

PRISCILLA GOIS BASILIO

**ANÁLISE DA CAPACIDADE FUNCIONAL, PERFIL METABÓLICO E
MORFOLOGIA DO MIOCÁRDIO DE RATOS SUBMETIDOS A DIETA
INTERMITENTE E EXERCÍCIO FÍSICO**

Campo Grande, MS

2016

PRISCILLA GOIS BASILIO

**ANÁLISE DA CAPACIDADE FUNCIONAL, PERFIL METABÓLICO E
MORFOLOGIA DO MIOCÁRDIO DE RATOS SUBMETIDOS A DIETA
INTERMITENTE E EXERCÍCIO FÍSICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Silvio Assis de Oliveira Júnior.

Campo Grande, MS

2016

FOLHA DE APROVAÇÃO

PRISCILLA GOIS BASILIO

ANÁLISE DA CAPACIDADE FUNCIONAL, PERFIL METABÓLICO E MORFOLOGIA DO MIOCÁRDIO DE RATOS SUBMETIDOS A DIETA INTERMITENTE E EXERCÍCIO FÍSICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de mestre.

Resultado _____

Campo Grande (MS), 30 de março de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Silvio Assis de Oliveira Junior (Presidente)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Prof. Dr. Charles Taciro

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Prof. Dr. Jeaser Alves de Almeida

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Prof. Dr. Marcelo Diacórdia Mariano Cezar

Instituição: Faculdade de Ciências Sociais e Agrárias de Itapeva (FAIT)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais José Basilio da Silva e Neilde Ferreira Gois Basilio, que sempre me apoiaram e incentivaram em todos os aspectos. Sem o carinho e a educação de vocês eu não teria conquistado nada. Agradeço sinceramente por tudo, saibam que eu sinto muito orgulho de ter os dois como meus pais. Vocês são os melhores pais que eu poderia ter.

Ao meu mestre, Dr. Daisaku Ikeda, que com toda sabedoria e benevolência me conduz diariamente a concretização dos meus sonhos e a me tornar uma pessoa que faz a diferença em todos os locais de atuação e inspira todos ao redor.

Aos meus familiares, irmãos, tios, pois a família é a base de todas as conquistas de uma pessoa.

Ao meus amigos da Soka Gakkai, em especial as integrantes do Grupo Taiga que sempre me incentivaram e apoiaram quando precisei em todo o período do mestrado, principalmente na reta final.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos:

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro durante todo o mestrado.

À FUNDECT/ MS - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul pelo fomento financeiro ao presente projeto.

Aos professores e funcionários do programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, coordenado pela Prof^a. Dra. Iandara Schettert Silva, que possibilitaram continuidade de minha formação acadêmica.

Ao meu orientador Prof. Dr. Silvio Assis de Oliveira Junior, que mesmo com algumas divergências que tivemos durante esse processo, me conduziu e me ajudou em todas as etapas do projeto, desde a elaboração, aprovação no Comitê de Ética, coletas, análises, elaboração de artigo e defesa. Obrigada pela confiança e tempo dedicado para que eu conseguisse concluir essa etapa tão importante da minha vida.

À minha co-orientadora Profa. Dr. Paula Felipe Martinez, pela paciência e carinho ao ensinar procedimentos tão minuciosos, como a técnica de “*Western Blot*” e por ensinar conteúdos tão complexos de maneira para fácil compreensão.

À banca examinadora, formada pelos professores Prof. Dr. Charles Taciro, Prof. Dr. Jeaser Alves de Almeida e Prof. Dr. Marcelo Diacárdia Mariano Cezar, que ofereceram suporte para a conclusão deste trabalho.

Às professoras Amariles Diniz Ramires e Tayana Regina de Souza Grance por aceitarem de imediato a participarem da minha pré-defesa, assim como pelas contribuições na dissertação.

Ao professor Dr. Alessandro Moura Zagatto pelo apoio desde a época da graduação, como na parceria neste período do mestrado para a análise das amostras de sangue, pois o lactímetro era fundamental para este procedimento. Muito Obrigada.

Aos técnicos de laboratório da UNESP-Bauru, Sérgio e Rodrigo pela prontidão em me atender sempre que precisei de auxílio durante o período de análise de lactato.

Aos professores Ricardo Damatto, Dijon, Paula e Luana, em especial ao Professor Antônio Carlos Cicogna pelo apoio e por ceder espaço para a realização de treinamento no biotério e no laboratório de Músculo Papilar da UNESP-Botucatu.

Aos integrantes e técnicos do Laboratório da UNESP- Botucatu pelo auxílio na realização das análises de lâminas do experimento.

Aos professores Prof. Dr. Rodrigo Juliano Oliveira e Prof^a. Dra. Elisvânia Freitas dos Santos pela colaboração técnica no desenvolvimento do estudo.

Aos técnicos e toda equipe de servidores do Biotério Central-UT/CCBS da UFMS, por ter ajudado, ensinado e direcionado em todos o período experimental e pelo suporte nos oferecido durante todo este importante processo.

Aos funcionários, professores e alunos da Unidade da Fisioterapia e da Clínica Escola Integrada (CEI), pela receptividade e prestatividade em todos os momentos que precisei de auxílio.

À minha companheira de coleta, Ana Priscila Cayres de Oliveira, pela parceria e paciência durante o período de testes. Muito Obrigada!

À minha amiga Nayara de Araújo Muzzili pela parceira nos treinamentos em Botucatu, como também nas aulas do mestrado.

Aos demais amigos e colegas de mestrado do grupo dos professores Sílvio e Paula: Dayana das Graças, Gabriel Ota, Camila Morais, Marianna Rabelo, Dayanne Sarah Lima Borges e Fernando Barbosa por todo apoio durante o período do mestrado. Muito obrigada!

Aos meus amigos desde o período da graduação, agora no mestrado da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Bauru (UNESP), Willian Eiji Miyagi e Elvis de Souza Malta, por terem me hospedado durante as viagens para Bauru, como também por todo apoio oferecido durante meu período na Unesp, no período de análises.

*“Existe uma única estrada e somente uma,
e essa é a estrada que eu amo.*

Eu a escolhi.

*Quando trilho nessa estrada as esperanças brotam, e,
o sorriso se abre em meu rosto.*

Dessa estrada nunca, jamais fugirei.”

Daisaku Ikeda

BASILIO, P.G. ANÁLISE DA CAPACIDADE FUNCIONAL, PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO E MORFOLOGIA DO MIOCÁRDIO DE RATOS SUBMETIDOS A DIETA INTERMITENTE E EXERCÍCIO FÍSICO. Campo Grande; 2016. [Dissertação - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

O estilo de vida da sociedade contemporânea é caracterizado pela adoção de hábitos sedentários e consumo de dietas hipercalóricas palatáveis. Tal comportamento constitui fator de risco na fisiopatologia de afecções metabólicas, incluindo-se dislipidemia e hiperglicemia, e remodelação cardíaca, um processo predisponente à ocorrência de doenças cardíacas. Desta forma, a influência de algumas formas de intervenção clínica, incluindo-se restrição calórica e prática regular de exercício físico, sobre indicadores de saúde e prevenção de enfermidades metabólicas e cardíacas tem sido crescentemente analisada em estudos clínicos e experimentais. O objetivo do presente estudo foi analisar a influência da combinação entre dieta intermitente e prática de exercício físico sobre a capacidade funcional ao esforço, perfil metabólico e indicadores morfológicos de remodelação miocárdica. Para tanto, ratos *Wistar* (n=60) foram distribuídos em quatro grupos: controle (C), exercício físico (EF), dieta intermitente (DI) e exercício físico e dieta intermitente (EDI). Enquanto C e EF foram tratados diariamente com dieta comercial padrão (3,64kcal/g) *ad libitum*, os grupos DI e EDI receberam dieta similar administrada em dias alternados com dias de jejum. Os animais EF e EDI foram submetidos a protocolo diário de corrida em esteira rolante. Após 12 semanas, foram analisados comportamento nutricional e murinométrico, capacidade funcional, perfil bioquímico sérico, assim como a morfologia macroscópica e microscópica do ventrículo esquerdo. Os resultados experimentais foram expressos na forma descritiva, utilizando-se de medidas de centralidade e variabilidade. As variáveis de comportamento nutricional, murinométrico e tolerância glicêmica, foram avaliadas pelo Two-Way ANOVA e modelo de medidas repetidas, seguido do teste de comparações múltiplas de Bonferroni. As demais variáveis foram avaliadas por meio de Two-Way ANOVA, complementada com teste de Student-Newman-Keuls. Todas as conclusões estatísticas foram discutidas sob nível de significância de 5%. No contexto metabólico, a dieta intermitente ocasionou melhora na tolerância glicêmica e redução nos níveis de colesterolemia. O exercício físico, isoladamente, também diminuiu a colesterolemia sem afetar a glicemia, e a combinação entre dieta intermitente e exercício físico acentuou a melhora na tolerância glicêmica. No contexto morfológico, o exercício físico acarretou remodelação intersticial do miocárdio e, quando associado com a dieta intermitente, promoveu retenção do processo de remodelação cardíaca, o que foi sustentado por menores valores morfométricos de área e perímetro cardiomiocitário, assim como fração intersticial de colágeno.

Palavras chaves: restrição energética, exercício físico, coração, remodelamento cardíaco, tolerância à glicose, fibrose.

BASILIO, P. G. ANALYSIS OF FUNCTIONAL CAPACITY, AND SERUM BIOCHEMICAL PROFILE RAT MYOCARDIAL MORPHOLOGY SUBMITTED TO INTERMITTENT DIET AND EXERCISE. Campo Grande; 2016. [Dissertation - Federal University of Mato Grosso do Sul].

The lifestyle of contemporary society is characterized by sedentary habits and high consumption of fat diet. Such behavior is a risk factor in the pathophysiology of metabolic disorders, including dyslipidemia and hyperglycemia, and cardiac remodeling. Thus, the influence of clinical intervention, including calorie restriction and regular physical exercise on health indicators and prevention of metabolic and heart disease has been recently examined in clinical and experimental studies. The aim of this study was to analyze the influence of the combination of intermittent diet and physical exercise on functional capacity to stress, metabolic profile and morphological indicators of myocardial remodeling. Wistar rats (n = 60) were divided into four groups: control (C), physical exercise (PE), intermittent diet (DI) and physical and intermittent diet exercise (EDI). While C and EF were treated daily with standard commercial diet (3,64kcal / g) ad libitum, the DI and EDI groups received similar diet administered on alternate days with days of fasting. The EF and EDI animals were subjected to daily protocol running on a treadmill. After 12 weeks, were analyzed nutritional and murinometric behavior, functional capacity, serum chemistry profile, as well as macroscopic and microscopic morphology of the left ventricle. The experimental results were expressed in descriptive form, using centrality and variability. The nutritional behavior variables, murinometric and glucose tolerance were evaluated by *two-way ANOVA* and repeated measures model, followed by the multiple comparison test of Bonferroni. The other variables were evaluated using *two-way ANOVA*, and *Student-Newman-Keuls test*. All statistical findings were discussed at a significance level of 5%. In metabolic context, the intermittent diet caused improved in glucose tolerance and reduced levels of blood cholesterol. Physical exercise alone also decreased blood cholesterol without affecting glucose levels and the combination of intermittent diet and exercise highlighted the improvement in glucose tolerance. In the morphological context, physical exercise resulted interstitial myocardial remodeling, and when associated with intermittent diet promoted retention of the cardiac remodeling process, which was supported by lower morphometric values area and cardiomiocytes circumference and interstitial collagen fraction.

Key words: energy restriction, exercise, heart, cardiac remodeling, glucose tolerance, fibrosis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Protocolo de exercício em esteira rolante, segundo intervalo, velocidade (Vel.) e duração das sessões de corrida.....	24
Tabela 2. Composição centesimal e valor calórico da dieta experimental.....	29
Tabela 3. Medidas descritivas da ingestão alimentar (g), segundo os momentos de avaliação	30
Tabela 4. Medidas descritivas da ingestão calórica (kcal/g), segundo os momentos de avaliação.....	31
Tabela 5. Medidas descritivas da ingestão calórica total (g/ kcal), segundo os momentos de avaliação.....	32
Tabela 6. Medidas descritivas da eficiência alimentar (g/ kcal), segundo os momentos de avaliação.....	33
Tabela 7. Medidas descritivas da massa corporal (g), segundo os momentos de avaliação.....	34
Tabela 8. Medidas descritivas da taxa de ganho de massa corporal (g/ kg), segundo os momentos de avaliação.....	35
Tabela 9. Medidas descritivas da adiposidade corporal, IMC e Índice de Lee.....	35
Tabela 10. Medidas descritivas da glicemia (mg/dL) obtidas no teste de tolerância glicêmica.....	39
Tabela 11. Medidas descritivas das concentrações séricas de glicose, colesterol total, lipoproteínas de alta (HDL), baixa (LDL) e muito baixa (VLDL) densidades, triglicérides (TG), proteína total e albumina.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1A. Distância total (m) referente ao Teste de esforço.....	37
Figura 1B. Velocidade final (m/min) referente ao Teste de esforço.....	37
Figura 2A. Valores referentes à área sob a curva de tolerância glicêmica, em relação ao efeito isolado da dieta.....	39
Figura 2B. Valores referentes ao delineamento de quatro grupos no esquema fatorial 2x2 no Teste de tolerância glicêmica.....	39
Figura 2C. Valores referentes à área sob a curva de tolerância glicêmica, em relação ao efeito isolado do exercício.....	39
Figura 3A. Medidas descritivas da área seccional transversa cardiomiocitária	44
Figura 3B. Perímetro do cardiomiócito.....	44
Figura 3C. Fração intersticial de colágeno.....	44
Figura 4A. Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com hematoxilina-eosina (HE).....	45
Figura 4B. Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com picrosirius red.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC: ANALYSIS OF ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS

C: Controle

CCBS: Centro de Ciências Biológicas da Saúde

CEUA: Comitê de ética no uso de animais

CNA: comprimento nasoanal

DI: Dieta Intermitente

dM: ganho de massa corporal durante todo o período experimental

EDI: Exercício Físico e Dieta Intermitente

EF: Exercício Físico

g: grama

HDL: lipoproteínas de alta densidade

HE: hematoxilina-eosina

IMC: índice de massa corporal

Kcal: quilocaloria

Lac_E: concentração de lactato sanguíneo no momento da exaustão

Lac_{LL}: concentração de lactato sanguíneo no limiar de lactato

LAFIDE: Laboratório de Fisiologia e Desempenho Esportivo

LDL: lipoproteínas de baixa densidade

LL: limiar de lactato

MA: valores absolutos de massa de átrios

MVD: massa de ventrículo direito

MVE: massa de ventrículo esquerdo

MCF: massa corporal final

MA/MCF: razão entre massa de átrios e massa corporal final

MA/Tíbia: razão entre massa de átrios e comprimento da tíbia

M_{dt}; corresponde a massa corporal inicial

MVD/MCF: razão entre massa de ventrículo direito e massa corporal final

MVD/Tíbia: razão entre massa de ventrículo direito e comprimento da tíbia

MVE/MCF: razão entre massa de ventrículo esquerdo e massa corporal final

MVE/Tíbia: razão entre massa de ventrículo esquerdo e comprimento da tíbia.

NaF: fluoreto de sódio

PSR: *picro-sirius red*

RC: Restrição calórica

TG: triglicerídeos

TTG: Teste de tolerância à glicose

UFMS: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

UNESP: Universidade Estadual Paulista

VLDL: lipoproteínas de muito baixa densidade

V_{LL}: velocidade no limiar de lactato

1.	INTRODUÇÃO	14
2.	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.	OBJETIVOS	21
	3.1- Geral.....	21
	3.2- Específico.....	21
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	22
	4.1- Animais e protocolo de experimentação.....	22
	4.2- Estudo bromatológico.....	22
	4.3- Protocolo de exercício físico.....	23
	4.4- Teste incremental.....	24
	4.5- Comportamento nutricional e murinométrico.....	25
	4.6- Caracterização metabólica.....	26
	4.6.1- Teste de tolerância à glicose (TTG).....	26
	4.6.2- Lipidemia e glicemia de jejum.....	26
	4.7- Caracterização morfológica.....	27
	4.7.1- Análise morfológica macroscópica.....	27
	4.7.2- Análise morfológica microscópica.....	27
	4.8- Procedimentos de análise estatística.....	28
5.	RESULTADOS	29
	5.1- Composição dos grupos.....	29
	5.2- Bromatologia.....	29
	5.3- Comportamento nutricional e murinométrico.....	30
	5.3.1- Ingestão alimentar.....	30
	5.3.2- Ingestão calórica.....	31
	5.3.3- Eficiência alimentar.....	32
	5.3.4- Comportamento murinométrico.....	33
	5.4- Capacidade funcional.....	36
	5.4.1- Teste Incremental.....	36
	5.5- Comportamento glicêmico.....	38
	5.6- Caracterização morfológica e umidade cardiopulmonar e hepática.....	41
6.	DISCUSSÃO	46
7.	CONCLUSÃO	54
8.	REFERÊNCIAS	55
9.	APÊNDICE	66

1. INTRODUÇÃO

O estilo de vida da sociedade contemporânea é caracterizado pela adoção de hábitos sedentários e consumo de dietas hipercalóricas palatáveis, com alto aporte de lipídeos e carboidratos (MENSAH *et al.*, 2004). Tal comportamento constitui importante fator de risco na fisiopatologia de afecções metabólicas, incluindo-se dislipidemia, hiperglicemia e remodelação cardíaca, um processo predisponente à ocorrência de doenças cardiovasculares (MONTEIRO *et al.*, 1995; ROSAMOND *et al.*, 1998; FRANCISCHI R.P, PEREIRA, L.O, LANCHETA JR A.H, 2001; MENSAH *et al.*, 2004; SOUZA M.F.M, ALENCAR A.P, 2009).

Nesse contexto, a influência de algumas formas de intervenção clínica, incluindo-se restrição calórica (WEINDRUCH R, SOHAL R.S, 1997; OMEDEI D, FONTANA L, 2011) e prática regular de exercício físico (PAFFENBARGER R.S, HALE W.E, 1975; PAULSON *et al.*, 1987), sobre indicadores de saúde e prevenção de enfermidades metabólicas e cardíacas têm sido amplamente analisada em estudos clínicos (KLEMPPEL *et al.*, 2010; KLEMPPEL M.C, KROEGER C.M, VARADY K.A, 2013) e em pesquisas com modelos animais (VARADY K.A, HELLERSTEIN M.K, 2007; PINOTTI *et al.*, 2010; SUGIZAKI *et al.*, 2011; SMYERS *et al.*, 2015). A restrição calórica constitui-se em intervenção de grande efetividade para melhorar a saúde, promover benefícios funcionais ao organismo e aumentar a longevidade em várias espécies de animais (WEINDRUCH R, 1996; FONTANA L, PARTRIDGE L, LONGO V.D, 2010). O aumento da longevidade causado pela restrição calórica ou por alimentação intermitente, um regime dietético em que o alimento é disponibilizado *ad libitum* em intervalos alternados, tem se relacionado à reduções na incidência de doenças associadas ao envelhecimento como neoplasias, obesidade, diabetes e doenças renais (GOODRICK C.L *et al.*, 1983; INGRAM D.K, REYNOLDS M.A, 1987; SOHAL R.S, WEINDRUCH R, 1996; WEINDRUCH R, SOHAL R.S, 1997; WAN *et al.*, 2010). Além disso, outros autores documentaram que a restrição da ingestão alimentar confere, em geral, efeitos benéficos diversificados para os sistemas endócrino e cardiovascular (MASORO E.J, SHIMOKAWA I, YU B.P, 1991; MATTSON M.P, WAN R. 2005; KATARE *et al.*, 2009; KLEMPPEL M.C, KROEGER C.M, VARADY K.A, 2013).

Paradoxalmente, entretanto, outros estudos mostraram respostas controversas

da restrição alimentar em vários órgãos e tecidos. No contexto metabólico, evidências apresentam que a restrição calórica (ARGENTINO *et al.*, 2005; PARK *et al.*, 2005) e a dieta intermitente (WAN *et al.*, 2010) promoveram melhora da tolerância glicêmica. Entretanto, estudo mais recente mostrou que a alimentação intermitente pode levar à inativação oxidativa do receptor de insulina e redução da tolerância à glicose após oito meses de experimento (CERQUEIRA *et al.*, 2011). No aspecto cardiovascular, a restrição calórica mostrou-se relacionada com disfunção contrátil e danos morfológicos no miocárdio (OKOSHI *et al.*, 2001; GUO *et al.*, 2002; GUT *et al.*, 2003; SUGIZAKI *et al.*, 2005; AHMET *et al.*, 2010; PINOTTI *et al.*, 2010). Portanto, a influência da restrição calórica em relação aos indicadores metabólicos e cardiovasculares se mostram ainda incipientes.

Por sua vez, a prática regular de exercício físico (EF) é amplamente difundida como medida de promoção de saúde e prevenção de diferentes condições metabólicas e cardiovasculares (PAFFENBARGER R.S, HALE W.E, 1975; PAULSON *et al.*, 1987; BRODERICK *et al.*, 2001; SUGIZAKI *et al.*, 2011; BUTHANI *et al.*, 2013). A prática de EF é extensamente relacionada à maior variabilidade da frequência cardíaca, aumento do débito cardíaco e do volume sistólico em humanos (SCHAIBLE T.F, SCHEUER J, 1979). Contudo, estudos experimentais com preparações isoladas de músculo papilar (NUTTER D.O, PRIEST R.E, FULLER E.O, 1981; GWATHMEY J.K, 1990), de cardiomiócitos (LAUGHLIN M.H, SCHAEFER M.E, STUREK M, 1992; PALMER *et al.*, 1998) e ensaios hemodinâmicos (CODINI M.A, YIPINTSOI T, SCHEUER J, 1977; FITZSIMONS *et al.*, 1990) mostraram resultados controversos, evidenciando que o EF não afetou e, inclusive, reduziu o desempenho miocárdico (BRODERICK *et al.*, 2001; SUGIZAKI *et al.*, 2006; WEINER R.B, BAGGISH A.L, 2012). Portanto, o papel do EF sobre aspectos morfofuncionais do miocárdio não está plenamente esclarecido. Além disso, existem controvérsias e lacunas em relação à influência da combinação entre restrição calórica intermitente e prática de exercício físico em esteira rolante sobre a estrutura cardíaca.

Sob essas considerações, como hipótese inicial do presente estudo, admite-se que a dieta intermitente resulta em alterações metabólicas que integram menor tolerância glicêmica e dislipidemia, além de indícios morfológicos de remodelação miocárdica. Por sua vez, espera-se que o exercício físico em esteira rolante atenuar essas desordens metabólicas e cardíacas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

No Brasil, as mudanças de estilo de vida contribuíram, ao longo do tempo, para o estabelecimento da transição nutricional, com diminuição progressiva da desnutrição e aumento exponencial da prevalência de obesidade, diabetes do tipo II e doenças cardiovasculares (MONTEIRO *et al.*, 1995; FRANCISCHI R.P, PEREIRA, L.O, LANCHA JR A.H, 2001). De fato, o estilo de vida da sociedade contemporânea é caracterizado pela adoção de hábitos sedentários e consumo de dietas hipercalóricas palatáveis, com alto aporte de lipídeos e carboidratos (MENSAH *et al.*, 2004). Tal comportamento constitui importante fator de risco na fisiopatologia de afecções metabólicas, incluindo-se dislipidemia e hiperglicemia, e remodelação cardíaca, um processo predisponente à ocorrência de doenças cardíacas (MONTEIRO *et al.*, 1995; ROSAMOND *et al.*, 1998; FRANCISCHI R.P, PEREIRA, L.O, LANCHA JR A.H, 2001; MENSAH *et al.*, 2004; SOUZA M.F.M, ALENCAR A.P, 2009).

Nesse contexto, a influência de algumas formas de intervenção clínica, incluindo-se restrição calórica (WEINDRUCH R, 1996; OMEDEI D, FONTANA L, 2011) e prática regular de exercício físico (PAFFENBARGER R.S, HALE W.E, 1975; PAULSON *et al.*, 1987), sobre indicadores de saúde e prevenção de enfermidades metabólicas e cardíacas têm sido crescentemente analisada em estudos clínicos (MEYER *et al.*, 2006; FONTANA L, PARTRIDGE L, LONGO V.D, 2010; KLEMPPEL *et al.*, 2010; KLEMPPEL M.C, KROEGER C.M, VARADY K.A, 2013) e pesquisas com modelos animais (VARADY K.A, HELLERSTEIN M.K, 2007; KHABOUR *et al.*, 2010; PINOTTI *et al.*, 2010; SUGIZAKI *et al.*, 2011; RADAK *et al.*, 2013; SMYERS *et al.*, 2015).

A restrição calórica (RC) é definida como redução da ingestão calórica abaixo do *ad libitum*, sem desnutrição, sendo uma das formas de intervenção nutricional mais discutidas (ROTH G.S.; INGRAM D.K.; LANE M.A, 2001; BORDONE L, GUARENTE L, 2005). É vista por meio dos resultados de estudos como uma forma efetiva para melhorar a saúde e promover benefícios funcionais ao organismo (WEINDRUCH R. 1996; FONTANA L, PARTRIDGE L, LONGO VD., 2010). Uma alternativa para a restrição calórica convencional é o jejum em dias alternados ou dieta intermitente (DI), como comumente é conhecida. A DI vem sendo considerada como uma nova alternativa de restrição alimentar e vem ganhando popularidade. Este modelo tem sido testado e geralmente envolve um dia em que alimentação é

disponibilizada à vontade ou *ad libitum*, e outro dia em que o alimento é retido ou reduzido, pois o percentual de restrição energética é normalmente de 50 a 100%. O intervalo de jejum e alimentação normalmente é de 24 horas, porém pode variar (quanto) (MATTSON MP, WAN R., 2005; VARADY *et al.*, 2009; BUTHANI *et al.*, 2010; WAN *et al.*, 2010; VARADY *et al.*, 2013).

Dentre os efeitos positivos da dieta restritiva está o aumento da expectativa de vida. O aumento da longevidade causado pela restrição calórica ou por alimentação intermitente, tem se associado com reduções na incidência de doenças associadas ao envelhecimento como neoplasias, obesidade, diabetes e doenças renais (GOODRICK C.L *et al.*, 1982; GOODRICK C.L *et al.*, 1983; INGRAM, D.K, REYNOLDS, M.A, 1987; SOHAL R.S, WEINDRUCH R, 1996; WEINDRUCH R, SOHAL R.S, 1997; WAN *et al.*, 2010; KLEMPER M.C, KROEGER C.M, VARADY K.A, 2013). Além disso, autores documentaram que a restrição da ingestão alimentar confere, em geral, efeitos benéficos diversificados para os sistemas endócrino e cardiovascular (MASORO E.J, SHIMOKAWA I, YU B.P, 1991; MATTSON M.P, WAN R. 2005; KATARE *et al.*, 2009; WAN *et al.*, 2010; AHMET *et al.*, 2011; BUTHANI *et al.*, 2012; KLEMPER M.C, KROEGER C.M, VARADY K.A, 2013).

Por outro lado, estudos mostraram respostas controversas da restrição alimentar em vários órgãos e tecidos. No contexto metabólico, evidências apresentam que a restrição calórica (ARGENTINO *et al.*, 2005; PARK *et al.*, 2006) e a dieta intermitente (WAN *et al.*, 2010) promoveram melhora da tolerância glicêmica. Entretanto, estudo apresentou que ratos sob restrição alimentar apresentaram resistência à insulina (CRESCENZO *et al.*, 2006). Estudo mais recente de Cerqueira e colaboradores (2011) obtiveram uma evidência importante ao compararem os efeitos da restrição calórica e dieta intermitente de curto e longo prazo no peso corporal, no acúmulo de gordura intra-abdominal, na tolerância à glicose e na sinalização da insulina em ratos da linhagem Sprague-Dawley. Os resultados mostraram que dietas restritivas são significativamente diferentes em seus efeitos sobre a tolerância à glicose e estado redox quando adotadas a longo prazo. Além disso, foi apresentado que a alimentação intermitente pode levar à inativação oxidativa do receptor de insulina (qual receptor) e a intolerância à glicose. Posteriormente, Dorighello e colaboradores (2014) com a hipótese de que a dieta intermitente poderia melhorar distúrbios metabólicos no receptor LDL de ratos e diminuir a suscetibilidade de aterosclerose no contexto de animais hipercolesterolêmico, submeteram ratos com

com defeito no receptor LDL e sem esse defeito genético a dieta intermitente por período de 12 semanas. Encontraram que a restrição calórica promovida pela dieta intermitente induziu a obesidade e a diabetes. Além disso, piorou o desenvolvimento espontâneo de aterosclerose no receptor LDL nos animais. Concluíram que os benefícios relatados da restrição alimentar intermitente não são aplicáveis em situações de hipercolesterolemia genética devido ao defeito no receptor LDL.

No aspecto cardiovascular, a restrição calórica e a dieta intermitente mostrou-se relacionada com disfunção contrátil e danos morfológicos no miocárdio (OKOSHI *et al.*, 2001; GUO *et al.*, 2002; GUT *et al.*, 2003; SUGIZAKI *et al.*, 2005; AHMET *et al.*, 2010; PINOTTI *et al.*, 2010). Essas modificações morfológicas envolveram dilatação de câmaras ventriculares, degeneração dos cardiomiócitos, fibrose intersticial e edema mitocondrial (CICOGNA *et al.*, 1999; SCHOCKEN D.D, HOLLOWAY D, POWERS O.S, 1989; PINOTTI *et al.*, 2010).

Em modelos experimentais, Ahmet e colaboradores (2010) foram os primeiros a realizar um exame abrangente dos efeitos a longo prazo da dieta intermitente sobre a aptidão cardiovascular em ratos. Buscaram avaliar de forma detalhada os efeitos da dieta intermitente prolongada sobre a estrutura e função cardíaca em ratos durante seis meses, por meio de exame ecocardiográfico, avaliação hemodinâmica, teste de estresse e avaliação histológica, esta realizada ao final do experimento. Encontraram que esta dieta crônica em ratos resulta no desenvolvimento de disfunção diastólica com diminuição da reserva cardíaca. Além disso, que esta restrição intermitente é um modelo experimental novo e único de disfunção diastólica induzida por dieta. Em relação aos efeitos deletérios deste modelo em ratos, foi sugerido que estudos adicionais são necessários para avaliar a função cardiovascular em humanos.

Entretanto, pesquisa de Wan e colaboradores (2010) demonstrou que a dieta intermitente melhora o controle glicêmico e protege o miocárdio contra o dano celular induzido por isquemia e inflamação em ratos. Esses autores deduziram que estes efeitos benéficos da dieta intermitente podem estar associados com um aumento dos níveis de adiponectina, o que sugere um papel da adiponectina como um mediador do efeito cardioprotetor neste modelo de dieta (WAN *et al.*, 2010). Pinotti e colaboradores (2010) compararam a influência do jejum e ciclos de realimentação com a restrição alimentar e dieta *ad libitum* sobre a morfologia e desempenho do miocárdio de ratos a um protocolo com 12 semanas. Foi encontrado que a restrição alimentar promove disfunção miocárdica, não observada nos ratos do grupo de dieta

intermitente. Além disso, constatou-se que a restrição calórica causou maiores danos morfológicos comparado com o grupo de dieta intermitente. Chausse e colaboradores (2014) investigaram os efeitos da dieta intermitente em ratos com protocolo de dieta intermitente por três semanas. Como resultados, obtiveram que os animais com dieta restrita apresentaram maior ingestão alimentar e baixa eficiência energética. Os autores sugerem que os resultados estão relacionados as mudanças nos padrões metabólicos promovidos pela disponibilidade intermitente de alimentos.

Em humanos, Buthani e colaboradores (2010) examinaram os efeitos da dieta intermitente nos parâmetros de risco de doenças coronarianas em sujeitos obesos e avaliaram as mudanças nos parâmetros dos adipócitos. Os resultados mostraram redução de gordura visceral e de colesterol total, aumento dos níveis de LDL e não alteração nos níveis de HDL, demonstrando melhoras nos parâmetros de tecido adiposo, composição corporal e perfil da adiponectina. Desta forma, evidenciaram benefícios da dieta intermitente como mediadora na prevenção dos fatores de risco de doenças cardiovasculares. Nassar e colaboradores (2014) avaliaram o estresse oxidativo e o perfil de ácidos graxos incorporados ao tecido hepático de animais submetidos à alimentação com alto teor de gordura após restrição alimentar. De forma geral, os ratos passaram pelo jejum intermitente de 24 horas, retroalimentação com dieta hiperlipídica, sendo que cada grupo possuiu um dieta lipídica distinta e após foram eutanasiados. Como principal achado, encontraram que o consumo de dietas ricas em gordura após jejum prolongado favorece desequilíbrio oxidativo no tecido hepático.

Varady e colaboradores (2013) em estudo de 12 semanas analisaram a dieta intermitente como intervenção para perda de peso e efeito cardioprotetor em indivíduos não obesos. Os autores tinham como hipótese que a dieta intermitente poderia reduzir peso corporal e o risco de doenças cardiovasculares em sujeitos com peso normal e sobrepeso, quando comparado ao grupo controle. Os resultados constataram que a dieta intermitente é uma estratégia viável para perda de peso e pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares em sujeitos com peso normal e sobrepeso. Entretanto, esses achados precisam ser melhor investigado em estudos futuros para confirmar este efeito da dieta intermitente, já que o mesmo trata de um estudo piloto. Portanto, a influência da restrição calórica intermitente em relação aos indicadores metabólicos e cardiovasculares se mostram ainda incipientes.

Por sua vez, a prática regular de exercício físico (EF) é amplamente difundida como medida de promoção e prevenção de saúde em diferentes condições metabólicas e cardiovasculares (PAFFENBARGER R.S, HALE W.E, 1975; PAULSON *et al.*, 1987; BRODERICK *et al.*, 2001; PINHEIRO *et al.*, 2007; SUGIZAKI *et al.*, 2011; BUTHANI *et al.*, 2013). A prática de EF é extensamente relacionada à maior variabilidade da frequência cardíaca, aumento do débito cardíaco e do volume sistólico em humanos (SCHAIBLE T.F, SCHEUER J, 1979).

Broderick e colaboradores (2001) examinaram os efeitos da restrição alimentar e exercício físico sobre a recuperação da função cardíaca após isquemia. Os autores constataram que o miocárdio do rato treinado apresentou-se mais resistente à isquemia. Contudo, estudos experimentais com preparações isoladas de músculo papilar (NUTTER D.O, PRIEST R.E, FULLER E.O, 1981; GWATHMEY J.K, 1990), de cardiomiócitos (LAUGHLIN M.H, SCHAEFER M.E, STUREK M, 1992; PALMER *et al.*, 1998) e ensaios hemodinâmicos (CODINI M.A, YIPINTSOI T, SCHEUER J, 1977; FITZSIMONS *et al.*, 1990) mostraram resultados controversos, evidenciando que o EF não afetou e, inclusive, reduziu o desempenho miocárdico (BRODERICK *et al.*, 2001; SUGIZAKI *et al.*, 2005; SUGIZAKI *et al.*, 2006; WEINER R.B, BAGGISH A.L, 2012). Kemplel e colaboradores (2010) examinaram as adaptações que ocorrem com a combinação da dieta intermitente de curto prazo e a prática de exercício físico, como uma estratégia para redução de peso em indivíduos obesos. Dos resultados encontrados, além da perda de massa corporal, a sensação de fome diminuiu e a sensação de saciedade foi aumentada durante o experimento.

Posteriormente, Buthani e colaboradores (2013) utilizaram a dieta intermitente e o exercício físico para examinar as adaptações comportamentais que ocorrem quando ambas intervenções são combinadas e para determinar como essas mudanças afetam a perda de peso. Para o estudo foram divididos 64 sujeitos em 4 grupos: dieta intermitente e exercício físico, dieta intermitente, exercício e controle. Os achados do estudo sugerem que o exercício de *endurance* combinado com a dieta intermitente aumenta a sensação de saciedade e diminui a fome emocional e descontrolada. O papel do EF sobre aspectos morfofuncionais do miocárdio não está plenamente esclarecido. Além disso, existem controvérsias e lacunas em relação à influência da combinação entre restrição calórica intermitente e prática de exercício físico em esteira rolante sobre a estrutura cardíaca.

3. OBJETIVOS

3.1- OBJETIVO GERAL

Analisar a influência da combinação entre dieta intermitente e prática de exercício físico sobre a capacidade funcional ao esforço, perfil metabólico e indicadores morfológicos de remodelação miocárdica.

3.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Analisar se a combinação entre dieta intermitente e exercício físico afeta a capacidade funcional ao esforço;
- 2) Analisar se a combinação entre dieta intermitente e exercício físico promove alterações de tolerância glicêmica e perfil bioquímico sérico;
- 3) Analisar se a combinação entre dieta intermitente e exercício físico afeta a morfologia miocárdica.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1- Animais e protocolo de experimentação

Para a realização do presente estudo, foram utilizados 60 ratos da linhagem *Wistar (Rattus norvegicus albinus)*, machos, com 60 dias de idade, procedentes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas da Saúde (CCBS), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Os animais foram mantidos nas seguintes condições: gaiolas coletivas, sendo três animais por caixa, sob condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade ($55 \pm 5\%$) e ciclos de iluminação de 12 horas (claro/escuro).

Considerando-se o delineamento do estudo, os animais foram randomicamente distribuídos em quatro grupos: Controle (**C**) $n=15$, Dieta Intermitente (**DI**) $n=15$, Exercício Físico (**EF**) $n=15$ e Exercício Físico e Dieta Intermitente (**EDI**) $n=15$. Enquanto os animais dos grupos C e EF foram tratados diariamente com ração *ad libitum* (Nuvilab®, Brasil), sem restrições, os grupos DI e EDI receberam tratamento similar, administrado em dias alternados com dias de jejum. Além do suporte nutricional, os animais dos grupos EF e EDI foram submetidos a um protocolo de corrida em esteira rolante, elaborado de acordo com estudos prévios (EMTER *et al.*, 2005; DAMATO RL, 2014; PAGAN, L.U, 2014), e descrito a seguir. O período experimental perdurou por 12 semanas.

Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com o “*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*”, publicado pelo “*U. S. National Institutes of Health*” (COMMITTEE ON CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS, 1985). O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de ética no uso de animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, com o protocolo 615/ 2014, de 27 de Novembro de 2014 (Apêndice A).

4.2- Estudo bromatológico

O suporte nutricional foi designado por especificações regimentadas no guia “*Nutrient requirements of the laboratory rat*” para roedores de laboratório. (MERRILL A.L, WATT B.K, 1973; BRASIL 2005; ANALYSIS OF ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC, 2011). Para determinação da composição

bromatológica da dieta, as análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Físico-Química da Unidade de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública (UTASP) da UFMS.

A determinação de umidade foi realizada em estufa a 105°C até o peso constante, segundo AOAC (2011). A taxa de cinzas foi analisada em forno mufla (550°C) (AOAC, 2011). Para determinação de lipídios utilizou-se o método de extração à quente, com extrator de Soxhlet e éter de petróleo conforme procedimento descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005). A quantidade de proteínas foi avaliada por meio do teor de nitrogênio total da amostra, pelo método Kjeldahl, determinado ao nível semimicro (AOAC, 2011). Utilizou-se o fator de conversão de nitrogênio para proteína de 6,25. A estimativa da quantidade de carboidratos (incluindo fibras) foi obtida a partir de cálculo teórico (por diferença) nos resultados das triplicatas, conforme a fórmula:

$$\% \text{ Carboidratos} = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ proteína} + \% \text{ lipídios} + \% \text{ cinzas}).$$

O total de calorias (kcal) foi calculado utilizando-se os seguintes valores energéticos: lipídios (9 kcal/ g), proteína (4 kcal/ g) e carboidratos (4kcal/ g) (MERRILL A.L, WATT B.K, 1973).

4.3- Protocolo de exercício físico

Como procedimento padrão, para a familiarização dos animais com o protocolo de exercício físico, foi realizada uma fase de adaptação, conforme descrito abaixo:

Fase de Adaptação: Uma semana antes do início do protocolo, foram realizadas cinco sessões diárias com velocidade constante de 5 m/min e duração de 5, 15, 30, 45 e 60 minutos, respectivamente. Neste período foram selecionados os ratos com melhor desempenho na esteira para os grupos de exercício.

O protocolo de exercício consistiu na realização de exercício cinco vezes por semana durante todo o período experimental, totalizando 12 semanas. Na Tabela 1, são apresentadas informações sobre o programa de intervenção, considerando-se período de aplicação e velocidade média das sessões:

Tabela 1. Protocolo de exercício em esteira rolante, segundo intervalo, velocidade (Vel.) e duração das sessões de corrida

Intervalo	Vel. Média (m/min)	Duração (min)
1 ^a – 3 ^a semanas	10	60 - 40
4 ^a – 6 ^a semanas	15	40
7 ^a – 9 ^a semanas	18	35
10 ^a – 12 ^a semanas	19	25 - 15

4.4- Teste incremental

Para determinar o comportamento da capacidade funcional ao esforço, foi realizado um teste de esforço com estágios múltiplos, baseado em estudos prévios (CARVALHO *et al.*, 2005; MENDES *et al.*, 2013). O teste incremental foi realizado ao término do período experimental.

Para tanto, o teste foi iniciado com aquecimento de 5 min em uma velocidade de 5m/min. Após 1 min de recuperação passiva, o animal foi submetido a um esforço progressivo, com velocidade inicial de 6m/min, seguido por incrementos de 3m/min a cada estágio subsequente, que perdurou por 3 minutos. O protocolo foi finalizado quando o animal atingiu a exaustão, a qual foi definida pela vigência de recusa à corrida, mesmo sob estimulação física ou quando a coordenação entre as passadas se apresentou dificultada (CARVALHO *et al.*, 2005). A esteira foi mantida ligada durante o intervalo de 1 minuto entre as trocas de estágios e aumento de carga, e o animal foi retirado da esteira manualmente com o objetivo da coleta sanguínea.

Para a determinação do limiar de lactato, foram coletadas amostras de 25µl de sangue da cauda do animal, obtidas no repouso e entre cada aumento de carga. A coleta foi realizada com lâminas de vidro para microscopia 25x75x1mm (Sigma Chemical Company®- EUA, modelo Techware S 8902) e pipeta digital com ponteiros descartáveis. O sangue coletado foi imediatamente armazenado em tubo *Eppendorf*, contendo 50µl de fluoreto de sódio (NaF) a 1%. As amostras de sangue foram refrigeradas após a coleta e, em seguida, mantidas em freezer (-20°C) até a sua utilização. A concentração de lactato foi determinada pelo método eletroenzimático com o uso de um lactímetro (*Yellow Springs Instruments*®, 1500 Sport, USA). O aparelho foi calibrado de acordo com as informações do fabricante.

As análises sanguíneas do Teste de Esforço foram todas realizadas no Laboratório de Fisiologia e Desempenho Esportivo (LAFIDE), coordenado pelo Prof. Dr Alessandro Moura Zagatto na Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Bauru/SP.

Os resultados foram dados em mmol/L e a determinação do limiar de lactato (LL) foi realizada por plotagem gráfica do comportamento das concentrações durante o teste. O LL foi determinado pelo momento de quebra da linearidade em função do aumento de carga, obtido mediante inspeção visual. A capacidade funcional foi avaliada pela velocidade no limiar de lactato (V_{LL}), distância percorrida, concentração de lactato sanguíneo no limiar de lactato (La_{LL}) e no momento da exaustão (Lac_E), determinados durante o teste de esforço. Além disso, para melhor detalhar a cinética de lactato, foi considerado também a variação relativa (%) da lactateemia, obtida a partir das medidas de lactato La_{LL} e Lac_E . Nas análises de lactateemia, foram utilizados quatro a sete animais por grupo.

4.5- Comportamento nutricional e murinométrico

O comportamento nutricional envolveu avaliação da ingestão alimentar, ingestão calórica e eficiência energética, a cada mês de experimentação. A ingestão alimentar foi obtida por meio da média do consumo diário de ração (g), obtido a cada dois dias. A ingestão calórica foi calculada pela seguinte fórmula: ingestão alimentar (g) multiplicada pelo valor calórico da dieta. Para determinar a eficiência energética, definida como a capacidade de conversão da energia alimentar consumida em massa corporal, foi considerada a razão entre a variação ponderal(g) e energia total ingerida (Kcal).

A composição murinométrica envolveu o comportamento da massa corporal em valores absolutos, índice de massa corporal (IMC), taxa de ganho de massa, índice de Lee e adiposidade. A massa corporal foi mensurada semanalmente, utilizando-se uma balança digital. O Índice de Lee foi calculado ao final do experimento, a partir da relação entre a raiz cúbica do peso corporal e o comprimento nasoanal o animal [$3\sqrt{\text{Peso (g)}/\text{CNA(cm)}}$] (NOVELLI *et al.* 2007). A taxa específica de ganho de massa (g/kg) foi determinada a partir da relação entre dM e Mdt; em que dM representa o ganho de massa corporal durante todo o período experimental e Mdt corresponde a massa corporal inicial (NOVELLI *et al.*, 2007).

Concluídos os procedimentos de análise in vivo, os animais foram mantidos em jejum por um período de 8 horas, submetidos a anestesia intraperitoneal com cloridrato de ketamina (50 mg/kg/ip; Dopalen®, Sespo Indústria e Comércio Ltda – Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil) e cloridrato de xilazina (10mg/kg/ip; Anasedan®, Sespo Indústria e Comércio Ltda – Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil). Após a eutanásia por decapitação, foram executadas toracotomia e laparotomia mediana para remoção de fragmentos cardiopulmonares e retirada de tecido adiposo branco dos compartimentos retroperitoneal e epididimal (OLIVEIRA *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2010a; OLIVEIRA *et al.*, 2010b; OLIVEIRA *et al.*, 2014). A soma dos dois compartimentos em valores absolutos e relativos foi considerada para a determinação da adiposidade corporal.

4.6- Caracterização metabólica

4.6.1- Teste de tolerância à glicose (TTG)

Com o objetivo de avaliar a resposta metabólica em relação à administração de glicose, foi realizado o TTG, ao final do período experimental. Para isso, os animais foram mantidos em jejum durante um intervalo de oito horas. Em seguida, foram coletadas amostras por meio de uma pequena incisão junto à artéria caudal para mensuração da glicemia basal. Na sequência, foi aplicada uma injeção na região intraperitoneal com solução de glicose com concentração de 20% (glicose monohidratada, Campo Grande, Brasil), dosagem equivalente a três gramas por quilo de massa corporal (DINIZ *et al.*, 2004). As demais aferições foram realizadas em 15, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos, contados a partir do estado de repouso. Para a medição, foi utilizado um glicosímetro da marca ACCU-CHEK GO KIT (Roche Diagnostic Brazil Ltda, SP, Brasil).

4.6.2- Perfil bioquímico sérico

Para explorar se a combinação entre restrição calórica intermitente e exercício físico promove alterações do perfil bioquímico sérico, amostras sanguíneas, coletadas no momento da eutanásia, foram submetidas à centrifugação (3000 rpm) durante 10 minutos e, em seguida, foram armazenadas sob temperatura de -20° C.

Posteriormente, foram avaliadas as concentrações séricas de triglicédeos (TG), colesterol total, lipoproteínas de muito baixa (VLDL), baixa (LDL) e alta (HDL) densidades, proteína e albumina por método enzimático com kit específico (Kovalent diagnosis, Kovalent do Brasil Ltda., Rio de Janeiro/RJ).

4.7- Caracterização morfológica do coração

4.7.1- Análise morfológica macroscópica

Para avaliar a morfologia cardíaca macroscópica, foram consideradas as seguintes variáveis: valores absolutos de massa de átrios (MA), massa de ventrículo direito (MVD) e ventrículo esquerdo (MVE), bem como suas respectivas relações com a massa corporal final (MCF) e comprimento da tíbia (cm).

4.7.2- Análise morfológica microscópica

Para a análise morfométrica dos cardiomiócitos, foram consideradas as seguintes variáveis: área e perímetro celulares, e fração intersticial de colágeno do miocárdio. Para tanto, foram confeccionadas lâminas histológicas coradas em hematoxilina-eosina (HE) e *picro-sirius red* (PSR), seguindo-se procedimentos descritos em estudo prévios (MATSUBARA *et al.*, 2006; ZORNOFF *et al.*, 2006). Os procedimentos foram realizados no Laboratório Experimental de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu, Unesp.

Após toracotomia mediana e remoção do coração, foram retiradas amostras do ventrículo esquerdo, a partir de incisão transversal a seis mm do ápice. Como procedimento de fixação, os fragmentos foram imersos em solução tamponada de formol a 10%, na qual foram mantidos por 48 horas. Em seguida, cada fragmento miocárdico foi banhado em água corrente e imersos em solução de etanol a 70%, condição na qual foram mantidos por mais 48 horas. Após a etapa de fixação, os materiais foram inclusos em blocos de parafina.

Lâminas contendo secções teciduais de quatro a sete μm de espessura foram submetidas à coloração com técnica de HE e PSR. Para o cálculo morfométrico do tamanho celular, foram utilizadas lâminas coradas em HE. Considerando as medidas de áreas seccionais, foram amostrados de cada animal, um mínimo de 100 miócitos

cardíacos, sendo que estas células deveriam provir da camada subendocárdica ventricular. As lâminas coradas por PSR foram utilizadas somente para a quantificação do conteúdo de colágeno do meio intersticial miocárdico. Fixado o campo de imagem, os componentes do tecido cardíaco foram identificados, segundo a cor realçada. Os filamentos de colágeno refletiram a cor vermelha enquanto os miócitos revelaram a coloração amarela. A fração intersticial de colágeno correspondeu à medida relativa (%) do conteúdo de colágeno sob toda a extensão tecidual. Um mínimo de 20 campos foi utilizado e regiões perivasculares foram desconsideradas.

Como instrumental analítico, os cortes histológicos foram projetados em aumento de 40 vezes com o auxílio de microscópio (LEICA DM LS) acoplado a uma câmera de vídeo que projeta imagens digitais em um microcomputador IBM, equipado com programa analisador de imagens *Image Pro-plus* (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA).

4.8- Procedimentos de análise estatística

Os resultados experimentais foram expressos na forma descritiva, utilizando-se de medidas de centralidade e variabilidade. As variáveis de comportamento nutricional, murinométrico e tolerância glicêmica, em função do período experimental, foram avaliadas pelo método de análise de variância, no esquema 2x2 (*Two-Way ANOVA*), e modelo de medidas repetidas, seguido do teste de comparações múltiplas de *Bonferroni*. As demais variáveis foram avaliadas por meio de *Two-Way ANOVA*, complementada com teste de *Student-Newman-Keuls*. Todas as conclusões estatísticas foram discutidas sob nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS

5.1- Composição dos grupos

No decorrer do período experimental, três animais do grupo Exercício Físico (EF) e cinco animais do grupo Dieta Intermitente e Exercício Físico (EDI) foram removidos da pesquisa por apresentarem resistência à corrida ou por se machucarem na esteira, restando 12 unidades no grupo EF e 10 no grupo EDI, respectivamente. Nos demais grupos não ocorreram descartes de animais no decorrer do experimento. Obteve-se então a seguinte distribuição de frequência, segundo o grupo:

- **Grupo Controle:** 15 animais;
- **Grupo Dieta Intermitente:** 15 animais;
- **Grupo Exercício Físico:** 12 animais;
- **Grupo Dieta Intermitente e Exercício Físico:** 10 animais.

Portanto, para as demais análises, foi considerada esta constituição amostral.

5.2- Bromatologia

Na análise bromatológica, foram realizadas análises em triplicata para definição da composição nutritiva da dieta utilizada no presente estudo. Na Tabela 2, são apresentados os resultados obtidos na composição centesimal, acompanhada do valor calórico da dieta.

Tabela 2. Composição centesimal e valor calórico da dieta experimental

Componentes	Valores
Umidade (%)	10,86±0,06
Cinzas (%)	7,46±0,03
Lipídeos (%)	7,37±0,18
Proteínas (%)	22,42±0,23
Carboidratos (%) [*]	51,89±0,49
Valor calórico (kcal/g) ^{**}	3,64±0,01

Valores em média ± desvio padrão; * Determinação de carboidratos realizada por diferença.

** Calculado pela soma: (proteínas x 4 kcal) + (lipídeos totais x 9 kcal) + (carboidratos x 4 kcal).

5.3- Comportamento nutricional e murinométrico

5.3.1- Ingestão alimentar

Na Tabela 3, estão apresentados os resultados de ingestão alimentar diária, segundo grupo e momento de avaliação. Em relação ao efeito da dieta, os grupos Controle (C) e Dieta Intermitente (DI) apresentaram diferenças entre si, sendo que maiores valores de ingestão alimentar foram verificados no grupo DI nos três momentos de análise. Da mesma forma, na comparação entre os grupos Exercício Físico (EF) e Exercício Físico e Dieta Intermitente (EDI), constatou-se que o grupo EDI consumiu mais ração do que o grupo EF durante todo o período experimental.

Ao verificar-se o efeito do exercício, não foram observadas alterações de ingestão alimentar em momento algum; nos três meses, tanto as comparações entre os grupos C e EF, quanto entre DI e EDI não revelaram diferenças estatisticamente significativas. Considerando-se o efeito dos períodos avaliados, o grupo C ingeriu quantidade similar de ração em todos os meses. Entretanto, o grupo DI exibiu maior consumo no segundo mês. Já os grupos EF e EDI mostraram um aumento de ingestão alimentar no segundo mês, que se perdurou até o final do experimento.

Tabela 3. Medidas descritivas da ingestão alimentar (g), segundo os momentos de avaliação

Grupos	Momentos		
	1º Mês	2º Mês	3º Mês
C	23,31 ± 0,21 ^{aAα}	23,21 ± 0,89 ^{aAα}	23,36 ± 1,02 ^{aAα}
DI	33,46 ± 1,92 ^{bAα}	36,70 ± 2,36 ^{bA£}	35,66 ± 1,72 ^{bAβ}
EF	22,38 ± 1,13 ^{aAα}	23,25 ± 0,89 ^{aAαβ}	23,83 ± 0,72 ^{aAβ}
EDI	34,19 ± 2,41 ^{bAα}	36,91 ± 1,71 ^{bAβ}	36,51 ± 0,60 ^{bAβ}

Valores em média ± erro padrão; C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente; a, b: p<0,05 para comparações entre dietas em momento similar; A, B: p<0,05 para comparações entre intervenções físicas em momento similar; α, β, £: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA *Two Way* complementada com Teste de Bonferroni.

5.3.2- Ingestão calórica

Na Tabela 4, são apresentados os resultados da ingestão calórica (kcal/g), por dia de alimentação. Em relação ao efeito da dieta, os grupos C e DI apresentaram diferenças entre si, sendo que maiores valores de ingestão calórica foram verificados no grupo DI, em todos os momentos avaliados. De forma similar, constatou-se que o grupo EDI apresentou maior consumo do que o grupo EF, durante o segundo e terceiro mês do experimento.

Em consideração ao efeito do exercício, verificou-se ausência de alterações significativas nos valores de ingestão calórica em todos os momentos avaliados. Em relação à progressão dos meses de experimento, o grupo C ingeriu quantidade similar de calorias em todos os momentos. Entretanto, o grupo DI revelou maior valor de ingestão calórica no segundo mês, o que não perdurou no terceiro mês. O grupo EF apresentou valores similares, diferindo apenas no terceiro mês. Todavia, o grupo EDI apresentou maior ingestão calórica no segundo mês, comportamento que se perdurou até o final do experimento.

Tabela 4. Medidas descritivas da ingestão calórica (kcal/g) diária, segundo os momentos de avaliação

Grupos	Momentos		
	1º Mês	2º Mês	3º Mês
C	84,77 ± 0,78 ^{aAα}	84,40 ± 0,84 ^{aAα}	84,94 ± 0,96 ^{aAα}
DI	121,68 ± 1,80 ^{bAα}	133,44 ± 2,21 ^{bAε}	129,65 ± 1,62 ^{bAβ}
EF	81,38 ± 1,19 ^{aAα}	82,84 ± 0,57 ^{aAα}	86,63 ± 0,76 ^{aAβ}
EDI	124,31 ± 2,77 ^{aAα}	134,21 ± 1,97 ^{bAβ}	132,74 ± 2,17 ^{bAβ}

Valores em média ± erro padrão; C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente; a, b: p<0,05 para comparações entre dietas em momento similar; A, B: p<0,05 para comparações entre intervenções físicas em momento similar; α, β, ε: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA *Two Way* complementada com Teste de Bonferroni.

Na Tabela 5, são apresentados os resultados de ingestão calórica total (g/kcal), considerando intervalos mensais de avaliação. Em relação ao efeito da dieta, observou-se que os grupos DI e EDI apresentaram menores valores de ingestão calórica total nos três momentos de avaliação, comparados aos grupos C e EF, respectivamente.

Ao verificar-se o efeito do exercício, foi constatado diferença significativa apenas no primeiro mês na comparação entre os grupos C e EF, sendo que o grupo C apresentou maior ingestão calórica total. Considerando o momento de avaliação, o grupo C não apresentou alteração do comportamento de ingestão calórica total durante os meses. Já no grupo EF, observou-se um aumento progressivo na ingestão calórica total ao longo do período experimental. O grupo DI, por sua vez, mostrou um acréscimo de ingestão no segundo mês, seguido por decréscimo no último instante de avaliação. No grupo EDI, foi constatado aumento da ingestão calórica total a partir do segundo mês, que se perdurou até o final do experimento.

Tabela 5. Medidas descritivas da ingestão calórica total (g/ kcal), segundo os momentos de avaliação

Grupos	Momentos		
	1º Mês	2º Mês	3º Mês
C	2374 ± 85 ^{bBα}	2363 ± 9 ^{bAα}	2378 ± 104 ^{bAα}
DI	1703 ± 98 ^{aAα}	1868 ± 120 ^{aA£}	1815 ± 88 ^{aAβ}
EF	2279 ± 115 ^{bAα}	2319 ± 56 ^{bAβ}	2426 ± 74 ^{bA£}
EDI	1740 ± 123 ^{aAα}	1879 ± 87 ^{aAβ}	1858 ± 96 ^{aAβ}

Valores em média ± erro padrão; C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente; a, b: $p < 0,05$ para comparações entre dietas em momento similar; A, B: $p < 0,05$ para comparações entre intervenções físicas em momento similar; α, β, £: $p < 0,05$ para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA *Two Way* complementada com Teste de Bonferroni.

5.3.3 - Eficiência alimentar

Na Tabela 6, são apresentados os resultados da eficiência alimentar (g/kcal), segundo grupo e momento de avaliação. Em relação ao efeito da dieta, observou-se que os grupos DI e EDI apresentaram menores valores de eficiência alimentar no primeiro mês, valores similares no segundo mês e maiores medidas de eficiência no último mês do experimento, em comparação aos seus respectivos controles, C e EF.

Ao verificar-se o efeito do exercício, foi constatado diferença significativa na eficiência alimentar apenas entre os grupos DI e EDI no primeiro mês, quando o grupo DI apresentou maior eficiência alimentar que o grupo EDI.

Considerando a progressão dos meses do experimento, de modo geral, os grupos C e EF apresentaram um decréscimo da eficiência alimentar no decorrer do

período experimental. Por sua vez, o grupo DI não apresentou diferença significativa na eficiência alimentar, enquanto o grupo EDI mostrou aumento da eficiência alimentar a partir do segundo mês, que se perdurou até o final do experimento.

Tabela 6. Medidas descritivas da eficiência alimentar (g/ kcal), segundo os momentos de avaliação

Grupos	Momentos		
	1º Mês	2º Mês	3º Mês
C	0,119 ± 0,012 ^{bA£}	0,082 ± 0,013 ^{aAβ}	0,048 ± 0,004 ^{aAα}
DI	0,062 ± 0,004 ^{aBα}	0,059 ± 0,006 ^{aAα}	0,082 ± 0,005 ^{bAα}
EF	0,104 ± 0,005 ^{bAβ}	0,058 ± 0,006 ^{aAα}	0,046 ± 0,004 ^{aAα}
EDI	0,026 ± 0,011 ^{aAα}	0,054 ± 0,013 ^{aAαβ}	0,079 ± 0,004 ^{bAβ}

Valores em média ± erro padrão; C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente; a, b: $p < 0,05$ para comparações entre dietas em momento similar; A, B: $p < 0,05$ para comparações entre intervenções físicas em momento similar; α, β, £: $p < 0,05$ para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA *Two Way* complementada com Teste de Bonferroni.

5.3.4 – Comportamento murinométrico

Na Tabela 7, são apresentados os resultados do massa corporal (g), analisada mensalmente. Em relação ao efeito da dieta, comparando os grupos C e DI, observou-se que o grupo DI apresentou menores valores de massa corporal entre todos os momentos de avaliação. Já na comparação entre os grupos EF e EDI, constatou-se que o grupo EF apresentou maior massa corporal somente no segundo mês do experimento.

Ao verificar-se o efeito do exercício na massa corporal, não foram encontradas alterações significativas. Considerando os momentos de avaliação, todos grupos, em geral, apresentaram um aumento progressivo da massa corporal no decorrer do período experimental.

Tabela 7. Medidas descritivas do massa corporal (g), segundo os momentos de avaliação

Grupos	Momentos			
	Início	1º Mês	2º Mês	3º Mês
C	232 ± 29 ^{aAα}	310 ± 37 ^{bAβ}	363 ± 40 ^{bA£}	395 ± 46 ^{bA€}
DI	243 ± 34 ^{aAα}	272 ± 32 ^{aAβ}	303 ± 37 ^{aA£}	344 ± 37 ^{aA€}
EF	242 ± 33 ^{aAα}	308 ± 33 ^{aAβ}	345 ± 31 ^{bA£}	376 ± 39 ^{aA€}
EDI	266 ± 31 ^{aAα}	279 ± 27 ^{aAα}	306 ± 22 ^{aAβ}	347 ± 22 ^{aA£}

Valores em média ± erro padrão; C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente; a, b: $p < 0,05$ para comparações entre dietas em momento similar; A, B: $p < 0,05$ para comparações entre intervenções físicas em momento similar; α, β, £, €: $p < 0,05$ para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA *Two Way* complementada com Teste de Bonferroni.

Na Tabela 8, são apresentados os resultados da taxa de ganho de massa corporal (g/kg). Em relação ao efeito da dieta, comparando os grupos C e DI, observou-se que o grupo DI apresentou menores valores ponderais nos dois primeiros meses de avaliação. Na comparação entre os grupos EF e EDI, o grupo EDI apresentou menor taxa de ganho ponderal no primeiro mês, não diferindo significativamente no segundo e terceiro mês, em relação ao grupo EF.

Ao verificar-se o efeito do exercício, foi encontrado no grupo C maior taxa de ganho de massa corporal em relação ao grupo EF. Na comparação entre DI e EDI, não foram encontradas mudanças significativas na taxa de ganho de massa corporal. Considerando os momentos de avaliação, o grupo C apresentou um decréscimo nos valores durante o decorrer do período experimental. Os grupos DI e EDI não apresentaram alterações significativas na variação da massa corporal durante todos os momentos de avaliação. O grupo EF apresentou maior valor de ganho ponderal no primeiro mês, comparado com o segundo e terceiro mês, sendo que os valores do segundo e terceiro mês não foram diferentes entre si.

Tabela 8. Medidas descritivas da taxa de ganho de massa corporal (g/ kg), segundo os momentos de avaliação

Grupos	Momentos		
	1º Mês	2º Mês	3º Mês
C	31,35 ± 5,27 ^{bB£}	12,87 ± 2,65 ^{bBβ}	2,91 ± 0,41 ^{aAα}
DI	3,85 ± 0,59 ^{aAα}	3,64 ± 0,59 ^{aAα}	5,19 ± 0,61 ^{aAα}
EF	18,36 ± 1,75 ^{bAβ}	4,62 ± 0,85 ^{aAα}	2,70 ± 0,43 ^{aAα}
EDI	1,54 ± 0,61 ^{aAα}	3,85 ± 0,58 ^{aAα}	4,77 ± 0,49 ^{aAα}

Valores em média ± erro padrão; C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente; a, b: p<0,05 para comparações entre dietas em momento similar; A, B: p<0,05 para comparações entre intervenções físicas em momento similar; α, β, £: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA *Two Way* complementada com Teste de Bonferroni.

Na Tabela 9, são apresentados as medidas descritivas de adiposidade corporal, Índice de massa corporal (IMC) e Índice de Lee. Em relação ao efeito da dieta, o grupo DI mostrou menores valores de IMC e índice de Lee em comparação ao grupo C. Não foram constatadas diferenças entre os grupos EF e EDI.

Ao verificar-se o efeito do exercício, comparando os grupos C e EF, foi encontrado maiores medidas de adiposidade corporal no grupo C. Na comparação entre DI e EDI, foram encontradas mudanças significativas na adiposidade, sendo que o exercício resultou em menor adiposidade corporal. Além disso, o grupo EDI apresentou maior Índice de Lee comparado ao grupo DI (Tabela 9).

Tabela 9. Medidas descritivas da adiposidade corporal, IMC e Índice de Lee

Grupos	Adiposidade (%)	IMC (g/cm ²)	Índice de Lee (g/cm ³)
C	2,11 ± 0,51	15,5 ± 1,6	0,290 ± 0,008
DI	1,91 ± 0,77	13,9 ± 1,2 *	0,282 ± 0,007 *
EF	1,62 ± 0,40 *	14,9 ± 1,2	0,284 ± 0,005
EDI	1,39 ± 0,28 #	14,3 ± 0,9	0,285 ± 0,006 #

Valores em média ± desvio padrão; C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente; * p<0,05 versus C; # p<0,05 versus DI; ANOVA *Two Way* complementada com teste *post hoc* de *Student-Newman-Keuls*.

5.4- Capacidade Funcional

5.4.1 - Teste Incremental

Na Figura 1, são mostrados os valores referentes à distância total (m) e velocidade final (m/min) atingidos no Teste de Esforço, que foi realizado no final do período experimental.

Considerando o efeito do exercício, ambos os grupos exercitados, EF e EDI, apresentaram maiores valores de distância total e velocidade final, em comparação aos seus respectivos controles, C e DI. O efeito da dieta não foi significativo nas comparações efetivadas (Figura 1A e 1B).

Considerando-se as medidas de lactato final, referente ao momento de exaustão (L_{CE}), verificou-se efeito significativo ($p=0,04$) do exercício físico (C e DI: $8,16\pm 0,94$; EF e EDI: $5,34\pm 0,88$ mmol.L^{-1}), sem ocorrência de interação fatorial. Além disso, o valor de inflexão lactacidêmica e quebra da máxima fase estável (MFEL), correspondente ao limiar de lactato (LL), foi similar entre os grupos (C: $2,51\pm 1,18$; DI: $3,90\pm 0,64$; EF: $2,70\pm 0,23$; EDI: $3,04\pm 1,33$ mmol.L^{-1}). A variação de lactatemia entre o ponto de inflexão e o momento final do teste foi maior ($p=0,04$) nos grupos sedentários (C e DI: 156 ± 19 ; EF e EDI: 98 ± 18 %).

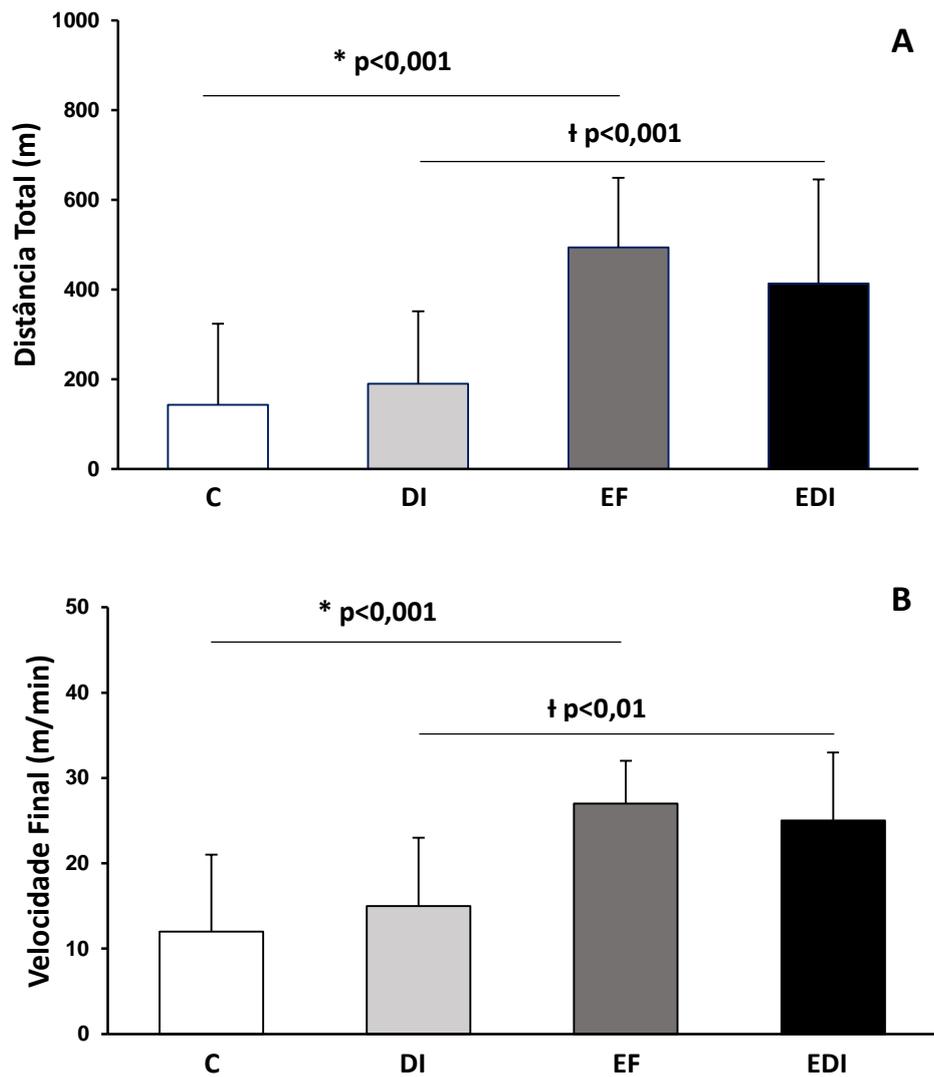


Figura 1. Valores referentes à (A) distância total (m) e (B) referentes velocidade final (m/min) atingida no Teste de Esforço. C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente; * $p < 0,05$ versus C; † $p < 0,05$ versus DI; ANOVA *Two Way* complementada com teste *post hoc* de *Student-Newman-Keuls*.

5.5 - Comportamento Glicêmico

Na Tabela 10, são apresentados os valores de glicemia durante o teste de tolerância à glicose. Considerando o momento, todos os grupos apresentaram ampliação glicêmica aos 15 minutos de avaliação. No geral, esse aumento foi progressivo nos grupos C e EF, que apresentaram reduções glicêmicas a partir de 60 até 180 minutos. Por sua vez, os grupos DI e EDI revelaram reduções na glicemia já a partir de 30 minutos ($p < 0,05$).

Em relação ao efeito da dieta, comparando os grupos C e DI, foi encontrada diferença significativa entre os grupos em 60 minutos, quando o grupo DI revelou menor valor de glicemia. Nas comparações entre os grupos EF e EDI, a dieta intermitente acarretou diminuição da glicemia após 15 e 30 minutos do momento basal. Ao verificar-se o efeito do exercício, não foram encontradas alterações significativas.

Tabela 10. Medidas descritivas da glicemia (mg/dL) obtidas no teste de tolerância glicêmica

G	Momento (minutos)						
	Basal	15	30	60	90	120	180
C	90±2 ^{aAα}	232±14 ^{aAσ}	251±15 ^{aAφ}	207±10 ^{bA€}	150±7 ^{aA£}	132±6 ^{aAβ£}	104±4 ^{aAαβ}
DI	86±2 ^{aAα}	244±17 ^{aAφ}	234±10 ^{aAσ}	157±10 ^{aA€£}	139±6 ^{aA£}	127±6 ^{aAβ£}	98±4 ^{aAαβ}
EF	94±3 ^{aAα}	260±15 ^{bAσ}	262±11 ^{bAφ}	184±9 ^{aA€}	139±8 ^{aA£}	129±10 ^{aAβ£}	99±3 ^{aAαβ}
EDI	90±3 ^{aAα}	209±18 ^{aAσ}	202±15 ^{aA€σ}	149±6 ^{aA£}	131±5 ^{aAβ£}	117±4 ^{aAα£}	101±3 ^{aAαβ}

Valores em média ± erro padrão; G: grupos; C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente; a, b: $p < 0,05$ para comparações entre dietas em momento similar; A, B: $p < 0,05$ para comparações entre intervenções físicas em momento similar; α, β, £, €, σ, φ: $p < 0,05$ para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA *Two Way* complementada com Teste de Bonferroni.

Na Figura 2, são mostrados os valores referentes à área sob a curva de tolerância glicêmica. Ao verificar-se o efeito isolado da dieta (Figura 2A), constatou-se que a dieta intermitente foi associada com menor área de resposta glicêmica. Ao verificar-se o efeito isolado do exercício (Figura 2C), não foram observadas diferenças significativas.

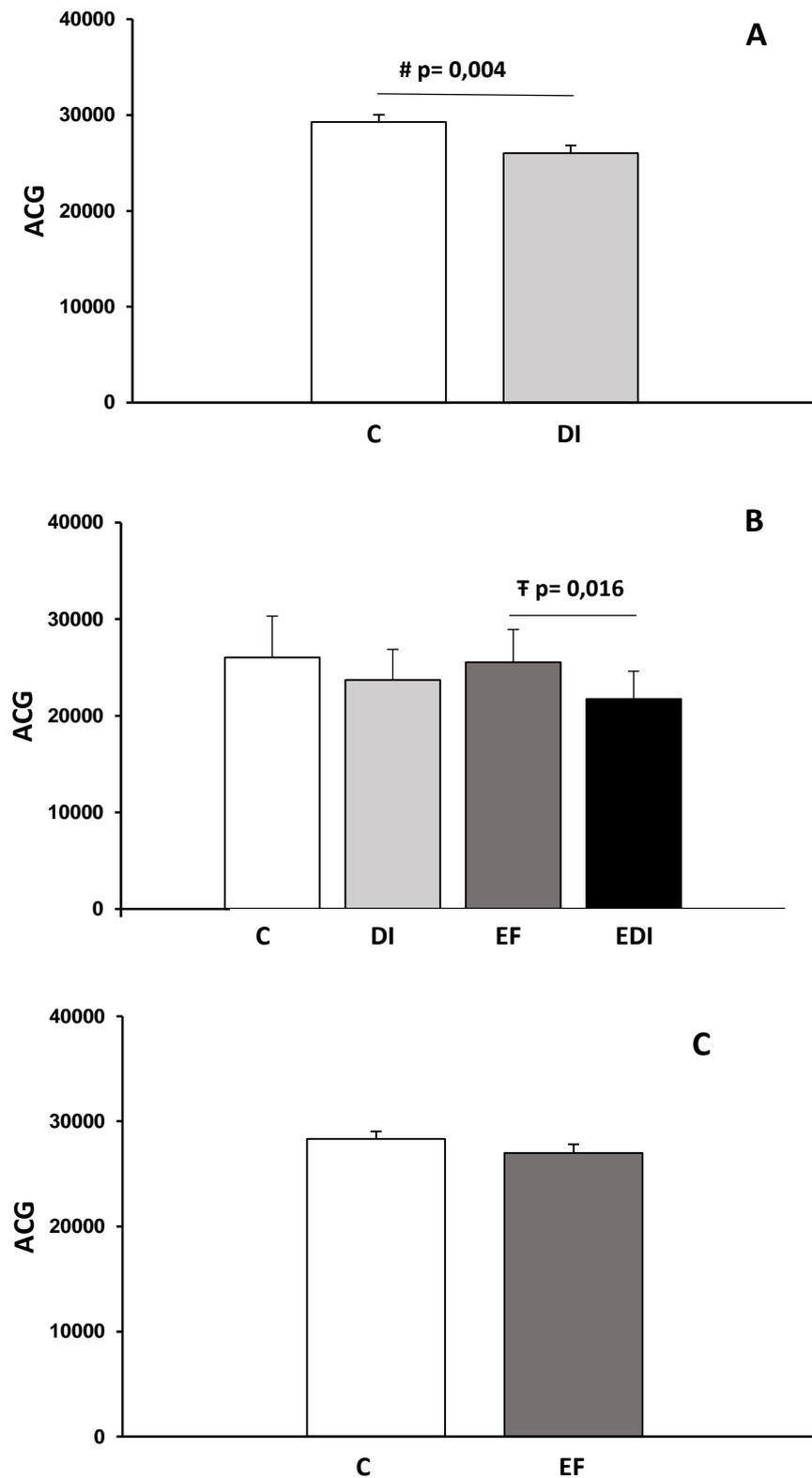


Figura 2. Valores referentes a área sob a curva de tolerância glicêmica (ACG); (A) efeito isolado da dieta, # $p < 0,05$; (B) delineamento de quatro grupos no esquema fatorial 2x2: C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente, ‡ $p < 0,05$ versus EF; (C) efeito isolado do exercício físico. ANOVA *Two Way* complementada com teste de *post hoc* de *Student-Newman-Keuls*.

Considerando-se o delineamento original (Figura 2B), o grupo EDI mostrou menor valor de área sob a curva glicêmica em relação ao grupo EF. Não foram constatadas diferenças nas demais comparações entre grupos.

Na Tabela 11, são apresentadas as medidas descritivas do perfil bioquímico sérico, que inclui concentrações de glicose, colesterolemia, lipidemia, proteína total e albumina. Em relação ao efeito da dieta, comparando os grupos C e DI, observou-se que o grupo DI apresentou menores valores de colesterol total, LDL e proteína em relação ao grupo C. Na comparação entre os grupos EF e EDI, o grupo EDI apresentou menor valor de LDL e maiores valores de glicose, VLDL e TG, em relação ao grupo EF.

Ao verificar-se o efeito do exercício, comparando os grupos C e EF, foram observados maiores valores de colesterol total, LDL e proteína total no grupo C, em relação ao grupo EF. Entre os grupos DI e EDI, foram constatados menores valores de VLDL, TG e albumina no grupo DI (Tabela 11).

Tabela 11. Medidas descritivas das concentrações séricas de glicose, colesterol total, lipoproteínas de alta (HDL), baixa (LDL) e muito baixa (VLDL) densidades, triglicérides (TG), proteína total e albumina

Variáveis	Grupos			
	C	DI	EF	EDI
Glicose (mg/dL)	139,6 ± 38,6	161,0 ± 25,4	136,1 ± 34,1	184,4 ± 18,1 †
Colesterol Total (mg/dL)	64,6 ± 14,0	53,1 ± 7,7 *	56,7 ± 8,7 *	54,6 ± 8,6
HDL (mg/dL)	26,5 ± 4,8	26,4 ± 2,9	26,0 ± 3,5	29,0 ± 3,3
LDL (mg/dL)	28,7 ± 6,7	16,8 ± 5,8 *	21,8 ± 5,8 *	12,0 ± 6,4 †
VLDL (mg/dL)	9,4 ± 4,3	10,2 ± 2,0	8,8 ± 4,5	13,7 ± 4,4 #†
TG (mg/dL)	46,6 ± 21,3	51,4 ± 9,4	44,8 ± 3,2	67,9 ± 22,4 #†
Proteína Total (g/dL)	5,65 ± 0,23	5,32 ± 0,16 *	5,47 ± 0,17 *	5,38 ± 0,20 #
Albumina (g/dL)	3,14 ± 0,11	3,11 ± 0,13	3,20 ± 0,18	3,23 ± 0,09 #

Valores em média ± desvio padrão; C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente; * p<0,05 versus C; # p<0,05 versus DI; † p<0,05 versus EF. ANOVA *Two Way* complementada com teste de *post hoc* de *Student-Newman-Keuls*.

5.6- Caracterização morfológica e umidade cardiopulmonar e hepática

Na Tabela 12, são apresentados os valores estimados de morfologia macroscópica do coração. Em relação ao efeito da dieta, comparando os grupos C e DI, observou-se alteração significativa apenas nos valores de VE e VE/Tíbia, sendo que o grupo DI apresentou menores valores. Na comparação entre os grupos EF e EDI, o grupo EDI apresentou menores valores de átrios e A/Tíbia, em relação ao grupo EF.

Ao verificar-se o efeito do exercício, não foram encontradas diferenças significativas tanto entre os grupos C e EF quanto entre DI e EDI.

Tabela 12. Média e desvio-padrão dos estimadores de morfologia macroscópica do coração

Variáveis	Grupos			
	C	DI	EF	EDI
Átrios (g)	0,059 ± 0,012	0,052 ± 0,009	0,062 ± 0,010	0,051 ± 0,013 †
A/MCF (mg/g)	0,152 ± 0,030	0,152 ± 0,026	0,164 ± 0,026	0,143 ± 0,035
A/Tíbia (mg/cm)	0,015 ± 0,003	0,013 ± 0,002	0,016 ± 0,002	0,013 ± 0,003 †
VD (g)	0,13 ± 0,02	0,12 ± 0,03	0,14 ± 0,02	0,12 ± 0,02
VD/MCF (mg/g)	0,345 ± 0,033	0,346 ± 0,101	0,359 ± 0,033	0,344 ± 0,050
VD/Tíbia (mg/cm)	0,034 ± 0,004	0,030 ± 0,009	0,034 ± 0,005	0,032 ± 0,004
VE (g)	0,48 ± 0,07	0,40 ± 0,04 *	0,48 ± 0,06	0,44 ± 0,07
VE/MCF (mg/g)	1,24 ± 0,14	1,18 ± 0,10	1,27 ± 0,07	1,24 ± 0,16
VE/Tíbia (mg/cm)	0,121 ± 0,015	0,104 ± 0,009 *	0,121 ± 0,012	0,114 ± 0,016

Valores em média ± desvio padrão; MA: massa de átrios; MA/MCF: razão entre massa de átrios e massa corporal final; MA/Tíbia: razão entre massa de átrios e comprimento da tíbia; MVD: massa de ventrículo direito; MVD/MCF: razão entre massa de ventrículo direito e massa corporal final; MVD/Tíbia: razão entre massa de ventrículo direito e comprimento da tíbia; MVE: massa de ventrículo esquerdo; MVE/MCF: razão entre massa de ventrículo esquerdo e massa corporal final; MVE/Tíbia: razão entre massa de ventrículo esquerdo e comprimento da tíbia. * p<0,05 versus C; # p<0,05 versus DI; † p<0,05 versus EF. ANOVA *Two Way* complementada com teste *post hoc* de *Student- Newman-Keuls*.

Na Tabela 13, são apresentados os valores do conteúdo relativo de água do tecido cardíaco. Não foram encontradas alterações significativas tanto em relação a dieta quanto ao exercício.

Tabela 13. Média e desvio padrão do conteúdo relativo de água do tecido cardíaco

Variáveis	Grupos			
	C	DI	EF	EDI
Átrios	71,4 ± 4,7	64,9 ± 9,2	73,9 ± 2,8	71,3 ± 6,3
Ventrículo Direito	69,7 ± 6,2	69,8 ± 6,3	72,9 ± 2,2	71,2 ± 4,5
Ventrículo Esquerdo	74,2 ± 4,7	69,6 ± 8,0	72,1 ± 6,8	72,8 ± 3,8
Pulmão	76,64 ± 0,81	75,67 ± 1,00	76,55 ± 1,00	76,60 ± 1,55
Fígado	70,58 ± 7,29	67,91 ± 1,98	68,97 ± 1,05	68,66 ± 0,85

Valores em média ± desvio padrão; ANOVA *Two Way* complementada com teste *post hoc* de *Student- Newman-Keuls*.

Na Figura 3 (A e B), são mostradas as medidas descritivas da morfometria do miocárdio. A combinação entre dieta intermitente e exercício físico resultou em menores valores de área (C: 250 ± 40 ; DI: 257 ± 20 ; EF: 254 ± 31 ; EDI: $226\pm 26\mu\text{m}^2$) e perímetro celular (C: $66,8\pm 5,5$; DI: $68,2\pm 2,6$; EF: $67,1\pm 4,2$; EDI: $62,5\pm 3,6\mu\text{m}$), no grupo EDI, que se mostrou diferente dos grupos EF e DI.

Em relação ao conteúdo de colágeno, o exercício físico, isoladamente promoveu aumento da fração intersticial de colágeno (C: $5,16\pm 0,91$; DI: $5,79\pm 2,40$; EF: $6,96\pm 2,78$; EDI: $4,43\pm 0,79\%$). Levando-se em conta o efeito da dieta, foi constatado que o grupo EDI apresentou menor concentração de colágeno do que o grupo EF (Figura 3C).

Na figura 4 (A e B), são mostradas as imagens representativas de cortes histológicos teciduais da parede do ventrículo esquerdo, caracterizando a área seccional transversa dos cardiomiócitos e ao conteúdo de colágeno intersticial miocárdico.

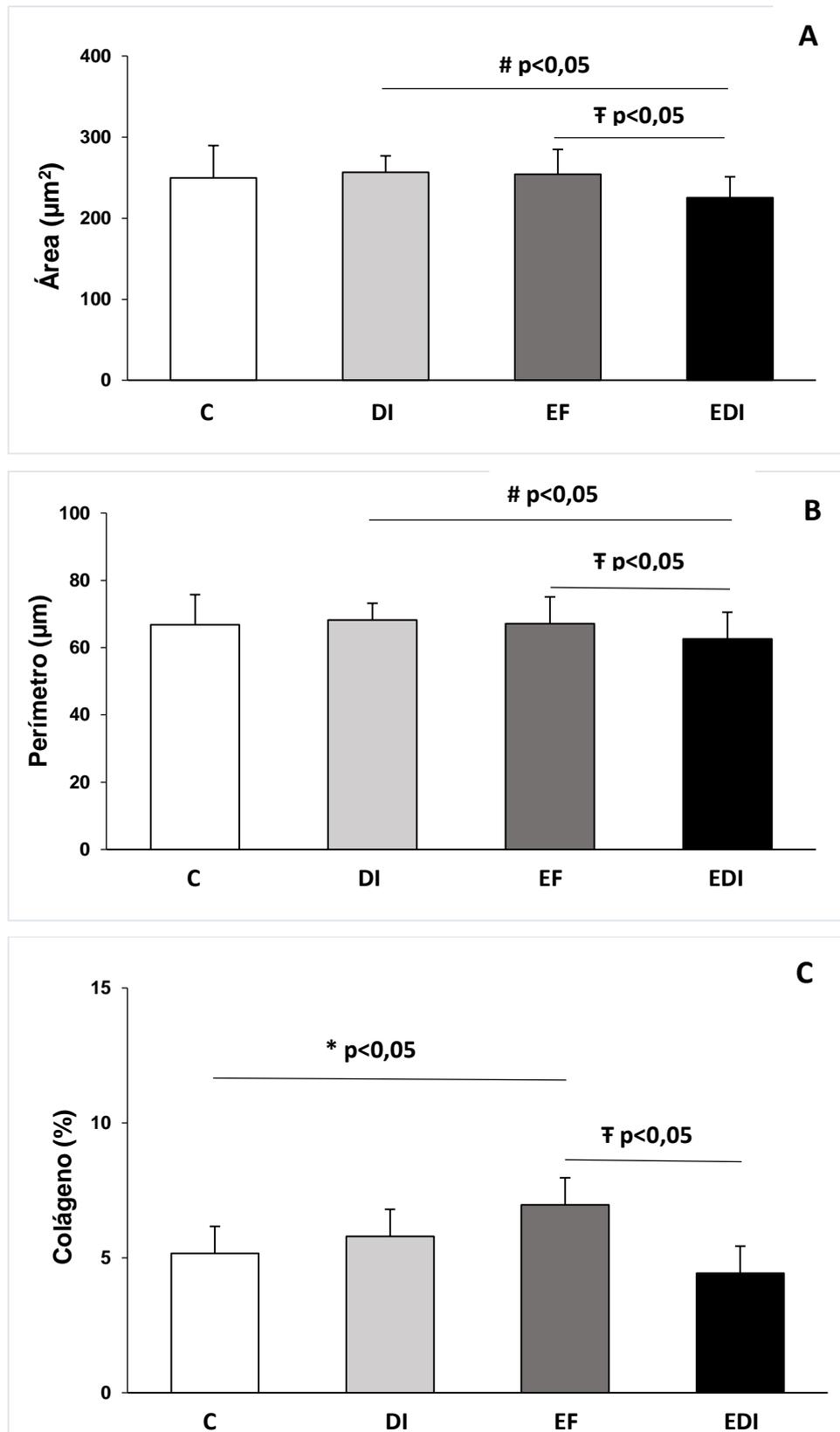


Figura 3. Medidas descritivas da área seccional transversa cardiomiocitária (A); perímetro do cardiomiócito (B); fração intersticial de colágeno (C); C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente, * $p < 0,05$ versus C; # $p < 0,05$ versus DI; ∇ $p < 0,05$ versus EF; (C) efeito isolado do exercício físico. ANOVA *Two Way* complementada com teste *post hoc* de *Student-Newman-Keuls*.

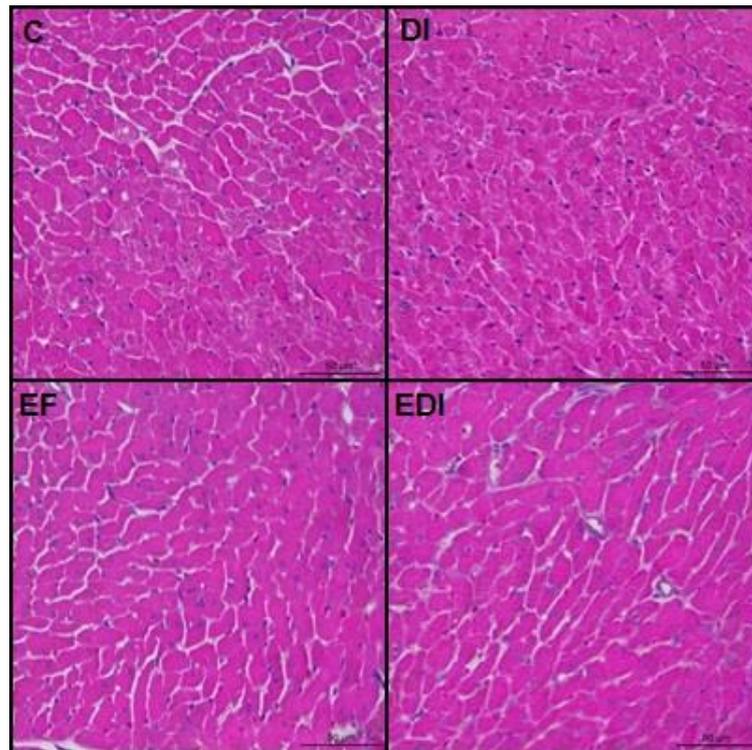


Figura 4A. Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com hematoxilina-eosina (HE) 40 X; (C); C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente.

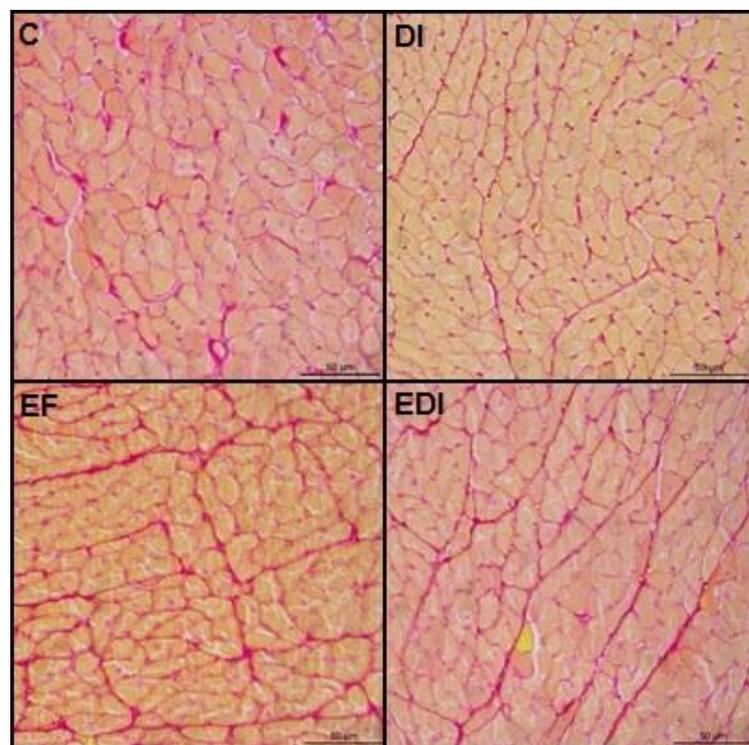


Figura 4B. Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com picro-sirius red 40 X; (C); C: ratos sedentários sob dieta normocalórica *ad libitum*; DI: ratos sedentários sob dieta intermitente; EF: ratos exercitados sob dieta normocalórica *ad libitum*; EDI: ratos exercitados sob dieta intermitente.

6. DISCUSSÃO

Sob a hipótese inicial de que a dieta intermitente resulta em alterações metabólicas sistêmicas e na morfologia cardíaca, e que o exercício físico em esteira rolante atenua essas desordens metabólicas e teciduais, a proposta do presente trabalho foi analisar a influência da combinação entre dieta intermitente e prática de exercício físico sobre a capacidade funcional ao esforço, tolerância glicêmica, perfil bioquímico sérico e indicadores morfológicos de remodelação miocárdica. No contexto metabólico, a dieta intermitente ocasionou melhora na tolerância glicêmica e redução nos níveis de colesterolemia, em oposição à hipótese proposta inicialmente. Surpreendentemente, o exercício físico também diminuiu a colesterolemia sem afetar a glicemia, e a combinação entre dieta intermitente e exercício físico acentuou a melhora na tolerância glicêmica. No contexto cardiovascular, o exercício físico, *per se*, acarretou remodelação intersticial do miocárdio e, quando associado com a dieta intermitente, constatou-se retenção do processo de remodelação cardíaca, o que foi sustentado por menores valores morfométricos de área, perímetro e interstício tecidual.

Em relação ao modelo de experimentação, dietas restritivas vêm sendo comumente estudadas com o objetivo de reduzir o risco de doenças crônicas, como obesidade, diabetes tipo 2, dislipidemia, hipertensão e enfermidades cardiovasculares. Sendo assim, essa intervenção tem o propósito de aumentar a expectativa de vida, pois doenças crônicas relacionadas com a idade diminuem a longevidade humana (FONTANA L, PARTRIDGE L, LONGO V.D., 2010). O aumento progressivo das doenças crônicas é decorrente principalmente da adoção de hábitos alimentares inadequados, como consumo excessivo de carboidratos e lipídeos, além de estilo de vida sedentário (MENSAH *et al.*, 2004). A investigação da restrição alimentar em modelos animais tem como intuito reproduzir, de alguma forma, os efeitos desse tipo de intervenção em humanos. Atualmente, são conhecidos diversos protocolos de restrição calórica e o adotado no presente estudo integra uma forma de restrição alimentar comumente conhecida como dieta ou jejum intermitente, que é apresentada como uma opção interessante de restrição energética (ANSON *et al.*, 2003; VARADY *et al.*, 2009).

A dieta intermitente não se diferencia da dieta do grupo controle em composição nutricional, e sim, na disponibilidade do alimento, que é alternada com

períodos de jejum (CERQUEIRA F.M, KOWALTOWSKI A.J, 2010; AHMET *et al.*, 2011; JEONG *et al.*, 2011). Alguns estudos (CERQUEIRA F.M, KOWALTOWSKI A.J, 2010; ANSON R.M, JONES B, DE CABO R, 2005) mostraram que a dieta intermitente promoveu a redução da massa corporal, sem modificações de ingestão calórica total. Embora parcialmente diferentes dos achados do presente estudo, essa ocorrência poderia indicar que a baixa conversão de eficiência energética pode resultar em mudanças na regulação periférica e/ ou central do metabolismo energético. Em suporte a tanto, no estudo de Chausse e colaboradores (2014), protocolo de intervenção intermitente similar ao modelo de nosso estudo resultou em reduzida eficiência energética, após três semanas. Além disso, foi detectado aumento na expressão dos neurotransmissores que estimulam o apetite e a conservação de energia, demonstrando que, embora essa intervenção dietética possa trazer redução ponderal, a mesma altera o metabolismo energético e a sinalização hipotalâmica, interferindo na sensação de saciedade. Portanto, ainda que a dieta intermitente possa trazer alguns benefícios para a saúde, há também consequências indesejáveis ao metabolismo.

Nessa perspectiva, foi encontrado que o jejum intermitente pode levar à inativação oxidativa do receptor de insulina e à intolerância à glicose (CERQUEIRA *et al.*, 2011). Levando-se em conta que essas afecções podem ser acompanhadas de remodelação cardíaca (RUTTER *et al.*, 2003; OKOSHI *et al.*, 2006; TAKATSU *et al.*, 2013), foi elaborada a primeira hipótese do presente estudo: a dieta intermitente promoveria desordens metabólicas e alterações morfológicas do coração. Considerando-se o potencial da prática de exercício físico como intervenção para amenizar ou reduzir riscos de doenças metabólicas e cardiovasculares (SCHAIBLE T.F, SCHEUER J, 1979; PAULSON *et al.*, 1987; BRODERICK *et al.*, 2001; PINHEIRO *et al.*, 2007; SUGIZAKI *et al.*, 2011; BUTHANI *et al.*, 2013), a segunda parte da hipótese do presente estudo foi de que o exercício atenuaria as desordens decorrentes da dieta intermitente. Nesse sentido, o protocolo de exercício físico integrou corrida em esteira rolante, com predomínio do metabolismo aeróbio. Além de maior estímulo à oxidação de gorduras, este tipo de exercício melhora o condicionamento físico e cardiovascular, conforme demonstrado por inúmeros estudos prévios (CARVALHO J.F, MASUDA M.O; POMPEU F.A.M.S, 2005; SERRA *et al.*, 2008; PINHEIRO *et al.*, 2010).

Levando-se em conta o comportamento nutricional e murinométrico, a dieta intermitente se associou com maiores valores diários de consumo alimentar e energético nos dias de oferta, menor ingestão calórica total e menores medidas de massa corporal na maior parte do período experimental. Como referido anteriormente, maior consumo alimentar decorrente da dieta intermitente pode ser explicado por alterações na sensação de saciedade (CHAUSSE *et al.*, 2014; CHAUSSE *et al.*, 2015). O hipotálamo é um dos principais responsáveis pela homeostase corporal, exercendo diversas funções, dentre elas, a promoção de saciedade. Sabe-se que alterações no hipotálamo lateral levam à afagia (inanição do apetite), enquanto que desordens no hipotálamo medial conduzem a hiperfagia (aumento do apetite) (LENT R, 2010).

Outros estudos (PINOTTI *et al.*, 2010; CHAUSSE *et al.*, 2014) mostraram que a dieta intermitente repercutiu em maior consumo alimentar nos dias de oferta, como apresentado no presente trabalho. Da mesma forma, Dorighello e colaboradores (2014) mostraram que a dieta intermitente resultou em menor ingestão calórica total, corroborando nossos achados. A vigência do exercício físico não afetou as respostas do consumo alimentar e da ingestão calórica, decorrentes da dieta intermitente. Buthani e colaboradores (2013), em estudo com humanos, demonstraram que voluntários exercitados, mesmo apresentando aumento de fome, não exibiram significativo aumento da ingestão alimentar.

Por sua vez, embora reduzida no grupo DI no início da intervenção, a eficiência energética mostrou-se ampliada no fim do experimento; a taxa de ganho de massa foi inalterada com a dieta intermitente no último instante de avaliação. Não obstante, os valores de IMC e Índice de Lee mantiveram-se menores no grupo DI comparado ao C, ainda que os valores de adiposidade tenham se mostrado inalterados entre os grupos. Da mesma forma, essas alterações derivadas da dieta se reproduziram entre os grupos EF e EDI (Tabela 6 e 8). O aumento da eficiência energética pode estar associado à melhor sensibilidade à ação insulinêmica, o que é sustentado pela melhor tolerância glicêmica derivada da dieta intermitente (Tabela 10; Figura 3A). Inclusive, a insulina tem propriedades lipogênicas sobre o tecido adiposo (CARVALHEIRA, J.B.C, ZECCHIN, H.G, SAAD, M.J.A, 2002; FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2006), fato que explica porque os grupos sob dieta intermitente, mesmo com massa corporal inferior, não apresentaram diferenças significativas de adiposidade corporal quando comparados aos respectivos controles (Tabela 9).

A insulina aumenta sua liberação quando há maior oferta de nutrientes, como no período pós-prandial. O aumento desse hormônio estimula a lipogênese (FARIAS, T.S.M, 2010). A melhora da sensibilidade à insulina pela adoção da dieta intermitente foi encontrada também em estudos recentes com ratos (BAUMEIER *et al.*, 2015; GOTTHARDT *et al.*, 2015). Por sua vez, a combinação entre dieta intermitente e exercício físico resultou em menor adiposidade corporal e maior valor de índice de Lee, quando comparado ao grupo dieta intermitente sedentário (DI). Tanto em modelos experimentais como em humanos, o exercício físico promove adaptações e ajustes de natureza cardiorrespiratória, neural e hormonal (RONDON *et al.*, 2006). No contexto hormonal, a secreção dos hormônios é também alterada pelo exercício. No estudo de Evans e colaboradores (2005) com sujeitos idosos durante 12 meses, com a prática de exercício físico aeróbio, resultou em melhora na sensibilidade à insulina, com diminuição de 19,4% da área da curva de tolerância oral a glicose. Portanto, a interação entre dieta e exercício pode ter potencializado os efeitos hormonais do metabolismo insulinêmico, como sustentado pelos achados entre os grupos EF e EDI.

Apesar da melhora do metabolismo glicêmico e insulinêmico, os resultados evidenciaram que a dieta intermitente, por si só, não interferiu na lactacidemia ao teste de esforço. Como visto na Tabela 10, entre os grupos C e DI, constatou-se uma sutil melhora do metabolismo glicêmico, aos 60 minutos, que não se materializou a partir dos dados de área sob a curva de glicemia (Figura 1B). Sendo assim, é possível que a formação de lactato durante o exercício não tenha efetivamente sido afetada por essa melhora no metabolismo de glicose, observado em circunstância de repouso.

Em geral, o teste de esforço é utilizado para avaliação não invasiva da doença cardiovascular, serve para detectar disfunções cardíacas não observáveis em repouso (SULLIVAN, M.J, HAWTHOME, M.H, 1995; CHALELA, W.A, MOFFA, P.J, 2005) e a tolerância ao teste de esforço é uma medida para avaliar o condicionamento cardiorrespiratório e a capacidade aeróbia (OLGA *et al.*,2013). Nesse contexto, o exercício optado foi em esteira rolante, por esse ergômetro revelar um comportamento na curva lactacidêmica mais similar ao observado em humanos (LANGFORT *et al.*, .1996; CARVALHO *et al.*, 2005). Além disso, este ergômetro permite controle mais preciso da intensidade de exercício físico, em termos de velocidade e inclinação (PEREIRA B, JUNIOR T.D.S, 2007). Para a determinação do limiar anaeróbio (LAN), a mensuração dos níveis de lactato é um dos parâmetros mais utilizados para estimar a capacidade aeróbia e tem se mostrado um eficaz índice de avaliação desta

capacidade (PEREIRA B, JUNIOR T.D.S, 2007). O limiar de lactato pode ser definido como a intensidade de exercício em que a concentração sanguínea de lactato tem um aumento abrupto (PEREIRA B, JUNIOR T.D.S, 2007). Nesse sentido, o protocolo de corrida em esteira rolante repercutiu melhor desempenho funcional dos grupos exercitados EF e EDI, o que foi sustentado por menores valores de lactato final (LacE), menor variação metabólica de lactacidemia e maiores valores de velocidade e distância percorrida durante o teste final. Portanto, pode-se afirmar que o exercício físico promoveu melhora da capacidade aeróbia, confirmando achados de estudos anteriores (DOWNING *et al.*, 2011; PAGAN, L.U, 2014).

No contexto metabólico, além da melhor resposta glicêmica, a dieta intermitente culminou em redução dos níveis de colesterol total e LDL, corroborando achados de estudos realizados anteriormente em modelos animais (MULAS, M.F *et al.*, 2005; VARADY *et al.*, 2007) e em humanos (VARADY *et al.*, 2009; BUTHANI *et al.*, 2010; KEMPLEL *et al.*, 2013). O tecido adiposo é considerado o principal reservatório energético e os adipócitos, são células especializadas que trabalham tanto na síntese de triglicerídeos (lipogênese), quanto no estoque em períodos de grande oferta de alimento. Varady e colaboradores (2007) constataram que a dieta intermitente causa oscilação no metabolismo dos lipídeos entre anabolismo (lipogênese) e catabolismo (lipólise). Nesse contexto é importante esclarecer que roedores da linhagem Wistar apresentam resistência no desenvolvimento de dislipidemia e aterosclerose. Diferentemente do metabolismo lipídico humano, com transporte dependente de LDL, o processamento e trânsito lipídico desses animais são dependentes da formação de HDL (RUSSELL J, PROCTOR S, 2006). Essas características podem explicar as alterações metabólicas observadas.

Com relação ao efeito isolado do exercício, foram constatados menores valores de colesterol total, LDL e proteína, em relação ao grupo C. Dentre seus vários efeitos, o treinamento físico aprimora o catabolismo de gorduras (DUARTE, A.F.A; MOREIRA, S.B, 2001). As catecolaminas plasmáticas aumentam com a intensidade do exercício e esta é fator principal e determinante para o grau de utilização de carboidratos e lipídeos, sendo que a oxidação dos ácidos graxos é mais importante nos exercícios prolongados moderados (PEREIRA, B; JUNIOR, T.D.S, 2007). A energia proveniente da oxidação das gorduras é aumentada significativamente durante exercício constante e de longa duração (MCDARLE, W.D; KATCH, F.I; KATCH, V.L, 2011). Este fato explica os baixos índices de colesterol total e LDL nos grupos exercitados. A

combinação da dieta intermitente e exercício potencializou a diminuição dos níveis de LDL no grupo EDI, demonstrando que essa associação pode permitir uma redução ainda maior nos níveis de colesterol, melhorando o perfil dos lipídeos.

Surpreendentemente, o grupo EDI mostrou maiores valores de glicemia basal, triglicérides e VLDL em comparação ao EF. A hiperglicemia e hipertrigliceridemia basal contrastam com a melhor tolerância glicêmica observada no EDI (Figura 3). O aumento desses índices pode estar relacionado com sobrecarga de catecolaminas circulantes (LEVINE, T.B; LEVINE, A.B, 2006), o que pode ter decorrido da condição de jejum pré-eutanásia. As catecolaminas exercem funções metabólicas, hormonais moduladoras e hemodinâmicas (MELO *et al.*, 2005). Consideradas como importantes neurotransmissores e hormônios circulantes, as catecolaminas podem explicar os maiores valores de triglicérides e VLDL encontrados no grupo EDI. A resposta hormonal estimula a liberação de vários hormônios, e isso depende da intensidade e da duração do estímulo (MELO *et al.*, 2005; SANCHES, A; DE MENEZES, M.L; PEREIRA, O.C.M, 2002). Além disso, a epinefrina promove também hiperglicemia induzida pelo estresse ao aumentar a produção hepática de glicose e ao reduzir a captação periférica de glicose. O estresse produzido pelo exercício físico é acompanhado por um aumento da descarga de catecolaminas, que influenciam vários processos fisiológicos. A resposta a esse estresse resulta em diversas mudanças, dentre elas, efeitos bioquímicos, endocrinológicos, hematológicos e fisiológicos. Essas alterações buscam conduzir o organismo à homeostase (MARTINEZ, A.C; ALVAREZ-MON, M, 1999). Isto explica os achados na combinação da dieta intermitente e exercício físico, que pode ter decorrido de uma condição estressora que repercutiu em hiperglicemia e hipertrigliceridemia.

A remodelação miocárdica é um predisponente para eventos cardiovasculares. É constituída por mudanças que se manifestam mediante alterações de tamanho, forma e função do coração. Influenciado por sobrecarga hemodinâmica, ativação neuro-hormonal e diferentes condições nutricionais, o processo de remodelação cardíaca envolve células cardíacas, interstício, fibroblastos, colágeno e eventos como isquemia, necrose e apoptose celular (COHN *et al.*, 2000). Levando-se em consideração a relevância de investigar melhor a ocorrência deste processo devido ao alto índice de doenças cardiovasculares, nosso estudo analisou aspectos estruturais e morfológicos do miocárdio e sua relação com a dieta intermitente. Em relação aos valores estimados de morfologia macroscópica do coração, a dieta

intermitente resultou em menores valores de VE e VE/Tíbia, átrios e A/Tíbia. Wan e colaboradores (2010) constataram que a dieta intermitente não alterou o tamanho do VE em ratos induzidos ao infarto, o que poderia indicar possível atenuação do processo de remodelação cardíaca. Além disso, os autores verificaram que a dieta intermitente reduziu o dano do tecido cardíaco, apoptose das células cardíacas e inflamação sistêmica, além de aumentar os níveis circulantes de adiponectina, que pode proteger a integridade dos cardiomiócitos (WAN *et al.*, 2010).

Entre os fatores estimulantes a proliferação e estimulação do processo de remodelação miocárdica, incluem as moléculas biotivas de angiotensina II, aldosterona, endotelinas, citocinas inflamatórias e catecolaminas (YAMAZAKI, KOMURO, YAZAKI, 1998; LEE; LAMMERDING, 2002). O transtorno da homeostasia tecidual está associado com produção desses agentes, resultando em remodelação do tecido e possível fibrose intersticial (WEBER, 2000; GOLDSMITH & BORG, 2002; KACIMI & GERDES, 2003). No presente estudo, levando-se em conta o efeito da dieta, foram constatados menores valores da concentração de colágeno no grupo sob exercício físico e dieta intermitente (EDI) em relação ao DI (Figura 4). Em geral, esse efeito da dieta intermitente é potencializado na vigência de condições que causam remodelação cardíaca, incluindo-se modelos de obesidade, diabetes e isquemia (DORIGHELLO *et al.*, 2014; WAN *et al.*, 2010), além do exercício físico (WEINER R.B, BAGGISH A.L, 2012). O exercício pode ter ocasionado essa quebra da homeostase tecidual, resultando em fibrose intersticial.

Por sua vez, a combinação de dieta intermitente e exercício físico resultou em diminuição do conteúdo de colágeno intersticial, menores valores de átrios e A/tíbia e menores valores de área e perímetro celular cardíaco indicando essa combinação como um potencial para atenuar o processo de remodelação miocárdica. No estudo de Sugizaki *et al.*, (2011), envolvendo restrição energética e treinamento físico por meio de natação, os autores encontraram que a restrição alimentar promoveu redução da massa cardíaca e o exercício físico, isolado ou associado com a dieta, não promoveu hipertrofia cardíaca, corroborando nossos achados de morfologia macroscópica. Além disso, essa condicionante confere explicação para a ausência de diferenças morfométricas entre os grupos sedentários (C = DI).

Considerando-se o efeito isolado do exercício, embora não tenham sido encontradas alterações de morfologia macroscópica e das medidas dos cardiomiócitos, o exercício físico em esteira rolante promoveu aumento da fração

intersticial de colágeno. Com a prática prolongada de treinamento físico, ocorrem adaptações cardiovasculares (BEVEGARD S, HOLMGREN A, JOHNSON B, 1963; FRICK MH, KONTTINEN A, SARAJAS HSS, 1963; SALTIN B, ASTRAN PO, 1967). Essas adaptações incluem alterações morfológicas e funcionais, com o intuito de melhorar a função do coração no bombeamento de sangue e na capacidade do sistema cardiovascular de fornecer oxigênio aos músculos recrutados durante o esforço. As alterações estruturais dependem de diversos fatores do treinamento físico, como natureza, duração e intensidade do exercício (GHORAYEB *et al.*, 2004). Dentre essas adaptações do exercício, inclui-se a hipertrofia ventricular esquerda.

Desenvolvida como uma forma de compensar e se adaptar a um estímulo hemodinâmico, a hipertrofia ventricular esquerda, representa a resposta a condições de sobrecarga de pressão e/ou volume (COHN *et al.*, 2000). Assim, pode se traduzir mediante aumento da dimensão diastólica final da cavidade ventricular esquerda, da espessura parietal e da massa ventricular esquerda, conferindo melhora do enchimento diastólico e redução da frequência cardíaca (GHORAYEB *et al.*, 2004).

Nessa perspectiva, o aumento de colágeno intersticial encontrado no grupo EF, pode se configurar como indício do processo de remodelação ventricular fisiológica, ainda que os achados morfológicos não tenham confirmado a ocorrência de hipertrofia. Para avaliar a ocorrência da hipertrofia miocárdica, utiliza-se normalmente a mensuração da área miocitária, coradas com hematoxilina – eosina em procedimentos específicos e já estabelecidos (MATSUBARA *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2008; ZORNOFF *et al.*, 2006). Entretanto, este método possui limitações que podem conduzir a interpretações incorretas. Dentre esses fatores, inclui-se a variabilidade do ângulo de corte dos tecidos, podendo haver neste caso uma superestimação da área dos miócitos (GERDES, A.M, 2002). Portanto, outros indicadores de análise poderão ser adotados para investigar a ocorrência de hipertrofia ventricular de modo mais preciso, incluindo-se análise do menor diâmetro celular e/ou mensuração do volume nuclear (AHMET *et al.*, 2010; AHMET *et al.*, 2011).

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, no contexto metabólico, os resultados indicaram que a dieta intermitente ocasionou melhora na tolerância glicêmica e redução nos níveis de colesterolemia, em oposição à hipótese proposta inicialmente. O exercício físico reduziu também a colesterolemia sem afetar a glicemia, e a combinação entre dieta intermitente e exercício físico acentuou a melhora na tolerância glicêmica.

No contexto cardiovascular, o exercício físico, isoladamente, resultou em remodelação intersticial do miocárdio e, quando associado com a dieta intermitente, atenuou o processo de remodelação cardíaca, sustentado por menores valores morfométricos de área, perímetro e interstício tecidual.

8. REFERÊNCIAS

AHMET, I.; WAN, R.; MATTSON, M.P.; LAKATTA, E.G.; TALAN, M. Cardioprotection by intermittent fasting in rats. **Circulation**. v. 112, p. 3115-3121, 2005.

AHMET, I.; WAN R.; MATTSON M.P.; LAKATTA E.G.; TALAN M.I. Chronic alternate-day fasting results in reduced diastolic compliance and diminished systolic reserve in rats. **J Card Fail**. v.16, p. 843-53, 2010.

AHMET, I.; TAE, H.J.; DE CABO, R.; LAKATTA, E.G.; TALAN, M.I. Effects of calorie restriction on cardioprotection and cardiovascular health. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**. v.51, p. 263-271, 2011.

ANSON, R.M.; JONES, B.; DE CABOD, R. The diet restriction paradigm: a brief review of the effects of every-other-day feeding. **Age (Dordr)**. v.27, p. 17–25, 2005 .

ANALYSIS OF ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 18 ed. 4ª rev. Gaithersburg (MD): AOAC, 2011.

ANSON, R.M.; GUO, Z.; DE CABO, R.; IYUN, T.; RIOS, M.; HAGEPANOS, A; INGRAM, D.K.; LANE, M.A.; MATTSON, M.P. Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to injury from calorie intake. **Proc Natl Acad Sci USA**. v.100, p. 6216-6220, 2003.

ARGENTINO, D.P.; DOMINICI, F.P.; MUNOZ, M.C.; AL-REGAJEV, K.; BARTKE, A.; TURYN, D. Effects of long-term caloric restriction on glucose homeostasis and the first steps of the insulin signaling system in skeletal muscle of normal and Ames dwarf. **British Journal Of Nutrition**. v.40, p. 27-35, 2005.

BAUMEIER, C.; KAISER, D.; HEEREN, J.; SCHEJA, L.; JOHN, C.; WEISE, C.; ERAVCI, M.; LAGERPUSCH, M.; SCHULZE, G.; JOOST, H.G.; SCHWENK, RW.; SCHÜRMAN, A. Caloric restriction and intermittent fasting alter hepatic lipid droplet proteome and diacylglycerol species and prevent diabetes in NZO mice. **Biochim Biophys Acta**. v.1851, p. 566-576, 2015.

BEVEGARD, S.; HOLMGREN, A.; JOHNSON, B. Circulatory studies in well-trained athletes at rest and during exercise, with special reference to stroke volume and influence of body position. **Acta Physiol Scand**. v. 57, p. 26-38, 1963.

BHUTANI, S; KLEMPPEL, M.C.; BERGER, R.A.; VARADY, K.A. Improvements in coronary heart disease risk indicators by alternate-day fasting involve adipose tissue modulations. **Obesity (Silver Spring)**. v.18, p. 2152-2159, 2010.

BHUTANI, S.; KLEMPPEL, M.C.; KROEGER, C.M.; AGGOUR, E.; CALVO, Y.; TREPANOWSKI, J.F.; HODDY, K.K.; VARADY, K.A. Effect of exercising while fasting on eating behaviors and food intake. **J Int Soc Sports Nutr**. v.10, p.50, 2013.

BORDONE, L.; GUARENTE, L. Calorie restriction, SIRT1 and metabolism: understanding longevity. **Nat Rev Mol Cell Biol.** v.6, p. 298-305, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed. Brasília: **Ministério da Saúde**, 2005.

BRODERICK, T.L.; DRIEDZIC, W.R.; GILLIS, M.; JACOB, J.; BELKE, T. Effects of chronic food restriction and exercise training on the recovery of cardiac function following ischemia. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci.** v. 56, p. 33-37, 2001.

CARVALHEIRA, J.B.C.; ZECCHIN, H.G.; SAAD, M.J.A. Vias de sinalização da insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v.46, p. 419, 2002.

CARVALHO, J.F.; MASUDA, M.O.; POMPEU, F.A.M.S. Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate threshold. **Comparative Biochemistry and Physiology.** v.140, p. 400-413, 2005.

CERQUEIRA, F.M.; DA CUNHA, F.M., CALDEIRA DA SILVA, C.C.; CHAUSSE, B.; ROMANO, R.L.; GARCIA, C.C.; COLEPICCOLO, P.; MEDEIROS, M.H.; KOWALTOWSKI, A.J. Long-term intermittent feeding, but not caloric restriction, leads to redox imbalance, insulin receptor nitration, and glucose intolerance. **Free Radical Biology and Medicine.** v.51, p. 1454-1460, 2011.

CHALELA, W.A.; MOFFA, P.J. **Teste ergométrico.** In: **Negrão C.E, Barreto A.C. (eds). Cardiologia do exercício - do atleta ao cardiopata.** 2 ed, p: 92-126. Barueri: Manole, 2006

CHAUSSE B.; SOLON C.; CALDEIRA DA SILVA C.C.; MASSELI DOS REIS I.G.; MANCHADO GOBATO, F.B.; Intermittent fasting induces hypothalamic modifications resulting in low feeding efficiency, low body mass and overeating. **Endocrinology.** 2014

CHAUSSE, B.; VIEIRA LARA, M.A.; SANCHES, A.B.; MEDEIROS, M.H.G.; KOWALTOWSKI, A.J. Intermittent Fasting Results in Tissue - Specific Changes in Bioenergetics and Redox State. **Plos One.** v.10, 2015.

CICOGNA, A.C.; PADOVANI, C.R.; GEORGETTE, J.C.; ARAGON, F.F.; OKOSHI, M.P. Effects of protein-calorie restriction on mechanical function of hypertrophied cardiac muscle. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia.** v. 72, p. 36-440, 1999.

CODINI M.A.; YIPINTSOI T.; SCHEUER, J. Cardiac responses to moderate training rats. **Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology.** v. 42, p. 262-266, 1977.

COHN, J.N.; FERRARI, R.; SHARPE, N. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. **J Am Coll Cardiol.** v.35, p. 569-582, 2000.

COMMITTEE ON CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. Bethesda: National Institute of Health, 1985.

CRESCENZO, R, LIONETTI, L.; MOLLICA, M.P.; FERRARO, M.; D'ANDREA, E.; MAINIERI, D.; DULLOO, A.G.; LIVERINI, G, IOSSA, S. Altered skeletal muscle subsarcolemmal mitochondrial compartment during catch-up fat after caloric restriction. **Diabetes**. v.55, p. 2286-2293, 2006.

DAMATTO, R.L. **Efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a expressão da miostatina e o trofismo de músculos esqueléticos e cardíaco de ratos espontaneamente hipertensos com insuficiência cardíaca**. 2014. 71 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista de Botucatu, São Paulo, 2014.

DINIZ, Y.S.; CICOONA, A.C.; PADOVANI, C.R.; SANTANA, L.S.; FAINE, L.A.; NOVELLI, E.L.B. Diets rich in saturated and polyunsaturated fatty acids: metabolic shifting and cardiac health. **Nutrition**. v. 20, p. 230-234, 2004.

DORIGHELLO, G.G.; ROVANI, J.C.; LUHMAN, C.J.F.; PAIM, B.A.; RAPOSO, H.F.; VERCESI, A.E.; OLIVEIRA, H.C.F. Food restriction by intermittent fasting induces diabetes and obesity and aggravates. **Br J Nutr**. v.111, p. 979-986, 2014.

DOWNING, J.; BALADY G.J. The role of exercise training in heart failure. **J Am Coll Cardiol**. v.58, p. 561B-569B, 2011.

DUARTE, A.F.A.; MOREIRA, S.B. O metabolismo lipídico durante o exercício. **Rev Educ Fís**. v.125, p. 4-12, 2001.

EMTER, C.A.; MCCUNE, S.A.; SPARAGNA, G.C.; RADIN, M.J.; MOORE, R.L. Low-intensity training delays onset of decompensated heart failure in spontaneously hypertensive heart failure rats. **American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology**. v. 289, p. H2030-H2038, 2005.

FARIAS, T.S.M. **Caracterização do perfil diário da lipólise e lipogênese: tecido adiposo de ratos adultos e a influência da pinealectomia**. 2010. 24 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Biofísica) – Instituto e Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

CERQUEIRA F.M, KOWALTOWSKI A.J. Commonly adopted caloric restriction protocols often involve malnutrition. **Ageing Research Review**. v.9, p. 424–430, 2010.

FITZSIMONS, D.P.; BODELL P.W.; HERRICK R.E.; BALDWIN K.M. Left ventricular functional capacity in the endurance - trained rodent. **J Appl Physiol**. v.69, p. 305-312, 1990.

FONTANA, L.; PARTRIDGE, L.; LONGO, V.D. Extending healthy life span –from yeast to humans. **Science**. v. 328, p. 321-326, 2010.

FRANCISCHI, R.P.; PEREIRA, L.O.; LANCHI, J.R., A.H. Exercício, comportamento alimentar e obesidade: revisão dos efeitos sobre a composição corporal e parâmetros metabólicos. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**. v.15, p. 117-140, 2001.

FRICK, M.H.; KONTTINEN, A.; SARAJAS, H.S.S. Effects of physical training on circulation at rest and during exercise. **Am J Cardiol**. v. 12, p. 142-147, 1963.

GERDES, A.M. Cardiac myocyte remodeling in hypertrophy and progression to failure. **J. Card. Fail.** v. 8, p. 264-268, 2002.

GERDES, A.M.; LIU, Z.; ZIMMER, H.G. Changes in nuclear size of cardiac myocytes during the development and progression of hypertrophy in rats. **Cardioscience**. v. 5, p. 203-208, 1994.

GHORAYEB, N.; BATLOUNI, M.; PINTO, I.M.F.; DIOGUARDI, G.S. Hipertrofia Ventricular Esquerda do Atleta. Resposta Adaptativa Fisiológica do Coração. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.85, p. 191-197, 2005.

GOODRICK, C.L.; INGRAM, D.K.; REYNOLDS, M.A.; FREEMAN, J.R.; CIDER, N.L. Effects of intermittent feeding upon growth and life span in rats. **Gerontology**. v. 28, p. 233-241, 1982.

GOODRICK, C.L.; INGRAM, D.K.; REYNOLDS, M.A.; FREEMAN, J.R.; CIDER, N.L. Effects of intermittent feeding upon growth, activity, and lifespan in rats allowed voluntary exercise. **Experimental Aging Research**. v. 9, p. 203-209, 1983.

GOTTHARDT, J.D.; VERPEUT, J.L. ; YEOMANS, B.L.; YANG, J.A , YASREBI, A, ROEPKE, T.A.; BELLO, N.T. Intermittent Fasting Promotes Fat Loss with Lean Mass Retention, Increased Hypothalamic Norepinephrine Content, and Increased Neuropeptide Y Gene Expression in Diet-Induced Obese Male Mice. **Endocrinology**. v.157, p. 679-691, 2015.

GUO, Z.; MITCHELL-RAYMUNDO, F.; YANG, H.; IKENO, Y.; NELSON, J.; DIAZ, V.; RICHARDSON, A., REDDICK, R. Dietary restriction reduces atherosclerosis and oxidative stress in the aorta of apolipoprotein E-deficient mice. **Mechanisms of Ageing and Development**. v. 123, p. 1121-1131, 2002.

GUT, A.L.; OKOSHI, M.P.; PADOVANI, C.R.; ARAGON, F.F.; CICOGLIA, A.C. Myocardial dysfunction induced by food restriction is related to calcium cycling and beta-adrenergic systems changes. **Nutrition Research**. v. 23, p. 911-919, 2003.

GWATHMEY, J.K.; SLAWSKY, M.T.; PERREAULT, C.L.; BRIGGS, G.M.; MORGAN, J.P.; WEI, J.Y. Effect of exercise conditioning on excitation-contraction coupling in aged rats. **Journal of Applied Physiology**. v. 69, p. 1366-1371, 1990.

INGRAM, D.K.; REYNOLDS, M.A. The relationship of body weight to longevity within laboratory rodent species. **Basic Life Sciences**. v. 42, p. 247-282, 1987.

JEONG, M.A.; PLUNET, W.; STREIJGER, F.; LEE, J.H.; PLEMEL, J.R.; PARQUE, S.; LAM, C.K.; LIU, J.; TETZLAFF, W. Intermittent Fasting Improves Functional Recovery after Rat Thoracic Contusion Spinal Cord Injury. **J Neurotrauma**. v.28, p. 479–492, 2011.

KACIMI, R.; GERDES, A.M. Alterations in G protein and MAP kinase signaling pathways during cardiac remodeling in hypertension and heart failure. **Hypertension**. v. 41, p. 968-977, 2003.

KATARE, R.G.; KAKINUMA, Y.; ARIKAWA, M.; YAMASAKI, F.; SATO, TAKAYUKI. Chronic intermittent fasting improves the survival following large myocardial ischemia by activation of BDNF/VEGF/PI3K signaling pathway. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**. v.46, p. 405–412, 2009.

KEMPLEL, M.C.; BUTHANI, S.; Fitzgibbon, M.; FREELS, S.; VARADY, K.A. Dietary and physical activity adaptations to alternate day modified fasting: implications for optimal weight loss. **Nutrition Journal**. v.9, p. 35, 2010.

KHABOUR, O.F.; ALZOUBI, K.H.; ALOMARI, M.A.; ALZUBI, M.A. Changes in spatial memory and BDNF expression to concurrent dietary restriction and voluntary exercise. **Hippocampus**. v.20, p. 637-645, 2010.

KLEMPPEL, M.C.; KROEGER, C.M.; VARADY, K.A. Alternate day fasting increases LDL particle size independently of dietary fat content in obese humans. **European Journal of Clinical Nutrition**. v.67, p. 783-785, 2013.

LAUGHLIN, M.H.; SCHAEFER, M.E.; STUREK, M. Effect of exercise training on intracellular free Ca²⁺ transients in ventricular myocytes of rats. **Journal of Applied Physiology**. v.73, p. 1441-1448, 1992.

LEE, R.T., LAMMERDING, J. Signaling pathways that influence extracellular. **J Cartão Fail**. v.8, p. 339-343, 2002.

LENT, R. **Cem Bilhões de Neurônios**. 2 ed Ed Atheneu, 2010.

LEVINE, T.B.; LEVINE, A.B. Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease. **Saunders Elsevier**. Philadelphia, USA. 488p, 2006.

MARTÍNEZ, A.C.; ALVAREZ-MONI, M. O sistema imunológico(I): Conceitos gerais, adaptação ao exercício físico e implicações clínicas. **Rev Bras Med Esporte**. v.5, 1999.

MASORO, E.J.; SHIMOKAWA, I.; YU B.P. Retardation of the aging processes in rats by food restriction. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v.621, p. 337-352, 1991.

MATSUBARA, L.S., MATSUBARA, B.B., OKOSHI, M.P., CICOGNA, A.C., JANICKI, J.S. Alterations in myocardial collagen content affect rat papillary muscle function. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol**. v. 279, p. 1534-1539, 2000.

MATSUBARA, L.S.; NARIKAWA, S.; FERREIRA, A.L.A.; PAIVA, S.A.R.; ZORNOFF, L.A.M.; MATSUBARA, B.B. Myocardial remodeling in chronic pressure or volume overload in the rat heart. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.86, p. 126-130, 2006.

MATTSON, M.P.; WAN, R. Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. **J Nutr Biochem**. v.16, p.129-137, 2005.

MCARDLE, W.D, KATCH, F.I, KATCH, V.L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 7 ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2011

MELLO, M.T.; BOSCOLO, R.A.; ESTEVES, A.M.; TUFIK. S. O exercício físico e os aspectos psicobiológicos. **Rev Bras Méd Esp**. v.11, p. 203-207, 2005.

MENDES, O.C.; SUGIZAKI, M.M.; CAMPOS, D.S.; DAMATTO, R.L.; LEOPOLDO, A.S.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; BALDISSERA, V.; PADOVANI, C.R.; OKOSHI, K.; CICOGNA, A.C. Tolerância ao esforço em ratos com estenose aórtica e disfunção ventricular diastólica e/ou sistólica. **Arq Bras Cardiol**. v.100, p. 44-51, 2013.

MENDES, O.C.; SUGIZAKI, M.M.; CAMPOS, D.S.; DAMATTO, R.L.; LEOPOLDO, A.S.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; BALDISSERA, V.; PADOVANI, C.R.; OKOSHI, K.; CICOGNA, A.C. Tolerância ao esforço em ratos com estenose aórtica e disfunção ventricular diastólica e/ou sistólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 100, p. 44-51, 2013.

MENSAH, G.A.; MOKDAD, A.H.; FORD, E.; NARAYAN, K.M.V.; GILES, W.H.; VINICOR, F.; DEEDWANIA, P.C. Obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes: emerging epidemics and their cardiovascular implications. **Cardiology Clinics**. v. 22, p. 485-504, 2004.

MERRILL, A.L.; WATT, B.K. Energy value of foods: basis and derivation. Human **Nutrition Research Branch**. Revised. **Agriculture Handbook**, 1973.

MEYER, T.E.; KOVÁCS, S.J.; EHSANI, A.A.; KLEIN, S.; HOLLOSZY, J.O.; FONTANA, L. Long-term caloric restriction ameliorates the decline in diastolic function in humans. **Journal of the American College of Cardiology**. v. 47, p. 398-402, 2006.

MONTEIRO, C.; MONDINI L.; DE SOUZA, A.L.; POPKIN B.M. The nutrition transition in Brazil. **European Journal of Clinical Nutrition**. v.49, p. 105-113, 1995.

MULAS, M.F.; DEMURO, G.; MULAS, C.; PUTZOLU, M.; CAVALLINI, G.; DONATI, A.; BERGAMINI, E.; DESSI, S. Dietary restriction counteracts age-related changes in cholesterol metabolism in the rat. **Mechanisms of Ageing and Development**. v.126, p. 648-654, 2005.

NASSAR, A.L.; MAROT L.P.; OVIDIO P.P.; CASTRO G.S.; JORDÃO A.A. JR. Oxidative stress and fatty acid profile in Wistar rats subjected to acute food restriction and refeeding with high-fat diets. **Acta Cir Bras.** v.29, p. 178-85, 2014.

NOVELLI, E.L.B.; DINIZ, Y.S.; GALHARDI, C.M.; EBAID, G.M.X.; RODRIGUES, H.G.; MANI, F.; FERNANDES, A.A.; CICOGNA, A.C.; NOVELLI FILHO, J.L. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals.** v.41, p. 111-119, 2007.

NUTTER, D.O.; PRIEST, R.E.; FULLER, E.O. Endurance training in the rat. I myocardial mechanics and biochemistry. **Journal of Applied Physiology.** v.51, p. 934-940, 1981.

OKOSHI, M.P.; OKOSHI, K.; PAI, D.V.; PAI-SILVA, M.D.; MASTUBARA, L.S.; CICOGNA, A.C. Mechanical, biochemical, and morphological changes in the heart from chronic food-restricted rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology.** v.79, p. 754-760, 2001.

OKOSHI, M.P.; OKOSHI, K.; MASTUBARA, L.S.; PAI-SILVA, M.D.; GUT, A.L.; PADOVANI, C.R.; PAI, V.D.; CICOGNA, A.C. Myocardial remodeling and dysfunction are induced by chronic food restriction in spontaneously hypertensive rats. **Nutrition Research.** v.26, p. 567–572, 2006.

OLIVEIRA, J.R.S.A. **Influência da obesidade sobre a composição de cadeias pesadas de Miosina e Fibrose intersticial miocárdica de ratos normotensos e espontaneamente hipertensos.** 2008. 105 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista de Botucatu, São Paulo, 2008.

OLIVEIRA, J.R.S.A.; OKOSHI, K.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; LEOPOLDO, A.S.; CAMPOS, D.H.S.; MARTINEZ, P.F. Perfil nutricional e cardiovascular de ratos normotensos e hipertensos sob dieta hiperlipídica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia (Impresso).** v.93, p. 526-533, 2009.

OLIVEIRA, J.R.S.A.; PAI-SILVA, M.D.; MARTINEZ, P.F.; CAMPOS, D.H.S.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; LEOPOLDO, A.S.; NASCIMENTO, A.F.; OKOSHI, M.P.; OKOSHI, K.; PADOVANI, C.R.; CICOGNA, A.C. Differential nutritional, endocrine, and cardiovascular effects in obesity-prone and obesity-resistant rats fed standard and hypercaloric diets. **Medical Science Monitor.** v.16, p. 208-217, 2010.

OLIVEIRA, J.R.S.A.; PAI-SILVA, M.D.; MARTINEZ, P.F.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; CAMPOS, D.H.S.; LEOPOLDO, A.S.; OKOSHI, M.P.; OKOSHI, K.; PADOVANI, C.R.; CICOGNA, A.C. Diet-induced obesity causes metabolic, endocrine and cardiac alterations in spontaneously hypertensive rats. **Medical Science Monitor.** v.16, p. BR367-373, 2010.

OLIVEIRA, J.R.S.A.; MARTINEZ, P.F.; GUIZONI, D.M.; CAMPOS, D.H.; FERNANDES, T.; OLIVEIRA, E.M.; OKOSHI, M.P.; OKOSHI, K.; PADOVANI, C.R.; CICOGNA, A.C. AT1 receptor blockade attenuates insulin resistance and myocardial remodeling in rats with diet-induced obesity. **Plos One.** v.9, p. 1-10, 2014.

OMEDEI, D.; FONTANA L. Calorie restriction and prevention of age-associated chronic disease. **FEBS Letters**, v.585, p. 1537-1542, 2011.

PAFFENBARGER, R.S.; HALE, W.E. Work activity and coronary heart mortality. **The New England Journal Medicine**. v. 292, p. 545-555, 1975.

PAGAN, L.U. **Influência do exercício físico no remodelamento cardíaco de ratos espontaneamente hipertensos**. 2014. 55 f.. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista de Botucatu, São Paulo, 2014.

PALMER, B.M.; VALENT, S.; HOLDER, E.L.; WEINBERGER, H.D.; BIES, R.D. Microtubules modulate cardiomyocyte β -adrenergic response in cardiac hypertrophy. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology Published**. v.275, p. 1707-1716, 1998.

PARK, S.Y.; CHOI, G.H.; CHOI, H.I.; RYU, J.; JUNG, C.Y.; LEE, W. Calorie restriction improves whole-body glucose disposal and insulin resistance in association with the increased adipocyte-specific GLUT4 expression in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. **Arch Biochem Biophys**. v.436, p.276-284, 2005.

PAULSON, D.J.; KOPP, S.J.; PEACE, G.; TOW J.P. Myocardial adaptation to endurance exercise training in diabetic rats. **The American Journal of Physiology**. v.252, p. 1073-1082, 1987.

PEREIRA B, JUNIOR T.D.S. **Metabolismo celular e exercício físico: aspectos bioquímicos e nutricionais**. 2 ed. São Paulo: Phorte, 2007.

PINHEIRO, A.; CUNHA, A.; AGUILA, M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. Beneficial effects of physical exercise on hypertension and cardiovascular adverse remodeling of diet-induced obese rats. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**. v.17, p. 365-75,2007.

PINOTTI, M.F.; LEOPOLDO, A.S.; PAI SILVA, M.D.; SUGIZAKI, M.M.; NASCIMENTO, A.F.; LEOPOLDO, A.P.L.; ARAGON, F.F.; PADOVANI, C.R.; CICOGNA. A comparative study of myocardial function and morphology during fasting/refeeding and food restriction in rats. **Cardiovascular Pathology**. v.19, p. e175-e182, 2010.

PROCTOR, S.D, RUSSELL, J.C. Small animal models of cardiovascular disease: tools for study of roles of the metabolic syndrome, dyslipidemias and atherosclerosis. **J Cardiovasc Pathol**. v.15, p. 318–330, 2006.

RADAK, Z.; SILYE, G.; BARTHA, C.; JAKUS, J.; STEFANOVITS-BÁNYAI, É.; ATALAY, M.; MARTON, O.; KOLTAI, E. The effects of cocoa supplementation, caloric restriction, and regular exercise, on oxidative stress markers of brain and memory in the rat model. **Food and Chemical Toxicology**. v.61, p. 36–41, 2013.

RONDON MUPB; ALONSO DO; SANTOS AC; RONDON E. **Noções sobre fisiologia integrativa no exercício**. In: Negrão CE; Barreto ACP. *Cardiologia do exercício - do atleta ao cardiopata*. 2ª ed. Barueri: Manole, 2006 p: 25-46.

ROSAMOND, W.; CHAMBLESS, L.E.; FOLSON, A.R.; COOPER, L.S.; CONWILL, D.E.; CLEGG, L.; WANG, C.H.; HEISS, G. Trends in the incidence of myocardial infarction and in mortality due to coronary heart disease, 1987 to 1994. **New England Journal of Medicine**. v.339, p. 861-867, 1998.

ROTH, G.S.; INGRAM, D.K.; LANE, M.A. Caloric restriction in primates and relevance to humans. **Ann NY Acad Sci**. v.928, p. 305-315, 2001.

SALTIN, B.; ASTRAN, P.O. Maximal oxygen uptake in athletes. **J Appl Physiol**. v. 23, p. 353-358, 1967.

RUTTER, M.K.; PARISE, H.; BENJAMIN, E.J.; LEVY, D.; LARSON, N.G.; MEIGS, J.B.; NESTO, R.W.; WILSON, P.W.; VASAN, R.S. Impact of Glucose Intolerance and Insulin Resistance on Cardiac Structure and Function: Sex-Related Differences in the Framingham Heart Study. **Circulation**. v.107, p. 448-454, 2003.

SANCHEZ, A.; MENEZES, Manoel Lima de.; PEREIRA, O.C.M. Importância do controle dos níveis de catecolaminas em experimentação científica. **Salusvita**. v.21, p. 15-22, 2002.

SCHAIBLE, T.F.; SCHEUER, J. Effects of physical training by running or swimming on ventricular performance of rat hearts. **Journal of Applied Physiology: respiratory, environmental and exercise physiology**. v.46, p. 854-860, 1979.

SCHOCKEN, D.D.; HOLLOWAY, D.; POWERS, P.S. Weight loss and the heart. Effects of anorexia nervosa and starvation. **Archives of Internal Medicine**. v. 149, p. 877-881, 1989.

SERRA, A.J.; HIGUCHI, M.L.; IHARA, S.S.; ANTÔNIO, E.L.; SANTOS, M.H.; BOMBIG, M.T.; TUCCI, P.J. Exercise training prevents β -adrenergic hyperactivity-induced myocardial hypertrophy and lesions. **Eur J Heart Fail**. v.10, p. 534-539, 2008.

SMYERS, M.E.; BACHIR, K.Z.; BRITTON, S.L.; KOCH, L.G.; NOVAK, C.M. Physically active rats lose more weight during calorie restriction. **Physiology Behavior**. v.139, p. 303–313, 2015.

SOHAL, R.S.; WEINDRUCH, R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. **Science**. v.273, p. 59-63, 1996.

SOUZA, M.F.M.; ALENCAR, A.P. Mortalidade por doença cardiovascular no Brasil. In: SERRANO, C.V JR; TIMERMAN, A.; STEFANINI, E. Eds. **Tratado de Cardiologia – Socesp**. 2 ed. São Paulo: Manole, p. 17-26, 2009.

SUGIZAKI, M.M.; CARVALHO, R.F.; ARAGON, F.F.; PADOVANI, C.R.; OKOSHI, K.; OKOSHI, M.P.; ZANATI, S.G.; PAI-SILVA, M.D.; NOVELLI, E.L.; CICOGNA, A.C. Myocardial dysfunction induced by food restriction is related to morphological damage in normotensive middle-aged rats. **Journal of Biomedical Science**. v.12, p. 641-649, 2005.

SUGIZAKI, M.M.; LEOPOLDO, A.P.L.; CONDE, S.J.; CAMPOS, D.S.; DAMATO, R.;

LEOPOLDO, A.S.; NASCIMENTO, A.F.D.; JÚNIOR, S.D.A.O.; CICOGNA, A.C. Exercício e restrição alimentar aumentam o RNAm de proteínas do trânsito de Ca²⁺ miocárdico em ratos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2011.

SUGIZAKI, M.M.; PAI-SILVA, M.D.; CARVALHO, R.F.; PADOVANI, C.R.; BRUNO, A.; NASCIMENTO, A.F.; ARAGON, F.F.; BARBOSA NOVELLI, E.L.; CICOGNA, A.C. Exercise training increases myocardial inotropic response in food restricted rats. **International Journal of Cardiology**. v.112, p. 191-201, 2006.

SULLIVAN, M.J.; HAWTHOME, M.H. Exercise intolerance in patients with chronic heart failure. **Prog Cardiovasc Dis**. v.38, p. 1-22, 1995.

TAKATSU, M.; NAKASHIMA, C.; TAKAHASHI, K.; MURASE, T.; HATTORI, T.; ITO, H.; MUROHARA, T.; NAGATA, K. Calorie restriction attenuates cardiac remodeling and diastolic dysfunction in a rat model of metabolic syndrome. **Hypertension**. v.62, p. 957-965, 2013.

VARADY, K.A.; BHUTANI, S.; CHURCH, E.C.; KLEMPPEL, M.C. Short-term modified alternate-day fasting: a novel dietary strategy for weight loss and cardioprotection in obese adults. **Am J Clin Nutr**. v.90, p. 1138-1143, 2009.

VARADY, K.A.; HELLERSTEIN, M.K. Alternate-day fasting and chronic disease prevention: a review of human and animal trials. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v.86, p. 7-13, 2007.

VARADY, K.A.; BHUTANI, S.; KLEMPPEL, M.C.; KROEGER, C.M.; TREPANOWSKI, J.F.; HAUS, J.M.; HODDY, K.K.; CALVO, Y. Alternate day fasting for weight loss in normal weight and overweight subjects: a randomized controlled trial. **Nutr J**. v.12, p. 146, 2013.

WAN, R.; AHMET, I.; BROWN, M.; CHENG, A.; KAMIMURA, N.; TALAN, M.; MATTSON, M.P. Cardioprotective Effect of Intermittent Fasting is Associated with an Elevation of Adiponectin Levels in Rats. **J Nutr Biochem**. v. 21, p. 413–417, 2010.

WEBER, K.T. Fibrosis and hypertensive heart disease. **Curr. Opin. Cardiol**. v.15, p. 264-272, 2000.

WEINDRUCH, R.; SOHAL, R.S. Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center. Caloric intake and aging. **New England Journal of Medicine**. v.337, p. 986-994, 1997.

WEINER, R.B.; BAGGISH, A.L. Exercise-Induced Cardiac Remodeling. **Progress in Cardiovascular Diseases**. v.54, p. 380–386, 2012.

YAMAZAKI, T.; KOMURO, I.; YAZAKI, Y. Signalling pathways for cardiac hypertrophy. **Cellular Signalling**. v.10, p. 693–698, 1998.

ZORNOFF, L.A.M.; MATSUBARA, B.B.; MATSUBARA, L.S.; MINICUCCI, M.F.; AZEVEDO, P.S.; CAMPANA, A.O.; PAIVA, S.A.R. Cigarette smoke exposure

intensifies ventricular remodeling process following myocardial infarction.
Arquivos Brasileiros de Cardiologia. v.86, p. 276-281, 2006.

9. APÊNDICE



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFMS



C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº 615/2014 do Pesquisador **Silvio Assis de Oliveira Júnior**, referente ao projeto de pesquisa "Influência do exercício físico sobre a remodelação e a resistência à insulina no miocárdio de ratos sob dieta intermitente", está de acordo com os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), com a legislação vigente e demais disposições da ética em investigação que envolvem diretamente os animais e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA/UFMS, em reunião ordinária do dia 27 de novembro de 2014.


Maria Araújo Teixeira

Coordenadora da CEUA/UFMS

Campo Grande, 27 de novembro de 2014.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

<http://www.propp.ufms.br/ceua>

ceua.2000@gmail.com

fone (67) 3345-7186