

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
INSTITUTO INTEGRADO DE SAÚDE  
CURSO DE FISIOTERAPIA

AMANDA APARECIDA PANIAGO CEABRAS  
CARLA DINIZ BENITES

**BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO SISTÊMICO E MIOCÁRDICO EM  
RATOS SAUDÁVEIS SUBMETIDOS A JEJUM INTERMITENTE E TREINAMENTO  
INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE**

CAMPO GRANDE, MS  
2024

AMANDA APARECIDA PANIAGO CEABRAS  
CARLA DINIZ BENITES

**BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO SISTÊMICO E MIOCÁRDICO EM  
RATOS SAUDÁVEIS SUBMETIDOS A JEJUM INTERMITENTE E TREINAMENTO  
INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Fisioterapia,  
do Instituto Integrado de Saúde, da  
Universidade Federal de Mato Grosso  
do Sul, como parte dos requisitos para  
obtenção do título de bacharel em  
Fisioterapia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Paula Felipe  
Martinez

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Me. Maria Lua  
Marques Mendonça

CAMPO GRANDE, MS  
2024



### ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ao dia 13 de novembro de 2024, reuniu-se nas dependências do Campus Universitário da UFMS, no INISA, Bloco 12, sala 01, a banca examinadora composta pelos professores: Paula Felipe Martinez (Orientador), Claudiane Maria Barbosa (Examinador 1) e Lilian de Fátima Dornelas (Examinador 2), para a defesa pública do Trabalho de Conclusão de Curso em Fisioterapia da UFMS intitulado: "**Biomarcadores de estresse oxidativo sistêmico e miocárdico em ratos saudáveis submetidos a jejum intermitente e treinamento intervalado de alta intensidade**". Após a exposição oral, as alunas **Amanda Aparecida Paniago Ceabras e Carla Diniz Benites** foram arguidas pelos componentes da banca que se reuniram reservadamente, e decidiram pela:

( X ) APROVAÇÃO ( ) REPROVAÇÃO

Para constar, eu Paula Felipe Martinez (Orientador), redigi a presente Ata, que após aprovada será assinada pelos demais membros da banca.

Campo Grande, 13 de novembro de 2024.

NOTA  
MÁXIMA  
NO MEC

UFMS  
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Paula Felipe Martinez, Professora do Magistério Superior**, em 13/11/2024, às 11:28, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA  
MÁXIMA  
NO MEC

UFMS  
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Claudiane Maria Barbosa, Usuário Externo**, em 13/11/2024, às 11:28, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA  
MÁXIMA  
NO MEC

UFMS  
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **LILIAN DE FATIMA DORNELAS, Professora do Magistério Superior**, em 13/11/2024, às 11:29, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufms.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **5243960** e o código CRC **C58EE3DD**.

[https://sei.ufms.br/sei/controlador.php?acao=documento\\_imprimir\\_web&acao\\_origem=arvore\\_visualizar&id\\_documento=6026006&infra\\_sistema...](https://sei.ufms.br/sei/controlador.php?acao=documento_imprimir_web&acao_origem=arvore_visualizar&id_documento=6026006&infra_sistema...) 1/2

21/11/24, 17:55 SEI/UFMS - 5243960 - Declaração

## **INSTITUTO INTEGRADO DE SAÚDE**

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

**Referência:** Processo nº 23104.032426/2024-45 SEI nº 5243960

As nossas famílias por todo o amparo,  
dedicação e confiança nessa trajetória.

## **AGRADECIMENTOS**

### **Por Amanda Aparecida Paniago Ceabras**

A Deus pela serenidade para enfrentar os desafios e a audácia para desafiar as expectativas.

Aos meus pais e ao irmão, pelo amor, apoio e incentivo, mentores da vida que com sabedoria garantiram minha caminhada e a construção dos meus sonhos durante esta jornada.

A Carla, minha dupla durante esta trajetória, obrigada pelo companheirismo, pela amizade, suporte, pelas trocas de experiências, por cada risada que me proporcionou, por sempre estar ao meu lado e por deixar o percurso mais leve.

A professora Paula, por proporcionar conhecimento com maestria. Por ensinar o valor da persistência e da busca pela excelência, por ser farol de inspiração na vida acadêmica.

A Maria Lua, pelos aprendizados que ultrapassaram as paredes do laboratório, pela paciência e pelo compartilhamento de seu conhecimento e tempo.

A todos os componentes do Laboratório de Estudo do Músculo Estriado (LEME) que não colocam limites quando o assunto é parceria e conhecimento.

## **Por Carla Diniz Benites**

A Deus pelas oportunidades que me foram dadas, por me fortalecer nas muitas vezes que fraquejei, por cada pessoa colocada em meu caminho e por sempre iluminar o percurso.

A minha mãe e irmãs, por todo o amor, suporte e cuidado, e por acreditarem em mim mais do que eu mesmo acredito.

A minha mãe novamente, por todo o sacrifício para que eu possa percorrer os meus sonhos.

Aos meus sobrinhos, por toda a felicidade e amor que trouxeram perante as adversidades.

A minha dupla, Amanda, cuja amizade e parceria foram imprescindíveis durante esses anos e me proporcionaram leveza para suportar os contratemplos.

Aos estudantes, técnicos e professores do Laboratório de Estudo do Músculo Estriado (LEME) por todo o conhecimento compartilhado e auxílio em nossa pesquisa.

A professora Paula, pela confiança, acolhimento e orientação, por nos inspirar a sermos profissionais éticos e comprometidos e por instigar em mim a curiosidade pela experimentação científica.

A estimada Maria Lua, pela paciência e dedicação, por ter nos guiado e transmitido seus conhecimentos de maneira acolhedora e altruísta, sem medir esforços para nos auxiliar, a sua alegria cativante me permitiu apreciar melhor a jornada.

O presente estudo foi realizado com apoio da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS/MEC – Brasil, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), Programa Pesquisa para o SUS (PPSUS) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

A essência do conhecimento consiste em aplicá-lo, uma vez possuído.

Confúcio

O texto apresentado a seguir foi elaborado em formato de artigo a ser submetido para o periódico Arquivos Brasileiros de Cardiologia (ISSN 0066-782X). As normas da revista para submissão de artigos foram incluídas como anexo.

**BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO SISTÊMICO E MIOCÁRDICO EM RATOS SAUDÁVEIS SUBMETIDOS A JEJUM INTERMITENTE E TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE**

BIOMARKERS OF SYSTEMIC AND MYOCARDIAL OXIDATIVE STRESS IN HEALTHY RATS SUBMITTED TO INTERMITTENT FASTING AND HIGH-INTENSITY INTERVAL TRAINING

Exercício, jejum e estresse oxidativo

Amanda Aparecida Paniago Ceabras, Carla Diniz Benites, Maria Lua Marques de Mendonça, Claudiane Maria Barbosa, Silvio Assis de Oliveira-Júnior, Paula Felipe Martinez.

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

**Palavras-chaves:** Restrição Calórica; Exercício Físico; Miocárdio; Radicais Livres.  
Keywords: Caloric Restriction; Exercise; Myocardium; Free Radicals.

Word-count: 4295

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar marcadores do estresse oxidativo no miocárdio e no soro de ratos saudáveis submetidos ao treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) e a jejum intermitente (JI). Foram utilizados 48 ratos Wistar machos com sessenta dias de idade, divididos em quatro grupos: Controle (C), Jejum Intermitente (JI), Exercício Físico Intervalado de Alta Intensidade (EX) e Exercício Físico Intervalado de Alta Intensidade e Jejum Intermitente (EJI). Os grupos C e EX foram tratados diariamente com ração ad libitum, e os grupos JI e EJI receberam a mesma ração padrão, administrada ad libitum em dias alternados com dias de jejum total. Os animais dos grupos EX e EJI foram submetidos a protocolo de corrida em esteira rolante cinco vezes por semana durante 12 semanas. Para comparação entre os grupos, foi realizada análise de variância de duas vias (ANOVA) complementada com teste *post hoc* de Tukey. O nível de significância considerado foi de 5%. O JI aumentou a concentração sérica de MDA e a concentração de proteína carbonilada no miocárdio. O grupo EJI apresentou menor quantidade de MDA e proteína carbonilada, comparado ao grupo JI. O JI eleva a concentração dos marcadores de estresse oxidativo sistêmico e miocárdico, enquanto o HIIT atenua esses efeitos adversos em ratos saudáveis.

Descritores: restrição calórica; exercício físico; miocárdio; radicais livres.

## **ABSTRACT**

This study aimed to evaluate markers of oxidative stress in the myocardium and serum of healthy rats submitted to high-intensity interval training (HIIT) and intermittent fasting (IF). Forty-eight male Wistar rats, aged 60 days, were divided into four groups: Control (C), Intermittent Fasting (IF), High-Intensity Interval Exercise (EX), and High-Intensity Interval Exercise and Intermittent Fasting (EJI). Groups C and EX were treated daily with ad libitum chow, and groups IF and EJI received the same standard chow, administered ad libitum on alternate days with days of total fasting. Animals in groups EX and EJI underwent a treadmill running protocol five times a week for 12 weeks. For comparison between groups, two-way analysis of variance (ANOVA) was performed complemented with Tukey's post hoc test. The significance level was set at 5%. IF increased serum MDA concentration and myocardial carbonyl protein concentration. The EJI group had lower amounts of MDA and carbonyl protein compared to the IF group. IF increases the concentration of systemic and myocardial oxidative stress markers, while HIIT attenuates these adverse effects in healthy rats.

Descriptors: caloric restriction; exercise; myocardium; free radicals.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>2. METODOLOGIA</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Grupos experimentais</b>	<b>15</b>
<b>2.2 Teste de esforço e protocolo de exercícios</b>	<b>16</b>
<b>2.3 Eutanasia dos animais e remoção dos tecidos</b>	<b>17</b>
<b>2.4 Perfil nutricional e composição corporal</b>	<b>17</b>
<b>2.5 Determinação da concentração de Malondialdeído(MDA)</b>	<b>17</b>
<b>2.6 Determinação da concentração de proteína carbonilada</b>	<b>18</b>
<b>3. ANÁLISE ESTATÍSTICA</b>	<b>18</b>
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>18</b>
<b>5. DISCUSSÃO</b>	<b>21</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b>	<b>25</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>25</b>
<b>8. ANEXOS</b>	<b>30</b>
<b>8.1 ANEXO A</b>	<b>30</b>
<b>8.2 ANEXO B</b>	<b>31</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são responsáveis por altos índices de morbidade e mortalidade na população mundial e estão frequentemente associadas a fatores de risco comportamentais<sup>1</sup>. Diante disso, intervenções não farmacológicas, como a prática de exercício físico e de restrição calórica, são recursos acessíveis e de baixo custo que podem favorecer a prevenção e o tratamento das DCV<sup>2,3</sup>.

Embora o exercício físico seja frequentemente utilizado em prevenção e tratamento das DCV, os mecanismos de cardioproteção ainda não foram totalmente elucidados<sup>4</sup>. Nesse sentido, o exercício intervalado de alta intensidade (HIIT) tem sido atualmente alvo de estudos no que tange tratamento de DCV<sup>4,5</sup>. Em modelo experimental de isquemia, o HIIT foi associado a redução do tamanho do infarto, marcadores de isquemia miocárdica e do estresse oxidativo, com redução da peroxidação lipídica e aumento da atividade de enzimas antioxidantes, sugerindo que o HIIT promove cardioproteção por estímulo das defesas antioxidantes<sup>4</sup>.

O jejum intermitente (JI) é outra estratégia não farmacológica que tem ganhado destaque nos últimos anos, particularmente pelos seus efeitos sobre metabolismo e inflamação<sup>6</sup>. Em ratos infartados, o JI reduziu a taxa de mortalidade pós-infarto e atenuou a hipertrofia cardíaca. Contudo, os resultados são mais significativos quando o protocolo de JI é iniciado antes do infarto do miocárdio<sup>7</sup>.

Estudos demonstram que a restrição alimentar relaciona-se com a otimização das funções das mitocôndrias, com limitação da produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e aumento do nível e da atividade das enzimas antioxidantes<sup>8</sup>. O JI atua na diminuição da glicose plasmática, promovendo mudanças no metabolismo dos carboidratos, em relação à ação oxidante das gorduras é aumentada. A oxidação de lipídeos por sua vez estimula a formação das EROS, tendo como resultado o estresse oxidativo<sup>9</sup>.

O estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio entre a geração e remoção de EROs<sup>10</sup> e parece estar envolvido na gênese e na manutenção de doenças cardiovasculares<sup>11</sup>. As EROs podem modular vias de sinalização relacionadas a hipertrofia e fibrose miocárdica e disfunção ventricular<sup>12</sup>.

Em situações que a geração de EROs excede a capacidade do sistema de defesa antioxidante, é oportunizada a oxidação de biomoléculas, como lípidos, proteínas e ácido desoxirribonucleico, o que resulta na formação de biomarcadores

de estresse oxidativo<sup>13</sup>. A membrana é um dos elementos mais alvejados das EROs. Conseqüentemente, ocorre alteração de permeabilidade e da estrutura de membranas celulares, com perda de suas funções e toxicidade com a geração de produtos de peroxidação lipídica, como o malondialdeído<sup>14</sup>. Em episódios de oxidação proteica, a formação mais comum é de proteína carbonilada, formando agregados que se acumulam na célula e que provocam transtornos na estrutura e função celular<sup>15</sup>.

Embora haja uma diversidade de pesquisas sobre as alterações cardíacas induzidas pelo JI e HIIT, as evidências concentram-se em modelos experimentais de doenças e no tratamento de DCV. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do JI e do HIIT sobre biomarcadores de estresse oxidativo sistêmico e miocárdico em ratos saudáveis.

## **2. METODOLOGIA**

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil (CEUA/UFMS - protocolo nº 1.145/2020) e da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (CEUA/FMB/UNESP – protocolo nº 1381/2021) e realizado de acordo com o “*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*” do *U. S. National Institutes of Health*.

### **2.1 Grupos experimentais**

Foram utilizados 48 ratos Wistar machos com sessenta dias de idade, provenientes do Biotério Central da UNESP (INBIO/ UFMS) e distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: Controle (C), Jejum Intermitente (JI), Exercício Físico Intervalado de Alta Intensidade (EX) e Exercício Físico Intervalado de Alta Intensidade e Jejum Intermitente (EJI). Os animais permaneceram no Biotério da Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX) da FMB/UNESP em gaiolas coletivas (3 animais/caixa) alojados sob temperatura ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e umidade ( $55 \pm 5\%$ ) controladas e iluminação com ciclos de 12 horas. Todos os grupos experimentais receberam dieta normocalórica comercial padrão para roedores e tiveram livre acesso à água potável. Os grupos C e EX foram tratados diariamente com ração ad libitum, e os grupos JI e EJI receberam a mesma ração padrão, administrada ad

libitum em dias alternados com dias de jejum total. O consumo de ração foi controlado diariamente e a massa corporal dos animais foi mensurada semanalmente. Os animais dos grupos EX e EJI foram submetidos a protocolo de corrida em esteira rolante<sup>16</sup>. O período experimental totalizou 12 semanas.

## **2.2 Teste de esforço e protocolo de exercícios**

Uma semana antes da aplicação do teste de esforço e início do protocolo de exercício, houve um período de adaptação na esteira em cinco dias consecutivos, com velocidade constante de 10 m/min e duração crescente de 10, 15, 20, 25, 30 minutos, respectivamente. Para verificar o comportamento da capacidade funcional ao esforço, foi realizado um teste de esforço máximo, utilizando-se protocolo incremental para ratos<sup>20</sup> com o propósito de determinar a velocidade máxima alcançada. O teste de esforço foi realizado em quatro momentos: início (M1), ao final da 4ª semana (M2), depois da 8ª semana (M3) e ao final do período experimental, isto é, terminada a 12ª semana (M4). O teste de esforço era iniciado com aquecimento de 10 min em velocidade de 5 m/min. Após 3 min de recuperação passiva, o animal era submetido ao teste de esforço progressivo, com velocidade inicial de 6 m/min, com estágios de corrida em carga constante e incrementos de 3 m/min entre os estágios subsequentes, o que era realizado a cada 3 minutos. Durante todo o teste, a esteira manteve-se sob inclinação de 15°. O protocolo foi finalizado quando o animal atingiu a exaustão, a qual foi definida na vigência de recusa à corrida, mesmo sob estimulação física com toque no dorso do animal ou quando a coordenação entre as passadas se apresentar dificultada.

O protocolo de HIIT consistiu em modelo de corrida em esteira rolante com intensidades intercaladas, estabelecido de acordo com estudos prévios<sup>16,17</sup>. Foram realizadas cinco sessões semanais de exercício físico, com duração de 49 minutos cada, sendo 3 minutos a 60% da velocidade máxima alcançada no teste de esforço, seguidos por 4 minutos de corrida a 85% da velocidade máxima e este ciclo repetido por sete vezes. O protocolo foi realizado a 15° de inclinação da esteira rolante. Um aquecimento prévio a cada sessão foi realizado na intensidade de 40% da velocidade máxima alcançada, por 10 minutos.

Tanto o teste de esforço quanto o protocolo de exercício foram realizados durante a fase escura do ciclo de luminosidade.

### **2.3 Eutanásia dos animais e remoção dos tecidos**

Ao final do período experimental, a eutanásia foi realizada 48 h após a última sessão de treinamento. Os animais foram mantidos em jejum por um período de 6 a 8 horas, submetidos à anestesia intraperitoneal com tiopental (130 mg/kg) e eutanasiados por decapitação. Após coleta do sangue, o coração foi retirado por toracotomia mediana e os átrios, o ventrículo direito (VD) e o ventrículo esquerdo (VE), incluindo o septo, foram dissecados e pesados separadamente. O sangue foi centrifugado por 10 min em temperatura ambiente a 3000 rpm para obtenção do soro. As amostras de VE foram congeladas em nitrogênio líquido. Posteriormente, amostras de VE e de soro foram conservadas em freezer a -80 °C até o momento das análises.

### **2.4 Perfil nutricional e composição corporal**

O consumo de alimentos foi medido diariamente e o peso corporal (PC) uma vez por semana. A ingestão de calorias foi calculada da seguinte forma: consumo de alimentos × densidade energética da dieta. A eficiência alimentar (a capacidade de converter a ingestão de calorias em PC) foi determinada pela divisão do ganho de PC (g) pela ingestão total de calorias (Kcal)<sup>18</sup>. O índice de Lee ( $\sqrt[3]{MC/CR}$ , MC=massa corporal; CR=comprimento naso-anal do rato) representa a raiz cúbica da razão entre a massa corporal do rato e o comprimento naso-anal<sup>19</sup>. O índice de adiposidade (AD) foi calculado a partir da soma dos pesos de locais de gordura individuais:  $\Sigma \text{locais de gordura} \times 100 / \text{peso corporal}$ <sup>20</sup>.

### **2.5 Determinação da concentração de Malondialdeído (MDA)**

A concentração sérica de MDA foi medida por meio de ensaio colorimétrico, utilizando kit comercialmente disponível (#ab233471, Abcam, Sunnyvale, EUA). Os procedimentos foram realizados seguindo as instruções do fabricante. Resumidamente, solução contendo tampão fosfato de sódio 20 mM em pH 3,0 e 0,5% Triton X-10 foi adicionada ao tecido para evitar aldeídos inespecíficos que poderiam interferir nas medições de absorvância. Foram adicionados 10 µL de solução reagente MDA Color em cada poço do padrão MDA. As amostras foram incubadas a temperatura ambiente durante 10-30 minutos. Posteriormente, foi adicionada uma solução de reação (40 µL) e feita incubação à temperatura ambiente

durante 30-60 minutos. Por fim, o aumento da absorvância foi monitorado a 695 nm usando um leitor de microplacas. O cálculo da concentração de MDA no soro foi realizado considerando-se a absorvância da curva padrão.

## **2.6 Determinação da concentração de proteína carbonilada**

As amostras de tecido cardíaco (~100 mg) foram homogeneizadas com 1,0 mL de tampão fosfato de potássio (pH 7,4) e centrifugados (10.000 rpm por 10 min, a 4°C). Em seguida, TCA 10% foi adicionado ao sobrenadante (1:1 v/v). Após centrifugação, sobrenadante foi descartado e DNPH (500 µL, 97 a 102%) adicionado ao precipitado. As amostras foram mantidas no escuro à temperatura ambiente por 30 min. Logo após, 500 µL de TCA foram adicionados, seguido de centrifugação. Após descarte do sobrenadante, o pellet foi lavado duas vezes com 1 mL de etanol absoluto. Posteriormente, o precipitado foi dissolvido em 500 µL de SDS 6%. Após nova centrifugação, o sobrenadante foi analisado em espectrofotômetro a 370 nm e a concentração de proteína carbonilada calculada utilizando-se o coeficiente de extinção<sup>21</sup>.

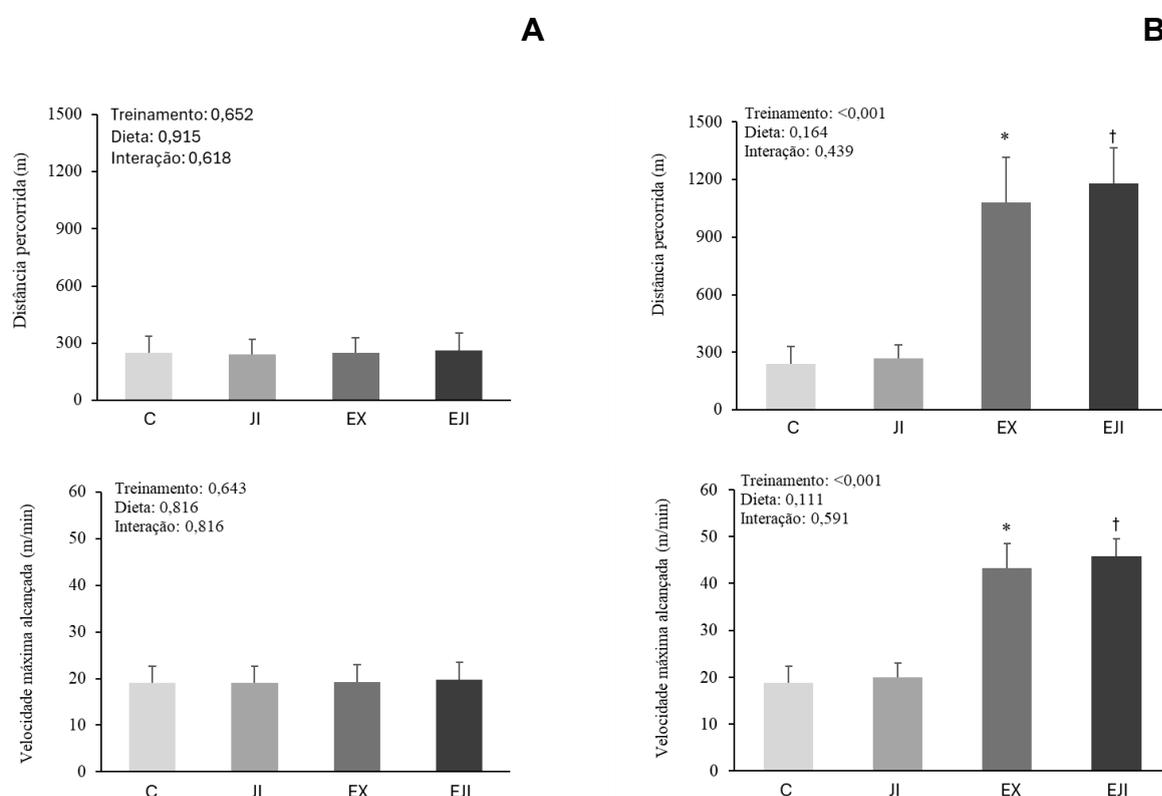
## **3. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados foram apresentados em medidas descritivas de posição e variabilidade. Para verificar a normalidade dos dados, foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Para comparação entre os grupos, foi realizada análise de variância de duas vias (ANOVA) complementada com teste *post hoc* de Tukey. O nível de significância considerado foi de 5%.

## **4. RESULTADOS**

No início do experimento (M1), a distância percorrida (C 249 ± 86; JI 240 ± 82; EX 248 ± 81; EJI 263 ± 88 m) e a velocidade máxima alcançada (C 19 ± 4; JI 19 ± 4; EX 19 ± 4; EJI 20 ± 4 m/min) no teste de esforço de tolerância ao exercício dos grupos foram semelhantes. Ao final do protocolo de exercícios (M4), a distância percorrida (C 230 ± 91; JI 267 ± 71; EX 1079 ± 238; EJI 1181 ± 183 m) e velocidade máxima alcançada (C 19 ± 4; JI 20 ± 3; EX 43 ± 5; EJI 46 ± 4 m/min) foram maiores no EX em comparação com o C, e maiores no EJI comparado ao JI (Figura 1).

Figura 1- Distância percorrida (m) e velocidade máxima alcançada (m/min) durante o teste de esforço máximo



**Figura 1.** Distância percorrida (m) e velocidade máxima alcançada (m/min) durante o teste de esforço máximo (A) inicial, realizado antes do protocolo experimental (M1), e (B) final, realizado após o período de protocolo experimental (M4). C: Controle (n=12); JI: Jejum Intermitente (n=12); EX: Exercício físico Intervalado de Alta Intensidade (n=12); EJI: Exercício físico Intervalado de Alta Intensidade e Jejum Intermitente (n=12). Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão; ANOVA de duas vias e Tukey; \*  $p < 0,05$  vs. C; †  $p < 0,05$  vs. JI.

A composição corporal e o perfil nutricional são demonstrados na Tabela 1. A massa corporal final foi menor em JI e EX do que em C, e maior em EJI do que em JI. Gordura epididimal, gordura retroperitoneal, ingestão alimentar total e a ingestão calórica total foram menores em JI e EX do que em C, enquanto a ingestão alimentar total e a ingestão calórica total do EJI foram superiores ao JI e inferiores ao EX. A adiposidade do grupo EX foi inferior ao C, e no EJI foi menor que no JI. Enquanto a eficiência alimentar total foi reduzida em JI quando comparado ao C.

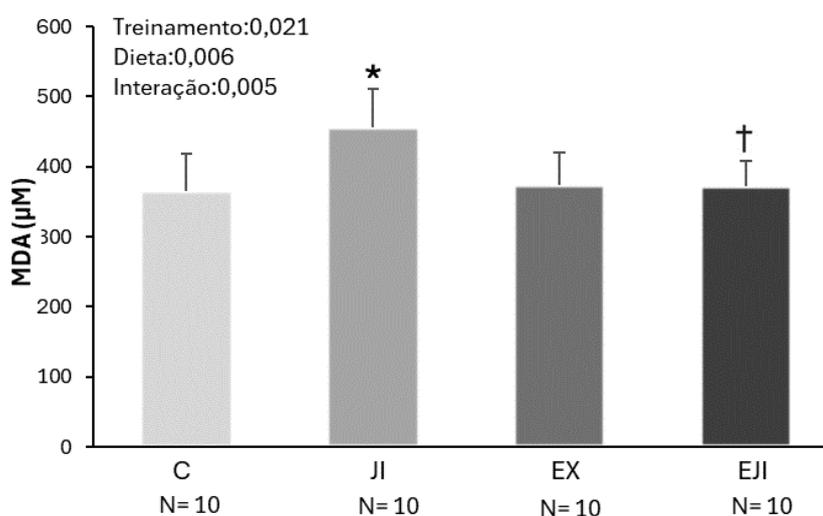
Tabela 1. Composição corporal e perfil nutricional

Variáveis	Grupos				p ANOVA		
	C (n=12)	Jl (n=12)	EX (n=12)	EJl (n=12)	Dieta	Treinamento	Interação
MCF (g)	481,8 ± 42,25	364,9 ± 51,6 *	433,86 ± 68,6*	416,26 ± 23,9†	<0,001	0,905	0,001
Índice de Lee (g/cm <sup>3</sup> )	0,28 ± 0,007	0,28 ± 0,009	0,27 ± 0,01	0,27 ± 0,006	0,821	0,061	0,457
G. Epididimal (g)	8,41 ± 2,87	5,91 ± 1,67*	5,16 ± 1,89*	4,41 ± 0,99	0,007	<0,001	0,133
G. Retroperitoneal (g)	8,66 ± 4,83	4,83 ± 1,64*	4,58 ± 1,44*	3,16 ± 1,19	0,002	<0,001	0,131
Adiposidade (%)	3,47 ± 1,16	3,00 ± 0,8	2,25 ± 0,62*	1,82 ± 0,43†	0,059	<0,001	0,945
IAT	2363 ± 42,93	1784 ± 61,46*	2245 ± 134,11*	1938 ± 68,5#†	<0,001	0,465	<0,001
ICT (Kcal)	8508 ± 154	6425 ± 221*	8085 ± 482*	6977 ± 246#†	<0,001	0,465	<0,001
EAT (%)	2,48 ± 0,4	1,64 ± 0,74*	2,21 ± 0,63	2,00 ± 0,58	0,004	0,802	0,079

C: Controle (n=12); Jl: Jejum Intermitente (n=12); EX: Exercício físico Intervalado de Alta Intensidade (n=12); EJl: Exercício físico Intervalado de Alta Intensidade e Jejum Intermitente (n=12); MCF: massa corporal final; G.: gordura; IAT: ingestão alimentar total; ICT: ingestão calórica total; EAT: eficiência alimentar total. n: número de animais. Média ± desvio padrão; ANOVA de duas vias e Tukey; \* p<0,05 vs. C; # p<0,05 vs. EX; † p<0,05 vs. Jl.

A concentração sérica de MDA foi maior no grupo Jl quando comparado ao C e menor em EJl que em Jl (C: 364,9 ± 54; Jl: 455,7 ± 56; EX: 373,8 ± 47; EJl: 372,5 ± 36 µM; Figura 2).

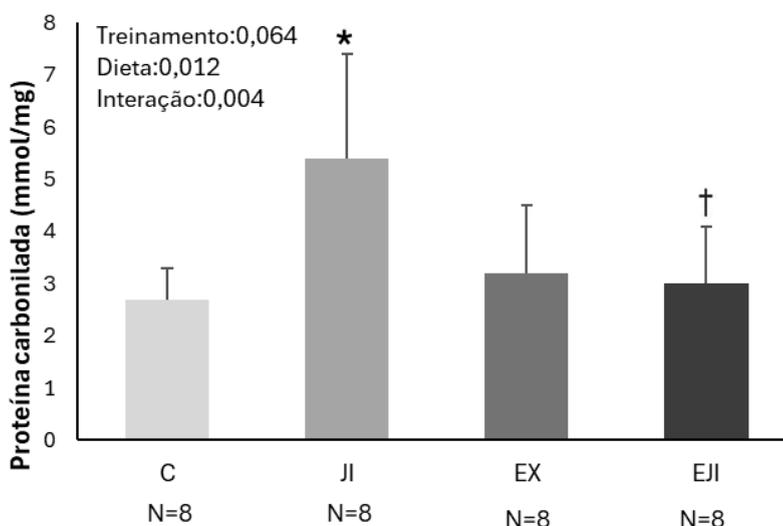
Figura 2-Concentração sérica de MDA



**Figura 2.** Gráfico da concentração sérica de MDA, expressa em µM. C: Controle; Jl: Jejum intermitente; EX: Exercício; EJl: Exercício e Jejum Intermitente. Média ± desvio padrão. ANOVA de duas vias, complementada com pós teste de Tukey. \* p < 0,05 vs. C; † p < 0,05 vs. Jl.

A concentração miocárdica de proteína carbonilada foi maior no grupo JI que em C e menor em EJI que em JI (C:  $2,7 \pm 0,6$ ; JI:  $5,4 \pm 2$ ; EX:  $3,2 \pm 1,3$ ; EJI:  $3 \pm 1,1$  mmol/mg proteína; Figura 3).

Figura 3- Concentração miocárdica de proteína carbonilada



**Figura 3.** Gráfico da concentração miocárdica de proteína carbonilada expressa em mmol/mg proteína. C: Controle; JI: Jejum intermitente; EX: Exercício; EJI: Exercício e Jejum Intermitente. Média  $\pm$  desvio padrão. ANOVA de duas vias, complementada com pós teste de Tukey. \*  $p < 0,05$  vs. C; †  $p < 0,05$  vs. JI.

## 5. DISCUSSÃO

Neste estudo avaliamos a influência do jejum intermitente e do exercício intervalado de alta intensidade sobre os marcadores de estresse oxidativo sistêmico e miocárdico em ratos saudáveis. O JI, como fator isolado, aumentou a concentração sérica de MDA e a concentração miocárdica de proteína carbonilada; em contrapartida, esta alteração foi atenuada pela combinação de JI e HIIT.

Animais submetidos a JI apresentaram redução na massa corporal, gordura epididimal, gordura retroperitoneal, consumo total de alimentos e ingestão calórica total. O JI é responsável por fomentar altas taxas metabólicas durante as refeições e maior oxidação de gorduras durante o jejum. Isso pode ser associado às alterações

fundamentais no controle do metabolismo energético, ao elevar os níveis do hormônio tireotropina, que é o responsável pelo aumento da energia dissipada e redução da massa corporal<sup>22</sup>.

A combinação do HIIT com o JI mostrou-se mais eficiente para promover alterações na composição corporal do que as versões isoladas dessas intervenções. Na literatura, já há relatos de que um efeito sinérgico é produzido sobre a composição corporal frente à combinação de JI e HIIT<sup>23</sup>, com redução da gordura visceral e preservação ou hipertrofia da massa muscular esquelética<sup>24</sup>. A leptina é caracterizada como um hormônio que aumenta a saciedade e o gasto energético, mas durante o jejum atua como modulador neuroendócrino, sendo responsável por sinalizar ao cérebro a necessidade de ajustes que garantam o metabolismo mais eficiente para o organismo<sup>25-27</sup>.

O exercício intervalado de alta intensidade melhorou a tolerância ao esforço, observada pela distância percorrida e a velocidade máxima alcançada pelos animais, demonstrando melhora da performance. O consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2máx}$ ) reflete a máxima capacidade de um indivíduo absorver, transportar e consumir oxigênio, durante o HIIT há um aumento no pico de  $VO_{2máx}$  por meio de adaptações periféricas e centrais promovendo maior tolerância e desempenho<sup>28,29</sup>. É possível que haja relação com aumento da capacidade oxidativa mitocondrial<sup>30</sup>. A prática de HIIT pode promover modificações positivas em enzimas que desempenham importante papel no conteúdo e morfologia mitocondrial. A atividade da PGC-1 (coativador transcricional receptor gama proliferador de peroxissoma), regulada positivamente pelo HIIT, tem grande participação na biogênese mitocondrial, o que pode culminar em aumento de síntese mitocondrial<sup>31</sup>.

As mitocôndrias propiciam a homeostase intracelular e a regulação do crescimento celular; seu papel na regulação de apoptose em cardiomiócitos influencia significativamente funções cardíacas como a capacidade contrátil do coração. Nas células cardíacas, podem ser o principal local de produção das EROS. Se a produção de EROs ocorre de maneira acentuada, há perda do equilíbrio redox celular, devido à redução do desempenho do sistema antioxidante<sup>32,33</sup>.

Os resultados do presente estudo indicam que o JI aumentou os níveis de estresse oxidativo no miocárdio e em níveis séricos. Isso sugere que, embora comumente relacionado a benefícios metabólicos e à redução de peso, o JI pode causar efeitos específicos em determinados órgãos<sup>34</sup>. Os radicais livres (RL) são

descritos como átomos ou moléculas provenientes do oxigênio, nitrogênio e enxofre, que são altamente reativos e instáveis em relação a outras moléculas, criando as espécies reativas de oxigênio, nitrogênio e enxofre. O metabolismo do oxigênio ocorre geralmente na mitocôndria, em membranas celulares e no citoplasma, e a partir de uma reação de redução do oxigênio ocorre a formação de RL que podem ser concessores ou receptores de elétrons, causando alterações ao seu redor, como por exemplo a superóxido ( $O_2^-$ ), hidroxila (OH) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que são extremamente reagentes e ao interagir com outra matéria formam as espécies reativas de oxigênio (EROS)<sup>35</sup>.

Sendo assim, o estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio entre a geração e remoção de EROS<sup>10</sup>. Em contrapartida, o sistema de defesa antioxidante tem a função de atenuar os danos ocasionados pelas EROS, sendo o enzimático constituído por superóxido-dismutase (SOD), glutathiona-peroxidase (GSH-Px) e catalase<sup>13,36,37</sup>. Em situações que a geração de EROS excede a capacidade do sistema de defesa, é oportunizada a oxidação de biomoléculas, que resulta na formação de biomarcadores de estresse oxidativo, esses podem descender de lípidos, proteínas e do ácido desoxirribonucleico<sup>13</sup>. A membrana é um dos elementos mais alvejados por meio da peroxidação lipídica, sendo responsável por modificar a permeabilidade e a estrutura de membranas celulares. Em decorrência disso, ocorre a perda das funções da membrana e a formação de toxicidade com a geração de produtos como o malondialdeído, produto da peroxidação lipídica, que culmina na destruição da célula<sup>14</sup>. Em episódios de oxidação proteica, a formação mais comum é da proteína carbonilada, que por meio de reações formam produtos agregados, e esses não capazes de sofrer proteólise, causando assim um arsenal de proteínas que foram oxidadas e que provocam transtornos na estrutura e função celular<sup>15</sup>.

Em estudo realizado a partir do isolamento mitocondrial, o JI em curto prazo resultou em alterações específicas no estado redox em diferentes tecidos. A concentração de MDA e os níveis de proteína carbonilada foram reduzidas pelo JI no coração de ratos; além disso, não houve alteração na liberação absoluta de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), apresentando assim efeito cardioprotetor contra o dano oxidativo<sup>34</sup>. Ademais, o dano oxidativo induzido pela idade é atenuado no coração de animais submetidos ao JI em relação ao controle<sup>38</sup>. Em camundongos submetidos a JI, foi identificado que a alternância entre um período de jejum prolongado e um período de alimentação *ad libitum* eleva o consumo alimentar, resultando em

adaptações metabólicas que geram aumento da respiração mitocondrial em neurônios, responsável por ampliar a produção de EROS<sup>39</sup>. Em ratas Wistar recém-desmamadas, o JI durante 12 semanas causou aumento significativo de EROS total e mitocondrial, além de aumentar a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nas ilhotas pancreáticas<sup>6</sup>. Em estudo experimental, foi identificado que o JI resultou em aumento acentuado na liberação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no tecido adiposo e no músculo esquelético de ratos, indicando uma geração exacerbada de ROS ou uma redução da capacidade oxidante; esses resultados demonstram que as alterações metabólicas apresentam relação com a duração da intervenção dietética, visto que o JI a longo prazo (32 semanas) elevou a produção de EROS quando comparado ao JI a curto prazo (4 semanas)<sup>40</sup>.

O estresse metabólico induzido por JI pode ser explicado pelo aumento do consumo de oxigênio e da liberação de CO<sub>2</sub>, evidenciando a utilização do metabolismo aeróbico. O uso elevado de oxigênio pelas mitocôndrias para a produção de ATP é um exemplo de uso excessivo de oxigênio durante o jejum, principalmente pelas mitocôndrias, resultando no aumento das EROS como produtos secundários da ação da cadeia transportadora de elétrons<sup>9</sup>.

Em relação aos efeitos do HIIT sobre o estresse oxidativo, em nosso estudo, o aumento da concentração de marcadores de estresse oxidativo foram atenuados pelo treinamento intervalado de alta intensidade quando associado ao JI. Sabe-se que o HIIT possui efeitos atenuantes sobre o estresse oxidativo, e que a intensidade do exercício é um fator crucial para a cardioproteção. O HIIT é responsável por liberar menos quantidades de radicais livres, enquanto que em exercícios de intensidade moderada há uma maior liberação de EROS<sup>41,42</sup>.

Autores sugerem que os efeitos cardioprotetores do HIIT são subsidiados pela regulação de microRNA, de vias mitocondriais e de estresse oxidativo, sendo sua alta capacidade antioxidante mediada pela elevação dos níveis de SOD-1 e SOD-2, proporcionando um equilíbrio redox<sup>42,43</sup>. Em modelo experimental de infarto do miocárdio, o HIIT reduziu os níveis de MDA no coração de ratos<sup>44</sup>.

Em nosso estudo, a concentração sérica de MDA e proteína carbonilada foi maior no grupo JI comparado ao EJI, indicando uma interação entre JI e o HIIT na prevenção do estresse oxidativo.

## 6. CONCLUSÃO

O JI eleva a concentração dos biomarcadores de estresse oxidativo sistêmico e miocárdico, enquanto o HIIT atenua esses efeitos adversos em ratos saudáveis.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Callegari MD; Damatto RL; Santos, PP. Ácidos Graxos Saturados e Implicações em Doenças Cardiovasculares. *Arq. Bras. Cardiol.* 2023; 120(8): e20230612. doi: <https://doi.org/10.36660/abc.20230612>.
2. Gomes MJ, Pagan LU, Okoshi MP. Non-Pharmacological Treatment of Cardiovascular Disease | Importance of Physical Exercise. *Arq. Bras. de Cardiol.* 2019; 113(1): 9-10. doi: <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20190118>.
3. Winter SCN, Macedo RM, Francisco JC, Santos PC, Lopes, APS, Meira LF. Impact of a High-Intensity Training on Ventricular Function in Rats After Acute Myocardial Infarction. *Arq. Bras. de Cardiol.* 2018; 110(4): 373-380. doi: <http://dx.doi.org/10.5935%2Fabc.20180036>.
4. Ramez M , Ramezani F , Nasirinezhad F , Rajabi H. High-intensity interval training increases myocardial levels of Klotho and protects the heart against ischaemia–reperfusion injury. *Exp. Physiol.* 2020; 105(4): 652–665. doi: <https://doi.org/10.1113/EP087994>
5. Suarez PZ, Natali AJ, Mill JG, de Rezende LM, Soares LL, Drummond FR et al. Effects of moderate-continuous and high-intensity interval aerobic training on cardiac function of spontaneously hypertensive rats. *Exp. Biol. Med.* (Maywood). 2022; 247(18):1691-1700. doi: 10.1177/15353702221110823.
6. Bonassa, ACM. Efeitos de doze semanas de jejum intermitente em ratas Wistar recém-desmamadas. 2018. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018. doi: 10.11606/T.42.2019.tde-25032019-101605.
7. Okoshi K, Cezar MDM, Polin M. AM, Paladino JR Jr, Martinez PF, Oliveira SA Jr et al. Influence of intermittent fasting on myocardial infarction-induced cardiac remodeling. *Cardiovasc. Disord.* 2019; 19(1): 126. doi: 10.1186/s12872-019-1113-4.
8. Djordjevic MA, Vasiljkovic LN, Gonos ES. Dietary Restriction and Oxidative Stress: Friends or Enemies?. *Antioxid. Redox Signaling.* 2021; 34(5): 421-438. doi: <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7959>.
9. Kuzniak OV, Sorochynsk OM, Bayliak M, Klonovskyi AY, Vasylyk YV, Semchyshyn, HM. Feeding to satiation induces mild oxidative/carbonyl stress in the brain of young mice. *EXCLI Journal.* 2022; 21: 77–92. doi: <https://doi.org/10.17179/excli2021-4347>.

10. Carocho M, Ferreira ICFR. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chem Toxicol.* 2013; 51:15-25. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>
11. Pinho RA, Araújo MC, Ghisi GLM, Benetti M. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. *Arq. Bras. Card.* 2010; 94(4):549-555. doi: <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2010000400018>.
12. Forte, M, Rodolico D, Ameri P, Catalucci D, Chimenti C, Crotti L et al. Molecular mechanisms underlying the beneficial effects of exercise and dietary interventions in the prevention of cardiometabolic diseases. *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown).* 2023;24: e3-e14. doi: 10.2459/JCM.0000000000001397.
13. Barbosa, KBF, Costa NMB, Alfenas RCG, Paula SO, Minim VPR Bressan. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev. Nut.* 2010, 23(4): 629-643. doi: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>.
14. França BK, Alves MRM, Silveira FM, Tiziane L; Boaventura RF, Guimarães A, Alves-Júnior A. Lipid peroxidation and obesity: Methods to measure the oxidative stress of the obese patients plasma. *Sci. Dir.* 2013; 20(5): 199-206. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpg.2013.04.002>.
15. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur, M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. of biochem Cell. Biol.* 2007; 39(1):44–84. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>.
16. Carvalho, MR, Mendonça, MLM, Oliveira, JML, Romanenghi, RB, Morais, CS, Ota, GE et al. Influence of high-intensity interval training and intermittent fasting on myocardium apoptosis pathway and cardiac morphology of healthy rats. *Life Sci.* 2021; 264: 118697. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118697>.
17. Moreira JBN, Bechara LRG, Bozi LHM, Jannig, PR, Monteiro AWA, Dourado PM, Wisloff U, Brum PC. High – versus moderate – intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. *Journal Applied Physiology.* 2013;114:1029-104. doi: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00760.201>.
18. Oliveira-Junior SA, Pai-Silva DM, Martinez PF, Lima-Leopoldo AP, Campos DHS, Leopoldo AS et al. Diet induced obesity causes metabolic endocrine and cardiac alteration in spontaneously hypertensive rats. *Med. Sci. Monit.* 2010; 16(12):BR 367-73. PMID: 21119569.

19. Lee, MO. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1929 89(1): 24-33. doi: <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1929.89>.
20. Oliveira-Junior SA, Dal Pai M, Guizoni DM, Torres BP, Martinez PF, Campos DHS et al. Effects of AT1 receptor antagonism on interstitial and ultrastructural remodeling of heart in response to a hypercaloric diet. *Physiol Rep*. 2019;7(1):e13964. doi: [10.14814/phy2.13964](https://doi.org/10.14814/phy2.13964).
21. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*. 1990;186:464-478. doi: [10.1016/0076-6879\(90\)86141-h](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86141-h).
22. Chausse B, Solon C, Silva CCC, Reis IGM, Fúlvia B. Manchado-Gobatto et al. Intermittent Fasting Induces Hypothalamic Modifications Resulting in Low Feeding Efficiency, Low Body Mass and Overeating. *Endocrinology*. 2014; 155(7): 2456–2466. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2013-2057>.
23. Mendonça MLM, Carvalho MR, Romanenghi RB, Santos DSD, Filiú WFO, Pagan LU et al. Impact of combined intermittent fasting and high-intensity interval training on apoptosis and atrophy signaling in rat fast- and slow-twitch muscles. *Physiol. Rep*. 2024;12: e16181. doi: <https://doi.org/10.14814/phy2.16181>.
24. Hohn RA, Navegantes C, Ramos K, Filho DR, Cahuê F, Galina A et al. The synergism of high-intensity intermittent exercise and every-other-day intermittent fasting regimen on energy metabolism adaptations includes hexokinase activity and mitochondrial efficiency. *PloS one*. 2018; 13(12):e0202784. doi: [10.1371/journal.pone.0202784](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202784).
25. Kazeminasab F, Behzadnejad N, Cerqueira HS, Santos HO, Rosenkranz SK. Effects of intermittent fasting combined with exercise on serum leptin and adiponectin in adults with or without obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Front Nutr*. 2024; 11:1362731. doi: <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1362731>.
26. Hoddy KK, Gibbons C, Kroeger CM, Trepanowski JF, Barnosky A, Bhutani, S et al. Changes in hunger and satiety in relation to gut peptides before and after 8 weeks of alternate day fasting. *Clin Nutr*. 2016; 35(6):1380-1385. doi: [doi.org/10.1016/j.clnu.2016.03.011](https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.03.011).
27. Negrão AB, Licínio J. Leptina: o diálogo entre adipócitos e neurônios. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab*. 2000; 44(3):205–14. doi: <https://doi.org/10.1590/S0004-27302000000300004>.
28. Herdy AH, Caixeta A. Classificação Nacional da Aptidão Cardiorrespiratória pelo Consumo Máximo de Oxigênio. *Arq. Bras. Cardiol*. 2016; 106(5):388-295. doi: [doi: 10.5935/abc.20160070](https://doi.org/10.5935/abc.20160070)
29. Vaccari F, Passaro A, D'Amuri A, Sanz JM, Vece FD, Capatti E et al. Effects of 3 month high intensity interval training vs. moderate endurance training and 4

- month follow-up on fat metabolism cardiorespiratory function and mitochondrial respiration obese adults. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2020;120:1787–1803. doi: <https://doi.org/10.1007/s00421-020-04409-2>.
30. Gibala M, McGee SL. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exerc. Sport. Sci. Rev.* 2008; 36(2):p 58-63, doi: 10.1097/JES.0b013e318168ec1f.
31. Hadjispyrou S, Dinas PC, Delitheos SM, Koumprentziotis IA, Crisantopoulos C, Philippou A. The Effect of High-Intensity Interval Training on Mitochondrial-Associated Indices in Overweight and Obese Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front. Biosci.* 2023 , 28(11), 281. doi: <https://doi.org/10.31083/j.fbl2811281>.
32. Chang X, Yao S, Wu Q, Wang Y, Liu J, Liu R. Tongyang Huoxue Decoction (TYHX) Ameliorating Hypoxia/Reoxygenation-Induced Disequilibrium of Calcium Homeostasis and Redox Imbalance via Regulating Mitochondrial Quality Control in Sinoatrial Node Cells. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2021;2021:3154501. doi: 10.1155/2021/3154501.
33. Chang X, Zhang W, Zhao Z, Ma C, Zhang T, Meng Q, Yan P, Zhang L, Zhao Y. Regulation of Mitochondrial Quality Control by Natural Drugs in the Treatment of Cardiovascular Diseases: Potential and Advantages. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2020 Dec 23;8:616139. doi: 10.3389/fcell.2020.616139.
34. Chausse, B, Lara MAV, Sanchez AB, Medeiros MHG, Kowaltowski AJ. Intermittent fasting results in tissue-specific changes in bioenergetics and redox state. *PLoS one.* 2015; 10(3): e0120413. doi: 10.1371/journal.pone.0120413.
35. Martelli F; Nunes FMF. Radicais livres: em busca do equilíbrio. *Cienc. e Cul.* 2014; 66(3), doi: <http://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252014000300017>.
36. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ. J.* 2012; 5(1): 9-19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.
37. Ferreira, ALA, Matsubara, LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 1997; 43(1): 61-68. doi: <https://doi.org/10.1590/S0104-42301997000100014>>
38. Castello L, Froio T, Mainá M, Cavallini G, Biasi F, Leonarduzzi G et al. Alternate-day fasting protects the rat heart against age-induced inflammation and fibrosis by inhibiting oxidative damage and NF-κB activation. *Free Radic. Biol. Med.* 2010; 48(1): 47-54. doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.10.003>.
39. Anson RM, Guo Z, Cabo R, et al. Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to

- injury from calorie intake. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2003;100(10):6216-6220. doi: 10.1073/pnas.1035720100.
40. Cerqueira FM, Cunha FM, Silva CCC, Chausse B, Romano RL, Garcia CCM et al. Long-term intermittent feeding, but not caloric restriction, leads to redox imbalance, insulin receptor nitration, and glucose intolerance, *Free Radical Biol. Med.* 2011; 51(7): 1454-1460. doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.07.006>.
  41. Jeremic N, Weber GJ, Theilen NT, Tyagi SC. Cardioprotective effects of high-intensity interval training are mediated through microRNA regulation of mitochondrial and oxidative stress pathways. *J. Cell. Physiol.* 2020; 235(6):5229-5240. doi: 10.1002/jcp.29409.
  42. Rankovic M, Jakovljevic V, Bradic J, et al. Effects of High Intensity Interval vs. Endurance Training on Cardiac Parameters in Ischemia/Reperfusion of Male Rats: Focus on Oxidative Stress. *Front. Physiol.* 2021;12:534127. doi: 10.3389/fphys.2021.534127.
  43. Afousi AG , Gaeini A , Rakhshan K , Naderi N , Azar AD ,Aboutaleb N. Targeting necroptotic cell death pathways by high-intensity interval training (HIIT) decreases development of post-ischemic adverse remodeling after myocardial ischemia / reperfusion injury. *J. Cell. Commun. Signal.* 2019; 13(2): 255-267. doi: 10.1007/s12079-018-0481-3.
  44. Nori P, Haghshenas R, Aftabi Y. Comparison of moderate-intensity continuous training and high-intensity interval training effects on the Ido1-KYN-Ahr axis in the heart tissue of rats with occlusion of the left anterior descending artery. *Sci Rep.* 2023; 13: 3721. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30847-x>.

## ANEXOS

## ANEXO A- Certificado de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

	UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" Campus de Botucatu	Comissão de Ética no Uso de Animais Criada pela Portaria DFM nº 611 de 13/12/2012
<b>CERTIFICADO Nº 1381/2021 – CEUA</b>		
<p>Certificamos que o projeto intitulado: <b>"Modulação da via de sinalização das sestrinas e características morfológicas no coração de ratos submetidos a jejum intermitente e treinamento intervalado de alta intensidade"</b>, conduzido pelo Pesquisador: <b>Paula Felipe Martinez</b> – Orientadora: Profa. Titular Dra. Marina Politi Okoshi – Coorientador: Prof. Ass. Silvio Assis de Oliveira Júnior - Colaboradores: Felipe César Damatto, Felipe de Moura Duarte, Luana Urbano Pagan, Maria Lua Marques de Mendonça, Marianna Rabelo de Carvalho, Rodrigo Juliano de Oliveira, Iandara Schettert Silva e Katashi Okoshi, registrado com o nº <b>1381/2021</b>, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n. 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto n. 6.899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADO pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina de Botucatu, em reunião ordinária de 31 de março de 2021.</p>		
<b>Finalidade</b>	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica	
<b>Espécie/Linhagem/Raça</b>	Ratos Wistar	
<b>Nº Total de animais</b>	60	
<b>Idade/Peso</b>	60 Dias – 200 Gramas	
<b>Sexo</b>	Machos	
Sara Rosa Stanley Sampaio Secretária da Comissão de Ética no Uso de Animais Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP	Profa. Associada Bertha Furlan Polegato Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP	
<p>The research project registered by the number 1381/2021 is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and was approved by the Committee on Ethics in the Use of Animals of Botucatu Medical School - Sao Paulo State University (UNESP) on 31/march/2021.</p>		
Distrito Rubião Júnior, s/nº – Botucatu – SP. CEP: 18618-970 Fones: (14) 38801880 – E-mail Secretaria: ceua@fmb.unesp.br		

## ANEXO B- Normas para publicação do periódico Arquivos Brasileiros de Cardiologia (ISSN 0066-782X).

### ORGANIZAÇÃO DOS ARTIGOS E NORMAS TÉCNICAS

- **Idioma:**

A ABC Cardiol é uma publicação bilíngue. Os artigos podem ser submetidos em língua portuguesa e/ou inglesa. Para os artigos aprovados, é obrigatória a entrega do segundo idioma caso o autor tenha optado em submeter o artigo somente no idioma português. O autor pode solicitar a tradução através da revista ou entregar no prazo máximo de 30 dias. No caso da não entrega, o artigo será **cancelado**. O autor que submeter o artigo no idioma inglês não precisará providenciar a tradução, porém, no ato da submissão, é recomendado o envio dos artigos nos dois idiomas para agilização do processo de produção caso seja possível.

- **Ordenação:**

**Importante:** Os textos devem ser editados em processador de texto (exemplo: Word da Microsoft®, Google Docs®, Writer®).

#### ARTIGO ORIGINAL

##### 1- Página de título

- Deve conter o título completo do trabalho (com até 150 caracteres, incluindo espaços) de maneira concisa e descritiva em português.
- Deve conter o título completo em inglês (com até 150 caracteres, incluindo espaços).
- Deve conter o título resumido (com até 50 caracteres, incluindo espaços) para ser utilizado no cabeçalho das demais páginas do artigo.
- Devem ser incluídos de três a cinco descritores (palavras-chave), assim como a respectiva tradução para as keywords (descriptors). As palavras-chave devem ser consultadas nos sites: <http://decs.bvs.br/>, que contém termos em português, espanhol e inglês ou [www.nlm.nih.gov/mesh](http://www.nlm.nih.gov/mesh), para termos somente em inglês.
- Deve informar o número de palavras do manuscrito (word-count).

##### 2- Resumo

- Resumo de até 250 palavras.
- Estruturado em cinco seções:
  - Fundamento (racional para o estudo);
  - Objetivos;
  - Métodos (breve descrição da metodologia empregada);
  - Resultados (apenas os principais e mais significativos);
  - Conclusões (frase(s) sucinta(s) com a interpretação dos dados).
- Solicita-se não citar referências no resumo.
- Solicita-se incluir números absolutos dos resultados juntamente com a sua significância estatística comprovada através do valor do p, % e outros métodos de análise. Não serão aceitos dados sem significância estatística devidamente comprovada, por exemplo: "a medida aumentou, diminuiu" etc.).

##### 3- Corpo do artigo

Deve ser dividido em cinco seções: introdução, métodos, resultados, discussão e conclusões.

- **Introdução:**
  - Sugerimos não ultrapassar 350 palavras.
  - Faça uma descrição dos fundamentos e do racional do estudo, justificando com base na literatura e destacando a lacuna científica do qual o levou a fazer a investigação e o porquê.
  - No último parágrafo, dê ênfase aos objetivos do estudo, primários e secundários, baseados na lacuna científica a ser investigada.
- **Métodos:**
  - Descreva detalhadamente como foram selecionados os sujeitos da pesquisa observacional ou experimental (pacientes ou animais de experimentação, incluindo o grupo controle, quando houver), incluindo idade e sexo.
  - A definição de raças deve ser utilizada quando for possível e deve ser feita com clareza e quando for relevante para o tema explorado.
  - Identifique os equipamentos e reagentes utilizados (incluindo nome do fabricante, modelo e país de fabricação, quando apropriado) e dê detalhes dos procedimentos e técnicas utilizados de modo a permitir que outros investigadores possam reproduzir os seus dados.
  - Descreva os métodos empregados em detalhes, informando para que foram usados e suas capacidades e limitações.
  - Descreva todas as drogas e fármacos utilizados, doses e vias de administração.

- Descreva o protocolo utilizado (intervenções, desfechos, métodos de alocação, mascaramento e análise estatística).
  - Em caso de estudos em seres humanos, indique se o trabalho foi aprovado por um Comitê de Ética em Pesquisa, se os pacientes assinaram os termos de consentimento livre e esclarecido e se está em conformidade com o descrito na resolução 466/2012.
  - Descreva os métodos estatísticos utilizados para obtenção dos resultados e justifique.
  - Resultados:
    - Exibidos com clareza, devem estar apresentados subdivididos em itens, quando possível, e apoiados em número moderado de gráficos, tabelas, quadros e figuras. Evitar a redundância ao apresentar os dados, como no corpo do texto e em tabelas.
    - É de extrema importância que a sua significância estatística seja devidamente comprovada.
  - Discussão: Relaciona-se diretamente ao tema proposto quando analisado à luz da literatura, salientando aspectos novos e importantes do estudo, suas implicações e limitações. A comparação com artigos previamente publicados no mesmo campo de investigação é um ponto importante, salientando quais são as novidades trazidas pelos resultados do estudo atual e suas implicações clínicas ou translacionais. O último parágrafo deve expressar conclusões ou, se pertinentes, recomendações e implicações clínicas.
  - Conclusões: Devem responder diretamente aos objetivos propostos no estudo e serem estritamente baseadas nos dados. Conclusões que não encontrem embasamento definitivo nos resultados apresentados no artigo podem levar à não aceitação direta do artigo no processo de revisão. Frases curtas e objetivas devem condensar os principais achados do artigo, baseados nos resultados.
  - Consulte as informações sobre artigo original de pesquisas clínicas/ensaios clínicos.
- 4- Agradecimentos**
- Devem vir após o texto. Nesta seção, é possível agradecer a todas as fontes de apoio ao projeto de pesquisa, assim como contribuições individuais.
  - Cada pessoa citada na seção de agradecimentos deve enviar uma carta autorizando a inclusão do seu nome, uma vez que pode implicar em endosso dos dados e conclusões.
  - Não é necessário consentimento por escrito de membros da equipe de trabalho, ou colaboradores externos, desde que o papel de cada um esteja descrito nos agradecimentos.
- Figuras e Tabelas**
- O número de tabelas e figuras indicados para este tipo de artigo pode ser encontrado ao acessar o quadro resumido a seguir.
  - Tabelas: Numeradas por ordem de aparecimento e adotadas quando necessário à compreensão do trabalho. As tabelas não deverão conter dados previamente informados no texto. Indique os marcadores de rodapé na seguinte ordem: \*, †, ‡, §, //, ¶, #, \*\*, ††, etc. As tabelas devem ser editadas em Word ou programa similar. Orientamos os autores que utilizem os padrões de tabelas e figuras adotados pela ABNT. Conforme normas, a tabela deve ter formatação aberta, ter a sua identificação pelo número e pelo título, que devem vir acima da tabela, a fonte, mesmo que seja o próprio autor, abaixo.
  - Figuras: Devem apresentar boa resolução para serem avaliadas pelos revisores. Conforme normas da ABNT, as ilustrações devem apresentar palavra designativa, o número de acordo com a ordem que aparece no texto, e o título acima da imagem. Abaixo, a fonte. As abreviações usadas nas ilustrações devem ser explicitadas nas legendas. É desejável que a figura 1 seja a que melhor resume os dados principais do artigo, ou seja, uma ilustração central dos resultados do artigo. Pode-se usar montagens de imagens. As figuras e ilustrações devem ser anexadas em arquivos separados, na área apropriada do sistema, com extensão JPEG, PNG ou TIFF.
  - Imagens e vídeos: Os artigos aprovados que contenham exames (exemplo: ecocardiograma e filmes de cinecoronariografia) devem ser enviados através do sistema de submissão de artigos como imagens em movimento no formato MP4.
- Referências bibliográficas**
- A ABC Cardiol adota as Normas de Vancouver – *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journal* ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)).
  - As referências devem ser citadas numericamente, por ordem de aparecimento no texto, e apresentadas em sobrescrito.
  - Se forem citadas mais de duas referências em sequência, apenas a primeira e a última devem ser digitadas, separadas por um traço (Exemplo: 5-8).
  - Em caso de citação alternada, todas as referências devem ser digitadas, separadas por vírgula (Exemplo: 12, 19, 23). As abreviações devem ser definidas na primeira aparição no texto.
  - As referências devem ser alinhadas à esquerda.
  - Comunicações pessoais e dados não publicados não devem ser incluídos na lista de referências, mas apenas mencionados no texto e em nota de rodapé na página em que é mencionado.
  - Citar todos os autores da obra se houver seis autores ou menos, ou apenas os seis primeiros seguidos de et al., se houver mais de seis autores.
  - As abreviações da revista devem estar em conformidade com o *Index Medicus/Medline* – na publicação *List of Journals Indexed in Index Medicus* ou por meio do site <http://locatorplus.gov/>.
  - Só serão aceitas citações de revistas indexadas. Os livros citados deverão possuir registro ISBN (*International Standard Book Number*).
  - Resumos apresentados em congressos (abstracts) só serão aceitos até dois anos após a apresentação e devem conter na referência o termo “resumo de congresso” ou “abstract”.
  - O número de referências indicado para cada tipo de artigo pode ser encontrado no quadro resumido.
  - Política de valorização: Os editores estimulam a citação de artigos publicados na ABC Cardiol e oriundos da comunidade científica nacional.