

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS**

Emanuel Elias Camolese Polisel

**Treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) em corrida:
efeitos sobre capacidades aeróbia e anaeróbia, biomarcadores de
estresse e respostas osteomusculares de camundongos ativos e
sedentários**

**Limeira
2020**

Emanuel Elias Camolese Polisel

Treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) em corrida: efeitos sobre capacidades aeróbia e anaeróbia, biomarcadores de estresse e respostas osteomusculares de camundongos ativos e sedentários

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo da Faculdade de Ciências Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo, na área de Ciências do Esporte.

Orientadora: Profa. Dra. Fúlvia de Barros Manchado Gobatto

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELO ALUNO EMANUEL ELIAS CAMOLESE POLISEL, E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. FÚLVIA DE BARROS MANCHADO GOBATTO

Limeira

2020

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas
Renata Eleuterio da Silva - CRB 8/9281

P759t Polisel, Emanuel Elias Camolese, 1993-
Treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) em corrida : efeitos sobre capacidade aeróbia e anaeróbia, biomarcadores de estresse e respostas osteomusculares de camundongos ativos e sedentários / Emanuel Elias Camolese Polisel. – Limeira, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Fúlvia de Barros Manchado Gobatto.
Coorientador: Pedro Paulo Menezes Scariot.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas.

1. Treinamento intervalado de alta intensidade. 2. Composição corporal. I. Gobatto, Fúlvia de Barros Manchado, 1980-. II. Scariot, Pedro Paulo Menezes, 1989-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: High intensity interval training (HIIT) in running : effects on aerobic and anaerobic capacity, stress biomarkers and musculoskeletal responses in active and sedentary mice

Palavras-chave em inglês:

High intensity interval training

Body composition

Área de concentração: Ciências do Esporte

Titulação: Mestre em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Banca examinadora:

Fúlvia de Barros Manchado Gobatto

Maria Claudia Gonçalves de Oliveira Fusaro

Ana Claudia Garcia de Oliveira Duarte

Data de defesa: 28-08-2020

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: Polisel

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/5160155262308657>

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: Emanuel Elias Camolese Polisel

Título: Treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) em corrida: efeitos sobre capacidades aeróbia e anaeróbia, biomarcadores de estresse e respostas osteomusculares de camundongos ativos e sedentários

Natureza: Dissertação

Área de Concentração: Ciências do Esporte

Instituição: Faculdade de Ciências Aplicadas – FCA/Unicamp

Data da Defesa: Limeira-SP, 28 de agosto de 2020

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Fúlvia de Barros Manchado Gobatto
Faculdade de Ciências Aplicadas – FCA/Unicamp

Profa. Dra. Maria Claudia Gonçalves de Oliveira Fusaro
Faculdade de Ciências Aplicadas – FCA/Unicamp

Profa. Dra. Ana Cláudia Garcia de Oliveira Duarte
Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e toda força espiritual, aos meus pais Dejanira e Edilberto por todo esforço em me educar e aos meus irmãos que sempre estiveram presentes em minha vida me ajudando a crescer como pessoa.

Durante meu caminho no Laboratório de Fisiologia Aplicada ao Esporte, todo progresso e crescimento profissional que adquiri se deve a ótima orientação recebida nesse processo. Com isso, serei sempre grato a professora Fúlvia e ao professor Claudio pelos ensinamentos, conselhos e exigência, fundamentais para o meu desenvolvimento profissional e pessoal. Sem dúvida os tenho como exemplos de profissionais íntegros e verdadeiramente preocupados com a formação de seus alunos.

De maneira especial, agradeço ao Leo e ao Pedro pela amizade e por todo esforço em oferecer uma coorientação significativa, sendo ela imprescindível para minha formação. Agradeço aos atuais colegas de laboratório e aos egressos que de alguma forma também me ajudaram nesse processo de formação.

Meus agradecimentos também ao LAFAE e toda sua estrutura que possibilitou a realização desse projeto, ao CNEM e seus professores pelo suporte e formação oferecidos, e aos amigos que me ajudaram de alguma forma durante esse trajeto.

Agradeço muito ao professor Wladimir Beck e a Taciane Pejon por todo suporte e assistência oferecidos durante as análises ósseas, bem como o Laboratório de Fisiologia Endócrina e Exercício Física junto a UFSCAR, por oferecerem uma estrutura adequada para bem realizarmos tais análises experimentais.

Por último, mas não menos importante, agradeço a instituição UNICAMP pelas oportunidades e estrutura oferecidas ao CNPq por todo apoio oferecido para bem realizar esse estudo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Com isso, faço meus agradecimentos a essa instituição.

Agradeço de maneira especial à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (processo: 2018/07099-6) pelo apoio financeiro a esse estudo com minha bolsa de mestrado. Esse financiamento foi fundamental para que eu pudesse melhorar a qualidade do trabalho bem como meu desempenho durante esse processo de formação.

“Não há nada tão simples que tenha sido descoberto ontem e nada tão difícil que será descoberto amanhã”

Antonin-Gilbert Sertillanges

RESUMO

A intensidade do exercício tem sido considerada significativa para a obtenção de sucesso físico-esportivo e o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) é uma das propostas de destaque na atualidade. Como consequência, estudos envolvendo a aplicação do HIIT visando a qualidade de vida atraíram a atenção da comunidade científica nos últimos anos, de modo que esse método de treinamento vem sendo considerado uma alternativa eficiente para indivíduos sedentários ou mesmo obesos. Entretanto, ainda pouco se conhece sobre seus efeitos a longo prazo (positivos e negativos) quando aplicado a organismos ativos ou sedentários, especialmente sobre o estresse fisiológico e às adaptações em diferentes tecidos, como muscular, hepático, cardíaco e ósseo. Nesse sentido, com base em estudos prévios observamos que o espaço habitacional onde são mantidos os roedores é capaz de gerar diferentes níveis de atividade física espontânea (AFE) nesses animais. Diante disso, o objetivo geral do estudo foi investigar os efeitos a longo prazo do HIIT sobre as adaptações aeróbias e anaeróbias, nível de AFE, biomarcadores de estresse, composição corporal e disponibilidade de estoques energéticos, bem como adaptações no tecido ósseo de camundongos ativos ou sedentários, de acordo com o espaço habitacional adotado. Para tanto, camundongos C57BL/6J foram divididos em seis grupos (n=10 animais por grupo), sendo dois considerados linha de base ((Baseline grupo padrão (BL-GP) e baseline grupo amplo espaço (BL-GA), eutanasiados antes do início do treinamento)) e outros quatro grupos discriminados por serem alojados em espaço habitacional padrão (Espaço Padrão-EP) ou ampliado (Espaço Amplo-EA), tanto controle (C), como submetidos ao HIIT (treinados-T) (GP-C; GP-T; GA-C e GA-T). Inicialmente, todos os animais foram adaptados à esteira rolante e submetidos ao protocolo de velocidade crítica (VC), que consistiu na aplicação de quatro esforços aleatórios e individualizados de corridas (intensidades 17 a 35 m/min), com registro dos tempos limites para avaliação das capacidades aeróbia e anaeróbia e individualização do treinamento. O programa de treinamento foi aplicado durante 13 semanas, com a frequência de 5 sessões semanais. Cada sessão foi composta por 4 séries de 3 repetições, com esforço de 30 segundos a 130% da VC e recuperação ativa à 50% da VC pelo mesmo tempo, ocorrendo recuperação passiva de 2 minutos entre as séries, totalizando 20 minutos cada. Além disso, houve um aquecimento de 5 minutos e volta a calma com o mesmo tempo após a parte principal da sessão. Ao longo do programa, foram analisadas as respostas fisiológicas agudas e a intensidade foi reajustada com a reaplicação dos testes de VC na sétima semana. Houve registro diário da ingestão alimentar e hídrica e a cada dois dias da massa corporal. A AFE foi monitorada diariamente, com elevada frequência de captura de sinais (200Hz). Após a conclusão do programa de treinamento, os animais foram eutanasiados e o material biológico armazenado. Com base nos resultados, não houve efeito do HIIT no aumento da capacidade aeróbia, mas esse programa foi positivo em elevar a massa magra dos camundongos, independente do espaço habitacional que viveram. Os índices de gordura da carcaça e retroperitoneal foram reduzidos pelo HIIT em ambos os grupos (EP e EA). De forma interessante, o HIIT reduziu a AFE apenas para o grupo EA-T, indicando uma preservação dos estoques energéticos em benefício do treinamento físico. Além disso, houve melhora da tenacidade óssea para o grupo EA-C em comparação ao grupo EA-T, além de um aumento na corticosterona sérica para o grupo EA-C em comparação aos grupos EP-C e EP-T. Diante disso, nossos resultados sugerem que o HIIT foi efetivo na redução de gordura corporal e manutenção do fenótipo magro. Contudo, de modo geral um ambiente favorável ao estilo de vida ativo trouxe, de forma superior, benefícios a aptidão física e saúde óssea de camundongos em comparação ao HIIT.

Palavras-chave: treinamento intervalado de alta intensidade, capacidades aeróbia e anaeróbia, composição corporal, biomarcadores de estresse.

ABSTRACT

The intensity of exercise has been considered significant to obtain physical and sporting success. The high-intensity interval training (HIIT) is one of the outstanding proposals nowadays. In consequence, studies involving the application of HIIT aiming quality of life have attracted the attention of scientific community in current years, so this method of training has been considered an efficient alternative to sedentary or obese individuals. However, the long-term effects (positive and negative) when applied in active or sedentary organisms is unclear, especially on physiological stress, muscular, hepatic, cardiac and bone tissue adaptations. In this sense, based on previous studies we observed that the space where mice are kept can generate different levels of spontaneous physical activity (SPA) in these animals. Therefore, the present study aimed to investigate the long-term effects of HIIT on aerobic and anaerobic adaptations, SPA levels, stress biomarkers, body and availability of energetic stores, as well as bone tissue adaptations in active mice or not, according to the adopted housed space. Sixty C57BL/6J mice were divided in six groups ($n = 10$ animals per group): two baselines (baseline standard group (BL-SG) and baseline wide space group (BL-WG), euthanized before the start of experiment) and four others groups discriminated according to the housing space (small cage (SC) or large cage (LC)), both controlled (C) and HIIT (trained-T) (SC-C; SC-T; LC-C e LC-T, respectively). Initially, all animals were adapted to a treadmill running roller and submitted to the critical velocity (CV) protocol, that consisted in four aleatory and individualized running efforts (intensities between 17 and 35 m/min), with time limit records for aerobic and anaerobic capacity assessment, as well to the individualization of physical training. The training program was enforced and observed during 13 weeks, with a frequency of 5 week sessions. Each session was composed of 4 series of 3 repetitions, with effort of 30 seconds at 130% of CV and active recovery at 50% of CV for the same time, occurring passive recovery of 2 minutes between series. Besides that, there was a warm-up (5min) and relaxation at the same time after the main part of the session (total session was composed by 30min). Throughout the program, the acute physiological responses and the intensity were analyzed and readjusted with the reapplication of CV tests in sixth week. There was a daily record of food and water intake, and body mass at each two days. The SPA was either daily monitored, with high signals capture frequency (200Hz). After conclusion of HIIT program, the animals were euthanized and the biological material stored. Our results showed that there was no effect of HIIT on the increase of aerobic capacity, but it was positive in raising lean mass of mice independent of the housing space lived. The content of carcass fat and retroperitoneal fat were reduced for HIIT in both groups (SC and LC). Interestingly, HIIT reduces the SPA only in the SC-T group, indicating a preservation of the energy stores for the benefit of physical training. In addition, there was an improvement in tenacity for the LC-C group compared to the LC-T group, and also an increase on serum corticosterone to LC-C group compared SC-C and SC-T groups. In summary, our results show that HIIT was effective in reducing body fat and in the maintenance of lean phenotype. However, in general, a favorable environment to the active lifestyle presented more benefits to physical fitness and bone health of mice compared to the HIIT.

Key words: high-intensity interval training; aerobic and anaerobic capacity; body composition; stress biomarkers.

Lista de ilustrações

Figura 1. Desenho experimental da pesquisa de acordo com os dias de avaliação	22
Figura 2. Imagem ilustrando o desenvolvimento de uma sessão do HIIT. Velocidade Crítica – (VC) representa a intensidade individualizada de exercício.....	23
Figura 3. Mensuração da AFE de animais alojados em gaiolas convencionais.....	25
Figura 4. Mensuração da AFE de animais alojados no espaço habitacional amplo (EA).....	26
Figura 5. Gráfico Carga x Deformação utilizado para determinação das propriedades biomecânicas do tecido ósseo.....	29
Figura 6. Atividade física espontânea no período claro (painel A) e escuro (painel B) para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA)	33
Figura 7. Atividade física espontânea em cada hora do dia durante as semanas se experimento	34
Figura 8. Ingestão alimentar (Painel A) e hídrica (Painel B) para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em gaiolas de espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).....	38
Figura 9. Valores de velocidade crítica dos grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) ou espaço amplo (EA).....	41
Figura 10. Capacidade de corrida anaeróbia dos grupos (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e amplo (EA).....	42
Figura 11. Velocidade crítica ($m \cdot min^{-1}$) e capacidade de corrida anaeróbia (m) dos grupos (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e amplo (EA).....	43
Figura 12. Corticosterona sérica (ng/ml) e massa da glândula adrenal	44
Figura 13. Valores de gordura da carcaça (Painel A), massa magra da carcaça (Painel B) e teor de água da carcaça (Painel C)	46
Figura 14. Distribuição percentual dos componentes da carcaça, que incluem a água, gordura e massa livre de gordura (massa magra) para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em gaiolas de espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).....	47
Figura 15. Depósitos de tecido adiposo epididimal (Painel A) e tecido adiposo retroperitoneal (Painel B).....	48
Figura 16. Tecido adiposo marrom (Painel B) dos grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) ou espaço amplo (EA).....	49
Figura 17. Concentrações de glicogênio em músculo sóleo (Painel A) e gastrocnêmio (Painel B) dos grupos controle (C) e treinado (T) alojados em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).....	50
Figura 18. Concentrações de glicogênio em tecido hepático (Painel A) e cardíaco (Painel B) dos grupos controle (C) e treinado (T) alojados em espaço padrão (EP) e amplo (EA).....	51

Lista de tabelas

Tabela 1. SPA registrada ao longo de 13 semanas em período claro e escuro para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).....	32
Tabela 2. Ingestão alimentar ($\text{g} \cdot \text{g}(\text{mc})^{-1}$) ao longo de 13 semanas de experimento para os grupos controle (C) e treinado (T), mantidos em gaiolas de espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).....	36
Tabela 3. Ingestão hídrica ($\text{ml} \cdot \text{g}^{-1}$) ao longo de 13 semanas de experimento para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em gaiolas de espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).....	37
Tabela 4. Massa corporal (g) ao longo de 13 semanas de experimento para os grupos controle (C) e treinando (T) mantidos em gaiolas de espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).....	39
Tabela 5. Corticosterona sérica (pg/ml) e massa da glândula adrenal dos grupos controle (C) e treinado mantidas em espaço padrão (EP) e espaço amplo após treze semanas de experimento.....	44
Tabela 6. Carcaça eviscerada, teor de água da carcaça, teor de gordura da carcaça e massa magra dos grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).....	47
Tabela 7. Comprimento, diâmetro maior e menor das diáfises (mm) e pesos húmido, imerso, seco e das cinzas (g) dos fêmures direito dos animais dos grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).....	52
Tabela 8. Volume ósseo (cm^3), densidade mineral óssea (g/cm^3), percentual de água, material orgânico e mineral do fêmur do animal para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).....	53
Tabela 9. Carga máxima (força) (N), deslocamento de carga máxima (mm), resiliência (J), rigidez ($10^3 \cdot \text{N}/\text{m}$), deslocamento no ponto de fratura (mm) e carga máxima (force) no ponto de fratura (N) do fêmur de camundongos (EA)	54

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivo geral	19
2.2. Objetivos específicos.....	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1. Animais	20
3.2. Desenho experimental	20
3.2.1. Condições de alojamento	22
3.2.2. Programa de treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT)	23
3.2.3. Avaliações diárias e semanais ao longo do programa de treinamento.....	24
3.3. Eutanásia	27
3.4. Análises processadas após a eutanásia.....	27
3.4.1. Composição corporal	27
3.4.2. Análises bioquímicas	27
3.4.3. Análises em tecido ósseo.....	28
3.5. Análise estatística.....	30
4. RESULTADOS	30
4.1. Ingestão alimentar, hídrica e massa corporal	34
4.2. Capacidades aeróbia e anaeróbia.....	40
4.3. Biomarcadores de estresse	44
4.4. Composição da carcaça	45
4.5. Estoques de glicogênio.....	49
4.6. Tecido ósseo.....	51
5. DISCUSSÃO	55
6. CONCLUSÃO.....	64
7. REFERÊNCIAS.....	67

1. INTRODUÇÃO

Embora já empregado em passado muito distante, o treinamento intervalado sistematizado surgiu por volta de 1912, mas foi difundido entre corredores europeus após a Segunda Guerra Mundial. De acordo com Billat et al. (2001), esse método de treinamento foi relatado pela primeira vez em um jornal científico no ano de 1959, pelos autores Reindell & Roskamm, em 1959. Um expoente a utilizar esse método foi o campeão olímpico Emil Zatopek, ao conquistar bons resultados no atletismo (Billat, 2001).

Nas décadas subsequentes, os estudos do treinamento intervalado foram avançando, de modo que a partir da possibilidade de modificar as variáveis de treinamento, tais como intensidade, volume e a frequência, foram surgindo variações desse método de treinamento (Billat et al., 2001). Nesse caminho, nas décadas de sessenta e setenta houve um avanço nos estudos dos métodos de aplicação de parâmetros de avaliação física, como VO_2 máximo, limiar de lactato e potência crítica, facilitando assim o controle do treinamento aeróbio e anaeróbio (Wasserman et al., 1964; Saltin e Astrand, 1967). Em consequência, visando melhores adaptações no metabolismo aeróbio, surgiu o treinamento aeróbio intervalado de curta duração e o treinamento aeróbio intervalado de longa duração, métodos que poderiam se enquadrar em diferentes objetivos dentro da especificidade de cada esporte.

Em meio as variações citadas acima, foi estabelecido o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), caracterizado por breves esforços intermitentes em intensidades superiores ao limiar anaeróbio, intercalados por períodos de descanso passivo ou exercício de baixa intensidade (LAURSEN P, 2002; BUCHHEIT & LAURSEN, 2013a, 2013b). Com o mesmo princípio, também visualiza-se a aplicação do *sprint* intervalado de alta intensidade (SIT), mas caracterizado pela execução de exercício de *all-out* ou supra máximos (BURGOMASTER et al., 2006; WHYTE et al., 2010). Esses métodos de treinamento baseiam-se na razão esforço-pausa com o propósito de gerar adaptações em diferentes níveis fisiológicos e metabólicos (BURGOMASTER et al., 2006; BURGOMASTER et al., 2008; LITTLE et al., 2010; GIBALA et al., 2012). Adicionalmente, evitar a monotonia, fugindo dos longos e repetitivos treinos contínuos, é um grande atrativo para propostas dessa natureza.

Em termos práticos e científicos, o HIIT e o SIT estão em evidência, o que pode ser confirmado pelo exponencial aumento nas produções científicas, tanto em termos quantitativos como qualitativos, disponibilizadas em bases indexadoras como o *Web of Science* e o *PubMed* e ainda pelo número de adeptos a programas dessa natureza no meio físico-esportivo. Uma das justificativas para seu emprego em grande escala baseia-se nas rápidas adaptações no metabolismo energético decorrentes do consumo excessivo de oxigênio após exercício (EPOC), necessitando do

reestabelecimento da homeostase energética e hormonal, bem como da temperatura corporal após exercício vigoroso, fatores que aumentam o gasto calórico e utilização de gorduras (LAFORGIA et al., 2006). No entanto, ainda há divergências na literatura quanto a efetividade do HIIT em reduzir a massa de gordura corporal em maior proporção quando comparado ao *Moderate Intensity Continue Training (MICT)* (SULTANA et al., 2019), sendo que a maior parte dos estudos indicam que ao empregar o HIIT/SIT em menor tempo e gasto energético que o MICT, a tendência é este último ser mais favorável em reduzir a gordura corporal total, embora os dois protocolos sejam potencialmente capazes de reduzir a gordura corporal total (KEATING et al., 2017). Além do anteriormente apontado, outros motivos são comumente atrelados ao HIIT, como melhora na performance de exercício (BUCHHEIT & LAURSEN, 2013a, 2013b; GIBALA et al., 2006; GIBALA & MCGEE, 2008), o dinamismo e o menor tempo destinado à sessão de treino (LAURSEN P, 2002; GILLEN & GIBALA, 2013; MACINNIS & GIBALA, 2017), embora esse último aspecto ainda seja questionável.

Entre atletas, o HIIT tem sido conhecido como um método efetivo de treinamento por melhorar funções cardiorrespiratórias e metabólicas, como VO_2 máximo, resistência aeróbia e, por sua vez, a performance física (BUCHHEIT & LAURSEN, 2013a e 2013b). Adicionalmente, sendo o HIIT um esforço próximo do máximo, geralmente realizado em intensidades entre 80% e 95% da frequência cardíaca máxima, pode fornecer um estímulo eficaz para melhorar o transporte de oxigênio e induzir a biogênese mitocondrial a partir do estresse metabólico obtido em resposta à alta intensidade (LUNDBY & JACOBS, 2016; FIORENZA et al., 2018), além de estar mais próximo do observado em provas esportivas específicas, geralmente executadas em alta intensidade.

No caso de sedentários ou não atletas submetidos a programas como o HIIT, algumas investigações agudas ou a curto prazo também vêm sendo conduzidas. Mesmo para essa população, estudos têm relatado aumento na capacidade mitocondrial do músculo esquelético após seis sessões de HIIT aplicado a homens saudáveis (LITTLE et al., 2010), aumento na capacidade de oxidar gorduras em mulheres moderadamente ativas após serem submetidas a sete sessões de protocolo de treinamento dessa natureza (TALANIAN et al., 2006), melhora da saúde cardiovascular em homens obesos após 6 semanas de HIIT realizando uma sessão por semana (GRACE et al., 2018) e ajustes na composição corporal de adolescentes com excesso de peso após 3 sessões/semana de HIIT durante seis semanas (ALIZADEH & SAFARZADE, 2019). Por outro lado, o HIIT em exercício de ciclismo impactou em altos níveis de estresse fisiológico quando comparado ao HIIT em corrida com *pacing* constante aplicado a sedentários, sinalizando o efeito da estímulo-dependência sobre as respostas relacionadas ao estresse, mesmo quando adotadas cargas equiparadas (KRIEL & SOLOMON, 2018).

Como essas investigações apresentam cortes de apenas uma sessão ou alguns dias de aplicação, ainda não é possível avaliar os impactos do estresse promovido a longo prazo por programas de treinamento físico com tais características.

Em termos psicobiológicos, a literatura é também bastante controversa, especialmente por comparações entre o HIIT e outros métodos não considerarem, em muitos casos, a similaridade de carga externa desses programas (KEMMLER et al., 2014; SELMI et al., 2018). O aumento nas emoções negativas durante e após a realização de sessões dessa natureza é relatado em alguns casos (HARDCASTLE et al., 2014; DECKER & EKKEKAKIS, 2017), especialmente por indivíduos não treinados, bem como menor prazer e resposta mais aversiva a altos volumes de HIIT para mulheres obesas (ASTORINO et al., 2019), o que sugere ser esse um método desestimulante para sedentários devido à pouca aptidão física e tolerância ao exercício, podendo impedir o ingresso ou a aderência (continuidade) de programa de treinamento para as pessoas com essas características (ASTORINO et al., 2012; DECKER & EKKEKAKIS, 2017). Em contrapartida, dezoito sessões de HIIT durante 6 semanas não alteraram a excitabilidade corticoespinal, marcadores bioquímicos e o trabalho da memória em homens sedentários (NICOLINI et al., 2019). Em perspectiva semelhante, vinte sessões de HIIT em um período de 4 semanas aumentaram as concentrações circulantes de fator neurotrófico derivado do cérebro (BNDF) em jovens mulheres saudáveis, mas, ao mesmo tempo, o treinamento não promoveu melhora na performance física e redução do percentual de gordura corporal relativa comparado ao grupo controle (RENTERÍA et al., 2019), uma sessão de HIIE de baixo volume aumentou significativamente o função do córtex pré-frontal, fornecendo benefício à função cognitiva (SLUSHER et al., 2018) e as funções neuromusculares melhoraram após 3 sessões semanais de HIIT durante 16 semanas (SCHAUN et al., 2019).

A literatura é clara em sinalizar que o exercício físico agudo pode atuar como estímulo estressante para o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), estímulo sensorial que ao ser percebido pelas células do núcleo paraventricular causa a liberação do fator liberador de corticotropina, que libera adenocorticotropina (ACTH) resultando, por sua vez, em um aumento significativo nos níveis de cortisol circulante (HILL et al., 2008; HERMANN et al., 2018). Esse glicocorticoide irá modular o metabolismo da glicose, das proteínas e ácidos graxos livres acelerando a mobilização de gorduras para obtenção de energia durante exercício físico intenso e/ou prolongado (DEDOVIC et al., 2009). Mesmo de maneira crônica, embora o treinamento possa gerar adaptações fisiológicas ao eixo HHA, de fato o hormônio cortisol se eleva em taxa proporcional ao aumento da intensidade do exercício (BONATO et al., 2017). Fenômeno similar observa-se para a corticosterona, no caso dos roedores (CONTARTEZE, 2008). Por ser o HIIT um programa que atua com a razão esforço pausa, sendo os

exercícios aplicados em elevada intensidade, respostas dessa natureza também são apresentadas pelo eixo HHA. À exemplo, Wahl et al. (2013) observaram que o HIIT (SIT) executado por meio de 4 estímulos de 30 s *all out* causou maior aumento nos níveis de cortisol e hGH se comparado ao HIIT caracterizado por 4 estímulos de 4 min a 95% do pico de potência, bem como ao treinamento embasado no alto volume (HVT). No mesmo caminho, recentemente MACINNIS et al. (2017) relataram maior concentração de lactato sanguíneo, frequência cardíaca, percepção subjetiva de esforço e dispneia com o HIIT em relação ao treinamento contínuo de moderada intensidade MICT, sugerindo que o primeiro propicia maior estresse metabólico, apesar da realização de trabalho total equivalente ter sido considerada nesse estudo.

Além das respostas a estímulos agudos ou adaptações advindas de programas intervalados de alta intensidade aplicados a curto prazo sobre o estresse, a composição corporal e adaptações em tecidos como o muscular, cardíaco, hepático e o tecido ósseo também pode ser modulado (ALIZADEH & SAFARZADE, 2019; BOUTCHER, 2011), embora seja pouco explorado em modelos humanos e animais. Devido ao efeito piso elétrico e consequentemente agregação de cálcio, os impactos do exercício de alta intensidade (especialmente a corrida ou modalidades que usam gestos motores com mais impacto) parecem modular o tecido ósseo de modo mais efetivo (KOENEN et al., 2017), propiciando maiores ganhos de massa óssea. Um dos motivos para tal são as maiores concentrações de hormônio de crescimento (GH) como resposta a exercícios anaeróbios (KOENEN et al., 2017), estimulando o crescimento ósseo (WOITGE et al., 1998). Além disso, Turner & Robling (2003) relataram que exercícios de alta intensidade com alto impacto no tecido ósseo são os mais recomendados para promover carga mecânica suficiente e estimular osteogênese. Por outro lado, embora tenha melhorado o desempenho em corrida, a realização de oito semanas de SIT indicou não ser adequada para o aumento do pico de massa óssea de camundongos no início da fase adulta (KOENEN et al., 2017). Em outra perspectiva, sabe-se que maior taxa de remodelamento ósseo está associada a desmineralização e diminuição do conteúdo de ligações cruzadas de colágeno, diminuindo as propriedades biomecânicas e biofísicas do osso (SHIGUEMOTO et al., 2012), condição que aliada aos efeitos colaterais e anormalidade metabólicas que diminuem a massa óssea em indivíduos obesos ou sedentários, por exemplo, aumenta o risco de fratura óssea (SHAPSES et al., 2017). Diante disso, algumas dúvidas permanecem a respeito da aplicação do HIIT sobre a resistência e deformação óssea para indivíduos ou animais sedentários, bem como se treinamentos com essas características modificam a estrutura óssea para esses grupos.

De fato, mesmo tendo atraído bastante atenção na atualidade, tanto considerando a quantidade de adeptos ingressantes em programas de HIIT, como pelo exponencial aumento de artigos científicos

sendo publicado na última década (KEATING et al., 2017; LAURSEN & BUCHHEIT, 2019), pouco ainda é conhecido sobre os impactos crônicos (a longo prazo) gerados por esse método de treinamento, especialmente quando aplicado a indivíduos sedentários ou pouco ativos ingressantes em programas dessa natureza. Pressupõe-se que realizar esforços crônicos em intensidade (i.e., supra limiar anaeróbio) requer adaptação fisiológica e metabólica prévia. Entretanto, de modo prático, é bastante comum observar que indivíduos que acabam de ingressar em programas de treinamento físico são inseridos em propostas envolvendo o HIIT (WHYTE et al., 2010; SIAHKOUHIAN et al., 2013; PUGH et al., 2017; VELLA et al., 2017).

Mediante ao exposto, algumas dúvidas se estabelecem a partir do pressuposto que o HIIT pode promover o aumento do estresse, uma vez que o exercício de alta intensidade presente na fase “esforço” resulta em elevação da taxa metabólica durante e após o exercício, sendo prescrito em domínio de intensidade na qual não mais há estabilização das respostas fisiológicas (BILLAT et al., 2003; FAUDE et al., 2009;). Adicionalmente, pouco se é conhecido sobre os impactos a longo prazo desse método de treinamento sobre adaptações em diferentes tecidos, tais como o muscular, hepático e ósseo (DELWING-DE LIMA et al., 2017; BARTLETT et al., 2018; FREITAS et al., 2018). Ainda, seriam as adaptações (positivas e/ou negativas) dependentes da condição prévia do indivíduo frente ao ingresso no HIIT, especialmente em relação aos níveis de atividade física diária? Quais são os possíveis benefícios e riscos fisiológicos da aplicação de programas dessa natureza a indivíduos pouco ativos? Dificilmente essas questões poderão ser controladas ou propostas em programas de exercício baseados no HIIT para humanos, considerando a dificuldade de estabelecimento de um desenho experimental robusto e ainda os possíveis riscos de aplicação que programas dessa natureza poderão impactar a indivíduos em diferentes condições, como o sedentarismo. Além disso, os impactos crônicos (a longo prazo) de programas de treinamento para humanos são absolutamente carentes na literatura, já que necessitam de acompanhamento experimental por períodos prolongados. A grande maioria dos estudos sobre HIIT está limitada a desenhos experimentais analisando respostas de uma sessão de exercício (HIIE) ou, quando do estudo adaptativo, ocorrências após poucas sessões ou algumas semanas, sem relatos crônicos (anos de aplicação) sobre o organismo.

Diante das dificuldades experimentais supra apontadas em pesquisas com seres humanos, a utilização de modelo animal para estudos que visam essa finalidade tem sido bastante requisitada como uma saída para desvendar fenômenos fisiológicos e patológicos, sobretudo quando há a necessidade de análises invasivas e comportamentais que exigem rígido controle da amostra e do ambiente. Adicionalmente, em algumas semanas é possível observar ocorrências de várias fases da vida.

Com efeito, alguns animais, como ratos e camundongos, são bastante utilizados para investigações em fisiologia do exercício. No caso dos roedores, diversos motivos têm contribuído para a difusão de sua adoção em estudos dessa natureza, como a possibilidade de intervenções e análises invasivas, fácil manipulação, ótima resposta ao exercício (DAGGAN et al., 2000; CARVALHO et al., 2005;) e monitoramento constante de variáveis comportamentais (ingestão alimentar e atividade espontânea) (GOBATTO et al., 2001; DE ARAUJO et al., 2012).

Nessa perspectiva, recentemente nosso grupo de pesquisa desenvolveu um modelo capaz de proporcionar diferentes condições de espaço habitacional para roedores, estimulando o desenvolvimento de distintos níveis de atividade física diária. A construção de uma gaiola habitacional de amplo espaço e a adoção das gaiolas convencionais com espaço reduzido permitiu comparar a atividade espontânea de camundongos mantidos nessas diferentes condições (SCARIOT et al., 2016). De maneira bastante consistente, a adoção das habitações com diferentes dimensões possibilitou gerar grupos de animais mais ativos (alojados em gaiolas com amplo espaço habitacional) e, por outro lado, menos ativos, com perfil mais próximo do sedentarismo (àqueles mantidos em gaiolas convencionais), com as vantagens das medidas de atividade física espontânea (AFE) serem realizadas diariamente e com elevada frequência de captura de sinais, sem que o animal tenha conhecimento e, portanto, sem alteração comportamental e efeitos equivocados sobre a medida (SCARIOT et al., 2019).

Considerando os principais conceitos e critérios utilizados para classificar o estilo de vida sedentário ou ativo, é importante destacar que o gasto energético entre os mamíferos ocorre de diversas maneiras, tais como com atividades de manutenção e reparo celular, digestão, termorregulação e locomoção, dentre outros, sendo que essas ações podem variar bastante entre cada indivíduo ou espécie (GARLAND et al., 2011). A locomoção representa um componente primordial na vida da maioria das espécies, sendo importante em diversas ações diárias básicas (REZENDE et al., 2009). Em humanos, tais questões são bastante claras, de forma que as ferramentas que quantificam o gasto energético visando a obtenção de parâmetros que facilitem profissionais da saúde a trabalharem na prevenção e promoção da qualidade de vida são cada vez melhores. Nesse sentido, as práticas diárias e condições físicas que condizem com as características de um indivíduo sedentário ou um indivíduo ativo estão bem estabelecidas. No entanto, no caso dos animais isso não fica tão evidente. As inúmeras ações não incluídas no treinamento físico que resultam em gasto energético na rotina de roedores, denominadas AFE (GARLAND et al., 2011), podem variar amplamente tanto em intensidade quanto em duração, tornando difícil contabilizar e estipular um limite de corte nos níveis de AFE que possibilitem enquadrar os animais em sedentários ou ativos. Entretanto, o modelo aqui

aplicado, adotando o aumento do espaço disponível aos animais, é capaz de implementar diferentes níveis de AFE, gerando animais mais ou menos ativos, de acordo com alterações significativas observadas em outras variáveis de condicionamento físico e composição corporal identificadas em conjunto com o nível de AFE (SCARIOT et al., 2016; SCARIOT et al 2019).

Destaca-se ainda que a aplicação de programas de treinamento físico em roedores deve respeitar os mesmos princípios do treinamento físico que baseiam os esforços com seres humanos. Nesse sentido, a avaliação individualizada para detecção das melhores intensidades para programar o HIIT deve ser efetuada. Um método avaliativo prático, mas muito robusto, é o modelo de potência crítica (PCrit), já validado para ratos Wistar submetidos à natação (DE ARAUJO et al., 2013) e exercício de corrida em esteira rolante (MANCHADO-GOBATTO et al., 2010, MANCHADO-GOBATTO et al., 2012), bem como camundongos corredores (BILLAT et al., 2007). Esse protocolo de avaliação permite estimar, por ajuste matemático embasado na relação entre intensidade de exercício e tempos de exaustão, a capacidade aeróbia (velocidade crítica) e anaeróbia (capacidade de corrida anaeróbia). Entre os dois tipos de exercício, a natação e a corrida, esse último tem sido muito empregado em experimentos com animais, considerando o número de pesquisas usando esse recurso em relação a qualquer outro modelo (DAGGAN et al., 2000; BENNELL et al., 2002; CARVALHO et al., 2005), além do gesto motor da corrida se assemelhar ao perfil da locomoção dos roedores (i.e., gesto primordial adotado pelos roedores nas atividades da vida diária). No caso dos camundongos C57 inclusive, não há a necessidade de seleção de corredores, já que todos apresentam excelente resposta frente ao estímulo da corrida. Em vista disso, o controle preciso da intensidade do esforço (especialmente pela variável intensidade), a característica do gesto motor adotado para o exercício e as respostas adaptativas advindas do treinamento de corrida fortificam a adoção desse estímulo em investigação com roedores, além da corrida ser também o esforço talvez mais adotado por humanos.

A partir desse contexto, a possibilidade de avaliar os efeitos do HIIT ao longo de 13 semanas sobre as capacidades aeróbia e anaeróbia por meio de um teste físico análogo ao protocolo de PCrit, como a velocidade crítica (VC), se fortalece, viabilizando encontrar respostas crônicas desse método de treino em camundongos advindos de diferentes condições habitacionais. Adicionalmente, para testar, de maneira inédita, o efeito do espaço habitacional sobre a AFE em diferentes momentos da vida e ainda confirmar o “ponto de partida fisiológico” antes do início do programa de treinamento com base no HIIT, os camundongos serão alojados em diferentes espaços desde os vinte e nove dias de idade até o início da fase adulta. Pensando ainda em uma avaliação das adaptações diárias, será realizado registros da AFE durante todo o processo.

Tendo por base os referenciais teóricos supramencionados e as lacunas observadas na literatura, o presente projeto pretende responder às seguintes questões: A exposição a diferentes espaços habitacionais promove distintas adaptações e níveis de estresse em resposta ao HIIT? Um espaço favorável ao sedentarismo potencializa o estresse dos animais em resposta ao HIIT se comparado à manutenção dos roedores em espaço que favorece o aumento da atividade física espontânea? As capacidades aeróbia e anaeróbia analisadas em corrida sofrem adaptações de maneira diferente se comparados animais mais ou menos ativos submetidos ao HIIT? As respostas relacionadas à composição corporal e impactos osteomusculares, sofrem influência da condição prévia de organismos submetidos cronicamente ao HIIT?

Para responder tais questões, considerando a ferramenta potencialmente capaz de gerar animais mais ativos versus menos ativos, bem como a possibilidade de estudar os efeitos crônicos do HIIT prescrito em intensidades individualizadas sobre diferentes variáveis (capacidades aeróbia e anaeróbia, composição corporal, adaptações séricas, musculares e ósseas), o presente estudo foi estruturado. A originalidade da proposta pode ser visualizada em diferentes aspectos, dentre os quais destacam-se: i) o estudo sobre os efeitos da disposição de maior ou menor espaço aos camundongos desde a fase de crescimento dos animais; ii) a proposta do HIIT em intensidades baseada na avaliação individualizada de VC para roedores; iii) o estudo das adaptações a longo prazo geradas pelo HIIT aplicado a animais mantidos em gaiolas com reduzido ou amplo espaço habitacional sobre diferentes aspectos comumente relacionados à qualidade de vida, como a composição corporal, ingestão alimentar, biomarcadores de estresse, estoques energéticos musculares e hepáticos, bem como parâmetros biofísicos e biomecânicos do tecido ósseo.

Destaca-se que a seleção das variáveis dependentes a serem analisadas no presente estudo foi pautada na significância dessas para a qualidade de vida, as quais justificam análises mais aprofundadas quando da aplicação de treinamento intervalado de elevada intensidade. Além disso, há importante carência de estudos que investigam as adaptações a longo prazo propiciadas pelo HIIT sobre tais variáveis dependentes, tanto investigando modelo animal como humano, o que, em partes, pode ser explicado pela necessidade de adoção de métodos invasivos e/ou por dificuldade de acompanhamento experimental por longos períodos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Investigar os efeitos do treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) a longo prazo, sobre adaptações aeróbias e anaeróbias, nível de atividade física espontânea, biomarcadores de estresse, composição corporal, disponibilidade de estoques energéticos e adaptações do tecido ósseo de camundongos ativos ou sedentários, de acordo com o espaço habitacional no qual são mantidos.

2.2. Objetivos específicos

i) Investigar os efeitos do HIIT e espaço habitacional sobre as capacidades aeróbia (VC) e anaeróbia individual (CCA) de camundongos, sendo essas avaliadas antes, durante e após 13 semanas do programa de treinamento;

ii) Avaliar os efeitos do HIIT aplicado a animais mantidos em espaço habitacional padrão ou amplo sobre a massa corporal mensurada a cada dois dias e nível de atividade física espontânea, ingestão alimentar e hídrica mensurados diariamente;

iii) Verificar os impactos do HIIT aplicado a animais mantidos em espaço habitacional padrão ou amplo sobre os biomarcadores de estresse, como a corticosterona e massa da glândula adrenal;

iv) Investigar os efeitos do HIIT aplicado a animais mantidos em espaço padrão ou amplo sobre os estoques de glicogênio muscular, hepático, cardíaco, bem como composição corporal (gorduras viscerais e da carcaça, teor de água e massa magra) desses roedores;

v) Estudar os efeitos do HIIT e espaço habitacional sobre as adaptações de tecido ósseo, sendo analisados os parâmetros biomecânicos e biofísicos do fêmur.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados 60 camundongos C57BL/6J, todos provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). O experimento foi conduzido no Biotério de Ciências do Esporte da Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA-UNICAMP), Campus de Limeira – SP. Durante todo o experimento, os camundongos foram mantidos em ambiente climatizado a $22 \pm 1^\circ$ C de temperatura, umidade relativa do ar entre 45 e 55% e ruídos não ultrapassando 85 decibéis e foto período com um ciclo claro/escuro de 12h (iluminação das 6:00am até 6:00pm). Todos os animais foram alimentados com ração comercial (Nuvilab®, CR1, Nuvital), sendo diariamente mensurada a ingestão alimentar e hídrica. O experimento foi realizado de acordo com a legislação Brasileira corrente e as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal foram rigorosamente seguidas, sendo iniciado apenas após a aprovação do protocolo por parte da Comissão de Ética para Uso de Animais – CEUA – Unicamp (Protocolo: 4953-1/2018). O certificado de aprovação emitido pela CEUA - UNICAMP está apresentado no ANEXO 1.

3.2. Desenho experimental

Com o intuito de verificar as relações e interações destacadas nos objetivos do projeto, o desenho experimental considerou 6 grupos, divididos de forma randomizada. O método estatístico $n = 1 + [2C \times (s/d)^2]$ de poder amostral indicou a necessidade de 10 animais por grupo, já prevendo a possibilidade de ocorrer desistência dos camundongos frente ao programa de treinamento físico (embora não seja comum observarmos esse comportamento quando da utilização dessa linhagem submetida à avaliação física ou treinamento). Esse número foi calculado baseando-se em um intervalo de confiança de 95%, nível de significância 0,05, diferença esperada entre os grupos de 15% e desvio padrão aceitável de 11%.

Aos 29 dias de idade, os animais foram aleatoriamente divididos em 2 tipos de alojamentos: grupo padrão (GP) e grupo amplo (GA), sendo subdivididos novamente em outros 2 grupos dentro de cada alojamento: Controle (C) e treinado (T). Adicionalmente, foram previstos dois grupos considerados “linha de base”, sendo eles *baseline* grupo padrão (BL-GP) e *baseline* grupo amplo (BL-GA). Com isso, os grupos foram caracterizados da seguinte maneira:

- Grupo Baseline/Padrão (BL-EP, n=10): Animais confinados no espaço padrão desde sua chegada ao biotério local (aos 29 dias de idade), sendo eutanasiados antes do início do programa de treinamento (aos 61 dias de idade);
- Grupo Baseline/Amplo (BL-EA, n=10): Camundongos alojados no espaço amplo desde sua chegada ao biotério local (aos 29 dias), sendo eutanasiados antes do início do programa de treinamento (aos 61 dias de idade);
- Grupo padrão/Controle (EP-C, n=10): Animais alojados em espaço habitacional padrão e não submetidos ao treinamento físico intervalado de alta intensidade;
- Grupo padrão/Treinado (EP-T, n=10): Camundongos mantidos em espaço habitacional padrão, submetidos ao treinamento físico intervalado de alta intensidade (HIIT);
- Grupo amplo/Controle (EA-C, n=10): Animais alojados em amplo espaço habitacional, mas mantidos na condição controle (sem treinamento físico intervalado de alta intensidade);
- Grupo amplo/Treinado (EA-T, n=10): Camundongos mantidos em amplo espaço habitacional, submetidos ao treinamento físico intervalado de alta intensidade (HIIT).

Os camundongos foram mantidos sob as intervenções experimentais durante 13 semanas. A ingestão alimentar e hídrica, bem como o comportamento da AFE foram quantificadas diariamente durante todo o experimento. Antes, no meio e ao término do período experimental, as capacidades aeróbia e anaeróbia de todos os animais foram obtidas pelo protocolo de velocidade crítica. Após as onze semanas de aplicação do HIIT, os animais de cada grupo foram eutanasiados para a extração de sangue para a análises de marcadores de estresse, bem como extração da glândula adrenal para análise de colesterol. Porções de músculos sóleo, gastrocnêmio, fígado e coração foram coletados para análise dos estoques de glicogênio. As carcaças dos animais foram processadas para caracterização da composição corporal. Adicionalmente, o fêmur foi separado e utilizado para análise da densidade e estresse ósseo. O planejamento experimental pode ser visualizado na **Figura 1**.

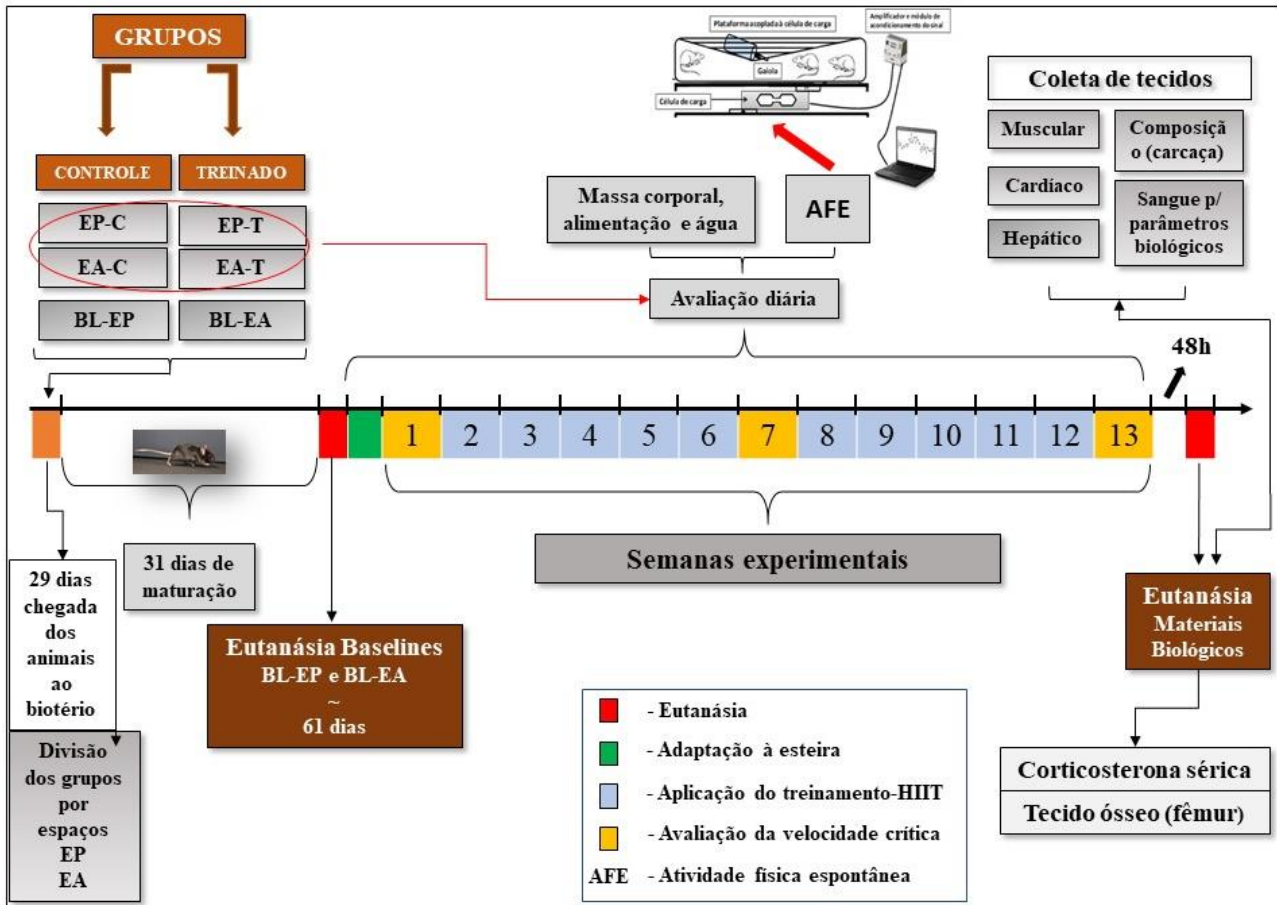


Figura 1. Imagem ilustrativa do desenho experimental da pesquisa de acordo com os dias de avaliação. Grupo espaço padrão controle (EP-C), grupo espaço padrão treinado (EP-T), grupo espaço amplo controle (EA-C), grupo espaço amplo treinado (EA-T), baseline grupo padrão (BL-EP), baseline grupo amplo (BL-EA), atividade física espontânea (AFE) e *High Intensity Interval Training* (HIIT).

3.2.1. Condições de alojamento

O espaço habitacional aqui denominado padrão consistiu de caixas de polietileno nas seguintes magnitudes: 40 x 33 x 16cm (comprimento, largura e altura, respectivamente). Nesse alojamento, dez animais foram alojados em uma área de solo correspondente a 1.320 cm² que garantiu um espaço de 132 cm² per animal. Por outro lado, no espaço habitacional considerado amplo, os camundongos foram alojados em uma gaiola na grandeza de 80 x 60 x 33,3cm (comprimento, largura e altura, respectivamente) sendo mantidos também 10 animais em uma área de solo correspondente a 4.800 cm², conferindo um espaço de 480 cm² per animal.

3.2.2. Programa de treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT)

Inicialmente, os roedores foram adaptados progressivamente à manipulação e a corrida em esteira rolante por três dias consecutivos. Nesta adaptação os camundongos correram em intensidade entre 8-17 m.min⁻¹, com um período variando entre 10-15 minutos, com o intuito de reduzir o estresse induzido pelo ergômetro sem promover alterações fisiológicas em relação ao treinamento físico, (CONTARTEZE et al., 2007). Posteriormente, os camundongos dos grupos treinados foram submetidos a dez semanas de um programa de treinamento intervalado de alta intensidade (*high intensity interval training* – HIIT), que foi realizado nesse mesmo ergômetro. As sessões de treinamento foram iniciadas com aquecimento de 5 minutos em intensidade de 8 m.min⁻¹. A parte principal foi composta por quatro séries, sendo cada uma composta por três esforços de 30 segundos em intensidade equivalente a 130% da VC individual, entremeadas por recuperação ativa de 30 segundos a 50% da VC. Ao final de cada série, houve um descanso (recuperação passiva) de 2 minutos. Findada a parte principal da sessão, foi conduzida a volta à calma, caracterizada por 5 minutos de caminhada a 8 m.min⁻¹. Desse modo, a sessão de exercício totalizou 30 minutos. A descrição ilustrativa das sessões de exercício está apresentada na **Figura 2**.

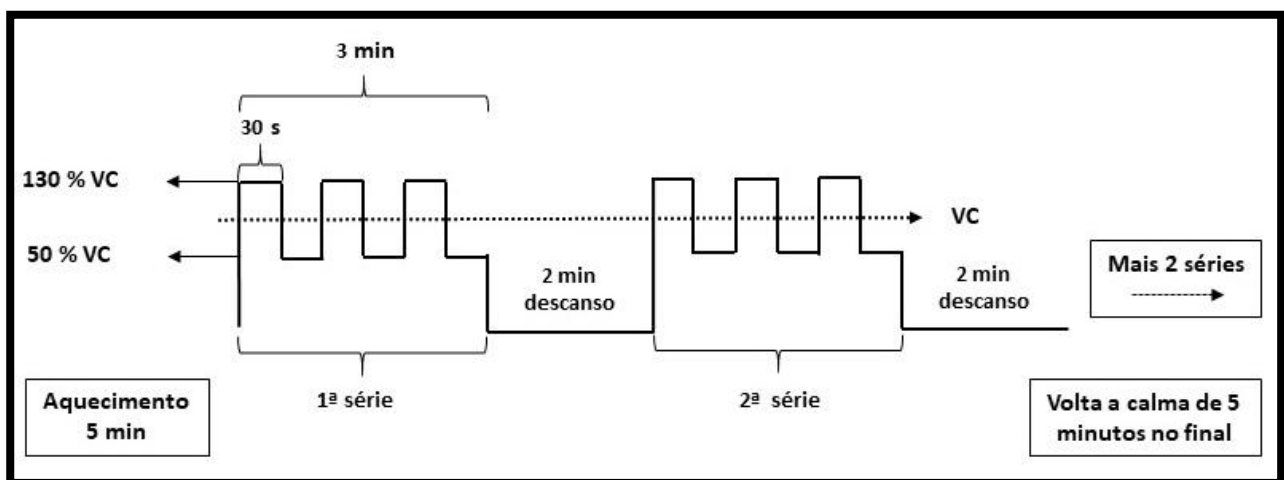


Figura 2. Imagem ilustrando o desenvolvimento de uma sessão do HIIT. Velocidade Crítica –(VC) representa a intensidade individualizada de exercício.

O protocolo foi realizado 5 vezes por semana durante o ciclo diurno (7:00 – 11:00), para analisar o efeito acumulativo da realização do HIIT na semana. Visando oferecer a mesma rotina para todos os animais presentes nesse estudo, mesmo os camundongos pertencentes ao grupo não treinado foram conduzidos ao local de treinamento, para induzi-los ao estresse do ambiente semelhante aquele que foram submetidos os animais do grupo treinado.

3.2.2.1. Avaliação da velocidade crítica e capacidade de corrida anaeróbia

A avaliação das capacidades aeróbia e anaeróbia foi realizada pelo protocolo de velocidade crítica (MANCHADO-GOBATTO et al., 2010; SCARIOT et al., 2019), a partir da aplicação de quatro esforços aleatórios e individualizados de corrida em esteira rolante (intensidades variando entre 18 à 27 m/min), com 24 horas de intervalo entre eles e registro do tempo limite (t_{lim}) de cada esforço sendo mensurado em segundos. Os critérios de exaustão adotados foram: tempo de exaustão entre 1 e 15 minutos e não manutenção da corrida pelos animais, permitindo afastarem a linha limite estabelecida na esteira até cinco vezes.

A partir do ajuste linear entre distância vs. t_{lim} foi possível determinar o coeficiente angular e o intercepto y, os quais correspondem, respectivamente, à VC (capacidade aeróbia) e a capacidade de corrida anaeróbia (CCA) (BILLAT et al., 2005). O protocolo foi aplicado na semana anterior ao início do HIIT e reaplicado após 5 semanas, bem como no final do período de treinamento, na 13ª semana do experimento.

3.2.3. Avaliações diárias e semanais ao longo do programa de treinamento

Com o intuito de efetuar avaliações formativas (i.e., mensurações para investigação dos efeitos observados ao longo do experimento), foram realizadas mensurações diárias, como controle da ingestão hídrica e ingestão alimentar e a cada dois dias, tais como controle da massa corporal e registros da atividade física espontânea.

3.2.3.1. Avaliação da atividade física espontânea

A atividade física espontânea (AFE) foi registrada pelo princípio gravimétrico (BIESIADECKI et al., 1999), conforme ilustrado na **Figura 3**. Nosso sistema permite a quantificação da AFE sem que o animal tenha que ser transferido de seu ambiente habitual, além de efetuar esse registro durante todo o dia e por longos períodos. Para medir a AFE dos animais alojados em gaiolas convencionais, três células de carga (MKPW-2kgf®, MK Control and Instrumentation™) foram acopladas, em distribuição triangular, entre duas plataformas de ferro (45X34 centímetros). A AFE gerada pelos animais dentro das caixas foi quantificada por meio das micro deformações na plataforma metálica, as quais foram, portanto, percebidas pelas células de carga (sensores de deformação, *strain gauges*). Os sinais foram amplificados (MKTC5-10®, controle e instrumentação MK™) e processados em um módulo de condicionamento de sinal (USB-6008 ® National Instruments™).

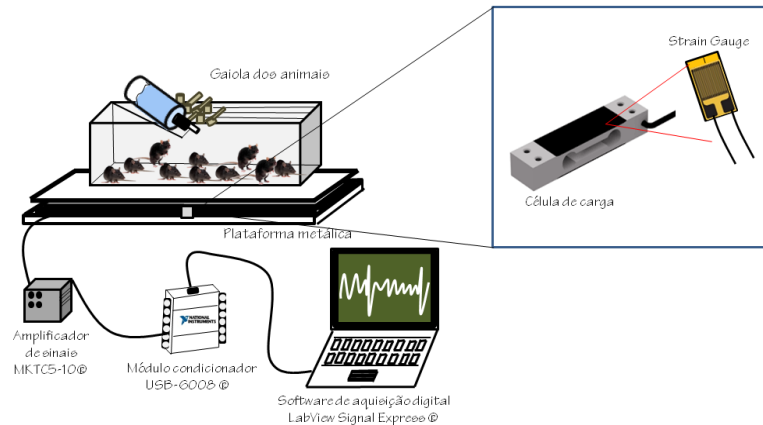


Figura 3. Mensuração da AFE de animais alojados em gaiolas convencionais. Adaptado de SCORIOT et al., (2016).

A AFE dos animais alojados em amplo espaço foi a resultante dos sinais obtidos por três células de carga (MKPW-2kgf®, MK Control and Instrumentation™) as quais foram acopladas na parte inferior da plataforma metálica na qual os camundongos foram alojados. Para atingir um perfeito equilíbrio do sistema, as células de carga foram posicionadas em uma distribuição triangular conforme exemplificado na **Figura 4**. As células de carga foram fixadas em uma estrutura rígida que sustenta toda a gaiola. A plataforma metálica foi apoiada somente sobre as células de carga, sem mais nenhum outro ponto de contato com o restante da gaiola. No espaço habitacional amplo (EA), os sinais foram capturados e modulados unicamente pelo bloco National-Instruments-SC-2345-SCC-Signal-Conditioning.

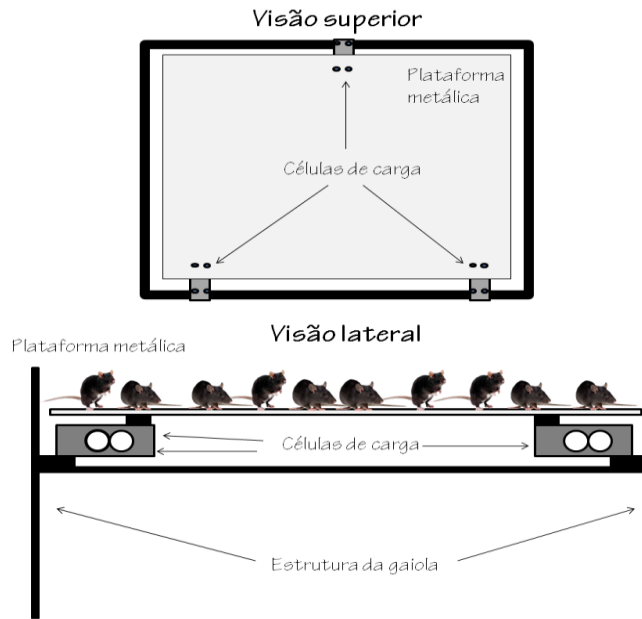


Figura 4. Mensuração da AFE de animais alojados no espaço habitacional amplo (EA). Desenho esquemático do posicionamento das células de carga na plataforma metálica em visão superior e lateral.

Em todas as situações, os sinais foram capturados a uma frequência de 200 Hz e transmitidos a um software de aquisição digital (LabView Signal Express ®, National Instruments™). Todos os registros foram realizados diariamente nos 4 grupos experimentais. As gravações foram executadas com animais alojados coletivamente (10 camundongos de cada grupo). Nossa escolha por preservar a habitação social e não fornecer uma gaiola para cada animal foi baseada no fato de que o isolamento social pode ser prejudicial ao animal, mesmo para camundongos (RIITTINEN et al., 1986; VALZELLI, 1973). O sistema gravimétrico foi calibrado por meio de massas conhecidas. Equações de regressão foram, então, obtidas permitindo conversões de sinais de mv para unidades de quilogramas (kg).

Os sinais adquiridos no experimento foram tratados utilizando o software MatLab ®. A AFE foi calculada de acordo com o método matemático anteriormente proposto (BIESIADECKI et al., 1999). Os valores das diferenças entre as amostras consecutivas (AC) foram elevados ao quadrado, e foi efetuada a raiz quadrada e posteriormente a soma dos valores obtidos a cada hora. Após isso, os valores de AFE foram ajustados pela massa corporal (gramas) dos animais ($\text{kg} \cdot \text{g}^{-1}$). A equação para obtenção da AFE é definida como:

$$AFE = \sum_{i=1}^n \sqrt{(AC_{i+1} - AC_i)^2}$$

3.3. Eutanásia

Após 29 dias de sua chegada ao laboratório (Grupos baseline) ou após 48 horas da última sessão de exercício (Grupos experimentais), os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical seguido de decapitação, sem utilização de anestesia nesse procedimento.

Logo após o sacrifício foram coletados cirurgicamente os materiais biológicos sangue (para obtenção do soro), músculo esquelético (sóleo e gastrocnêmio), glândulas adrenais, tecido adiposo e fígado, além da carcaça e fêmur. Amostras dos músculos esqueléticos, cardíaco e hepático foram rapidamente depositadas em nitrogênio líquido para evitar a degradação tecidual, sendo posteriormente armazenadas a uma temperatura de -80°C . As amostras sanguíneas foram centrifugadas e armazenadas em alíquotas de soro a uma temperatura de -80°C .

3.4. Análises processadas após a eutanásia

3.4.1. Composição corporal

Os depósitos de gordura visceral, incluindo a gordura epididimal e a retroperitoneal, foram removidos e sua massa mensurada. A fim de medir o teor de água (H_2O), as carcaças retiradas foram desidratadas em um forno a 100°C e posteriormente trituradas com um solvente orgânico sofrendo várias lavagens para remoção de gordura. As carcaças livres de gordura foram novamente desidratadas em estufa a 100°C para obtenção da massa corporal magra. Portanto, o teor de água (H_2O), a massa de gordura na carcaça (MG) e a massa magra da carcaça (MM) foram calculados pela diferença de massa e expressos em relação à carcaça eviscerada do animal. Com relação às glândulas adrenais, essas inicialmente foram alocadas sobre um papel de filtro umedecido em solução salina. Após estarem limpas, sua massa foi mensurada em balança analítica da marca SHIMADZU e modelo AY220.

3.4.2. Análises bioquímicas

O conteúdo de glicogênio hepático e muscular (sóleo e gastrocnêmico: porção medial e lateral) foi determinado por método colorimétrico usando fenol e ácido sulfúrico, sendo os tecidos digeridos em hidróxido de potássio (KOH) [30%] em banho quente. Foi adicionado sulfato de sódio (Na_2SO_4) para a precipitação do glicogênio. Após lavagens com etanol [70%] o precipitado foi diluído em água destilada. A concentração de glicogênio foi determinada por método colorimétrico usando 10 μl de fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) e 2 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) (DUBOIS et al., 1956). O produto colorido da reação foi lido em leitora de microplaca, a uma absorbância de 490 nanômetro (nm). A corticosterona

sérica foi determinada por meio do método eletroquímico ELISA *Enzyme-Linked ImmunonoSorbent Assay*. Esse é baseado em reações antígeno-anticorpo detectáveis por meio de reações enzimáticas.

3.4.3. Análises em tecido ósseo

O fêmur dos camundongos foi retirado e armazenado em frasco de vidro contendo NaCl a 0,9%. Na sequência eles foram congelados a -20 ° C, onde foram mantidos até o processamento das análises.

3.4.3.1. Parâmetros biométricos

Paquímetro com precisão de 0,05mm foi utilizado para mensurar os parâmetros biométricos do fêmur direito. Para medida do comprimento do fêmur foi utilizada como referência o côndilo distal e saliência óssea mais proximal do trocânter maior, enquanto para a medida das espessuras das diáfises femorais tomou-se como base a medida do terceiro trocânter, sendo o diâmetro menor a ser realizado na posição anteroposterior e a maior na látero-lateral.

3.4.3.2. Parâmetros biomecânicos

As propriedades mecânicas do fêmur direito foram mensuradas por meio do teste de flexão a três pontos, conduzido em máquina universal (Instron 4444) com célula de carga de capacidade de 100KN. O fêmur permaneceu apoiado em suas regiões metafisárias em dois roletes de 3mm de diâmetro, com distância ajustada em relação ao tamanho do osso, sendo a carga aplicada na região central do osso (AKHTER et al., 2004).

O teste foi iniciado com uma carga de 10N aplicada por meio de uma haste com extremidade de 3mm, perpendicular ao eixo longitudinal e no sentido pósterio-anterior, sob finalidade de melhor estabilização do fêmur direito. Foi necessário o tempo de um minuto para estabilização e acomodação, seguido rigorosamente, sendo então aplicada força com velocidade constante de 0,5 cm/min até que ocorra a fratura. O equipamento registra dados referentes à força aplicada e deformação do osso, e por meio do software Instron Series IX, se determina a maior força suportada pelo osso (Força Máxima), força obtida no momento da fratura (Força de ruptura), capacidade do osso em sofrer carga sem deformação permanente (Rigidez), capacidade do osso em resistir aos choques (Resiliência) e energia absorvida até o ponto de ruptura (tenacidade), conforme a **Figura 5**.

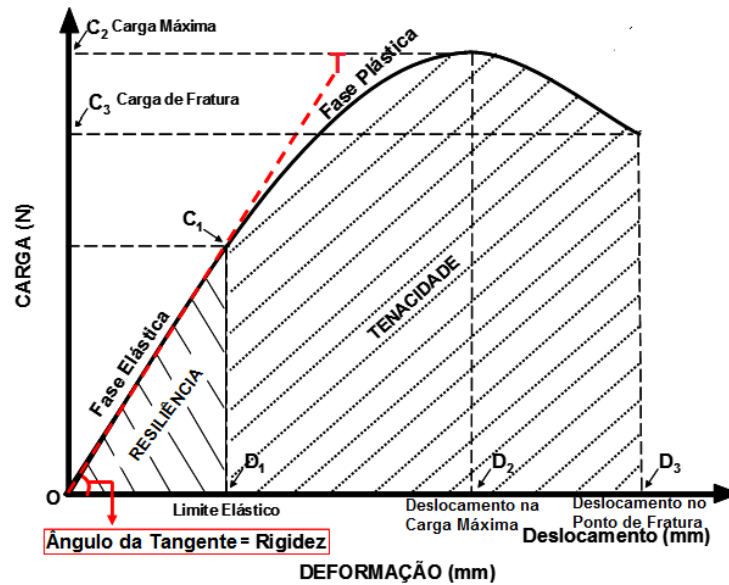


Figura 5. Gráfico Carga x Deformação utilizado para determinação das propriedades biomecânicas (Pastor, 2009): C1: Carga no Limite Elástico; D1: Deformação (deslocamento) no Limite Elástico; C2: Carga Máxima; D2: Deformação (deslocamento) na Carga Máxima; C3: Carga de Fratura; D3: Deformação (deslocamento) na Carga de Fratura (máxima); O/C1/D1: a área desta região corresponde a Resiliência (a energia absorvida na fase elástica); O/C3/D3: a área desta região corresponde à tenacidade (energia absorvida até o ponto de ruptura); T: tangente da região O/C1 da curva, sendo o ângulo desta correspondente a rigidez.

3.4.3.3. Parâmetros biofísicos

Previamente ao ensaio biomecânico, as massas úmida e imersa foram mensuradas, sendo esses valores necessários para a determinação dos parâmetros biofísicos. Para esse procedimento, o osso foi exposto por um período de 24 horas em um dissecador, visando remoção completa do ar presente nas suas trabéculas. Na sequência, o material biológico foi submetido aos testes biomecânicos e após esses procedimentos, foi possível conduzir os demais testes para a obtenção das medidas que compuseram os parâmetros biofísicos. Neste momento, o fêmur foi exposto a 100°C por um período de 24 horas, com a finalidade de sofrer completa desidratação e então oferecer seu peso seco. Finalmente, o osso foi mantido por mais 24 horas a 800°C, para obtenção do peso das cinzas. Com todos esses parâmetros, foi possível determinar o volume ósseo, densidade óssea, densidade mineral, percentual ósseo de água, percentual de material orgânico e percentual de material mineral utilizando o princípio de Arquimedes, por meio das equações apresentadas por Martin (1990).

No momento da eutanásia, os ossos femorais foram dissecados e limpos de tecidos moles. Foram embalados em gaze sujada de solução salina e congelados a -20 ° C em frascos selados até as análises. As medidas de absorptiometria de raios-X de energia dupla (PIXImus 2, Lunar Corp, Madison, Wisconsin) foram usadas para determinar a densidade mineral óssea (DMO) e o conteúdo mineral ósseo (BMC) dentro de uma região predeterminada de interesse perto da área metafisária do

animal (PICARD et al., 2008; GUERTIN et al., 2011). A força de ruptura, estresse final, deformação e elasticidade foram medidos pelo teste de flexão de três pontos (HOSHI et al., 1998).

3.5. Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média e erro padrão da média. A normalidade e homogeneidade dos dados foi verificada pelos testes de Shapiro-wilk e Levene, respectivamente. A estatística paramétrica foi adotada por meio da análise de variância (ANOVA three-way), visando comparar os efeitos do treinamento físico, espaço habitacional e tempo, seguidas pelo teste *post-hoc* Newman-Keuls, na AFE, comportamento alimentar e hídrico e massa corporal. Outro ANOVA foi designado para analisar se o comportamento da AFE (flutuação ao longo do dia) poderia ser influenciado pelo treinamento e habitação. Por meio desse ANOVA também foi possível determinar os efeitos do treinamento, espaço habitacional e hora do dia. Os resultados de capacidade aeróbia e anaeróbia foram analisados pelo ANOVA two-way comparando os efeitos do treinamento e espaço habitacional dentro do mesmo período (pré-treinamento, 7^a semana e 13^a semana). Além disso, ANOVA para medidas repetidas foi empregada para determinar diferenças intragrupos ao longo do tempo dos dados de capacidade aeróbia e anaeróbia. As variáveis coletadas no final do experimento (composição corporal, estoques energéticos e biomarcadores de estresse) foram analisadas usando ANOVA two-way para comparar os efeitos do treinamento e espaço habitacional. A área sob a curva foi calculada para as variáveis coletadas ao longo do tempo tais como AFE e comportamento alimentar e hídrico. Em todos os casos o nível de significância foi fixado em 5%.

4. RESULTADOS

4.1. Atividade física espontânea

Tabela 1 e Figura 6 mostram a média semanal da AFE (no período claro e escuro) dos grupos EP-C, EP-T, EA-C e EA-T durante treze semanas. A AFE diária e a área sob a curva da AFE ao longo das treze semanas são apresentadas na **Figura 6**. Durante o período claro as comparações do *post-hoc* indicaram maior AFE para o grupo EA-C em relação aos grupos EP-C e EA-T na 1^a, 3^a, 4^a, 5^a, 7^a, 10^a, 12^a e 13^a semanas. O grupo EA-T apresentou maior AFE (período claro) comparado aos grupos EP-C e EP-T na 2^a, 3^a e 4^a semanas. Não houve diferença entre os grupos EP-C e EP-T no período claro ao longo das treze semanas. Com relação aos resultados do período escuro, *post-hoc* detectou maior AFE para o grupo EA-C comparado aos grupos EP-C e EP-T em todas as treze semanas. EA-T exibiu maior AFE em período escuro que o grupo EP-C na 1^a, 2^a, 3^a, 4^a, 7^a, e 13^a

semanas. Não houve diferença na AFE entre os grupos EP-C e EP-T durante todas as semanas experimentais no período escuro.

De acordo com os resultados do ANOVA (three-way), foi detectado efeito significativo do treinamento na AFE no período claro ($F_{1,270} = 6,9$; $P = 0,009$; $T > C$), mostrando que os grupos treinados (EP-T e EA-T) exibiram menor AFE que os grupos controle (EP-C e EA-C). Além disso, foi encontrado efeito significativo do espaço habitacional ($F_{1,270} = 386,0$; $P < 0,001$; $LC > SC$) na AFE em período claro. Ainda, houve um efeito do tempo experimental na AFE em período claro ($F_{1,270} = 4,4$; $P < 0,001$), demonstrando que a AFE diminuiu ao longo de treze semanas. Significante interação entre os efeitos do treinamento e espaço habitacional ($F_{1,270} = 8,6$; $P = 0,003$) foram encontradas para a AFE em período claro, bem como interação entre treinamento e tempo experimental ($F_{12,270} = 2,5$; $P = 0,003$). Não houve interação entre espaço habitacional e tempo experimental ($F_{12,270} = 1,5$; $P = 0,120$) para AFE no período claro. A respeito da AFE no período escuro, foi detectado efeito do treinamento ($F_{1,270} = 155,9$; $P < 0,001$, $T < C$) e espaço habitacional ($F_{1,270} = 1039,9$; $P < 0,001$; $LC > SC$), com AFE aumentada para os grupos EA. Também, o ANOVA detectou efeito do tempo experimental na AFE em período escuro ($F_{12,270} = 10,2$; $P < 0,001$), mostrando que AFE aumentou ao longo de treze semanas. Ainda foi identificado significativa interação entre treinamento e espaço habitacional na AFE no período escuro ($F_{1,270} = 8,6$; $P = 0,003$). De maneira similar, houve interação entre treinamento e tempo experimental ($F_{12,270} = 5,3$; $P < 0,001$) bem como entre espaço habitacional e tempo experimental ($F_{12,270} = 2,2$; $P = 0,011$).

A respeito dos registros de AFE nas horas ao longo do dia (período claro e escuro) para os quatro grupos experimentais (**Figura 7**), o grupo EA-C exibiu maior AFE que os grupos EP-C e EP-T em todas as horas do dia. No período escuro o grupo EA-C mostrou maior AFE que os outros três grupos. Ainda no período escuro, o grupo EA-T apresentou AFE mais alta que os grupos EP-C e EP-T em todas as horas. O grupo EP-T apresentou maior AFE comparado ao grupo EP-C apenas em três horários, 19:00h e 20:00h. Além disso, ANOVA identificou efeito do treinamento ($F_{1,5760} = 457,4$; $P < 0,001$), indicando menor AFE para os grupos treinados em relação aos controles. Foi observado também efeito do espaço habitacional ($F_{1,5760} = 3707,0$; $P < 0,001$), com maior AFE para os animais que habitaram em LC, e efeito da hora do dia ($F_{17,5760} = 1621,2$; $P < 0,001$). Adicionalmente, ocorreu interação entre os efeitos do treinamento e espaço habitacional ($F_{1,5760} = 537,6$; $P < 0,001$). Ainda, pode ser visto um padrão de variação na AFE, que permanece baixa durante o período claro, mas aumenta bruscamente no período escuro.

Tabela 1. AFE registrada ao longo de treze semanas em período claro e escuro para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA) habitando em densidade de dez animais por gaiola.

Semanas	Período claro				Período escuro			
	Espaço padrão		Espaço amplo		Espaço padrão		Espaço amplo	
	C	T	C	T	C	T	C	T
1 ^a	108,3 ± 6,8	104,0 ± 5,7	164,4 ± 8,6 ^{ab}	150,7 ± 6,2 ^b	345,7 ± 3,4	375,5 ± 12,3	538,1 ± 19,7 ^{ab}	522,3 ± 23,7 ^{ab}
2 ^a	96,8 ± 4,4	112,8 ± 5,4	144,4 ± 13,3 ^a	172,9 ± 12,8 ^{ab}	332,2 ± 6,8	346,0 ± 8,6	564,9 ± 25,8 ^{ab}	469,3 ± 10,3 ^{abc}
3 ^a	100,3 ± 4,9	100,2 ± 2,7	158,9 ± 5,8 ^{ab}	169,6 ± 11,5 ^{ab}	305,5 ± 10,8	339,8 ± 12,2	524,2 ± 21,6 ^{ab}	406,2 ± 9,9 ^{ac}
4 ^a	107,1 ± 5,4	99,6 ± 6,9	159,8 ± 5,0 ^{ab}	155,6 ± 7,4 ^{ab}	311,8 ± 13,7	317,4 ± 10,9	535,8 ± 14,4 ^{ab}	447,4 ± 26,9 ^{abc}
5 ^a	115,6 ± 6,4	96,5 ± 7,3	191,3 ± 22,5 ^{ab}	148,8 ± 7,4 ^b	318,3 ± 8,1	315,8 ± 14,2	525,3 ± 21,6 ^{ab}	394,6 ± 18,6 ^{bc}
6 ^a	99,4 ± 6,5	113,7 ± 7,4	140,7 ± 7,5	133,8 ± 7,6	324,7 ± 7,0	297,3 ± 7,3	527,5 ± 18,6 ^{ab}	380,7 ± 23,1 ^{bc}
7 ^a	96,2 ± 4,3	129,0 ± 15,0	167,0 ± 11,7 ^{ab}	136,7 ± 5,3	292,4 ± 9,8	326,9 ± 17,0	455,9 ± 30,1 ^{ab}	400,2 ± 18,9 ^{ab}
8 ^a	115,1 ± 10,4	116,8 ± 10,9	154,9 ± 5,7 ^b	143,3 ± 20,5	349,3 ± 14,5	312,6 ± 12,1	528,5 ± 9,7 ^{ab}	348,3 ± 22,4 ^c
9 ^a	94,2 ± 2,4	117,7 ± 14,2	139,3 ± 5,9	155,4 ± 17,6 ^a	298,5 ± 10,1	292,3 ± 8,4	501,9 ± 6,4 ^{ab}	342,3 ± 19,8 ^c
10 ^a	86,5 ± 3,3	88,1 ± 1,7	146,4 ± 8,4 ^{ab}	116,9 ± 9,2	309,1 ± 16,6	308,8 ± 6,5	518,2 ± 11,4 ^{ab}	342,7 ± 8,4 ^c
11 ^a	102,3 ± 6,4	83,8 ± 2,2	140,3 ± 7,1 ^b	117,9 ± 6,0	303,2 ± 13,0	295,7 ± 7,3	483,8 ± 13,9 ^{ab}	361,1 ± 12,2 ^c
12 ^a	98,7 ± 5,6	92,6 ± 7,2	161,8 ± 6,7 ^{ab}	128,7 ± 12,3	308,2 ± 7,8	300,1 ± 11,2	474,4 ± 5,6 ^{ab}	377,8 ± 23,3 ^c
13 ^a	105,8 ± 5,5	104,9 ± 6,0	160,0 ± 5,1 ^{ab}	150,5 ± 5,5 ^b	302,5 ± 5,7	236,9 ± 7,5	483,4 ± 8,4 ^{ab}	426,4 ± 15,1 ^{ab}

Dados para AFE estão em média e erro padrão da média. Dados de AFE estão em unidades arbitrárias (UA). Análises estatística: Post hoc Newman Keus para medidas repetidas revelaram diferença entre os grupos dentro da mesma semana. Símbolos de diferença estatística: **a** diferente de EP-C, **b** diferente de EP-T, **c** diferente de EA-T (P > 0,05).

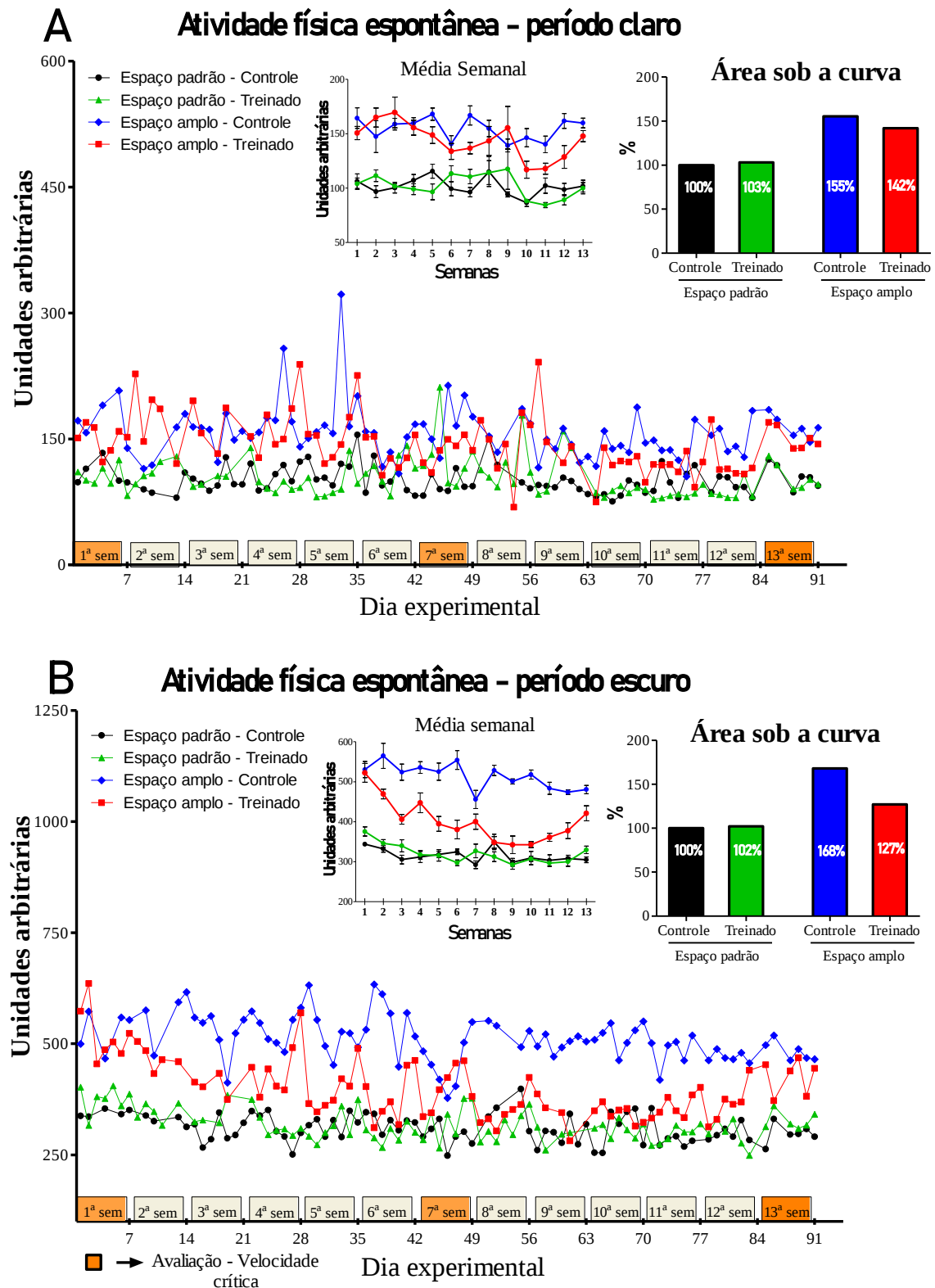


Fig. 6. Atividade física espontânea no período claro (painel A) e escuro (painel B) ao longo de 13 semanas de experimento para o grupo controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA). O gráfico acima representa a média semanal (13-semanas). O gráfico lateral representa a área sob a curva (em um período total de 13-semanas) onde o grupo EP-C foi definido como 100%.

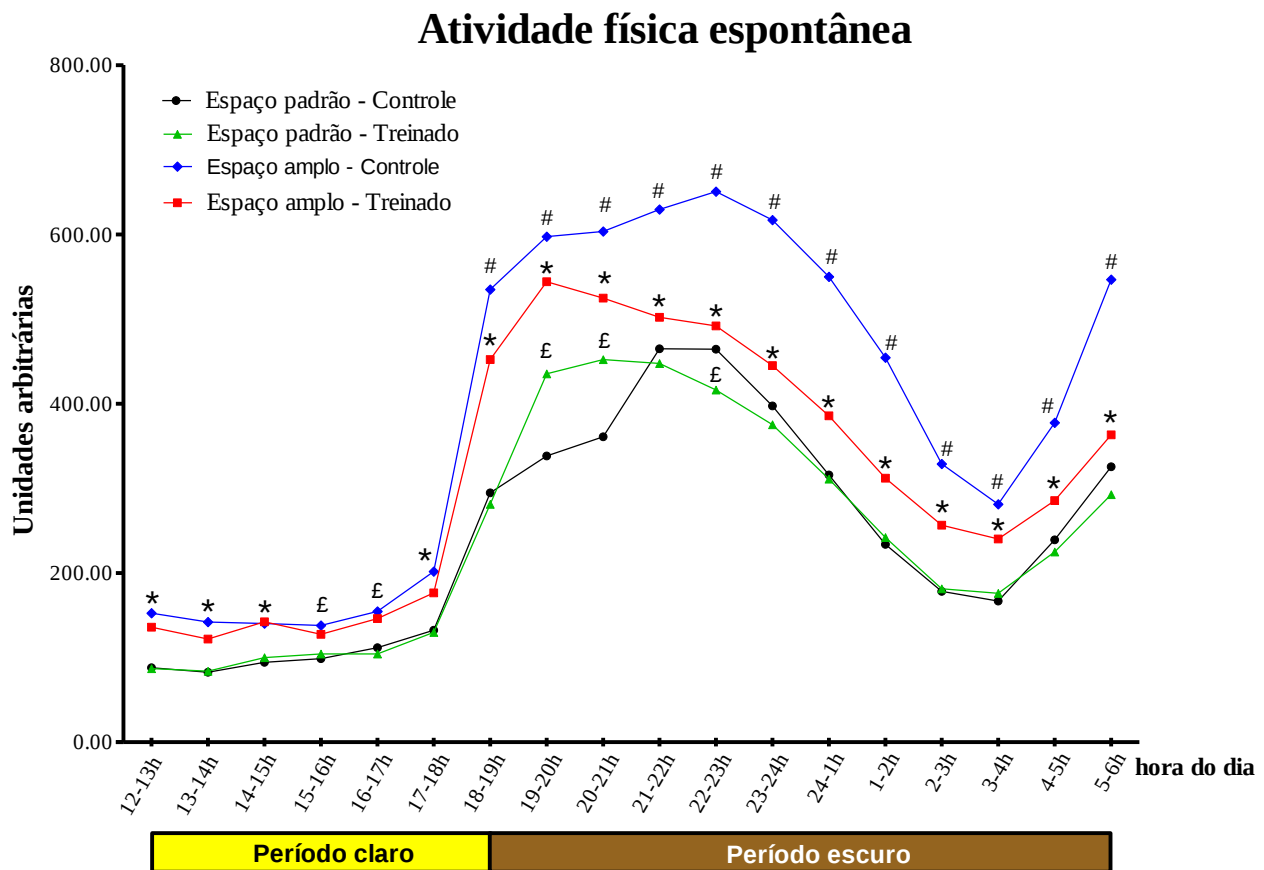


Fig. 7. AFE para cada hora a partir das 12:00 até 6:00 (6 horas de período claro e 12 h de escuro). Essa análise considerou dados de AFE obtidos ao longo de todo período de 13 semanas. Símbolos de diferença estatística: * diferente de EP-C e EP-T, # diferente de EP-C, EP-T e EA-T, £ diferente de EP-C. Tudo na mesma comparação de intervalo de hora. ($P > 0.05$).

4.1. Ingestão alimentar, hídrica e massa corporal

A ingestão alimentar e hídrica diária são mostradas na **Figura 8** (painel A e B, respectivamente), enquanto que as respectivas médias semanais podem ser visualizadas nas **Tabelas 2 e 3**. O post-hoc não apresentou diferença entre os grupos dentro de cada semana para a ingestão alimentar, mas o ANOVA revelou interessantes resultados para esta variável. Não houve efeito significativo do treinamento físico sobre a ingestão alimentar ($F_{1, 304} = 1,1$; $P > 0,05$). De maneira oposta, foi observado efeito significativo do espaço habitacional sobre a ingestão alimentar ($F_{1, 304} = 24,8$; $P < 0,01$), evidenciando que camundongos alojados em espaço amplo exibem maior consumo comparados aos camundongos alojados em espaço padrão. Ainda, houve efeito do tempo experimental ($F_{12, 304} = 10,4$; $P < 0,01$), demonstrando que a ingestão alimentar diminuiu ao longo das treze semanas. Foi encontrada significativa interação entre treinamento físico e o espaço habitacional ($F_{1, 304} = 8,9$; $P < 0,001$), indicando que os animais treinados mantidos em EA exibiram maior ingestão alimentar se comparados aos demais grupos. Adicionalmente, observou-se que os

camundongos alojados em espaço amplo (EA-C e EA-T) tiveram maior consumo alimentar comparados aos animais mantidos em espaço padrão (EP-C e EP-T), indicando que os grupos LC exibiram maior ingestão de comida considerando o tempo total de experimento. (Figura 8A, gráfico área sobre a curva).

Com relação à ingestão hídrica, houve efeito do treinamento ($F_{1,304} = 12,3$; $P < 0,01$; $T > C$), com os grupos treinados apresentando maior consumo comparado aos controles. É possível observar a partir da análise de variância que a ingestão hídrica foi maior nos grupos mantidos em EA quando comparado aos grupos mantidos em EP, o que corrobora com o significativo efeito do espaço habitacional ($F_{1,264} = 9,5$; $P < 0,01$; $LC > SC$). Também, houve efeito significativo do tempo experimental ($F_{12,304} = 10,4$; $P < 0,01$), demonstrando que a ingestão de água diminuiu ao longo de treze semanas. Ainda, foi observado significativa interação estatística entre o treinamento físico e o espaço habitacional ($F_{1,264} = 31,4$; $P < 0,01$). No entanto, não houve interação entre o treinamento e o tempo experimental ($F_{12,304} = 1,6$; $P > 0,05$), e entre o espaço habitacional e tempo experimental ($F_{2,304} = 1,4$; $P > 0,05$). Em adição, com base no gráfico da área sobre a curva, é possível observar que, durante a totalidade do experimento, percentualmente os grupos treinados consumiram mais de água que os grupos controles (Figura 8B, gráfico área sobre a curva).

Tabela 2. Ingestão alimentar ($\text{g.g}(\text{mc})^{-1}$) ao longo de treze semanas de experimento para os grupos controle (C) e treinado (T), mantidos em gaiolas de espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA). A ingestão foi normalizada pela massa dos animais da gaiola.

Semanas	Espaço padrão		Espaço amplo	
	C	T	C	T
1 ^a	0,18 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,20 ± 0,02
2 ^a	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,18 ± 0,01	0,18 ± 0,02
3 ^a	0,16 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,19 ± 0,01	0,17 ± 0,01
4 ^a	0,17 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,00	0,19 ± 0,02
5 ^a	0,17 ± 0,00	0,17 ± 0,01	0,18 ± 0,00	0,17 ± 0,00
6 ^a	0,16 ± 0,00	0,16 ± 0,01	0,18 ± 0,00	0,16 ± 0,00
7 ^a	0,15 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,17 ± 0,00
8 ^a	0,15 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,16 ± 0,00
9 ^a	0,15 ± 0,00	0,15 ± 0,01	0,17 ± 0,00	0,16 ± 0,00
10 ^a	0,15 ± 0,00	0,16 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,16 ± 0,00
11 ^a	0,14 ± 0,00	0,15 ± 0,01	0,16 ± 0,00	0,16 ± 0,00
12 ^a	0,14 ± 0,00	0,15 ± 0,00	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,00
13 ^a	0,13 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,01

Os dados estão expressos em média ± erro padrão da média (EPM). Ingestão alimentar foi normalizada pela massa dos animais da gaiola (g.g^{-1}). Análise estatística: ANOVA three-way foi usado para os efeitos do treino, espaço habitacional e tempo experimental e post-hoc Newman Keuls para identificar diferenças entre os grupos dentro da mesma semana.

Tabela 3. Ingestão hídrica (ml.g^{-1}) ao longo de treze semanas de experimento para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em gaiolas de espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA). A ingestão foi normalizada pela massa dos animais da gaiola.

Semanas	Espaço padrão		Espaço amplo	
	C	T	C	T
1 ^a	0,23 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,26 ± 0,02
2 ^a	0,24 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,25 ± 0,01
3 ^a	0,23 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,25 ± 0,01
4 ^a	0,24 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,24 ± 0,02
5 ^a	0,21 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,22 ± 0,01
6 ^a	0,20 ± 0,00	0,21 ± 0,01	0,21 ± 0,00	0,21 ± 0,01
7 ^a	0,19 ± 0,00	0,24 ± 0,01	0,21 ± 0,00	0,21 ± 0,00
8 ^a	0,19 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,21 ± 0,01
9 ^a	0,19 ± 0,01	0,23 ± 0,00	0,21 ± 0,01	0,20 ± 0,01
10 ^a	0,20 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,22 ± 0,00	0,20 ± 0,01
11 ^a	0,18 ± 0,00	0,22 ± 0,01 ^a	0,21 ± 0,01	0,20 ± 0,01
12 ^a	0,18 ± 0,00	0,21 ± 0,00	0,22 ± 0,01	0,21 ± 0,01
13 ^a	0,18 ± 0,00	0,21 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,19 ± 0,00

Os dados estão em média ± erro padrão da média (EPM). Ingestão hídrica foi normalizada pela massa dos animais da gaiola. Análise estatística: Foi usado ANOVA three-way para o treino, espaço habitacional e tempo experimental e post-hoc Newman Keuls para identificar diferenças entre os grupos dentro da mesma semana. Símbolo de diferença estatística: **a** diferente de EP-C.

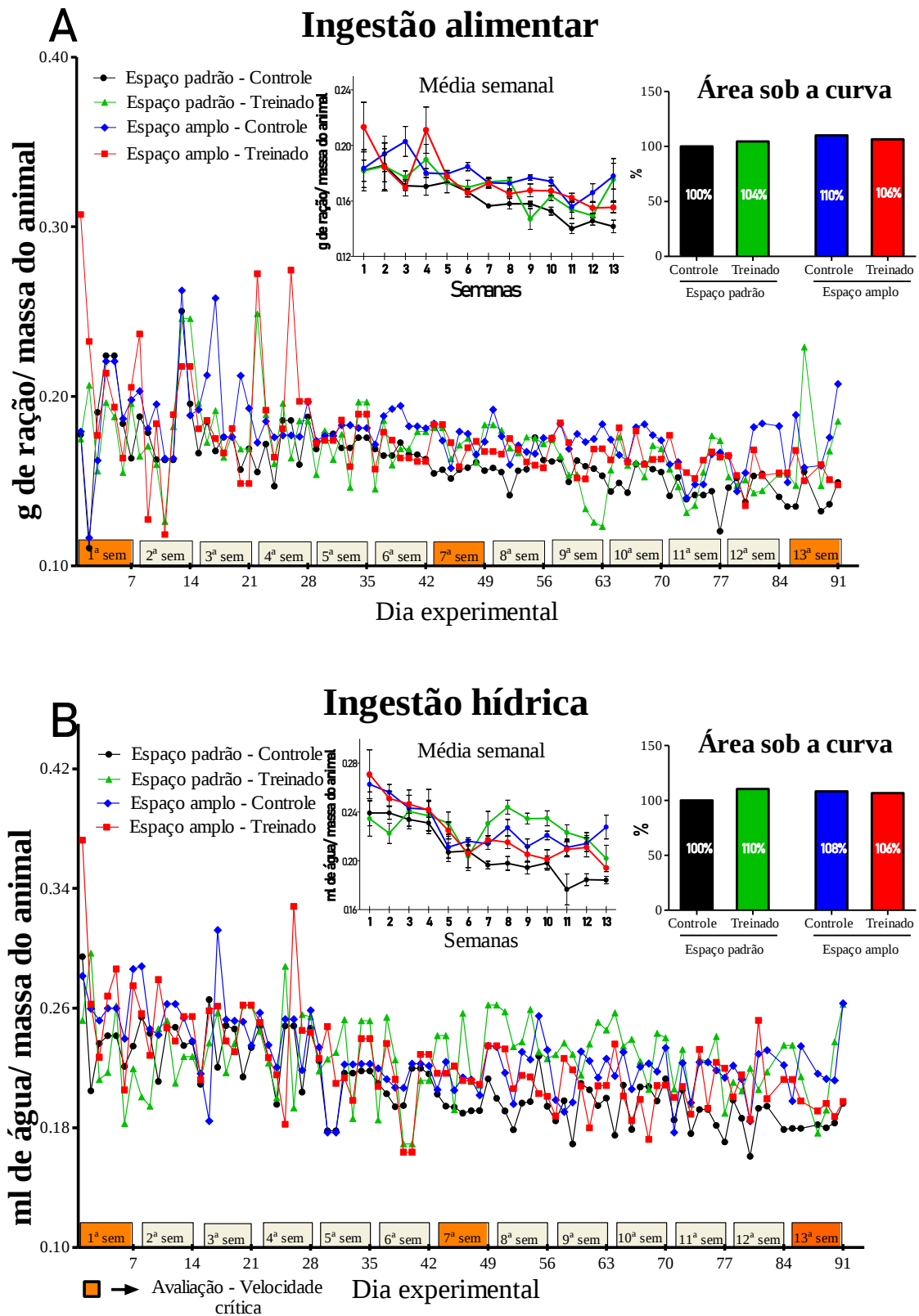


Figura 8. Ingestão alimentar (Painel A) e hídrica (Painel B) para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em gaiolas de espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).

Quanto aos resultados de massa corporal, houve efeito significativo do treinamento ($F_{1,10} = 655,3$; $P < 0,01$; $T < C$). Em contrapartida, não foi observado efeito do espaço habitacional sobre a massa corporal ($F_{1,10} = 0,7$; $P = 0,38$). Desse modo, os dados sugerem que apenas habitar em espaço amplo, sem realizar o treinamento intervalado de alta intensidade, não altera a massa corporal. No entanto, houve interação entre treinamento e espaço habitacional ($F_{1,10} = 45,7$; $P < 0,01$), assim como também ocorreu interação entre o treinamento e tempo experimental ($F_{1,10} = 7,7$; $P < 0,01$). As ocorrências semana a semana foram identificadas pelo post-hoc Newman Keuls, que revelou menores valores de massa corporal para o grupo EP-T em relação ao EP-C da 2ª a 12ª semana e o grupo EA-T apresentou maiores valores que o grupo EP-C da 2ª a 12ª semana. O grupo EA-C também apresentou maiores valores de massa corporal na 2ª, 3ª, 4ª, 5ª, 6ª, 7ª, 8ª e 11ª semanas quando comparado ao EP-T, e o grupo EA-T apresentou menores valores na 2ª, 3ª e 7ª semanas quando comparado ao grupo EP-T, conforme observado na **Tabela 4**.

Tabela 4. Massa corporal (g) ao longo de treze semanas de experimento para os grupos controle (C) e treinando (T) mantidos em gaiolas de espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).

Semanas	Espaço padrão		Espaço amplo	
	C	T	C	T
1 ^a	26.5 ± 0.26	24.6 ± 0.04 ^a	26.7 ± 0.17 ^b	25.7 ± 0.20 ^c
2 ^a	27.1 ± 0.07	24.3 ± 0.02 ^a	27.2 ± 0.06 ^b	25.8 ± 0.12 ^{abc}
3 ^a	27.5 ± 0.29	25.5 ± 0.12 ^a	27.6 ± 0.13 ^b	26.5 ± 0.19 ^{abc}
4 ^a	28.2 ± 0.25	25.8 ± 0.09 ^a	28.3 ± 0.05 ^b	26.3 ± 0.28 ^{ac}
5 ^a	29.3 ± 0.08	26.3 ± 0.08 ^a	28.7 ± 0.21 ^b	27.0 ± 0.20 ^{ac}
6 ^a	29.4 ± 0.07	27.0 ± 0.84 ^a	28.7 ± 0.02 ^b	27.7 ± 0.11 ^{ac}
7 ^a	29.7 ± 0.25	26.9 ± 0.23 ^a	29.2 ± 0.05 ^b	27.8 ± 0.13 ^{abc}
8 ^a	29.8 ± 0.06	28.0 ± 0.42 ^a	29.6 ± 0.11 ^b	28.4 ± 0.32 ^{ac}
9 ^a	30.4 ± 0.21	28.5 ± 0.06 ^a	29.4 ± 0.13	29.3 ± 0.19 ^a
10 ^a	30.4 ± 0.05	29.3 ± 0.19 ^a	29.8 ± 0.21	29.0 ± 0.18 ^a
11 ^a	30.8 ± 0.08	29.4 ± 0.11 ^a	30.5 ± 0.06 ^b	29.1 ± 0.06 ^{ac}
12 ^a	30.6 ± 0.18	29.8 ± 0.06 ^a	30.0 ± 0.10 ^a	29.4 ± 0.10 ^a
13 ^a	30.3 ± 0.34	29.8 ± 0,23	29.6 ± 0.10	29.6 ± 0.10

Os dados estão em média ± erro padrão da média (EPM). Massa corporal está apresentada em gramas. Análise estatística: Foi usado ANOVA three-way para os efeitos do treinamento, espaço habitacional e tempo experimental e post-hoc Newman Keuls para identificar diferenças entre os grupos dentro da mesma semana. Símbolos de diferença estatística: **a** diferente de EP-C, **b** diferente de EP-T e **c** diferente de EA-C ($P < 0,05$).

Cabe destacar que as diferenças que ocorreram já na primeira semana de experimento, mesmo sem ainda poderem estar, de fato, envolvidas com adaptações ao HIIT, podem ter sido geradas pelas condições de alojamento logo após o desmame.

4.2. Capacidades aeróbia e anaeróbia

O modelo de velocidade crítica empregado para avaliar a capacidade aeróbia (VC) e capacidade de corrida anaeróbia (CCA), embasado em ajuste matemático linear, revelou elevados valores de R^2 para essas regressões (valores superiores a 0,98), evidenciando a confiabilidade na determinação desses parâmetros aeróbio e anaeróbio para os camundongos.

A **Figura 9** exibe os dados de VC obtidos por todos os grupos, em três diferentes momentos (pré-treinamento, após 5 semanas de HIIT e ao final do programa de treinamento). Comparando os resultados intra grupo nesses três momentos, foi possível observar que os grupos EA-C e EA-T apresentaram aumento da VC após 5 semanas de experimento (**Figura 9**). Ainda, em comparação com as condições iniciais, a capacidade aeróbia permaneceu elevada na 13ª semana para os mesmos grupos (EA-C e EA-T). Quando os resultados da 13ª semana foram comparados somente com as suas respectivas condições na 7ª semana, não foi encontrada diferença para nenhum dos grupos investigados.

No início do experimento, na avaliação prévia do início do programa de HIIT, todos os grupos iniciaram em mesmas condições de condicionamento físico, conforme indicou o teste post-hoc (**Figura 9**). Na 7ª semana o cenário já se apresentou diferente, na medida que os grupos EA-C e EA-T apresentaram VC superior comparado aos grupos EP-C e EP-T. Nesse etapa, não houve efeito do treinamento ($F_{1,36} = 0,10$; $P = 0,74$), mas foi observado efeito do espaço habitacional ($F_{1,36} = 17,1$; $P < 0,01$) e interação entre os efeitos ($F_{1,36} = 4,6$; $P < 0,04$) sugerindo que a condição espacial em que os animais estavam alojados determinou o aumento da capacidade aeróbia mensurada pelo protocolo de VC. Quanto aos resultados da 13ª semana, EA-C e EA-T mantiveram VC superior aos grupos EP-C e EP-T. Além disso, não houve efeito do treinamento ($F_{1,36} = 0,15$; $P = 0,69$), mas sim do espaço habitacional ($F_{1,36} = 10,0$; $P < 0,01$).

No que diz respeito às análises de capacidade de corrida anaeróbia (CCA) em cada uma das avaliações aplicadas (pré-treinamento, 7ª semana e 13ª semana), os animais também iniciaram o programa de treinamento com as mesmas condições, tanto no que se refere aos grupos selecionados para o treinamento ($F_{1,36} = 0,11$; $P = 0,73$), quanto ao espaço habitacional ($F_{1,36} = 0,0$; $P = 0,98$). Na 7ª semana também não foi observado efeito do treinamento ($F_{1,36} = 0,05$; $P = 0,81$) e interação entre os efeitos ($F_{1,36} = 1,6$; $P = 0,21$), no entanto, houve efeito do espaço habitacional ($F_{1,36} = 1,6$; $P =$

0,21). O post hoc identificou diferença do grupo EA-T na 7ª semana comparado a condição inicial do mesmo. Ao final das treze semanas, não foi visualizado efeito do treinamento ($F_{1,36} = 0,0$; $P = 0,75$) e do espaço habitacional ($F_{1,36} = 0,0$; $P = 0,99$), mas observamos interação entre os efeitos ($F_{1,36} = 5,3$; $P < 0,02$). O post hoc não identificou diferenças entre os grupos nesse período.

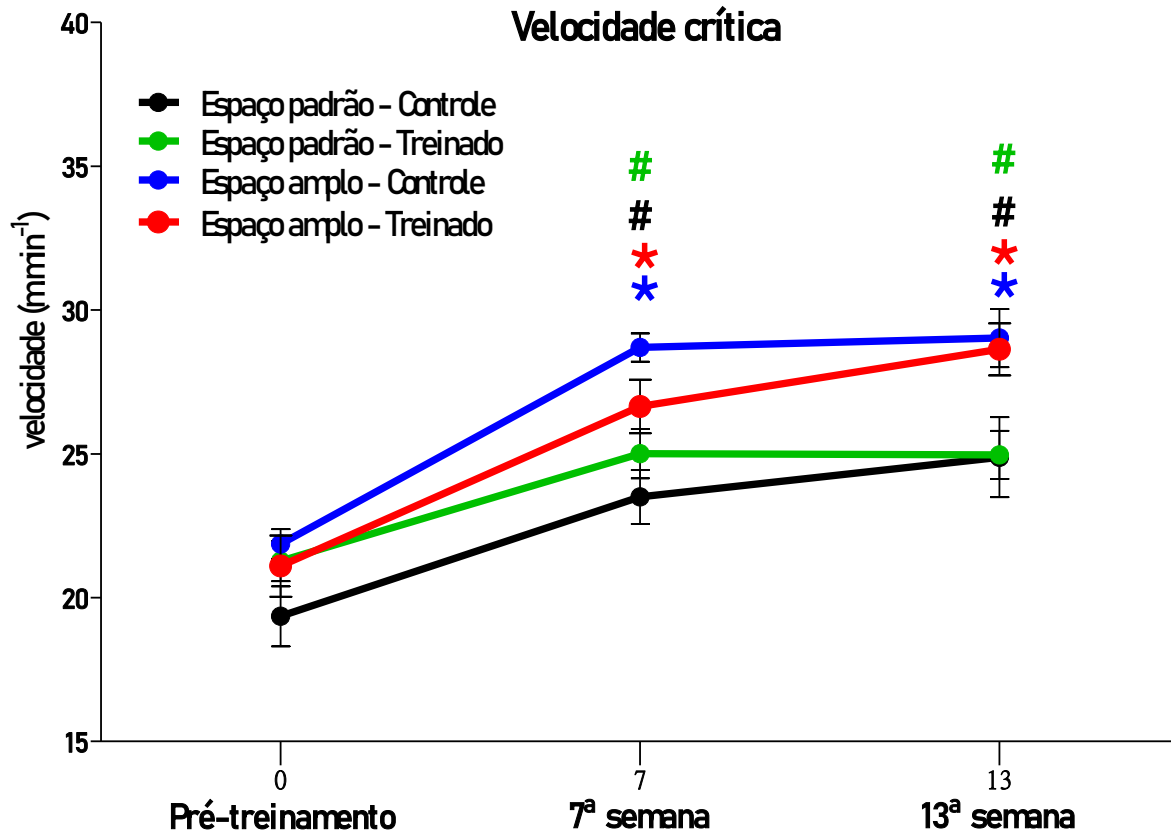


Figura 9. Valores de velocidade crítica dos grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) ou espaço amplo (EA). Dados expressos como $M \pm EPM$ estão exibidos percentualmente em relação à condição inicial (pré-treinamento). Os dados foram comparados pelo ANOVA para medidas repetidas, cujas diferenças estatísticas estão simbolizadas. Símbolo de significância estatística: * diferente da condição pré-treinamento, # diferente de EP-C e # diferente de EP-T.

Para os resultados de capacidade anaeróbia ao longo do tempo, apenas foi observado aumento na 7ª semana para o grupo EA-T em relação à mesma na condição inicial (pré-treinamento). Ademais, não houve diferença estatística entre os grupos, em nenhum dos três momentos do experimento (**Figura 10**). Os resultados de VC e CCA de cada um dos três momentos estão apresentados em forma gráfica na **Figura 11**.

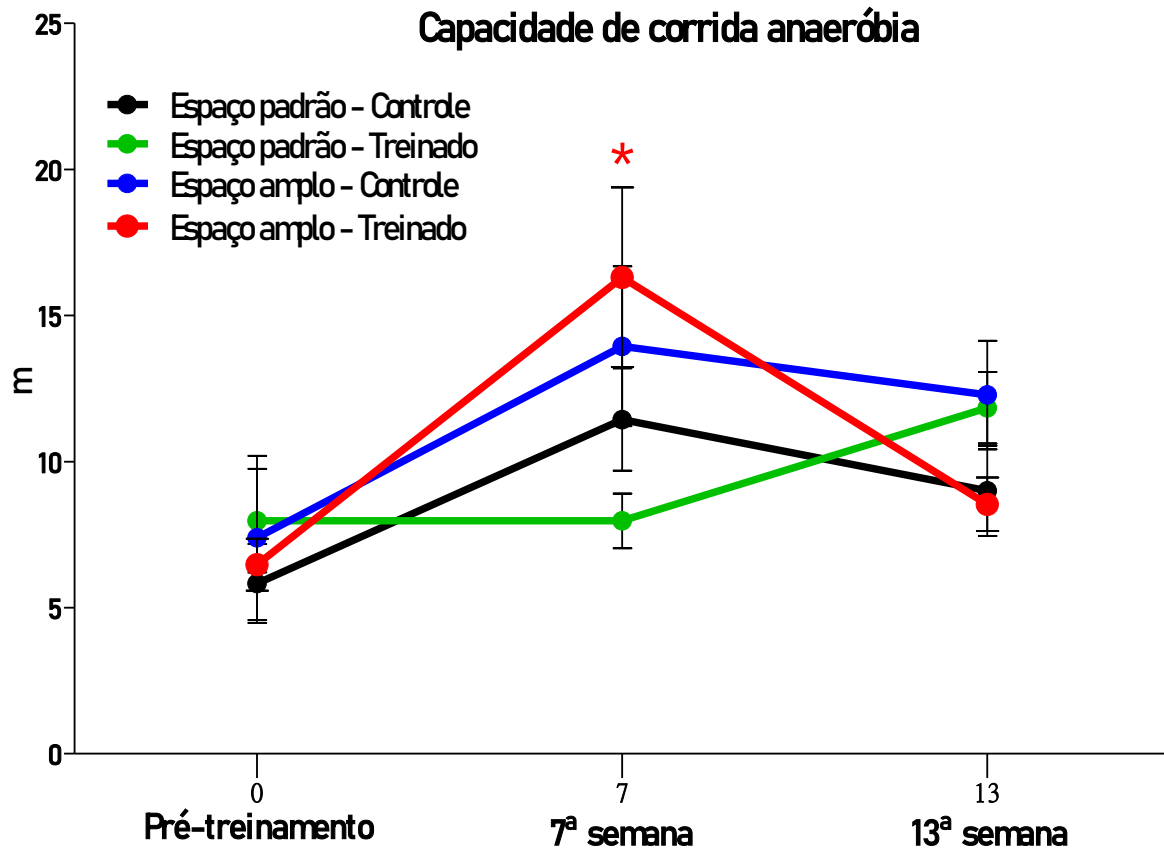


Figura 10. Capacidade de corrida anaeróbia dos grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e amplo (EA). Dados expressos como média $\pm$ EPM estão exibidos percentualmente em relação à condição inicial (pré-treinamento). Símbolo de significância estatística: * diferença da condição pré-treinamento.

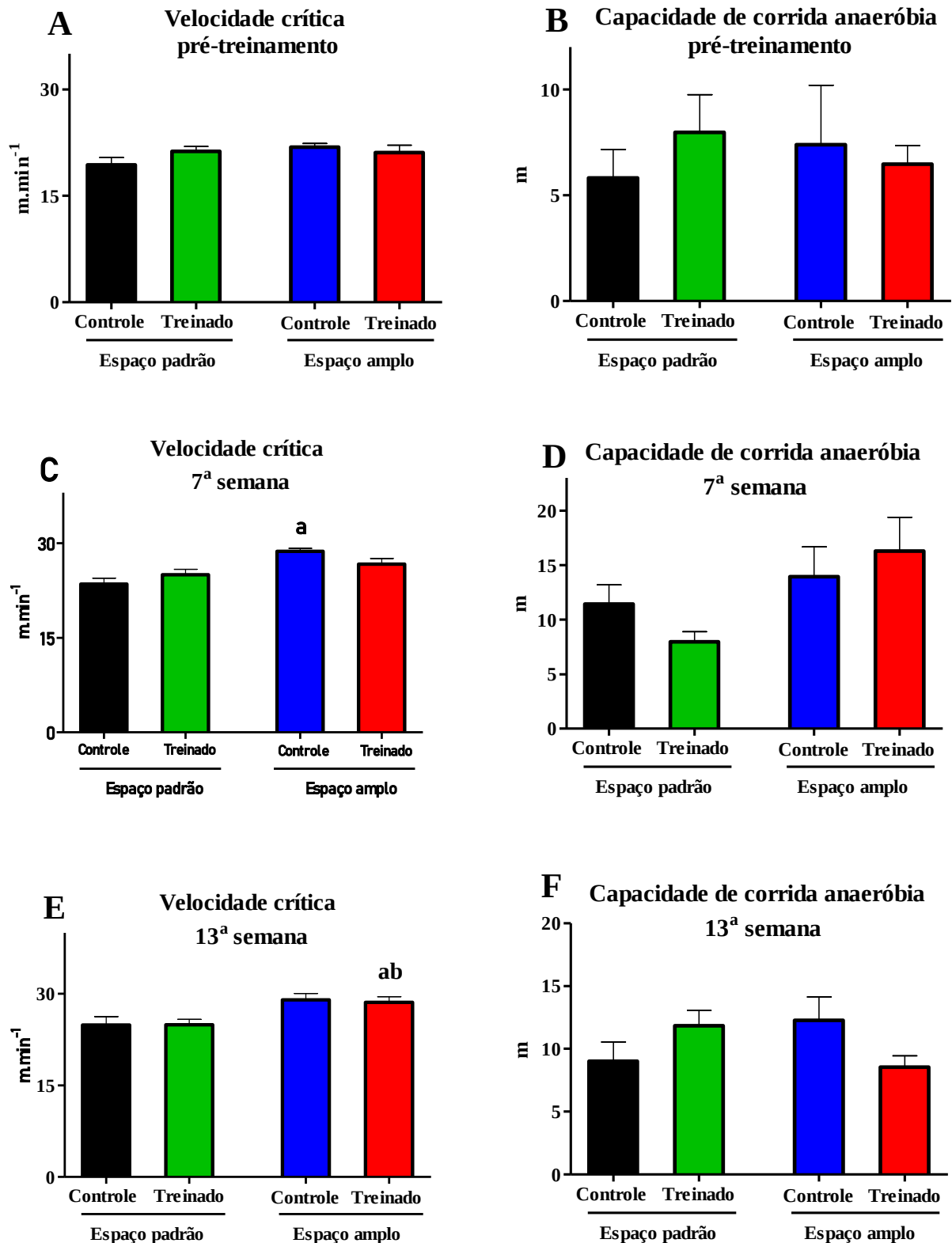


Figura 11. Velocidade crítica (m.min⁻¹) e capacidade de corrida anaeróbia (m) dos grupos (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e amplo (EA). Os dados estão expressos como média $\pm$ EPM. ANOVA two-way foi adotada para analisar o efeito do treinamento físico e espaço habitacional sobre a VC e CCA em cada um dos três momentos, a saber: antes do treinamento (Painéis A e B), na 7ª semana de treinamento (Painéis C e D) e após o programa de treinamento, na 13ª semana (Painéis E e F). Símbolo de significância estatística: a diferente de EP-C, b diferente de EP-T.

4.3. Biomarcadores de estresse

A corticosterona sérica apresentou valores superiores para o grupo EA-C em relação aos grupos EP-C e EP-T. Além disso, houve efeito do espaço habitacional, mas não houve efeito do treinamento e interação entre esses dois efeitos (**Tabela 5**). Quanto aos resultados da massa da glândula adrenal, não houve diferença entre os grupos bem como não houve efeito do treinamento, espaço habitacional e interação entre os efeitos (**Tabela 5**).

Tabela 5. Corticosterona sérica (ng/ml) e massa da glândula adrenal dos grupos controle (C) e treinado mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo após treze semanas de experimento.

	Espaço padrão		Espaço amplo		ANOVA		
	C	T	C	T	Treinamento físico	Espaço habitacional	Interação
Corticosterona	0,27 ± 0,27	2,52 ± 2,75	22,98 ± 31,84 ^{ab}	10,60 ± 10,98	F _{1,34} = 0,8 P = 0,37	F _{1,36} = 7,3 P = 0,01	F _{1,36} = 1,6 P = 0,20
Massa da glândula adrenal (%)	0,027 ± 0,003	0,034 ± 0,006	0,027 ± 0,003	0,029 ± 0,003	F _{1,36} = 1,1 P = 0,28	F _{1,36} = 0,95 P = 0,33	F _{1,36} = 0,0 P = 0,76

Dados estão em média ± desvio padrão da média. Análise estatística: Foi usado ANOVA two-way para os efeitos do treinamento e espaço habitacional e post-hoc Newman Keus para identificar diferenças entre os grupos dentro da mesma semana. Símbolos de diferença estatística: **a** diferente de EP-C, **b** diferente de EP-T.

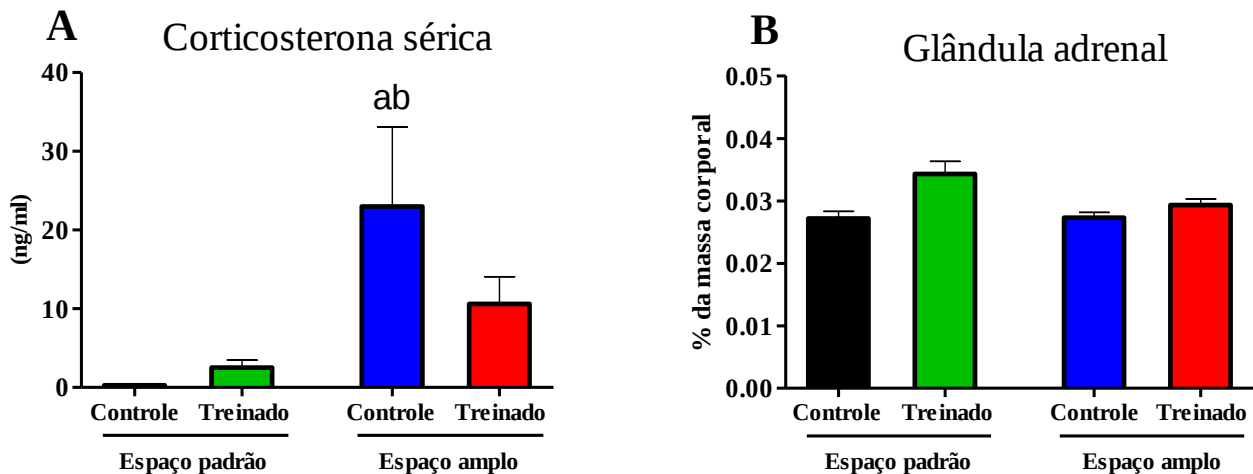


Figura 12. Corticosterona sérica (ng/ml) e massa da glândula adrenal dos grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA). Símbolos de diferença estatística: a diferente de EP-C, b diferente de EP-T.

4.4. Composição da carcaça

Após a eutanásia, a composição da carcaça dos animais foi analisada. Como é possível observar na **Tabela 6**, não foram detectadas diferenças ($P > 0,05$) para a massa da carcaça eviscerada entre os grupos, após 13 semanas de experimento. Para os resultados de teor de água da carcaça (**Tabela 6 e Figura 13C**), não houve diferença estatística entre os grupos. No entanto, considerando distribuição percentual ao longo do tempo, os animais alojados em espaço padrão (EP-C) obtiveram menor teor de água da carcaça comparados àqueles que treinaram ou habitaram em espaço amplo (**Figura 14**). Os grupos EP-T, EA-C e EA-T apresentaram menor massa de gordura da carcaça quando comparados ao grupo EP-C ($P = 0,03$; $0,01$; $0,00$, respectivamente), sugerindo que tanto o HIIT quanto o amplo espaço foram efetivos em reduzir o teor de gordura da carcaça, melhorando a composição corporal dos animais (**Figura 13A**). Quanto aos resultados de massa magra, os grupos EP-T e EA-T exibiram maior massa magra (%) comparado ao grupo (EP-C) ($P = 0,04$; $0,01$), mostrando que o treinamento intervalado de alta intensidade é positivo para aumentar o teor de massa magra dos camundongos (**Figura 13B**).

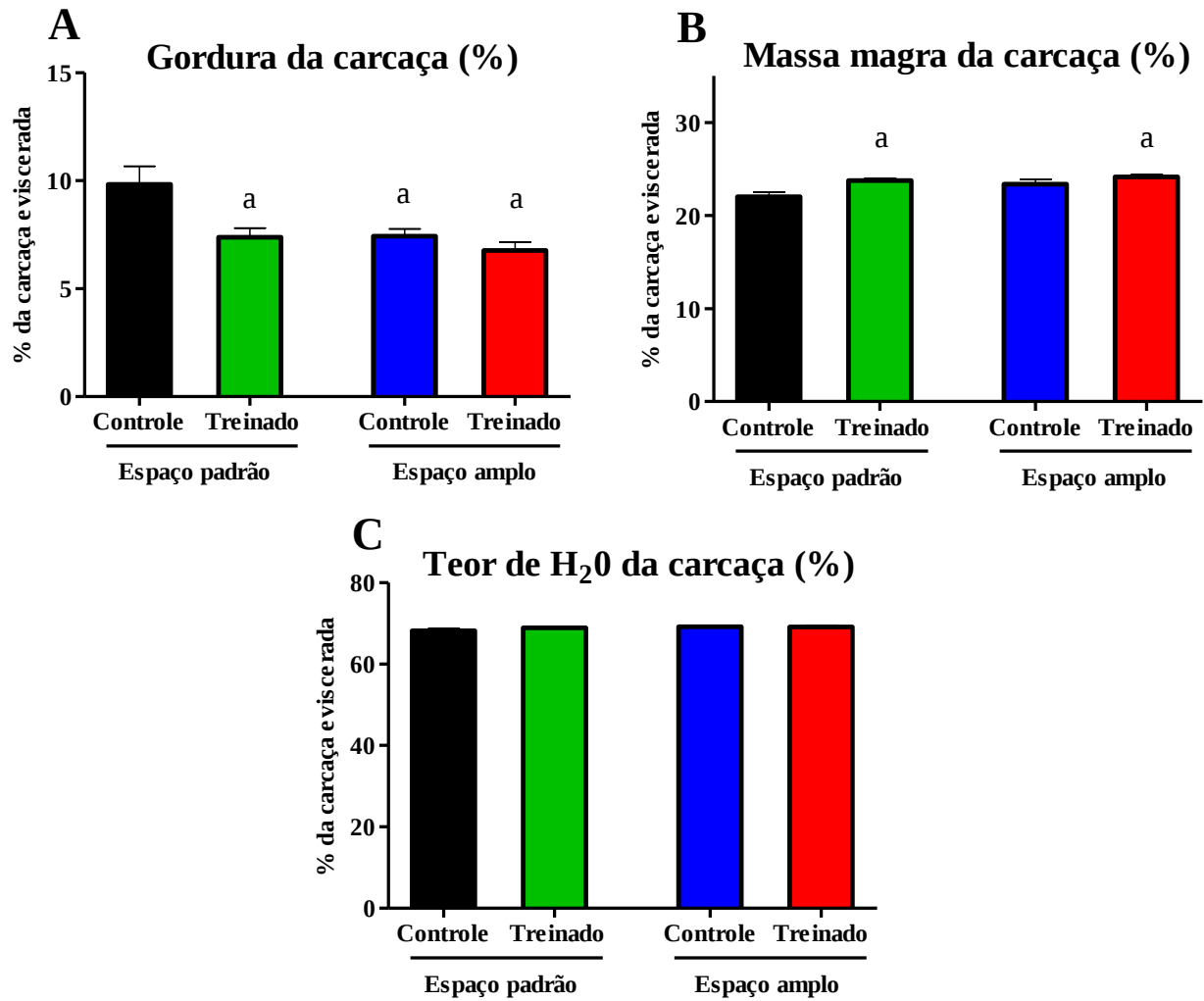


Figura 13. Valores de gordura da carcaça (Painel A), massa magra da carcaça (Painel B) e teor de água da carcaça (Painel C). Valores expressos em relação a carcaça eviscerada. Símbolo de significância estatística: a diferente de EP-C.

Tabela 6. Carcaça eviscerada, teor de água da carcaça, teor de gordura da carcaça e massa magra dos grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).

		Espaço padrão		Espaço amplo		ANOVA		
		C	T	C	T	Treinamento físico	Espaço habitacional	Interação
Carcaça eviscerada	g	18,9±	18,1±	19,1±	17,9±	$F_{1,36} = 6,0$	$F_{1,36} = 0,009$	$F_{1,36} = 0,2$
		0,5	0,4	0,3	0,3	$P < 0,02$	$P > 0,05$	$P > 0,64$
Água	g	12,9±	12,5±	13,2±	12,3±	$F_{1,36} = 3,7$	$F_{1,36} = 0,07$	$F_{1,36} = 0,4$
		0,3	0,3	0,2	0,3	$P > 0,05$	$P > 0,05$	$P > 0,05$
	%	68,1±	68,8±	69,1±	69,0±	$F_{1,36} = 0,6$	$F_{1,36} = 2,6$	$F_{1,36} = 1,1$
		0,5	0,3	0,2	0,3	$P > 0,05$	$P > 0,05$	$P > 0,05$
Gordura	g	1,8±	1,3±	1,4±	1,2±	$F_{1,36} = 14,6$	$F_{1,36} = 8,3$	$F_{1,36} = 2,6$
		0,1	0,06 ^a	0,06 ^a	0,05 ^a	$P < 0,01$	$P < 0,01$	$P > 0,05$
	%	9,8±	7,3±	7,4±	6,7±	$F_{1,36} = 8,5$	$F_{1,36} = 7,9$	$F_{1,36} = 2,8$
		0,8	0,4 ^a	0,3 ^a	0,3 ^a	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P > 0,05$
Massa magra	g	4,1±	4,3±	4,4±	4,3±	$F_{1,36} = 0,00$	$F_{1,36} = 1,8$	$F_{1,36} = 1,5$
		0,1	0,1	0,1	0,07	$P > 0,05$	$P > 0,05$	$P > 0,05$
	%	22,0±	23,7±	23,3±	24,1±	$F_{1,36} = 9,8$	$F_{1,36} = 4,7$	$F_{1,36} = 1,4$
		0,4	0,2	0,5 ^a	0,2 ^a	$P < 0,01$	$P < 0,04$	$P > 0,05$

Os dados estão em M±EPM expressos em gramas (g) e exibidos percentualmente (%) em relação a massa da carcaça eviscerada. Símbolo de significância estatística: ^a diferente de EP-C.

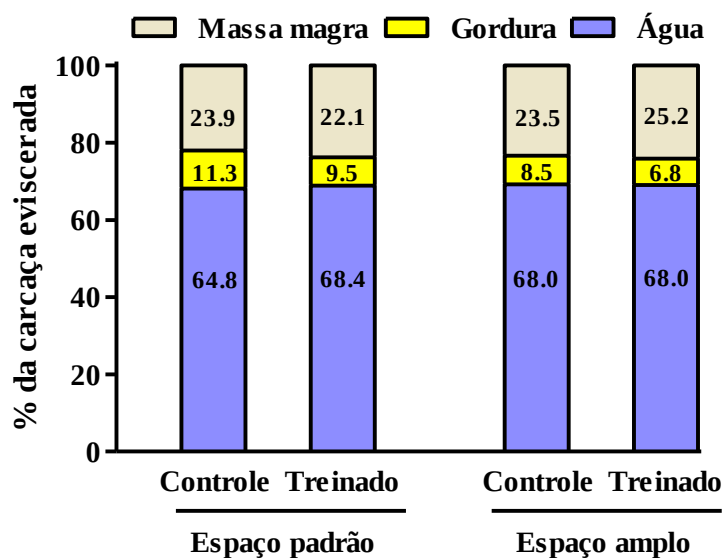


Figura 14. Distribuição percentual dos componentes da carcaça, que incluem a água, gordura e massa livre de gordura (massa magra) para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em gaiolas de espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA). Valores estão exibidos percentualmente (%) em relação a massa da carcaça eviscerada.

No que diz respeito aos resultados de tecido adiposo epididimal, os grupos EP-T ($P = <0,01$) e EA-C ($P = 0,05$) apresentaram redução quando comparado ao grupo EP-C. Para esse resultado não houve efeito do treinamento ($F_{1,36} = 0,43$; $P > 0,05$), mas houve efeito do espaço habitacional ($F_{1,36} = 6,36$; $P < 0,02$) e interação entre os dois efeitos ($F_{1,36} = 4,92$; $P < 0,04$). Quanto aos valores de tecido adiposo retroperitoneal, os grupos EP-T ($P < 0,05$) EA-C ($P < 0,05$) e EA-T ($P < 0,03$) apresentaram redução quando comparado ao grupo EP-C. Não houve efeito do treinamento ($F_{1,36} = 3,09$; $P > 0,05$) e interação entre os efeitos ($F_{1,36} = 1,34$; $P > 0,05$), mas foi observado efeito do espaço habitacional ($F_{1,36} = 5,91$; $P > 0,03$) para essa análise (**Figura 15**). Em relação tecido adiposo marrom, as intervenções por espaço habitacional ($F_{1,36} = 2,5$; $P > 0,05$) e treinamento intervalado de alta intensidade ($F_{1,36} = 1,2$; $P > 0,05$), não modificaram a massa desse tecido (**Figura 16**).

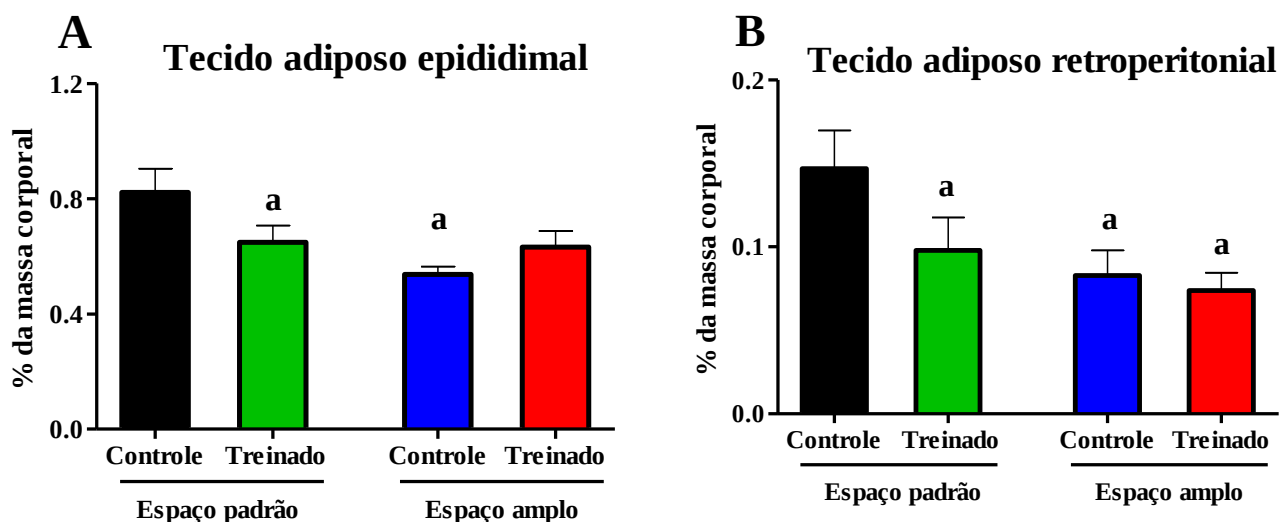


Figura 15. Depósitos de tecido adiposo epididimal (Painel A) e tecido adiposo retroperitoneal (Painel B). Valores estão expressos em relação à massa corporal total (%). Os dados estão em $M \pm EPM$. Símbolo de significância estatística: **a** diferente de EP-C.

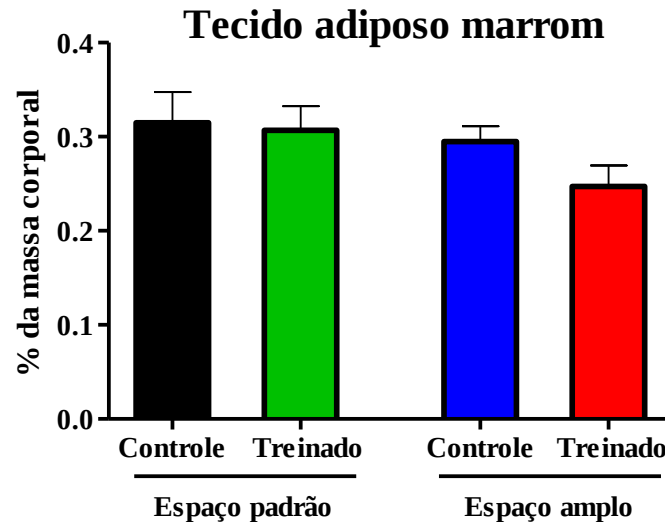


Figura 16. Tecido adiposo marrom dos grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) ou espaço amplo (EA). Valores estão expressos em relação à massa corporal (%). Os dados estão em M±EPM.

4.5. Estoques de glicogênio

Os estoques de glicogênio muscular estão apresentados na **Figura 17**. Não foi observado efeito do treinamento sobre a concentração de glicogênio no músculo sóleo ($F_{1,33} = 0,0$; $P = 0,93$), mesmo com o grupo EA-T apresentando valores visualmente mais elevados que os demais. Também não foi observado efeito para os camundongos do grupo EA-C ($F_{1,33} = 0,1$; $P = 0,66$), nem interação entre os efeitos ($F_{1,33} = 1,1$; $P = 0,29$). Por outro lado, o conteúdo de glicogênio no músculo gastrocnêmio sofreu efeito do treinamento ($F_{1,32} = 18,7$; $P < 0,01$) e do espaço habitacional ($F_{1,32} = 4,9$; $P = 0,03$), sendo que os animais treinados e que viveram em amplo espaço reduziram o conteúdo de glicogênio do músculo gastrocnêmio. Adicionalmente, houve interação entre os efeitos do treinamento e o espaço habitacional ($F_{1,25} = 20,6$; $P > 0,01$). Além disso, o teste de Newman Keuls identificou diferença do grupo EA-T em relação aos grupos EP-C, EP-T e EA-C (**Figura 17**).

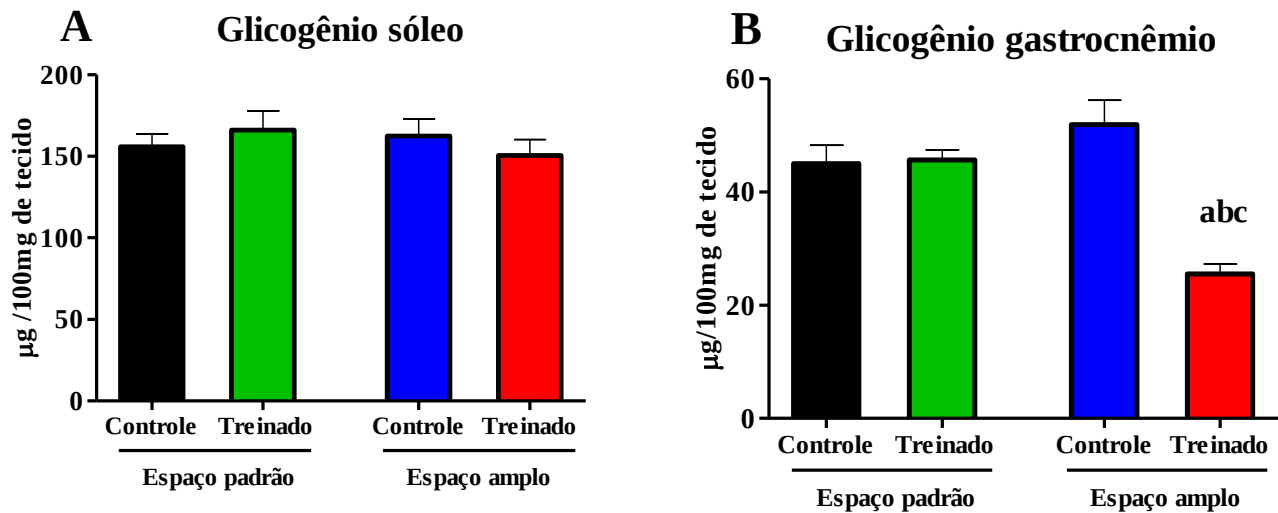


Figura 17. Concentrações de glicogênio em músculo sóleo (Painel A) e gastrocnêmio (Painel B) dos grupos controle (C) e treinado (T) alojados em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA). Os dados estão em $M \pm EPM$. Símbolo de significância estatística: a diferente de EP-C, b diferente de EP-T e c diferente de EA-C.

Foi observado efeito do treinamento sobre a concentração de glicogênio hepático ($F_{1,32} = 12,1$; $P < 0,01$), de maneira que os animais treinados apresentaram redução dos níveis desse estoque no fígado. Por outro lado, não foi observado efeito do espaço habitacional sobre o glicogênio hepático ($F_{1,32} = 2,6$; $P > 0,05$), bem como não houve interação entre os efeitos ($F_{1,32} = 3,8$; $P > 0,05$). Contudo, o teste post hoc encontrou diferença significativa entre o grupo EP-C e os grupos EP-T, EA-C e EA-T, evidenciando redução do glicogênio no fígado tanto para os grupos treinados quanto para os grupos alojado em espaço amplo, como pode ser visto na **Figura 18A**. Diferentemente do observado para o fígado, no que diz respeito ao conteúdo de glicogênio cardíaco, foi observado efeito do treinamento intervalado de alta intensidade ($F_{1,36} = 4,2$; $P > 0,05$), expressando aumento desse conteúdo para os grupos treinados. Contudo, o ANOVA não encontrou efeito do espaço habitacional, bem como interação entre treinamento e espaço habitacional ($F_{1,36} = 3,6$; $P = 0,06$). O teste post hoc identificou diferença entre o grupo EA-T e os grupos EP-C, EP-T e EA-C para o glicogênio cardíaco (**Figura 18B**).

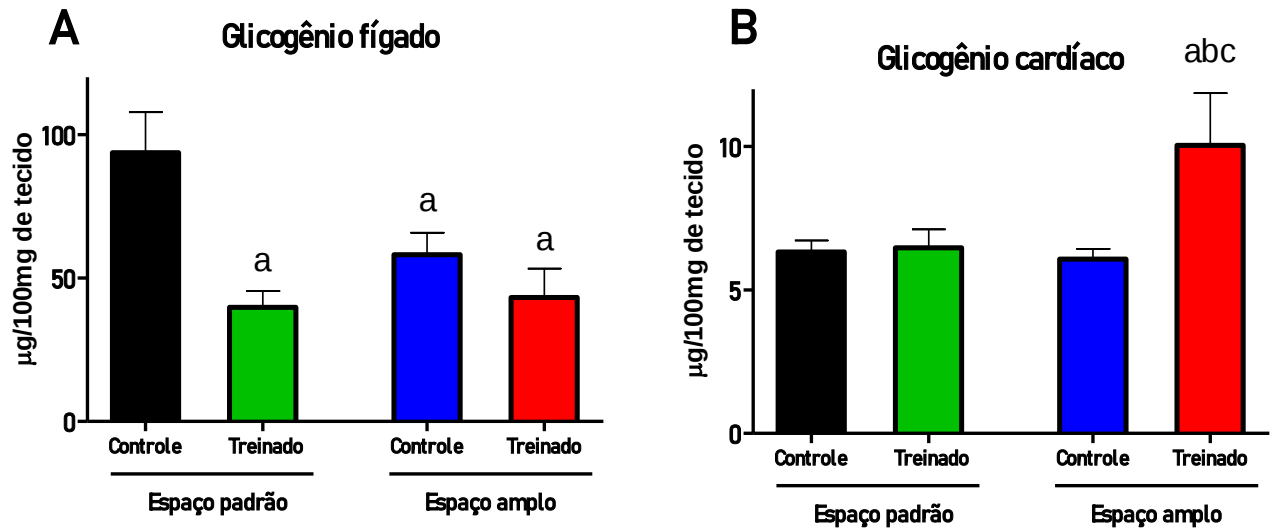


Figura 18. Concentrações de glicogênio em tecido hepático (Painel A) e cardíaco (Painel B) dos grupos controle (C) e treinado (T) alojados em espaço padrão (EP) e amplo (EA). Os dados estão em média $\pm$ EPM. Símbolo de significância estatística: **a** diferente de EP-C, **b** diferente de EP-T e **c** diferente de EA-C.

4.6. Tecido ósseo

4.6.1. Parâmetros biométricos

Na **Tabela 7** estão apresentados os valores de comprimento, diâmetro maior, diâmetro menor (mm), peso úmido, peso imerso, peso seco e peso das cinzas (g) dos fêmures dos camundongos. Não foram observadas diferenças entre os grupos para todos os parâmetros, bem como não houve efeitos do treinamento e espaço habitacional ou interação entre os efeitos.

4.6.2. Parâmetros biofísicos e biomecânicos

A **Tabela 8** mostra os valores dos parâmetros biofísicos do fêmur depois de treze semanas de experimento para todos os grupos experimentais. As comparações do post-hoc não mostraram diferenças para nenhum parâmetro entre os grupos. De acordo com os resultados do ANOVA two-way, não foi detectado efeito tanto do treinamento quanto do espaço habitacional para todos os parâmetros biofísicos. Em relação aos parâmetros biomecânicos (**Tabela 9**), post-hoc não mostrou diferença entre os grupos para resultados de carga máxima, deslocamento de carga máxima, resiliência, rigidez, ponto de fratura em carga máxima e deslocamento no ponto de fratura. Todavia, foi detectado diferença entre os grupos EA-T e EA-C para a tenacidade, com menores valores para o grupo EA-T. De acordo com o ANOVA two-way não houve efeito do treinamento e do espaço habitacional para todos os parâmetros biomecânicos, sendo que ocorreu interação entre os efeitos do treinamento e espaço habitacional apenas para a tenacidade e deslocamento do ponto de fratura.

Tabela 7. Comprimento, diâmetro maior e menor das diáfises (mm) e pesos húmido, imerso, seco e das cinzas (g) dos fêmures direito dos animais dos grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).

	Espaço padrão		Espaço amplo		Efeito do espaço		Efeito do treino		Interação	
	C	T	C	T	P	F	P	F	P	F
Comprimento (mm)	1,59 ± 0,03	1,55 ± 0,07	1,6 ± 0,08	1,6 ± 0,0	0,14	2,26	0,34	0,90	0,34	0,90
Diâmetro maior (mm)	0,29 ± 0,03	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,33	0,94	0,33	0,94	0,33	0,94
Diâmetro menor (mm)	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,33	0,94	0,33	0,94	0,33	0,94
Peso úmido (g)	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,31	1,04	0,46	0,54	0,07	3,3
Peso imerso (g)	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,84	0,04	0,06	3,8	0,08	3,1
Peso seco (g)	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,77	0,08	0,44	0,60	0,36	0,82
Peso das cinzas (g)	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,46	0,54	0,09	2,8	0,32	0,99

Dados estão em média ± desvio padrão da média (DPM). Análise estatística: Foi usado ANOVA two-way para treinamento e espaço habitacional e post-hoc Newman Keuls para identificar diferença entre os grupos.

Tabela 8. Volume ósseo (cm³), densidade mineral óssea (g/cm³), percentual de água, material orgânico e mineral do fêmur do animal para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).

	Espaço padrão		Espaço amplo		Efeito do espaço		Efeito do treino		Interação	
	C	T	C	T	P	F	P	F	P	F
Volume ósseo (cm ³)	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,34	0,89	0,83	0,04	0,21	1,61
Densidade óssea (g/cm ³)	1,24 ± 0,03	1,21 ± 0,008	1,24 ± 0,06	1,19 ± 0,08	0,64	0,21	0,05	3,88	0,71	0,13
Densidade mineral (g/cm ³)	0,25 ± 0,05	0,22 ± 0,04	0,24 ± 0,05	0,22 ± 0,06	0,74	0,11	0,18	1,84	0,62	0,24
Água do osso (%)	61,15 ± 4,19	62,62 ± 2,81	63,69 ± 3,42	61,91 ± 2,56	0,39	0,73	0,88	0,02	0,13	2,31
Material orgânico (%)	18,23 ± 3,71	18,83 ± 3,63	16,91 ± 2,62	18,67 ± 3,50	0,49	0,47	0,27	1,20	0,59	0,29
Material mineral (%)	20,60 ± 4,07	18,54 ± 3,56	19,38 ± 3,57	19,07 ± 4,26	0,78	0,07	0,34	0,91	0,48	0,49

Dados estão em média ± desvio padrão da média (DPM). Análise estatística: Foi usado ANOVA two-way para treinamento e espaço habitacional e post-hoc Newman Keuls para identificar diferença entre os grupos.

Tabela 9. Carga máxima (força) (N), deslocamento de carga máxima (mm), resiliência (J), rigidez (10^3 *N/m), deslocamento no ponto de fratura (mm) e carga máxima (force) no ponto de fratura (N) do fêmur de camundongos para os grupos controle (C) e treinado (T) mantidos em espaço padrão (EP) e espaço amplo (EA).

	Espaço padrão		Espaço amplo		Efeito do espaço		Efeito do treino		Interação	
	C	T	C	T	P	F	P	F	P	F
Carga máxima (N).	16,23 ± 3,52	15,52 ± 1,85	16,01 ± 2,52	14,86 ± 2,81	0,62	0,23	0,31	1,06	0,80	0,05
Deslocamento de carga máxima (mm)	0,29 ± 0,04	0,31 ± 0,03	0,31 ± 0,08	0,30 ± 0,05	0,84	0,04	0,85	0,03	0,44	0,59
Resiliência (J)	0,003 ± 0,00	0,003 ± 0,00	0,003 ± 0,00	0,004 ± 0,00	0,65	0,19	0,36	0,84	0,39	0,74
Tenacidade (J)	0,011 ± 0,002	0,011 ± 0,003	0,013 ± 0,003	0,010 ± 0,002 ^c	0,43	0,62	0,12	2,4	0,02	5,6
Rigidez (10^3 *N/m)	90,87 ± 21,47	88,89 ± 16,49	84,19 ± 11,22	81,30 ± 17,48	0,20	1,65	0,66	0,19	0,93	0,06
Carga máxima no ponto de fratura (N)	7,51 ± 2,52	8,15 ± 3,04	7,22 ± 1,93	7,42 ± 2,11	0,52	0,42	0,59	0,28	0,78	0,07
Deslocamento no ponto de fratura (mm)	1,05 ± 0,19	1,14 ± 0,44	1,46 ± 0,57	1,00 ± 0,18	0,28	1,17	0,16	2,02	0,03	4,72

Dados estão em média ± desvio padrão da média (DPM). Análise estatística: Foi usado ANOVA two-way para treinamento e espaço habitacional e post-hoc Newman Keuls para identificar diferença entre os grupos. Símbolo de diferença estatístico: ^c diferente de EA-C ($P \leq 0,05$).

5. DISCUSSÃO

Em face dos resultados encontrados no presente estudo, interessantes respostas foram identificadas sobre os diversos pontos de investigação propostos, sobretudo para os diferentes efeitos observados entre os grupos que realizaram o HIIT e os dois grupos controle, de modo que nossos resultados indicam que o HIIT, em partes, é capaz de trazer benefícios para animais alojados em ambos os espaços habitacionais. No entanto, apenas habitar em local mais amplo, estimulando o aumento da atividade física espontânea, por si já proporcionou excelentes resultados sobre a qualidade de vida de camundongos.

Inicialmente, e como um dos importantes achados, encontramos que a AFE é, de fato afetada pelo HIIT, mas somente para os animais que habitaram em EA. A redução da AFE em resposta ao HIIT tanto no período claro quanto no escuro ocorreu provavelmente para preservar os estoques energéticos para o momento do treinamento físico, na medida que o HIIT exige elevada demanda fisiológica. Apesar de não promover aumento da capacidade aeróbia depois de treze semanas, o HIIT aumentou massa livre de gordura dos camundongos, independente da habitação que eles viveram. Embora as análises de post-hoc não revelaram diferenças significantes entre os grupos, ANOVA indicou aumento da capacidade de corrida anaeróbia (CCA) para os camundongos treinados, alojados em espaço padrão, enquanto os camundongos treinados, mas alojados em ambiente maior, apresentaram redução da capacidade anaeróbia ao longo de treze semanas. O HIIT aumentou também a ingestão alimentar e hídrica, mas apenas para os camundongos que habitaram em EP.

A respeito das variáveis relacionadas ao metabolismo de gorduras, HIIT reduziu a gordura da carcaça e gordura retroperitoneal para todos os animais, independente do espaço de alojamento e nível de AFE. Curiosamente, o HIIT também reduziu gordura epididimal, mas esse efeito ocorreu somente para animais que habitaram em EP (não em camundongos que habitaram em EA). Na mesma linha, o efeito do HIIT em reduzir a massa corporal foi mais pronunciado em camundongos que habitaram em EP do que em EA. Além disso, nossos resultados indicaram redução da tenacidade óssea para o grupo EA-T em comparação ao grupo EA-C. Adicionalmente, foi observado maiores níveis de corticosterona sérica para os camundongos controle mantidos em EA em relação aos alojados em espaço padrão (EP-C e EP-T), tal achado pode ser reflexo da característica do ambiente, que amplia as possibilidades de um estilo de vida mais inquieto e, portanto, pode favorecer maior descarga de estresse fisiológico. Esse conjunto de interessantes resultados será discutido a seguir.

O primeiro aspecto que merece destaque refere-se às duas condições de alojamento estabelecidas para esse estudo. Enquanto o EA é atrativo e encoraja um estilo de vida ativo, o EP é monótono e pouco atraente. Nesse sentido, nosso modelo foi bem sucedido em discriminar animais

com diferentes AFE, resultado semelhante ao encontrado em estudo anterior do nosso grupo, onde AFE de camundongos habitando em EA também foi maior que a de camundongos habitando em EP quando considerado todo o período experimental (SCARIOT et al., 2019). Esse achado nos permitiu, com bastante segurança, investigar os efeitos do HIIT em camundongos com níveis mais baixos e mais elevados de atividade diária, como de fato era a proposta de nosso estudo. Embora ainda não exista, para camundongos, um valor discriminatório de níveis de atividade física diária para enquadramento dos animais em grupo sedentário ou muito ativo como ocorre com humanos (GARLAND et al., 2011), nossos resultados seguem nessa fronteira do conhecimento, angariando um banco de dados que, em futuro próximo, talvez possibilite essa distinção com bastante clareza.

Aqui, os resultados de AFE confirmam que o EA promove maiores oportunidades de locomoção para os roedores em comparação ao EP e, considerando a medida gravimétrica que adotamos para a análise, esse ambiente também favoreceu atividades não exclusivamente relacionadas à deambulação (REZENDE et al., 2009). Já está bem estabelecido na literatura que roedores realizam atividades diárias muito além da locomoção em plano horizontal, as quais incluem movimentos de forrageamento, empoleiramento e inquietação, dentre outros (GARLAND et al., 2011). Esses movimentos espontâneos, assim como já sinalizado por Scariot et al. (2019), puderam ser mensurados pelo sistema aqui empregado. No entanto, de maneira bastante impactante, observamos que o HIIT aplicado à camundongos vivendo em amplo espaço acabou reduzindo esse nível de AFE dos animais ativos, a ponto dos roedores que apenas habitam em maior espaço apresentarem ainda maiores níveis de AFE em comparação aos seus controles durante o período de treze semanas. Uma explicação coerente para esse achado poderia ser a preservação dos estoques energéticos ao longo do dia, para se resguardarem frente ao momento do treinamento. No entanto, se o cansaço estivesse presente no EA-T, isso seria refletido pela redução de AFE por horas depois que o HIIT foi realizado, o que não foi o caso, uma vez que não encontramos diferença na AFE no período claro quando comparado os grupos EA-C e EA-T (**Tabela 1**). Com relação às análises efetuadas ao longo do dia (a cada hora), nós encontramos uma significativa interação entre espaço habitacional e hora do dia em todos os dados de AFE, nos conduzindo a propor que a variação de AFE nas horas do dia não é exatamente igual entre os grupos EP e EA (**Figura 7**), apesar de não diferirem no período total de AFE. Na mesma linha, uma significativa interação entre o treinamento e a hora do dia em todos os dados de AFE nos leva a entender que a variação de AFE nas horas do dia não corresponde exatamente ao grupo treinado e controle. É importante mencionar que a variação de AFE nas horas do dia para roedores noturnos é esperada de acordo com o que foi previamente reportado (IKEDA et al., 2000).

Uma explicação mais plausível para redução da AFE para os camundongos do grupo EA-T é que existe um mecanismo de compensação pelo qual os estoques energéticos precisam ser reestabelecidos ou até preservados. Levando em consideração todas as informações avaliadas, é razoável considerar que AFE é sensivelmente afetada pelo *status* do metabolismo energético que, por sua vez, varia de acordo com diversos fatores, incluindo (*status* nutricional, composição corporal e *status* do treinamento) (KOTS, 2006). Na luz dessa questão, é compreensível as informações conflitantes encontradas na literatura a respeito da influência do exercício agudo e crônico sobre AFE. Isso é reportado em estudos com humanos demonstrando que, em dias nos quais o nível de atividade física moderada para vigorosa são altas, a quantidade de AFE é reduzida (GARLAND et al., 2011; WICKEL & EISENMANN, 2006). Outros estudos, por exemplo, suportam a ideia que o exercício aumenta a AFE, ao mostrar que estudantes que não engajaram em time esportivo tiveram maior probabilidade de se manterem em comportamento sedentário durante os intervalos da escola (SILVA e DOS SANTOS SILVA, 2015). Adicionalmente, nosso grupo já demonstrou que treinamento aeróbio em natação é efetivo em prevenir a perda de AFE relacionada a idade (SCARIOT et al., 2016). É provável que a gordura corporal esteja agindo como uma fonte de energia e a AFE diminua quando o organismo é ameaçado pelo déficit energético induzido pelo exercício, embora não tenhamos dados suficiente para fazer essa especulação. Por outro lado, AFE pode ser aumentada em situação de déficit energético em que é necessário encontrar comida (KOTZ, 2006). Sabe-se que um balanço energético negativo está associado a um aumento na produção de neurotransmissores hipotalâmicos como orexina-A e neuropeptídeo Y, os quais atuam aumentando a captação de energia pelo aprimoramento da capacidade orexigênica (estimulando a procura por alimentos, por exemplo) GAO & HORVATH, 2016; YAMANAKA et al, 2003).

Com relação a influência/aumento na ingestão alimentar causada pelo HIIT, isso não ocorreu para os camundongos treinados que habitaram em EA. Provavelmente esse efeito não ocorreu porque esses animais já apresentavam alta ingestão alimentar devido à elevada atividade metabólica requerida ao habitar nesse ambiente mais amplo. Além do comportamento alimentar, nossos resultados indicam que, considerando todo o período experimental, os camundongos mantidos em EA exibiram maior ingestão de água que os animais mantidos em EP, embora esse consumo tenha apresentado redução ao longo das semanas para todos os grupos. Uma alta necessidade de água pode indicar uma resposta termorreguladora (LEVY et al., 2016). Contrário ao que foi visto para os camundongos que habitaram em EA, HIIT aumentou ingestão alimentar e hídrica somente em camundongos que habitaram em EP. Esse achado demonstra claramente um efeito notável do HIIT no gasto energético, até em camundongos que habitaram o espaço mais reduzido.

Outro achado interessante observado quando o programa HIIT foi aplicado a longo prazo refere-se à influência dessa intervenção sobre os depósitos de gordura corporal. Aqui, observamos que camundongos treinados pelo modelo intervalado de alta intensidade foram protegidos contra acúmulo de gordura em algumas regiões corporais, algo que é tão objetivado pela população que efetua a adesão a programas de treinamento dessa natureza (SANTOS et al., 2017; GÓMEZ-CABELLO et al., 2012) e pontua positivamente para tal intervenção. De modo mais pronunciado, gordura retroperitoneal e gordura da carcaça foram reduzidas pelo HIIT em camundongos que habitaram os diferentes espaços, sugerindo efeitos positivos sobre esses depósitos tanto para indivíduos mais ativos, quanto para os mais próximos do sedentarismo. O HIIT também reduziu gordura epididimal, mas esse efeito só foi observado para os camundongos que habitaram em EP. Esse achado suporta a ideia de que gordura epididimal dos camundongos alojados em EA (um ambiente mais parecido com o selvagem) precisa ser resguardada para preservar a função androgênica. Além disso, existem estudos reportando que gordura epididimal, também conhecida como gordura gonadal e encontrada ao redor dos testículos, parece desenvolver um papel no status reprodutivo porque sua remoção inibe a espermatogênese em algumas espécies (CHU et al., 2010). Ainda, o sistema reprodutivo pode ser inibido com a diminuição do tecido adiposo tal como ocorre com privação de alimento ou exposição ao frio (BRONSON et al., 1991). Baseado em todas as informações existentes, é possível assumir que gordura corporal pode responder diferentemente aos desafios energéticos.

A princípio, acreditávamos que a melhora da AFE estimularia ainda mais o gasto energético podendo assim explicar a redução dos depósitos de gordura, mas essa possibilidade não foi confirmada em nossos resultados, uma vez que o fenótipo magro resultou a partir da aplicação do HIIT, não podendo ser atribuído à apenas a elevação da AFE promovida pelo espaço. É possível que outros fatores possam ter sido responsáveis pelo gasto energético em animais treinados pelo HIIT. Duas explicações se destacam na tentativa de identificar as causas por trás da alta oxidação de gordura obtida pelo HIIT. Primeiramente, elencamos a já conhecida elevação do consumo de oxigênio logo após a execução de uma sessão de exercício, denominada EPOC e, como segunda possibilidade, a elevação da taxa metabólica basal ao longo do tempo. A respeito do primeiro ponto, existem inúmeros estudos sugerindo a elevação a curto prazo no consumo de oxigênio em resposta a uma sessão de exercício (SARIS & SCHRAUWEN, 2004; SCHAUN et al., 2017), não devendo também ser ignorado que o exercício de alta intensidade também eleva a secreção de catecolaminas que, por sua vez, afetam a lipólise adiposa (TRAPP et al., 2007). Além do EPOC, é muito provável que a taxa metabólica basal (o maior componente do gasto energético diário) tenha sido alterada pelo HIIT nos

animais treinados. Nós observamos aumento na massa livre de gordura em camundongos treinados, sugerindo que aqueles animais tinham uma alta atividade metabólica durante os períodos de descanso. Essa afirmação pode ser suportada até sem medidas calorimétricas. Existem estudos suportando que a alta quantidade de massa muscular consome muita energia (POEHLMAN et al., 1992; SHARP et al., 1992; SPEAKMAN & SELMAN, 2003). No futuro, experimentos adicionais poderão contribuir para a compreensão sobre os caminhos pelos quais como o HIIT modula a taxa metabólica basal.

A respeito das adaptações na capacidade aeróbia almejadas com a prática do HIIT, inicialmente é válido destacar que optamos por realizar o treinamento a uma frequência de cinco vezes por semana para identificar os impactos da exposição ao HIIT de forma acumulativa sobre o organismo. Essa opção pautou-se em dois motivos específicos, sendo o primeiro para simular a adoção excessiva empregada em situações práticas com humanos, mesmo a literatura não indicando esse caminho como positivo (BENNELL et al., 1996; HIND et al., 2006). Ainda, optamos por esse caminho por estarmos investigando modelo com roedores, evitando muitos intervalos diários entre as sessões, já que, em roedores, o princípio da reversibilidade age de maneira bem pronunciada. Chimim e colaboradores (2009), por exemplo, observaram o início do processo de destreinamento já ocorrendo em ratos Wistar após dois dias de cessação de última sessão. Nessa perspectiva, é importante discutir porque o HIIT não foi suficiente para promover adaptações aeróbias em camundongos habitando em EP e EA. A falha em aumentar capacidade aeróbia em resposta ao HIIT pode ter ocorrido devido ao tempo insuficiente de exposição ao estímulo de exercício frente ao tempo de alojamento diário. A esse respeito, os camundongos realizaram um total de vinte minutos de esforço de 30 segundos em uma intensidade equivalente a 130% da velocidade crítica. Nós acreditamos que essa intensidade foi bem selecionada por estar inserida no domínio de intensidade severo (GAESSER & POOLE, 1996). Entretanto, em estudos futuros, a quantidade de sprints de corrida poderia ser aumentada. Por outro lado, o tempo de exercício reduzido por dia deve ser levado em consideração. A parte principal da sessão de HIIT apresentou a duração de 20 minutos, e essa porção de tempo pode ser considerada baixa se comparada com o tempo por dia que os camundongos vivem em suas gaiolas domésticas. Esse argumento pode explicar o não aumento da capacidade aeróbia nesses casos, mas não afirmar que o HIIT não possa ser efetivo para outras adaptações. Nossos resultados mostram a redução de gordura para animais submetidos a esse programa, sugerindo o ótimo potencial do HIIT no caso de alterações positivas da composição corporal. É oportuno observar que o HIIT foi capaz de melhorar a capacidade aeróbia, sendo essa determinada pelo modelo invasivo de lactato mínimo, de ratos Wistar que realizaram saltos em modelo de natação (ARAÚJO et al., 2016). Nesse sentido, estudos futuros serão necessários para examinar se a capacidade aeróbia ou

variáveis correlatas à performance física podem ser aumentadas com diferentes configurações do HIIT.

Por não termos observado algumas adaptações em camundongos que realizaram o HIIT como método de treino, a seguinte questão foi levantada: a AFE é tão importante quanto o planejamento/estrutura do exercício na promoção da saúde? Nós acreditamos que não somente a estratégia de treinamento, mas também os hábitos comuns da vida diária podem ser mais amplamente apreciados por fisiologistas do exercício. Baseado puramente nos dados discutidos até o presente em nosso estudo, é possível sugerir que um estilo de vida ativo (ex. alcançado pelo EA) pode ser mais interessante que o HIIT para aumentar a capacidade aeróbia. Nossos resultados mostram claramente que camundongos mantidos em EA (na ausência de treinamento físico) exibem maior capacidade aeróbia que camundongos mantidos em EP. Existem pelo menos duas explicações para esse achado. Uma é que a capacidade aeróbia pode ser aumentada devido à alta quantidade de atividade física acumulada no dia a dia. Nesse ponto, é oportuno comentar a respeito dos tipos de atividades incluídas dentro do escopo da AFE, tais como inquietação, forrageamento, empoleirar-se, aliciamento, criação, locomoção ambulatorial (GARLAND et al., 2011). Essas atividades podem ser análogas ao exercício aeróbio de baixa intensidade e longa duração, em que é efetivo em estimular a atividade mitocondrial (HOLLOSZY & COYLE, 1984). Por essa razão, não seria surpreendente encontrar uma mudança de substrato em direção ao aumento da oxidação de gordura em camundongos alojados em EA. Outra explicação para o aumento da capacidade aeróbia em camundongos mantidos em EA é que o músculo esquelético com características oxidativas desses animais tenha se tornado mais eficiente na liberação de lactato. Essa adaptação, provavelmente mediada pelo aumento na expressão de transportador monocarboxílico 1 (MCT-1) (JUEL & HALESTRAP, 1999; FELMLEE et al., 2019)) pode melhorar a tolerância ao exercício durante exercício de corrida, explicando portanto uma alta velocidade crítica. Embora não determinado nesse estudo, alterações no transporte de lactato são conhecidas por influenciar a capacidade aeróbia e performance de *endurance* (DUBOCHAUD et al., 2000). Além disso, tem sido demonstrado que a atividade muscular pode aumentar a captação de lactato (BAKER et al., 1998).

No que se refere aos estoques energéticos, não observamos alteração entre os grupos no conteúdo de glicogênio do músculo sóleo. Resultado bastante curioso, visto que por apresentar fibras de contração lenta (tipo 1) em maior proporção esperava-se aumento do glicogênio desse músculo para o grupo EA-C, devido a elevada AFE observada para tais roedores. Contudo, parece que a alteração na AFE diária não foi suficiente para alterar esse composto de forma significativa no músculo sóleo. Acrescentando a isso, é importante considerar que outras fontes de energia, tal como

glicose sanguínea e ácidos graxos livres e lipídeos intramuscular também são utilizados em exercício de leve intensidade e/ou prolongada duração (GOONICK et al., 1974). Em relação aos estoques de glicogênio do músculo gastrocnêmio, menores valores para o grupo EA-T foram visualizados em comparação aos grupos EP-C, EP-T e EA-C, resultado que pode ser entendido pela característica desse músculo, que apresenta predominância de fibras brancas (de contração rápida tipo II) estando de acordo com o estímulo que os animais receberam a partir do HIIT. Possivelmente, houve um efeito somatório de maior demanda energética advinda do aumento da AFE no espaço amplo. Além disso, outra questão importante que pode ter influenciado tal resultado foi o período noturno de 12 horas de jejum que antecedeu a eutanásia, momento em que os roedores costumam se alimentar e se movimentar de modo mais pronunciado (AYALA et al., 2006; AGOUNI et al., 2010). Considerando que o metabolismo dos animais do grupo EA-T tornou-se mais rápido após o longo período de treinamento, é de se esperar que a atividade de procurar por alimento, também conhecida como forrageamento, tenha aumentado de acordo com o avanço do tempo em jejum, ocasionando maior depleção dos estoques de glicogênio.

Adicionalmente, foi observado redução de glicogênio hepático para os grupos EP-T, EA-C e EA-T em relação ao grupo EP-C, o que é coerente se pensarmos que uma elevada depleção do glicogênio hepático é uma forte evidência de que os animais dos grupos treinados (EP-T e EA-T) junto ao grupo EA-C possuíram uma elevada demanda de energia a fim de manter a atividade metabólica adquirida durante as semanas de treinamento e permanência em espaço amplo. Somando-se a isso, é válido ressaltar novamente o impacto que o período de 12 horas de jejum anteriormente a eutanásia pode ter impactado no glicogênio hepático, como já observado na literatura (IRIMIA et al., 2010), aumentando a depleção desse composto nos grupos treinados e que habitaram em EA. Por fim, observamos maiores valores de glicogênio cardíaco para o grupo EA-T em relação aos grupos EP-C, EP-T e EA-C, resultado que pode ser explicado a partir da frequente elevação da frequência cardíaca característica do HIIT, somada às atividades diárias de baixa intensidade, que podem ter ampliado a capacidade do músculo cardíaco de estocar glicogênio. Cabe destacar que o glicogênio cardíaco mais elevado indica um efeito positivo do HIIT e protetor desse tecido, já que esse estoque supre a energia essencialmente do próprio coração, não sendo depletado para disponibilizar glicose a outros compartimentos envolvidos com o esforço físico, como por exemplo o músculo esquelético.

Outra interessante investigação levantada pelo nosso estudo refere-se aos efeitos do HIIT a longo prazo, também sobre o tecido ósseo. Nossa principal dúvida a esse respeito estava relacionada aos impactos (positivos e negativos) de exercícios de alta intensidade sobre a estrutura óssea, incluindo talvez o aumentar do risco de fratura óssea principalmente para grupos menos ativos ou

sedentários. Nossos resultados mostraram que a prática de dez semanas de HIIT diminuiu a resistência óssea dos camundongos. Essa alegação tem por base a menor tenacidade observada para o grupo EA-T em comparação ao grupo EA-C, parâmetro este que representa a absorção de energia até a ocorrência da fratura (SHIMANO & VOLPON, 2009), de forma que podemos entendê-la como a capacidade do tecido ósseo de resistir a uma força externa imposta. Nesse sentido, mesmo sem observarmos diferença entre os grupos para outros parâmetros biomecânicos, como carga máxima, resiliência e rigidez, ou mesmo parâmetros biofísicos como densidade mineral, volume e densidade óssea, os quais poderiam indicar alterações importantes nas propriedades biomecânicas e biofísicas do osso (SHIGUEMOTO et al., 2012), a redução da tenacidade atenta em sinalizar uma alteração da resistência óssea após a realização do HIIT, podendo esse fator favorecer a ocorrência de fratura óssea futura. Ainda com relação aos efeitos sobre o tecido ósseo, também foi observada uma interação entre o treinamento e o espaço habitacional para o deslocamento no ponto de fratura do fêmur, com maiores valores para o grupo EA-C comparado ao EA-T.

Diante dos efeitos supracitados e considerando as alterações na estrutura óssea identificadas, o HIIT parece gerar efeitos colaterais a longo prazo, ao menos sobre esse tecido. À vista disso, alguns estudos envolvendo esforços de alta intensidade, têm sugerido efeito negativo na reabsorção óssea e aumento do risco de fratura por estresse em humanos (BENNEL et al., 1996; HIND et al., 2006), indicando também que alto nível de exercício não mostrou efeito significativo tanto na formação quanto reabsorção óssea (ZHANG et al., 2017). Por outro lado, nossos achados indicam que elevado nível de AFE diária, ação semelhante a um exercício físico aeróbico como já discorrido anteriormente, pode gerar resultados positivos para a resistência óssea, conforme observamos com o aumento da tenacidade para os camundongos do grupo EA-C. Tal afirmação está em conformidade com os achados de Hamrick et al. (2006) e Takagi et al. (2017), que observaram aumento da densidade mineral óssea e inibição da reabsorção óssea de camundongos normais e diabéticos, respectivamente, após treinamento aeróbico. No entanto, mesmo com estudos indicando o treinamento aeróbico como método mais positivo, os mecanismos pelos quais diferentes intensidades de exercício regulam o remodelamento ósseo permanecem incertos e outras investigações são necessárias para melhor compreensão desse processo.

Outro resultado encontrado refere-se aos níveis hormonais de corticosterona sérica identificados nos camundongos. De acordo com nossos achados, os animais do grupo controle mantidos em EA apresentaram concentrações de corticosterona mais elevadas em relação aos animais controle e treinados alojados em EP. Nesse sentido, erroneamente poderíamos sugerir que o EA é um ambiente estressante, capaz de elevar o estresse crônico para os camundongos controle mantidos no

EA. Por outro lado, destacamos que os níveis de corticosterona obtidos aqui para todos os grupos são absolutamente baixos quando comparados com outros estudos que aplicaram treinamento físico a roedores (DE ARAUJO et al., 2016), ou mesmo que adotaram modelo de estresse (CONTARTEZE et al., 2007; ROSA et al., 2013; ROECKNER et al., 2017). Além disso, considerando a função catabólica do hormônio corticosterona, sendo capaz de alterar a utilização de gordura (DEDOVIC et al., 2009), seu aumento pode ter contribuído com a redução de gordura corporal observada para o grupo EA-C. Ainda, é importante destacar que esse estresse fisiológico mais pronunciado para o grupo EA-C é condizente com um estilo de vida mais intenso. Em acréscimo a isso, de acordo com nossos resultados de massa da glândula adrenal, local responsável pela produção e secreção da corticosterona, não houve hipertrofia nesse tecido, de forma que embora tenha ocorrido leve diferença entre os grupos, não houve alteração patológica, indicando apenas alteração fisiológica desse hormônio.

No que se refere especificamente aos efeitos do HIIT sobre a corticosterona, esse modelo de treino não elevou essa concentração hormonal para os animais treinados, alojados em EA, sugerindo que o HIIT pode ter provocado um efeito protetivo nos roedores nos demais momentos do dia, devido à alta intensidade desse treinamento. Novamente, destacamos que, embora com alguma alteração entre os grupos, as concentrações de corticosterona observadas em nosso estudo parecem estar reduzidas, mas estão coerentes com alguns estudos observados na literatura, os quais apresentaram níveis entre 1,1 e 6,5 ng/ml para animais com características similares aos nossos modelos (ALDAD et al., 2012; GARCIA-PARDO., 2015). Considerando que a coleta de sangue de nosso experimento ocorreu no período matutino (7h e 10h da manhã) e que a resposta ao ciclo circadiano da corticosterona apresenta menores concentrações nesse período (DROSTE et al., 2003; GASPARINI et al., 2016), acreditamos que esses níveis baixos para o hormônio possam ser também explicados pelo período.

Em conjunto, nossos resultados apontam para benefícios bastante evidenciados quando da adoção de maior nível de atividade física diária, aqui representado pelo aumento do espaço habitacional de camundongos. Quando ao emprego do HIIT à longo prazo, alguns benefícios foram observados, como a manutenção de um fenótipo magro, mesmo para animais com menores níveis de AFE. Por outro lado, esse modelo de treinamento, ao menos como da maneira aqui proposta, não foi efetivo em melhorar as capacidades aeróbia e anaeróbia de camundongos e, quando associado com elevado nível de atividade física diária, gerou um impacto negativo ao tecido ósseo, especialmente sobre a tenacidade.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Em síntese, respondendo especificamente às perguntas elencadas por essa dissertação:

- i) A exposição a diferentes espaços habitacionais promove distintas adaptações e níveis de estresse em resposta ao HIIT?

Sim, habitar em amplo espaço promoveu melhoras na capacidade aeróbia e potencializou os ganhos relacionados a composição corporal, além de indicar efeitos positivos na tenacidade óssea. Por outro lado, espaço padrão limitou os ganhos de capacidade aeróbia, mas não alterou os efeitos positivos de redução da gordura corporal advindo do HIIT.

- ii) Um espaço favorável ao sedentarismo potencializa o estresse dos animais em resposta ao HIIT se comparado à manutenção dos roedores em espaço que favorece o aumento da atividade física espontânea?

Não, o estresse dos animais não aumentou em decorrência da habitação em espaço reduzido após a prática do HIIT, visto que os níveis de corticosterona sérica bem como as variáveis do tecido ósseo se encontraram semelhantes para os grupos treinados de ambos os espaços.

- iii) As capacidades aeróbia e anaeróbia analisadas em corrida sofrem adaptações de maneira diferente se comparados animais mais ou menos ativos submetidos ao HIIT?

Sim, animais mais ativos submetidos ao HIIT melhoraram a capacidade aeróbia. Em contrapartida, animais menos ativos não apresentaram ganhos significativos de capacidade aeróbia e anaeróbia após serem submetidos ao mesmo treinamento.

- iv) As respostas relacionadas à composição corporal, estoques de glicogênio muscular e impactos osteomusculares, sofrem influência da condição prévia de organismos submetidos cronicamente ao HIIT?

A condição prévia não influenciou nas respostas do HIIT relacionadas à composição corporal e nos impactos osteomusculares. Contudo, o amplo espaço ampliou a capacidade do músculo cardíaco estocar glicogênio, bem como aumentou a depleção de glicogênio do músculo gastrocnêmio.

v) O HIIT e/ou espaço habitacional promoveram alterações no tecido ósseo?

Sim, o HIIT alterou a tenacidade óssea nos animais que habitaram em amplo espaço. Já o efeito do amplo espaço habitacional isolado indicou ser positivo para a melhora da tenacidade óssea.

Como perspectivas futuras,

Em síntese, os resultados da presente dissertação mostraram que o HIIT apresenta efeitos benéficos a nível de metabolismo energético, como observado com a redução de gordura corporal e manutenção do fenótipo magro para os animais que realizaram o treinamento. No entanto, alguns efeitos não desejados também foram observados, principalmente com relação ao estresse ósseo a longo prazo, sendo que em dez semanas a tenacidade do fêmur deu indícios de estar reduzindo ao longo do tempo. Ainda, houve redução da AFE no período extra treino, que pode representar apenas um resguardo físico para o momento do treinamento, mas também existe a possibilidade desse resultado refletir um desgaste excessivo advindo do treinamento, na medida que os camundongos podem ter entrado em *overtraining* e, conseqüentemente reduzido a AFE ao longo do dia. Nesse sentido, embora a prática do HIIT não tenha refletido no aumento do hormônio corticosterona, investigações futuras serão importantes para desvendar melhor os impactos desse treinamento em vias que modulam o estresse em outros níveis fisiológicos, como cerebral e muscular.

De modo geral, os resultados encontrados em nosso estudo evidenciam a importante função dos hábitos diários no desenvolvimento da saúde e qualidade de vida. Na presente investigação, o amplo espaço habitacional impactou positivamente na melhora do condicionamento físico e na composição corporal de roedores. Por outro lado, o espaço padrão restringiu os ganhos de capacidade aeróbia, além de favorecer o desenvolvimento de um perfil sedentário em camundongos. Em vista disso, trazendo para o contexto humano, onde tem sido comum pessoas com rotinas diárias bastante inativas, é coerente alertar o quanto essa rotina de vida com baixos níveis de atividade física pode reduzir a qualidade de vida. Em contrapartida, ambientes que estimulam e favorecem a atividade física de fato podem impactar consideravelmente em benefícios para saúde corporal em diferentes níveis, aumentando conseqüentemente a qualidade de vida a longo prazo. Dessa forma, é benéfico consiliar a prática de exercício físico, já conhecido por sua importância no desenvolvimento da massa muscular e saúde cardiovascular, com ambientes e hábitos diários que, aumentam o gasto energético, e podendo até contribuir com a saúde psicológica ao reduzir o nível de estresse.

Diante disso, ciente dos benefícios advindos da prática sistematizada do exercício físico a saúde, bem como da prudência necessária ao se propor métodos de treinamento de grande exigência física, sobretudo para populações com físico despreparado, novas investigações podem ser desenvolvidas. Um caminho interessante e que pode ser bastante explorado em pesquisas futuras é investigar os efeitos do HIIT e do amplo espaço habitacional em respostas metabólicas e biomoleculares, e suas relações com o músculo esquelético e neurotransmissores ligados ao bem estar e o estresse físico. Esse caminho investigativo pode contribuir com o avanço na compreensão dos impactos dessas duas intervenções (HIIT e espaço habitacional) tão evidentes atualmente na modulação de aspectos relacionados a saúde e qualidade de vida.

7. REFERÊNCIAS

- AGOUNI, A.; OWEN, C.; CZOPEK, A.; MODY, N.; DELIBEGOVIC, M. In vivo differential effects of fasting, re-feeding, insulin and insulin stimulation time course on insulin signaling pathway components in peripheral tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 401, n. 1, p. 104–111, 2010.
- AIKAS, E.; PIIRONEN, M. J.; RUOSTEENOJA, R. Intramuscular , Rectal and Oesophageal Temperature During Exercise. **Acta Physio. scand.**, v. 54, p. 366–370, 1962.
- AKHTER, M. P.; WELLS, D. J.; SHORT, S. J.; CULLEN, D. M.; JOHNSON, D. M.; HAYNATZKI, G. R.; BABIJ, P.; ALLEN, K. M.; YAWORSKY, P. J.; BEX, F.; BEX, F.; RECKER, R. R. Bone biomechanical properties in LRP5 mutant mice. **Bone**, v. 35, n. 1, p. 162–169, 2004.
- ALDAD, T. S.; GAN, G.; GAO, X. B.; TAYLOR, H. S. Erratum: Fetal radiofrequency radiation exposure from 800-1900 Mhz-rated cellular telephones affects neurodevelopment and behavior in mice (Scientific Reports). **Scientific Reports**, v. 3, p. 1320, 2013.
- ALIZADEH, H.; SAFARZADE, A. High intensity intermittent training induces anti-inflammatory cytokine responses and improves body composition in overweight adolescent boys Abstract : **Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation**, p. 1–8, 2019.
- ASTORINO, T. A.; ALLEN, R. P.; ROBERSON, D. N.; JURANCICH, M.; LEWIS, R.; MCCARTHY, K. Attenuated RPE and leg pain in response to short-term high-intensity interval training. **Physiology and Behavior**, v. 105, n. 2, p. 402–407, 2012.
- ASTORINO, T. A.; CLARK, A.; ROSA, A.; REVERE, J. Enjoyment and affective responses to two regimes of high intensity interval training in inactive women with obesity interval training in inactive women with obesity. **European Journal of Sport Science**, v. 0, n. 0, p. 1–9, 2019.
- AYALA, J. E.; BRACY, D. P.; MCGUINNESS, O. P.; WASSERMAN, D. H. Considerations in the design of hyperinsulinemic-euglycemic clamps in the conscious mouse. **Diabetes**, v. 55, n. 2, p. 390–397, 2006.
- BAKER, S. K.; MCCULLAGH, K. J. A.; BONEN, A. Training intensity-dependent and tissue-specific increases in lactate uptake and MCT-1 in heart and muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 84, n. 3, p. 987–994, 1998.
- BALLIN, M.; LUNDBERG, E.; SORLEN, N.; NORDSTROM, P.; HULT, A.; NORDSTROM, A. Effects of Interval Training on Visceral Adipose Tissue in Centrally. **The American Geriatrics Society**, v. 67, p. 1625–1631, 2019.
- BARTLETT, J. D.; CLOSE, G. L.; MACLAREN, D. P. GREGSON, W.; DRUST, B.; MORTON, J. P. High-intensity interval running is perceived to be more enjoyable than moderate-intensity

continuous exercise : Implications for exercise adherence adherence. v. 0414, 2011.

BARTLETT, D. B. Ten weeks of high-intensity interval walk training is associated with reduced disease activity and improved innate immune function in older adults with rheumatoid arthritis: A pilot study. **Arthritis Research and Therapy**, v. 20, n. 1, p. 1–15, 2018.

BECK, W. R., SCARIOT, P. P. M., CARMO, S. S., MANCHADO-GOBATTO, F. B., GOBATTO, C. A. Metabolic profile and spontaneous physical activity modulation under short-Term food restriction in young rats. **Motriz. Revista de Educacao Fisica**, v. 23, p. 1–7, 2017.

BENNELL, K. L.; MOLCOLM, S. A.; THOMAS, S. A.; BRUKNER, P. D.; EBERLING, P. R.; WARK, J. D. Risk factors for stress fractures in track and field athletes: A twelve- month prospective study. **American Journal of Sports Medicine**, v. 24, n. 6, p. 810–818, 1996.

BENNELL, K. L.; KHAN, K. M.; WARMINGTON, S.; FORWOOD, M. R.; WARK, J. D. Age does not influence the bone response to treadmill exercise in female rats. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 12, p. 1958–1965, 2002.

BIESIADECKI, B. J.; BRAND, P. H.; KOCH, L. H.; BRITTON, S. L. A gravimetric method for the measurement of total spontaneous activity in rats. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 222, n. 1, p. 65–69, 1999.

BILLAT, L.; SIRVENT, P.; PY, G.; KORALSZTEIN, J.; MERCIER, J. The Concept of Maximal Lactate Steady State A Bridge Between Biochemistry , Physiology and. **Sport Medicine**, v. 33, n. 6, p. 407–426, 2003.

BILLAT, V. L.; MOUISEL, E.; ROBLOT, N.; MELKI, J. Inter- and intrastrain variation in mouse critical running speed. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, n. 4, p. 1258–1263, 2005.

BILLAT L, V. Interval Training for Performance: A Scientific and Empirical Practice: Special Recommendations for Middle- and Long-Distance Running. Part I: Aerobic Interval Training. **Sport. Med.**, v. 31, n. 1, p. 13–31, 2001.

BONATO M, TORRE L. A, SARESELLA M, MARVENTANO I, M. G. AND V. A. J. **Salivary Cortisol concentration after HIIT: Time of day and chronotype effect.pdf**MilanoChronobiology International, , 2017.

BOUTCHER, S. H. High-Intensity Intermittent Exercise and Fat Loss. **Journal of Obesity**, v. 2011, p. 1–10, 2011.

BRONSON, F. H.; HEIDEMAN, P. D.; KERBESHIAN, M. C. Lability of fat stores in peripubertal wild house mice. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 161, n. 1, p. 15–18, 1991.

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

- BUCHHEIT, M.; LAURSEN, P. B. High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle: Part II: Anaerobic energy, neuromuscular load and practical applications. **Sports Medicine**, v. 43, n. 10, p. 927–954, 2013b.
- BURGOMASTER, K. A.; HEIGENHAUSER, G. J. F.; GIBALA, M. J. Effect of short-term sprint interval training on human skeletal muscle carbohydrate metabolism during exercise and time-trial performance. **Journal of Applied Physiology**, v. 100, n. 1, p. 2041–2047, 2006.
- 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 - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 140, n. 4, p. 409–413, 2005.
- CHAUSSÉ, B. S. C., CALDEIRA DA SILVA, C. C., DOS REIS, I. G. M., MANCHADO-GOBATTO, F. B., GOBATTO, C. A. Intermittent fasting induces hypothalamic modifications resulting in low feeding efficiency, low body mass and overeating. **Endocrinology**, v. 155, n. 7, p. 2456–2466, 2014.
- CHIMIN, P., ARAÚJO, G. G., MANCHADO-GOBATTO, F. B., GOBATTO, C. A. Critical load during continuous and discontinuous training in swimming Wistar rats. **Motricidade**, v. 5, n. 4, p. 45-58, 2009.
- CHU, Y., HUDDLESTON, G. G., CLANCY, A. N., HARRIS, R. B. S., BARTNESS, T. J. Epididymal fat is necessary for spermatogenesis, but not testosterone production or copulatory behavior. **Endocrinology**, v. 151, n. 12, p. 5669–5679, 2010.
- CONTARTEZE, R. LEDESMA, V. et al. Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 151, n. 3, p. 415–422, 2008.
- DAGGAN, R. N.; ZAFEIRIDIS, K.; DIPLA, K.; PUGLIA, C. D.; CATALANO, E.; KENDRICK, Z. V. The effects of chronic exercise on anesthesia induced hepatotoxicity. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 32, n. 12, p. 2024–2028, 2000.
- DAVIS, C. T. M. Applied Physiology in Relation to Sex and Age. **European Journal of Applied Physiology**, v. 79, p. 71–79, 1979.
- DE ARAÚJO, G. G.; PAPOTI, M.; DOS REIS, I. G. M.; MELLO, M. A.; GOBATTO, C. A. Physiological responses during linear periodized training in rats. **European Journal of Applied Physiology**, v. 112, n. 3, p. 839–852, 2012.
- DECKER, E. S.; EKKEKAKIS, P. More efficient, perhaps, but at what price? Pleasure and enjoyment responses to high-intensity interval exercise in low-active women with obesity. **Psychology of Sport and Exercise**, v. 28, p. 1–10, 2017.

- DEDOVIC, K. DUCHESN, A.; ANDREWS, J.; ENGERT, V.; PRUESSNER, J C. The brain and the stress axis: The neural correlates of cortisol regulation in response to stress. **NeuroImage**, v. 47, n. 3, p. 864–871, 2009.
- LIMA, D.; ULBRICHT, A. S. F. F.; MAGRO, D. D.; SALAMAIA, E. M.; QUEVEDO, S. R.; DESORDI, L. Effects of two aerobic exercise training protocols on parameters of oxidative stress in the blood and liver of obese rats. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 68, n. 5, p. 699–706, 2017.
- DROSTE, S. K.; GESING, A.; ULBRICHT, S.; MULLER, M. B.; LINTHORST, A. C. E.; REUL, J. M. H. M. Effects of Long-Term Voluntary Exercise on the Mouse. **Endocrinology**, v. 144, n. 7, p. 3012–3023, 2007.
- DUBOUCHAUD, H., BUTTERFIELD, G. E., WOLFEL, E. E., BERGMAN, B. C., BROOKS, G. A. Endurance training, expression, and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 278, n. 4 41-4, p. 571–579, 2000.
- EATON, M.; GRANATA.; BARRY, J.; SAFDAR, A.; BISHOP, D.; LITTLE, J. Impact of a single bout of high-intensity interval exercise and short-term interval training on interleukin-6, FNDC5, and METRN mRNA expression in human skeletal muscle. **Journal of Sport and Health Science**, v. 7, n. 2, p. 191–196, 2018.
- FAUDE, O.; KINDERMANN, W.; MEYER, T. Lactate Threshold Concept, How Valid are They? **Sports Medicine**, v. 39, n. 6, p. 469–490, 2009.
- FELMLEE, M. A.; JONES, R. S.; RODRIGUEZ-CRUZ, V.; FOLLMAN, K. E.; MORRIS, M. E. Monocarboxylate Transportes (SLC16): Function, regulation, and Role in Health and Disease. **Pharmacological Reviews**, v. 72, p. 466-485, 2020.
- FIORENZA, M.; GUNNARSSON, T. P. Metabolic stress-dependent regulation of the mitochondrial biogenic molecular response to high-intensity exercise in human skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, v. 14, p. 2823–2840, 2018.
- FREITAS, D. A.; VIEIRA, E. R.; SOARES, B. A.; NONATO, L. F.; FONSECA, S. R.; MARTINS, J. B.; MENDONÇA, V. A.; LACERDA, A. C.; MASSENSINI, A. R.; PORRTAMNS, J. R.; MEEUSEN, R.; LEITE, H. R. High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. **Physiology and Behavior**, v. 184, n. September 2017, p. 6–11, 2018.
- GAESSER, G. A., POOLE, D. C. The slow component of oxygen uptake kinetics in humans. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 24, n. 1, p. 35–70, 1996.

- GAO, X. B., HORVATH, T. L. Feeding Behavior: Hypocretin/Orexin Neurons Act between Food Seeking and Eating. **Current Biology**, v. 26, n. 18, p. R845–R847, 2016.
- GARCÍA-PARDO, M. P.; BLANCO-GANDÍA, M. C.; VALIENTE-LLUCH, M.; RODRÍGUEZ-ARIAS, M.; MINARRO, J.; AGUILAR, M. A. Long-term effects of repeated social stress on the conditioned place preference induced by MDMA in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 63, p. 98–109, 2015.
- GARLAND, T., SCHUTZ, H., CHAPPELL, M. A., MEEK, T. H., COPE, L. E., ACOSTA, W., DRENOWATZ, C., MACIEL, R. C., DIJK, G. V., KOTZ, C. M., Eisenmann, J. C. The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: Human and rodent perspectives. **Journal of Experimental Biology**, v. 214, n. 2, p. 206–229, 2011.
- GASPARINI, S. J.; WEBER, MC.; HENNEICKE, H.; KIM, S.; ZHOU, H.; SEIBEL, M. J. Continuous corticosterone delivery via the drinking water or pellet implantation : A comparative study in mice. **Steroids**, v. 116, p. 76–82, 2016.
- GIBALA, M. J.; LITTLE, J.; ESSEN, M.; WILKIN, G.; BURGOMASTER, K. A.; SAFDAR, A.; RAHA, S.; TARNOPOLSKY, M. A. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: Similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. **Journal of Physiology**, v. 575, n. 3, p. 901–911, 2006.
- GIBALA, M. J. LITTLE, J.P., MACDONALD, M. J.; HAWLEY, J. A. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. **Journal of Physiology**, v. 590, n. 5, p. 1077–1084, 2012.
- GIBALA, M. J.; MCGEE, S. L. Metabolic Adaptations to Short-term High-Intensity Interval Training: A little Pain for a Lot of Gain? **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 36, n. 2, p. 58–63, 2008.
- GILLEN, J. B.; GIBALA, M. J. Is high-intensity interval training a time-efficient exercise strategy to improve health and fitness ? v. 412, n. September 2013, p. 409–412, 2013.
- Gillen, J. B., gibala, M. J. Is high-intensity interval training a time-efficient exercise strategy to improve health and fitness? **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 39, n. 3, p. 409–412, 2018.
- GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A.; SIBUYA.; AZEVEDO, R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 130, n. 1, p. 21–27, 2001.
- GOLLNICK, P.; PIEHL, K.; SALTIN, B. Gymnastik-och idrottshogskolan, Stockholm,. **Journal of**

Physiological Sciences, v. 241, p. 45–57, 1974.

GONDIM, F. J.; ZOPPI, C. C.; SILVA, L. C.; MACEDO, D. V. Determination of the anaerobic threshold and maximal lactate steady state speed in equines using the lactate minimum speed protocol.

Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology, v. 146, n. 3, p. 375–380, 2007.

GRACE, F.; HERBERT, P.; ELLIOT, A. D.; RICHARDS, J.; BEAUMONT, A.; SCULTHORPE, N. F. High intensity interval training (HIIT) improves resting blood pressure , metabolic (MET) capacity and heart rate reserve without compromising cardiac function in sedentary aging men.

Experimental Gerontology, v. 109, p. 75–81, 2018.

GUERTIN, P. A.; UNG, ROTH-VISAL. ROULEAU, P.; STEUER, I. Effects on locomotion, muscle, bone, and blood induced by a combination therapy eliciting weight-bearing stepping in nonassisted spinal cord-transected mice. **Neurorehabilitation and Neural Repair**, v. 25, n. 3, p. 234–242, 2011.

HAMRICK, M. W.; SKEDROS, J. G.; PENNINGTON, C.; MCNEIL, P. L. Increased osteogenic response to exercise in metaphyseal versus diaphyseal cortical bone. **J Musculoskelet Neuronal Interact**, v. 6, n. 3, p. 258–263, 2006.

HERMAN, J. P.; FIGUEIREDO, H.; MUELLER, N. C.; ULRICH-LAI, Y.; OSTRANDER, M. M.; CHOI, D. C.; CULLINAN, W. E. Central mechanisms of stress integration : hierarchical circuitry controlling hypothalamo – pituitary – adrenocortical responsiveness. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 24, p. 151–180, 2003.

HERMANN, R.; BIALLAS, B.; PREDEL, H. PETROWSKI, K. Physical versus psychosocial stress : effects on hormonal , autonomic , and psychological parameters in healthy young men. **Stress The international J on the Biology of Stress**, v. 0, n. 0, p. 1–10, 2018.

HIND, K.; TRUSCOTT, J. G.; EVANS, J. A. Low lumbar spine bone mineral density in both male and female endurance runners. **Bone**, v. 39, p. 880–885, 2006.

HILL, E. E.; ZACK, E.; BATTAGLINI, C.; VIRU, M.; VIRU, A.; HACKNEY, A. C. Exercise and circulating cortisol levels : The intensity threshold effect. **J Endocrinol. Invest**, v. 31, p. 587–591, 2008.

HOLLOSZY, J. O., COYLE, E. F. Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. **Journal of Applied Physiology**, v. 121, n. 6, p. 831–838, 1984.

HOSHI, A.; WATANABE, H.; CHIBA, M.; INABA, Y. Effects of exercise at different ages on bone density and mechanical properties of femoral bone of aged mice. **The Tohoku journal of experimental medicine**, 1998.

IRIMIA, J. M.; MEYER, C. M.; PEPER, C. L.; ZHAI, L.; BOCK, C. B.; PREVIS, S. F.; MCGUINNESS, O. P.; DEPAOLI-ROACH, A.; ROACH, P. J. Impaired glucose tolerance and

predisposition to the fasted state in liver glycogen synthase knock-out mice. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 17, p. 12851–12861, 2010.

IKEDA, M., SAGARA, M., INOUÉ, S. Continuous exposure to dim illumination uncouples temporal patterns of sleep, body temperature, locomotion and drinking behavior in the rat. **Neuroscience Letters**, v. 279, n. 3, p. 185–189, 2000.

JONES, A. M., VANHATALO, A., BURNLEY, M., MORTON, R. H., POOLE, D. C. Critical power: Implications for determination of $\dot{V}O_{2\max}$ and exercise tolerance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 42, n. 10, p. 1876–1890, 2010.

JOYNER, M. J. Exercise and trainability: contexts and consequences. **Journal of Physiology**, v. 595, n. 11, p. 3239–3240, 2017.

JUEL, G., Halestrap, A. P. Lactate transport in skeletal muscle - Role and regulation of the monocarboxylate transporter. **Journal of Physiology**, v. 517, n. 3, p. 633–642, 1999.

KEATING, S. E.; JOHNSON, N. A.; MIELKE, G. I.; COOMBES, J. S. A systematic review and meta-analysis of interval training versus moderate-intensity continuous training on body adiposity. **Obesity Reviews**, v. 18, n. 8, p. 943–964, 2017.

KEMMLER, W.; SCHARF, M.; LELL, M.; PETRASEK, C.; STENGEL, S. High versus moderate intensity running exercise to impact cardiometabolic risk factors: The randomized controlled rush-study. **BioMed Research International**, v. 2014, n. I, 2014.

KILIAN, Y.; ENGEL, F.; WAHL, P.; ACHTZEHN, S.; SPERLICH, B.; MESTER, J. Markers of biological stress in response to a single session of high - intensity interval training and high - volume training in young athletes. **European Journal of Applied Physiology**, v. 116, n. 11, p. 2177–2186, 2016.

KIRSTEN A. BURGOMASTER, KRISTA R. HOWARTH, STUART M. PHILLIPS, MARK RAKOBOWCHUK, MAUREEN J. MACDONALD, S. L. M. AND M. J. G. Influence of exhaustive exercise on the immune system in solid organ transplant recipients. **Exercise Immunology Review**, v. 16, p. 184–193, 2008.

KOENEN, K.; KNEPPER, I.; KLODT, M.; OSTERBERG, A.; STRATOS, L.; MITTLMEIER, T.; HISTING, T.; MENDER, M. D.; VOLLMAR, B.; BRUHN, S.; HILKE, B. M. Sprint interval training induces a sexual dimorphism but does not improve peak bone mass in young and healthy mice. **Scientific Reports**, v. 7, n. March, p. 1–10, 2017.

KOTZ, C. M. Integration of feeding and spontaneous physical activity: Role for orexin. **Physiology and Behavior**, v. 88, n. 3, p. 294–301, 2006.

KRIEL, Y.; ASKEW, C. D.; SOLOMON, C. The effect of running versus cycling high-intensity

intermittent exercise on local tissue oxygenation and perceived enjoyment in 18–30-year-old sedentary men. **PeerJ**, v. 6, p. e5026, 2018.

LAFORGIA, J.; WITHERS, R. T.; GORE, C. J. Effects of exercise intensity and duration on the excess post-exercise oxygen consumption. **Journal of Sports Sciences**, v. 414, p. 1247–1264, 2006.

LAURSEN P, B. The scientific basis for high intensity interval training - optimising training programmes and maximising performance in highly trained endurance athletes. **Sports Medicine**, v. 32, n. 1, p. 52–73, 2002.

LEVY, O., DAYAN, T., PORTER, W.P., KRONFELD-SCHOR, N. Foraging activity pattern is shaped by water loss rates in a diurnal desert rodent. **American Naturalist**, v. 188, n. 2, p. 205–218, 2016.

LIM, C. L.; BYRNE, C.; LEE, J. K. W. Human Thermoregulation and Measurement of Body Temperature in Exercise and Clinical Settings. **Thermoregulation in Sport and Exercise**, v. 37, n. 4, p. 347–353, 2008.

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

LUNDBY, C.; JACOBS, R. A. Adaptations of skeletal muscle mitochondria to exercise training. **Experimental Physiology**, v. 101, n. 1, p. 17–22, 2016.

MACINNIS, M. J.; GIBALA, M. J. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. **Journal of Physiology**, v. 595, n. 9, p. 2915–2930, 2017.

MAILLARD, F.; PEREIRA, B.; BOISSEAU, N. Effect of High-Intensity Interval Training on Total , Abdominal and Visceral Fat Mass : A Meta-Analysis. **Sports Medicine**, v. 48, n. 2, p. 269–288, 2018.

MANCHADO-GOBATTO, F. B.; GOBATTO, C. A.; LEDESMA, R. C.; PAPOTI, M.; DE ARAUJO, G. G.; MELLO, M. A. R. Determination of critical velocity and anaerobic capacity of running rats. **Journal of Exercise Physiology Online**, v. 13, n. 4, p. 40–50, 2010.

MANCHADO-GOBATTO, F. B.; DE ARAUJO, G. G.; RIBEIRO, C.; ARAÚJO, M. B.; MOTA, C. S. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Effects of light-dark cycle manipulation on critical velocity and anaerobic running capacity in Wistar rats. **Comparative Exercise Physiology**, v. 8, n. 1, p. 71–77, 2012.

MARTIN, B., JI, S., MAUDSLEY, S., MATTSON, M.P. Control laboratory rodents are metabolically morbid: why it matters. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, 6127-6133, 2010.

- MESA-GRESA, P.; RAMOS-CAMPOS, M.; REDOLAT, R. Corticosterone levels and behavioral changes induced by simultaneous exposure to chronic social stress and enriched environments in NMRI male mice. **Physiology and Behavior**, v. 158, p. 6–17, 2016.
- MOES, J.R., HOLDEN, J.E. Characterizing activity and muscle atrophy changes in rats with neuropathic pain: a pilot study. *Biol. Res. Nurs.* 16, 16–22, 2014.
- MONOD, H., SCHERRER, J. The work capacity of a synergic muscular group. **Ergonomics**, v. 8, n. 3, p. 329–338, 1965.
- NICOLINI, C.; TOEPP, S.; HARASYM, D.; MICHALSKY, B.; FAHNESTOCK, M.; GIBALA, M. J.; NELSON, A. J. No changes in corticospinal excitability , biochemical markers , and working memory after six weeks of high-intensity interval training in sedentary males. **Physiological Reports**, v. 7, p. 1–15, 2019.
- Parker, V., Morinan, A. The socially-isolated rat as a model for anxiety. **Neuropharmacology**, v. 25, n. 6, p. 663–664, 1986.
- PERRY, C. G. R., HEIGENHAUSER, G. J. F., BONEN, A., SPRIET, L. L. High-intensity aerobic interval training increases fat and carbohydrate metabolic capacities in human skeletal muscle. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 33, n. 6, p. 1112–1123, 2008.
- PICARD, S.; LAPOINTE, N. P.; BROWN, J. P.; GUERTIN, P. A. Histomorphometric and densitometric changes in the femora of spinal cord transected mice. **Anatomical Record**, v. 291, n. 3, p. 303–307, 2008.
- POEHLMAN, E. T., GARDNER, A.W., ADES, P.A., KATZMAN-ROOKS, S.M., MONTGOMERY, S.M., ATLAS, O.K., BALLOR, D.L., TYZBIR, R.S. Resting energy metabolism and cardiovascular disease risk in resistance-trained and aerobically trained males. **Metabolism**, v. 41, p. 1351–1360, 1992.
- PUGH, J. K.; FAULKNER, S. H.; TURNER, M. C.; NIMMO, M. A. Satellite cell response to concurrent resistance exercise and high-intensity interval training in sedentary, overweight/obese, middle-aged individuals. **European Journal of Applied Physiology**, v. 0, n. 0, p. 1–14, 2017.
- REGOUW, B. J. M.; CORNELISSEN, J. H. C.; HELDER, A. P.; SPILKERS, J. B. F.; WEEBER, Y. M. M. Specific determination of free fatty acid in plasma. **Clinica Chimica Acta**, v. 31, n. 1, p. 187–195, 1971.
- RENTERÍA, I.; GARCIA-SOARES, P. C.; MARTÍNEZ-CORONA, D. O.; MONCADA-JIMÉNES, J.; PLAISANCE, E. P.; JIMÉNEZ-MALDONADO, A. Short-term high-Intensity interval training increases systemic brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in healthy women. **European Journal of Sport Science**, v. 0, n. 0, p. 1–9, 2019.

- REZENDE, E. L.; GOMES, F. R.; CHAPPELL, M. A.; GARLAND, T. JR. Running behavior and its energy cost in mice selectively bred for high voluntary locomotor activity. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 82, n. 6, p. 662–679, 2009.
- RIITTINEN, M. L.; LINDROOS, F.; KIMANEN, A.; PIENINKEROINEN, E.; PIENINKEROINEN, I.; SIPPOLA, J.; VEILAHTI, J.; BERGSTROM, M.; JOHANSSON, G. Impoverished rearing conditions increase stress-induced irritability in mice. **Developmental Psychobiology**, v. 19, n. 2, p. 105–111, 1986.
- ROECKNER, A. R., BOWLING, A., BUTLER, T. R. Chronic social stability increases anxiety-like behavior and ethanol preference in male long evans rats. **Physiology and Behavior**, v. 173, p. 179–187, 2017.
- ROSA, E. F., ALVES, G. A., LUZ, J., SILVA, S. M. A., SUCHECKI, D., PESQUERO, F. B., ABOULAFIA, J., NOUAILHETAS, V. L. A. Activation of HPA Axis and Remodeling of Body Chemical Composition in Response to an Intense and Exhaustive Exercise in C57BL/6 Mice. **Physiology research**, v. 63, p. 605–613, 2014.
- SALTIN, B., ASTRAND, P. Maximal oxygen uptake in athletes. **Journal of applied Physiology**, v. 23, n. 9, 1967.
- SARIS, W. H. M., SCHRAUWEN, P. Substrate oxidation differences between high- and low-intensity are compensated over 24 hours in obese men. **International Journal of Obesity**, v. 28, n. 6, p. 759–765, 2004.
- SCARIOT, P.; MANCHADO-GOBATTO, F. B.; PROLLA, T. A.; DOS REIS, I. G. M.; GOBATTO, C. A. Hormones and Behavior Housing conditions modulate spontaneous physical activity , feeding behavior , aerobic running capacity and adiposity in C57BL / 6J mice. **Hormones and Behavior**, v. 115, n. July, p. 104556, 2019.
- SCARIOT, P. P. M.; MANCHADO-GOBATTO, F. D. B.; TORSONI, A. S. Continuous Aerobic Training in Individualized Intensity Avoids Spontaneous Physical Activity Decline and Improves MCT1 Expression in Oxidative Muscle of Swimming Rats. v. 7, n. April, p. 1–10, 2016.
- SCHAUN, G. Z.; PINTO, S. S.; BRASIL, B.; NUNES, G. N.; ALBERTN, C. L. Neuromuscular adaptations to sixteen weeks of whole-body high-intensity interval training compared to ergometer-based interval and continuous training training compared to ergometer-based interval and continuous training. **Journal of Sports Sciences**, v. 37, n. 14, p. 1561–1569, 2019.
- SELMİ, O.; KHALIFA, W. B.; ZOUAOUI, M.; AZAIEZ, F.; BOUASSIDA, A. L'entraînement par intervalles de haute intensité affecte négativement l'état d'humeur chez les athlètes professionnels. **Science and Sports**, p. 1–7, 2018.

- SHAPSES, S. A.; POP, L. C.; WANG, Y. Obesity is a concern for bone health with aging. **Nutrition Research**, v. 39, p. 1–13, 2017.
- SHARP, T. A., REED, G. W., Sun, M., Abumrad, N. N., Hill, J. O. Relationship between aerobic fitness level and daily energy expenditure in weight-stable humans. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 263, n. 1 26-1, p. 21–28, 1992.
- SHIGUEMOTO, G. E.; PRESTES, J.; LEITE, R. D.; PEREIRA, G. B.; PONTES, C. L. S.; D'AVILA, F. V.; BOTERO, J. P.; BALDISSERA, V.; NONAKA, K. O.; SELISTRE DE ARAÚJO, H. S.; PEREZ, S. E. A. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 22, n. 5, p. 607–617, 2012.
- SHIMANO, M. M e VOLPON, J B. Biomechanics and structural adaptations of the rat femur after hindlimb suspension and treadmill running, v. 42, p. 330-338, 2009.
- SEVERINSEN, T., MUNCH, I. C. Body core temperature during food restriction in rats. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 165, n. 3, p. 299–305, 1999.
- SIAHKOUHIAN, M.; KHODADADI, D.; SHAHMORADI, K. Effects of high-intensity interval training on aerobic and anaerobic indices: Comparison of physically active and inactive men. **Science and Sports**, v. 28, n. 5, p. e119–e125, 2013.
- SILVA, D. A., Dos santos silva, R. J. Association between sports participation and sedentary behavior during school recess among Brazilian adolescents. **Journal of Human Kinetics**, v. 45, n. 1, p. 225–232, 2015.
- SLUSHER, A. L.; PATTERSON, V. T.; SCHWARTZ, C. S.; ACEVEDO, E. O. Physiology & Behavior Impact of high intensity interval exercise on executive function and brain derived neurotrophic factor in healthy college aged males. **Physiology & Behavior**, v. 191, n. January, p. 116–122, 2018.
- SPEAKMAN, J. R., Selman, C. Physical activity and resting metabolic rate. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, p. 621–634, 2003.
- SULTANA, R. N.; SABAG, A.; KEATING, S. E.; JOHNSON, N. A. The Effect of Low - Volume High - Intensity Interval Training on Body Composition and Cardiorespiratory Fitness: **A Systematic Review and Meta - Analysis**. [s.l.] Springer International Publishing, 2019.
- TAKAGI, S.; YAMASHITA, T.; MIURA, T. Does a Treadmill Running Exercise Contribute to Preventing Deterioration of Bone Mineral Density and Bone Quality of the Femur in KK-Ay Mice, a Type 2 Diabetic Animal Model? **Calcified Tissue International**, v. 101, n. 6, p. 631–640, 2017.
- TALANIAN, J. L.; GALLOWAY, S. D. E.; HEIGENHAUSER, G. J. F.; BONEN, A.; SPRIET, L.L.

- Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. **Journal of Applied Physiology**, v. 102, n. 4, p. 1439–1447, 2006.
- TRAPP, E. G., CHISHOLM, D. J., BOUTCHER, S. H. Metabolic response of trained and untrained women during high-intensity intermittent cycle exercise. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 293, n. 6, p. 2370–2375, 2007.
- TRIVIÑO-PAREDES, J.; PATTEN, A. R.; GIL-MOHAPEL, J.; CHRISTIE, B. R. Frontiers in Neuroendocrinology The effects of hormones and physical exercise on hippocampal structural plasticity. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 41, p. 23–43, 2016.
- VALZELLI, L. The “Isolation Syndrome” in Mice. **Psychopharmacologia**, v. 31, p. 305–310, 1973.
- VELLA, C, A.; TAYLOR, K.; DRUMMER, D. High-intensity interval and moderate-intensity continuous training elicit similar enjoyment and adherence levels in overweight and obese adults. **European Journal of Sport Science**, v. 17, n. 9, p. 1203–1211, 2017.
- WASSERMAN, K., MCILROY, M. Detecting the threshold of anaerobic Metabolic in cardiac patients during exercise. **The American Journal of Cardiology**. v 14, 1964.
- WEISS, I. C., Pryce, C. R., Jongen-Rêlo, A. L., Nanz-Bahr, N. I., Feldon, J. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. **Behavioural Brain Research**, v. 152, n. 2, p. 279–295, 2004.
- WHYTE, L, J.; GILL, J, M, R.; CATHCART, A, J. Effect of 2 weeks of sprint interval training on health-related outcomes in sedentary overweight / obese men. **Metabolism**, v. 59, n. 10, p. 1421–1428, 2010.
- WICKEL, E. E., EISENMANN, J. C. Within- and between-individual variability in estimated energy expenditure and habitual physical activity among young adults. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 60, n. 4, p. 538–544, 2006.
- YAMANAKA, A.; BEUCKMANN, C. T.; WILLIE, J. T.; HARA, J.; TSUJINO, N.; MIEDA, M.; TOMINAGA, M.; YAGAMI, K.; SUGIYAMA, F.; GOTO, K.; YANAGISAWA, M.; SAKURAI, T. Hypothalamic orexin neurons regulate arousal according to energy balance in mice. **Neuron**, v. 38, n. 5, p. 701–713, 2003.
- YOHN, C. N.; ASHAMALLA, S. A.; BOKKA, L.; GERGUES, M. M.; GARINO, A.; SAMUELS, B. A. Social instability is an effective chronic stress paradigm for both male and female mice. **Neuropharmacology**, v. 160, n. September, p. 107780, 2019.

ANEXO 1 – Certificado do Comitê de ética para uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada Treinamento intervalado de alta intensidade em corrida: efeitos sobre capacidade aeróbia e anaeróbia, biomarcadores de estresse e respostas osteo-musculares de camundongos ativos e sedentários, registrada com o nº 4953-1/2018, sob a responsabilidade de Profa. Dra. Fúlvia de Barros Manchado Gobatto, Emanuel Elias Camolese Polisel e Pedro Paulo Menezes Scariot, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, do **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**, e com as normas editadas pelo **Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA)**, tendo sido aprovada pela **Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP**, em **11 de setembro de 2018**.

Finalidade:	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência do projeto:	01/09/2018-01/06/2019
Vigência da autorização para manipulação animal:	11/09/2018-01/06/2019
Espécie / linhagem/ raça:	Camundongo isogênico / C57BL/6J
No. de animais:	60
Idade/Peso:	21 dias / 20g
Sexo:	machos
Origem:	CEMIB/UNICAMP
Biotério onde serão mantidos os animais:	Biotério da Faculdade de Ciências Aplicadas, FCA/UNICAMP

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização prévia junto ao **IBAMA**, **SISBIO** ou **CIBio** e é restrita a protocolos desenvolvidos em biotérios e laboratórios da Universidade Estadual de Campinas.

Campinas, 11 de setembro de 2018.


 Prof. Dr. Wagner José Favaro
 Presidente


 Fátima Alonso
 Secretária Executiva

IMPORTANTE: Pedimos atenção ao prazo para envio do relatório final de atividades referente a este protocolo: até 30 dias após o encerramento de sua vigência. O formulário encontra-se disponível na página da CEUA/UNICAMP, área do pesquisador responsável. A não apresentação do relatório no prazo estabelecido impedirá que novos protocolos sejam submetidos.