxido De Hidrogênio
HFD	Dieta Hiperlipídica
HFD-ex	Dieta Hiperlipídica Exercício
HIIT	High-Intensity Interval Training (Treinamento Intervalado de Alta Intensidade)
HO•	Radical hidroxila
IDF	Federação Internacional de Diabetes
IMC	Índice de Massa Corpórea
kg	Kilograma
m ²	Metro Quadrado
Mn	Manganês
NADP ⁺	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Reduzida
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
NOX	NADPH oxidase

O ₂ •-	Ânion Radical Superóxido
OMS	Organização Mundial da Saúde
PGC-1 α	Coativador E Proliferador De Peroxissomas
PMSF	Fluoreto De Fenilmetilsulfonil
Pparg1 α	Receptor Ativado Por Proliferadores De Peroxissoma Alfa
SD	Dieta Padrão
SD-ex	Dieta Padrão Exercício
Slc2a4	Membro 4 Da Família 2 De Carreador De Solute
SOD	Superóxido Dimutase
TCA	Tri-Cloro Acético
TIM	Teste Incremental Máximo
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1	Obesidade	17
2.2	Exercício físico	19
2.3	Espécies reativas de oxigênio (EROs)	21
2.4	Sistema de defesa antioxidante	23
2.5	Impactos dos hormônios sexuais na prática de exercício	24
3	JUSTIFICATIVA	26
4	HIPÓTESES CIENTÍFICAS	27
4	OBJETIVOS	28
4.1	Objetivo geral	28
4.2	Objetivos específicos	28
5	MANUSCRITO A SER ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO (EM ELABORAÇÃO)	29
	REFERÊNCIAS	56
	ANEXO A – INSTRUÇÕES PARA DEFESA DE DISSERTAÇÃO (PPGB)	69
	ANEXO B – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA, UECE)	71
	ANEXO C – DIRETRIZES PARA AUTORES – PERIÓDICOS QUALIS CAPES A3	72

1 INTRODUÇÃO

O aumento do sedentarismo na sociedade contemporânea está relacionado a inúmeros fatores (OLIVEIRA-CAMPOS et al., 2013) que têm levado a um aumento na frequência de pessoas com doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), tais como a obesidade (Organização Mundial da Saúde-OMS, 2003; GHOSH et al., 2010). A OMS afirma que a obesidade e o sobrepeso atingiram proporções epidêmicas em todo o mundo, chegando a 2,7 milhões de mortes por ano (OMS, 2020). E, em 2016, os casos de obesidade triplicaram comparados aos de 1975, sendo observados 1,9 bilhão de adultos com sobrepeso e/ou obesidade (OMS, 2020). A projeção para 2025 é a de que esses valores atinjam 2,3 bilhões de pessoas. Segundo dados da Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO, 2016), aproximadamente 50% dos brasileiros estão acima do peso, sendo as regiões Sul e Sudeste líderes no mapa da obesidade adulta e infantil.

A obesidade pode levar a dificuldade de absorver glicose da corrente sanguínea com o auxílio da insulina, causando o quadro conhecido como resistência insulínica (PEREIRA et al., 2003). Por esta razão, a obesidade é considerada um fator de risco para o desenvolvimento do diabetes mellitus. Para reverter tais condições, a Federação Internacional de Diabetes (IDF) recomenda um estilo de vida mais ativo e uma alimentação mais saudável para prevenção das DCNTs. Desta forma, o exercício físico tem sido considerado uma excelente alternativa para reduzir os números elevados de portadores de DCNTs. Além disso, sabe-se que o exercício físico está associado a uma via de transporte de glicose independente de insulina no músculo esquelético (ROCCA et al., 2008; BEZERRA et al., 2018), a qual possui papel fundamental no controle da glicemia. É importante destacar ainda que, o número de modalidades de atividades físicas é bastante variado. Considerando que alterações no estado inflamatório, na captação de glicose e no estresse oxidativo têm ganhado destaque (POWERS; JACKSON, 2008; JACKSON et al., 2019), se faz necessário conhecer melhor os impactos que cada tipo de exercício pode gerar em pessoas com sobrepeso e/ou obesidade, bem como na prevenção de DCNTs.

Considerando tais aspectos, nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido trabalhos relacionados a modelos de exercícios de alto volume (REGO-MONTEIRO et al., 2011) e de cargas intervaladas (ABREU et al., 2015; VASCONCELOS-FILHO et al., 2015) em modelos de obesidade (MORAIS et al., 2016), utilizando o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT, do inglês *high-intensity interval training*) na doença de Alzheimer (VASCONCELOS-FILHO et al., 2015) e no sistema reprodutor feminino (LEITE et al., 2021). Além disso, diversas

estratégias de investigações biológicas, tais como abordagens proteômicas (MACHADO et al., 2010) e moleculares (LOUREIRO et al., 2016; ALVES et al., 2020), além de trabalhos envolvendo bioinformática aplicada ao exercício físico (PACHECO et al., 2018) têm sido realizados. Neste último, a expressão gênica diferencial *in silico* mostrou genes *up-regulated* e *down-regulated* relacionados a vias metabólicas ativadas ou inativadas pelo estímulo do exercício físico, em tecidos como o sangue e o músculo esquelético (PACHECO et al., 2018).

O músculo esquelético humano e murinho é composto por dois tipos de fibras predominantes: fibras vermelhas (Tipo I) e fibras brancas (Tipo II). As fibras vermelhas ou fibras de contração lentas possuem predominância do metabolismo oxidativo, enquanto que as fibras brancas ou fibras de contração rápidas apresentam metabolismo predominantemente glicolítico (LUGINBUHL; DUDLEY; STARON, 1984). Nesse contexto, a prática de HIIT poderia estar associada a perda de tecido adiposo e consequente perda de massa corpórea, uma vez que influencia nos mecanismos de oxidação de lipídeos nas mitocôndrias do tecido muscular estriado esquelético (LUGINBUHL; DUDLEY; STARON, 1984; LITTLE et al., 2010). Terada et al. (2011) verificaram que, em modelos experimentais de natação, a intensidade elevada do HIIT aumentou a quantidade de GLUT4 nesse músculo. Considerando que a obesidade é uma disfunção metabólica com taxas epidemiológicas elevadas e possibilidades de desenvolvimento de outras DCNTs, estudos para entender seus mecanismos de ação e interação entre os órgãos e tecidos são de extrema importância. Uma abordagem que pode levar a pistas sobre alvos terapêuticos são os modelos experimentais de interação entre exercício físico e obesidade, visto que já se entende a associação do exercício na prevenção e no tratamento dessa condição. Entretanto, ainda são escassos os estudos com esse tipo de modelo para avaliar os impactos do HIIT no músculo esquelético na condição de sobrepeso.

Tendo em vista a importância do tema proposto e para uma melhor compreensão, a revisão de literatura a seguir abordará aspectos relacionados a obesidade, exercício físico e respostas fisiológicas no músculo esquelético diante do desequilíbrio redox e aspectos bionergéticos, além dos impactos dos hormônios sexuais e das vias da irisina na prática de exercício físico.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Obesidade

O avanço tecnológico tem gerado maior frequência do estilo de vida sedentário na sociedade e, conseqüentemente, um aumento no número de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs; BARROSO et al., 2017). As DCNTs são um dos maiores problemas de saúde pública na atualidade, visto que foram responsáveis pela ocorrência de 68% das mortes no mundo em 2012 (OMS, 2020), inclusive no Brasil (MALTA et al., 2017). A obesidade, por sua vez, dentre as principais DCNTs, tem ganhado destaque em virtude do seu crescimento no mundo, especialmente em países desenvolvidos e em desenvolvimento, como o Brasil (ABESO, 2016).

A obesidade e o sedentarismo podem acentuar disfunções nos mais diversos órgãos e tecidos (ROCCA et al., 2008), sendo alguns dos principais fatores relacionados ao risco do desenvolvimento de diabetes mellitus do tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares, doenças hepáticas não alcoólicas, neoplasias, problemas articulares, dislipidemias, doenças respiratórias, entre outras comorbidades (SABIÁ; SANTOS; RIBEIRO, 2004; DAMASO, 2012). Em indivíduos obesos, o sedentarismo facilita o acúmulo de gordura, uma vez que gera um menor dispêndio energético (REILLY; SALTIEL, 2017). Além disso, associada ao diabetes e a hipertensão arterial sistêmica (HAS), a obesidade tem provocado um aumento significativo nos gastos do sistema público de saúde (NILSON et al., 2020).

Por definição, obesidade é uma condição de excesso de gordura corporal que afeta negativamente a saúde dos indivíduos (OMS, 2003) e se desenvolve a partir de uma dieta alterada e rica em lipídeos e carboidratos (YUDKIN, 2007). Na década de 90, Yudkin et al. (1999) caracterizaram a obesidade como um quadro sistêmico de inflamação crônica nos adipócitos, caracterizada pela secreção de citocinas e proteínas próinflamatórias (BULLÓ, 2003; WOOD et al., 2009). Além disso, o indivíduo obeso pode desenvolver alterações fisiológicas, principalmente, dificuldades na captação de glicose da corrente sanguínea para o interior celular (PEREIRA et al., 2003). Esta condição é conhecida como resistência insulínica (PEREIRA et al., 2003) e pode levar ao desenvolvimento do DM 2 (YUDKIN, 2007), resultando também em estresse metabólico (REUTRAKUL; VAN CAUTER, 2018) e danos à fisiologia de diversos tecidos (YUDKIN, 2007), além do tecido adiposo.

O diagnóstico da obesidade para humanos é calculado por meio do Índice de Massa Corpórea (IMC), uma vez que esta condição envolve o aumento de tecido adiposo e, conseqüente, ganho de massa gorda. O IMC é o produto da razão entre a massa corpórea, expressa em quilogramas (kg), e o quadrado da altura do indivíduo (m^2) (kg/m^2 ; ROCCA et al.,

2008). Conforme mostrado na Tabela 1, os valores máximos considerados normais são de até 25 kg/m², enquanto que, acima disso, os indivíduos são considerados com sobrepeso (25-29 kg/m²) ou obesos (> 30 kg/m²), logo, o nível de classificação vai de 1 a 4, respectivamente, e o valor 0 se refere aos indivíduos desnutridos (< 18,5 kg/m²) (ROCCA et al., 2008; OMS, 2020). Já para a avaliação do ganho de massa corpórea em animais de pesquisa, utiliza-se o Índice de Lee (LEE, 1929). Este índice é calculado pela razão da raiz cúbica do peso corporal, expresso em gramas (g), pelo comprimento nasoanal, expresso em centímetros (g/cm) e multiplicando-se o resultado por 1000. No caso do índice de Lee, resultados abaixo de 0,300 são considerados normais.

Tabela 1. Índice de Massa Corpórea (IMC) para humanos segundo a organização mundial da saúde (OMS).

IMC (kg/m ²)	CLASSIFICAÇÃO	NÍVEL
< 18,5	Desnutrição	0
> 18,5 < 25,0	Normal	1
> 25,0 < 30,0	Sobrepeso	2
> 30,0 < 40,0	Obesidade	3
> 40,0	Obesidade Grave	4

IMC: Índice de Massa Corpórea; kg: Kilograma; m²: Metro quadrado.

Fonte: Adaptado de OMS, 2020.

É importante destacar ainda que o aumento de massa gorda provoca a expressão diferencial de alguns genes. Marques-Lopes et al. (2004) relacionaram pelo menos 30 genes com a obesidade. Os genes da leptina e seu receptor, proteínas desacoplantes UCP2 e UCP3, além de moléculas relacionadas com a diferenciação de adipócitos e transporte de lipídios (PPAR, aP2) foram alguns desses genes. A expressão gênica diferencial durante a obesidade é, portanto, fator chave para entender as DCNTs provenientes desta condição. Um estudo publicado recentemente ressalta que a HAS, uma comorbidade proveniente da obesidade, ativa respostas inflamatórias no retículo endoplasmático do tecido adiposo e pode estar envolvida com o

agravamento do quadro de obesidade (MENIKDIWELA et al., 2019), ou seja, há uma estimulação recíproca para o agravamento dos quadros comórbidos e consequente taxas inflamatórias nos diversos sistemas, incluindo o músculo esquelético.

Logo, a avaliação de genes que respondem às vias citadas anteriormente e que estão envolvidas com o desfecho da obesidade e sua inflamação crônica de baixo grau se faz necessária em estudos com obesidade induzida. Visto que as vias pró- e antioxidantes ou as vias bioenergéticas já foram apontadas em estudos com exercício físico e podem ser alteradas no contexto da condição de dieta hiperlipídica, logo avaliar genes dessa via pode responder as adaptações fisiológicas do exercício (SCHNEIDER et al., 2005; PARK; KWAK, 2016).

Considerando, portanto, que indivíduos obesos e sedentários podem apresentar disfunções fisiológicas em diversos tecidos (SABIÁ; SANTOS; RIBEIRO, 2004; DAMASO, 2012) deve-se estimular inversamente seus mecanismos fisiopatológicos (ABESO, 2016). A execução de exercícios físicos regulares, por exemplo, pode contribuir para a melhora nas condições fisiopatológicas desses indivíduos. Isso porque, o exercício físico modula o sistema de defesa antioxidante enzimático, por estimulação da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) durante o alto consumo de oxigênio, garantindo uma perspectiva anti-inflamatória (PARK; KWAK, 2016).

2.2 Exercício Físico como tratamento para DCNTs

Conforme mencionado no tópico anterior, o exercício físico pode trazer muitos benefícios para a saúde, incluindo a prevenção (GOLBIDI; BADRAN; LAHER, 2012) ou mesmo a melhora de DCNTs, como é o caso da redução da resistência à insulina em humanos (FRANCOIS; LITTLE, 2015) condição associada aos indivíduos obesos. O exercício físico é um tipo de atividade física sistematizada, regular e que tem por objetivo melhorar a aptidão física, ou seja, a capacidade adquirida de realizar atividades cotidianas com melhor desempenho (MOREIRA; TEIXEIRA; NOVAES, 2014). Em geral, as modalidades de exercício mais estudadas são a natação, a corrida e o exercício de força (POWERS; RADAK; JI, 2016).

Cada tipo de treinamento pode desencadear respostas fisiológicas distintas e ativar fatores específicos para adaptar o organismo às necessidades físicas do exercício praticado. Por exemplo, o exercício de força ativa fatores que desencadeiam o processo de hipertrofia (RODRIGUES; BORIN; SILVA, 2017); enquanto que, o exercício de corrida, praticado por longos períodos, desencadeia adaptações no acúmulo de glicogênio muscular (FIGUEIRA et al., 2007). Por outro lado, quando o exercício é praticado de maneira inadequada, ou seja, com excesso de intensidade e/ou de volume, ou ainda um período de recuperação muito pequeno

entre as sessões de treino, pode desencadear danos ao organismo nos diversos níveis, desde o tecidual, celular, e até a nível molecular (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Energeticamente, o exercício físico pode ser classificado como aeróbio ou anaeróbio, por sua predominância de processos dependentes ou não dependentes de O₂, respectivamente. A manutenção da energia para a contração muscular durante o exercício físico exige a ressíntese de ATP (AFZALPOUR et al., 2015). No exercício aeróbico são reportados aumentos de até 20 vezes no consumo de O₂ (URSO; CLARKSON, 2003) utilizado pelas vias mitocondriais e da cadeia transportadora de elétrons. Entre os exercícios com predominância anaeróbica, o Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT), é um treinamento que influencia nos mecanismos de oxidação de lipídeos nas mitocôndrias do tecido muscular esquelético (LITTLE et al., 2010; HOSHINO et al., 2013). O HIIT consiste em sessões repetitivas de exercícios seguido de descanso passivo ou ativo, em que o praticante atinge intensidades determinadas por sua capacidade máxima ao atingir a fadiga (AFZALPOUR et al., 2015).

A prática de HIIT, de forma aguda ou crônica, promove melhora no quadro diabético através da diminuição da resistência insulínica, em humanos (FRANCOIS; LITTLE, 2015), e aumenta a quantidade do transportador de glicose 4 (GLUT4) circulante, em modelos experimentais (TERADA et al., 2001). Além disso, o efeito agudo e crônico do exercício na absorção da glicose e na sua biodisponibilidade tem importantes implicações para indivíduos com resistência à insulina no que diz respeito ao controle metabólico crônico e a regulação direta da homeostase glicolítica. O músculo esquelético tem um papel fundamental nesse processo, uma vez que apresenta alta capacidade de captação de glicose independente de insulina, via GLUT4. Esse transporte está diretamente relacionado aos mecanismos de contração muscular, e se torna mais ativo em praticantes de exercício regular (GOODYEAR; KHAN, 1998; HOLMES; DOHM, 2004).

Indivíduos diabéticos apresentam redução na capacidade de realizar exercício (GOLBIDI; BADRAN; LAHER, 2012) e esta condição pode ter uma relação direta com a taxa de mortalidade desses pacientes, além de poder estar associada a alterações no metabolismo energético do músculo esquelético (OKITA et al., 1998). Desta forma, o exercício físico, pode ser uma estratégia terapêutica não farmacológica para o combate aos males da resistência à insulina, pois pode modular o metabolismo energético e a capacidade oxidativa muscular (LIMA, 2013). Além disso, o exercício é uma estratégia para prevenção de doenças crônicas através de efeitos positivos no sistema de defesa antioxidante e efeitos anti-inflamatórios (MOREIRA; TEIXEIRA; NOVAES, 2014; URBÁN-REYES; COGHLAN-LÓPEZ;

CASTAÑEDA-SÁNCHEZ, 2015).

O HIIT de forma crônica pode induzir a miogênese de fibras vermelhas, bem como a conversão de fibras brancas (Tipo II) em fibras vermelhas (Tipo I). As fibras vermelhas possuem predominância do metabolismo oxidativo, enquanto que as fibras brancas possuem predominância do metabolismo glicolítico (LUGINBUHL; DUDLEY; STARON, 1984). Entretanto, os mecanismos fisiológicos envolvidos nestas condições ainda são pouco descritos, uma vez que as respostas do HIIT na via oxidativa mitocondrial no músculo esquelético parece ser independente do volume de treinamento (TAYEBI et al., 2019). O resultado do metabolismo do oxigênio, por sua vez, tem como produtos uma classe de substâncias potencialmente nocivas às células, as espécies reativas de oxigênio (EROs) (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004; POWERS; RADAK; JI, 2016). Além das vias mitocondriais, recentemente foi descrito que as vias relacionadas a NADPH oxidase também são produtoras de EROs (ALVES, et al., 2020) o que fortalece ainda mais a necessidade de mais estudos para desvendar tais mecanismos.

2.3 Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)

EROs são moléculas que possuem o oxigênio em sua fórmula estrutural, com instabilidade eletrônica por possuir elétrons em excesso, ou ligações com arranjo desfavorável eletronicamente (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; VASCONCELOS et al., 2007). As EROs podem ser classificadas como radicalares e não radicalares, que determina sua capacidade em promover reações danosas às células (VASCONCELOS et al., 2007). O ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o radical hidroxila (HO^{\cdot}) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) são exemplos de EROs presentes nas células, possuindo alta capacidade oxidativa, visto que a formação de radicais livres é a principal maneira de promover reações de oxidação entre moléculas biológicas (BIANCHI; ANTUNES, 1999; VASCONCELOS et al., 2007).

O $O_2^{\cdot-}$ é a ERO gerada inicialmente nas vias de produção de EROs, tendo o maior potencial oxidante, o sistema que evita o acúmulo dessa espécie envolve a enzima superóxido dimutase (SOD), que tem o papel de converter $O_2^{\cdot-}$ à H_2O_2 (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Outras EROs são produzidas por acúmulo de peróxidos no meio intracelular, aumentando a concentração de HO^{\cdot} , por meio de duas principais reações (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). A reação de Fenton inicialmente é responsável por oxidar o Fe (II) à Fe (III) utilizando o H_2O_2 como fonte de elétrons, produzindo HO^{\cdot} e HO^{\cdot} (Figura 1) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; RIBEIRO et al., 2006). A reação de Haber-Weiss por sua vez produzirá o HO^{\cdot} e HO^{\cdot} se utilizando do $O_2^{\cdot-}$, revertendo-o para O_2 (Figura 1) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; RIBEIRO et al., 2006) assim, o aumento na concentração

de HO^\bullet promove danos oxidativos às células.

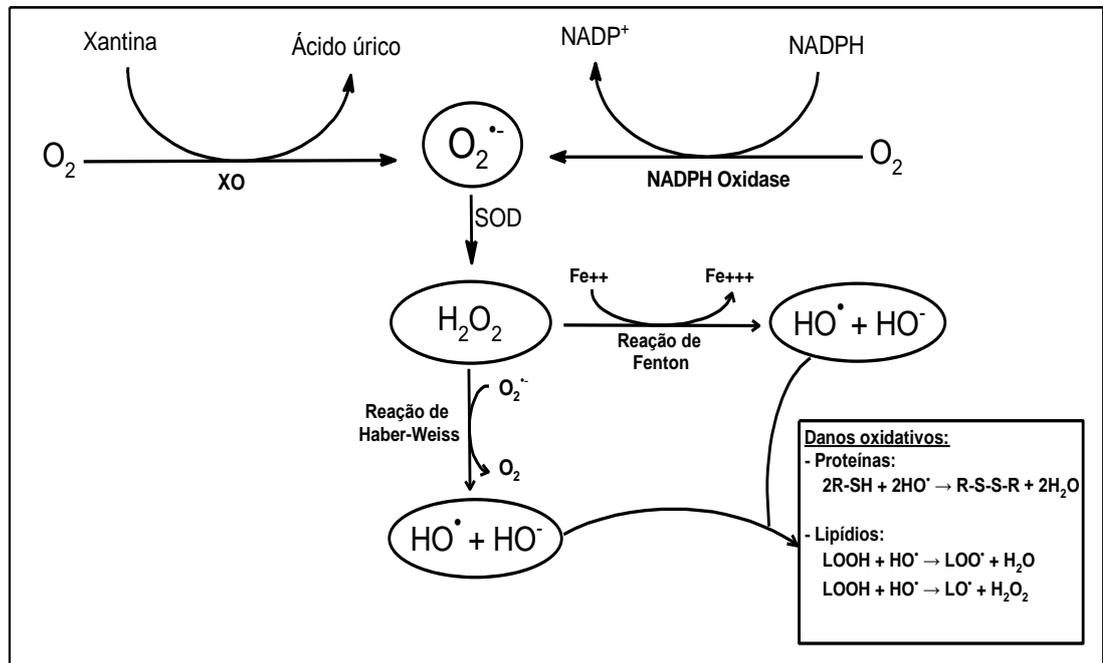


Figura 1: Cadeia de produção de EROs de duas vias e promoção de danos

Fonte: Próprio autor

Apesar de classicamente ter sido descrito que as EROs são geradas na mitocôndria, essa não é a sua única via de produção. Outras fontes importantes são: síntese de prostaglandinas; citocromo P450; o complexo enzimático NADPH oxidase; e enzima xantina oxidase (ROVER JÚNIOR et al., 2001; APEL; HIRT, 2004). Todos esses mecanismos em conjunto, são responsáveis pelo controle metabólico dessas espécies, e perturbações nesse metabolismo podem ser causadas por algumas doenças, como a DM (WANG et al., 2013), ou mesmo por rotinas desgastantes de exposição aos raios ultravioletas (WIDEL et al., 2014), ou a exercícios físicos exaustivos (TANAKA et al., 2015).

A NADPH oxidase (NOX) é um complexo enzimático envolvido na oxidação de NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) à NADP^+ , para isso o complexo enzimático se utiliza do oxigênio no processo, e como produto produz o $\text{O}_2^{\bullet-}$ (Figura 1) (FUJI et al., 2017; PHILIPPENS et al., 2013). Esse processo tem uma função chave no processo inflamatório, pois quando recrutada por neutrófilos, a NOX produz de EROs para oxidar e degradar moléculas danosas às células (BABIOR, 1999; ALMEIDA et al., 2011). Diante desse papel fundamental, o complexo NADPH oxidase é responsável por danos causados às células de alguns tecidos durante doenças com processo inflamatório ativado: diabetes mellitus, doença de Alzheimer, doença de Parkinson dentre outras (LULL et al., 2011; PHILIPPENS et al., 2013;

THART; COPRAY; PHILIPPENS, 2014).

Por possuírem alto poder oxidativos, as EROs promovem danos em diversas moléculas biológicas intracelulares: proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (RIBEIRO et al., 2006; WIDEL et al., 2014) (Figura 1). Exemplo de dano promovido na presença excessiva de EROs é o causado na membrana celular (bicamada lipídica), a partir da reação entre um radical livre e os lipídios de membrana, essa reação é chamada de peroxidação lipídica, e é altamente danosa, pois uma reação radicalar promove quebra simultânea dos lipídios promovendo a perda da função da membrana celular, bem como a formação de mais radicais livres (RHODEN et al., 1998), causando deficiências no funcionamento de organismo (OAKES; VAN DER KRAAK, 2003; OSORIO et al., 2003).

2.4 Sistema de Defesa Antioxidante

Como o acúmulo de EROs no organismo pode causar alterações orgânicas e celulares (ALMEIDA et al., 2011) nosso corpo se utiliza de controles metabólicos para combater o acúmulo de EROs. Esses mecanismos envolvem um complexo sistema de defesa antioxidante, que reduz a concentração de EROs evitando possíveis danos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007), o papel do sistema de defesa antioxidante é trabalhar inversamente e na mesma proporção que os sistemas de produção de EROs, através de reações de oxirredução (ALMEIDA et al., 2011).

A defesa antioxidante acontece tanto por um sistema enzimático, como por um não enzimático, ambos a partir de moléculas capazes de doar elétrons ou mediar reações que diminuam a concentração de EROs (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). O sistema de defesa não enzimático é proveniente de fontes exógenas, e inclui vitaminas: ácido ascórbico (vitamina C), a-tocoferol (vitamina E), b-caroteno (precursor de vitamina A), e flavonoides (VASCONCELOS et al., 2007; POWERS; JACKSON, 2008). Já o sistema de defesa enzimático se dá a partir de moléculas endógenas, e inclui enzimas que atuam concomitantemente sob as EROs $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 , fazem parte desse sistema a superóxido desmutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPX) (POWERS; JACKSON, 2008; JACKSON et al., 2019; FLOHÉ; GUNZLER, 1984).

A enzima SOD é responsável pelo processo inicial do sistema de defesa antioxidante enzimático, pois atua sob o substrato $O_2^{\cdot-}$ no processo de dismutação da molécula, formando O_2 e H_2O_2 ($2 O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$) (JI et al., 1995; ROVER JÚNIOR et al., 2001), atuando na mitocôndria, e com maior frequência, no citosol, para reverter o acúmulo de $O_2^{\cdot-}$ (JI et al., 1995; FERREIRA; FERREIRA; DUARTE, 2007). A SOD apresenta três derivações, com os

metais: cobre (Cu), zinco (Zn) e manganês (Mn) para que a enzima exerça sua atividade (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). As enzimas CAT e GPX, diante da produção de H₂O₂, possuem o papel de eliminar essa ERO e evitar a produção de HO[•] e posteriores danos oxidativos, porém elas possuem ações diferentes sob o substrato. Enquanto a enzima CAT atua de maneira direta sem a necessidade de um mediador na reação, a enzima GPX necessita de glutathiona reduzida (GSH), para oxidar seu grupamento tiol formando glutathiona oxidada (GSSG) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; ROVER JÚNIOR et al., 2001; FLOHÉ; GUNZLER, 1984).

O sistema de defesa antioxidante normalmente se encontra em equilíbrio com a produção de EROs no organismo, mas alguns fatores podem causar perturbações neste equilíbrio, esses fatores incluem, alimentação inadequada; exposição à radiação eletromagnética; doenças crônicas degenerativas; exercício físico intenso (MARKLUND et al., 2013; SOARES et al., 2015).

Quando o organismo, perturbado, passa a produzir EROs em excesso e os agentes antioxidantes não são suficientes para combatê-los, há um estado de desequilíbrio redox desfavorável ao organismo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). A fim de reverter essa situação, cientistas procuram novos métodos farmacológicos eficazes no combate ao desequilíbrio redox em doenças crônicas degenerativas (SAGOR et al., 2015; NILE; NILE; KEUM; 2017).

Nesse contexto, apesar de o exercício agudo ser um estimulador da produção de EROs, ele dispara mecanismos adaptativos nas vias enzimáticas da defesa antioxidante. Estudos com ratos machos da linhagem Wistar demonstram que os animais adaptados a um determinado tipo de exercício possuem níveis mais elevados de enzimas antioxidantes no tecido cerebral, assim como em outros tecidos, o que lhes confere uma proteção contra os danos oxidativos causados pela excessiva produção de ERO induzida pelo exercício (RADAK et al., 2006; ALVES et al., 2020).

2.5 Impactos dos hormônios sexuais na prática de exercício

Nos últimos anos, o músculo esquelético tem sido considerado um órgão versátil e que tem importante papel na liberação de moléculas sinalizadoras que regulam diferentes vias fisiológicas. Por sua vez, a atividade física planejada pode sofrer impactos dos hormônios envolvidos nas mais diversas vias do organismo de humanos e ratos, inclusive dos hormônios sexuais. Em modelos experimentais, a presença de testosterona (SINHA-HIKIM et al., 2002), estrogênio e progesterônio (AGUIAR et al., 2018) impactaram no desempenho do tipo de

exercício realizado. Em machos, por exemplo, a testosterona aumenta a produção de proteínas relevantes para hiperplasia e hipertrofia musculares durante o exercício de força (SINHA-HIKIM et al., 2002). Por outro lado, em fêmeas, as diferentes fases do ciclo estral e o hormônio sexual predominante em cada fase também podem desencadear alterações no desempenho do exercício realizado. Recentemente nosso grupo verificou que, apesar de as fases de ciclo estral de ratas praticantes de HIIT não impactar diretamente no desempenho do exercício, a predominância de estrogênio e progesterona em cada fase está associada ao tipo de resposta metabólica, bem como ao tipo de exercício realizado (LEITE et al. 2021).

Recentemente, Bostrom et al. (2012) demonstraram a presença de uma nova miocina produzida após o treinamento físico e liberada na corrente sanguínea, a irisina (PEKKALA et al., 2013; TIMMONS et al., 2012). Esta miocina pertence a um complexo proteico presente na membrana das fibras musculares esqueléticas denominada fibronectina tipo III, contendo domínio 5 (Fndc5). A irisina é regulada pela presença do coativador e proliferador de peroxissomas (PGC-1 α) durante a prática de exercício (ATHERTON; PHILLIPS, 2013) e sua presença está associada, especialmente, a regulação da homeostase da glicose. Indivíduos com resistência à insulina, no caso de doenças como obesidade e DM2 (GAMAS; MATAFOME; SEICA, 2015; YANG et al., 2015), apresentam alterações no metabolismo da glicose que podem diminuir o nível de irisina no sangue, provavelmente relacionado com a menor efetividade durante a contração muscular (GAMAS; MATAFOME; SEICA, 2015). Além disso, a irisina pode estar associada à redução do ganho de peso, atuando no tecido adiposo e influenciando a expressão de proteínas desacopadoras nas mitocôndrias dos adipócitos, impactando na fosforilação oxidativa e produção de ATP (MORENO-NAVARRETE et al., 2013).

Associado ao achado anterior, GAMAS; MATAFOME; SEICA (2015) verificaram que a presença de tecido adiposo influencia negativamente na expressão gênica de Fndc5, logo a regulação desta via pode estar relacionada com o excesso de adiposidade e atuação dos adipócitos. Desta forma, a avaliação da expressão gênica desta glicoproteína no presente trabalho visa verificar se o exercício agudo de HIIT pode aumentar a resposta pré-traducional no músculo esquelético dependendo do tipo de fibra. Além de avaliar se essa via pode estar relacionada com as vias bioenergéticas e antioxidantes e assim, responder se a regulação desta glicoproteína está envolvida na adaptação aguda do músculo, melhorando a condição física e a saúde do praticante.

3 JUSTIFICATIVA

Este trabalho envolve o fato de que o exercício físico é reconhecidamente uma terapia não farmacológica para pacientes com distúrbios fisiológicos que podem causar comorbidades, como é o caso do sobrepeso ou obesidade. A obesidade é uma condição caracterizada por um quadro de inflamação crônica de baixo grau, no qual os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) estão aumentados. Acredita-se, portanto, que tal condição pode ser minimizada e/ou até mesmo revertida com a realização de exercícios físicos, mesmo sem que haja perda de peso. Isso se deve ao fato de que intervenções com exercícios físicos, como o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), têm demonstrado potencial efeito redutor dos parâmetros fisiopatológicos advindos das doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs).

Tendo em vista que a obesidade possui uma relação direta com o desenvolvimento de outras DCNTs, como o diabetes, entender o papel do HIIT na proteção antioxidante e nas vias fisiológicas de adaptação do músculo esquelético durante a prática de exercício intenso, tornam-se de extrema relevância. Além disso, responder se o possível papel do tecido adiposo durante a execução do exercício em indivíduos com excesso de peso e de adiposidade é de igual forma relevante. Considerando que o estresse oxidativo é o resultado de um desequilíbrio entre duas forças: a produção exacerbada de EROs versus o controle dessa produção pelas enzimas antioxidantes, tais achados permitirão desenvolver protocolos de exercício físico adequados para a fisiologia do músculo esquelético. Diante disso, entender a fonte de EROs e as vias de respostas através das quais o músculo gastrocnêmio consome oxigênio para produzir energia, além dos fatores bioenergéticos e de controle de expressão gênica à esta produção em condição aguda de exercício em indivíduos obesos, se faz necessário.

4 HIPÓTESES CIENTÍFICAS

Diante do exposto, as hipóteses científicas do presente estudo foram:

a) A obesidade pode alterar o perfil transcricional de genes associados à defesa antioxidante, impactando negativamente o meio redox, assim como vias bioenergéticas do músculo esquelético, sendo o HIIT capaz de reverter essas alterações;

b) Os efeitos do HIIT associados ou não à dieta hiperlipídica (HFD) podem ser diferentes de acordo com o tipo de fibra muscular esquelética predominantemente evolvida no processo de requisição energética para geração de movimento;

c) Os esforço e trabalho relativizados aos indivíduos submetidos ao HIIT associados a uma dieta hiperlipídica podem impactar de forma positiva e independente nas respostas fisiológicas de fibras glicolíticas e fibras oxidativas do músculo esquelético;

d) Os efeitos agudos do HIIT podem aumentar a expressão do precursor da irisina (Fndc5) no músculo esquelético associado ao desempenho intenso no HIIT e a capacidade física de animais submetidos ou não à HFD.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivos Gerais

- Analisar os efeitos fisiológicos do HIIT no músculo esquelético de ratas *Wistar* submetidas a dieta hiperlipídica;
- Identificar potenciais marcadores moleculares em fibras musculares esqueléticas com diferentes perfis bioenergéticos no contexto pró- e antioxidante.

5.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a composição corporal, a capacidade física das ratas submetidas à dieta hiperlipídica por meio das cargas interna (lactato) e externa (trabalho e potência);
- Analisar a expressão gênica diferencial de biomarcadores energéticos (Fndc5, Slc2a4 e Pparg1- α), bem como a expressão de genes das vias pró- e antioxidante (Nox4, Sod1, Sod2, Cat e Gpx1) no músculo esquelético de ratas submetidas a uma dieta hiperlipídica e ao exercício agudo;
- Analisar os marcadores de danos oxidativos (GSH) e o sistema de defesa antioxidante enzimático (SOD, CAT e GPX) no músculo esquelético após indução à obesidade e treinamento físico no extrato de proteínas.

5 MANUSCRITO A SER ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO (EM ELABORAÇÃO)

TÍTULO: Efeito agudo do treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) no balanço redox de ratas submetidas a uma dieta hiperlipídica

TITLE: *Acute effect of high-intensity interval training (HIIT) in the redox balance of rats submitted to a hyperlipid diet*

AUTORES: Jonathan Elias Rodrigues Martins,^a Rodrigo Leite Furtado,^b Edolo Jatai Guastucci,^b Franciele Cristina Pereira de Oliveira,^a Juliana Osório Alves,^b Fernanda Lima Alves,^c Vânia Marilande Ceccatto,^{b,c} Valdevane Rocha Araújo^{a,c*}, Alex Soares Marreiros Ferraz^{a,d}

AFILIAÇÃO:

^aPrograma de Pós-graduação em Biotecnologia, *Campus* de Sobral, Universidade Federal do Ceará-UFC, CE, Brasil.

^bLaboratório de Bioquímica e Expressão Gênica do Instituto Superior de Ciências Biomédicas, *Campus* de Fortaleza, Universidade Estadual do Ceará-UECE, CE, Brasil.

^c*Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas* do Instituto Superior de Ciências Biomédicas, *Campus* de Fortaleza, Universidade Estadual do Ceará-UECE, CE, Brasil.

^dLaboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular do Exercício do Instituto de Educação Física e Esportes, *Campus* de Fortaleza, Universidade Federal do Ceará-UFC, CE, Brasil.

***Autor de correspondência: Valdevane R. Araújo**

Endereço: Universidade Federal do Ceará, Avenida Comandante Maurocélvio Rocha Ponte, 100- Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Jocely Dantas de Andrade Torres, Sobral, CE, Brasil, CEP: 62042-280. E-mail: valdevane.araujo@gmail.com

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram (1) analisar os efeitos do treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) em ratas *Wistar* submetidas a dieta hiperlipídica sobre a homeostase redox, além de (2) identificar potenciais marcadores moleculares no tecido muscular estriado esquelético para futuras aplicações biotecnológicas. Foram utilizadas 36 ratas *Wistar*, as quais foram divididas igualmente e submetidas (HFD) ou não (SD) a dieta hiperlipídica e ao exercício físico (HFD-Ex e SD-Ex). Após a realização de uma sessão aguda de HIIT supraaeróbico (5 séries de 5 minutos com descanso passivo de 5 minutos) os animais foram eutanasiados e as gorduras perigonadal, subcutânea, visceral e o músculo gastrocnêmio foram dissecados para posteriores análises bioquímicas e biomoleculares para definir o perfil dos marcadores bioenergéticos e do balanço redox. Os dados coletados foram expressos em média±erro padrão da média com significância de $P < 0,05$ ao utilizar teste *t* de Student não pareado e teste de Mann-Whitney e ANOVA two-way e *post-hoc* de Bonferroni. Como resultados, a massa adiposa total nos grupos HFD e HFD-Ex foi significativamente superior em relação aos grupos SD e SD-Ex. O HIIT aumentou a expressão dos genes *Ppargc1- α* e *Fndc5* em diferentes tipos de fibras do gastrocnêmio. Quanto aos marcadores bioenergéticos, foi observado um aumento significativo na expressão de *Cs* e *Ppargc1-1 α* nas fibras brancas do grupo SD-Ex frente aos demais grupos, enquanto que para fibras vermelhas, o aumento foi observado no grupo HFD-Ex. Com base nesses resultados pode-se concluir que o excesso de adiposidade pode prejudicar a defesa antioxidante e que o HIIT poderia mitigar esses efeitos deletérios no músculo esquelético, através do recrutamento de diferentes tipos de fibras de acordo com o tipo de dieta.

Palavras-chave: Treinamento supraaeróbico. Dieta anabólica. Excesso de adiposidade. Desequilíbrio redox. Bioenergética.

ABSTRACT

The aim of this study were (1) to analyze of the effects of *high-intensity interval training* (HIIT) in *Wistar* rats submitted to a high-fat diet on redox homeostasis, and (2) to identify the potential markers in the skeletal muscle tissue for future biotechnological applications. Thirty-six *Wistar* rats were used, which were divided equally and submitted (HFD) or not (SD) to high-fat diet and physical exercise (HFD-Ex and SD-Ex). After performing an acute supraaerobic HIIT session (5 sets of 5 minutes with passive 5-minute rest), the animals were euthanized and

perigonadal, subcutaneous, visceral fats, and gastrocnemius muscle were dissected for subsequent biochemical and biomolecular analyzes to define the profile of bioenergetic markers and redox balance. The collected data were expressed as mean \pm standard error of the mean with significance of $P < 0.05$, using the unpaired Student's t test and the Mann-Whitney test, and two-way ANOVA and Bonferroni's post-hoc test. As a result, the total fat mass in the HFD and HFD-Ex groups was higher than SD and SD-Ex groups. HIIT increased the Ppargc1- α and irisin gene activity in different types fibers of gastrocnemius. Regarding bioenergetic markers, a significant increase in the expression of CS and Ppargc1- α was observed in the white fibers of the SD-Ex group compared to the other groups, whereas for red fibers, this increase was observed in HFD-Ex group. Based on the results, it can be observed that excess adiposity can impair antioxidant defense and that HIIT could alleviate these deleterious effects on skeletal muscle, by recruiting different fibers types according to the type of diet.

Key words: Supraaerobic training. Anabolic diet. Excess adiposity. Redox imbalance. Bioenergetics.

INTRODUÇÃO

A obesidade é definida como uma condição de excesso de gordura corporal que afeta negativamente a saúde do indivíduo (OMS, 2003). É importante destacar que a obesidade é uma condição de inflamação crônica (MENIKDIWELA et al., 2019) que, associada ao sedentarismo, está envolvida com alterações fisiológicas, principalmente na captação de glicose, devido a resistência à insulina e ao estresse metabólico resultantes (REUTRAKUL; VAN CAUTER, 2018). Diante dessa problemática, a realização de exercícios físicos se faz necessário, visando minimizar e/ou reverter os mecanismos fisiopatológicos da obesidade (ABESO, 2016) e prevenir comorbidades associadas.

O exercício físico está associado a uma via de transporte de glicose independente de insulina (ROCCA et al., 2008; BEZERRA et al., 2018), a qual possui papel fundamental no controle da glicemia. Além disso, o consumo de oxigênio (O_2) durante a realização de exercício físico aeróbico ou anaeróbico pode chegar até 20 vezes durante o repouso (URSO; CLARKSON, 2003). Nessas condições, o resultado do metabolismo do oxigênio tem, como produtos, as espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais, em grandes proporções, podem ser nocivas às células (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004; POWERS; RADAK; JI, 2016). Recentemente foi descrito que vias relacionadas a NAPDH oxidase (NOX) são produtoras de

EROs durante o exercício físico dado a condição pró-inflamatória pós exercício agudo em indivíduos sedentários (ALVES, et al., 2020).

Embora o exercício físico estimule a produção de EROs, durante sua execução são disparados mecanismos adaptativos que podem modular as vias enzimáticas da defesa antioxidante (RADAK et al., 2006; PARK; KWAK, 2016). O sistema de defesa antioxidante enzimático inclui as enzimas superóxido desmutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPX) (FLOHÉ; GUNZLER, 1984; POWERS; JACKSON, 2008; JACKSON et al., 2019), as quais atuam concomitantemente na eliminação das EROs. Além disso, o exercício físico é reconhecidamente uma terapia não farmacológica para diversas condições, inclusive de excesso de adiposidade e/ou resistência à insulina, por exemplo (FRANCOIS; LITTLE, 2015).

Entretanto, no tocante ao treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT, do inglês *high-intensity interval training*) ainda não são conhecidos seus impactos em pessoas com sobrepeso e/ou obesidade. Diante disso, os objetivos deste trabalho foram (1) analisar os impactos nas vias pró-oxidante, antioxidante e bioenergética do HIIT nas fibras brancas e vermelhas do gastrocnêmio de ratas *Wistar* submetidas a dieta hiperlipídica e ao HIIT. Além disso, (2) avaliar potenciais marcadores moleculares em fibras do músculo esquelético com diferentes perfis bioenergéticos nas vias pró-oxidante e antioxidante em ratas sedentárias eutróficas e com sobrepeso.

MATERIAIS E MÉTODOS

Aspectos ético-legais

Este estudo foi realizado de acordo com as diretrizes internacionais ARRIVE 2.0-NC3Rs e normas brasileiras vigentes (Lei n. 11.794/2008, CONCEA/MCTI/Brasil) para experimentação *in vivo* e teve aprovação do Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual do Ceará (UECE) sob registro n. 4157757/2018 (ANEXO B). A pesquisa foi realizada em uma parceria entre o Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular do Exercício (Lab³Ex) do Instituto de Educação Física e Esportes (IEFES) da Universidade Federal do Ceará (UFC) e o Laboratório de Bioquímica e Expressão Gênica (LABIEX) do Instituto Superior de Ciências Biomédicas (ISCB) da UECE.

Animais

Foram utilizados 36 ratos fêmeas albinos da linhagem *Wistar* com 28 dias de vida, obtidos do Biotério Central da UFC. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro

(12h/12h), em ambiente com temperatura controlada entre 22 a 25°C, e com ração e água *ad libitum*. A maturidade sexual foi acompanhada a partir dos 60 dias de idade através da inspeção visual da abertura do canal vaginal. O acompanhamento do estro foi feito através de esfregaço vaginal, 1h antes e 24h após o exercício, utilizando lâminas de vidro. A observação foi realizada em microscópio óptico (magnificação 40x) e as fases do ciclo estral, fases estrogênicas (proestro e estro) e progestogênica (metaestro e diestro) (PACCOLA et al. 2013), foram determinadas de acordo com as características morfológicas das células do epitélio vaginal. Para as avaliações murinométricas, o peso corporal dos animais foi aferido em balança semi-analítica a cada 2 semanas desde o início da dieta até o dia da eutanásia.

Desenho experimental

O estudo foi desenhado para avaliar o efeito do HIIT e Dieta Hiperlipídica (HFD) (variáveis independentes), bem como da sua interação sobre as análises bioquímicas e moleculares (variáveis dependentes). Esse modelo determinou a existência de 4 grupos experimentais, contendo 9 animais cada: Dieta Padrão Sedentário (SD), Dieta Padrão Exercício (SD-Ex), Dieta Hiperlipídica Sedentário (HFD); e Dieta Hiperlipídica Exercício (HFD-Ex).

Dieta Hiperlipídica

Os animais dos grupos Dieta Hiperlipídica receberam ração rica em lipídios, composta por 37,5% de ração comercial padrão, 25% de amendoim torrado, 25% de chocolate ao leite e 12,5% de biscoito de leite. A referida ração foi produzida no Laboratório de Farmacotécnica do Departamento de Farmácia da UFC de acordo com o protocolo descrito por ESTADELLA et al. (2004). As ratas dos grupos SD e SD-Ex receberam ração comercial padrão (Presence®). Todos os animais receberam as respectivas dietas a partir do dia 28 de vida até o fim do experimento com água e a ração *ad libitum*. A cada semana foi aferido o consumo de ração por gaiola e a massa corpórea dos animais em balança semi-analítica, a fim de acompanhar o desenvolvimento dos animais ao longo do experimento.

Tabela 2: Composição da dieta padrão e dieta hiperlipídica.

Características	Dieta padrão	Dieta hiperlipídica
Calorias (kcal/100g)	380,0	406,9
Carboidratos (g/100g)	63,0	56,6
Proteínas (g/100g)	23,0	16,7
Lipídeos (g/100g)	4,0	14,2
Fibras alimentares (g/100g)	5,0	3,4

Fonte: adaptado de ESTADELLA et al. (2004).

Protocolo de Avaliação da Capacidade Aeróbica

Para ambientação ao exercício utilizou-se uma esteira ergométrica motorizada (Inbramed[®]) na qual os animais foram submetidos à caminhada durante 10 minutos por dia, no período noturno, a uma velocidade de 0,4 km/h, 5 dias por semana, durante duas semanas. Este período foi denominado processo de adaptação e foi utilizado com o objetivo de familiarizar os animais às condições experimentais e minimizar o estresse gerado pelo exercício (KREGEL *et al.*, 2006).

Após o processo de adaptação, os animais de todos os grupos foram submetidos ao protocolo de avaliação da capacidade aeróbica através de um teste de cargas incrementais, o Teste Incremental Máximo (TIM). O TIM consiste em etapas sequenciais de exercício contínuo, com duração de 3 minutos, seguido de descanso passivo de 2 minutos, iniciando-se a uma velocidade de 0,3 km/h e com incremento de 0,3 km/h a cada nova etapa, até a exaustão do animal. Por sua vez, a exaustão foi determinada, comportamentalmente, a partir da recusa do animal a correr sobre estímulo manual, e ainda, pela falta de coordenação motora identificada pelo afastamento das patas anteriores e posteriores (KREGEL *et al.*, 2006).

A cada estágio, uma amostra de 25 μ L de sangue foi coletada através de punção na cauda dos animais, utilizando capilar, previamente heparinizado, para determinar a lactacidemia sérica. O sangue coletado foi armazenado em tubos tipo *ependorf*, contendo 50 μ L de fluoreto anticoagulante inibidor de glicólise para posterior dosagem por espectrofotometria em Lactímetro (Yellow Springs YSI 2300 STAT PLUS, OH, USA). A partir das leituras, o limiar de lactato dos animais foi determinado através da inspeção visual da inflexão da curva gerada a partir da plotagem da concentração do lactato em função da velocidade de corrida e da distância percorrida em cada estágio (LEITE et al., 2021).

Protocolo de treinamento físico

Quarenta e oito horas após a realização do TIM, os animais foram então submetidos a uma única sessão de HIIT (sessão aguda). O protocolo de HIIT consistiu de dez tiros (sprints) a uma intensidade supraaeróbica de 5% acima da capacidade aeróbica com duração de cinco minutos, seguidos por descanso passivo de cinco minutos (1:1) (HANDSCHIN et al., 2007). A intensidade do exercício foi determinada a partir das cargas interna e externa. A carga interna foi definida como limiar anaeróbico determinado a partir da mensuração da concentração do lactato sanguíneo. Já a carga externa foi determinada através da velocidade máxima no momento em que o limiar de lactato foi atingido. Para avaliar os efeitos relativos do exercício, foram mensurados Potência ($F = \text{massa} \times \text{velocidade}$) e Trabalho ($W = \text{velocidade} \times \text{tempo} \times \text{massa} \times \text{gravidade}$) dos animais, assim essas medidas foram consideradas como cargas internas relativas.

Eutanásia e Coleta de Tecidos

Os animais foram eutanasiados 24 horas após a sessão de exercício, utilizando Tiopental sódico (150 mg/Kg) via intraperitoneal seguido por decapitação. O músculo estriado esquelético gastrocnêmio, além dos tecidos adiposos perigonadal, subcutâneo e retroperitoneal foram dissecados, pesados e imediatamente congelados em nitrogênio líquido. Em seguida, as amostras foram armazenadas em freezer -80°C . Um resumo do desenho experimental está exposto na Figura 2.

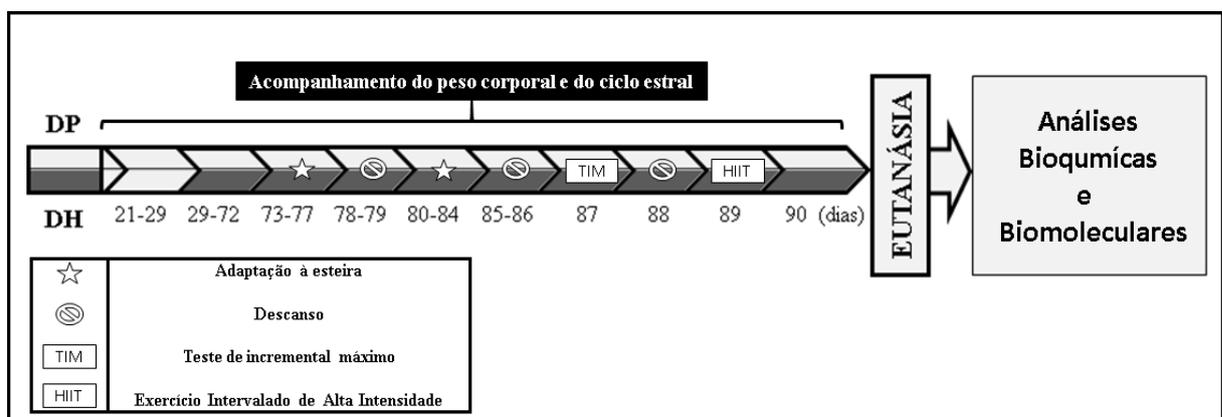


Figura 2: Desenho experimental

Fonte: Autor.

Análise da Expressão Gênica

Extração e Quantificação do RNA

A extração de RNA total foi feita a partir de 100 mg das fibras predominantemente branca e vermelha do músculo do gastrocnêmio, utilizando os reagentes *TRIzol*® (*Thermo Fisher Scientific*) e *RNeasy Plus Mini Kit*® (QIAGEN, Hilden, Germany). O RNA total foi determinado por espectrofotometria, assim como a concentração e qualidade dada pela razão de concentração de proteínas pela concentração de ácidos nucleicos.

Tabela 3. Concentração e razão proteína/RNA das amostras de fibras brancas e vermelhas de gastrocnêmio para submissão ao RT-qPCR

Grupo/amostra	Concentração (ug/mL)		Razão ptn/RNA	
	WF	RF	WF	RF
SD1	1,768	1,488	1,7	1,7
SD2	1,940	1,580	1,7	1,7
SD3	1,676	2,240	1,7	1,7
SD4	1,660	1,428	1,7	1,7
SD5	1,788	1,656	1,7	1,7
SD6	1,728	1,024	1,7	1,7
HFD1	1,136	1,744	1,7	1,7
HFD2	1,640	1,016	1,7	1,7
HFD3	1,124	2,368	1,7	1,7
HFD4	1,944	1,496	1,7	1,7
HFD5	0,512	1,700	1,7	1,7
HFD6	1,460	1,140	1,7	1,7
SD-Ex1	0,840	1,508	1,7	1,7
SD-Ex2	0,476	1,972	1,7	1,7
SD-Ex3	1,304	2,068	1,7	1,7
SD-Ex4	0,960	1,260	1,7	1,7
SD-Ex5	1,012	2,260	1,7	1,7
SD-Ex6	0,500	2,224	1,6	1,7
HFD-Ex1	0,836	1,848	1,7	1,7
HFD-Ex2	0,808	1,904	1,7	1,7
HFD-Ex3	1,540	2,176	1,7	1,7

HFD-Ex4	2,088	1,424	1,7	1,7
HFD-Ex5	2,104	2,168	1,7	1,7
HFD-Ex6	2,105	2,644	1,7	1,7

Fonte: Autor.

Expressão gênica por PCR quantitativa em Tempo Real (RT-qPCR)

Foram avaliados 9 genes envolvidos na fisiologia muscular esquelética por meio da análise de expressão relativa, utilizando *Real Time - qPCR (Biorad CFX 96, Biorad, CA, EUA)*. Cinco genes estão envolvidos com o estado redox (Nox4, Sod1, Sod2, Cat e Gpx1), três com o metabolismo bioenergético (Slc2a4, Ppargc1- α) e um gene está envolvido com a produção de irisina (Fndc5). Os ensaios foram realizados em duplicata, utilizando 2 μ L de cDNA previamente sintetizado, adicionado à mistura da reação contendo 10 μ L de *Power SYBR Green (Lifetechnologies, Foster City, CA, EUA)*, 6,8 μ L de água ultra-pura (*Lifetechnologies, Foster City, CA, EUA*) e 0,6 μ L (300 nM) de cada primer *forward e reverse*. Os primers utilizados são apresentados na Tabela 4. O método de quantificação utilizado foi o $2^{-\Delta\Delta CT}$.

Tabela 4. Sequências de primers utilizados para análise da expressão gênica por RT-qPCR

Genes	Sequências	Referências
Cs	F - 5'TATGGCATGACCGAGATGAA3'	PRÓPRIO AUTOR
	R - 5'CATGGACTTGGGCTTTCATA3'	
Fndc5	F - 5'ACGTGAGGCCCAAGAGAGGC3'	PRÓPRIO AUTOR
	R - 5'TACTGGCGGCAGCAGCTTG3'	
Slc2a4	F - 5'CAACTGGACCTGAACTTCATCGT3'	ALVES et al., 2020
	R - 5'ACGGCAAATAGAAGGAAGAGGT3'	
	F - 5'TCCATCAAGCCAAGATTCTGAG3'	
Nox4	R - 5'GGTTTCCAGTCATCCAGTAGAG3'	JU et al., 2010
	F - 5'TGTGTCCATTGAAGATCGTGTG3'	
Sod1	R - 5'CTTCCAGCATTTCAGTCTTTG3'	FORTUNATO et al., 2013
	F - 5'GGACAAACCTGAGCCCTAAG3'	
Sod2	R - 5'CAAAGACCCAAAGTCACGC3'	FORTUNATO et al., 2013
Ppargc1- α	F - 5'AAGATCCGAAACGCCTGTGTG3'	QUIN et al, 2012
	R - 5'GGAATCCTGGTGCGGTACAAAC3'	

Cat	F - 5'CAAGCTGGTTAATGCGAATGG3' R - 5'TTGAAAAGATCTCGGAGGCC3'	FORTUNATO et al., 2013
Gpx1	F - 5'AATCAGTTCGGACATCAGGAG3' R - 5'GAAGGTAAAGAGCGGGTGAG3' F - 5'GCAGAAACCTGACCTATAAG3'	FORTUNATO et al., 2013
Gus	R - 5'CAAAGACCCAAAGGACCC3'	FORTUNATO et al., 2013

Fonte: Próprio autor

Homogeneização, extração da porção proteica e quantificação de proteínas

Para análise das proteínas músculo foi homogeneizado com tampão TRIS/HCl (pH = 7.4) com os inibidores de proteases aprotinina e fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) (8°C), centrifugado (NT 136 – NovaTécnica – São Paulo/Brasil) e o sobrenadante, contendo as proteínas de interesse foi coletado. A quantificação de proteínas foi realizada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976) baseado no corante “*coomassie brilliant blue*” (BG-250) que em contato com as proteínas emite luminescência azul, avaliada por espectrofotometria visível (595 nm). A partir de uma curva padrão, o conteúdo de proteínas totais foi determinado e expresso em mg de proteínas por mL de solução.

Mensuração dos Grupos Tiois Reduzidos (GSH)

O conteúdo de tiol reduzido (Glutathiona reduzida; GSH) foi determinado por espectrofotometria, utilizando ácido 5,5-ditionitrobenzoico (DTNB) e homogenato de proteínas exposto ao ácido tri-cloro acético (TCA). Os resíduos tiois reagem com DTNB, clivando a ligação dissulfeto até ionização do NTB²⁻, em água, a pH alcalino. O NTB²⁻ foi quantificado em espectrofotômetro a 412 nm, sendo o resultado expresso em nmol de DTNB reduzido por mg de proteína (DTNB reduzido/ mg de ptn) (ELLMAN, 1959).

Análise das enzimas antioxidantes

Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

A análise que avalia a atividade da SOD foi mensurada a partir da inibição da auto-oxidação da adrenalina na presença da enzima Catalase para reagir com peróxido em meio básico. O peróxido presente no meio é gerado pela enzima SOD ao consumir o ânion radical superóxido (BANNISTER; CALABRESE, 1987). O homogenato de proteínas foi adicionado em meio reacional diluído em tampão Glicina (pH=10.2) e, em seguida, a adrenalina também

foi adicionada. A oxidação foi mensurada por espectrofotometria a 480 nm em intervalos de 10 segundos, por 180 segundos, sendo o meio reacional preparado em cubeta de quartzo. Os valores foram expressos em unidade de enzima por miligrama de proteína (U/ mg proteína).

Atividade da catalase (CAT)

A atividade da CAT foi mensurada pelo consumo de seu substrato, H₂O₂, através do monitoramento por espectrofotometria, no comprimento de onda de 240 nm, em intervalos de 30 segundos durante 60 segundos (AEBI, 1984). O meio reacional foi composto de solução tampão PBS (pH=7,4) e peróxido de hidrogênio (50 mM) e homogenato de proteínas, preparado em cubeta de quartzo e realizado em temperatura ambiente. Os valores foram expressos em unidade de enzima por miligrama de proteína (U/mg proteína).

Análise de dados

Tratamento Estatístico

Os resultados foram analisados com base na média das replicatas utilizadas e seu correspondente erro padrão. Após a indução à obesidade foi utilizado o teste *t* de *Student* não pareado com teste não-paramétrico de *Mann-Whitney* para comparar o lactato sérico, a potência e o trabalho (DP vs DH). Para comparação dos grupos do modelo fatorial 2x2 foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) two-way, e *post-hoc* de Bonferroni. Respeitou-se as hipóteses de normalidade de distribuição com o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para análise da frequência de fases do ciclo estral foi utilizado o Teste Exato de Fisher. A significância estatística foi considerada quando os resultados apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese nula menor que 5% ($P < 0,05$). O *software* utilizado foi o *GraphPad Prism 6* (GraphPad Software).

RESULTADOS

CICLO ESTRAL E COMPOSIÇÃO CORPORAL TOTAL

Todas as fêmeas utilizadas tiveram suas fases do ciclo estral verificadas e acompanhadas ao longo de todo o experimento. Pode-se observar que não houve diferenças significativas entre os grupos (dados não mostrados), tanto no que se refere às fases Estro, Proestro, Diestro e Metaestro presentes em cada grupo ($P > 0,05$), quanto na frequência de animais com predominância das fases estrogênicas e progestogênicas ($P > 0,05$).

A Figura 3 refere-se ao peso corporal de ratas *Wistar* submetidas ou não à dieta

hiperlipídica (SD vs HFD) e/ou a uma sessão aguda de HIIT (SD-Ex vs HFD-Ex). Foi observado um aumento significativo ($P<0,05$) na quantidade de massa corporal dos grupos HFD e HFD-Ex em relação ao grupo SD. Entretanto, quando comparados os grupos submetidos a dieta padrão e exercício (SD-Ex) e seu respectivo controle (SD), não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) em relação a massa corporal dos animais.

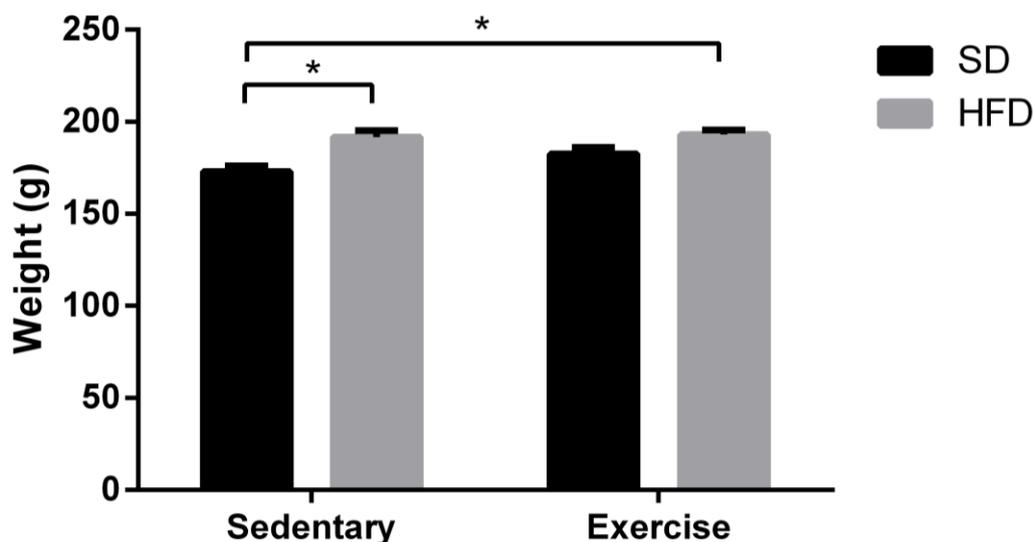


Figura 3: Body weight. Source: Author. Body weight of *Wistar* rats from Standard diet (SD; n=9), High fat diet (HFD; n=9), Standard diet Exercise (SD-Ex; n=9), and High fat diet Exercise (HFD-Ex; n=9). Values are expressed in mean of body weight values.

* Significant difference between groups ($P<0,05$).

A Figura 4 demonstra a distribuição de massa total de tecido adiposo das ratas *Wistar* submetidas ou não à dieta hiperlipídica (SD vs HFD) e/ou a uma sessão aguda de HIIT (SD-Ex vs HFD-Ex). Foi observado um aumento significativo da massa total de tecido adiposo (Fig. 4A) em ambos os grupos HFD e HFD-Ex em relação aos grupos SD ($P<0,05$) e SD-Ex ($P<0,01$). As gorduras perigonadal (Fig. 4B), subcutânea (Fig. 4C) e visceral (Fig. 4D) aumentaram significativamente ($P<0,05$) no grupo HFD-Ex quando comparado ao grupo SD-Ex. Além disso, as gorduras perigonadal (Fig. 4B) e subcutânea (Fig. 4C) aumentaram nos grupos HFD e HFD-Ex ($P<0,01$) quando comparados aos grupos SD-Ex e SD, respectivamente.

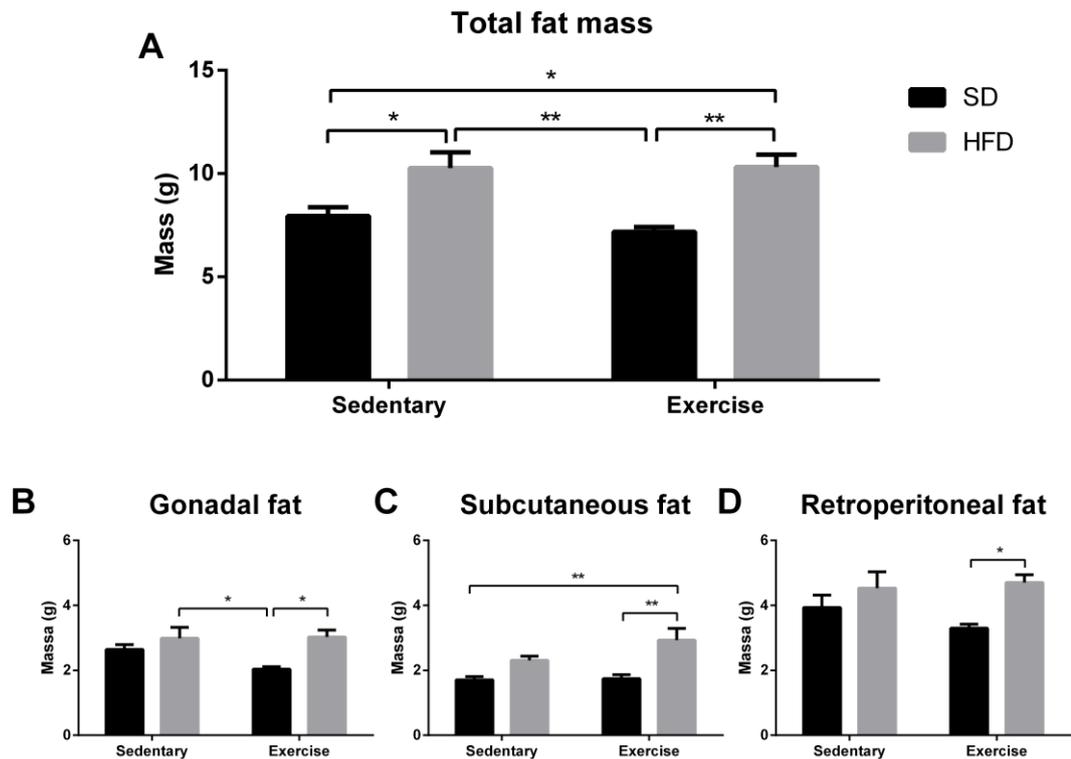


Figura 4: Fat mass distribution. Source: Author. Fat mass distribution as Total fat mass (A), Perigonadal fat (B), Subcutaneous fat (C), and Retroperitoneal fat (D) of *Wistar* rats from Standard diet (SD; n=9), High fat diet (HFD; n=9), Standard diet Exercise (SD-Ex; n=9), and High fat diet Exercise (HFD-Ex; n=9). Values are expressed in mean with SEM.

* Significant difference between groups (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$).

A Figura 5 apresenta a quantificação de massa das fibras brancas e vermelhas do músculo gastrocnêmio de ratas *Wistar* submetidas ou não a uma dieta hiperlipídica (SD vs HFD) associado ou não ao HIIT (SD-Ex vs HFD-Ex). Os animais do grupo HFD-Ex apresentaram redução significativa ($P < 0,01$) de massa das fibras brancas em relação ao grupo HFD, não sendo observadas alterações nas fibras vermelhas ($P > 0,05$). Além disso, a quantidade de fibras brancas foram significativamente maiores ($P < 0,01$) quando comparadas as fibras vermelhas para todos os grupos.

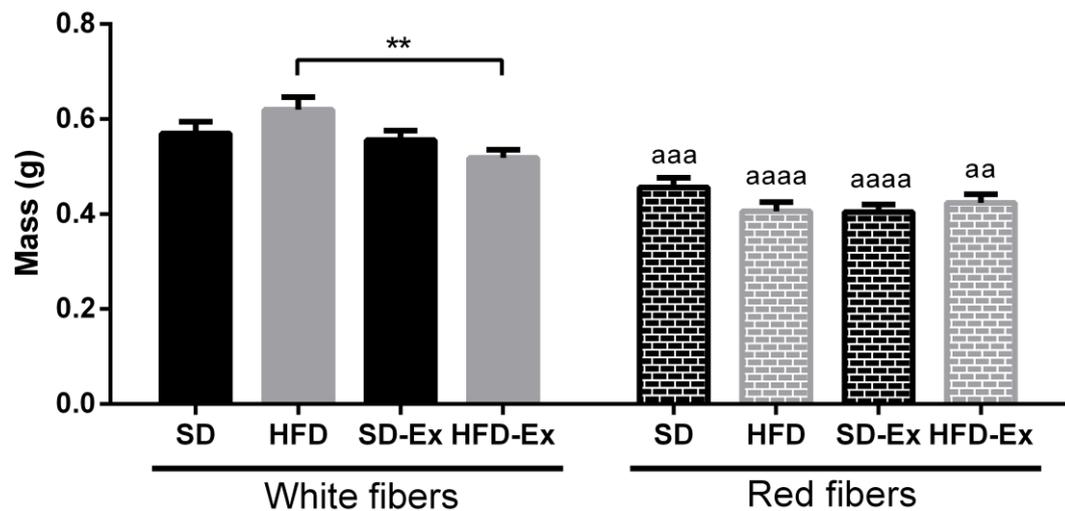


Figura 5: Mass of gastrocnemius. Source: Author. Mass of gastrocnemius as White and Red fibers of *Wistar* rats from Standard diet (SD; n=9), High fat diet (HFD; n=9), Standard diet Exercise (SD-Ex; n=9), and High fat diet Exercise (HFD-Ex; n=9). Values are expressed in mean with SEM.

^a Significant difference between white and red fibers (^{aa} P<0.01; ^{aaa} P<0.001; ^{aaaa} P<0.00001).

* Significant difference between groups in the same fibers type (*P<0.05).

CAPACIDADE FÍSICA BASEADA EM CARGA INTERNA E EXTERNA

Para definição da capacidade física, a Figura 6 apresenta os dados referentes ao teste incremental máximo (Fig. 6A) e as cargas externa (Fig. 6B-C) e interna (Fig. 6D) de ratas *Wistar* submetidas à dieta padrão ou dieta hiperlipídica (SD-Ex vs HFD-Ex). Os níveis de lactado para determinação do MIT (Fig. 6A) demonstram que o grupo HFD-Ex alcançou distância maior em relação ao grupo SD-Ex. Quanto a avaliação da carga externa, o grupo HFD-Ex realizou o exercício com trabalho (Fig. 6B) e potência (Fig. 6C) significativamente maiores (P<0,0001) em relação ao grupo SD-Ex. Entretanto, não foi observada diferença significativa entre os grupos (P>0,05) na avaliação da carga interna, mensurada pelos níveis de lactato séricos (Fig. 6D).

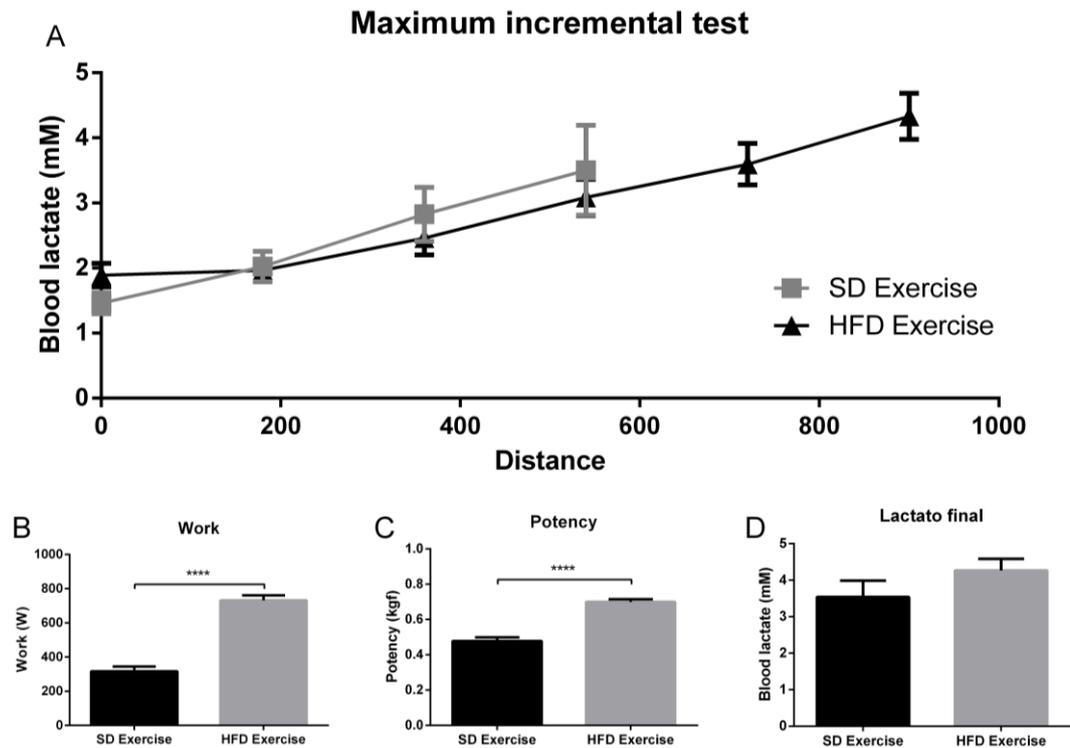


Figura 6: External and internal load. Source: Author. Maximum incremental test (A), external load measured by Work (B) and Potency (C), internal load measured by lactate serum after MIT (D) of *Wistar* rats from Standard diet Exercise (SD-Ex; n=9) and High fat diet Exercise (HFD-Ex; n=9). Values are expressed in mean with SEM.

* Significant difference between groups (**** P<0.0001).

IMPACTO DO HIIT NA EXPRESSÃO GÊNICA DE *Fndc5*

A Figura 7 apresenta a expressão gênica relativa do gene *Fndc5* que codifica o precursor do hormônio irisina nas fibras brancas e vermelhas no tecido do músculo gastrocnêmio de ratas *Wistar* submetidas ou não a uma dieta hiperlipídica (SD vs HFD) associada ou não ao HIIT (SD-Ex vs HFD-Ex). Para as fibras brancas (Fig. 7A), a expressão de *Fndc5* foi significativamente superior em ambos os grupos que executaram uma sessão de HIIT (SD-Ex e HFD-Ex) quando comparados aos seus respectivos controles (SD; P<0,05 e HFD; P<0,01). Já para as fibras vermelhas (Fig. 7B), o grupo SD-Ex apresentou expressão significativamente maior de *Fndc5* quando comparado aos demais tratamentos (SD, HFD; P<0,001 e HFD-Ex; P<0,01). Entretanto, não foi observado diferença entre os grupos sedentários (SD vs HFD; P>0,05).

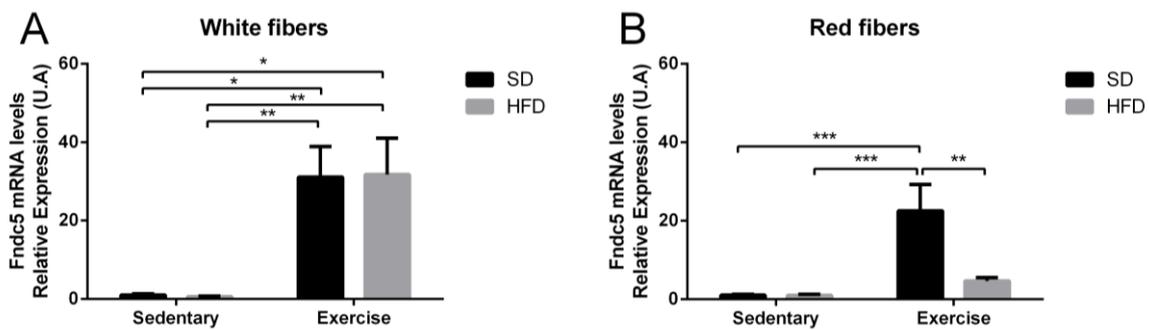


Figura 7: Gene expression of the Fndc5 glycoprotein. Source: Author. Gene expression of the Fndc5 glycoprotein in White (A) and Red (B) gastrocnemius fibers of *Wistar* rats from Standard diet (SD; n=9), High fat diet (HFD; n=6), Standard diet Exercise (SD-Ex; n=6) and High fat diet Exercise (HFD-Ex; n=6). Values are expressed in mean with SEM.

* Significant difference between groups (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$).

MARCADORES BIOENERGÉTICOS NO MÚSCULO ESQUELÉTICO

A Figura 8 apresenta a expressão gênica relativa dos genes relacionados ao metabolismo bioenergético do músculo esquelético nas fibras brancas e vermelhas do músculo gastrocnêmio de ratas *Wistar* submetidas ou não a dieta hiperlipídica (SD vs HFD) associada ou não ao HIIT (SD-Ex vs HFD-Ex). A expressão dos mRNA para Cs (Fig. 8A), Pparg1- α (Fig. 8C) e Slc2a4 (Fig. 8E) nas fibras brancas foi significativamente maior ($P < 0,05$) no grupo SD-Ex quando comparado aos demais grupos (SD; $P < 0,05$, HFD e HFD-Ex; $P < 0,01$). Contrariamente, nas fibras vermelhas, a expressão da Cs (Fig. 8B) e Pparg1- α (Fig. 8D) foi significativamente maior ($P < 0,05$) no grupo HFD-Ex quando comparado aos demais grupos (SD; HFD e SD-Ex). Quanto a expressão da Slc2a4 nas fibras vermelhas (Fig. 8F), esta foi significativamente maior ($P < 0,05$) no grupo SD-Ex quando comparado ao seu respectivo controle (SD sedentário) e ao grupo HFD sedentário. De maneira semelhante, a expressão de Slc2a4 nas fibras vermelhas do grupo HFD-Ex foi significativamente maior ($P < 0,05$) quando comparado ao seu respectivo controle (HFD) e ao grupo SD.

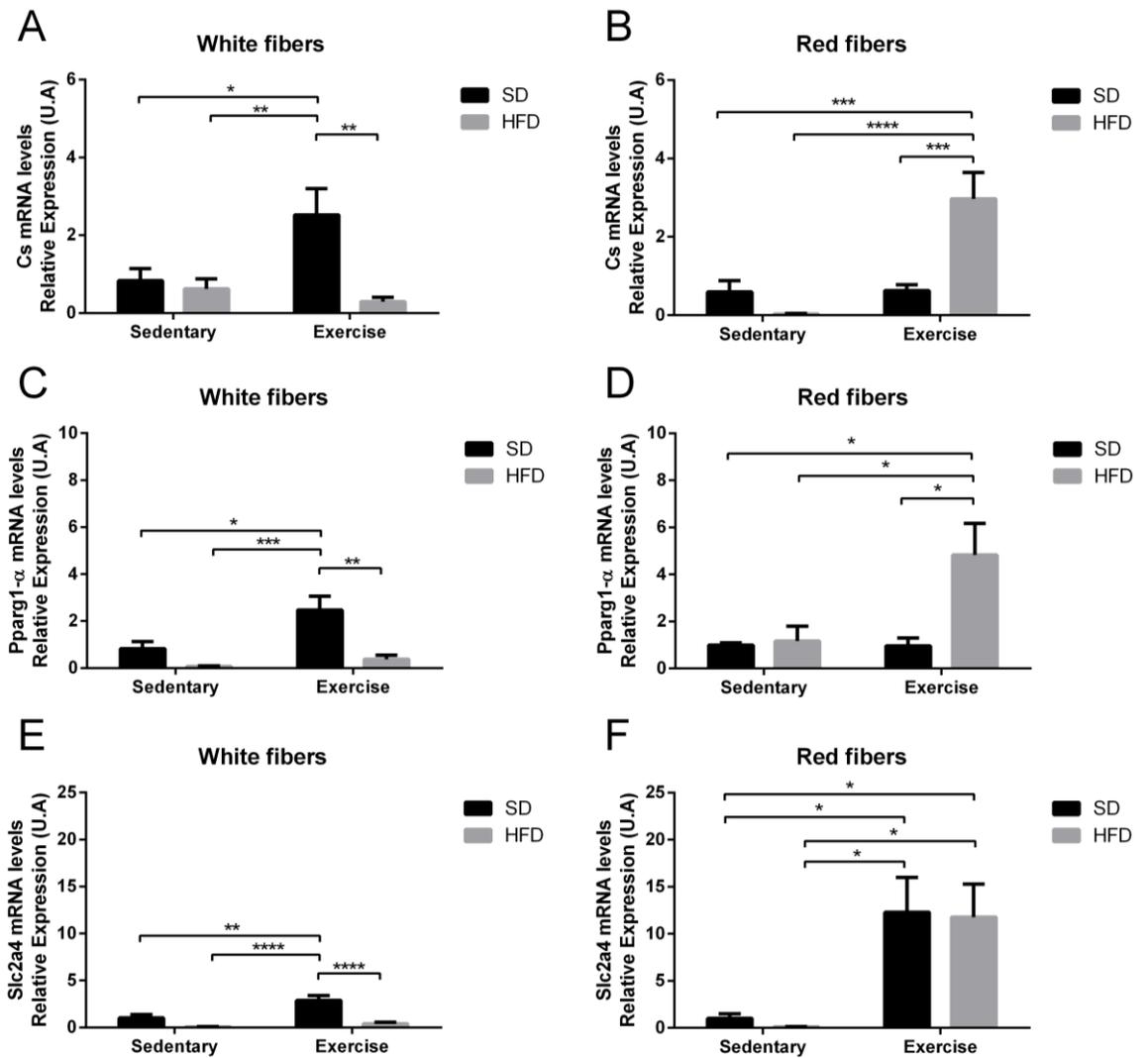


Figura 8: Gene expression of bioenergetic markers. Source: Author. Bioenergetic markers of skeletal muscle Cs (A and B), Pparg1- α (C and D) and Slc2a4 (E and F) in White (A, C, and E) and Red (B, D, and F) gastrocnemius fibers of *Wistar* rats from Standard diet (SD; n=6), High fat diet (HFD; n=6), Standard diet Exercise (SD-Ex; n=6) and High fat diet Exercise (HFD-Ex; n=6). Values are expressed in mean with SEM.

* Significant difference between groups (* P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001; **** P<0,0001).

ESTADO REDOX DO MÚSCULO ESQUELÉTICO

A Figura 9 apresenta a expressão relativa do gene da proteína pró-oxidante Nox4 nas fibras brancas e vermelhas do músculo gastrocnêmio de ratas *Wistar* submetidas ou não a dieta hiperlipídica (SD vs HFD) associada ou não ao HIIT (SD-Ex vs HFD-Ex). Para as fibras brancas (Fig. 9A), não foi observado diferença significativa entre os grupos (P>0,05). Já para as fibras vermelhas (Fig. 9B), foi observado expressão de Nox4 significativamente maior

($P < 0,01$) em ambos os grupos submetidos ao exercício físico (SD-Ex e HFD-Ex) quando comparado aos seus respectivos controles (SD e HFD). Entretanto, não foi observado diferença entre os grupos quando comparadas as dietas, ou seja, SD vs HFD e SD-Ex vs HFD-Ex ($P > 0,05$)

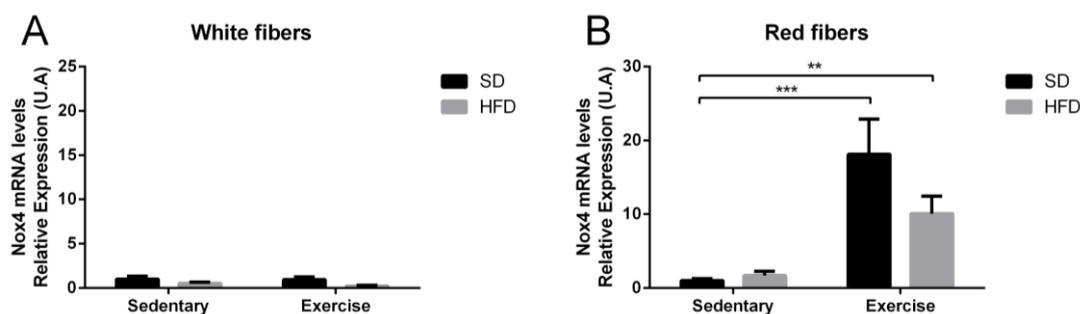


Figura 9: Gene expression of the Nox4 pro-oxidant enzyme. Source: Author. Gene expression of the Nox4 pro-oxidant enzyme in White (A) and Red (B) gastrocnemius fibers of *Wistar* rats from Standard diet (SD; n=6), High fat diet (HFD; n=6), Standard diet Exercise (SD-Ex; n=6) and High fat diet Exercise (HFD-Ex; n=6). Values are expressed in mean with SEM.

* Significant difference between groups (** $P < 0,05$; **** $P < 0,0001$).

A Figura 10 apresenta a expressão relativa dos genes de enzimas antioxidantes nas fibras brancas e vermelhas do músculo gastrocnêmio de ratas *Wistar* submetidas ou não a dieta hiperlipídica (SD vs HFD) associada ou não ao HIIT (SD-Ex vs HFD-Ex). Para as fibras brancas (Fig. 10A) e vermelhas (Fig. 10B) não foi observado diferença significativa entre os grupos ($P > 0,05$) na expressão de Sod1. A expressão de Sod2 nas fibras brancas foi significativamente reduzida no grupo HFD quando comparado ao grupo SD ($P < 0,05$). Já nas fibras vermelhas, o grupo HFD-Ex apresentou expressão de Sod2 significativamente superior ($P < 0,05$) quando comparado ao seu respectivo controle (HFD) e ao grupo sedentário (SD). Além disso, quanto a expressão de Cat nas fibras brancas (Fig. 10E) observou-se um aumento significativo no grupo SD-Ex em relação aos grupos sedentários (SD-Ex vs SD e HFD; $P < 0,01$), enquanto que para as fibras vermelhas (Fig. 10F), o aumento significativo foi observado no grupo HFD-Ex em relação aos grupos sedentários (HFD-Ex vs SD; $P < 0,05$; HFD-Ex vs HFD; $P < 0,01$). Quanto a expressão de Gpx1 nas fibras brancas (Fig. 10G), o grupo SD-Ex apresentou um aumento significativo quando comparado aos demais grupos (SD-Ex vs SD, HFD e HFD-Ex; $p < 0,001$). Já para as fibras vermelhas (Fig. 10H), o grupo HFD-Ex aumentou

significativamente a expressão de Gpx1 quando comparado ao seu respectivo controle (HFD-Ex e HFD; $p < 0,01$) e ao grupo SD sedentário (HFD-Ex vs SD; $P < 0,05$).

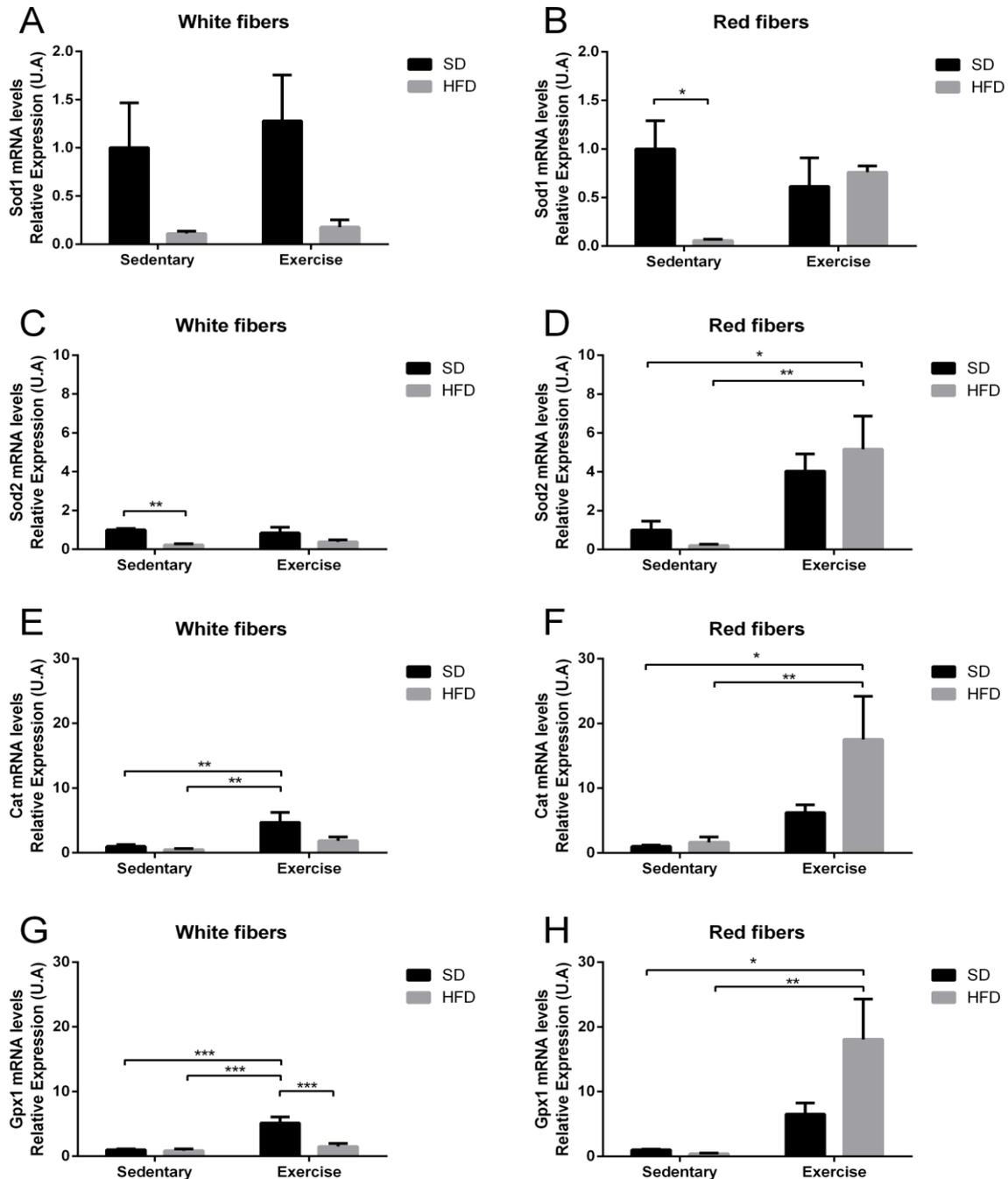


Figura 10: Gene expression of antioxidante enzymes. Source: Author. Gene expression of antioxidant enzymes Sod1 (A and B), Sod2 (C and D), Cat (E and F) and Gpx1 (G and H) in White (A, C, E and F) and Red (B, D, F and H) gastrocnemius fibers of *Wistar* rats from Standard diet (SD; $n=6$), High fat diet (HFD; $n=6$), Standard diet Exercise (SD-Ex; $n=6$) and

High fat diet Exercise (HFD-Ex; n=6). Values are expressed in mean with SEM.

* Significant difference between groups (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$).

A Figura 11 apresenta a concentração da proteína GSH nas fibras brancas e vermelhas do músculo gastrocnêmio de ratas *Wistar* submetidas ou não a dieta hiperlipídica (SD vs HFD) associada ou não ao HIIT (SD-Ex vs HFD-Ex). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em ambas as fibras brancas e vermelhas ($P > 0,05$).

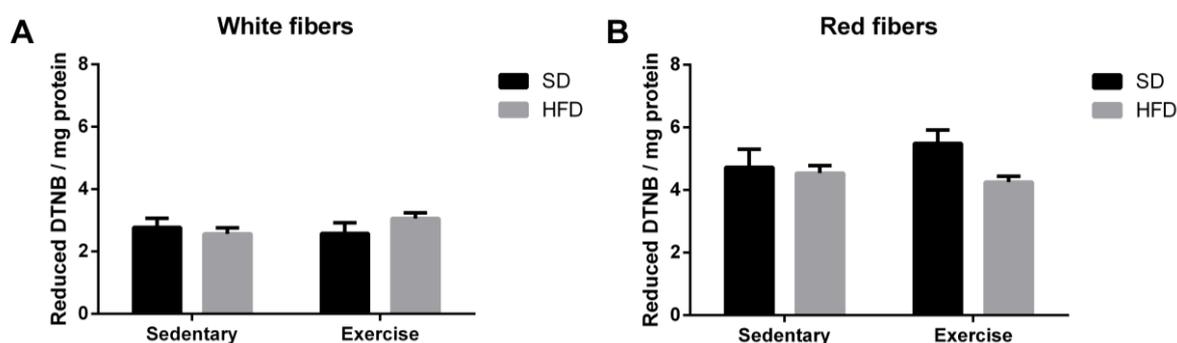


Figura 11: Reduced glutathione concentration (GSH) in gastrocnemius. Source: Author. Reduced glutathione concentration (GSH) in White (A) and Red (B) gastrocnemius fibers of *Wistar rats* Standard diet (SD; n=9), High fat diet (HFD; n=9), Standard diet Exercise (SD-Ex; n=9) and High fat diet Exercise (HFD-Ex; n=9). Values are expressed in mean with SEM.

* Significant difference between groups (* $P < 0.05$).

A Figura 12 apresenta a atividade das enzimas antioxidantes SOD (Fig. 12A-B) e CAT (Fig. 12C-D) nas fibras brancas e vermelhas do músculo gastrocnêmio de ratas *Wistar* submetidas ou não a dieta hiperlipídica (SD vs HFD) associada ou não ao HIIT (SD-Ex vs HFD-Ex). Para as fibras brancas (Fig. 12A e Fig. 12C), não foram observadas diferenças significativas entre os grupos ($P > 0,05$) para a atividade das enzimas SOD e CAT. Por outro lado, a atividade da enzima CAT (Fig. 12D) para as fibras vermelhas, foi significativamente superior no grupo submetido à dieta hiperlipídica associado ao HIIT (HFD-Ex) quando comparado ao grupo submetido à dieta padrão sedentário (SD; $P < 0,05$).

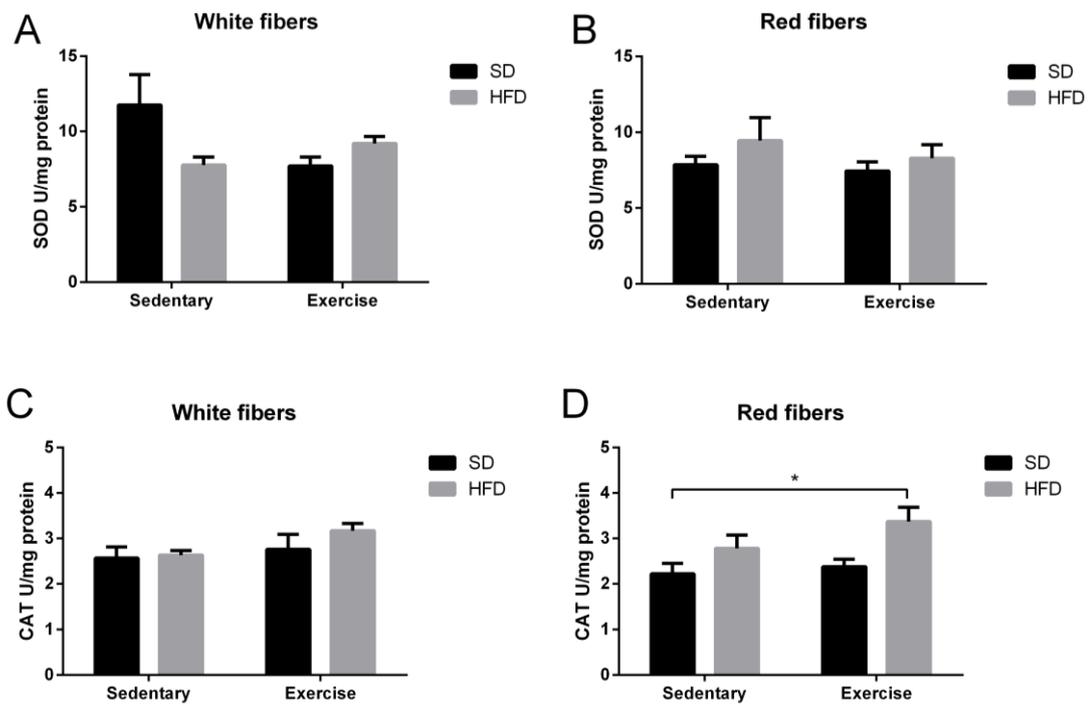


Figure 12: Activity of antioxidant enzymes in gastrocnemius. Source: Author. Activity of antioxidant enzymes SOD (A and B) and CAT (C and D) in White (A and C) and Red (B and D) gastrocnemius' fibers from Standard diet (SD; n=9), High fat diet (HFD; n=9), Standard diet Exercise (SD-Ex; n=9) and High fat diet Exercise (HFD-Ex; n=9). Values are expressed in mean with SEM.

* Significant difference between groups (* $P < 0.05$).

DISCUSSÃO

Este estudo avaliou a fisiologia muscular esquelética da condição de sobrepeso e excesso de adiposidade em ratas fêmeas que praticaram uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade (HIIT). Tanto para os parâmetros bioenergéticos, quanto para o metabolismo redox das fibras musculares, observou-se respostas na expressão gênica dependente do tipo de fibra recrutada pelo exercício. Por sua vez, a literatura descreve que as fibras brancas ou fibras do tipo II apresentam contração rápida e metabolismo glicolítico, enquanto que as fibras vermelhas ou do tipo I apresentam contração lenta e metabolismo oxidativo (PETTE; STARON, 2001; LOUREIRO et al., 2016), logo os achados aqui apresentados podem estar associado a uma adaptação bioenergética dependente do tipo de fibra predominante.

Semelhante ao descrito na literatura (FERNANDES et al., 2016; MORRIS et al., 2015), o excesso de adiposidade provocado pelo consumo da dieta hiperlipídica promoveu aumento tanto de massa gorda, quanto de peso corporal. Entretanto, embora seja conhecido que o aumento do tecido adiposo reflete no aumento da conversão periférica de andrógenos em estrógenos (SMITH, 1996), no presente estudo, tal dieta não afetou as fases do ciclo estral, uma vez que as ratas apresentaram fases estrogênicas e progestogênicas. Por esta razão, pode-se afirmar que provavelmente não houve influência da dieta ou do exercício na produção dos hormônios que caracterizam cada fase do ciclo estral, dado que o aumento de peso ou maiores níveis de atividade física, podem impactar negativamente e positivamente no ciclo estral, respectivamente (SMITH, 1996).

No presente experimento, os animais submetidos à dieta hiperlipídica (HFD) aumentaram a massa de fibras brancas. Por outro lado, quando estes animais executaram uma sessão de HIIT (HFD-Ex), a atividade realizada promoveu uma redução na massa dessas fibras. Tal fenômeno pode ser devido ao fato de o HIIT induzir a conversão das fibras brancas (Tipo II) em fibras vermelhas (Tipo I) (LUGINBUHL; DUDLEY; STARON, 1984) ou mesmo degradação dessas fibras (TAYEBI et al., 2019), conforme indicado pelo trabalho realizado por estes animais (Carga externa relativa), no presente experimento. Além disso, a avaliação da capacidade física dos animais submetidos ao exercício demonstrou que pode haver influência positiva e vantajosa da dieta na requisição de energia (ATP) para exercer movimento (Trabalho e Potência).

Considerando o mencionado anteriormente, pode-se inferir que os animais do grupo HFD-Ex poderiam atingir maiores distâncias mesmo com excesso de adiposidade em relação aos indivíduos eutróficos. Por outro lado, dados na literatura apontam que indivíduos com

excesso de adiposidade possuem uma capacidade física menor que indivíduos saudáveis, associado à resistência insulínica e ao peso corporal (FONSECA-JUNIOR et al, 2013). Este achado em ratas ressalta a hipótese deste trabalho de que indivíduos sedentários com excesso de adiposidade submetidos à mesma intensidade relativa que um indivíduo eutrófico sedentário podem ter vantagens na adaptação ao exercício físico. Ou seja, indivíduos completamente destreinados, seja com característica eutrófica ou com sobrepeso, ao iniciar a execução de atividade física possuem vantagens bioenergéticas e mecânicas indivíduos com sobrepeso, provavelmente pelo excesso lipídeos para produção de ATP por vias oxidativas.

Embora as concentrações de lactato sanguíneo após o TIM tenham sido semelhantes entre os grupos, pode-se observar que os animais submetidos à dieta hiperlipídica demonstram maior capacidade física quando submetidos ao exercício (HFD-Ex), uma vez que atingem a fadiga em uma intensidade maior. Esta fato pode estar associada à capacidade do músculo esquelético das ratas com dieta hiperlipídica produzir mais energia pelas vias oxidativas (HOSHINO et al., 2013; PICARD; HEPPLER; BURELLE, 2012). Além disso, a presença de lipídeos provenientes da dieta hiperlipídica pode estar relacionada com a redução da requisição da via aeróbica de produção de ATP (HOSHINO et al., 2013). Apesar de bem descrito na literatura que o excesso de adiposidade diminui o metabolismo de diversos tecidos e a capacidade física de indivíduos com sobrepeso (PILLON et al., 2021; SAKAMOTO et al., 1993), a prática de HIIT pode requisitar diversas fontes de energia das vias oxidativas antes de se atingir a fadiga muscular (KOH et al., 2019; LITTLE et al., 2010). Consequentemente, pode-se inferir que o exercício pode ser executado com maior precisão por indivíduos com excesso de adiposidade, uma vez que quando submetidos ao exercício (HFD-Ex) apresentam capacidade física superior, dada a associação das cargas interna e externa dos animais deste experimento à dos indivíduos eutróficos (SD-Ex).

De maneira semelhante a literatura (HANDSCHIN et al., 2007), as respostas na expressão gênica da *Pparg1-a* demonstram ser dependentes do tipo de fibra requisitada pelos grupos experimentais, e podem ser observadas como uma resposta transcricional mediante as adaptações necessárias para a realização do exercício, como vias bioenergéticas. Tendo em vista que a *Pparg-1a* está relacionada com a regulação da expressão gênica de proteínas da via mitocondrial e bioenergética, durante o processamento do RNA, bem como com a estimulação das vias de oxidação de lipídeos e sinalização de cofatores relacionados à produção de ATP e irisina (KANG; JI, 2012), esses resultados demonstram que as respostas para a expressão dos demais genes das vias oxidativas e bioenergéticas deste estudo podem ter sido estimulados, por exemplo, pela sinalização pós-exercício da proteína PGC-1 α .

No tocante à via de produção da irisina este trabalho observou um aumento significativo na expressão gênica da glicoproteína *Fndc5* em ambas as fibras musculares em ratas que praticaram HIIT, embora o mesmo não tenha sido observado nas fibras vermelhas dos animais submetidos a dieta hiperlipídica a ao HIIT. Sabemos que a via de produção da irisina é induzida pelo exercício físico e liberada na corrente sanguínea, sendo regulada por PGC-1 α , durante a prática do exercício (MORENO-NAVARRETE et al., 2013). Além do mais, é associada a regulação da homeostase da glicose e o processo de resistência à insulina induz a diminuição do nível de irisina. Em função do exercício físico, neste trabalho, foi observada esta indução da via, de forma que o grupo controle mostrou uma expressão basal, dados estes que corroboram com a literatura. O exercício foi capaz de modular de maneira aguda a expressão da fibronectina precursora de irisina, evidenciando possíveis impactos na estimulação de vias bioenergéticas para produção de ATP e adaptações musculares. Além disso, o excesso de adiposidade pode impactar na expressão desta via para fibras vermelhas de ratas HFD-Ex, uma vez que não foram observadas diferenças entre os controles (SD e HFD). Em termos do tipo de fibra, a resistência à insulina pode diminuir ou prejudicar a produção desta proteína (YANG et al., 2015), conforme observado nas fibras vermelhas deste estudo. Esses resultados podem impactar na regulação dos genes envolvidos com a produção de energia metabólica por meio da via mitocondrial (TIMMONS et al., 2012).

Os resultados deste trabalho demonstram que as respostas nas vias de produção de ATP ao exercício físico são diferentes e dependentes de cada tipo de fibra recrutada, bem como da dieta utilizada. Os grupos treinados (SD-Ex e HFD-Ex) apresentaram respostas agudas na expressão gênica para o metabolismo mitocondrial (Cs) e o transporte de glicose GLUT4 (Slc2a4) de maneira dependente do tipo de fibra recrutada. De maneira semelhante aos presentes resultados, Alves et al. (2020) verificaram que as fibras musculares de ratos saudáveis submetidos a uma sessão de exercício extenuante sofrem adaptações, produzindo resposta que podem ser dependentes do tipo de fibra requisitada para execução do movimento. Além disso, a sinalização de GLUT4 (gene Slc2a4) e Cs pode estar relacionada com adaptações musculares para o ganho de resistência energética para práticas de exercício (RAMOS-FILHO et al., 2015; REN et al., 1994). Logo, evidencia-se, com estes resultados, maior sinalização para a produção de ATP na via mitocondrial (oxidativa) e requisição de glicose para cada tipo de fibra atuante no exercício para ratas com dietas diferentes no conteúdo de lipídeo. Assim, essas adaptações são percebidas nas fibras brancas de ratas eutróficas e nas fibras vermelhas de ratas com excesso de adiposidade, possivelmente pela biodisponibilidade de lipídeos.

A enzima NOX4 sabidamente na literatura é induzida no músculo após o exercício,

aumentando o estresse oxidativo, provocando reações adaptativas que conferem proteção à resistência a insulina devido à obesidade. Portanto a abundância de NOX4 no músculo esquelético é marcador tanto de efetividade de exercício físico, ou seja, é resultado do músculo treinado e conseqüentemente, adaptações efetivas a favor de diminuição de resistência a insulina. Desta forma a maior expressão de NOX4 em fibras vermelhas dos animais praticantes de HIIT, independente da dieta, é corroborada por resultados obtidos pelo grupo de pesquisa, onde ela é apontada como principal fonte de EROs durante exercícios exaustivos e intensos em tecidos oxidativos de contração lenta, ou seja, fibras vermelhas (ALVES et al., 2020). Desta forma, considerando que o aumento de EROs ocorre pela relação da Nox4 presente na sinalização da biogênese mitocondrial (HE et al., 2019), é possível que, no presente trabalho, a mitocôndria esteja envolvida no processo de resposta redox.

A importância da verificação das enzimas pertencentes às isoformas SOD, vem de encontro a necessidade de identificar a origem gênica das mesmas. Sod1 é predominantemente citossólica enquanto que Sod2 é mitocondrial. O exercício não mostrou indução de resposta na expressão gênica, apenas causando diminuição desta enzima em ratas sedentárias submetidas à dieta hiperlipídica (HFD). A expressão de Sod2 mitocondrial foi mais expressa significativamente nas fibras vermelhas para os grupos que executaram exercício (SD-Ex e HFD-Ex). A atividade total da enzima SOD não foi diferente entre os grupos. Estes resultados são condizentes com a literatura, visto que a condição de inflamação crônica de baixo grau presente em indivíduos com sobrepeso diminui a resposta da enzima SOD citoplasmática (Sod1) em diversos tecidos (ITO et al., 2017). O exercício portanto foi efetivo em promover a expressão da isoforma mitocondrial (Sod2) (THIRUPATHI; PINHO, 2018), de maneira semelhante aos resultados observados nas fibras vermelhas.

Porém, nossos resultados não foram condizentes quanto a atividade total da enzima SOD, como no estudo de Alves et al. (2020). Visto que a enzima SOD está relacionada com o combate ao superóxido, é possível que as respostas pré- e pós-traducionais denotem respostas imediatas ao combate ao ânio superóxido induzido pelo exercício sem resposta aguda acentuada no músculo esquelético. Visto que o complexo enzimático Nox4 foi mais expresso nas fibras vermelhas, assim como a Sod2 em resposta ao exercício independente do tipo de dieta, pode-se inferir que pode haver uma relação do exercício com a biogênese mitocondrial e sua atuação nas fibras vermelhas em ratas submetidas ao HIIT.

Para a expressão gênica das enzimas Cat e Gpx1, as respostas ao HIIT dependentes do tipo de fibra são bem definidas. Para os animais do grupo SD-ex a resposta foi acentuada nas fibras brancas, já para os que foram submetidos do grupo HFD-Ex as respostas foram

acentuadas nas fibras vermelhas para ambas as enzimas. Porém, na porção proteica apenas a atividade da enzima CAT nas fibras vermelhas aumentou com a associação de dieta hiperlipídica e HIIT (HFD-Ex). Estudos anteriores apontam que as enzimas CAT e GPX em diferentes tipos de fibras respondem de acordo com a prática de exercício (agudo e crônico) (ALVES et al., 2020; CRISWELL et al., 1993; LOUREIRO et al., 2016). É importante destacar que, de acordo com o volume e a intensidade do exercício, pode haver aumento na quantidade de peróxidos por diferentes vias em cada tipo de fibra (ALVES et al., 2020; LOUREIRO et al., 2016). Estes resultados ressaltam os achados quanto à produção de EROs no músculo esquelético dependente das vias de requisição de energia metabólica (ATP) (RADAK et al., 2013). Provavelmente, os animais com excesso de adiposidade requisitam mais fibras com características oxidativas, ou seja, fibras vermelhas, além de apresentarem resistência ao lactato, quando submetidos ao HIIT apresentam maior capacidade física em relação aos indivíduos eutróficos. Assim, as respostas agudas nas vias de produção de EROs deste trabalho podem ser provenientes do excesso de peso, da oxidação de lipídeos e maior trabalho realizado pelos animais com excesso de adiposidade praticantes de HIIT (HFD-Ex).

CONCLUSÃO

É possível concluir que a composição corporal distinta pode influenciar na capacidade física dos animais e, assim, pode proporcionar a requisição de diferentes fibras musculares responsáveis por diferentes vias de produção de energia, causando respostas nas adaptações bioenergéticas e nos contextos pró- e antioxidante. Além disso, animais com excesso de adiposidade parecem ser mais resistentes à variação de lactato advindo da produção de ATP por vias anaeróbicas, possivelmente devido a presença de lipídeos em sua dieta. Diante disso, nossos resultados apontam que os efeitos fisiológicos do HIIT no músculo esquelético de ratas *Wistar* submetidas a dieta hiperlipídica possuem possíveis respostas agudas benéficas no contexto antioxidante e bioenergético. Assim, é possível que a aferição das concentrações sanguíneas de irisina, glicose, ou de marcadores bioenergéticos possa responder quanto à adaptação musculo-esquelética em indivíduos com sobrepeso praticantes de exercícios de alta intensidade.

Agradecimento

Ao Governo do Estado do Ceará, à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP, Edital n. 04/2017 de apoio à pós-

graduação, Processo n. 88881.166822/2018-01), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, bolsa do Programa de Demanda Social, código 001), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processo n. 408638/2018-4), ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia do *Campus* de Sobral Universidade Federal do Ceará (UFC), ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará (UECE), e Instituto Superior de Ciências Biomédicas da UECE por todo o suporte físico-financeiro fundamental para realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ABESO. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. 2016. Disponível em: <<https://abeso.org.br/diretrizes/>>. Acesso em: 8 nov. 2019.
- ABREU, E. S. et al. Performance física e hipertrofia ventricular relacionada ao treinamento aeróbico contínuo e intervalado em ratos. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, São Luís, v. 9, n. 53, p. 269-276, maio/jun. 2015.
- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, Amsterdã, v. 105, p. 121-126, 1984.
- AFZALPOUR, M. E. et al. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. **Physiology & Behavior**, Amsterdã, v. 147, p. 78-83, ago. 2015.
- AGUIAR, A. S. et al. The exercise sex gap and the impact of the estrous cycle on exercise performance in mice. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1 – 8, 1 dez. 2018.
- ALMEIDA, A. C. et al. 4- Fluoro-2-methoxyphenol, an apocynin analog with enhanced inhibitory effect on leukocyte oxidant production and phagocytosis. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdã, v. 660, n. 2-3, p. 445-453, abr. 2011.
- ALVES, J. O. et al. Strenuous Acute Exercise Induces Slow and Fast Twitch-Dependent NADPH Oxidase Expression in Rat Skeletal Muscle. **Antioxidants**, Suíça, v. 9, n. 1, p. e57, jan. 2020.
- APEL, K; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, Berkeley, v. 55, n. 1, p. 373-399, jan. 2004.
- ATHERTON, P. J.; PHILLIPS, B. E. Greek goddess or Greek myth: The effects of exercise on irisin/Fndc5 in humans. **Journal of Physiology**, v. 591, n. 21, p. 5267 – 5268, 2013.
- BABIOR, B. M. NADPH oxidase: an update. **Blood**, Nova Iorque, v. 93, n. 5, p. 1464-1476, mar. 1999.

BANNISTER, J. V.; CALABRESE, L. Assays for superoxide dismutase. In: GLICK, D. **Methods of Biochemical Analysis**. Nova Iorque: Wiley Online Library, v. 32, p. 270-312, fev. 1987.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. L. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, jan./fev. 2006.

BARROSO, T. A. et al. Associação entre a obesidade central e a incidência de doenças e fatores de risco cardiovascular. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 5, p. 416-424, set./out. 2017.

BEZERRA, M. R. E. et al. Fatores de Risco Modificáveis para Doenças Crônicas não Transmissíveis em Adolescentes: Revisão Integrativa. **Adolescência e Saúde**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 2, p. 113-120, abr./jun. 2018.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-30, maio/ago. 1999.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Amsterdã, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, maio 1976.

BULLÓ, M. et al. Systemic Inflammation, Adipose Tissue Tumor Necrosis Factor, and Leptin Expression. **Obesity Research**, Haiderabade, v. 11, n. 4, p. 525-531, abr. 2003.

CRISWELL, D. et al. High intensity training-induced changes in skeletal muscle antioxidant enzyme activity. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 25, n. 10, p. 1135 - 1140, 1 out. 1993.

DAMASO, A. **Nutrição e exercício na prevenção de doenças**. 2. ed. São Paulo: Guanabara, 280p., 2012.

DIMITRIADIS, G. et al. Insulin effects in muscle and adipose tissue. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Amsterdã, v. 93, suppl. 1, p. S52-S59, ago. 2011.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Cambridge, v. 82, n. 1, p. 70-77, maio 1959.

ENGSTRÖM, G. et al. Inflammation-Sensitive Plasma Proteins Are Associated With Future Weight Gain. **American Diabetes Association**, Condado de Arlington, v. 52, n. 8, p. 2097-2101, ago. 2003.

ESTADELLA, D. et al. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rat. **Nutrition**, Amsterdã, v. 20, n. 2, p. 218-224, fev. 2004.

evista Panamericana de Salud Publica, Washington, v. 44, n. e32, abr. 2020.

FELBER, J. P.; GOLAY, A. Pathways from obesity to diabetes. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity**, Hampshire, v. 26, n. suppl. 2, p. S39-S45, set. 2002.

FERNANDES, M. R. et al. Animal models of obesity in rodents. An integrative review. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 31, n. 12, p. 840 - 844, 2016.

FERRAZ, A. S. M. et al. Use of murinometrics indices and bioelectrical impedance (BIA) in the determination of experimental obesity in oophorectomized rats. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 38, n. 4, p. 451-456, dez. 2016.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, jan./mar. 1997.

FERREIRA, F.; FERREIRA, R.; DUARTE, J. A. Stress oxidativo e dano oxidativo muscular esquelético: influência do exercício agudo inabitual e do treino físico. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, Porto, v. 7, n. 2, p. 257-275, ago. 2007.

FIGUEIRA, T. R. et al. Efeito do treinamento aeróbio sobre o conteúdo muscular de

triglicérides e glicogênio em ratos. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, Taguatinga, v. 15, n. 2, p. 55-61, abr./jun. 2007.

FLOHÉ, I.; GUNZLER, W. Assays of glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology**, Amsterdã, v. 105, p.114-121, 1984.

FONSECA-JUNIOR, Sidnei Jorge et al. Physical exercise and morbid obesity: a systematic review. ABCD. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 26, p. 67-73, 2013.

FRANCOIS, M. E.; LITTLE, J. P. Effectiveness and safety of *high-intensity interval training* in patients with type 2 diabetes. **Diabetes Spectrum**, Condado de Arlington, v. 28, n. 1, p. 39-44, jan. 2015.

FUJI, S. et al. The NADPH Oxidase Inhibitor Apocynin Suppresses Preneoplastic Liver Foci of Rats. **Toxicologic Pathology**, Newbury Park, v. 45, n. 4, p. 544-550, jun. 2017.

GAMAS, L.; MATAFOME, P.; SEICA, R. Irisin and myonectin regulation in the insulin resistant muscle: Implications to adipose tissue: Muscle crosstalk. **Journal of Diabetes Research**, v. 2015, 2015.

GHOSH, S. et al. Selecting exercise regimens and trains to modify obesity and diabetes in rodents: an overview. **Clinical Science**, Londres, v. 119, n. 2, p. 57-74, abr. 2010.

GOLBIDI, S.; BADRAN, M.; LAHER, I. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Exercise in Diabetic Patients. **Experimental Diabetes Research**, Londres, v. 2012, n. 941868, p.1-16, 2012.

GOODYEAR, L.; KHAN, B. B. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. **Annual Review of Medicine**, Palo Alto, v. 49, p. 235-261, fev. 1998.

GRUNDY, S. M. et al. Metabolic syndrome: connecting and reconciling cardiovascular and diabetes worlds. **Journal of American College of Cardiology**, Washington, v. 47, n. 6, p. 1093-1100, mar. 2006.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**, 4th ed. Oxford: Clarendon Press, 2007.

HANDSCHIN, C. et al. Abnormal glucose homeostasis in skeletal muscle-specific PGC-1 α knockout mice reveals skeletal muscle-pancreatic β cell crosstalk. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 11, p. 3463 – 3474, 1 nov. 2007.

HANDSCHIN, C. et al. Skeletal muscle fiber-type switching, exercise intolerance, and myopathy in PGC-1 α muscle-specific knock-out animals. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 282, n. 41, p. 30014-30021, out. 2007.

HE, C. et al. Nox4 modulates macrophage phenotype and mitochondrial biogenesis in asbestosis. **JCI Insight**, v. 4, n. 16, 22 ago. 2019.

HOLMES, B.; DOHM, G. L. Regulation of GLUT4 gene expression during exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Indianápolis, v. 36, n. 7, p. 1202-1206, jul. 2004.

HOSHINO, D. et al. Fatty Acid Oxidation in Rat Red and White Skeletal Muscle. v. 333, n. July 2012, p. 326 – 333, 2013.

ITO, J. et al. A high-fat diet temporarily renders Sod1-deficient mice resistant to an oxidative insult. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 40, p. 44 – 52, 1 fev. 2017.

JACKSON, M. J. et al. Oxidative stress in skeletal muscle: Unraveling the potential beneficial and deleterious roles of reactive oxygen species. In: WOLFF, A. G. **Oxidative Stress: Eustress and Distress**. Londres: Academic Press, p. 713-733, 2019.

JI, L. L. et al. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, Indianápolis, v. 23, p. 135-166, 1995.

KANG, C.; JI, L. L. Role of PGC-1 α signaling in skeletal muscle health and disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1271, n. 1, p. 110 – 117, 2012.

KOH, J. H. et al. TFAM enhances fat oxidation and attenuates high-fat diet-induced insulin resistance in skeletal muscle. **Diabetes**, v. 68, n. 8, p. 1552 – 1564, 2019.

KREGEL, K. C. et al. **Resource book for the design of animal exercise protocols**. Rockville: American Physiological Society Bethesda, p. 1-80, fev. 2006.

LEE, M. O. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, Rockville, v. 89, n. 1, p. 24-33, jun. 1929.

LIMA, T. I. et al. Effect of exercise training on liver antioxidant enzymes in STZ-diabetic rats. **Life Sciences (1973)**, Amsterdã, v. 128, p. 64-71, mar. 2015.

LIMA, T. I. Influência do exercício físico na resposta transcricional do músculo esquelético em ratos diabéticos induzidos por STZ. 2013. Dissertação (Mestrado em Fisiologia) – Instituto Superior de Ciências Biomédicas, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2013.

LITTLE, J. P. et al. A practical model of low-volume *high-intensity interval training* induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: Potential mechanisms. **Journal of Physiology**, v. 588, n. 6, p. 1011 – 1022, 2010.

LOUREIRO, A. C. C. et al. Differential Expression of NADPH Oxidases Depends on Skeletal Muscle Fiber Type in Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity (Print)**, Londres, v. 2016, n. 6738701, p. 1-10, out. 2016.

LUGINBUHL, A. J.; DUDLEY, G. A.; STARON, R. S. Fiber type changes in rat skeletal muscle after intense interval training. **Histochemistry**, v. 81, n. 1, p. 55 – 58, 1984.

LULL, M. E. et al. Chronic Apocynin Treatment Attenuates Beta Amyloid Plaque Size and Microglial Number in hAPP(751)SL Mice. **PLOS ONE**, São Francisco, v. 6, n. 5, p. e20153, maio 2011.

MACHADO, A. A. N. et al. Identificação de Isoformas miosínicas estruturais de músculo

gastrocnêmio de ratos treinados e sedentários em gel bidimensional. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, Taguatinga, v. 18, n. 2, p. 26-34, out. 2010.

MALTA, D. C. et al. Noncommunicable diseases and the use of health services: analysis of the National Health Survey in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 51, suppl. 1, p. 1S-10S, jun. 2017.

MARKLUND, P. et al. Extensive inflammatory cell infiltration in human skeletal muscle in response to an ultraendurance exercise bout in experienced athletes. **Journal of Applied Physiology**, Rockville, v. 114, n. 1, p. 66-72, jan. 2013.

MARQUES-LOPES, I. et al. Aspectos genéticos da obesidade. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 327-338, jul./set. 2004.

MENIKDIWELA, K. R. et al. Angiotensin II Increases Endoplasmic Reticulum Stress in Adipose Tissue and Adipocytes. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1 - 14, 2019.

MENIKDIWELA, K. R. et al. Angiotensin II Increases endoplasmic Reticulum stress in Adipose tissue and Adipocytes. **Scientific Reports**, Londres, v. 9, n. 1, p. 1-14, jun. 2019.

MORAIS, R. C. M. et al. Experimental training by swimming or running: influence of body composition in aerobic performance in a ovariectomised model of obesity. **Comparative Exercise Physiology**, Wageningen, v. 12, n. 3, p. 151-156, set. 2016.

MOREIRA, R. M.; TEIXEIRA, R. M.; NOVAES, K. O. Contribuições da atividade física na promoção da saúde, autonomia e independência de idosos. **Revista Kairós: Gerontologia**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 201-217, mar. 2014.

MORENO-NAVARRETE, J. M. et al. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 98, n. 4, p. 769 - 778, 2013.

MORRIS, M. J. et al. Why is obesity such a problem in the 21st century? The intersection of

palatable food, cues and reward pathways, stress, and cognition. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 58, p. 36 – 45, 2015.

NILE, S. H.; NILE, A. S.; KEUM, Y.-S. Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with different extraction methods. **3 Biotech**, Nova Iorque, v. 7, n. 1, p. e76, abr. 2017.

NILSON, E. A. F. et al. Custos atribuíveis a obesidade, hipertensão e diabetes no Sistema Único de Saúde, Brasil, 2018. ROAKES, K. D.; VAN DER KRAAK, G. J. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. **Aquatic Toxicology**, Amsterdã, v. 63, n. 4, p. 447-463, maio 2003.

OKITA, K. et al. Skeletal muscle metabolism limits exercise capacity in patients with chronic heart failure. **Circulation**, Dallas, v. 98, n. 18, p. 1886-1891, nov. 1998.

OLIVEIRA-CAMPOS, M. et al. Impacto dos fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis na qualidade de vida. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3, p. 873-882, mar. 2013.

OSORIO, L. R. et al. Reactive oxygen species in pregnant rats: effects of exercise and thermal stress. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, Amsterdã, v. 135, n. 1, p. 89-95, maio 2003.

PACCOLA, C.C.; RESENDE, C.G.; STUMPP, T.; MIRAGLIA, S.M.; CIPRIANO, I. The rat estrous cycle revisited: a quantitative and qualitative analysis. *Anim. Reprod.*, v.10, n.4, p.677-683, Oct./Dec. 2013.

PACHECO, C. et al. A compendium of physical exercise-related human genes: an omic scale analysis. **Biology of Sport**, Varsóvia, v. 35, n. 1, p. 3-11, mar. 2018.

PARK, S.-Y.; KWAK, Y.-S. Impact of aerobic and anaerobic exercise training on oxidative stress and antioxidant defense in athletes. **Journal of Exercise Rehabilitation**, Sejong, v. 12, n. 2, p. 113-117, abr. 2016.

PEKKALA, S. et al. Are skeletal muscle Fndc5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? **Journal of Physiology**, v. 591, n. 21, p. 5393 – 5400, 2013.

PEREIRA, L. O. et al. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 47, n. 2, p. 111-127, abr. 2003.

PETTE, D.; STARON, R. S. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 115, n. 5, p. 359 – 372, 2001.

PHILIPPENS, I. H. C. H. M. et al. Oral Treatment with the NADPH Oxidase Antagonist Apocynin Mitigates Clinical and Pathological Features of Parkinsonism in the MPTP marmoset Model. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, Nova Iorque, v. 8, n. 3, p. 715-726, jun. 2013.

PICARD, M.; HEPPLER, R. T.; BURELLE, Y. Mitochondrial functional specialization in glycolytic and oxidative muscle fibers: tailoring the organelle for optimal function. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 302, p. 629 – 641, 2012.

PILLON, N. J. et al. Metabolic consequences of obesity and type 2 diabetes: balancing genes and environment for personalized care. **Cell**, 27 fev. 2021.

POWERS, S. K.; JACKSON, M. J. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. **Physiological Reviews**, Rockville, v. 88, n. 4, p. 1243-1276, out. 2008.

POWERS, S. K.; RADA, Z.; JI, L. L. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. **The Journal of Physiology**, Nova Iorque, v. 594, n. 18, p. 5081-5092, set. 2016.

RADA, Z. et al. **Oxygen consumption and usage during physical exercise: The balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling** **Antioxidants and Redox Signaling** Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA, 1 abr. 2013. Dispon í vel em:

<<https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2011.4498>>. Acesso em: 15 mar. 2021

RADAK, Z. et al. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. **Neurochemistry International**, Amsterdã, v. 49, n. 4, p. 387-392, set. 2006.

RAMOS-FILHO, D. et al. High Intensity Interval Training (HIIT) Induces Specific Changes in Respiration and Electron Leakage in the Mitochondria of Different Rat Skeletal Muscles. **PLOS ONE**, v. 10, n. 6, p. e0131766, 29 jun. 2015.

REGO-MONTEIRO, I. C. C. R. et al. Physical Training Based on the Maximum Volume Capacity Test: An Ultra-Endurance Rat Model. **Journal of Exercise Physiology Online**, Washington, v. 14, n. 6, p. 40-46, nov. 2011.

REILLY, S. M.; SALTIEL, A. R. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. **Nature Reviews Endocrinology**, Londres, v. 13, n. 11, p. 633-643, nov. 2017.

REN, J. M. et al. Exercise induces rapid increases in GLUT4 expression, glucose transport capacity, and insulin-stimulated glycogen storage in muscle. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 20, p. 14396 - 14401, 20 maio 1994.

REUTRAKUL, S.; VAN CAUTER, E. Sleep influences on obesity, insulin resistance, and risk of type 2 diabetes. **Metabolism**, Amsterdã, v. 84, p. 56-66, mar. 2018.

RHODEN, E. L. et al. Efeitos do alopurinol sobre a lipoperoxidação de membranas celulares renais na síndrome da isquemia e reperfusão: estudo experimental em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, São Paulo, v. 13, n. 2, abr./jun. 1998.

RIBEIRO, S. M. R. et al. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 21, n. 3, p. 133-149, set./dez. 2006.

ROCCA, S. V. S. et al. Efeito do exercício físico nos fatores de risco de doenças crônicas em mulheres obesas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 185-192, abr./jun. 2008.

RODRIGUES, M. D.; BORIN, S. H.; SILVA, C. A. Relações metabólicas em ratos sob o treinamento anaeróbio em escada. **Revista Brasileira de Ciências do Esporte**, Brasília, v. 39, n. 1, p. 63-67, jan./mar. 2017.

ROVER JÚNIOR, L. et al. Antioxidant system involving the glutathione metabolic cycle associated to electroanalytical methods in the oxidative stress evaluation. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 112-119, jan./fev. 2001.

SABIÁ, R. V.; SANTOS, J. E.; RIBEIRO, R. P. P. Efeito da atividade física associada à orientação alimentar em adolescentes obesos: comparação entre o exercício aeróbio e anaeróbio. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 10, n. 5, p. 349-355, set./out. 2004.

SAGOR, M. A. T. et al. Xanthine Oxidase Inhibitor, Allopurinol, Prevented Oxidative Stress, Fibrosis, and Myocardial Damage in Isoproterenol Induced Aged Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, Londres, v. 2015, n. 478039, p. 1-9, jun. 2015.

SAKAMOTO, S. et al. The effect of obesity on ventilatory response and anaerobic threshold during exercise. **Journal of Medical Systems**, v. 17, n. 3 - 4, p. 227 - 231, ago. 1993.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 308-313, ago. 2004.

SINHA-HIKIM, I. et al. Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is associated with muscle fiber hypertrophy. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 283, n. 1 46-1, p. 154 - 164, 2002.

SMITH, S. R. The endocrinology of obesity. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 25, n. 4, p. 921 - 942, 1 dez. 1996.

SOARES, E. R. et al. Compostos bioativos em alimentos, estresse oxidativo e inflamação: uma visão molecular da nutrição. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, Niterói, v. 14, n. 3, p. 64-72, jul./set. 2015.

TANAKA, L. Y. et al. Exercise improves endothelial function: a local analysis of production of nitric oxide and reactive oxygen species. **Nitric Oxide**, Amsterdã, v. 45, p. 7-14, fev. 2015.

TAYEBI, S. M. et al. The effects of *high-intensity interval training* on skeletal muscle

morphological changes and denervation gene expression of aged rats. **Montenegrin Journal of Sports Science and Medicine**, v. 8, n. 2, p. 39 – 45, 2019.

TERADA, S. et al. Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 90, n. 6, p. 2019 – 2024, 2001.

THART, B. A.; COPRAY, S.; PHILIPPENS, I. Apocynin, a Low Molecular Oral Treatment for Neurodegenerative Disease. **BioMed Research International**, Londres, v. 2014, n. 298020, p. 1-6, jul. 2014.

THIRUPATHI, A.; PINHO, R. A. Effects of reactive oxygen species and interplay of antioxidants during physical exercise in skeletal muscles. **Journal of Physiology and Biochemistry Springer** Netherlands, 1 ago. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13105-018-0633-1>>. Acesso em: 15 mar. 2021.

TIMMONS, J. A. et al. Is irisin a human exercise gene? **Nature**, v. 488, n. 7413, p. 8 – 10, 2012.

URBÁN-REYES, B. R.; COGHLAN-LÓPEZ, J. J.; CASTAÑEDA-SÁNCHEZ, O. Estilo de vida y control glucémico en pacientes con diabetes mellitus en el primer nivel de atención. **Atención Familiar**, Amsterdã, v. 22, n. 3, p. 68-71, jul. 2015.

URSO, M. L.; CLARKSON, P. M. Oxidative Stress, Exercise, and Antioxidant Supplementation. **Toxicology**, Amsterdã, v. 189, n. 1-2, p. 41-54, jul. 2003.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and markers of oxidative damage in human blood: main analytical methods for their determination. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, set./out. 2007.

VASCONCELOS-FILHO, F. S. L. et al. Efeito do treinamento intervalado de alta intensidade no desempenho em teste de esforço. **Ciencia Animal (UECE)**, Fortaleza, v. 25, n.3, p. 27-29, 2015.

WANG, W. et al. Quercetin and allopurinol reduce liver thioredoxin-interacting protein to

alleviate inflammation and lipid accumulation in diabetic rats. **British Journal of Pharmacology**, Noida, v. 169, n. 6, p. 1352-1371, jul. 2013.

WIDEL, M. et al. Induction of bystander effects by UVA, UVB, and UVC radiation in human fibroblasts and the implication of reactive oxygen species. **Free Radical Biology and Medicine**, Amsterdã, v. 68, p. 278-287, mar. 2014.

WOOD, I. S. et al. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity: Symposium on 'Frontiers in adipose tissue biology'. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 68, n. 4, p. 370-377, ago. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases. **Report of a WHO Study Group**, Geneva, v. 916, n. i-iv, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity**. 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/health-topics/obesity>>. Acesso em: 8 jan. 2020.

YANG, Z. et al. Decreased irisin secretion contributes to muscle insulin resistance in high-fat diet mice. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 8, n. 6, p. 6490 - 6497, 2015.

YUDKIN, J. S. et al. C-Reactive Protein in Healthy Subjects: Associations with Obesity, Insulin Resistance, and Endothelial Dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, Dallas, v. 19, n. 1, p. 972-978, abr. 1999.

YUDKIN, J. S. Inflammation, obesity, and the metabolic syndrome. **Hormone and Metabolic Research**, Noida, v. 39, n. 10, p. 707-709, out. 2007.

ANEXO A – INSTRUÇÕES PARA DEFESA DE DISSERTAÇÃO (PPGB)

Art. 42º. A avaliação do exame de qualificação verificará os seguintes critérios:

- I - Apresentação do tema, revisão ampla, atualizada e crítica da literatura e delimitação do problema; II - Argumentação quanto à justificativa denotando a relevância teórica e prática da proposta;
- III - Redação clara e precisa dos objetivos e sua coerência com o problema da pesquisa;
- IV - Coerência metodológica relativamente aos objetivos de pesquisa, e uso apropriado dos materiais e métodos, na organização e na análise de dados;
- V - Uso da linguagem consoante a norma culta da língua e o estilo de redação científica;
- VI - Habilidade de síntese, coerência e coesão lógica do texto (ligação entre capítulos/seções/frases/parágrafos);
- VII - Viabilidade do cronograma do projeto tendo em vista o prazo de conclusão do curso de mestrado (24 meses).

Art. 55º. A Comissão Examinadora que julgará a dissertação será constituída de especialistas credenciados com título de doutor ou equivalente, aprovada pelo Colegiado do Programa e designada pelo Coordenador, sendo composta de no mínimo 3 (três) membros, sendo um externo ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

Parágrafo único - Poderão participar da Comissão Examinadora professores ativos e aposentados do Programa ou de outros Programas de Pós-Graduação afins, além de profissionais com titulação pertinente.

Art. 56º. O trabalho de dissertação deve seguir as normas da ABNT e as Normas Técnicas para Trabalhos Científicos da UFC, apresentando: introdução, objetivos, referencial teórico, metodologia, resultados e conclusão.

§ 1º. O trabalho de dissertação também poderá constar de um artigo em inglês, precedido de introdução, objetivos e referencial teórico em português e de acordo com as normas da ABNT e as Normas Técnicas para Trabalhos Científicos da UFC.

§ 2º. A apresentação oral da defesa de dissertação deverá ser realizada no idioma português e o aluno terá 45 minutos para apresentar seu trabalho em seção pública.

§ 3º. A avaliação da defesa de dissertação verificará os mesmos critérios constantes no **Art. 42º**,

com exceção do item VII.

Art. 57º. A Comissão Examinadora indicará a aprovação ou não da dissertação baseando-se na avaliação do trabalho entregue e na sua apresentação pública, atribuindo ao candidato uma das seguintes menções: aprovado ou reprovado.

§ 1º. Foi considerado aprovado ou reprovado o aluno que receber esta menção pela maioria dos membros da comissão julgadora;

§ 2º. O aluno que recebeu a menção reprovado é cancelado de imediato do programa;

§ 3º. No caso de modificação sugerida na dissertação ou na tese, a ocorrência é registrada na ata de defesa e o aluno deve efetuar a modificação dentro do prazo máximo de 90 (noventa) dias para reapresentação do referido trabalho, através de parecer fundamentado.

§ 4º. Após a aprovação final o aluno entregará à Secretaria do Programa um exemplar da dissertação em meio digital (CD ROM), no formato word e pdf, que deverá estar de acordo com as normas vigentes para apresentação de dissertações.

**ANEXO B – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
(CEUA, UECE)**



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO CEARÁ

Comissão de Ética para o Uso de Animais
Av. Silas Munguba, 1700 - Itaperi
CEP 60740-903 - fone 3101-9890
ceua.uece@uece.br - www.uece.br/ceua



GOVERNO DO
ESTADO DO CEARÁ
Secretaria de Ciência, Tecnologia
e Educação Superior

CERTIFICADO

Certificamos que o **Projeto de Pesquisa** intitulado “**Efeito do exercício aeróbio sobre o desenvolvimento ovariano de ratas wistar, com obesidade induzida por dieta hiperlipídica**” registrado sob o **4157757/2018**, tendo como pesquisador principal **Valdevane Rocha Araújo**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (CEUA – UECE)**. Este certificado expira-se em 31 de dezembro 2020.

CERTIFICATE

We hereby certify that the Project entitled “**Efeito do exercício aeróbio sobre o desenvolvimento ovariano de ratas wistar, com obesidade induzida por dieta hiperlipídica**” registered with the protocol **4157757/2018** under the supervision of **Valdevane Rocha Araújo** is in agreement with Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation of Ceará State University (CEUA – UECE). This certificate will expire on December 31th, 2020.

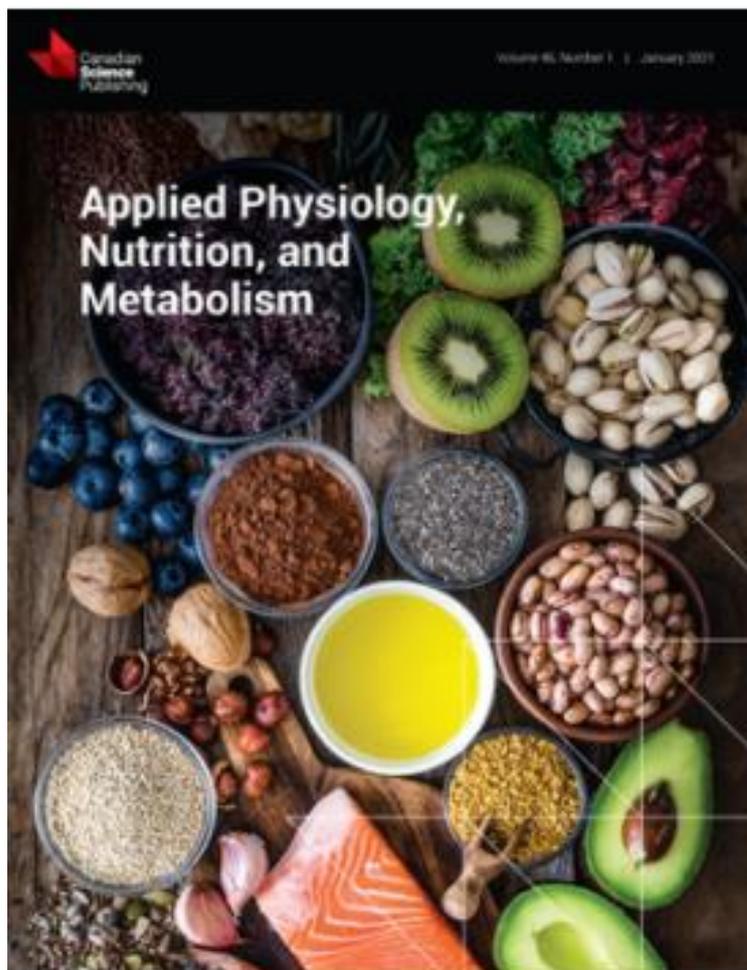
RESUMO

Vigência do projeto	agosto/2018 a julho/2020
Espécie/linhagem	<i>Rattus norvegicus/ Wistar</i>
Número de animais	40
Peso/idade	21 dias
Sexo	Fêmeas
Origem	Biotério do Instituto Superior de Ciências Biomédicas - UECE

Fortaleza, 26 de agosto de 2018.

Erivalda Farias de Aragão

Maria Erivalda Farias de Aragão
Presidente CEUA-UECE

ANEXO C – DIRETRIZES PARA AUTORES – PERIÓDICO QUALIS CAPES A3**APPLIED PHYSIOLOGY, NUTRITION AND METABOLISM**

Periódico indexado (1725-5320), tiragem mensal, com DOI/Crossref

Qualis CAPES Biotecnologia antigo – oficial (2013-2016): B1

Qualis CAPES Unificado novo – previsão (2017-2020): A3

Sem taxas (modelo não aberto e não colorido)

Site: <https://cdnsiencepub.com/toc/apnm/current>

Author guidelines: <https://cdnsiencepub.com/journal/apnm/authors#guidelines>