

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Escola Superior de Educação Física
Programa de Pós-Graduação em Educação Física



Dissertação de Mestrado

**Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no tecido
adiposo e variáveis associadas em ratos**

Gabriel de Moraes Siqueira

Pelotas, 2022

Gabriel de Moraes Siqueira

**Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no
tecido adiposo e variáveis associadas em ratos**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Escola Superior de Educação Física da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Orientador: Rafael Bueno Orcy

Co-orientador: Fabricio Boscolo Del Vecchio

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S111i Siqueira, Gabriel de Moraes

Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no tecido adiposo e variáveis associadas em ratos / Gabriel de Moraes Siqueira ; Rafael Bueno Orcy, orientador ; Fabricio Boscolo Del Vecchio, coorientador. — Pelotas, 2022.

79 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Educação Física, Escola Superior de Educação Física, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Tecido adiposo. 2. Exercício físico. 3. Treinamento intervalado de alta intensidade. I. Orcy, Rafael Bueno, orient. II. Vecchio, Fabricio Boscolo Del, coorient. III. Título.

CDD : 796

GABRIEL DE MORAES SIQUEIRA

**Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no
tecido adiposo e variáveis associadas em ratos**

**Dissertação de mestrado, como requisito parcial, para obtenção do grau de
Mestre em Educação Física, Programa de Pós-Graduação em Educação Física,
Escola Superior de Educação Física, Universidade Federal de Pelotas.**

Data da Defesa: 14 de julho de 2022.

Banca examinadora:

.....

Prof. Dr. Rafael Bueno Orcy (Orientador).

**Doutor em Ciências Biológicas (Fisiologia) pela Universidade Federal do Rio
Grande do Sul**

.....

Prof. Dr. Victor Silveira Coswig

Doutor em Educação Física pela Universidade Federal de Pelotas.

.....

Prof. Dr. Gustavo Dias Ferreira

**Doutor em Ciências Biológicas (Fisiologia) pela Universidade Federal do Rio
Grande do Sul**

Resumo

SIQUEIRA, Gabriel de Moraes. **Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no tecido adiposo e variáveis associadas em ratos.** Orientador: Rafael Bueno Orcy. Co-orientador: Fabricio Boscolo Del Vecchio. 2022. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Escola Superior de Educação Física, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

A Síndrome geral da adaptação e o modelo de supercompensação são pressupostos frequentemente aplicados na ciência do exercício. Ao se considerar que a gordura é tecido essencial e fonte energética primária para exercícios contínuos de intensidade moderada (MICE), este tipo de esforço poderia promover compensação após período de destreino. O objetivo do estudo foi investigar os efeitos de diferentes modelos de exercício com subsequente destreino na celularidade do tecido adiposo de ratos adultos. Esse é um estudo experimental no qual ratos foram alocados em três grupos: i) Exercício contínuo de intensidade moderada (MICE); ii) Exercício intermitente de alta intensidade (HIIT); e iii) Grupo controle (GC). Dados foram coletados em três momentos, a saber: valores de base (T1), após isso os animais se exercitaram em esteira durante oito semanas (T2) e, então, foram acompanhados por quatro semanas após interrupção do exercício físico (T3). Para análise estatística, foi realizada análise de variância de dois caminhos (ANOVA), com pós-hoc de Tukey para grupo (GC, MICE ou HIIT) e de Bonferroni para momento (T1, T2 e T3). Para massa periepididimal, GC apresentou aumento de 45% no pós destreino comparado ao pós treino. Os grupos HIIT e MICE apresentaram valores inferiores no pós destreino quando comparados ao GC. Na comparação entre grupos relativa ao delta de variação entre pós treino e pós destreino, houve diferença na massa periepididimal ($p=0,012$), com HIIT apresentando valores inferiores ao GC ($p=0,009$). A análise grupo a grupo da área do adipócito periepididimal revelou diferenças entre momentos ($p=0,001$), com o pós treino sendo inferior a pós destreino no HIIT ($p=0,014$) e no GC ($p=0,012$). Em conclusão, nossos achados demonstraram efeitos positivos de ambas intervenções (HIIT e MICE) no controle da massa do tecido adiposo periepididimal de ratos adultos após 4 semanas de interrupção de exercício, com menor ganho de massa no grupo HIIT. A determinação da área do adipócito apresentou valores maiores no pós destreino comparados ao pós treino nos grupos HIIT e GC, o que poderia ser considerado como hipertrofia das células do tecido adiposo periepididimal.

Palavras-chave: Tecido Adiposo; Exercício físico; Treinamento Intervalado de Alta Intensidade

Abstract

SIQUEIRA, Gabriel de Moraes. **Impact of different models of training and subsequent detraining in adipose tissue and associated variables in rats.** Advisor: Rafael Bueno Orcy. Co-supervisor: Fabricio Boscolo Del Vecchio. 2022. Dissertation (Master's in Physical Education) - School of Physical Education, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

The General Adaptation Syndrome and the supercompensation model are assumptions often applied in exercise science. Considering that fat is essential to tissue, and a primary energy source for continuous moderate-intensity exercise (MICE), this type of effort could promote compensation after a period of detraining. The study aimed to investigate the effects of different exercise models with subsequent detraining on adipose tissue cellularity in adult rats. This is an experimental study in which rats were allocated into three groups: i) Moderate-intensity continuous exercise (MICE); ii) High-Intensity Intermittent Exercise (HIIT); iii) Control group (CG). Data were collected at three moments, namely: baseline values (T1), after which the animals exercised on a treadmill for eight weeks (T2) and then were followed up for four weeks after the interruption of physical exercise (T3). For statistical analysis, two-way analysis of variance (ANOVA) was performed, with Tukey post-hoc for group (GC, MICE, or HIIT) and Bonferroni for moment (T1, T2, and T3). For periepididymal mass, GC showed an increase of 45% post-detraining compared to post-training. The HIIT and MICE groups showed lower values after detraining when compared to the GC. In the comparison between groups regarding the delta of variation between post-training and post-detraining, there was a difference in the periepididymal mass ($p=0.012$), with HIIT showing lower values than the GC ($p=0.009$). Group-by-group analysis of the periepididymal adipocyte area revealed differences between moments ($p=0.001$), with post-training being lower than post-detraining in HIIT ($p=0.014$) and GC ($p=0.012$). In conclusion, our findings demonstrated positive effects of both interventions (HIIT and MICE) on the control of periepididymal adipose tissue mass in adult rats after 4 weeks of exercise interruption, with less mass gain in the HIIT group. The determination of the adipocyte area showed higher values in the post-detraining compared to the post-training in the HIIT and GC groups, which could be considered hypertrophy of the periepididymal adipose tissue cells.

Keywords: Adipose Tissue; Exercise; High-Intensity Interval Training

Sumário

Apresentação	7
<i>Projeto de Pesquisa</i>	8
1 Introdução.....	12
2 Hipóteses.....	15
3 Objetivos.....	15
3.1 Objetivos gerais.....	15
3.2 Objetivos específicos	15
4 Revisão de literatura	16
4.1 Paradoxo dos lipídeos intramusculares.....	17
4.2 Compensação de tecidos.....	17
4.2. Compensação do tecido adiposo após lipoaspiração	19
4.3. Exercícios intermitentes em alta intensidade como alternativa	21
5. Materiais e métodos	23
5.1 Tipo de estudo e caracterização das variáveis.....	23
5.2 Casuística e condições ambientais de sobrevivência	23
5.3 Delineamento experimental (Figura 2)	24
5.4 Protocolo de avaliação	24
5.5 Protocolo de intervenção e programas de treinamento.....	25
5.5.1 Teste de capacidade máxima de corrida (CMC)	25
5.5.2 Grupo de exercícios contínuos (MICE).....	26
5.5.3 Grupo de exercícios intermitentes (HIIT).....	26
5.6 Procedimentos	26
5.6.1 Morfometria	26
5.6.2 Determinação do tamanho do adipócito e preparações histológicas	27
5.6.3 Consumo alimentar	27
5.7 Análise estatística	27
5.8 Aspectos éticos do estudo com experimentação animal	28
6 Orçamento.....	28
7 Cronograma	29
8 Referências	30
<i>Relatório do trabalho de campo</i>	37
<i>Artigo 1</i>	41
<i>Anexos</i>	66

Apresentação

A presente dissertação de mestrado atende ao regimento do Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Escola Superior de Educação Física da Universidade Federal de Pelotas e é composta por três partes que serão apresentadas a seguir:

Projeto de pesquisa

O projeto de pesquisa foi qualificado no dia 19 de novembro de 2021 e é intitulado “Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no tecido adiposo e variáveis associadas em ratos”. A seguir será apresentada a versão com as adequações sugeridas pela banca de qualificação.

Relatório de coleta de dados

No relatório estão detalhados os procedimentos de coleta de dados, análise de dados, experiências e principais dificuldades encontradas.

Artigo

O artigo intitulado “Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no tecido adiposo e variáveis associadas” está adequado às normas e será submetido à revista “Experimental Physiology”. Os dados referentes às normas para submissão da revista estão disponíveis no anexo 1 ou no site <https://ep.msubmit.net/cgi-bin/main.plex?form_type=display_requirements>.

Projeto de Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Escola Superior de Educação Física

Programa de Pós-Graduação em Educação Física



Projeto de Dissertação de Mestrado

**Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no
tecido adiposo e variáveis associadas em ratos**

Gabriel de Moraes Siqueira

Pelotas, 2022

Gabriel de Moraes Siqueira

**Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no
tecido adiposo e variáveis associadas em ratos**

Projeto de Dissertação de Mestrado
apresentado ao Programa de Pós-Graduação
em Educação Física da Escola Superior de
Educação Física da Universidade Federal de
Pelotas, como requisito parcial à obtenção do
título de Mestre em Educação Física.

Orientador: Rafael Bueno Orcy

Co-orientador: Fabricio Boscolo Del Vecchio

Pelotas, 2022

GABRIEL DE MORAES SIQUEIRA

Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no tecido adiposo e variáveis associadas em ratos

Qualificação do projeto de dissertação, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Educação Física, Programa de Pós-Graduação em Educação Física, Escola Superior de Educação Física, Universidade Federal de Pelotas.

Data da qualificação: 19 de novembro de 2021.

Banca examinadora:

.....
Prof. Dr. Rafael Bueno Orcy (Orientador).

Doutor em em Ciências Biológicas (Fisiologia) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

.....
Prof. Dr. Victor Silveira Coswig

Doutor em Educação Física pela Universidade Federal de Pelotas.

.....
Prof. Dr. Gustavo Dias Ferreira

Doutor em Ciências Biológicas (Fisiologia) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

1 Introdução

Reconhece-se que diferentes estímulos estressores desenvolvem diversas respostas biológicas positivas e negativas (SANCHIS-GOMAR et al., 2012). Um dos modelos que se propõe a explicar esse mecanismo fisiológico é o da Síndrome Geral da Adaptação (SGA), definido como a soma de todas as reações sistêmicas não-específicas realizadas pelo organismo que sofreu determinado estresse (SELYE, 1936). Esse modelo da (SGA) pode ser observado em 3 estágios (alarme, resistência e exaustão), o primeiro estágio é caracterizado pela expressão de um alarme geral do organismo quando é confrontado com alguma situação crítica, a segunda fase indica uma resistência ou compensação do sistema nervoso parassimpático com intenção de promover retorno do sistema nervoso aos níveis normais, e por último a terceira fase, caracterizada por uma perda da capacidade de resistência, que caso não seja resolvida pode levar a problemas de saúde, essa fase parece representar um esforço generalizado do organismo para se adaptar a novas condições (SELYE, 1936). Essas respostas desempenham um papel importante na adaptabilidade orgânica. (BATTISTUZZI, 2011).

Entre os possíveis agentes estressores existentes, encontra-se o exercício físico, e se reconhece que suas variadas composições geram estresses diversos, que podem deflagar ajustes orgânicos múltiplos, participantes do processo conhecido como supercompensação (YAKOVLEV, 1975). Como resultado, após ser exposto a estímulos estressores, o organismo tende a sofrer danos orgânicos, mas se as condições adequadas forem fornecidas, a supercompensação pode ocorrer, resultando em um maior nível de resiliência orgânica. (VIRU, 2002).

As respostas supercompensatórias frente a agentes estressores de tecidos específicos podem ser observadas nas mais distintas situações. Em relação ao tecido ósseo, a realização de exercícios físicos pode proporcionar aumento do estresse mecânico, o que favorece o aumento a densidade mineral e a resistência óssea (GUNTER et al., 2008). Quando o tecido muscular esquelético é submetido a estímulos constantes, como o treinamento de força progressivo, registra-se alargamento da área transversal de miofibrilas, aumento da quantidade de proteínas contráteis e incremento do volume muscular (FLANN et al., 2011). No entanto, há debates sobre se ocorre ou não supercompensação no tecido muscular humano causada pelo treinamento resistido (BUCKNER et al., 2018). Adicionalmente,

diferentes substratos energéticos também apresentam respostas supercompensatórias: i) o glicogênio, armazenado no tecido muscular esquelético e fígado, é depletado durante esforços físicos e, após nutrição e descanso adequados, observa-se que seus estoques são refeitos e aumentados pelo efeito de supercompensação (ACHESON et al., 1988) e ii) fosfocreatina e ATP muscular, quando depletados em situações de exercícios de alta intensidade, após recuperação adequada, também exibem efeito supercompensatório (HARGREAVES et al., 1998).

Neste contexto, estudos experimentais indicam que o exercício contínuo, com predomínio da via energética aeróbia, intensidade baixa a moderada e longa duração (MICE), mobiliza o tecido adiposo de modo elevado (MARTIN, 1996). Este estímulo estressa depósitos de gordura de modo agudo durante o esforço, fazendo com que estes passem à circulação, o que poderia ocasionar redução da adiposidade e mudanças favoráveis no perfil lipídico (SENE-FIORESE et al., 2008). No entanto, assim como outros elementos biológicos, o tecido adiposo tende a aumentar após ser estressado (BENATTI et al., 2012), inclusive depois da realização de exercícios aeróbios com intensidades leves e moderadas, predominantemente oxidativos (LAMBERT et al., 1994).

Os efeitos da interrupção do treinamento sobre o metabolismo e celularidade dos adipócitos no tecido adiposo periepididimal de ratos Wistar foram verificados por Sertie et al (SERTIE et al., 2013). Foram criados três grupos de animais: A intervenção durou 12 semanas e foi dividida em três grupos: 1) treinados durante toda o período, 2) sedentários e 3) treinados nas primeiras 8 semanas e não treinados nas últimas 4 semanas. O treinamento consistiu em sessões de corrida em esteira (1h/dia, 5 dias/semana, 50 – 60% VO₂máx). Os animais do grupo que treinou durante todo o período, apresentaram menor ganho de peso em gramas ($326,5 \pm 7,14$) ao final de 12 semanas quando comparados com o grupo sedentário ($379,6 \pm 10,09$) e com o grupo que destreinou ($384 \pm 13,08$). A análise do tamanho dos adipócitos do tecido branco periepididimal revelou diferenças significativas entre os grupos. A área de secção transversal dos adipócitos (em μm^2) foi significativamente maior no grupo sedentário em comparação aos grupos 1 e 3. ($3.474 \pm 68,8$; $1.945,7 \pm 45,6$; $2.492,4 \pm 49,08$, respectivamente, $P < 0,05$). Havendo indícios também de aumento na expressão do gene PPAR γ que é indicador favorável a adipogênese (SERTIE et al., 2013).

Recentemente, avanços foram feitos sobre respostas no tecido adiposo durante

o processo de destreinamento e os mecanismos vêm sendo explorados em modelo animal. Primeiramente, parece que a prática crônica de exercícios de endurance pode provocar redução na lipólise, tanto em adipócitos viscerais quanto subcutâneos (PISTOR et al., 2015). A resposta à cessação da utilização diária da roda de corrida foi investigada em ratos após 5h e 173h do bloqueio das rodas e, em resumo, os resultados mostraram um rápido aumento no tecido adiposo após redução aguda na atividade física e uma deficiência na oxidação de gordura por redução na demanda de energia e a expressão da PGC-1 α (LAYE et al., 2009).

O efeito compensatório sobre o tecido adiposo após a cessação do exercício não é recente. Dohm et al. (DOHM et al., 1977) evidenciaram aumento do acúmulo de gordura e maior taxa lipogênica depois de apenas 2 semanas de interrupção do exercício. Alterações metabólicas semelhantes foram encontradas, após duas semanas de destreinamento, em ratos que executaram 50 min/dia, 6 dias/semana a 20 m/min durante seis semanas, independentemente de eles fazerem parte do grupo com alimentação controlada ou com dieta rica em gordura (APPLEGATE; UPTON; STERN, 1984). Além disso, foi demonstrado que a cessação da atividade física de longo prazo em indivíduos que foram altamente treinados em endurance induziu ganho compensatório de massa gorda (~6,5 kg), além de diminuição do colesterol HDL e aumento do IMC, leptina e colesterol LDL, mesmo com ingestão calórica reduzida (PETIBOIS et al., 2004).

Por outro lado, recentemente, tem-se constatado que o exercício intermitente de alta intensidade (HIIT), modalidade que envolve a relação entre esforços curtos (6 segundos a 5 min) em alta intensidade (acima do limiar anaeróbio) e pausas subsequentes (GAITANOS et al., 1993; LAURSEN; JENKINS, 2002) tende a ser estratégia eficiente no controle do ganho de massa (SHIRAEV; BARCLAY, 2012; TALANIAN et al., 2007; ZAMBON et al., 2009). Neste contexto, estudos experimentais indicam que o HIIT parece proporcionar modificações significantes em enzimas com função relevante no processo de oxidação de ácidos graxos, e mostra forte correlação com a capacidade muscular de oxidar ácidos graxos livres (TERADA; TABATA; HIGUCHI, 2004), principalmente em momentos com ausência do exercício. Quanto aos mecanismos envolvidos, esforços em alta intensidade tenderiam a não estimular supercompensação do tecido adiposo por não aprimorarem, ao menos de modo agudo, a sensibilidade a insulina (BRESTOFF et al., 2009; METCALFE; VOLLAARD;

FAWKNER, 2015), por gerarem dano muscular e estresse metabólico que, durante destreinamento, aumentaria a taxa de lipólise por elevar o dispêndio energético, o consumo de oxigênio pós-exercício (EPOC), a termogênese de repouso e o volume de massa muscular (GREER et al., 2015; PAOLI; MORO; BIANCO, 2015), e, por fim, por promover elevadas concentrações de lactato durante os exercícios, o que inibiria a lipólise (LIU et al., 2009) e, portanto, direcionaria o efeito compensatório ao glicogênio (ACHESON et al., 1988).

2 Hipóteses

Hipotetiza-se que a manipulação das variáveis, referentes a tempo e modelos de esforços como a intensidade do estímulo, relacionadas aos exercícios físicos aeróbios contínuos e intermitentes, estressa os sistemas orgânicos de modo diferente, e proporciona modelos variados de supercompensação tecidual. Ou seja, em médio e longo prazo o exercício contínuo, oxidativo por natureza, pode estimular aumento do tecido adiposo em graus diferentes comparado ao exercício intermitente, predominantemente glicolítico. (SERTIE et al., 2013)

Dessa forma, quanto à morfometria, especialmente em relação à massa corporal (MC), massa adiposa branca periepididimal, acredita-se que os dois modelos de exercício irão manter ou reduzir estas variáveis durante a intervenção e, no período avaliativo pós-destreino, estas variáveis terão seus índices aumentados em razão do efeito compensatório pós-estresse no grupo que realizou exercício contínuo moderado.

3 Objetivos

3.1 Objetivos gerais

Mensurar os efeitos do treinamento contínuo de intensidade moderada (MICE) e do treinamento intermitente de alta intensidade (HIIT) e respectivo período de destreino no tecido adiposo de ratos adultos.

3.2 Objetivos específicos

Analisar a influência do treinamento contínuo de intensidade moderada (MICE) e do treinamento intermitente de alta intensidade (HIIT), durante os períodos de treinamento (8 semanas) e destreinamento (4 semanas), nas seguintes variáveis:

1. Morfometria: Massa Corporal (MC), Índice de Lee e massa adiposa branca periepididimal.
2. Histologia: Tamanho dos adipócitos.
3. Consumo alimentar.

4 Revisão de literatura

A Síndrome Geral da Adaptação, proposta por Selye, refere-se a reações fisiológicas não específicas em resposta a aplicação de diferentes estressores orgânicos. A partir desta definição, três estágios (Alarme, Resistência e Exaustão) são sugeridos. A fase de alarme é a reação em resposta a um estímulo que ativa a reação de “luta ou fuga” pelo sistema nervoso simpático e induz elevada mobilização de recursos. A fase de resistência indica uma compensação parassimpática com intenção de promover retorno do sistema nervoso aos níveis normais. Finalmente, a fase de exaustão é caracterizada pela perda da capacidade de resistência, que causa manutenção da ativação da fase de alarme de modo crônico e pode gerar problemas de saúde, caso não seja resolvida.

Como exercícios musculares são considerados estressores em potencial, a teoria de Selye se tornou base de conceitos nas ciências do esporte, especialmente para programas de periodização do treinamento, como o objetivo de explicar as adaptações fisiológicas positivas ou problemas de *overtraining* após aplicações de carga. Na década de 50, Yakovlev (1955) propôs o modelo de supercompensação, no qual a carga aplicada poderia estar associada com a primeira e a segunda fase da teoria de Selye. Após a aplicação de carga ocorre uma fase aguda de redução da capacidade de trabalho e o subsequente retorno aos valores de base. Quando o estágio de exaustão não é induzido e a recuperação é completa, é esperado efeito compensatório com aumento da capacidade de trabalho, processo que é chamado de fase de supercompensação.

Neste sentido, efeitos compensatórios já foram fortemente demonstrados a partir de diferentes agentes estressores relacionados a protocolos de exercício em duas perspectivas distintas: tecidos específicos e substratos energéticos. Para o primeiro, a prática de exercícios apresenta impacto compensatório em ossos (GUNTER et al., 2008), músculos esqueléticos (FIATARONE et al., 1990) e cardíacos (MIHL; DASSEN; KUIPERS, 2008) e no tamanho do hipocampo (ERICKSON et al.,

2011). Concordando, estoques de fosfagênios (ATP e PCr) (HARGREAVES et al., 2011), concentrações de glicogênio muscular (BERGMAN et al., 2010) e cerebral (HERD et al., 1998) e triglicerídeos plasmáticos (OLSEN et al., 2008) também apresentaram supercompensação induzida por exercícios. Além disso, o efeito compensatório no tecido adiposo já foi demonstrado em resposta a estratégias invasivas, como a lipossucção em humanos (BENATTI et al., 2012) e em ratos (MATSUI et al., 2012). Considerando isto, sugere-se que o tecido adiposo, um importante estoque energético que exerce um papel importante na evolução humana (BENATTI et al., 2012) e fonte primária para exercícios de baixa a moderada intensidade (60-65% VO₂máx) (GESTA; TSENG; KAHN, 2007; LING et al., 2014), poderia também apresentar comportamento de supercompensação durante períodos de destreinamento após MICE.

4.1 Paradoxo dos lipídeos intramusculares

Ainda em suporte à hipótese principal, é apresentado o paradoxo dos lipídeos intramusculares em sujeitos treinados em exercícios de endurance (GOODPASTER et al., 2001). Este modelo teórico se refere a maior sensibilidade à insulina que pode estar relacionada a uma elevação no estoque de triglicerídeos intramusculares em atletas treinados de endurance (VAN LOON; GOODPASTER, 2006). Apesar de pesquisas falharem em apresentar relação direta entre estas respostas adaptativas, elevação das taxas de síntese e concentração de triacilglicerol intramuscular (BERGMAN et al., 2010) e resposta lipêmica total (HERD et al., 1998) parecem já estar estabelecidas em resposta a este modelo de exercício. Em resumo, parece que fontes de energia primárias apresentam efeito compensatório em resposta ao exercício. É importante ressaltar que estas respostas são diferentes entre substratos, tem comportamentos diferentes e tempos de resposta distintos e são diretamente dependentes de protocolos de exercícios, portanto, tal adaptação também poderia acontecer no tecido adiposo.

4.2 Compensação de tecidos

O efeito compensatório, em tecidos orgânicos, induzido pelo exercício tem sido documentado em massa óssea, músculos esqueléticos e cardíacos e no hipocampo. Inicialmente, o sistema nervoso parece responder a níveis de atividade física, uma vez que os adultos mais aptos fisicamente apresentam volumes mais elevados na região do hipocampo, que foi associado a melhores índices da memória (ERICKSON

et al., 2009). Com base nisto, para investigar os efeitos do exercício em tecido cerebral, Erickson et al. (2011) compararam exercícios aeróbios (40 min a 60-75% da frequência cardíaca (FC) de reserva) com condição controle que realizava alongamentos (13-15 na escala de esforço percebido de Borg) em avaliações após 6 e 12 meses. Os resultados indicaram que o exercício aeróbio aumentou o volume do hipocampo (~ 2%), o que pode ser mediado por maiores níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), e foi associado a melhorias na memória espacial. Considerando-se os músculos esqueléticos, respostas de hipertrofia já estão fortemente evidenciadas em reação a programas de exercício, especialmente com cargas mais pesadas (~ 80% de 1RM) no treinamento de força (ACSM, 2009), mas sem efeito após protocolos de MICE (KONOPKA; HARBER, 2014). Neste contexto, o treinamento de força de alta intensidade (8 semanas, 3 séries de 8 reps com 6-9s cada e 2 min intervalo) melhorou massa livre de gordura, massa muscular regional, a força e volume do quadríceps, que foi associado a melhorias funcionais em idosos frágeis nonagenários e institucionalizados (FIATARONE et al., 1990).

Na verdade, esse tipo de adaptação parece não ser exclusivamente induzida por cargas elevadas. A fim de investigar os ganhos hipertróficos mediados pelo treinamento, Mitchell et al. (2012) compararam três protocolos de treinamento de força diferentes: i) 3 séries a 30% de 1RM; ii) 1 série a 80% de 1RM; e iii) 3 séries a 80% de 1 RM, durante 10 semanas em uma frequência de 3 d/sem. Os principais resultados indicam que, para o ganho de volume no quadríceps, não há diferenças entre 30 e 80% de 1RM, quando três séries são realizadas até a falha concêntrica. Pontua-se que, apesar da maior hipertrofia no grupo a 80% de 1RM, realizar exercícios de força com cargas baixas, até a fadiga, pode também promover adaptações positivas relacionadas com área transversal e ganhos de força (SCHOENFELD, 2013). Além disso, a resposta de aumento do tamanho do músculo parece ocorrer não só a partir de exercícios de força, uma vez que os programas de treinamento de sprints curtos, que variam entre oito semanas e oito meses, mostraram aumentos significativos em fibras musculares do tipo I e do tipo II (ROSS; LEVERITT, 2001).

Além disso, alterações musculares não são exclusivas para os músculos esqueléticos. O músculo cardíaco apresenta respostas de remodelação após o treinamento sistemático, as quais indicam benefícios físicos relacionados ao coração (MIHL; DASSEN; KUIPERS, 2008). Especificamente quanto às respostas do

ventrículo esquerdo, já foi evidenciado que atletas de força e endurance apresentaram formas morfológicas distintas (MORGANROTH et al., 1975). Com base nisso, a hipertrofia do ventrículo esquerdo induzida pelo exercício pode ser encontrada após protocolos de força e *endurance*, com maior espessura da parede (hipertrofia cardíaca concêntrica) relacionada com o treinamento de força, e maior dilatação (hipertrofia cardíaca excêntrica com aumento da câmara cardíaca) relacionada com *endurance* (MIHL; DASSEN; KUIPERS, 2008).

O tecido ósseo é outro exemplo de tecido que apresenta efeito de compensação induzida pelo exercício. Considerando o conteúdo mineral ósseo (CMO), uma intervenção com exercícios aplicados na lógica escolar, com duração de quatorze meses (7 de treinamento e 7 de destreinamento), incluiu protocolos de saltos ou exercícios de alongamento, com avaliações de acompanhamento em 31, 43, 55, 67, 79 e 91 meses do início do estudo, mostrou que o benefício no CMO, especialmente no quadril, foi mantido significativamente maior com protocolos de saltos, depois de quase 8 anos (GUNTER et al., 2008). Próximo a isto, ginastas pré-púberes apresentaram valores mais elevados de CMO do que nadadores e controles, e os autores sugerem que, apesar de esse benefício parecer dependente da idade e estado da menarca, apenas as atividades de alto impacto foram suficientes para aprimorar o pico de massa óssea (MAÏMOUN et al., 2013). Além disso, dados de diferentes meta-análises também podem dar algumas indicações sobre ganhos ósseos compensatórios relacionados ao exercício: i) treinamento resistido e protocolos combinados com alto impacto parecem ser eficazes na preservação da CMO em mulheres na pós-menopausa (ZHAO; ZHAO; XU, 2015); ii) prática regular de caminhadas não tem efeito sobre a preservação da CMO da coluna de mulheres na pós-menopausa, mas apresenta efeitos positivos no colo do fêmur (MARTYN-ST JAMES; CARROLL, 2008) e; iii) treinamento resistido de alta intensidade promove aumento da CMO da coluna lombar, mas não o colo do fêmur em mulheres na pré-menopausa (MARTYN-ST JAMES; CARROLL, 2006).

Em resumo, efeitos supercompensatórios em resposta ao exercício parecem ocorrer em diferentes tecidos orgânicos. Conforme indicado anteriormente, estas respostas são diferentes entre os tecidos e apresentam taxa de supercompensação e tempo de resposta diretamente dependentes dos protocolos de exercícios.

4.2. Compensação do tecido adiposo após lipoaspiração

Além da popularidade decorrente do impacto midiático, a lipectomia parece ser uma alternativa para controlar a gordura corporal e da composição corporal (BENATTI et al., 2012). No entanto, o efeito de crescimento compensatório de tecido adiposo foi identificado em muitas espécies diferentes após cirurgias de lipossucção (HAUSMAN et al., 2004; MAUER; HARRIS; BARTNESS, 2001), incluindo seres humanos (BENATTI et al., 2012), e isto pode estar relacionado à Teoria da Hipótese Lipostática. A fim de investigar o mecanismo de compensação no tecido adiposo, HAUSMAN et al. (2004) testaram esta hipótese em um grupo de ratos que tiveram a gordura bilateral do epidídimo removida cirurgicamente e um grupo que sofreu operação simulada. Após 16 semanas do procedimento, os resultados indicaram que a gordura mesentérica e retroperitoneal ficou mais pesada nos ratos lipectomizados, mesmo sem diferença no balanço energético medido através da ingestão de alimento e gasto energético. A concentração de norepinefrina, leptina e insulina não mostraram relação com a supercompensação, mas hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos parecem estar relacionadas a fatores sanguíneos, que incluem *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), angiotensina II, fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), macrófago estimulador de colônias (GM-CSF) e fatores de crescimento transformadores (TGFs) (HAUSMAN et al., 2004).

Mecanismo adicional foi proposto por Mauer et al. (2001). Após lipectomia parcial como um desafio para o sistema de regulação de gordura corporal, induziu-se mudanças em fatores humorais e diminuição na saída do nervo sensorial. Depois disso, as entradas para as zonas de controle cerebrais estimularam fluxo de saída do sistema nervoso simpático (SNS) do cérebro para o tecido adiposo marrom, medula adrenal e tecido adiposo branco restante. Assim, tais respostas podem incluir possíveis reduções na lipólise e aumento da lipogênese.

De modo amplo, o efeito compensatório da lipossucção na recuperação da gordura poderia ser reduzido pela atividade física, especificamente observado com protocolo de 40 min de MICE combinado com treinamento de força (BENATTI et al., 2012). Por outro lado, é importante considerar que, além do controle de peso promovido pela prática de exercício, a expressão dos genes lipogênicos não sofreu alterações (BENATTI et al., 2012; HIGA et al., 2012) e, se a expressão genética desempenha algum papel no controle da gordura corporal, este efeito de sinalização

para compensação poderia permanecer e gerar a recuperação da gordura no futuro, caso haja interrupção do exercício.

Em resumo na figura 1 estão representados graficamente os diferentes tecidos e substratos energéticos que apresentam efeito compensatório de acordo com a resposta temporal e quanto a magnitude dos efeitos calculada através de delta percentual.

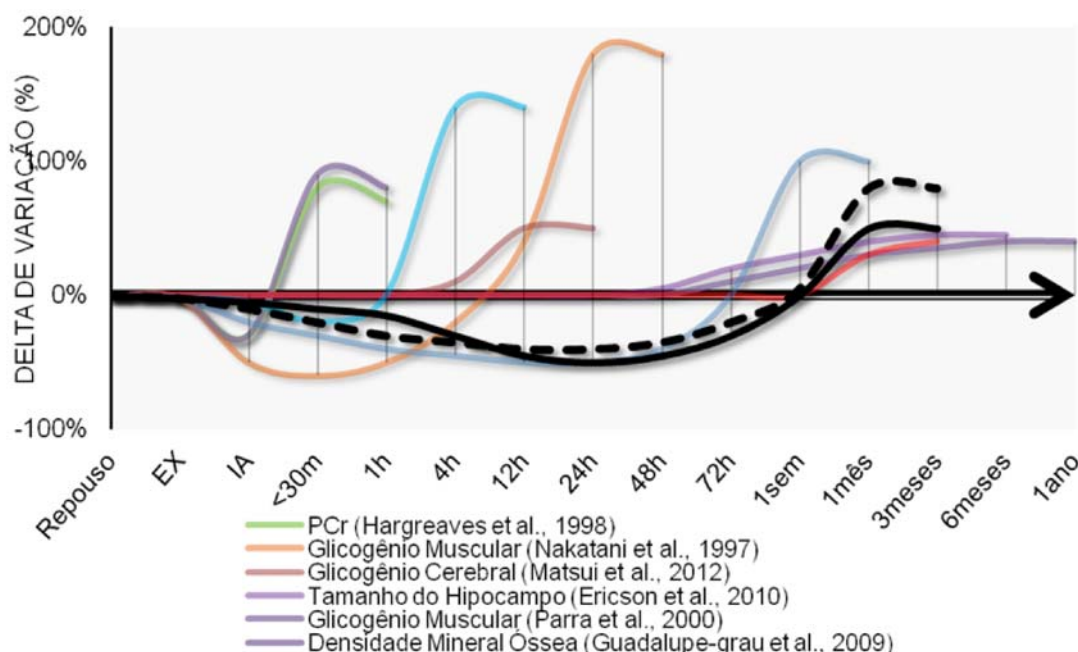


Figura 1 - Diferentes tecidos e substratos energéticos que apresentam efeito compensatório.

4.3. Exercícios intermitentes em alta intensidade como alternativa

O fornecimento de energia aeróbia é derivado da oxidação de carboidratos e de gordura (GASTIN, 2001). Especificamente, protocolos MICE são, por natureza, aeróbios e a contribuição de energia fornecida para atender as demandas de energia é oriunda predominantemente da oxidação de gordura, devido à intensidade moderada, sendo que a zona ideal para a oxidação de gordura (FATmax) parece estar perto de 60-65% do VO₂máx (ACHTEN; GLEESON; JEUKENDRUP, 2002). Este tipo de exercício tem sido sugerido para controle e perda de gordura e de peso, mas adultos que adicionam MICE à rotina, associada a dieta e a terapia comportamental mostraram reduções de apenas 3 kg após 12 e 24 meses (AVENELL et al., 2004). Além de ineficiência do MICE na perda de gordura, parece que a recomendação de

150 min de atividades físicas por semana (DONNELLY et al., 2009) não é suficiente para perda de peso e prevenção do ganho de peso indesejado (CHURCH et al., 2009). Além disso, grande parte da população mundial não atinge esse nível de atividade física (HALLAL et al., 2012).

Para evitar a oxidação de gordura durante exercícios e possível compensação posterior, protocolos alternativos de exercício têm sido propostos para induzir igual/maior impacto na perda de peso e perda de gordura com diferentes demandas metabólicas, as quais poderiam prevenir o efeito compensatório no tecido adiposo e redirecionar a diferentes vias energéticas. Como exemplo, exercícios intermitentes em alta intensidade (HIIT) são caracterizados como modalidade que envolve esforços de curta duração (10 s a 5 min) em intensidades acima do limiar anaeróbio intervalados por pausas ativas ou passivas (LAURSEN; JENKINS, 2002). Este modelo de exercício é apresentado como método promissor para promoção de perda de peso (TRAPP et al., 2008) e, com prescrição apropriada, poderia evitar a característica lipolítica dos MICE (BUCHHEIT; LAURSEN, 2013) e efeitos negativos já citados previamente.

A nível celular duas perspectivas poderiam dar suporte a esta indicação, a primeira relacionada à sensibilidade à insulina tecido específica e a segunda relacionada às respostas ao lactato. De acordo com Malin et al. (2016), ao comparar exercício moderado (na intensidade do limiar anaeróbio) e exercício intenso (delta 75 – 75% da diferença entre limiar anaeróbio e $\text{VO}_{2\text{pico}}$) equiparados pelo gasto calórico (200 kcal), a sensibilidade à insulina no músculo esquelético melhorou com ambos protocolos de treino. Por outro lado, a resistência à insulina no tecido hepático e adiposo aumentou com os exercícios intensos. Os autores indicam que, apesar de contraditórios quando aos efeitos positivos do exercício no perfil glicêmico, os achados podem estar relacionados à elevação de hormônios, como GH, cortisol e catecolaminas, provocada por exercícios de alta intensidade. Além disso, este efeito transitório pode estar associado ao direcionamento dos carboidratos para dar suporte à produção de energia e reposição dos estoques de glicogênio muscular. Já quanto à segunda perspectiva, parece estar estabelecido que o lactato atue como inibidor da atividade lipolítica durante exercício (LIU et al., 2009) e pode atuar como ativador da proteína G (GPR81) nos adipócitos, o que potencializa o efeito antilipolítico da ação da insulina (AHMED et al., 2010). Neste sentido, Samaneh e Nikooie (2016)

demonstraram que o lactato produzido no HIIT (2 min @ 80% CMC por 1 min de recuperação passiva, 5 dias/sem) parece ser utilizado como mecanismo importante para oxidação e reposição de glicogênio, o que reduz a oxidação de triglicerídeos intramusculares no primeiro estágio de recuperação após exercício intenso. Por outro lado, parece que a partir de 10 h após cessar o exercício e de modo crônico (5 semanas), a capacidade oxidativa de gorduras se mostra aumentada, vista pela abundância de TGF- β 1, que pode ter sido regulada pela exposição às elevadas concentrações de lactato (NIKOOIE; SAMANEH, 2016). Em suma, a expressão de lactato a partir do HIIT pode: i) inibir a oxidação de gorduras durante exercício, o que reduz a chance de supercompensação deste substrato/tecido; ii) aumentar a capacidade oxidativa durante períodos de recuperação (10 h a 24 h) e de modo crônico (5 semanas) (NIKOOIE; SAMANEH, 2016).

Assim, conhecer melhor os efeitos do MICE e do HIIT na morfometria corporal e no desempenho físico pode contribuir na organização de diferentes modelos de exercícios físicos no controle ponderal.

5. Materiais e métodos

5.1 Tipo de estudo e caracterização das variáveis

Trata-se de estudo experimental, com grupo controle e randomização. Como variável dependente serão considerados os fatores relacionados à lipogênese (item 3.2) e, como variáveis independentes, o tipo de treino (contínuo ou intermitente) e momento (pré-treino, pós-treino, pós-destreino).

5.2 Casuística e condições ambientais de sobrevivência

Serão utilizados 63 ratos Wistar machos com 60 dias, provenientes do biotério da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Os animais serão mantidos em caixas de 40 x 30 cm, as quais agruparão até 3 animais cada.

Para cálculo do tamanho amostral, recorreu-se ao software estatístico WINPEPI14.0 for Windows. Foi considerada uma diferença de 7 gramas na massa dos animais entre o grupo HIIT e MICE destreinados, e o cálculo indicou 8 animais para cada grupo. Como serão organizados três grupos (controle, contínuo e intervalado) e três momentos de análise: pré, pós oito semanas de treinamento e pós

quatro semanas de destreinamento, adicionamos um animal em cada grupo para evitar perdas e o tamanho amostral final ficou em 63 animais. Para o cálculo utilizamos os desvios padrão publicados em experimento semelhante (SERTIE et al., 2013). Considerou-se um poder estatístico maior que 90% e $p < 0,05$.

Os animais serão mantidos no biotério experimental no prédio 17 da Universidade Federal de Pelotas e serão treinados no Laboratório de Fisiologia Molecular que possui equipamentos adequados para a intervenção e procedimentos experimentais. Será mantido esquema de claro/escuro de 12/12 horas, com temperatura controlada (22 a 23°C), água e ração balanceada padrão para roedores - Nuvilab® CR1 (com composição seguindo as recomendações do *National Research Council* e *National Institute of Health/USA* para alimentos de ratos de laboratório) *ad libitum*.

5.3 Delineamento experimental (Figura 2)

Após a eutanásia de 9 animais (base T1), os demais serão alocados de forma aleatória em três grupos: grupo controle (GC, n=18), grupo que realizará exercícios contínuos de intensidade moderada (GEC, n=18) e grupo submetido a treinamento intermitente de alta intensidade (GEI, n=18).

Após alocação das unidades experimentais nos três grupos previamente descritos, será adotado regime de treinamento físico, o qual terá duração de 8 semanas. Findada a intervenção com exercícios físicos, nove (9) animais de cada grupo serão eutanasiados (T2). Então, os grupos serão acompanhados por mais 4 semanas de destreinamento, período no qual os animais serão mantidos sob as mesmas condições anteriormente descritas; porém, sem a prática de exercícios físicos e, após esse período, os animais serão eutanasiados (T3). Esse período de intervenções parece ser suficiente para gerar o estímulo estressor, assim como as semanas de destreinamento são suficientes para se perceber o efeito da supercompensação (SERTIE et al., 2013).

5.4 Protocolo de avaliação

Ocorrerão três momentos de avaliação, que se darão sempre no período matutino, em que animais de cada grupo serão eutanasiados por exsanguinação

cardíaca, após anestesia com isoflurano. Tecido adiposo periepididimal será coletado, pesado e terá fragmentos parafinados para a realização das análises (figura 1). A primeira eutanásia ocorrerá para descrição dos valores de base (PRÉ). A segunda acontecerá ao final da 8ª semana de treinamento (PÓS), e a última após o período de destreino, que durará quatro semanas (T3).

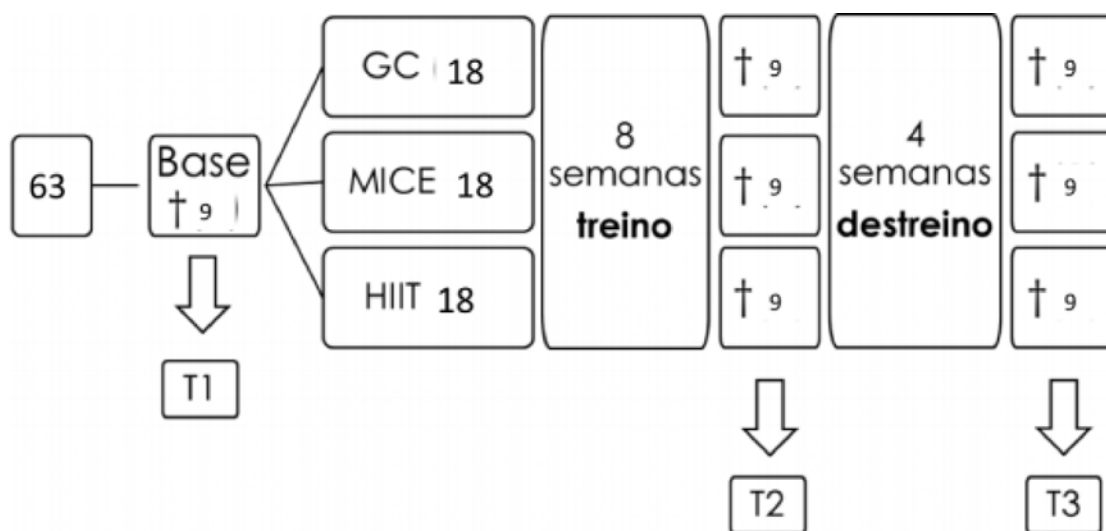


Figura 2 - Delinamento experimental do estudo GC = Grupo controle; MICE = Grupo exercício contínuo; HIIT = Grupo exercício intermitente. † = Eutanásia. T1 = Eutanásia de linha de base; T2 = Eutanásia pós treino; T3 = Eutanásia pós destreino.

5.5 Protocolo de intervenção e programas de treinamento

Inicialmente os ratos serão familiarizados com o treinamento durante 7 dias (5 sessões) a 1km/h com duração de 10 min no primeiro dia e terá um acréscimo de 5 min a cada dia. Após este período, os ratos serão submetidos a teste progressivo para determinar capacidade máxima de corrida (CMC) e serão alocados nos três diferentes grupos, nos quais os exercícios serão propostos de modo progressivo e a intensidade será controlada a partir da combinação entre velocidade e tempo (10% de inclinação). Para os grupos experimentais (GEC e GEI), os exercícios serão realizados 5 vezes por semana.

5.5.1 Teste de capacidade máxima de corrida (CMC)

Após a familiarização, o teste incremental de CMC se dará de acordo com o proposto por Koch e Britton (2001) e adaptado às condições do nosso laboratório, principalmente quanto à sensibilidade mínima de controle da velocidade que é de 1

km/h e estímulos de choque elétrico não serão aplicados. A esteira será configurada para inclinação de 10% e 1 km/h. Após início do teste, a velocidade será incrementada em 0,1 km/h a cada 2 min e cada animal correrá até exaustão. O ponto de exaustão será operacionalmente definido quando o animal não conseguir acompanhar a velocidade da esteira em três tentativas consecutivas após estímulo mecânico efetuado pelo pesquisador. A partir da aplicação deste protocolo, estudo prévio encontrou valores entre 1 e 1,8 km/h de CMC na primeira semana após familiarização (KOCH; BRITTON, 2001). O teste será aplicado a cada duas semanas para ajustes nas cargas de trabalho.

5.5.2 Grupo de exercícios contínuos (MICE)

O protocolo do grupo MICE será composto por exercícios contínuos e de moderada intensidade, que iniciarão a velocidade de 60-80% da CMC começando com 10 min no primeiro dia e atingindo 25 min/dia na semana 1. A duração e a intensidade irão progredir de modo que se mantenha carga de trabalho entre 60-80% da CMC com 10% de inclinação durante 45 min/dia de exercício (BEXFIELD et al., 2009; SERTIE et al., 2013).

5.5.3 Grupo de exercícios intermitentes (HIIT)

O protocolo do grupo HIIT consistirá de exercício intermitente em alta intensidade, com 30 segundos a 110% da CMC e 30 segundos de recuperação ativa a 50% da CMC. Para isto, após o período de familiarização, ao longo das semanas, o número de *sprints* será incrementado de modo progressivo, iniciando com 15 repetições na semana 1, 20 na semana 2, 25 nas semanas 3, 4 e 5 e 30 sprints nas semanas 6, 7 e 8, perfazendo total de 30 min de exercício nessas últimas 3 semanas. A escolha do protocolo se deu na tentativa de equalização com o volume de treino de ambos os grupos.

5.6 Procedimentos

5.6.1 Morfometria

A massa corporal (MC) dos animais será mensurada semanalmente com balança digital (Gehaka, Model BK4001, Brazil) e será expressa em valores absolutos, por ganho percentual e pela diferença entre MC inicial e final. Já o índice de Lee será

mensurado a partir de equação dividindo a raiz cúbica do peso corporal (g) pelo comprimento nasoanal (cm) e multiplicando o resultado por 1000. (MALAFAIA et al., 2013).

Com o intuito de avaliar a massa adiposa corporal será coletado e pesado em uma balança de precisão semi analítica (Marte, Model AD330, Brazil) o tecido adiposo periepididimal.

5.6.2 Determinação do tamanho do adipócito e preparações histológicas

Após fixação em paraformaldeído a 4%, pH 7.2, por 16 h a 4°C, as amostras de tecido adiposo serão desidratadas em etanol absoluto, limpas em xilol, e então embebidas em parafina. A parafina será cortada em cortes de 5- μ m que serão corados com hematoxilina de Harris, contracorados com eosina e avaliados em microscopia de luz (Leipzig, modelo 5Xi-eLED, câmera Motic, modelo Moticom 5, 5MP) utilizando objetiva de 10x. As imagens serão capturadas com software de captura Motic Images Plus 2.0. O software ImageJ versão 1.8.0_172 será utilizado para avaliar parâmetros morfométricos como área, diâmetro estimado, perímetro e forma. Serão estudadas aproximadamente 300 células de cada animal com membrana intacta, contando-as aleatoriamente no computador. O tamanho do adipócito será determinado pela média das células.

5.6.3 Consumo alimentar

Serão ofertados 600g de ração por caixa de ratos por semana, toda sexta-feira a ração será pesada para controle da quantidade semanal que cada grupo consumiu. Ao fim do estudo será utilizada a média das caixas de cada semana para determinação do consumo alimentar.

5.7 Análise estatística

A normalidade dos dados será verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Uma vez que os dados se apresentaram-se com distribuição normal, os dados descritivos serão apresentados através de média e desvio padrão. Para análise dos resultados, será avaliada a igualdade de variâncias com o teste de Levene e realizada uma análise de variância de dois caminhos (ANOVA), com pós hoc de Tukey para grupo (GC, MICE ou HIIT) e de Bonferroni para momento (T1, T2 e T3). Para a relação

entre as variáveis massa corporal e consumo alimentar, será empregada correlação de Pearson. Após, os mesmos serão apresentados com medidas de centralidade e dispersão, na forma tabular e gráfica. Para o nível de significância será adotado $P < 0.05$.

5.8 Aspectos éticos do estudo com experimentação animal

O projeto será submetido comitê de ética em pesquisa animal da Universidade Federal de Pelotas e seguirá as indicações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. As condições de acondicionamento em biotério e eutanásia animal seguirão as padronizações vigentes, seguindo princípios de boa qualidade, com vistas a gerar sofrimento mínimo às cobaias envolvidas no estudo.

6 Orçamento

Material de coleta	Qtd	Preço un.	Preço Total
Ponteiras 200uL (saco)	1	R\$ 30,00	R\$ 30,00
Microtubos (saco)	1	R\$ 30,00	R\$ 30,00
Agulha (un)	50	R\$ 0,20	R\$ 10,00
Luvax (cx)	5	R\$ 15,00	R\$ 75,00
		Subtotal	R\$ 145,00
Equipamentos	Qtd	Preço un.	Preço Total
Esteira	1	15000,00	R\$ 15.000,00
		Total	R\$ 15.145,00

Os equipamentos já estão disponíveis nos laboratórios, e os reagentes serão custeados pelos pesquisadores.

8 Referências

- ACHESON, K. J. et al. Glycogen storage capacity and de novo lipogenesis during massive carbohydrate overfeeding in man¹³. **American Society for Clinical Nutrition**, v. 48, p. 240–247, 1988.
- ACHTEN, J.; GLEESON, M.; JEUKENDRUP, A. E. Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 34, n. 1, p. 92–97, 2002.
- AHMED, K. et al. An Autocrine Lactate Loop Mediates Insulin-Dependent Inhibition of Lipolysis through GPR81. **Cell Metabolism**, v. 11, n. 4, p. 311–319, 7 abr. 2010.
- APPLEGATE, E. A.; UPTON, D. E.; STERN, J. S. Exercise and Detraining: Effect on Food Intake, Adiposity and Lipogenesis in Osborne-Mende! Rats Made Obese by a High Fat Diet¹. **J. Nutr**, v. 114, p. 447–459, 1984.
- AVENELL, A. et al. What interventions should we add to weight reducing diets in adults with obesity? A systematic review of randomized controlled trials of adding drug therapy, exercise, behaviour therapy or combinations of these interventions. **J Hum Nutr Dietet**, v. 17, p. 293–316, 2004.
- BATTISTUZZI, P. [Hans Selye, the father of stress]. **Nederlands tijdschrift voor tandheelkunde**, v. 118, p. 471, 1 out. 2011.
- BENATTI, F. et al. Liposuction induces a compensatory increase of visceral fat which is effectively counteracted by physical activity: A randomized trial. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 97, n. 7, p. 2388–2395, jul. 2012.
- BERGMAN, B. C. et al. Increased intramuscular lipid synthesis and low saturation relate to insulin sensitivity in endurance-trained athletes. **J Appl Physiol**, v. 108, p. 1134–1141, 2010.
- BEXFIELD, N. A. et al. Adaptations to high-intensity intermittent exercise in rodents. **Journal of Applied Physiology**, v. 107, n. 3, p. 749–754, set. 2009.
- BRESTOFF, J. R. et al. An acute bout of endurance exercise but not sprint interval exercise enhances insulin sensitivity. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 34, n. 1, p. 25–32, fev. 2009.

BUCHHEIT, M.; LAURSEN, P. B. High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle: Part I: Cardiopulmonary emphasis. **Sports Medicine**, v. 43, n. 5, p. 313–338, maio 2013.

BUCKNER, S. L. et al. The General Adaptation Syndrome: A Foundation for the Concept of Periodization. **Sports Medicine**, v. 48, n. 4, p. 787–797, 1 abr. 2018.

CHURCH, T. S. et al. Changes in weight, waist circumference and compensatory responses with different doses of exercise among sedentary, overweight postmenopausal women. **PLoS ONE**, v. 4, n. 2, 18 fev. 2009.

DOHM, G. L. et al. Changes in Body Fat and Lipogenic Enzyme Activities in Rats after Termination of Exercise Training (39764). **Experimental Biology and Medicine**, v. 155, p. 157–159, 1977.

DONNELLY, J. E. et al. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 41, n. 2, p. 459–471, fev. 2009.

ERICKSON, K. I. et al. Aerobic fitness is associated with hippocampal volume in elderly humans. **Hippocampus**, v. 19, n. 10, p. 1030–1039, out. 2009.

ERICKSON, K. I. et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 7, p. 3017–3022, 15 fev. 2011.

FIATARONE, M. A. et al. High-Intensity Strength Training in Nonagenarians Effects on Skeletal Muscle. **JAMA**, v. 263, n. 22, p. 3029–3033, 1990.

FLANN, K. L. et al. Muscle damage and muscle remodeling: No pain, no gain? **Journal of Experimental Biology**, v. 214, n. 4, p. 674–679, fev. 2011.

GAITANOS, G. C. et al. Human muscle metabolism during intermittent maximal exercise. **American Physiological Society**, v. 75, n. 2, p. 712–719, 1993.

GASTIN, P. B. Energy System Interaction and Relative Contribution During Maximal Exercise. **Sports Medicine**, v. 31, p. 726–741, 2001.

GESTA, S.; TSENG, Y. H.; KAHN, C. R. Developmental Origin of Fat: Tracking Obesity to Its Source. **Cell**, v. 131, n. 2, p. 242–256, 19 out. 2007.

GOODPASTER, B. H. et al. **Skeletal Muscle Lipid Content and Insulin Resistance: Evidence for a Paradox in Endurance-Trained Athletes.** [s.l: s.n.].

GREER, B. K. et al. EPOC comparison between isocaloric bouts of steady-state aerobic, intermittent aerobic, and resistance training. **Research Quarterly for Exercise and Sport**, v. 86, n. 2, p. 190–195, 3 abr. 2015.

GUNTER, K. et al. Impact exercise increases BMC during growth: An 8-year longitudinal study. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 23, n. 7, p. 986–993, jul. 2008.

HALLAL, P. C. et al. Global physical activity levels: Surveillance progress, pitfalls, and prospects. **The Lancet**, v. 380, n. 9838, p. 247–257, 2012.

HARGREAVES, M. et al. Muscle metabolites and performance during high-intensity, intermittent exercise. **American Physiological Society**, p. 1687–1691, 1998.

HAUSMAN, D. B. et al. Compensatory Growth of Adipose Tissue After Partial Lipectomy: Involvement of Serum Factors. **Society for Experimental Biology and Medicine**, p. 512–520, 2004.

HERD, S. L. et al. The effect of 13 weeks of running training followed by 9 d of detraining on postprandial lipaemia. **British Journal of Nutrition**, v. 80, n. 1, p. 57–66, 1998.

HIGA, T. S. et al. Physical training prevents body weight gain but does not modify adipose tissue gene expression. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 10, p. 988–994, out. 2012.

KOCH, L. G.; BRITTON, S. L. Artificial selection for intrinsic aerobic endurance running capacity in rats. **Physiological Genomics**, v. 5, p. 45–52, 2001.

KONOPKA, A. R.; HARBER, M. P. Skeletal muscle hypertrophy after aerobic exercise training. **Exerc. Sport Sci. Rev**, v. 42, n. 2, p. 53–61, 2014.

LAMBERT, E. V et al. Enhanced adipose tissue lipoprotein lipase activity in detrained rats: independent of changes in food intake. **Journal of Applied Physiology**, v. 77, p. 2564–2571, 1994.

LAURSEN, P. B.; JENKINS, D. G. The Scientific Basis for High-Intensity Interval Training Optimising Training Programmes and Maximising Performance in Highly Trained Endurance Athletes. **Sports Medicine**, v. 32, n. 1, p. 53–73, 2002.

LAYE, M. J. et al. Cessation of daily wheel running differentially alters fat oxidation capacity in liver, muscle, and adipose tissue. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, n. 1, p. 161–168, jan. 2009.

LING, B. L. et al. Short and long-term impact of lipectomy on expression profile of hepatic anabolic genes in rats: A high fat and high cholesterol diet-induced obese model. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, 2014.

LIU, C. et al. Lactate inhibits lipolysis in fat cells through activation of an orphan G-protein-coupled receptor, GPR81. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 5, p. 2811–2822, 30 jan. 2009.

MAÏMOUN, L. et al. Peripubertal female athletes in high-impact sports show improved bone mass acquisition and bone geometry. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 62, n. 8, p. 1088–1098, ago. 2013.

MALAFIA, A. B. et al. Obesity induction with high fat sucrose in rats. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 26, n. 1, p. 17–21, 2013.

MARTIN, W. H. Effects of Acute and Chronic Exercise on Fat Metabolism. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 24, p. 203–231, 1996.

MARTYN-ST JAMES, M.; CARROLL, S. Progressive High-Intensity Resistance Training and Bone Mineral Density Changes Among Premenopausal Women Evidence of Discordant Site-Specific Skeletal Effects. **Sports Med**, v. 36, n. 8, p. 683–704, 2006.

MARTYN-ST JAMES, M.; CARROLL, S. Meta-analysis of walking for preservation of bone mineral density in postmenopausal women. **Bone**, v. 43, n. 3, p. 521–531, set. 2008.

MATSUI, T. et al. Brain glycogen supercompensation following exhaustive exercise. **Journal of Physiology**, v. 590, n. 3, p. 607–616, fev. 2012.

MAUER, M. M.; HARRIS, R. B. S.; BARTNESS, T. J. The regulation of total body fat: lessons learned from lipectomy studies. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 25, p. 15–25, 2001.

METCALFE, R.; VOLLAARD, N.; FAWKNER, S. Physiology & Biochemistry No Acute Effect of Reduced-exertion High-intensity Interval Training REHIT on Insulin Sensitivity. **Sports Medicine**, 2015.

MIHL, C.; DASSEN, W. R. M.; KUIPERS, H. Cardiac remodelling: concentric versus eccentric hypertrophy in strength and endurance athletes. **Netherlands Heart Journal**, p. 129–133, 2008.

MORGANROTH, J. et al. Comparative Left Ventricular Dimensions in Trained Athletes. **Annals of Internal Medicine**, v. 82, p. 521–524, 1975.

NIKOOIE, R.; SAMANEH, S. Exercise-induced lactate accumulation regulates intramuscular triglyceride metabolism via transforming growth factor- β 1 mediated pathways. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 419, p. 244–251, 5 jan. 2016.

OLSEN, R. H. et al. Metabolic Responses to Reduced Daily Steps in Healthy Nonexercising Men. **JAMA**, v. 11, p. 1261–1263, 19 mar. 2008.

PAOLI, A.; MORO, T.; BIANCO, A. Lift weights to fight overweight. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 35, n. 1, p. 1–6, 2015.

PETIBOIS, C. et al. Lipid profile disorders induced by long-term cessation of physical activity in previously highly endurance-trained subjects. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, n. 7, p. 3377–3384, jul. 2004.

PISTOR, K. E. et al. Lipolysis, lipogenesis, and adiposity are reduced while fatty acid oxidation is increased in visceral and subcutaneous adipocytes of endurance-trained rats. **Adipocyte**, v. 4, n. 1, p. 22–31, 2015.

ROSS, A.; LEVERITT, M. Long-Term Metabolic and Skeletal Muscle Adaptations to Short-Sprint Training Implications for Sprint Training and Tapering. **Sports Medicine**, v. 31, p. 1063–1082, 2001.

SANCHIS-GOMAR, F. et al. Physical exercise as an epigenetic modulator: eustress, the “positive stress” as an effector of gene expression. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 26, n. 12, p. 3469–3472, 2012.

SCHOENFELD, B. J. Potential mechanisms for a role of metabolic stress in hypertrophic adaptations to resistance training. **Sports Medicine**, v. 43, n. 3, p. 179–194, mar. 2013.

SELYE, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. **Nature**, p. 32–32, 18 maio 1936.

SENE-FIORESE, M. et al. Efficiency of intermittent exercise on adiposity and fatty liver in rats fed with high-fat diet. **Obesity**, v. 16, n. 10, p. 2217–2222, out. 2008.

SERTIE, R. A. L. et al. Cessation of physical exercise changes metabolism and modifies the adipocyte cellularity of the periepididymal white adipose tissue in rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 115, n. 3, p. 394–402, 1 ago. 2013.

SHIRAEV, T.; BARCLAY, G. Evidence based exercise Clinical benefits of high intensity interval training. **Australian Family Physician**, v. 41, n. 12, p. 960–962, 2012.

TALANIAN, J. L. et al. Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. **Journal of Applied Physiology**, v. 102, n. 4, p. 1439–1447, abr. 2007.

TERADA, S.; TABATA, I.; HIGUCHI, M. Effect of High-Intensity Intermittent Swimming Training on Fatty Acid Oxidation Enzyme Activity in Rat Skeletal Muscle. **The Japanese Journal of Physiology**, v. 54, n. 1, p. 47–52, 2004.

TRAPP, E. G. et al. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. **International Journal of Obesity**, v. 32, n. 4, p. 684–691, abr. 2008.

VAN LOON, L. J. C.; GOODPASTER, B. H. Increased intramuscular lipid storage in the insulin-resistant and endurance-trained statePflugers Archiv **European Journal of Physiology**, fev. 2006.

VIRU, A. Early contributions of Russian stress and exercise physiologists. **Journal of Applied Physiology**, v. 92, n. 4, p. 1378–1382, 2002.

YAKOVLEV, N. N. Biochemistry of sport in the Soviet Union: beginning, development, and present status. **Medicine and Science in Sports**, v. 7, n. 4, p. 237–247, 1975.

ZAMBON, L. et al. Efeitos de dois tipos de treinamento de natação sobre a adiposidade e o perfil lipídico de ratos obesos exógenos. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 5, p. 707–715, 2009.

ZHAO, R.; ZHAO, M.; XU, Z. The effects of differing resistance training modes on the preservation of bone mineral density in postmenopausal women: a meta-analysis. **Osteoporosis International**, v. 26, n. 5, p. 1605–1618, 1 maio 2015.

Relatório do trabalho de campo

1 Contextualização

Este documento procura fornecer um relato dos procedimentos de coleta de dados do projeto de dissertação denominado "Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no tecido adiposo e variáveis associadas em ratos". Os principais desafios encontrados, experiências e análise de dados.

Inicialmente o projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa animal da Universidade Federal de Pelotas de acordo com a Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) sob o parecer número 11/2020, anexo 2.

Ademais, antes do início da coleta de dados, visando testar a reprodutibilidade, concordância e logística do estudo, ocorreu realização de um piloto para testar os protocolos de treinamento e as adaptações ao nosso laboratório. A partir das respostas obtidas nesse período inicial, os ajustes foram feitos para que tudo ocorresse da melhor maneira possível.

2 Solicitação dos animais

Após o período inicial de testes, foi solicitado ao biotério central da Universidade Federal de Pelotas 63 ratos Wistar adultos com aproximadamente 60 dias de vida. Portanto, foi obtido um período até que os animais estivessem nas condições necessárias. Esse período de tempo foi usado para avaliação do projeto, revisão de literatura, treinamento e logística do estudo.

3 Coleta de dados

As coletas de dados foram realizadas no período de junho de 2021 a setembro de 2021. Inicialmente recebemos 63 ratos, identificamos as caixas com etiquetas, nas quais continham as informações de número da caixa, grupo de intervenção, quantidade de animais por caixa, ainda pesamos todos os animais e anotamos em uma planilha o peso de cada animal, foi pesada a ração colocada à disposição deles. Após esse dia começamos a familiarização dos animais, cada rato ficou 10 minutos na esteira no primeiro dia e foram acrescentados 5 minutos até o fim da semana de familiarização.

Findada a familiarização, foi feita a primeira eutanásia dos animais, onde foi retirado os tecidos dos ratos das caixas 9, 8 e 7 que serviu como valores para a linha de base do estudo, foi realizado um teste de capacidade máxima de corrida para mensurar a intensidade dos treinos dos grupos de intervenção, que se repetiu a cada 15 dias para ajustes nas cargas de treinos e foi dado início aos protocolos de treinamento.

Na conclusão de 8 semanas de treinamento, os animais das caixas 6, 7 e 8 foram submetidos à segunda eutanásia para coletar informações sobre as semanas durante as quais as intervenções foram realizadas. Os ratos então passaram por um período de destreinamento de 4 semanas durante o qual continuaram a viver nas mesmas condições, mas não se envolveram em nenhuma intervenção com exercício. Após a fase de destreinamento, foi realizada a terceira e última eutanásia para coleta de informações sobre o destreinamento dos animais.

4 Principais dificuldades

No que diz respeito às dificuldades encontradas no período de coleta de dados, a principal delas foi fazer com que todos animais realizassem os protocolos de treino de forma adequada. Muitos trancavam as patas na esteira e acabavam se machucando, fazendo com que perdessem algumas sessões de treinamento. Outra dificuldade era o transporte dos animais, visto que a realização dos protocolos de treinamento não ocorria no mesmo prédio em que eles se mantinham, portanto em dias de chuva, o transporte e manuseio das caixas eram difíceis de serem realizados. Além disso, a ração que fornecíamos durante as semanas de intervenção estava faltando, impossibilitando o controle do consumo alimentar por uma semana.

5 Considerações finais

Como fechamento deste relatório, as experiências importantes a serem destacadas durante a elaboração deste estudo foram as trocas com profissionais responsáveis pelo cuidado do biotério, ajudando a entender melhor como os animais se comportam, cuidados a serem tomados e também a forma de manuseio.

Por fim, após a qualificação do projeto de pesquisa foi necessário a alteração de alguns objetivos, visando à adequação ao tempo de duração do mestrado. Sendo assim, a principal modificação foi a não realização de análises sanguíneas e alteração

no tecido adiposo a ser analisado. O artigo está dentro das normas e será submetido na “Experimental Physiology”.

Em breve, serão criados artigos que abordam questões adicionais do projeto para as quais já temos os dados necessários; no entanto, dadas as limitações de tempo associadas à conclusão desta etapa da formação do mestrado, não foi possível criá-los a tempo de serem incluídos no volume final desta dissertação.

Título: Efeitos de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreinamento no tecido adiposo e variáveis associadas

Título corrido: Efeitos do treinamento e destreinamento no tecido adiposo de ratos

Gabriel M. SIQUEIRA^{1*}, Alex Sander S. SOUZA¹, Fabricio B. DEL VECCHIO¹, Rousseau S. VEIGA¹, Anelize O.C. FELIX², Rafael B. ORCY¹

¹Programa de pós-graduação em Educação Física, Universidade Federal de Pelotas, Brasil.

²Programa de pós-graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Brasil.

*Autor correspondente: Gabriel M. Siqueira, Escola Superior de Educação Física, Universidade Federal de Pelotas, R. Luís de Camões, 625 - Três Vendas, 96055-630, Pelotas, Brasil. E-mail: gabrielgabiti@hotmail.com

Palavras-Chave: Tecido Adiposo; Exercício físico; Treinamento Intervalado de Alta Intensidade

Número total de palavras no artigo: 4519

Número total de referências: 32

Resumo

A Síndrome geral da adaptação e o modelo de supercompensação são pressupostos frequentemente aplicados na ciência do exercício. Ao se considerar que a gordura é tecido essencial e fonte energética primária para exercícios contínuos de intensidade moderada (MICE), este tipo de esforço poderia promover compensação após período de destreinamento. O objetivo do estudo foi investigar os efeitos de diferentes modelos de exercício com subsequente destreinamento na celularidade do tecido adiposo de ratos adultos. Esse é um estudo experimental no qual ratos foram alocados em três grupos: i) Exercício contínuo de intensidade moderada (MICE); ii) Exercício intermitente de alta intensidade (HIIT); e iii) Grupo controle (GC). Dados foram coletados em três momentos, a saber: valores de base (T1), após isso os animais se exercitaram em esteira durante oito semanas (T2) e, então, foram acompanhados por quatro semanas após interrupção do exercício físico (T3). Para análise estatística, foi realizada análise de variância de dois caminhos (ANOVA), com *pós-hoc* de Tukey para grupo (GC, MICE ou HIIT) e de Bonferroni para momento (T1, T2 e T3). Para massa periepididimal, GC apresentou aumento de 45% no pós destreino comparado ao pós treino. Os grupos HIIT e MICE apresentaram valores inferiores no pós destreino quando comparados ao GC. Na comparação entre grupos relativa ao delta de variação entre pós treino e pós destreino, houve diferença na massa periepididimal ($p=0,012$), com HIIT apresentando valores inferiores ao GC ($p=0,009$). A análise grupo a grupo da área do adipócito periepididimal revelou diferenças entre momentos ($p=0,001$), com o pós treino sendo inferior a pós destreino no HIIT ($p=0,014$) e no GC ($p=0,012$). Em conclusão, nossos achados demonstraram efeitos positivos de ambas intervenções (HIIT e MICE) no controle da massa do tecido adiposo periepididimal de ratos adultos após 4 semanas de interrupção de exercício, com menor ganho de massa no grupo HIIT. A determinação da área do adipócito apresentou valores maiores no pós destreino comparados ao pós treino nos grupos HIIT e GC, o que poderia ser considerado como hipertrofia das células do tecido adiposo periepididimal.

Introdução

Durante o exercício, lipídios são considerados como importante fonte de energia principalmente em esforços contínuos de baixa e moderada intensidade (MICE) e longa duração, mobilizando o tecido adiposo de modo elevado em termos relativos (Muscella et al., 2020). Este tipo de estímulo estressa depósitos de gordura durante o esforço, ocasionando lipólise de triglicerídeos, principalmente nos adipócitos de gordura e nos estoques intramusculares de triacilglicerol (Muscella et al., 2020), assim como o transporte de ácidos graxos do plasma sanguíneo para o sarcoplasma muscular (Romijn et al., 1993), o que poderia ocasionar redução da adiposidade e mudanças favoráveis no perfil lipídico (Sene-Fiorese et al., 2008). No entanto, assim como outros elementos biológicos, o tecido adiposo tende a exibir respostas supercompensatórias agudas (Schenk & Horowitz, 2007) e crônicas (Benatti et al., 2012) após ser estressado, inclusive depois da realização de treinamento aeróbico contínuo com intensidades leve a moderada, predominantemente oxidativos (Sertie et al., 2013).

Nesse contexto, os efeitos da interrupção do treinamento sobre o metabolismo e celularidade dos adipócitos no tecido adiposo periepídimal de ratos Wistar foram investigados por Sertie et al (2013) em intervenção de 12 semanas. Os autores encontraram que destreinamento de 4 semanas após 8 semanas de treinos de corrida em esteira (1h/dia, 5 dias/semana, 50 – 60% VO₂máx) proporcionou aumento de 48% na capacidade de realizar lipogênese em comparação ao grupo que se manteve treinando. A partir de resultados como este, tem-se hipotetizado que a adipogênese tende a ser estimulada quando da cessação do exercício físico (Benatti et al., 2012; Schenk & Horowitz, 2007; Sertie et al., 2013), acompanhada de hipertrofia significativa dos adipócitos (Schenk & Horowitz, 2007), assim como um aumento da capacidade lipogênica (Benatti et al., 2012).

Por outro lado, tem-se hipotetizado que o exercício intermitente de alta intensidade (HIIT) (Buchheit & Laursen, 2013) tenderia a não estimular supercompensação do tecido adiposo por: i) não aprimorar, ao menos de modo agudo, a sensibilidade à insulina (Brestoff et al., 2009; Metcalfe et al., 2015), ii) elevar o dispêndio energético, o consumo de oxigênio pós-exercício (EPOC), a termogênese de repouso e o volume de massa muscular (Greer et al., 2015), iii) promover elevadas concentrações de lactato durante os exercícios, o que inibiria a lipólise (Liu et al., 2009) a partir do direcionamento do efeito compensatório ao glicogênio (Acheson et al., 1988).

Sabe-se que o tecido adiposo tende a apresentar respostas compensatórias após ser estressado (Benatti et al., 2012; Schenk & Horowitz, 2007), inclusive após interrupção de exercícios do tipo contínuo de intensidade moderada (Sertie et al., 2013), entretanto, não está claro se esse mecanismo de supercompensação é dependente do modelo de exercício. Assim sendo, hipotetiza-se que a manipulação das variáveis, referentes a tempo e modelos de esforços como a intensidade do estímulo, relacionadas aos exercícios físicos aeróbios contínuos e intermitentes, poderiam estressar os sistemas orgânicos de modo diferente, e proporcionar modelos variados de supercompensação tecidual (Coswig et al., 2016). Portanto os objetivos do nosso estudo foram comparar os efeitos dos treinamentos contínuo de intensidade moderada (MICE) e do treinamento intermitente de alta intensidade (HIIT) e respectivos efeitos do destreinamento no tecido adiposo periepídimal, na massa corporal, no índice de Lee, no tamanho dos adipócitos e no consumo alimentar de ratos Wistar adultos.

Materiais e Métodos

Tipo de estudo e caracterização das variáveis

Trata-se de estudo experimental, com grupo controle e randomização. Como variável dependente foram considerados massa corporal (MC), índice de Lee, consumo alimentar, bem como a massa adiposa branca e respectivo tamanho dos adipócitos da região periepídimal, visto que é um tecido amplamente estudado na literatura (Braga et al., 2004; Maillard et al., 2019; Sertie et al., 2013, 2015). Como variáveis independentes, consideraram-se tipo de treino (contínuo ou intermitente) e momento (pré-treino, pós-treino, pós-destreino).

Casuística e condições ambientais de sobrevivência

Para cálculo do tamanho amostral, recorreu-se ao software estatístico WINPEPI14.0 for Windows. Foi considerada uma diferença de 7 gramas na massa dos animais entre o grupo intermitente (HIIT) e contínuo (MICE) destreinados, e o cálculo indicou 8 animais para cada grupo. Como foram organizados três grupos (Controle, MICE e HIIT) e três momentos de análise: pré (T1), após oito semanas de treinamento (T2) e após quatro semanas de destreinamento (T3). Também consideramos adicionar um animal em cada grupo para evitar perdas. Para o cálculo utilizamos os desvios padrão de experimento semelhante (Sertie et al., 2013). Considerou-se poder estatístico de 90% e $p < 0,05$. Dessa forma, foram empregados 63 ratos Wistar machos com 60 dias, provenientes do biotério da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Os animais foram mantidos em caixas de 40 x 30 cm, as quais agruparam até 3 animais cada.

Os animais foram treinados no Laboratório de Fisiologia Molecular da Universidade Federal de Pelotas que possuía equipamentos adequados para a intervenção e respectivos procedimentos experimentais. Foi mantido esquema de claro/escuro de 12/12 horas, com temperatura controlada (22 a 23°C), água e ração balanceada padrão para roedores - Nuvilab® CR1 (com composição seguindo as recomendações do National Research Council e National Institute of Health/USA para alimentos de ratos de laboratório) ad libitum. Ao longo de todo o experimento não ocorreram mortes espontâneas ou quaisquer tipos de doenças detectáveis.

Delineamento experimental

Após eutanásia de 9 animais (baseline, T1), os demais foram alocados de forma aleatória em três grupos, a saber: Controle (GC, n=18), Contínuos de intensidade moderada (MICE, n=18) e Treinamento intermitente de alta intensidade (HIIT, n=18).

Em seguida à alocação das unidades experimentais nos três grupos previamente descritos, foi adotado regime de treinamento físico, o qual teve duração de 8 semanas. Findada a intervenção com exercícios físicos, nove (9) animais de cada grupo foram eutanasiados (T2). Então, os grupos foram acompanhados por mais 4 semanas de destreinamento, período no qual os animais foram mantidos sob as mesmas condições anteriormente descritas; porém, sem a prática de exercícios físicos e, após esse período, os animais foram eutanasiados (T3), conforme mostra a figura 1. Esse desenho experimental foi adaptado com base no trabalho de Sertie et al (2013).

Os três momentos de avaliação se deram sempre no período matutino. Os animais foram eutanasiados por exsanguinação cardíaca, após anestesia com isoflurano. Após, tecido adiposo periepídídimo foi coletado, pesado e teve fragmentos parafinados para a realização de análises subsequentes.

Protocolo de intervenção e programas de treinamento

Inicialmente, todos os ratos foram familiarizados com o treinamento em esteira elétrica (Arktus®), adaptada, com 10 baias individuais de 10x50cm, em 5 sessões ao longo de 7 dias. A familiarização se deu com aplicação de esforços com velocidade de 1km/h com duração de 10 min no primeiro dia e acréscimos de 5 min a cada dia. Após este período, os ratos foram submetidos a teste progressivo para determinar capacidade máxima de corrida (CMC). Em relação à intervenção, os grupos experimentais (HIIT e MICE) realizaram o programa de treinamento 5 dias por semana.

Teste de capacidade máxima de corrida (CMC)

Após a familiarização, o teste incremental de CMC se deu de acordo com o proposto por Koch e Britton (2001) e adaptado às condições do nosso laboratório, principalmente quanto à velocidade mínima de início, no estudo original foi utilizada velocidade inicial de (0,6 km/h ou 10 m/min) em nosso estudo utilizamos (1 km/h ou 16,6 m/min) e estímulos de choque elétrico não foram aplicados. A esteira foi configurada para inclinação de 10% e início a 1 km/h. Após início do teste, a velocidade foi incrementada em 0,1 km/h a cada 2 min e cada animal correu até exaustão. O ponto de exaustão foi operacionalmente determinado quando o animal não conseguia acompanhar a velocidade da esteira em três tentativas consecutivas após estímulo mecânico efetuado pelos pesquisadores (valores de baseline: GC: $1,47 \pm 0,18$ km/h; MICE: $1,4 \pm 0$ km/h; HIIT: $1,77 \pm 0,06$ km/h). O teste foi aplicado a cada duas semanas para ajustes nas cargas de trabalho. **Grupo de exercícios contínuos (MICE)**

O protocolo do grupo MICE foi composto por exercícios contínuos e de moderada intensidade, que iniciaram a velocidade de 60-80% da CMC começando com 10 min no primeiro dia e atingindo 25 min/dia na semana 1. A duração e a intensidade progrediram de modo que se manteve carga de trabalho entre 60-80% da CMC com 10% de inclinação durante 40 min/dia de exercício (Bexfield et al., 2009; Sertie et al., 2013).

Grupo de exercícios intermitentes (HIIT)

O protocolo do grupo HIIT consistiu de corrida na esteira com relação de esforço-pausa de 1:1, com 30 segundos a 110% da CMC e 30 segundos de recuperação ativa a 50% da CMC. Para isto, após o período de familiarização, ao longo das semanas, o número de sprints foi incrementado de modo progressivo, iniciando com 15 sprints na semana 1, 20 sprints na semana 2, 25 sprints nas semanas 3, 4 e 5 e 30 sprints nas semanas 6, 7 e 8, perfazendo total de 30 min de exercício nessas últimas 3 semanas. A escolha do protocolo se deu na tentativa de equalização do volume de treino de ambos os grupos.

Morfometria

A massa corporal (MC) dos animais foi mensurada semanalmente com balança digital (Toledo®, Brazil, com sensibilidade mínima de 125g) e foi expressa em valores absolutos e pela média semanal. Já o índice de Lee foi mensurado a partir de equação dividindo a raiz cúbica do peso corporal (g) pelo comprimento nasoanal (cm) e multiplicando o resultado por 1000 (Malafaia et al., 2013).

Após anestesia com isoflurano, os animais foram eutanasiados e tiveram o tecido adiposo periepididimal (PE) coletados e pesados em balança semi analítica (Marte, Model AD330, Brazil, com sensibilidade de 0,001g) (Figura 2, Painel A).

Determinação do tamanho do adipócito e preparações histológicas

Após fixação em paraformaldeído a 4%, pH 7.2, por 16 h a 4°C, as amostras de tecido adiposo foram desidratadas em etanol absoluto, limpas em xilol, e então embebidas em parafina. A parafina foi cortada em cortes de 5- μ m que foram corados com hematoxilina de Harris, contracorados com eosina e avaliados em microscopia de luz (Leipzig, modelo 5Xi-eLED, câmera Motic, modelo Motacam 5, 5MP) utilizando objetiva de 10x (Figura 2, Painel B). Para determinação da área do adipócito, o procedimento se deu de acordo com o trabalho do Sertie et al. (2013) e adaptado às condições do nosso laboratório. Foram analisadas aproximadamente 300 adipócitos (quatro lâminas para cada tecido de um rato, nove ratos por grupo) com membrana intacta, contadas aleatoriamente no computador. O tamanho do adipócito foi determinado pela média das células analisadas. As imagens foram capturadas com software de captura Motic Images Plus 2.0. O software ImageJ versão 1.8.0_172 foi utilizado para avaliar a área do adipócito.

Consumo alimentar

Foram ofertados 600g de ração por caixa por semana. Nesse sentido, toda sexta-feira a ração foi pesada em balança digital (Toledo®, Brazil, com sensibilidade mínima de 125g) para controle da quantidade semanal que cada grupo consumiu. Ao fim do estudo foi utilizada a média das caixas de cada semana para determinação do consumo alimentar (Maillard et al., 2019).

Análise estatística

Para análise estatística, foi realizado cegamento dos dados. A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Uma vez que os dados se apresentaram com distribuição normal, resultados descritivos foram apresentados a partir de média e desvio padrão. Para análise inferencial, foi avaliada a igualdade de variâncias com o teste de Levene e realizada análise de variância de dois caminhos (ANOVA), com pós-hoc de Tukey para grupo (GC, MICE ou HIIT) e de Bonferroni para momento (T1, T2 e T3). A magnitude das diferenças foi apresentada utilizando o η^2 , o qual pode ser classificado como pequeno (0.1), médio (0.24) ou grande (0.37) (Cohen, 1988). Para a relação entre as variáveis massa corporal

e consumo alimentar foi empregada correlação de Pearson. Após, os mesmos foram apresentados com medidas de centralidade e dispersão, na forma tabular e gráfica (Kirkwood & Sterne, 2003). O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Aspectos éticos do estudo com experimentação animal

O projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa animal da Universidade Federal de Pelotas de acordo com a Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) sob o parecer número 11/2020. As condições de acondicionamento em biotério e eutanásia animal seguiram as padronizações vigentes, seguindo princípios de boa qualidade, com vistas a gerar sofrimento mínimo às cobaias envolvidas no estudo.

Resultados

A tabela 1 apresenta os efeitos do treinamento e do destreinamento em relação às variáveis estudadas.

Consumo alimentar

Inicialmente, destaca-se que não houve diferença estatística entre momentos (T1, T2 e T3) no consumo alimentar ($F: 2,2$; $p = 0,07$; $\eta^2 = 0,27$), e nem entre grupos nos três momentos.

Entretanto, ao se correlacionar consumo alimentar com massa corporal, observou-se valores significantes apenas no MICE, ou seja, quanto maior a massa corporal, maior foi o consumo alimentar (MICE: $r = 0,62$; $p = 0,032$; HIIT: $r = 0,548$; $p = 0,065$; GC: $r = 0,315$; $p = 0,319$).

Massa corporal e índice de Lee

Para massa corporal, houve diferença estatisticamente significativa entre momento ($F = 11,9$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,64$), com T3 sendo superior a T2 em todos os grupos, conforme mostra a figura 3 (HIIT: $p = 0,002$; MICE: $p = 0,001$; GC: $p = 0,002$), sendo que não houve diferenças entre grupos.

O índice de Lee não apresentou diferenças entre grupos ($F = 2,104$; $p = 0,133$; $\eta^2 = 0,07$); no entanto, foram identificadas diferenças significantes entre momentos ($F = 6,48$; $p = 0,014$; $\eta^2 = 0,109$), com T2 sendo inferior a T3 em todos os grupos.

Massa periepididimal e tamanho do adipócito

A análise da massa periepididimal apresentou diferenças entre grupos ($F=15,322$; $p=0,001$; $\eta^2=0,301$), entre momentos ($F=16,3$; $p=0,001$; $\eta^2=0,160$) e houve interações significativas entre grupo e momento ($F=3,369$; $p=0,043$; $\eta^2=0,066$). O valor da massa do epidídimo em T1 foi inferior ao momento T2 para HIIT ($p=0,004$), MICE ($p=0,001$) e GC ($p<0,001$) (Figura 4, Painel A). O GC apresentou valores em T2 inferiores ao T3 ($p=0,002$, Figura 4, Painel B). O grupo HIIT ($p<0,001$) e grupo MICE ($p=0,017$) apresentaram valores inferiores no T3 comparados ao GC, conforme figura 5, painel A. Na análise do delta de variação entre T2 e T3 na comparação entre os grupos, houve diferença estatística na massa periepididimal ($p=0,012$), sendo que o grupo HIIT apresentou valores inferiores ao GC ($p=0,009$), o que é demonstrado na figura 4, painel C. Na análise da área de adipócitos periepididimais, não houve diferenças entre grupos ($F=1,162$; $p=0,321$; $\eta^2=0,03$). E, embora não tenham ocorrido interações significantes entre os grupos (Figura 5, Painel B), a análise entre grupos revelou diferenças entre momentos ($F=25,177$; $p=0,001$; $\eta^2=0,322$), com T2 sendo inferior ao T3 no HIIT ($p=0,014$) e no GC ($p=0,012$).

Discussão

O presente estudo teve como objetivos analisar os efeitos de dois tipos de exercícios físicos (MICE e HIIT) e respectivo período de destreino em ratos Wistar adultos. Os principais resultados da investigação indicam que: i) ambas intervenções (MICE e HIIT) tiveram efeitos positivos no controle da massa do tecido adiposo periepididimal, mesmo após 4 semanas de interrupção de exercício, ii) a determinação da área do adipócito mostrou que os grupos HIIT e GC apresentaram valores maiores em T3 comparados a T2, o que poderia ser considerado como hipertrofia das células do tecido adiposo periepididimal, iii) na análise do delta de variação entre T2 e T3 na comparação entre os grupos, houve menor ganho na massa periepididimal no grupo HIIT.

Sabe-se que o exercício físico ajuda a manter o controle de massa corporal a longo prazo e promove redução da massa adiposa visceral (Hansen et al., 2007), inclusive em programas de treinamento que não há restrição calórica (Ross & Leveritt, 2001). Em estudo anterior (Weiss et al., 2017), 52 participantes com sobrepeso realizaram por 12 a 14 semanas exercícios de caminhada rápida, corrida, ciclismo, e atividades físicas funcionais. Os resultados demonstraram que houve perda de peso efetiva (7%) apenas com exercício, assim como preservação da massa corporal magra e melhora do consumo máximo de oxigênio quando comparado à perda de peso apenas com déficit energético. No entanto, pouco se avalia a respeito dos efeitos do destreinamento, tema que tem reemergido recentemente (Del Vecchio

et al., 2020). Complementarmente, o declínio na quantidade de atividade física, que afeta o balanço energético e provoca desequilíbrio na ingestão e gasto energético também poderia ser um dos possíveis fatores que explicaria este comportamento (Cox, 2017). No entanto, como houve correlação significativa entre consumo alimentar e a massa corporal na intervenção MICE, pode-se considerar que, nesse ambiente controlado, a massa corporal responde em linha com o consumo alimentar. Especificamente nas últimas quatro semanas do presente estudo, os ratos destreinados dos grupos HIIT e MICE ganharam massa corporal, sem diferenças em relação ao GC. Indica-se, nesse sentido, que o HIIT pode não ter promovido o estresse fisiológico necessário para desencadear os mecanismos de proteção contra aumento do tecido adiposo (Coswig et al., 2016).

O índice de Lee, proposto em 1928, é um indicador equivalente ao índice de massa corporal (IMC) em humanos e pode ser usado para identificar de forma rápida e precisa a obesidade em ratos (Bernardis & Patterson, 1968). Estudos prévios identificaram que esta variável aumenta significativamente com o aumento da idade em ratos até 90 dias de idade e permanecem constantes a partir de então (Novelli et al., 2007). No presente estudo os animais finalizaram a intervenção com 90 dias, possivelmente, por isso esse índice foi maior em T3 comparado a T2 em todos os grupos.

No presente estudo foram empregados animais adultos e, portanto, devido ao seu crescimento e envelhecimento, poderiam ser esperados aumentos nos valores da massa periepididimal no decorrer do tempo (Ghasemi et al., 2021). Considerando-se apenas T1 e T2, dados do nosso estudo indicam que houve aumento da massa PE, esse resultado pode ser explicado pelo fato de não termos usados ratos que foram induzidos a obesidade, seguindo assim com o crescimento normal dos tecidos (Braga et al., 2004). Entretanto, somente o GC apresentou aumento significativo no período T3, mostrando que as intervenções com exercício físico (MICE e HIIT) tiveram efeitos positivos no controle da massa do tecido adiposo periepididimal, mesmo após 4 semanas de interrupção de exercício.

Em estudo anterior (Braga et al., 2004), avaliaram-se os efeitos do destreino na gordura corporal em ratos que se exercitaram de forma contínua ou intermitente por 12 semanas, 5 dias por semana e que passaram por destreino de 8 semanas. Nesse estudo, os animais foram separados em subgrupos e receberam 4 miligramas (mg) de glutamato monossódico por grama (g) de peso corporal ou solução salina durante 14 dias. O exercício contínuo era composto por 45 minutos de natação com sobrecarga individual de 5% do peso corporal do animal; o programa intervalado constituiu de tempo total de 45 minutos de natação,

alternando-se 15 s de esforço com sobrecarga de 15% da massa corporal por 15 s de repouso. Indica-se que ambos os métodos foram eficazes no controle da massa corporal e as carcaças dos animais treinados que receberam glutamato monossódico apresentaram menos gordura que os sedentários, demonstrando efeito protetor do exercício físico, mesmo com alimentação inadequada. Entretanto, diferente do nosso estudo, os efeitos de ambos os protocolos de treinamento foram transitórios uma vez que após o período de destreinamento esses efeitos desapareceram (Braga et al., 2004). Talvez, isso tenha ocorrido por conta da suplementação precoce de glutamato monossódico, que induziu a obesidade, aumentando o teor de gordura na carcaça e no peso do tecido adiposo epididimal (Braga et al., 2004).

Em outro estudo, ratos foram submetidos a MICE (8 sem de treinos, 5x/sem, 60 min/sessão a 50-60% da capacidade máxima de corrida) seguido de destreinamento de 4 semanas ou controle durante 12 semanas. Os resultados indicam que houve ganho de peso corporal após o período de 4 semanas de destreinamento físico. Quando comparado ao grupo controle, o tecido adiposo total e sua capacidade lipogênica aumentaram ao longo do período de destreinamento, assim como também apresentaram maior capacidade de transporte e oxidação de glicose desenvolvida pelos adipócitos quando estimulados pela insulina (Sertie et al., 2015).

Em nosso estudo, o delta da massa periepididimal (massa T3 menos massa T2) foi menor no HIIT em relação ao GC, reduzindo assim o crescimento da massa PE, ao contrário do MICE, que não demonstrou essa diferença. Em estudo anterior, Maillard et al (2019) compararam os efeitos do MICE com o HIIT no cross-talk intestino-tecido adiposo em ratos Zucker machos obesos ($n = 36$), os quais foram divididos em três grupos: MICE (12m/min por 51 min), HIIT (6 sprints de 4 min a 18m/min seguidos de 3 min a 10m/min) e controles (CONT; sem exercício), sendo que os animais correram em esteira 5 dias/semana por 10 semanas. Após o período de exercícios, a massa gorda abdominal total e epididimal diminuiu apenas no grupo HIIT, sendo menor à observada no grupo CONT na semana 5 ($p \leq 0,05$) e na semana 8 ($p \leq 0,01$), e à observada grupo MICE ao final do protocolo de treinamento ($p \leq 0,05$). Os autores concluíram que o HIIT promoveu redução na massa gorda abdominal e de forma mais eficiente que o MICE. Essa diminuição na massa gorda abdominal e visceral pode ser explicada por alterações específicas na via da lipólise, incluindo redução na sensibilidade dos receptores adrenérgicos ou de insulina no tecido adiposo, aumento na atividade de enzimas lipolíticas, redução na atividade de enzimas lipogênicas ou adaptações mitocondriais (Maillard et al., 2019). Além disso, o HIIT pode afetar favoravelmente o gasto energético de várias

maneiras (Shen et al., 2015). Sabe-se que fluxo de energia do músculo esquelético durante a contração é dependente da intensidade e, ao mesmo tempo, o exercício em alta intensidade esgota os estoques de glicogênio, eleva as taxas de oxidação de gordura e aumenta o gasto energético no período pós-exercício (Shen et al., 2015). No entanto, os autores não avaliaram as respostas ao destreinamento.

No presente estudo também investigamos o tamanho dos adipócitos a partir de técnica consolidada na literatura (Sertie et al., 2013). Neste sentido, dados mostraram que o HIIT e GC apresentaram valores maiores após o destreinamento (T3) em comparação ao momento pós-treino (T2), o que poderia indicar hipertrofia das células do tecido adiposo periepídimal após o período de destreinamento (Figura 5), ao contrário da nossa hipótese inicial.

Acreditamos que isso pode ter ocorrido devido ao protocolo de treino aplicado no grupo HIIT, a partir de duas perspectivas: i) a intensidade não foi alta o suficiente para elevar a concentração de lactato sanguíneo como esperado, provavelmente em decorrência da pequena intensidade do período de esforço e dos intervalos curtos (Valstad et al., 2018) e isto fez com que não ocorresse inibição da lipólise (Liu et al., 2009); e, ii) o HIIT proporcionou melhora na sensibilidade à insulina no tecido adiposo, promovendo maior captação e oxidação de glicose nos adipócitos no período de destreino (Marcinko et al., 2015).

Nesse sentido, sabe-se que o exercício intenso aumenta a fosforilação e a inibição da acetil-CoA carboxilase (ACC) pela proteína quinase ativada por AMP (AMPK) no músculo, tecido adiposo e fígado (Marcinko et al., 2015). Reconhece-se que AMPK e ACC são enzimas-chave que regulam o metabolismo de ácidos graxos, teor de gordura no fígado, inflamação do tecido adiposo e sensibilidade à insulina (Marcinko et al., 2015). Assim, melhorias na capacidade do adipócito de absorver e oxidar a glicose podem ser cruciais para a regulação metabólica durante a fase de treinamento, mas também podem causar acúmulo de gordura após o término do exercício (Coswig et al., 2016). Em estudo anterior (Sertie et al., 2015), verificou-se que adipócitos de animais destreinados aumentam sua capacidade de captação de glicose em 18,5% em comparação com os de animais sedentários ($p < 0,05$). As mesmas células também apresentam maior capacidade de oxidação da glicose em resposta à estimulação insulínica (34,55%) em comparação com o grupo sedentário ($p < 0,05$).

O presente estudo não está livre de limitações. Pelo menos três aspectos merecem destaque: i) Não foi realizada análise de lactato sanguíneo, o que poderia melhorar a precisão da intensidade do exercício e garantir a possível inibição da lipólise no grupo HIIT; ii) A contagem do número de células do tecido adiposo não foi efetuada; iii) Não foi realizada

seleção prévia de ratos corredores natos, o que implicou em dificuldades de fazer os animais correrem durante as intervenções com o treinamento. Em contrapartida, tais limitações se minimizam em frente aos dados dos indicadores de velocidade utilizados nos testes de capacidade máxima de corrida e também à vastidão de possibilidades a serem investigadas acerca dos efeitos do destreinamento no tecido adiposo, principalmente em relação a diferentes modelos de treinamento, e este artigo é um dos primeiros a investigar e apresentar dados acerca do assunto. Sugere-se que mais pesquisas sejam conduzidas afim de investigar os efeitos da cessação do exercício no metabolismo da gordura e em diversos tecidos corporais após diferentes tipos de exercícios.

Conclusão

Em conclusão, nossos achados demonstraram efeitos positivos de ambas intervenções (HIIT e MICE) no controle da massa do tecido adiposo periepídídimo de ratos adultos após 4 semanas de interrupção de exercício, com menor ganho de massa adiposa no grupo HIIT na análise do delta de variação entre pós treino e pós destreino dos grupos. Foi observado que a determinação da área do adipócito apresentou valores maiores no pós destreino comparados ao pós treino nos grupos HIIT e GC, o que poderia indicar hipertrofia das células do tecido adiposo periepídídimo.

Referências

- Acheson, K. J., Schutz, Y., Bessard, T., Anantharaman, K., & Flail, J.-P. (1988). Glycogen storage capacity and de novo lipogenesis during massive carbohydrate overfeeding in man. *American Society for Clinical Nutrition*, 48, 240–247. <https://doi.org/10.1093/ajcn/48.2.240>
- Benatti, F., Solis, M., Artioli, G., Montag, E., Painelli, V., Saito, F., Baptista, L., Costa, L. A., Neves, R., Seelaender, M., Ferriolli, E., Pfrimer, K., Lima, F., Roschel, H., Gualano, B., & Lancha, A. (2012). Liposuction induces a compensatory increase of visceral fat which is effectively counteracted by physical activity: A randomized trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97(7), 2388–2395. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-1012>
- Bernardis, L. L., & Patterson, B. D. (1968). Correlation between “lee index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *Journal of Endocrinology*, 40, 527–528. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0400527>
- Bexfield, N. A., Parcell, A. C., Nelson, W. B., Foote, K. M., & Mack, G. W. (2009). Adaptations to high-intensity intermittent exercise in rodents. *Journal of Applied Physiology*, 107(3), 749–754. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.91446.2008>
- Braga, L., Mello, M., Manchado, F., & Gobatto, C. (2004). Exercício contínuo e intermitente: Efeitos do treinamento e do destreinamento sobre o peso corporal e o metabolismo muscular de ratos obesos. *Revista Portuguesa de Ciências Do Desporto*, 6, 160–169. <https://doi.org/10.5628/rpcd.06.02.160>
- Brestoff, J. R., Clippinger, B., Spinella, T., von Duvillard, S. P., Nindl, B., & Arciero, P. J. (2009). An acute bout of endurance exercise but not sprint interval exercise enhances insulin sensitivity. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, 34(1), 25–32. <https://doi.org/10.1139/H08-126>
- Cohen, J. (1988). *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences Second Edition* (Hillsdale, Ed.; 2nd edition).
- Coswig, V., Cabistany, L., & Del Vecchio, F. (2016). Hypotheses for fat tissue supercompensation after exercise cessation. *Hypothesis*, 14, 1–10. <https://doi.org/10.5779/hypothesis.v14i1.509>
- Cox, C. E. (2017). Role of Physical Activity for Weight Loss and Weight Maintenance. *Diabetes Spectrum : A Publication of the American Diabetes Association*, 30(3), 157–160. <https://doi.org/10.2337/ds17-0013>
- Del Vecchio, F. B., Coswig, V. S., Cabistany, L. D., Orcy, R. B., & Gentil, P. (2020). Effects of exercise cessation on adipose tissue physiological markers related to fat regain: A systematic review. *SAGE Open Medicine*, 8, 205031212093695. <https://doi.org/10.1177/2050312120936956>
- Ghasemi, A., Jeddi, S., & Kashfi, K. (2021). The laboratory rat: Age and body weight matter. *EXCLI Journal*, 20, 1431–1445. <https://doi.org/10.17179/excli2021-4072>
- Greer, B. K., Sirithienthad, P., Moffatt, R. J., Marcello, R. T., & Panton, L. B. (2015). EPOC comparison between isocaloric bouts of steady-state aerobic, intermittent aerobic, and

resistance training. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 86(2), 190–195.
<https://doi.org/10.1080/02701367.2014.999190>

Hansen, D., Dendale, P., Berger, J., van Loon, L. J. C., & Meeusen, R. (2007). The Effects of Exercise Training on Fat-Mass Loss in Obese Patients During Energy Intake Restriction. *Sports Med*, 37(1), 31–46. <https://doi.org/10.2165/00007256-200737010-00003>

Kirkwood, B. R., & Sterne, J. A. C. (2003). *Essential Medical Statistics: 11* (F. Goodgame, V. Pinder, K. Moore, & K. Charman, Eds.; 2nd ed., Vol. 2). Blackwell Publishing Ltd.

Koch, L. G., & Britton, S. L. (2001). Artificial selection for intrinsic aerobic endurance running capacity in rats. *Physiological Genomics*, 5, 45–52.
<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.2001.5.1.45>

Liu, C., Wu, J., Zhu, J., Kuei, C., Yu, J., Shelton, J., Sutton, S. W., Li, X., Su, J. Y., Mirzadegan, T., Mazur, C., Kamme, F., & Lovenberg, T. W. (2009). Lactate inhibits lipolysis in fat cells through activation of an orphan G-protein-coupled receptor, GPR81. *Journal of Biological Chemistry*, 284(5), 2811–2822. <https://doi.org/10.1074/jbc.M806409200>

Maillard, F., Vazeille, E., Sauvanet, P., Sirvent, P., Combaret, L., Sourdrille, A., Chavanelle, V., Bonnet, R., Otero, Y. F., Delcros, G., Barnich, N., & Boisseau, N. (2019). High intensity interval training promotes total and visceral fat mass loss in obese Zucker rats without modulating gut microbiota. *PLOS ONE*, 14(4), e0214660.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214660>

Malafaia, A. B., Nassif, P. A. N., Ribas, C. A. P. M., Ariede, B. L., Sue, K. N., & Manuela Aguiar Cruz. (2013). Obesity induction with high fat sucrose in rats. *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, 26(1), 17–21. <https://doi.org/10.1590/s0102-67202013000600005>

Marcinko, K., Sikkema, S. R., Samaan, M. C., Kemp, B. E., Fullerton, M. D., & Steinberg, G. R. (2015). High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Molecular Metabolism*, 4(12), 903–915.
<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.09.006>

Metcalfe, R., Vollaard, N., & Fawcner, S. (2015). Physiology & Biochemistry No Acute Effect of Reduced-exertion High-intensity Interval Training REHIT on Insulin Sensitivity. *Sports Medicine*. <https://doi.org/10.2015/MPS>

Muscella, A., Stefàno, E., Lunetti, P., Capobianco, L., & Marsigliante, S. (2020). The regulation of fat metabolism during aerobic exercise. *Biomolecules*, 10(12), 1–29.
<https://doi.org/10.3390/biom10121699>

Novelli, E. L. B., Diniz, Y. S., Galhardi, C. M., Ebaid, G. M. X., Rodrigues, H. G., Mani, F., Fernandes, A. A. H., Cicogna, A. C., & Novelli Filho, J. L. V. B. (2007). Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals*, 41(1), 111–119.
<https://doi.org/10.1258/002367707779399518>

Romijn, J. A., Coyle, E. F., Sidossis, L. S., Gastaldelli, A., Horowitz, J. F., Endert, E., & Wolfe, R. R. (1993). *Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration*. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1993.265.3.E380>

- Ross, A., & Leveritt, M. (2001). Long-Term Metabolic and Skeletal Muscle Adaptations to Short-Sprint Training Implications for Sprint Training and Tapering. *Sports Medicine*, 31, 1063–1082. <https://doi.org/10.2165/00007256-200131150-00003>
- Schenk, S., & Horowitz, J. F. (2007). Acute exercise increases triglyceride synthesis in skeletal muscle and prevents fatty acid-induced insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, 117(6), 1690–1698. <https://doi.org/10.1172/JCI30566>
- Sene-Fiorese, M., Duarte, F. O., Scarmagnani, F. R. R., Cheik, N. C., Manzoni, M. S. J., Nonaka, K. O., Rossi, E. A., de Oliveira Duarte, A. C. G., & Dâmaso, A. R. (2008). Efficiency of intermittent exercise on adiposity and fatty liver in rats fed with high-fat diet. *Obesity*, 16(10), 2217–2222. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.339>
- Sertie, R. A. L., Andreotti, S., Proença, A. R. G., Campaña, A. B., & Lima, F. B. (2015). Fat gain with physical detraining is correlated with increased glucose transport and oxidation in periepididymal white adipose tissue in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 48(7), 650–653. <https://doi.org/10.1590/1414-431X20154356>
- Sertie, R. A. L., Andreotti, S., Proença, A. R. G., Campana, A. B., Lima-Salgado, T. M., Batista, M. L., Seelaender, M. C. L., Curi, R., Oliveira, A. C., & Lima, F. B. (2013). Cessation of physical exercise changes metabolism and modifies the adipocyte cellularity of the periepididymal white adipose tissue in rats. *Journal of Applied Physiology*, 115(3), 394–402. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01272.2012>
- Shen, Y., Xu, X., Yue, K., & Xu, G. (2015). Effect of different exercise protocols on metabolic profiles and fatty acid metabolism in skeletal muscle in high-fat diet-fed rats. *Obesity*, 23(5), 1000–1006. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/oby.21056>
- Valstad, S., von Heimburg, E., Welde, B., & van den Tillaar, R. (2018). Comparison of Long and Short High-Intensity Interval Exercise Bouts on Running Performance, Physiological and Perceptual Responses. *Sports Medicine International Open*, 02(01), E20–E27. <https://doi.org/10.1055/s-0043-124429>
- Weiss, E. P., Jordan, R. C., Frese, E. M., Albert, S. G., & Villareal, D. T. (2017). Effects of Weight Loss on Lean Mass, Strength, Bone, and Aerobic Capacity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 49(1), 206–217. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001074>

Conflitos de interesse —

Os autores certificam que não há conflito de interesse com nenhuma organização financeira em relação ao material discutido no manuscrito.

Financiamento —

Os autores relatam nenhum envolvimento na pesquisa por parte de patrocinador que possa ter influenciado o resultado deste trabalho.

Contribuição dos autores —

F.B.D.V. e R.B.O. concepção e desenho da pesquisa; G.M.S., A.S.S., A.O.C.F., e R.S.V. experimentos realizados; G.M.S., A.S.S. dados analisados; G.M.S., A.S.S., F.B.D.V. e R.B.O. interpretados resultados de experimentos; G.M.S., F.B.D.V. figuras preparadas; G.M.S., F.B.D.V., R.B.O. manuscrito redigido; F.B.D.V., R.B.O., G.M.S., A.S.S., A.O.C.F., e R.S.V. versão final aprovada do manuscrito.

Agradecimentos —

Os autores agradecem a equipe do Experimental Physiology pela revisão do manuscrito.

Tabelas

Tabela 1 - Massa Corporal (MC) inicial, Massa corporal e Consumo Alimentar (CA) durante 8 semanas de treino e 4 de destreino, Índice de Lee, área do adipócito periepídídimal (PE) e massa periepídídimal (T1), (T2) e (T3).

Pré intervenção (T1)	Linha de base		
Massa corporal (g)	313,89 ± 16,54		
Índice de Lee	315,90 ± 9,42		
Área do adipócito PE (µm ²)	2908,49 ± 203,53		
Massa PE (g)	0,19 ± 0,08 ^a		
Pós treinamento (T2)	HIIT	MICE	GC
Massa corporal (g)	371,88 ± 34,66 ^b	363,34 ± 37,13 ^b	390,95 ± 50,06 ^b
Consumo alimentar (g)	489,58 ± 92,92	490,83 ± 90,69	533,12 ± 113,28
Índice de Lee	310,22 ± 8,28	307,28 ± 8,24	307,45 ± 5,27
Área do adipócito PE (µm ²)	2753,49 ± 189,59 ^b	2788,95 ± 202,64	2794,68 ± 176,09 ^b
Massa PE (g)	0,32 ± 0,05 ^a	0,33 ± 0,08 ^a	0,4 ± 0,07 ^a
Pós destreino (T3)			
Massa corporal (g)	463,55 ± 17,69 ^b	458,72 ± 17,67 ^b	483,63 ± 6,64 ^b
Consumo alimentar (g)	601,16 ± 35,5	611, 58 ± 32,8	576,58 ± 21,54
Índice de Lee	317,55 ± 7,19	310,21 ± 7,39	313,21 ± 9,21
Área do adipócito PE (µm ²)	3134,62 ± 235,52 ^b	2957,22 ± 195,63	3181,72 ± 334,22 ^b
Massa PE (g)	0,34 ± 0,08 ^{cd}	0,43 ± 0,08 ^c	0,58 ± 0,12 ^{cd}

Os dados são apresentados em médias ± desvio padrão. ^aP<0,05 para momento (T1)

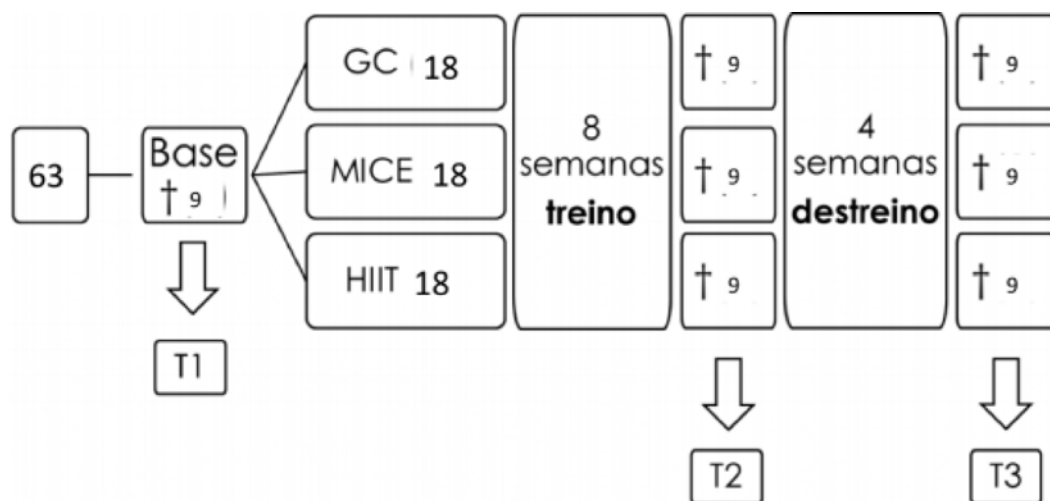
comparado a (T2). ^bP<0,05 para momento (T2) comparado a (T3). ^cP<0,05 para grupo HIIT e

MICE (T3) comparado a GC (T3). ^dP<0,05 para delta de variação entre (T2) e (T3) do grupo

HIIT comparado ao GC.

Lista de figuras

Figura 1 – Delineamento experimental do estudo



GC = Grupo controle; MICE = Grupo exercício contínuo; HIIT = Grupo exercício intermitente. † = Eutanásia. T1 = Eutanásia de linha de base; T2 = Eutanásia pós treino; T3 = Eutanásia pós destreinamento.

Figura 2 – Tecido adiposo periepídídimo coletado sendo pesado (Painel A) e corte histológico do tecido adiposo no microscópio com objetiva de 10x (Painel B).

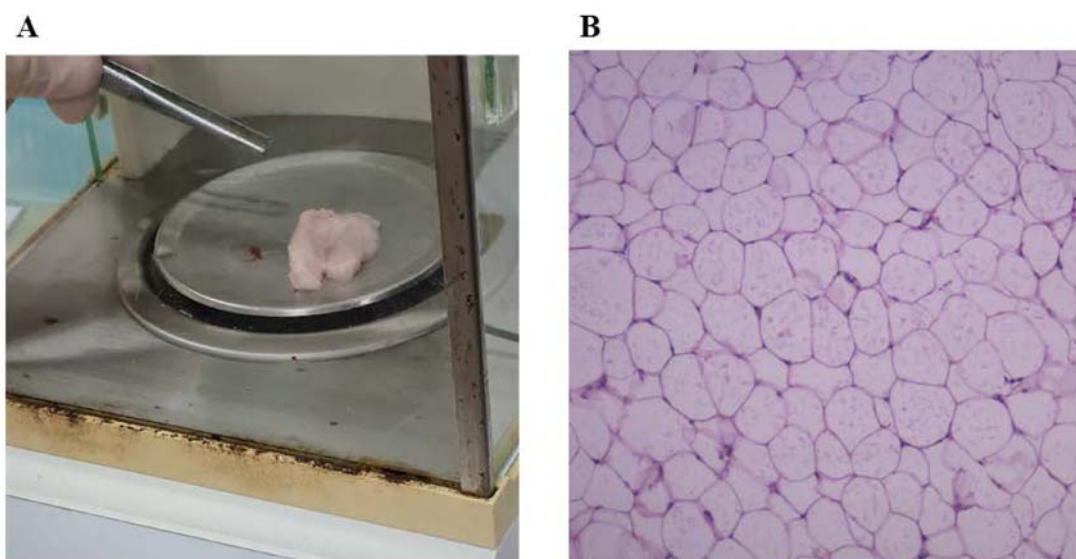
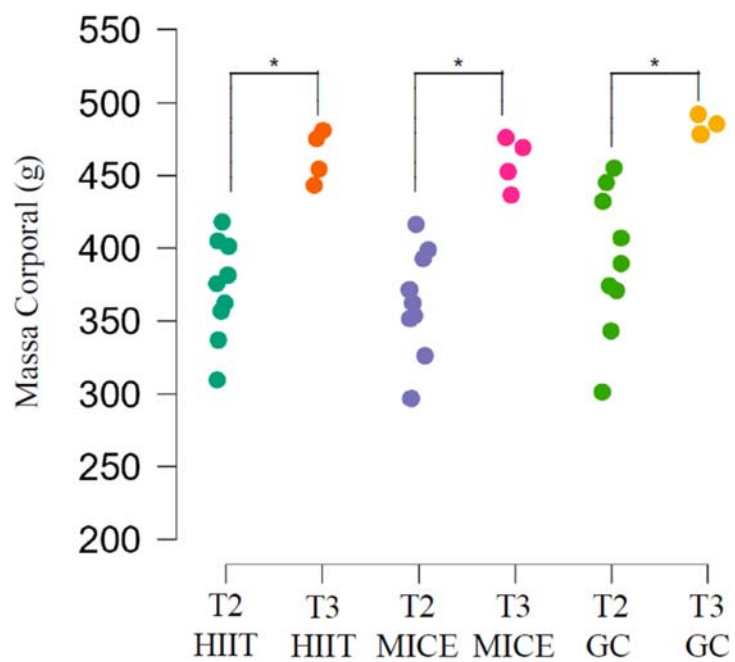
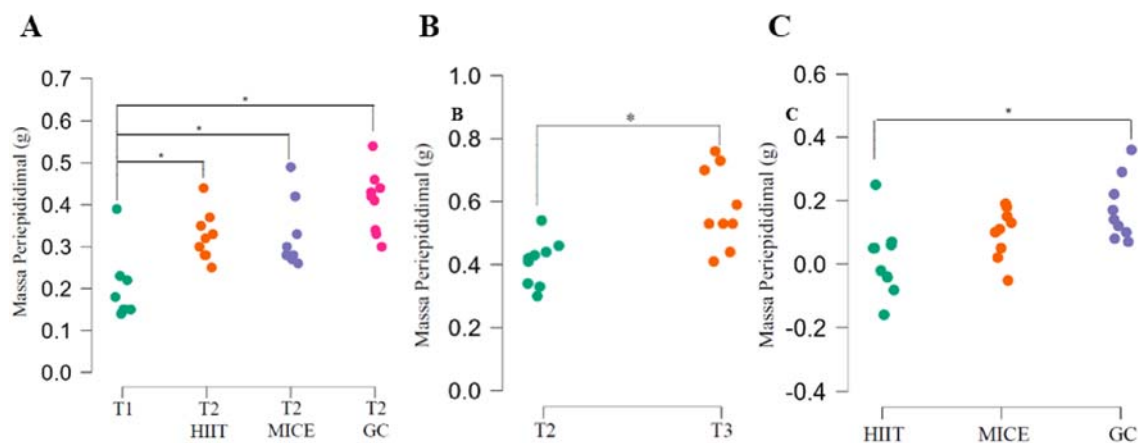


Figura 3 – Diferenças na massa corporal durante as semanas de treinamento e destreinamento



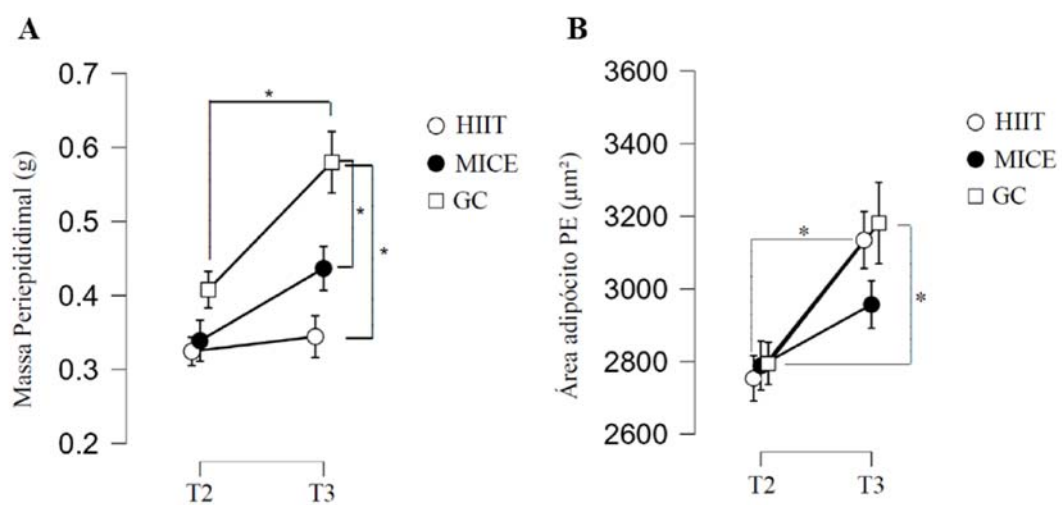
(T2 n=8 semanas) (T3 n=4 semanas). *P<0,05 relativo aos momentos

Figura 4 – Massa periepididimal em T1 e T2 dos grupos HIIT, MICE e GC (Painel A). Efeito do destreinamento na massa periepididimal do GC (Painel B). Delta de variação da massa periepididimal entre grupos, considerando os momentos T2 e T3 (Painel C)



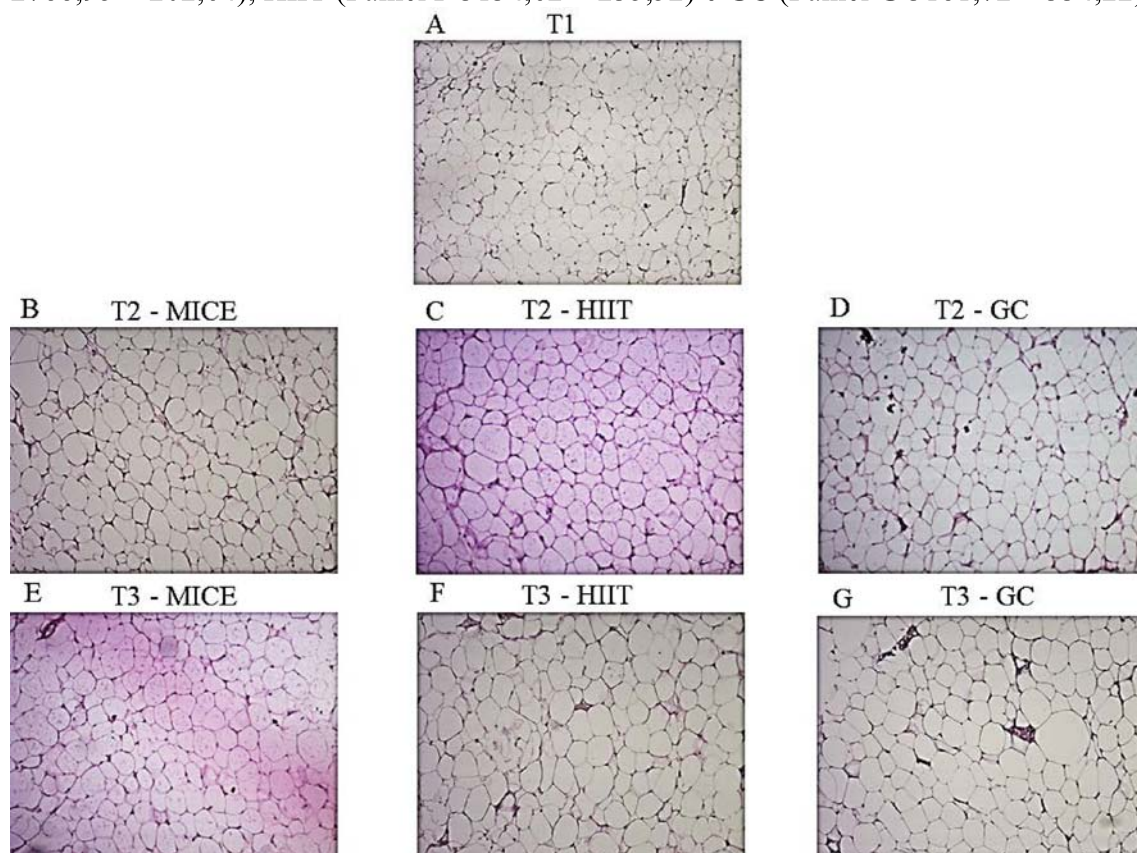
A, * $P < 0,05$ T1 comparado a T2 de todos os grupos, $n = 8$ semanas. B, * $P < 0,05$ T2 comparado a T3 do GC, $n = 9$ ratos. C, $P < 0,05$ do delta de variação de T3 menos T2 do HIIT comparado ao GC, $n = 9$ ratos.

Figura 5 – Comparação da massa periepididimal (Painel A) e da área do adipócito da massa periepididimal (Painel B), de acordo com grupo e momento.



A, $P < 0,05$ relativo aos grupos e momentos. $N = 9$ animais. B, $*P < 0,05$ relativo aos momentos. $N = 9$ animais.

Figura 6 – Lâmina histológica da massa periepididimal em T1 (Painel A $2908,49 \pm 203,53$), após o treinamento para MICE (Painel B $2788,95 \pm 202,64$), HIIT (Painel C $2753,49 \pm 189,59$) e GC (Painel D $2794,68 \pm 176,09$) e após destreinamento para MICE (Painel E $2788,95 \pm 202,64$), HIIT (Painel F $3134,62 \pm 235,52$) e GC (Painel G $3181,72 \pm 334,22$).



Anexo 1. Normas para submissão da revista *Experimental Physiology*.

Initial submissions

Experimental Physiology supports format-free initial submissions, meaning authors do not have to conform to journal style when first submitting. However, to facilitate the reviewing process, the submitted manuscript should be formatted with the body text in 12 point Times New Roman, or a similar standard font, and line spacing of 1.5. Text should be left-aligned and surrounded by 3 cm margins.

Manuscripts should be submitted initially as a single PDF file; numbered figures and tables should be included in the PDF file. There is no need to provide figures or tables separately.

- The following information is required for all submissions:
- Title not exceeding 150 characters;
- Running title not exceeding 70 characters;
- At least three keywords for use in the reviewing process;
- Name, postal and email addresses for all authors (at least one author should provide an institutional email address unless otherwise agreed with the journal);
- Details of funding received;
- The subject area;
- Thorough methods to permit replication of the research;
- Compliance with the statistics policy. Authors of initial submissions do not need to complete the Statistical Summary Document until invited to revise their manuscript, but are encouraged to do so.;
- Statements on ethics approval and stated compliance with our animal and/or human ethics policy;
- Definition of the experimental 'subject';
- The source of materials and animals, including: species, strain, genotype age and sex;
- Housing and feeding conditions for any animals used, including information on light/dark cycle, or diurnal issues;
- Specific in vivo and in vitro conditions for each experiment (including temperature, in vitro);
- Inclusion and/or exclusion criteria for experimental subjects;

- Statement on whether animal/subjects died before the experiments were concluded were included in subsequent analyses;
- Statement as to whether analysis was conducted blind to the experimental conditions; and
- Sufficient methodological detail to permit replication of the research.

The usual format for research articles is:

- Title Page
- New Findings
- Abstract
- Introduction
- Methods
- Statistics
- Results
- Data Deposition/Accessibility of Sequence Data
- Discussion
- References
- Additional Information
- Competing Interests
- Author Contributions
- Funding
- Acknowledgements
- Tables
- Figures and Legends
- Supporting Information
- Cover Figures

Title page

The title page should include Title/Authors/Addresses/Additional information as listed below.

Title. The title should normally contain no more than 150 characters (including spaces). Include the species, tissue, organ or system if this is important in the context of the findings. Avoid specialist abbreviations if possible. For abbreviations and symbols that

are acceptable in the title see List 1. Titles should be drafted carefully to indicate broadly what the paper is about to all Experimental Physiology readers, including those who are not specialists in the field.

For suggestions on how to optimize your title for search engines see <http://www.wiley.com/legacy/wileyblackwell/pdf/SEOforAuthorsLINKSrev.pdf>

Authorship. The Editorial Board endorses the general principles set out in Guidelines on Good Publication Practice produced by the Committee on Publication Ethics (COPE). The author submitting a manuscript must confirm that all persons designated as authors qualify for authorship, and all those who qualify for authorship are listed, and that all authors have approved the final version of the paper. Each author should take responsibility for a particular section of the study and have contributed to writing the paper (see Author contributions). Acquisition of funding or the collection of data does not alone justify authorship; these contributions to the study should be listed in the Acknowledgements.

Additional information such as 'X and Y have contributed equally to this work' may be added as a footnote on the title page.

If authorship of a manuscript changes during the publication process, notification of the change, signed by all authors must be sent to the Publications Office.

The editorial process cannot proceed until this notification is received.

Addresses. Authors should provide the minimum address information consistent with clarity and should ensure that author affiliations are clearly indicated.

Additional information. The following information is also required on the title page:

- A running title not exceeding 70 characters and spaces for page headings.
- Three key words for use in the reviewing process.
- The total number of words in the paper, excluding references and figure legends.
- The total number of references.
- The name and postal and email addresses for the corresponding author.
- The Subject Area as assigned in the [online submission form](#) for the print and online Table of Contents.

New Findings

Authors are required to complete two 'New findings' boxes on the submission form using no more than 100 words in total distributed between the answers to two questions.

For Research articles:

What is the central question of this study?

What is the main finding and its importance?

For Case Reports:

What is the main observation in this case?

What insights does it reveal?

For Reviews (including Symposium Reviews and Lectures):

What is the topic of this review?

What advances does it highlight?

This information will influence editorial handling of the manuscript.

Please include your New Findings questions and answers in your submitted manuscript file as bullet points above the Abstract where they will be published if your article is accepted for publication. Please ensure that your entry is grammatically correct and does not include any undefined abbreviations.

Please see New Findings examples:

'Altered ion transport by thyroid epithelia from CFTR^{-/-} pigs suggests mechanisms for hypothyroidism in cystic fibrosis' (click on title for Abstract)

What is the central question of this study?

Subclinical hypothyroidism is associated with cystic fibrosis although the mechanisms through which gene mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) produce this effect have not been previously explored.

What is the main finding and its importance?

Using well-differentiated primary thyroid epithelial cells cultured from CFTR^{-/-} pigs, we show the requirement for CFTR in cAMP-stimulated Cl⁻ secretion. Knockout of CFTR also promotes increased Na⁺ absorption without increased expression of the epithelial sodium channel. These functional alterations lead to several models for CFTR function

in thyroid and suggest mechanisms for cystic fibrosis-induced changes in thyroid function.

Cerebroprotection by angiotensin- (1–7) in endothelin-1-induced ischaemic stroke
(click on title for Abstract)

What is the central question of this study?

Activation of angiotensin-converting enzyme 2, resulting in production of angiotensin-(1–7) and stimulation of its receptors (Mas), exerts beneficial actions in a number cardiovascular diseases. A potential role for angiotensin-(1–7) in cerebral ischaemic stroke has not previously been reported.

What is the main finding and its importance?

We show that pharmacological activation of angiotensin-converting enzyme 2 or central administration of angiotensin-(1-7) attenuates cerebral damage induced by middle cerebral artery occlusion in rats. This role of the angiotensin-(1-7) has not previously been reported and identifies a potential new therapeutic target in ischaemic strokes.

Abstract

This should be in one unnumbered paragraph that accurately reflects the contents of the paper and makes clear the physiological significance of the work, the problem addressed, the nature of the results, and the principal conclusions; authors are expected to conclude the summary by explaining the conceptual novelty and the broader physiological importance of their work. Results should be presented quantitatively where appropriate, together with the statistical significance, and the conclusions indicated. References may not be cited. Since the Abstract may be used by abstracting services, a limit of 250 words is recommended. It must not exceed 5 % of the text (excluding references and figure legends), with an absolute maximum of one printed page.

See Guidelines for optimizing the Title and Abstract of your article for search engines.

Introduction

The Introduction should make the background and the object of the research clear, indicate the justification for the work and be understandable to the non-specialist.

Reference to the authors' previous work is desirable only if it has a direct bearing on the subject of the paper; an extensive historical review is not appropriate.

Methods

Please read and comply with our policies regarding Animal Experiments, Human Experiments and statistics..

A detailed explanation of the journal's principles and guidelines on animal experimentation, which includes a checklist for authors, is given in 'Principles and standards for reporting animal experiments in The Journal of Physiology and Experimental Physiology' by David Grundy, Experimental Physiology. doi: 10.1113/EP085299.

Methods should be described once only and should not appear in the legends to figures and tables. Details should be sufficient to allow the work to be repeated by others.

The Methods section should start with a paragraph headed 'Ethics Approval'. Animal studies must meet a minimum set of requirements. A checklist outlining these requirements and detailing the information that must be provided in the paper can be found here. Please note that ether is not an acceptable anaesthetic as it no longer complies with the principle of best practice.

Authors should demonstrate in their Methods section that their experiments comply with the policies and regulations set out in the editorial.

If experiments were conducted on humans, authors must provide confirmation that informed consent was obtained, preferably in writing, that the studies conformed to the standards set by the latest revision of the Declaration of Helsinki (or the version that was in place at the time of the experiments), and that the procedures were approved by a properly constituted ethics committee, which should be named. If the research study was registered (clause 35 of the Declaration of Helsinki) the registration database should be indicated, else the lack of registration should be noted as an exception (e.g. the study conformed to the standard set by the Declaration of Helsinki, except for registration in a database). More information can be found here

Authors must include the reference number from their Institutional Ethics Committee Approval form or if no number has been provided, give details of who has issued the 'Letter of approval' and on what date.

Ethics information must be included for each manuscript. It is not sufficient to refer to previous publications for details, unless the paper is one of a series published in the same issue.

Data Deposition/Accessibility of Sequence Data

Please state access codes for data deposition (e.g. protein/DNA/RNA sequences, macromolecular structures) and where relevant, indicate where computer source codes can be obtained.

Solutions, chemicals and equipment

Precisely identify models and reagents used. State the source, including name of the company/developer/distributor and catalogue reference number and the specificity of any reagents and unique materials. The composition of solutions should be specified. Where appropriate, lists of solutions, chemicals and equipment, and an explanation of data handling procedures may be given as separate headed paragraphs.

Manuscripts are accepted on the understanding that authors are prepared to make available to other investigators any unique reagents or cell lines used in the work reported.

Tissues and cell cultures

Authors working on isolated tissues, including primary cell cultures, must state whether the donor animal was anaesthetised or killed, and give details of the relevant procedures. Where tissues are obtained from an abattoir or similar establishment the method of killing need not be specified unless scientifically important. Experimental Physiology reserves the right to triage without review phenomenological cell line studies which do not identify a causal mechanism or are otherwise deemed not of broad interest.

Antibodies

All articles that use antibodies must provide the following information:

- The source of antibodies, including company name, distributor, developer.
- A representative full blot detailing the validation of each antibody used in the study for protein specificity, excluding loading controls. Lanes on the blot should be

labelled to note the nonspecific and specific bands and the positive and negative controls. Exposure time should be indicated.

- Proof for antibody specificity. If specificity data have already been published, authors need not repeat the experiment, but reference where the validation has been published previously. This should be within a peer-review publication and not a manufacturer's site.

RRIDs

Experimental Physiology is pleased to support the National Institutes of Health Rigor and Transparency Guidelines. To comply, we ask that authors include Research Resource Identifiers (RRID's) for all "Key Biological Resources", which include antibodies, cell lines, model organisms and software tools used in the study. To help our authors transparently cite resources there is a single website where research resources can be found and a "cite this" button under each resource that should be included in the methods section of your manuscript. Several examples of properly formatted methods text can be found below:

- Antibodies: "Sections were stained with a NeuN antibody (Millipore Cat# MAB377, Lot#307 RRID:AB_2298772)".
- Cell Lines: "Subjects include the following cell line obtained from the CLS cell repository, CLS Cat# 300384/p699_HeLa_S3, RRID:CVCL_0058".
- Organisms: "Subjects in this study were Tlx3 transgenic mice obtained from MMRRRC (RRID:MMRRRC_036547-UCD)".
- Software tools: "...terminals were mapped with a computer-assisted mapping program (Neurolucida, v10, RRID:SCR_001775)".

Please find all of the antibodies, organisms, cell lines and software tools that you have used in the course of this study and add the RRID for each in the methods section. If you need help with either finding a resource or registering a new resource, the help desk on SciCrunch is staffed and you should hear back within one business day.

Please note, searching the website by catalogue or stock number is usually most effective in quickly retrieving the correct resource.

Results

Presenting the data. Data may be better presented graphically than in tables. Where possible, graphs should show individual values, rather than solid bars indicating a mean value. If a plot of individual values obscures some of the data presented, a box and whisker plot can be used to show mean or median, and 95% confidence intervals or quartiles.

Describing the samples. To characterise a normally distributed sample, report the mean (SD), and the number of samples (n). Use an appropriate number of significant figures. If samples are not normally distributed, use median and quartile values, or transform the data to obtain a more normal distribution. When describing the precision of estimation of a mean value, 95% confidence limits of the mean should be used, rather than the SEM.

Clearly indicate any inclusion or exclusion criteria. State whether the experimenter was 'blinded' to the experimental conditions, if applicable.

Comparing data. To express a difference between a control group and treated group, state the mean values, the estimated difference between the measurements, and the confidence limits of this difference. Since a common significance level for P is taken to be 0.05, the common confidence limits used are the 95% intervals.

Do not state that there is no difference between samples unless you are confident that the test has sufficient power to allow this conclusion. If necessary, indicate the power of the test, to distinguish absence of evidence from evidence of absence.

Statistical tests. Tests of significance should be specified on each occasion and in full, e.g. Student's paired t test. Use the exact P value, to the appropriate number of decimals, particularly when values are near a stated limit. For example, $P = 0.051$ and $P = 0.049$ have very similar implications.

Experimental Physiology has published a series of advisory editorials on statistical reporting.

Please note that Experimental Physiology will ask authors at the revised manuscript stage to submit complete, uncropped, original western blot/gel images if they are not included in the manuscript. Checks will be carried out to ensure that no inappropriate, unethical or misleading image manipulation has occurred. The full, original blots should be labelled/highlighted so that we can clearly see which sections have been used in

the manuscript figures. The original blots should be uploaded as 'Supporting information for review process only' during submission.

Data Deposition/Accessibility of Sequence Data.

Experimental Physiology is committed to encouraging the free exchange of scientific information and to promote progress in all areas of physiological research. Experimental Physiology requires, as a condition for publication, that nucleic acid and protein sequences, microarray data and data obtained using high throughput sequencing techniques, which support the results in the paper, should be archived in an appropriate public database (see below) and must be accessible without restriction from the date of publication.

An entry name or accession number, together with a direct link, must be included within the Methods section in the final version of the manuscript. Microarray data should be MIAME compliant (for guidelines, see <http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame.html>). FGED (The Functional Genomics Data) Society: MIAME (Minimum Information About a Microarray Experiment). The public repositories ArrayExpress at the EBI (UK), GEO at NCBI (US) and CIBEX at DDBJ (Japan) are designed to accept, hold and distribute MIAME compliant microarray data. Exceptions may be granted at the discretion of the Editor, e.g. for sensitive information that might compromise the anonymity of human subjects.

Examples of suitable databases:

GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>),

EMBL (<http://www.ebi.ac.uk>),

DNA Data Bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp>)

Protein Data Bank Japan (PDBj, <http://www.pdbj.org>)

Protein Databank (PDB, <http://www.rcsb.org/pdb/>)

Worldwide Protein Data Bank (wwPDB, <http://www.wwpdb.org>)

UniProtKB/Swiss-Prot (http://web.expasy.org/docs/swiss-prot_guideline.html)

Data files in repositories

Authors are encouraged to upload their data files to repositories (such as FigShare) as an alternative or addition to publishing it as 'supporting information'. Before uploading

data to such repositories, authors should find the 'DOI Link' in their acceptance email and include it in the upload (as a reference) to establish a link from the repository data back to the published article. After uploading data to a repository, authors should send the DOI/url link provided by the repository to the Publications Office. so that it can be included in the final published version of their manuscript. Alternative repositories to FigShare can be found at <https://www.re3data.org/>.

Discussion

The Discussion, which follows the Results section, should be separate from it. The assumptions involved in making inferences from the experimental results should be stated. The Discussion should not merely recapitulate the results. Authors should provide a succinct conclusion to their work and are encouraged to conclude the Discussion by expressing an opinion on the relevance of the results in the context of work cited in the paper.

In appropriate circumstances an Appendix or a Theory section may be accepted where, for example, it is necessary to derive mathematical results required in the paper.

References

The paper should conclude with a list of the papers and books cited in the text. Authors should avoid an excessive number of references. Normally about 50 should be adequate. The order of references is strictly alphabetical, regardless of chronology.

References should be prepared according to the Publication Manual of the American Psychological Association (7th Edition). This means in text citations should follow the author-date method whereby the author's last name and the year of publication for the source should appear in the text. for example, (Jones, 1998). The complete reference list should appear alphabetically by name at the end of the paper.

A sample of the most common entries in reference lists appears below. Please note that a DOI should be provided for all references where available. For more information about APA referencing style, please refer to the APA's resources. Please note that for journal articles, issue numbers are not included unless each issue in the volume begins with page one.



PARECER Nº
PROCESSO Nº

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
11/2020/CEEA/REITORIA
23110.052252/2019-91

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **“Impacto de diferentes modelos de treinamento e subsequente destreino no tecido adiposo e variáveis associadas em ratos.”**, registrada com o nº 23110.052252/2019-91, sob a responsabilidade de **Rafael Bueno Orcy** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **17 de dezembro de 2019**.

Salientamos que é necessário que o TCLE seja assinado pela Chefe do Biotério Central.

Finalidade	(x) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	17/01/2020 a 17/012/2021
Espécie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus</i> /Wistar
Nº de animais	63
Idade	45 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central - UFPel

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX**, Médico Veterinário, em 17/01/2020, às 10:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0848727** e o código CRC **394EBDA2**.