
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO PERIODIZADO SOBRE O
ACÚMULO DE ATIVIDADE FÍSICA ESPONTÂNEA, VOLUNTÁRIA E
A INGESTÃO CALÓRICA EM RATOS WISTAR.**

OSVALDO TADEU DA SILVA JUNIOR

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Motricidade.

Rio Claro - 2017

OSVALDO TADEU DA SILVA JUNIOR

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO PERIODIZADO SOBRE O ACÚMULO DE
ATIVIDADE FÍSICA ESPONTÂNEA, VOLUNTÁRIA E A INGESTÃO
CALÓRICA EM RATOS WISTAR.**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Motricidade

ORIENTADOR: PROF. DR. JULIO WILSON DOS SANTOS

Dezembro – 2017

617.1027 Silva Junior, Osvaldo Tadeu da
S586e Efeito do treinamento físico periodizado sobre o acúmulo de atividade física espontânea, voluntária e a ingestão calórica em ratos Wistar / Osvaldo Tadeu da Silva Junior. - Rio Claro, 2017
95 f. : il., figs., tabs.

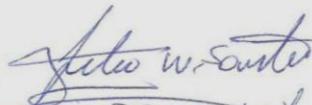
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Julio Wilson dos Santos

1. Medicina esportiva. 2. Atividade física espontânea. 3. Atividade física voluntária. 4. Ingestão calórica. 5. Treinamento periodizado. I. Título.

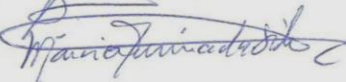
ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE Mestrado de OSVALDO TADEU DA SILVA JUNIOR, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 21 dias do mês de dezembro do ano de 2017, às 10:00 horas, no(a) Anfiteatro do Departamento de Educação Física da Faculdade de Ciências - UNESP/Bauru, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. JULIO WILSON DOS SANTOS - Orientador(a) do(a) Departamento de Educação Física / Faculdade de Ciências de Bauru - SP, Prof. Dr. MARCIO PEREIRA DA SILVA do(a) Departamento de Educação Física / UNESP - Faculdade de Ciências de Bauru - SP, Prof. Dr. ADELINO SANCHEZ RAMOS DA SILVA do(a) Escola de Educação Física e Esporte / Câmpus de Ribeirão Preto da USP, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE Mestrado de OSVALDO TADEU DA SILVA JUNIOR, intitulada **EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO PERIODIZADO SOBRE O ACÚMULO DE ATIVIDADE FÍSICA ESPONTÂNEA, VOLUNTÁRIA E A INGESTÃO CALÓRICA EM RATOS Wistar**.. Após a exposição, o discente foi arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: APROVADO. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. JULIO WILSON DOS SANTOS



Prof. Dr. MARCIO PEREIRA DA SILVA



Prof. Dr. ADELINO SANCHEZ RAMOS DA SILVA



DEDICATÓRIA

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a DEUS, esta é minha alegria e uma obrigação que jamais devo esquecer.

AGRADECIMENTOS

Sem a misericórdia de DEUS nada sou. Ainda que te agradeça todos os dias por tudo que me deste, gostaria de agradecer ao senhor novamente por me capacitar e terminar esta dissertação. Esteve comigo a todo momento ao longo desta jornada, especialmente nos mais difíceis segurando minha mão e me ajudando a lutar. Ao Sr. muito obrigado!

Meus pais Osvaldo e Verônica, meus grandes exemplos e incentivadores ao estudo. Obrigado por me proporcionarem estudo e educação, esta conquista é para vocês.

Minha irmã, Natália, sua força me ensina. Amo você.

Minha família, Simone, Allanis e Nicolay recebam meu agradecimento especial, vocês são meus presentes divinos que tornam os meus dias alegres e especiais. Sem o carinho e compreensão de vocês, não teria conseguido terminar esta jornada. Amo vocês.

Meu orientador, Prof. Dr. Julio Wilson dos Santos, minha eterna gratidão. Acreditou em mim quando tudo parecia perdido, me ensinou que um professor tem o poder de mudar a vida das pessoas. Obrigado pelos ensinamentos.

Aos professores José Alexandre e Paulo Santiago, vocês me ajudaram demais. Tem minha eterna gratidão.

Aos professores Márcio e Rubens, minha admiração pela simplicidade. São surpreendentes no aspecto humano, capaz de fazer a diferença na vida de quem os conhecem.

A todos os colegas do FITES pela parceria nos estudos.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Ao UNISALESIANO - Lins pelo apoio durante pesquisa.

RESUMO

Acredita-se que haja um *set point* que limita o gasto energético utilizando como estratégia o controle dos níveis de atividade física em nosso organismo visando a manutenção da homeostase energética semelhante a outras variáveis reguladas biologicamente. O presente estudo tem como objetivo investigar se o treinamento periodizado e a dieta hiperlipídica influenciam os níveis de atividade física espontânea e voluntária e a alteração na ingestão alimentar de ratos. Para isso, o estudo foi dividido em duas etapas: na primeira o objetivo foi verificar a acurácia e confiabilidade de um sistema de videogrametria na análise do deslocamento de ratos Wistar, e na segunda etapa, verificar se o aumento da atividade física, por meio do treinamento periodizado, é acompanhado por uma redução compensatória na atividade física e alteração da ingestão alimentar. Foram utilizados Ratos (n=32) da linhagem Wistar (*Rattus Norvegicus Albinus Wistar*) com idade inicial de 120 dias mantidos em gaiolas coletivas durante 8 semanas, após a separação dos grupos: Grupo controle (GC), Grupo controle com dieta hiperlipídica (GDH), Grupo de treinamento periodizado (TP), e Grupo treinamento periodizado dieta hiperlipídica (TPH), os quais realizaram um protocolo de treinamento periodizado de natação, durante 6 semanas, após 2 semanas de adaptação. O limiar anaeróbico pelo teste de lactato mínimo (La_m) foi realizado para a separação dos animais em grupos homogêneos e para verificação dos efeitos do treinamento. Foram verificados o efeito do treinamento físico periodizado sobre o acúmulo de atividade física espontânea (AFE -deslocamento pela filmagem) e voluntária (AFV - roda de atividades), além da verificação da interferência da dieta hiperlipídica na atividade física espontânea e voluntária, no perfil lipídico (triglicerídeos, HDL), glicemia, comportamento alimentar, medidas e gordura corporal. A análise de variância foi utilizada para verificar as diferenças das variáveis entre os grupos, enquanto que a correlação de Pearson foi utilizada para verificar a associação entre a carga de treinamento com a ingestão alimentar, AFE e AFV, considerando alfa de 5%. Na primeira etapa a acurácia e a confiabilidade do sistema de videogrametria para a análise do deslocamento foi confirmada. Na segunda etapa verificou-se que os valores de glicemia, HDL e TG não apresentaram diferença significativa entre os grupos após 8 semanas de experimento. Os grupos treinados apresentaram maiores valores de La_m em relação ao grupo GC e GDH e não apresentaram ganho

excessivo de gordura corporal. Em relação ao consumo alimentar, os grupos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram menor consumo calórico em relação aos grupos alimentados com dieta padrão. O acúmulo de AFV não apresentou diferença entre os grupos, porém a AFE foi maior no grupo controle em relação ao demais. A associação entre a carga de treino total semanal e o consumo alimentar e carga de treino total semanal e AFV foram fracas. Para associação entre a carga de treino total semanal e a AFE, houve forte associação com o grupo TP . O TP e a dieta hiperlipídica levaram a uma redução da AFE, assim como nas semanas onde os treinamentos foram intensos houve um nível de AFE menor. Nosso resultados indicam que existem fatores biológicos responsivos ao treinamento e a dieta hiperlipídica capazes de interferir nos níveis de AFE dos animais.

Palavras chave: Atividade física espontânea, Atividade física voluntária, ingestão calórica, treinamento periodizado.

ABSTRACT

It is believed that there is a set point that limits the energy expenditure using as a strategy the control of the levels of physical activity in our organism aiming the maintenance of the energy homeostasis similar to other variables regulated biologically. The present study aims to investigate whether the periodized training and the hyperlipidic diet influence the levels of spontaneous and voluntary physical activity and the alteration in dietary intake of rats. For this, the study was divided in two phases: in the first the objective was to verify the accuracy and reliability of a videogrammetry system in the analysis of Wistar rats displacement and in the second stage, to verify if the increase of the physical activity through periodized training is accompanied by a compensatory reduction in physical activity and alteration in food intake. Rats (n = 32) Wistar (*Rattus Norvegicus Albinus Wistar*) with initial age of 120 days were kept in collective cages for 8 weeks, after separation of the groups: Control group (CG), Control group with hyperlipidic diet (GHD), Periodized training group (PT), and Periodic training group hyperlipidic diet (PTH), who performed a periodized swimming training protocol for 6 weeks after 2 weeks of adaptation. The anaerobic threshold by lactate minimum (La_m) test was performed to separate the animals into homogeneous groups and to verify the effects of the training. The effect of the periodic physical training on the accumulation of spontaneous physical activity (SPA - displacement by filming) and voluntary (VPA - activity wheel) was verified, as well as the verification of the interference of the hyperlipidic diet in spontaneous and voluntary physical activity, in the lipid profile (triglycerides, HDL), glycemia, eating behavior, measures and body fat. The analysis of variance was used to verify the differences of the variables between the groups, while the Pearson correlation was used to verify the association between training load and food intake, SPA and VPA, considering alpha of 5%. In the first phase the accuracy and reliability of the videogrammetry system for displacement analysis was confirmed. In the second phase, it was verified that the values of glycemia, HDL and TG did not present significant difference between the groups after 8 weeks of experiment. The trained groups had higher values of La_m in

relation to the CG and GHD groups and did not present an excessive gain of body fat. In relation to the food consumption, the groups fed with a hyperlipid diet presented lower caloric intake than the groups fed a standard diet. The VPA accumulation did not present difference between the groups, but the SPA was higher in the control group in relation to the others. The association between total weekly training load and total weekly training and feeding load and VPA were weak. For association between the total weekly training load and the SPA, there was a strong association with the PT group. The PT and the hyperlipid diet led to the reduction of SPA, just as in the weeks where the training was intense there was a lower level of SPA. Our results indicate that there are training-responsive biological factors and the hyperlipidic diet capable of interfering with the SPA levels of the animals.

Keywords: Spontaneous physical activity, Voluntary physical activity, caloric intake, periodic training.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Padrão de resposta de um sistema homeostático, quando o equilíbrio é alterado. 22
- Figura 2.** Representação esquemática pelo qual um regulador biológico central para o gasto poderia funcionar. 24
- Figura 3.** Desenho experimental dos estudos que compõem a dissertação.... 35
- Figura 1.** Ambiente Enriquecido sem os objetos inanimados, com a linha de nylon de 10 m distribuída aleatoriamente ao fundo, marcações das extremidades (ponto de calibração em vermelho) e o bastão com a mini-bolsa marcada com o centro de massa 40
- Figura 2.** Imagem do percurso de 10 metros a partir das coordenadas X,Y, em 2D, obtida por três avaliadores. Ponto verde = início do rastreamento; Ponto vermelho = final do rastreamento. 41
- Figura 3.** Imagem do rastro de um rato no ambiente enriquecido durante os 10 minutos de rastreamento. Ponto verde = início do rastreamento; Ponto vermelho = final do rastreamento. 42
- Figura 4.** Imagem do rastro de um rato no ambiente enriquecido durante os 10 minutos de rastreamento. Vermelho = avaliador nº1; Verde = avaliador nº2; e Azul = avaliador nº3. 45
- Figura 1.** Ambiente Enriquecido. A = visualização superior diurna; B = visualização superior noturna..... 54
- Figura 2.** Tanque de natação com baias individuais. 55
- Figura 3.** Período de adaptação de duas semanas. 56
- Figura 4.** Periodização do treinamento durante o experimento. 56

Figura 5. Distribuição seminal da carga de treino semanal (CTS) ao longo de 8 semanas de periodização. TP = Treinamento Periodizado, TPDH = Treinamento Periodizado Dieta Hiperlipídica59

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1. Valores obtidos pelos avaliadores no rastreamento de 10 metros..... | 44 |
| Tabela 2. Valores obtidos pelos avaliadores durante o rastreamento de 10 minutos do rato. | 44 |
| Tabela 3. Valores obtidos no cálculo de acurácia, precisão e bias do primeiro experimento..... | 45 |
| Tabela 4. Dados das variáveis para o erro de medição σ^2 confiabilidade do segundo experimento..... | 455 |
| Tabela 1. Linha temporal dos procedimento experimentais. | 53 |
| Tabela 2. Periodização utilizada durante o experimento. | 58 |
| Tabela 3. Composição das dietas..... | 62 |
| Tabela 4. Variação massa corporal (Δ MC), índice de Lee, consumo alimentar, glicemia, HDL, TG, gordura epididimal e visceral dos grupos após 8 semanas de experimento. ... | 66 |
| Tabela 5. Atividade física voluntária (AFV), atividade física espontânea (AFE) e a capacidade aeróbia (Lam) dos animais durante as 6 semanas de treinamento. | 68 |
| Tabela 6. Deslocamento(m) dos animais durante as 8 semanas de experimento. SA: semana de adaptação ao treinamento 1- 2; ST: semana de treinamento 1 - 6..... | 70 |
| Tabela 7. Correlação de Pearson (r) entre a carga de treinamento semanal (CTS), consumo alimentar (CA), atividade física voluntária (ATV) e a atividade física espontânea (AFE) dos grupos experimentais ao final do experimento. | 71 |
| Tabela 8. Correlação de Pearson (r) entre a carga de treinamento semanal (CTS) e atividade física espontânea (AFE) dos grupos submetidos ao treinamento periodizado ao longo das 6 semanas de treinamento..... | 71 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|-----------------------|----------------------------------|
| % MC | Percentual de massa corporal |
| 2D | Bidimensional |
| 3^v | Raiz cúbica |
| ΔMC | Delta da massa corporal |
| AE | Ambiente enriquecido |
| AFE | Atividade física espontânea |
| AFV | Atividade física voluntária |
| ANOVA | Analysis of variance |
| CA | Consumo alimentar |
| CNA | Comprimento naoanal |
| CTS | Carga de treinamento semanal |
| CV | Coeficiente de variação |
| GC | Grupo controle |
| GDH | Grupo dieta hiperlipídica |
| HDL | High density lipoproteins |
| Hz | Hertz |
| IP | Internet protocol |
| IKK | Proteína kinase de IKB |
| JNK | c-Jun NH2 quinase terminal |
| Kcal | Kilocalorias |
| Kg | Kilogramas |
| La_m | Lactato mínimo |
| LSE | Limite de especificação superior |
| LSI | Limite de especificação inferior |
| LPL | Lipoproteína lipase |
| MP | Mega pixel |
| PTP1B | Proteína tirosina fosfatase 1B |
| P/T | Precisão com tolerância |
| R&R | Reprodutividade & Repetitividade |
| SC | Soma do consumo alimentar |

| | |
|-------------------------------|---|
| SP | Soma do peso |
| SOCS3 | Supressores de sinalização de citocinas 3 |
| ST | Semana de treinamento |
| TE | Tempo total de exercício |
| TG | Triacilgliceróis |
| TLR4 | Toll like receptor 4 |
| TNFα | Fator de necrose tumoral |
| TP | Treinamento periodizado |
| TPDP | Treinamento periodizado e dieta padrão |
| TPDH | Treinamento periodizado e dieta hiperlipídica |
| VLDL | Lipoproteína de muita baixa densidade |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 17 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 21 |
| 2.1 Hipótese da “ <i>activitystat</i> ” | 21 |
| 2.1.1 Evidências | 25 |
| 2.2 Ambiente enriquecido | 28 |
| 2.3 Modelo experimental de treinamento com ratos..... | 29 |
| 2.4 Atividade física e exercício físico | 31 |
| 2.5 Dieta hiperlipídica | 31 |
| 3 JUSTIFICATIVA | 33 |
| 4 OBJETIVOS | 34 |
| 4.1 Objetivo geral | 34 |
| 4.2 Objetivos específicos..... | 34 |
| 5 MATERIAIS E MÉTODOS | 35 |
| 6 ESTUDO 1 PRECISÃO E CONFIABILIDADE DE UM SISTEMA DE VIDEOGRAMETRIA NA ANÁLISE DO DESLOCAMENTO DE RATO WISTAR. | 36 |
| 7 ESTUDO 2 EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO PERIODIZADO SOBRE O ACÚMULO DE ATIVIDADE FÍSICA ESPONTÂNEA, VOLUNTÁRIA E A INGESTÃO CALÓRICA EM RATOS WISTAR. | 52 |
| 7.1 Materiais e métodos | 52 |
| 7.1.1 Animais | 52 |
| 7.1.2 Desenho experimental..... | 52 |
| 7.1.3 Ambiente enriquecido | 53 |
| 7.1.4 Controle da atividade física voluntária e espontânea | 54 |
| 7.1.5 Protocolo de treinamento periodizado | 55 |
| 7.1.6 Determinação do limiar anaeróbio..... | 59 |
| 7.1.7 Controle antropométrico, das dietas e da ingestão hídrica..... | 60 |
| 7.1.8 Eutanásia | 62 |
| 7.1.9 Dosagens bioquímicas | 62 |
| 8 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 64 |
| 9 RESULTADOS | 65 |

| | |
|---|-----------|
| 9.1 Massa corporal, Índice de lee, consumo alimentar, glicemia, HDL, TG, gordura epididimal e visceral..... | 65 |
| 9.2 Atividade física voluntária, espontânea e capacidade aeróbia. | 67 |
| 10 DISCUSSÃO | 74 |
| 11 CONCLUSÃO | 85 |
| REFERÊNCIAS | 86 |
| ANEXOS | 94 |

1 INTRODUÇÃO

Atividade física regular ao longo da vida tem ocupado um papel de grande relevância na prevenção de doenças crônicas (TRINDADE, 2016). No entanto, informações recentes apontam um declínio nos níveis de atividade física da população e sua relação com os riscos para a saúde por meio de fatores associados ao sobrepeso e a obesidade (SINGH, 2015).

A atividade física é definida como qualquer movimento corporal, produzido pelos músculos esqueléticos, que resulta em gasto energético maior do que os níveis de repouso (CASPERSEN et al., 1985) e inclui todas as atividades de lazer, no trabalho ou domésticas (HASKELL, 1994; DUNN, 1998).

Segundo Garland et al (2011) a atividade física pode ser classificada como atividade física espontânea, que compreende as atividades para a sobrevivência e homeostase, como busca de comida, abrigo e interação social, e a atividade física voluntária, como por exemplo, as atividades recreacionais e o esporte, dentre outras, que variam em duração e intensidade. Garland et al. (2011) apontam similaridade da atividade física espontânea e voluntária entre humanos e animais de laboratório, referindo-se que, tal como nos humanos, no modelo experimental com animais, a locomoção representa a atividade física espontânea, realizada para busca de comida e interação social, enquanto que o exercício físico nas rodas de atividade pode ser considerado uma atividade voluntária na qual é possível medir o exercício voluntário, por meio de um comportamento clássico de automotivação, que pode ser mensurado pelo deslocamento dos animais.

Os aspectos físicos e sociais de um ambiente podem influenciar a biologia e, conseqüentemente, o comportamento de um organismo, provocando alterações na estrutura do cérebro (JOSEPH, 1999), concentrações hormonais (HEIDBREDE et al., 2000), peso corporal (BAYNE, 2005) e atividade física (EIKELBOOM; LATTANZIO, 2002). Neste sentido, o ambiente enriquecido é um modelo experimental para estudar o comportamento de animais. O ambiente enriquecido é composto por um espaço maior do que as gaiolas coletivas convencionais, no qual são colocados objetos inanimados, incluindo a roda de atividade, para a estimulação sensorial, cognitiva, motora e social dos animais (SZTAINBERG; CHEN, 2010).

O enriquecimento ambiental apresenta diferentes consequências biológicas tão significativas, que este conceito tem sido estudado efetivamente em humanos em comparação com os ambientes não enriquecidos (ROSENZWEIG et al., 1969; DIAMOND, 2001; JOSEPH, 1999). De modo contrário, a alocação tradicional de animais em gaiolas individuais ou coletivas de pequena dimensão limitam a movimentação dos animais (VARTY et al., 2000). Atualmente, o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) recomenda por meio da Resolução nº32/2016, que os animais sejam alocados em ambiente enriquecido e a disponibilização de espaço mínimo necessário para que o animal possa praticar um repertório comportamental básico para a manutenção de seu bem-estar.

O acúmulo de atividade física diária, seja espontânea ou voluntária pode ocasionar melhora no controle da massa corporal (GARLAND et al., 2011; SALGADO et al., 2012), enquanto que a inatividade física (sedentarismo) é um fator de risco a saúde por aumentar a prevalência e incidência de doenças endócrino-metabólicas associadas à obesidade (BOOTH et al., 2015). Interações compensatórias entre a atividade voluntária e espontânea podem ter implicações no dispêndio energético diário. O acúmulo de atividade física diária, seja espontânea ou voluntária pode ocasionar melhora no controle da massa corporal (GARLAND et al., 2011; SALGADO et al., 2012).

A roda de corrida é amplamente utilizada em estudos de laboratório para mensurar os níveis de atividade física dos animais. Sua utilização está ligada a estudos de obesidade e equilíbrio energético como uma forma de mimetizar o comportamento humano, observando a tendência de um roedor ser mais ou menos ativo (NOVAK et al., 2012). A videogrametria é o princípio da análise do movimento do corpo humano por meio das imagens consiste na captura de uma sequência de imagens por vídeo, com o auxílio de uma ou mais câmeras, obtendo dados do objeto de interesse através das medidas realizadas nestas imagens (LAGO, 1999). O uso da videogrametria para a análise do deslocamento passou a ser utilizada no modelo experimental com animais (NOLDUS, 2001). Recentemente Tadeu (2017) demonstrou alta confiabilidade do sistema de videogrametria do Dvideo na análise da distância percorrida em estudo de modelo animal.

Acredita-se que haja um *set point* que limita o gasto energético em nosso organismo funcionando como um mecanismo de regulação da homeostase,

semelhante a outras variáveis reguladas biologicamente, repleto de sistemas centrais de regulação biológica, denominados "*stats*" (ROWLAND,1998), sendo proposto que o *set point* para a manutenção da homeostase energética é denominada de "*activitystat*", atuando especificamente na regulação da atividade física ou gasto energético.

Uma forma de aumentar os níveis de atividade física de forma organizada, é a utilização do treinamento de maneira sistematizada por meio da elaboração da periodização. A periodização é uma forma organizada de treinamento com alternância de cargas, variação da relação volume e intensidade, cujo objetivo é obter o melhor desempenho em determinado momento de um período de treinamento (DOS-SANTOS, 2004). Este modelo de sistematização do treinamento já foi adaptado para o modelo experimental de exercício na natação com ratos (DOS-SANTOS; MELLO, 2011). É possível que este seja um bom modelo para estudar a teoria da *activitystat* na manutenção da homeostase, uma vez que neste modelo de treinamento os animais são submetidos a treinamentos que variam em alto volume e intensidade. Com isso, a análise da atividade física espontânea e voluntária nos períodos fora de treinamento e a característica da dieta podem ajudar a elucidar se o fenômeno do gasto energético determina o acúmulo diário de atividades como uma estratégia utilizada pelo organismo para manter o "*set point*".

As informações referentes ao acúmulo de atividade física espontânea e voluntária são importantes para melhor entendimento da teoria da *activitystat* proposta por Rowland (1998). Além disso, a dieta hiperlipídica vem sendo utilizada de forma empírica para verificar os níveis de atividade na locomoção de ratos frente a situação de grande oferta de energia (WONG et al., 2014). Assim, a compreensão do balanço energético, através da interação entre a dieta e o exercício pode ajudar no entendimento da hipótese da *activitystat*.

Considerando que o treinamento periodizado é uma estratégia para aumentar o gasto calórico e que a atividade física voluntária pode ser mensurada por meio da roda de corrida, a atividade física espontânea possa ser medida por meio do deslocamento dos animais, alocados em um ambiente enriquecido e que o controle da dieta pode ser feito para determinar a ingestão calórica (entrada de energia), a proposta deste estudo é verificar se o fenômeno do aumento do gasto energético, por meio de diferentes intensidades de exercício baseado no limiar

aeróbio individual dos animais determina a redução no acúmulo diário de atividade de ratos Wistar como uma estratégia utilizada pelo organismo para manter o *set point* corroborando ou refutando a teoria da *activitystat*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Hipótese da “*activitystat*”

Walter Cannon, em 1935 introduziu o termo "homeostase" para descrever a constância do ambiente interno (GOMERSALL, 2013).

Um suprimento adequado de energia é vital para a manutenção da função fisiológica, desta forma, acredita-se que exista um centro de controle para manter um estado estável de energia corporal (*set point*). Este centro de controle seria responsável pelo equilíbrio da entrada e saída de energia, afetando o apetite, e causando resposta na regulação da taxa metabólica de repouso, bem como nas despesas em forma de atividade física.

A explicação para a ocorrência do *set point* na manutenção da homeostase energética tem sido proposta por Rowland (1998), denominada de *activitystat*. Rowland postula que quando a atividade física é aumentada ocorrerá uma alteração na homeostase energética e como resposta uma redução no acúmulo de atividade física diária, a fim de amenizar as alterações na homeostase energética. Esta teoria se baseia em dois mecanismos que são: a ocorrência de um *set point* da atividade física e do gasto energético que determina um acúmulo diário de atividade e as estratégias utilizadas pelo organismo para manter esse *set point*, e a ingestão calórica como entrada de energia, para manter o *set point*.

A hipótese da *activitystat* assume uma base biológica para a regulação da atividade física ou gasto energético. Quando a atividade física é aumentada, ocorre a quebra da homeostase energética além dos limites superiores do "*set point* da atividade física". Imediatamente estratégias compensatórias são ativadas, dentre elas a redução da atividade física espontânea e voluntária, a fim de restabelecer a homeostase ("*set point* energético"). Acredita-se que este mecanismo seja controlado pelo sistema nervoso central, sobre grande influência do hipotálamo, para manutenção da homeostase energética, que mantém as condições de ingestão e gasto energético em equilíbrio e evita reduções bruscas na energia corporal.

A figura 1, ilustra o sistema homeostático e seu padrão de resposta. O ponto de ajuste ou "*set point*" é o ponto no qual o sistema flutua. O ponto de ajuste da zona é definida por uma faixa de "tolerância" do sistema representado por uma zona entre valores mínimo e máximo, onde o acionamento do sistema efetor só ocorre fora da faixa de tolerância. Caso os valores excedam a zona de tolerância, o tempo de retorno para o sistema retornar ao *set point* irá depender do grau de sobrecarga (desvio entre o estado real e o ponto de ajuste).

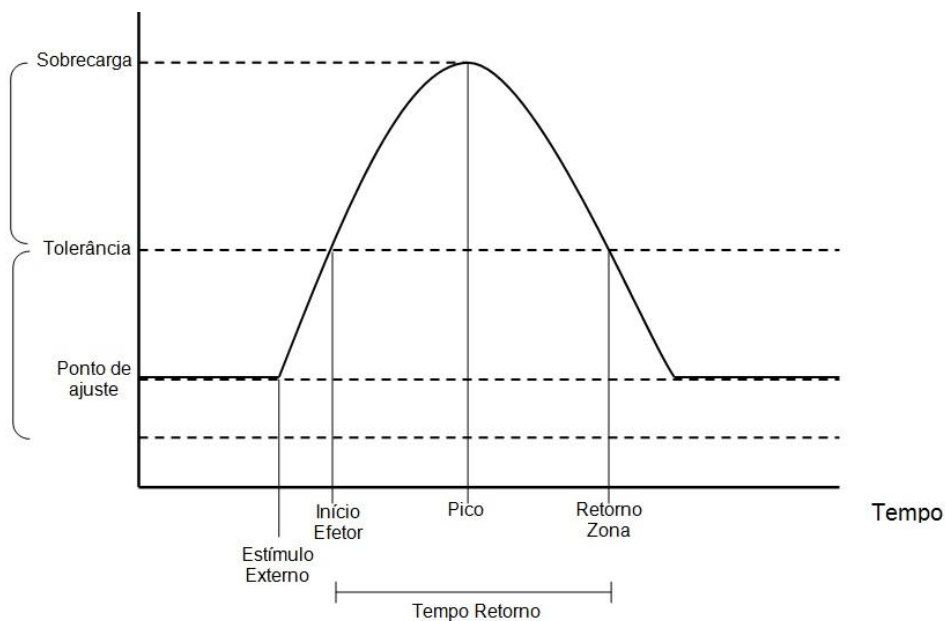


Figura 1 - Padrão de resposta de um sistema homeostático, quando o equilíbrio é alterado.

Segundo Rowland (1998), o corpo humano é repleto de autoregulação "*stat*", com seu limiar "*set point*", mecanismos de feedback, e seus limites de tolerância. A temperatura corporal, os níveis de osmolaridade e glicose sanguínea, bem como a pressão arterial, não podem ser ajustados sem os seus respectivos centros de controle homeostático. Dentro deste contexto, o *set point* é definido como uma zona interna representado uma linha de base para a estabilidade do sistema, no sentido de que o ciclo de *feedback* negativo sempre busque controlar a variável, com base nesta referencia. Frente a um desequilíbrio, inicia-se a restauração para as linhas de base (TORTUGA, 2009).

De acordo com Gomersal (2013), um mecanismo homeostático apresenta vários componentes:

- Uma variável que está sendo regulada;
- Uma zona interna de *set point*, que representa um valor de referência para o sistema, na direção para o qual o *loop* de *feedback* regula a variável controlada;
- Um sensor que monitora o estado atual da variável;
- Um integrador comparando o valor de referência e o estado atual da variável;
- Um efetor que atua para mudar o valor da variável quando o sensor detecta uma mudança suficientemente diferente do valor de referência do sistema.

Um mecanismo homeostático bem conhecido como o de regulação da temperatura corporal, pode ser utilizado como exemplo para ilustrar. No corpo humano o ponto de referência interno está ajustado para aproximadamente 37° C para a regulação da temperatura. Os sensores estão localizados no hipotálamo para detectar mudanças na temperatura corporal e a pele monitora a temperatura externa. O integrador está localizado no centro termoregulador no hipotálamo e o efetor inclui as artérias sanguíneas, glândulas sudoríparas e o músculo esquelético liso, coordenados pelo sistema neural. Este mecanismo trabalha dando resposta ao estímulo recebido reagindo com o aumento ou redução da temperatura corporal (TORTUGA, 2009).

Segundo Rowland (1998), existe uma equivalência deste sistema para a *activitystat* (figura 2), em que o *set point* representa a linha de base da atividade física ou gasto energético, o sensor talvez esteja posicionado no hipotálamo no sistema nervoso central, onde o sangue seja interpretado, o integrador é o circuito neural, e o efetor utilize o ciclo de *feedback* hipotalâmico para suprimir a atividade voluntária, por meio do ainda indefinido mecanismo neural ou humoral, com os sistemas endocanabinóide e dopaminérgico sugeridos como possíveis mediadores (GARLAND, 2011; THORBURN, 2000).

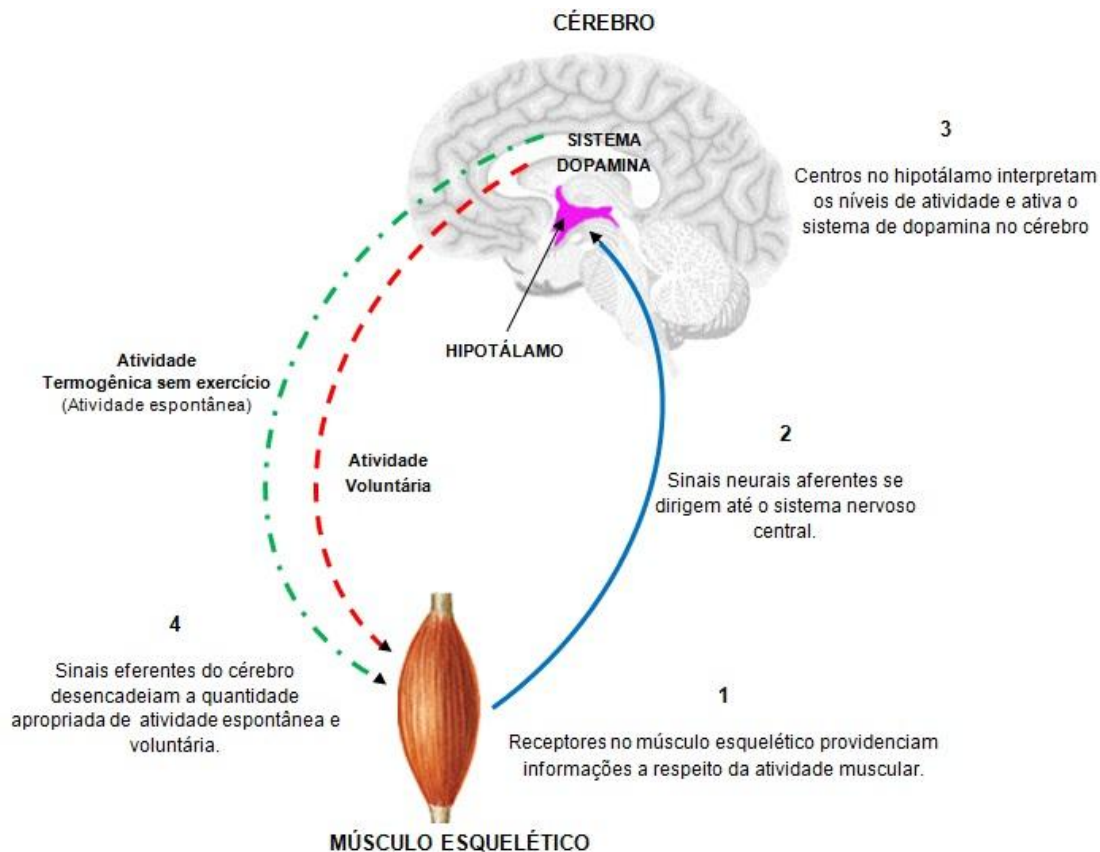


Figura 2 - Representação esquemática pelo qual um regulador biológico central para o gasto energético poderia funcionar.

A hipótese da *activitystat* supõe que o aumento da atividade física de moderada para vigorosa, é acompanhado por uma redução compensatória na atividade física, e um aumento na inatividade para manter um nível estável de atividade física diária. Isto sugere que existe uma estratégia, em que o gasto de energia é fisiologicamente regulado, e que cada indivíduo tem seu próprio “*set-point*” para a atividade física (BAGGETT, 2008 *apud* ROWLAND, 1998).

De acordo com Garland et al (2011), pesquisas em neurobiologia do controle da atividade física na infância, evidenciam ligações entre a sinalização biológica e o controle do comportamento da atividade física, embora seus mecanismos ainda sejam desconhecidos.

Goodman et al. (2011); Baggett (2008) realizaram estudos que refutam a existência da hipótese *activitystat*. Goodman et al, (2011), não observou evidência na redução do acúmulo de atividade física de crianças observadas em suas atividades do cotidiano, enquanto que Baggett, (2008) encontrou uma baixa correlação entre atividade sedentária e o aumento no índice de massa corporal

baseado no acúmulo de atividade física. Porém, sugerem que estudos comparando os efeitos de diferentes intensidades de exercício na atividade física e os níveis de inatividade após o programa de exercícios, possam ajudar a esclarecer esta hipótese. Incorporando controles mais precisos entre gasto energético e a atividade física, é possível ajudar a melhorar o entendimento do papel e contexto do exercício físico no gasto de calorias e a hipótese da *activitystat*.

Gomersall et al. (2013) investigaram os principais estudos relacionados a esta teoria e concluíram que há necessidade de estudos mais controlados, deixando recomendações para futuros desenhos experimentais para as investigações sobre a *activitystat* como por exemplo: os estímulos dos exercícios devem ser suficientes para acionar o suposto mecanismo compensatório, a determinação do estímulo empregado na intervenção deveria ser bem relatado no protocolo e a utilização de um grupo controle é de extrema importância para melhorar o nível de evidência científica. Desta forma, é possível minimizar os efeitos de interferência nos estudos contribuindo de forma mais cuidadosa para compreensão da hipótese da *activitystat*, pois as evidências até o momento são inconclusivas.

2.1.1 Evidências

Segundo Rowland (2017), uma grande quantidade de dados observados em diferentes estudos fundamenta a evidência de uma função biológica para o controle involuntário do gasto de energia através da atividade física diária.

Um das mais fortes evidências de um comando central para o controle da atividade física diária, se respalda nas observações de que o gasto de energia sob forma de atividade motora declina, quando é ajustado pelo tamanho do corpo ao longo da vida. (BIJEN, 1998; TELAME; YANG, 2000; TURIN, 2005).

De acordo com Malina (2008), um condensado de estudos transversais investigou entre as idades de 2 e 18 anos o declínio de atividades em garotos, apontando um declínio de aproximadamente 35%. Além disso, a redução nos níveis de atividade física com a idade, se correlacionam com o declínio da taxa metabólica basal e a ingestão diária de calorias, ambas variáveis reguladas pela atividade da regulação biológica. Tal cenário ocorre no esforço de estabilizar o balanço energético

e garantir o funcionamento de outras variáveis visando a sobrevivência do indivíduo. (ROWLAND, 2017)

Pesquisas realizadas anteriormente por meio do método de água duplamente marcada e medidas da taxa metabólica basal entre a idade de 1 e 17 anos, mostraram uma redução de 38% no gênero masculino e 25% no feminino. Estudos longitudinais confirmam, que a taxa de declínio do gasto energético através da atividade física, ocorre na fase da infância. Embora inúmeros fatores possam contribuir, existe uma forte relação entre a demanda energética da massa corporal em crescimento e o declínio no gasto energético em forma de atividade física sugerindo uma estratégia de economia de energia (ROWLAND, 2017).

Ainda segundo Rowland (2017), quando olhamos para o cenário na fase da vida adulta, a situação é muito semelhante. Vários estudos longitudinais que analisaram os níveis de atividade física abrangendo desde a infância até a idade adulta verificaram declínio dentro deste período. Pesquisas utilizando questionários para quantificar o tempo de atividade física na escola, trabalho e lazer apontaram na faixa etária entre 13 e 27 anos uma redução de 42% para homens e de 17% para mulheres, entre 9 e 27 anos redução de 57% para homens e de 28% para mulheres, acima de 75 anos, a queda foi de 7% para homens e 9% para mulheres.

Ideias para a quantificação de atividade física em humanos têm sido na maioria das vezes amparadas em pesquisas com modelos animais. Apesar disso, extrapolar os achados dos roedores com segurança aos seres humanos pode não ser ilimitada, um exemplo é o comportamento da atividade motora em roedores, onde as fêmeas apresentam maior locomoção em ralação aos machos, enquanto o inverso é observado em humanos. (ROWLAND, 2017)

Uma outra linha que contribui para compreensão dos hábitos da atividade física e seu declínio ao longo da vida, está focada na identificação de agentes neuroquímicos e sua via de sinalização em animais e humanos. Estes dados corroboram de forma clara a existência de um mecanismo de controle biológico.

O mecanismo neural dependente de dopamina tem sido apontado como um agente químico que altera a atividade motora regular. Bronikowisk et al (2004), encontraram uma diferença superior de 20% de receptores de dopamina D2 e D4, durante um experimento de seleção de ratos com altos níveis de atividade nas rodas em relação ao grupo controle. Em outro estudo, altos níveis de atividade de

dopamina foram relatados nas regiões nigrostriatal e mesolímbica no cérebro de ratos que apresentavam altos níveis de atividade em rodas (FINK; REIS, 1981).

Estudo de eletroestimulação, na substância negra e ventral tegmental em cérebro de ratos, mostram um aumento na atividade espontânea dos animais. Por outro lado, administração de bloqueadores de dopamina seja de forma sistêmica ou direta no núcleo accumbens, tem sido descrita como redutor dos níveis de atividade espontânea em ratos (ROWLAND, 2017).

Já em estudos com humanos, Knab e Lightfoot (2010) concluíram em um estudo de revisão, que está claro que o sistema dopaminérgico afeta a motivação para a quantidade de atividade física voluntária em humanos.

Outro agente neuroquímico investigado é a orexina ou hipocretina. Trata-se de peptídeo sintetizado na região do hipotálamo lateral atuando diretamente no cérebro. Pesquisas realizadas por Teske et al. (2008) mostram um aumento da atividade espontânea em ratos quando recebem uma injeção de orexina diretamente na região do cérebro, e que por outro lado ocorre uma drástica redução na atividade física espontânea dos animais na ausência de orexina. As observações concluem que a orexina atua na substância negra e nos ventres paraventriculares do cérebro, estimulando a secreção de dopamina atuando no desfecho final do estímulo para a promoção da atividade física motora. A grelina, peptídeo sintetizado no estômago tem sido relatado como modulador da atividade física, em algumas situações reduzindo ou aumentando este comportamento após sua administração. (ROWLAND, 2017)

Pesquisas focadas no papel do óxido nítrico também apontam este agente neuroquímico com forte poder de modulação no comportamento motor. Acredita-se que ele atue por influência do sistema de atividade neuronal dopaminérgico na substância negra do cérebro.

Em sua obra, Rowland (2017) cita outros agentes farmacológicos e químicos, cuja atuação se relaciona com os quadros de comportamento hiperativo ou hipoativo quando se trata de atividade física espontânea em animais e humanos.

Vários distúrbios na função cerebral, seja por indução utilizando experimentos ou de ocorrência natural, têm demonstrado afetar os níveis de gasto calórico por meio da atividade física espontânea. Geralmente alterações nos níveis de atividade física são observadas após lesões, tumores e distúrbios de regulação da atividade motora no cérebro tais como: anorexia nervosa (KRON, 1978),

transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (HASTINGS; BARKLEY, 1978), acromegalia (DANTAS et al., 2013) e síndrome das pernas inquietas (DAUVILLIERS; WINKELMANN, 2013).

Outras pesquisas investigam a natureza do "brincar", e buscam explicações em mecanismos de regulação neuroquímicos para entender porque este comportamento diminui ao longo da vida tanto em humanos quanto em animais. Panksepp (1984) verificou que após a administração de morfina o comportamento de brincar dos animais aumenta, mas quando bloqueadores de opiáceos como naloxana são administrados, este comportamento muda reduzindo drasticamente.

Desta forma, todas as evidências apresentadas anteriormente oferecem um forte argumento para a existência de um centro de controle biológico para a atividade física em humanos e animais. A ideia da necessidade de um centro de controle involuntário biológico para a regulação da atividade física se fundamenta em uma base evolutiva, devido à necessidade de manutenção do balanço energético corporal (ROWLAND, 2017).

2.2 Ambiente enriquecido

O ambiente enriquecido (AE) é classicamente definido como uma combinação de um complexo inanimado e estimulação social, tipicamente composto por um grupo de animais e objetos inanimados (roda de corrida, túnel, pontes, bolas), que facilitam estimulação sensorial, cognitiva, motora e social padronizando a condição de habitação em um laboratório (SZTAINBERG; CHEN, 2010). Este modelo de laboratório animal tem sido concebido para a padronização de manutenção dos animais em bom estado de saúde, facilitando o controle de alimentação, temperatura ambiental, higiene, aumentando a possibilidade de explorar seus comportamentos contribuindo para o avanço da ciência (OLSSON; DAHLBORN, 2002).

Segundo estudos conduzidos por Vieira et al. (2015), a manutenção de ratos idosos no ambiente enriquecido, é capaz de proporcionar aumento significativo na massa encefálica, auxiliar no controle dos níveis de glicose, triglicerídeos e na massa corporal, quando comparados com animais mantidos em gaiolas convencionais.

Em estudos recentes, o ambiente enriquecido tem sido utilizado como estratégia de neuroproteção em modelos animais durante os diferentes períodos do desenvolvimento do sistema nervoso, impactando de forma positiva na progressão da doença de Parkinson (JUGLING et al., 2017), além de atuar na estimulação da neurogênese em regiões específicas do cérebro, resultando na melhora da memória e aprendizagem (MELANI et al., 2017).

O nível de atividade física proporcionados pelo ambiente enriquecido é capaz de aumentar de forma significativa a capacidade aeróbia de ratos em comparação aos animais que são mantidos em gaiolas convencionais verificados pela determinação da máxima fase estável de lactato (JORDÃO et al., 2015).

Kobilo et al. (2011) demonstram em seu estudo, que além dos benefícios proporcionados pelo enriquecimento ambiental, a atividade física é um fator de grande relevância capaz de ocasionar neurogênese em ratos. Assim a manutenção de animais em ambiente enriquecido é capaz de promover aumento no acúmulo de atividade física, possibilitando explorar seus comportamentos (XIE et al., 2013).

2.3 Modelo experimental de treinamento com ratos

O exercício de natação com ratos é um modelo experimental amplamente utilizado para avaliar efeitos do treinamento seja em condições fisiológicas ou patológicas tais como obesidade (SILVIA et al., 2014), diabetes (GHIASI et al., 2015); metabolismo dos lipídeos (STOTZER et al., 2015) e metabolismo da glicose (MOLENA-FERNANDES et al., 2015).

O método de natação apresenta alguns benefícios, como não necessidade de seleção de animais, já que todos possuem habilidade inata de nadar, e seu baixo custo do equipamento. As desvantagens nesse método, como o controle da temperatura, a dificuldade na determinação da intensidade, o estresse promovido pelo contato com água, são alguns dos fatores relevantes a se considerar durante um experimento com a natação (GOBATTO et al., 2001).

Diferentes protocolos de treinamento estudados em humanos tem sido reproduzido em ratos como por exemplo exercício intermitente e contínuo (LIU et al., 2015).

Em modelos experimentais de treinamento físico com ratos é comum utilizar o treinamento contínuo na natação. Um protocolo muito utilizado no treinamento de natação com ratos, como no estudo de Santos; Mello (2010) foram realizadas com sessões de 1h/dia, frequência de 5 dias/semana, sobrecarga de 5% da massa corporal, durante um período 8 semanas. Por outro lado, um protocolo de natação intervalado tem sido utilizado com duração total de 50 minutos por sessão, caracterizado por breves períodos de alta intensidade por 60 segundos, seguido por um período de descanso de 120 segundos em uma plataforma submersa (OLIVEIRA et al., 2013).

Recentemente o exercício de natação periodizado tem sido proposto em ratos (DOS-SANTOS; MELLO 2010). Este particularmente reproduz o modelo de periodização usado em treinamentos de alta performance com a sobrecarga (volume/intensidade/recuperação) bem controlados (DOS-SANTOS; MELLO, 2010).

O treinamento periodizado é um modelo de treinamento organizado por meio da alternância de estímulos leves, moderados e intensos, divididos em período básico (treinamento de maior volume), específico (treinamento de maior intensidade) e o polimento (fase final onde se busca o pico da performance aeróbia, através da redução do volume e manutenção da intensidade). Com este modelo de treinamento periodizado, esperamos obter mais informações sobre a teoria da *activitystat* ao invés de adotar um modelo linear com uma intensidade fixa por todo o período de treinamento.

Obviamente a estrutura e ativação muscular, biomecânica e atividade metabólica são diferentes entre humanos e ratos, porém, o treinamento apresenta similaridade de resposta entre as espécies.

Independente do modelo de treinamento empregado, a avaliação física dos animais é de grande relevância, pois assim é possível verificar as alterações aeróbias provocadas pelo protocolo de treinamento empregado. A máxima fase estável foi estabelecida para natação com ratos e o teste de lactato mínimo para determinação do limiar anaeróbio com humanos (TEGTBUR, 1993) foi adaptado para o modelo de natação com ratos (VOLTARELLI, 2002; GOMES et al., 2007).

2.4 Atividade física e exercício físico

Recentemente o foco das pesquisas tem se concentrado em compreender os fatores que motivam o indivíduo a se exercitar regularmente e a influência diária no gasto energético, como uma estratégia de prevenção a saúde (PEDERSEN; SALTIN, 2015).

A atividade física é definida como qualquer movimento corporal, produzido pelos músculos esqueléticos, que resulta em gasto energético maior do que os níveis de repouso (CASPERSEN et al., 1985) e inclui todas as atividades de lazer, no trabalho ou domésticas (HASKELL, 1994; DUNN, 1998).

Segundo Garland et al. (2011) a atividade física pode ser classificada como atividade física espontânea, que compreende as atividades para a sobrevivência e homeostase, como busca de comida, abrigo e interação social, e a atividade física voluntária, como por exemplo, as atividades recreacionais e o esporte, dentre outras, que variam em duração e intensidade.

A locomoção é de fundamental importância para a manutenção da vida diária da maioria dos mamíferos. Garland et al. (2011) apontam a similaridade da atividade física espontânea e voluntária entre humanos e animais de laboratório, ressaltando que, tal como nos humanos, no modelo experimental com animais, a locomoção representa a atividade física espontânea, realizada para busca de comida e interação social, enquanto que o exercício físico nas rodas de atividade, pode ser considerado uma atividade voluntária, na qual é possível medir o exercício voluntário, por meio de um comportamento clássico de automotivação, que pode ser mensurado pelo deslocamento dos animais.

2.5 Dieta hiperlipídica

Existe uma crença comum que o exercício (método de indução ao déficit energético) cause uma compensação no consumo de energia em resposta ao gasto produzido pelo exercício. No entanto, evidências sugerem que a intervenção em gasto de energia, muitas vezes, não é compensada por alterações no consumo de energia, pelo menos a curto prazo (KING et al., 1997).

O fluxo de energia no organismo é influenciado, basicamente, pela entrada de energia e o gasto energético. Porém, existe uma complexa relação entre diversos fatores intrínsecos e extrínsecos que vão resultar no balanço energético do organismo.

Desta forma, fatores genéticos, fisiológicos, psicológicos (intrínsecas) e ambientais (extrínsecos) podem definir o balanço energético que é fundamental para a manutenção da homeostase celular (BLAIR; HAND; HILL, 2015).

A qualidade da dieta em modelo experimental com ratos tem sido utilizada para verificar seus efeitos sobre os níveis de atividade física. Em roedores, a mudança no total dos níveis de macronutrientes e sua ingestão calórica podem alterar a atividade espontânea dos animais (WONG et al., 2014). Assim, examinar a relação entre exercício e ingestão calórica, e as estratégias a fim de amenizar as alterações na homeostase energética, podem ajudar a compreender melhor a hipótese da *activtystat*.

3 JUSTIFICATIVA

Gomersall et al. (2013) realizaram uma metanálise, cujo objetivo foi investigar os principais estudos relacionados a *activitystat* e concluíram que há necessidade de estudos mais controlados, pois as evidências até o momento são inconclusivas.

Desta forma, esta hipótese ainda necessita de estudos para fortalecer sua comprovação. Garland et al. (2011) apontam que há evidências de que o exercício físico voluntário e atividade física espontânea estão sob controle biológico em humanos e roedores. Porém, não há na literatura estudos que comprovem a ocorrência do fenômeno da alteração na homeostase energética, e sua resposta sobre o acúmulo de atividade física diária (voluntária e espontânea), além de mudança na dieta, utilizadas como estratégia, a fim de amenizar as alterações na homeostase energética restabelecendo o *set point* para atividade física (*activitystat*) em modelo animal com situação bem controlada. Fica evidente a necessidade de estudos com o ambiente controlado e estímulo adequado para a investigação da veracidade das estratégias utilizadas para restabelecer o *set point* para atividade física.

Presume-se que a evidência para controladores genéticos de atividade locomotora em animais é transferível para humanos, uma vez que evidências sugerem que roedores e humanos compartilham cerca de 75% de seus genomas (LIGHTFOOT, 2011).

Rowland (2008) escreveu sobre a hipótese da existência de um centro de controle involuntário biológico para a regulação da atividade física. Ele se fundamenta em uma base evolutiva, devido à necessidade de manutenção do balanço energético corporal intitulado *activitystat*. Segundo o autor, sob demanda de altos níveis de gasto de energia, um centro de comando biológico situado no hipotálamo é ativado para tentar restabelecer o equilíbrio energético do corpo através da redução dos níveis de atividade física (estratégia de reduzir a saída de energia) e aumento da fome (estratégia de entrada de energia).

Com base na literatura apresentada, nasce a pergunta central: o treinamento físico periodizado é capaz de influenciar o acúmulo de atividade física espontânea, voluntária e a ingestão calórica em ratos Wistar.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

A teoria da *activitystat* sugere que quando ocorrem alterações do gasto de energia, com atividade física, o organismo procura restabelecer a homeostase energética, compensando o gasto energético com redução da atividade física, espontânea e voluntária no período em que não se pratica exercício físico, assim como a alteração da ingestão de calorias por meio da dieta consumida.

O treinamento periodizado é um modelo de treinamento organizado por meio da alternância de estímulos leves, moderados e intensos, dividido em período básico (treinamento de maior volume), específico (treinamento de maior intensidade) e o polimento (fase final onde se busca o pico da performance aeróbia, através da redução do volume e manutenção da intensidade). Com este modelo de treinamento periodizado, esperamos obter mais informações sobre a teoria da *activitystat* ao invés de adotar um modelo linear com uma intensidade fixa por todo o período de treinamento.

Deste modo, o objetivo geral deste estudo é:

- Verificar se a teoria da *activitystat* ocorre na prática com o treinamento físico periodizado combinado com dieta hiperlipídica, por meio da atividade física espontânea e voluntária e alteração na ingestão alimentar de ratos.

4.2 Objetivos específicos

- Verificar a acurácia e confiabilidade de um sistema de videogrametria na análise do deslocamento de ratos Wistar, rastreados em ambiente enriquecido;

- Verificar o efeito do treinamento físico periodizado sobre o acúmulo de atividade física espontânea (deslocamento pela filmagem) e voluntária (roda de atividades) em ratos Wistar.

- Verificar se a dieta hiperlipídica interfere na atividade física espontânea e voluntária, no perfil lipídico (triglicerídeos, HDL), glicemia, comportamento alimentar e composição corporal de ratos submetidos ao treinamento periodizado.

5 MÉTODOS

Para responder aos nossos objetivos, optamos por utilizar o modelo escandinavo na dissertação, o qual preconiza a divisão em seções no formato de estudos ou artigos científicos para responder aos objetivos específicos da dissertação. Assim a dissertação está composta de dois estudos (Figura 3). Cada estudo apresenta um objetivo conforme apresentado na seção anterior. O primeiro objetivo (1º Estudo) foi verificar a acurácia e confiabilidade de um sistema de videogrametria na análise do deslocamento de ratos Wistar, e posteriormente utilizar a videogrametria, para verificar o efeito do treinamento físico periodizado sobre o acúmulo de atividade física espontânea dos animais (2 estudo).

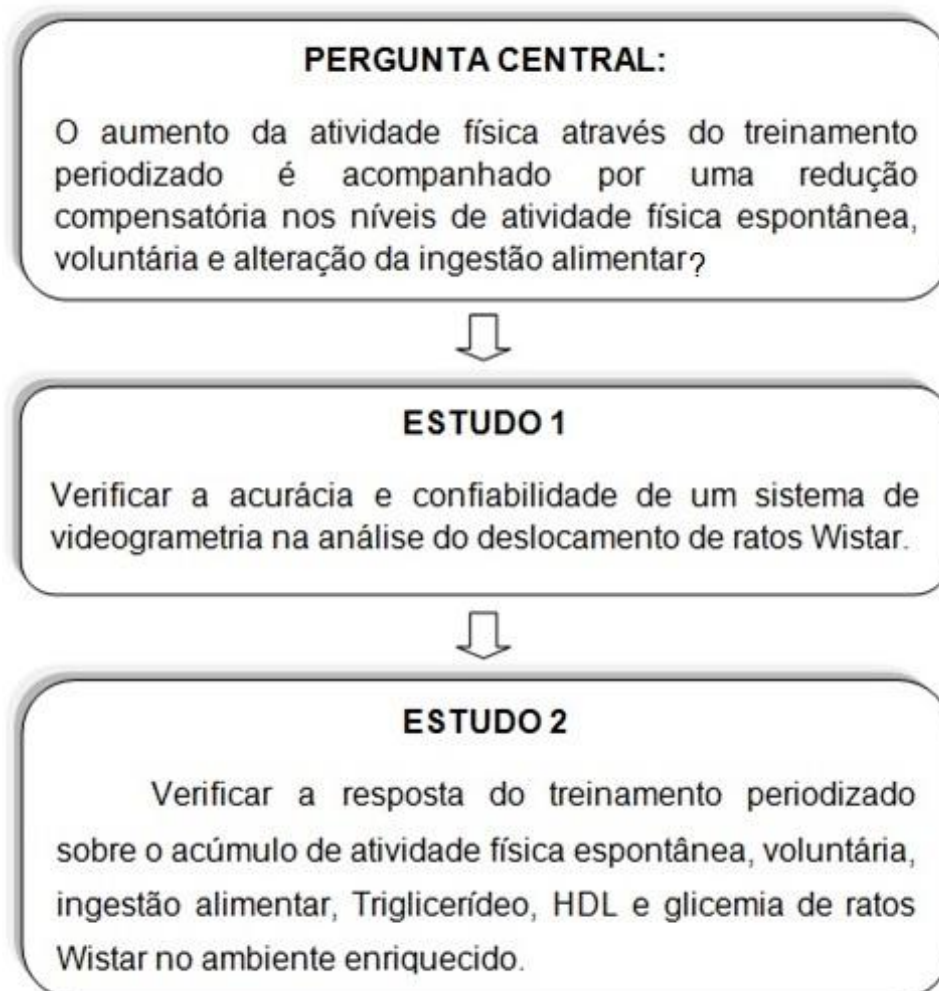


Figura 3 - Desenho experimental dos estudos que compõem a dissertação.

6 ESTUDO 1. PRECISÃO E CONFIABILIDADE DE UM SISTEMA DE VIDEOGRAMETRIA NA ANÁLISE DO DESLOCAMENTO DE RATO WISTAR.

Este manuscrito foi publicado no periódico científico **MOTRIZ - JOURNAL OF PHYSICAL EDUCATION** (Anexo A).

RESUMO

O comportamento de animais de laboratório tem sido estudado através da medida do deslocamento em estudos com objetivos diferentes, tais como, verificar os efeitos de fármacos, nutrientes, estímulos ambientais e o exercício físico. Embora métodos diferentes já tenham sido utilizados, a videogrametria de rastreamento manual do deslocamento para a análise em 2D ainda não foi verificada em estudos com animais. O objetivo deste estudo foi verificar a acurácia e a confiabilidade na determinação do deslocamento de ratos Wistar por meio de um software de videogrametria. Para isso, oito ratos Wistar foram alocados em ambiente enriquecido, sendo selecionado um animal para avaliação. A acurácia, avaliada comparando-se a distância conhecida e a distância rastreada foi determinada por 3 avaliadores diferentes, duas vezes consecutivas, através da filmagem de um percurso de 10 metros no ambiente enriquecido e posterior análise do deslocamento do ponto médio marcado em um aparato. Para calcular a confiabilidade (precisão do sistema de medição) e a reprodutibilidade (precisão dos avaliadores) para obtenção da razão de precisão para a tolerância (P/T), os animais foram filmados por 10 minutos em um ambiente enriquecido e analisada a distância do deslocamento do animal por três diferentes avaliadores, três vezes consecutivas. O software Dvideo foi utilizado para a análise do deslocamento, no modo de rastreamento manual. Os resultados obtidos no trajeto de 10 metros da distância conhecida, demonstraram acurácia de 0,10 m, precisão de 0,05 m e bias de 0,07 m. No teste de confiabilidade foi observada $P/T = 0,1$ metro, entre os três diferentes avaliadores, o que demonstra uma capacidade adequada de medição. O modo de rastreamento manual de videogrametria do Dvideo apresentou elevada confiabilidade e pode ser empregado para a análise do deslocamento em estudos com o modelo experimental com ratos.

Palavras-chave: atividade física, deslocamento, videogrametria, análise 2D.

INTRODUÇÃO

O comportamento de animais de laboratório tem sido estudado através do deslocamento em modelos experimentais com diferentes objetivos. Métodos diferentes têm sido empregados para a análise da distância percorrida, tais como monitor de atividade ultrasônica (AKAKA; HOUCK, 1980), dispositivo eletrônico (TARPY; MURCEK, 1984), cálculo da posição do centro de gravidade no piso (GAPENNE et al., 1990), e detecção por infra-vermelho (CLARKE, 1992). No entanto, estes métodos têm como limitação a impossibilidade de analisar o comportamento dos animais em grupo, ou interagindo entre si. Eles podem rastrear apenas um animal por vez. Além disso, esses métodos requerem um fundo simples (em termos de seus valores de escala de cinza) e podem lidar apenas com uma gama limitada de configurações experimentais (NOLDUS et al., 2001), tornando difícil o rastreamento no escuro. Por outro lado, a análise por videogrametria no modo de rastreamento manual permite a gravação de vários animais em uma gaiola ou ambiente enriquecido para analisar o comportamento dos animais em um grupo através da análise individual dos animais e permite o rastreamento durante o ciclo escuro.

Inicialmente, empregada para analisar o movimento de humanos (BARROS, 1999), o uso da videogrametria para a análise do deslocamento passou a ser utilizada no modelo experimental com animais (NOLDUS, 2001). Embora, em estudos com humanos, a aceleração, a velocidade a análise de ângulos dos segmentos corporais sejam parâmetros importantes para algumas áreas do conhecimento, em experimentos com animais o deslocamento por si é um parâmetro importante para o estudo do comportamento. Classificada como atividade física espontânea, o comportamento locomotor é um elemento chave na vida diária dos animais, requerida para a sobrevivência e homeostase (GARLAND et al., 2011). O desenvolvimento de métodos de análise por videogrametria evoluiu e nas últimas décadas a análise do deslocamento foi utilizada em estudos com diferentes objetivos, para entender o efeito de psicoestimulantes (MARIN et al., 2011), ambientes diferentes (XIE et al., 2013), restrição alimentar (LEIGHTON et al., 2014), diferentes condições de habitação (AUGUSIAK; BRINK, 2015) e drogas (SMETHELLS et al., 2016).

Embora a videogrametria automatizada seja um método efetivo para a análise do deslocamento, esta evolução tecnológica necessita de equipamentos com custo elevado. Por outro lado, o modo semi-automático de análise do deslocamento dos animais também é uma boa opção, pois utiliza o mesmo método (videogrametria), mas com investimento muito inferior ao método automático. O método semi-automático tem sido em utilizado estudos que necessitam de alta precisão, tais como cinemática angular de movimentos (BARBIERI et al., 2010) e medidas de distância e velocidade no esporte (BUENO, 2014; PEREIRA, 2016). Deste modo, é possível empregar o modo semi-automático de videogrametria em estudos com animais, uma vez que este método de análise de vídeo permite rastrear animais por várias horas e analisar o deslocamento dos mesmos.

O software Dvideow (BARROS, 1999, 2007) tem sido utilizado como uma ferramenta em estudos para a análise de movimento (BARBIERI et al., 2010;BUENO, 2014; PEREIRA, 2016) apresentando várias possibilidades de aplicações, para a análise em três dimensões (3D), com uso de, pelo menos, duas câmeras. No modelo experimental com ratos, a análise do deslocamento pode ser feita em duas dimensões (2D), apenas com uma câmera, uma vez que é possível posicionar apenas uma câmera acima da gaiola ou ambiente no qual os animais são alocados e obter imagens para análise do deslocamento dos animais. No entanto, a acurácia e a confiabilidade do método semi-automático de análise de vídeo, utilizando a videogrametria para a análise em 2D do deslocamento ainda não foram verificadas em estudos com animais.

O termo acurácia é muito utilizado para indicar a qualidade de uma grandeza observada ou um parâmetro estimado, definida como o grau de proximidade de uma estimativa com seu parâmetro, valor verdadeiro (MIKHAIL; ACKERMAN, 1976). Segundo Montgomery (2004), é possível planejar estudos da capacidade de um sistema de medição para investigar dois componentes de erro de mensuração, através dos parâmetros confiabilidade e reprodutibilidade (R&R). Dessa forma, R&R é uma ferramenta utilizada para a análise da variabilidade associada à contribuição da instrumentação, das condições ambientais e dos avaliadores em determinado processo de medição. A nosso conhecimento, nenhum dos sistemas de análise de deslocamento utilizados no modelo experimental com ratos apresentou uma medida de precisão e confiabilidade.

A confiabilidade dos resultados de uma medição está diretamente associada ao conhecimento e ao controle de características do sistema de medição. Desta forma, verificar a acurácia e a confiabilidade da videogrametria para a medida do deslocamento no modelo experimental com animais é preeminente. A proposta deste estudo foi verificar a acurácia e a confiabilidade da determinação da distância percorrida de ratos Wistar com o uso do rastreamento no modo manual.

Materiais e métodos

Animais

Ratos Wistar (*Rattus Norvegicus Albinus Wistar*), com idade de 120 dias oriundos do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista (UNESP) campus Botucatu foram utilizados no presente estudo. Os animais foram alocados em gaiola (ambiente enriquecido) medindo 1,28 mx 58 cm x 45 cm (8 animais/ambiente) no Biotério do Centro Universitário Unisaiesiano Campus Lins. O ambiente enriquecido é composto por um grupo de animais e objetos inanimados (roda de corrida, túnel, pontes, bolas e outros) que facilitam a estimulação sensorial, cognitiva, motora e social dos animais (SZTAINBERG; CHEN, 2010). A temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) e a luminosidade (ciclo claro/escuro 12/12 h) do biotério foram controladas e os animais tiveram livre acesso à água e alimento. Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com os termos do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONSEA) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais- CEUA - UNISALESIANO (Protocolo nº 09/2015, em 27/08/2015).

Aquisição das imagens para calcular a acurácia

Uma Câmera IP Infra 1.3 MP 30M (1280x720) foi fixada na parte central superior do ambiente enriquecido a 1 metro acima da gaiola, por meio de um suporte de meta fixado no teto. A gravação foi gerenciada pelo Software de captura (Citrox), ajustada a uma frequência de aquisição de 60 Hz (resolução da imagem de 720x480).

A determinação da acurácia foi feita no mesmo espaço do ambiente enriquecido, no entanto, sem os objetos inanimados. Uma linha de nylon contínua de

10 m foi distribuída aleatoriamente no fundo do ambiente. Uma aparato contendo um bastão de madeira com uma mini-bolsa de tecido (4x6 cm) em sua extremidade, marcada com um ponto vermelho de 0.5 cm de raio, como referência ao centro de massa, foi usado para a filmagem de um avaliador ao percorrer o trajeto de 10 m (Figura 1).

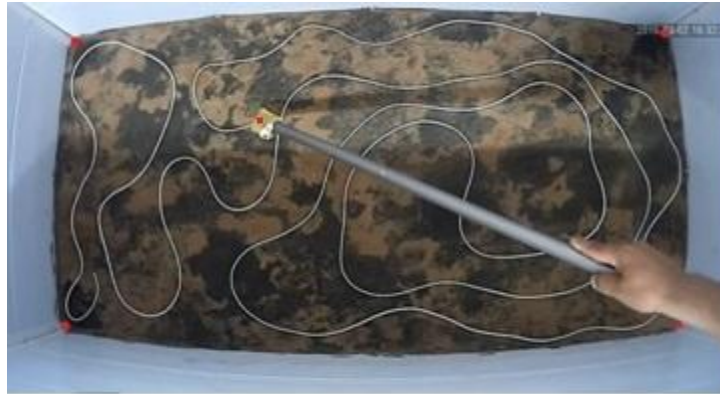


Figura 1 - Ambiente enriquecido sem os objetos inanimados, com a linha de nylon de 10 m distribuída aleatoriamente ao fundo, marcações das extremidades (pontos de calibração em vermelho) e o bastão com a mini-bolsa marcada com o centro de massa.

Após a aquisição do vídeo da rota de 10 metros e processo de calibração que tomou como referência os quatro pontos marcados nos cantos da caixa do ambiente enriquecido, cujas distâncias reais foram previamente medidas, o eixo "X" representou o comprimento do ambiente enriquecido, e o eixo "Y" representou sua largura. Em seguida, três avaliadores realizaram duas medidas de cada deslocamento total pelo ponto médio, usando o modo de rastreamento manual do software Dvideo. Posteriormente, foi criado um arquivo com as coordenadas de tela dos pares ordenados (X, Y) em 2D, do movimento da haste em torno das marcas no fundo do ambiente e, a partir desta informação, o deslocamento do ponto médio foi calculado para obtenção da distância total (m) (Figura 2), em uma rotina específica desenvolvida no software Matlab® 2014a (Math Works Inc, Massachusetts, Estados Unidos).

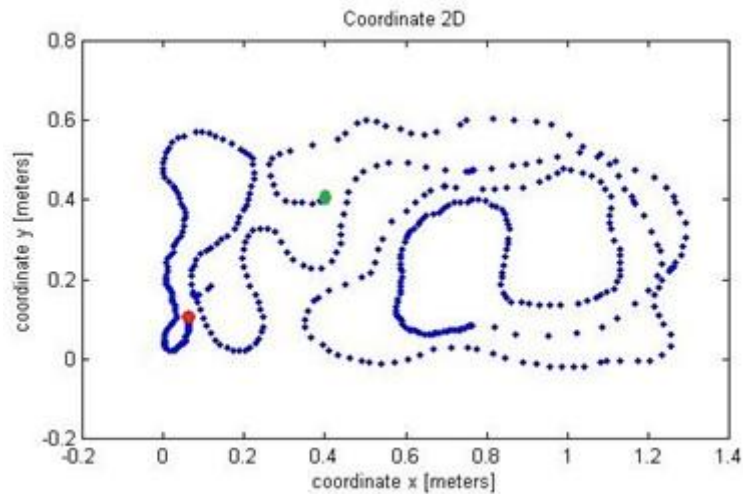


Figura 2 - Imagem do percurso de 10 m a partir das coordenadas X,Y, em 2D, obtida por um dos três avaliadores. Ponto verde = início do rastreamento; ponto vermelho = final do rastreamento.

Teste de Acurácia

O percurso total percorrido pelo bastão foi rastreado, e verificou-se a acurácia (equação 1), o bias (erro sistemático - equação 2) e a precisão (equação 3) das medidas a partir do cálculo da distância experimental obtida, através das fórmulas apresentadas abaixo:

$$(1) \quad a^2 = b^2 + p^2$$

$$(2) \quad b = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^n |\mu - m_{(i)}|$$

$$(3) \quad p = \sqrt{\left(\frac{1}{N-1}\right) \sum_{i=1}^n (m_i - \bar{m})^2}$$

onde: a = acurácia; b = bias; p = precisão; μ = valor real; $m_i = (i = 1, \dots, N)$ = valor observado da medida obtido experimentalmente; \bar{m} = valor médio das N medidas; N = número de repetições do experimento.

Cálculo do Deslocamento

A filmagem do ambiente enriquecido, contendo oito animais, foi utilizada para a análise do deslocamento. No entanto, apenas o deslocamento de um animal foi utilizado na análise. Um vídeo com duração de 10 min foi gravado para determinação da distância percorrida daquele animal no ambiente enriquecido. A análise foi feita por três avaliadores diferentes que realizaram duas medições cada um do mesmo vídeo. Os mesmos procedimentos da reconstrução em 2D e os cálculos das coordenadas “X” e “Y” foram realizadas conforme descritos anteriormente, no teste de acurácia. Tal como no teste de acurácia, um ponto de referência na cor vermelha, foi marcado próximo ao centro de massa do animal, para padronizar o rastreamento. O resultado do deslocamento do animal rastreado por um dos avaliadores está apresentado na figura 3.

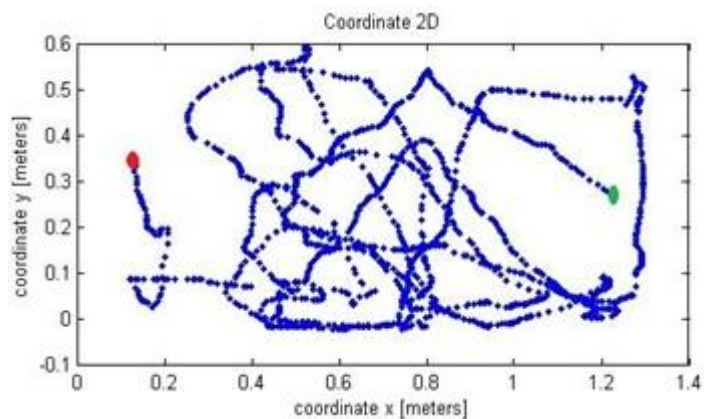


Figura 3. Imagem do rastro de um rato no ambiente enriquecido durante os 10 minutos de rastreamento. Ponto verde = início do rastreamento; Ponto vermelho = final do rastreamento.

Confiabilidade e Reprodutibilidade

A confiabilidade e a reprodutibilidade por videogrametria no modo de rastreamento manual do Dvideo foram calculadas como proposto pelo método (R & R) (MONTGOMERY, 2004). Assim, a reprodutibilidade refere-se à variabilidade das médias das medidas obtidas por diferentes avaliadores (em diferentes períodos de tempo, ambientes diferentes ou sob diferentes condições) ao realizar repetidas

vezes com o mesmo instrumento de medição. A partir do R & R é possível obter os componentes do desvio padrão do erro de medição (σ_{meter}) e calcular a relação de precisão com tolerância (P / T), onde um sistema de medição requer medir com precisão o suficiente para interpretar a medida correta entre os avaliadores. Os valores de P / T iguais ou inferiores a 0,1m indicam a capacidade adequada da medida. Os dados de rastreamento foram obtidos a partir do deslocamento do rato para determinar os seguintes parâmetros:

σ^2 erro de medição = σ^2 medidor (equação 3) = σ^2 repetitividade (equação 1) + σ^2 reprodutibilidade (equação 2) e razão 6 σ medidor (faixa de tolerância total da precisão - equação 4) como segue:

$$\sigma^2 \text{ erro de medição} = \sigma^2 \text{ medidor} = \sigma^2 \text{ repetitividade} + \sigma^2 \text{ reprodutibilidade}$$

$$(1) \quad \bar{R} = \frac{1}{3} (\bar{R}_1 + \bar{R}_2 + \bar{R}_3)$$

$$\sigma \text{ repetitividade} = \frac{\bar{R}}{d_2}$$

$$(2) \quad \bar{x}_{\max} = \max(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \bar{x}_3)$$

$$\bar{x}_{\min} = \min(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \bar{x}_3)$$

$$R_x = \bar{X}_{\max} - \bar{X}_{\min}$$

$$\sigma \text{ reprodutibilidade} = \frac{R_x}{d_2}$$

$$(3) \quad \sigma^2 \text{ medidor} = \sigma^2 \text{ repetitividade} + \hat{\sigma}^2 \text{ reprodutibilidade}$$

$$(4) \quad \frac{P}{T} = \frac{6\sigma \text{ medidor}}{LSE - LIE}$$

onde: \bar{R} = Média das três amplitudes médias dos avaliadores, \bar{R}_1 = Amplitude média das medidas 1 e 2 do avaliador n°1; \bar{R}_2 = Amplitude média das medidas 1 e 2 do avaliador n°2; \bar{R}_3 = Amplitude média das medidas 1 e 2 do avaliador n°3; d_2 = Fator para amostra de tamanho 2 (1,693), \bar{x}_1 = Média do valor médio das medidas do avaliador n°1, \bar{x}_2 = Média do valor médio das medidas do avaliador n°2, \bar{x}_3 = Média do valor médio das medidas do avaliador n°3, R_x = Amplitude para amostra de tamanho 3, P = precisão, T = tolerância, LSE = Limite de especificação superior

(média mais o desvio padrão), LIE = Limite de especificação inferior (média menos desvio padrão).

RESULTADOS

Os resultados das medições realizadas durante o modo de rastreamento manual por três avaliadores apresentaram valores aceitáveis, na comparação entre distância conhecida e distância traçada (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores obtidos pelos avaliadores no rastreamento de 10 metros.

| Avaliador | Medidas (m) | | Media | Desvio padrão |
|-----------|-------------|------|-------|---------------|
| | 1° | 2° | | |
| 1 | 9,77 | 9,77 | 9,77 | 0,005 |
| 2 | 9,67 | 9,60 | 9,64 | 0,053 |
| 3 | 9,81 | 9,82 | 9,81 | 0,007 |

Os resultados individuais, bem como o desvio padrão e média para as medidas obtidas pelos avaliadores durante os 10 minutos do deslocamento do rato, são mostrados na Tabela 2. De acordo com os resultados observados, a diferença entre os valores máximo e mínimo entre os avaliadores é muito pequeno, resultando no coeficiente de variação (CV = 0,06).

Tabela 2 - Valores obtidos pelos avaliadores durante o rastreamento de 10 minutos do rato.

| Avaliador | Medidas (m) | | | Media | Desvio padrão |
|-----------|-------------|-------|-------|-------|---------------|
| | 1° | 2° | 3° | | |
| 1 | 13,42 | 13,42 | 13,24 | 13,36 | 0,10 |
| 2 | 13,45 | 13,27 | 13,38 | 13,37 | 0,08 |
| 3 | 13,42 | 13,24 | 13,34 | 13,33 | 0,08 |

A distância total percorrida, que é a soma dos três diferentes resultados de rastreamento de animais de 10 minutos realizados pelos diferentes avaliadores encontrados foi de 40,08 metros para o avaliador n°1, 40,10 metros (valor máximo)

avaliador n°2 e 40,01 metros (valor mínimo) para o avaliador n°3. A maior diferença encontrada no valor da distância percorrida entre os avaliadores foi de 0,10 metros (0,27%). A figura 4 mostra o resultado do rastreamento do animal pelos três diferentes avaliadores durante a primeira tentativa.

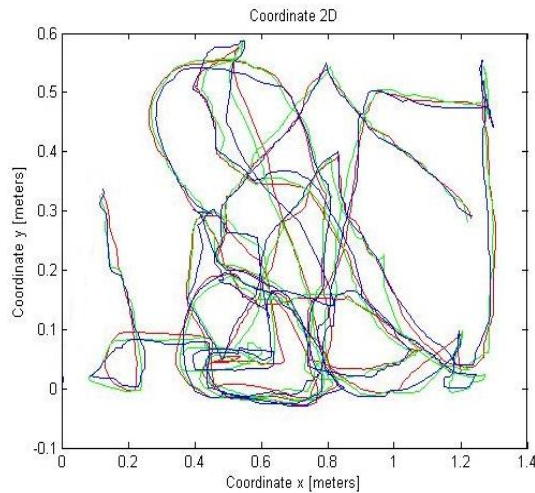


Figura 4 - Imagem do rastro de um rato no ambiente enriquecido durante os 10 minutos de rastreamento. Vermelho = avaliador n°1; Verde = avaliador n°2; e Azul = avaliador n°3.

A Tabela 3 apresenta os valores das variáveis de erro no teste de precisão, em que foi calculado o rastreamento de uma distância conhecida de 10 metros feita na parte inferior da caixa do ambiente enriquecido. A Tabela 4 apresenta os valores de erro obtidos no teste de confiabilidade através de R & R de um rato no ambiente enriquecido durante os 10 minutos de rastreamento. A relação P / T permaneceu dentro do limite de tolerância (10%).

Tabela 3 - Valores obtidos no cálculo de acurácia, precisão e bias do primeiro experimento.

| TESTE | Acurácia (m) | Precisão (m) | Bias (m) |
|-----------|--------------|--------------|----------|
| 10 metros | 0,10 | 0,05 | 0,07 |

Tabela 4 - Dados das variáveis para o erro de medição σ^2 confiabilidade do segundo experimento.

| TESTE | $\sigma_{repetitividade}$ | $\sigma_{reprodutibilidade}$ | $\sigma^2_{medidor}$ | Relação P/T |
|-------|---------------------------|------------------------------|----------------------|-------------|
| R&R | 0,08 | 0,05 | 0,09 | 0,1 |

DISCUSSÃO

As metodologias baseadas em videogrametria permitem investigar e compreender melhor vários fenômenos em animais de laboratório relacionados ao deslocamento, tais como: o efeito de drogas psicoestimulantes na locomoção (MARIN et al., 2011), quantificar a influência do meio ambiente nos níveis de atividade física, melhorar os protocolos de estudo em animais (XIE et al, 2013) e estudar Informação de memória e orientação espacial (GAPENNE et al., 1990).

O presente estudo foi projetado para investigar a precisão e a confiabilidade da medida do deslocamento de ratos Wistar por videogramas usando o modo de rastreamento manual do Dvideo. A interface Dvideo permite obter as coordenadas da tela de um determinado objeto através de um operador, apontando a tela do computador para o objeto cuja coordenada você deseja obter, com a ajuda do mouse. É uma opção usada onde não é possível realizar a medição automaticamente.

As conclusões deste estudo, precisão de 1% (0,10 m) e confiabilidade através dos cálculos de R & R ($P / T = 0,10$ m) demonstraram que o modo de rastreamento manual da videogravação Dvideo 2D é um bom método para análise do deslocamento de ratos Wistar .

A precisão 0,10 m, precisão (0,05 m) e Bias (0,07 m) corroboram com estudos prévios (BARROS, 2007; BUENO, 2014), em que através da videogrametria foi verificada a confiabilidade do software Dvideo na determinação do deslocamento em jogadores de futebol e análise de movimentos humanos, respectivamente, demonstrando a sua flexibilidade de aplicação. Embora as situações de análise dos estudos acima sejam diferentes, o deslocamento no campo de futebol, o movimento dos segmentos do corpo humano e, no presente estudo, com deslocamento de ratos, em todas as situações, o uso do software Dvideo apresentou precisão. Especificamente, nos estudos sobre análise de deslocamento no modelo experimental com ratos, a nosso conhecimento, nenhum estudo apresentou a precisão e confiabilidade da medida em seus diferentes métodos, como um monitor de atividade ultra-sônica (AKAKA; HOUCK, 1980), dispositivo eletrônico (TARPY; MURCEK, 1984), cálculo da posição do centro de gravidade no chão (GAPENNE et al., 1990) e detecção infravermelha (CLARK et al., 1992). Portanto, a comparação de

nossos resultados com os resultados de outros estudos com animais é limitada. Este é o primeiro estudo que apresenta a precisão da análise de deslocamento no modelo experimental com ratos, demonstrando a confiabilidade do sistema Dvideo, através do modo de rastreamento manual, para uso em estudos com deslocamento no modelo experimental com ratos.

A análise por videogrametria permite o armazenamento de informações e analisa o comportamento de vários ratos alocados no mesmo ambiente, o que não é possível fazer com os métodos aplicados em estudos anteriores, como monitor de atividade ultra-sônica (AKAKA; HOUCK, 1980), dispositivo eletrônico (TARPY; MURCEK, 1984), cálculo da posição do centro de gravidade no chão (GAPENNE et al., 1990) e detecção infravermelha (CLARK et al., 1992). Nos estudos citados acima, o rato é avaliado isoladamente, sem interação com outros animais. O sistema de videogrametria permite a análise de deslocamento considerando a interação do animal com outros animais e o meio ambiente, que podem ser manipulados pelo pesquisador. Dentro da análise de videogramas, o método automático tem sido utilizado em estudos sobre o comportamento no ciclo luz / escuridão (VERWEY et al., 2013; ASLANI et al., 2014), distância e velocidade (XIE et al., 2013; SMETHELLS et al., 2016). Por outro lado, a nosso conhecimento, a videogrametria com modo de rastreamento manual ainda não havia sido testada em experimentos com animais. No presente estudo, o modo de rastreamento manual apresentou confiabilidade e precisão. Além disso, o sistema analisado no presente estudo é uma opção de baixo custo em comparação com o método automático, que tem um alto valor comercial, enquanto o software Dvideo foi desenvolvido para fins de pesquisa e disponibilizado gratuitamente. A confiabilidade do modo de rastreamento manual de videogrametria verificada através do estudo dos parâmetros R & R (MONTGOMERY, 2004) demonstrou ser útil para avaliar a ferramenta utilizada no experimento, uma vez que sua configuração foi de 0,1 m, o que indica uma capacidade de medição adequada. O índice R & R é utilizado para verificar a adequação do sistema de medição, determinado por $6 \sigma_{meter}$ do intervalo de tolerância total ou precisão na relação de tolerância (P / T). Uma vez que a relação P / T é influenciada pela confiabilidade (precisão básica associada à própria ferramenta de medição) e reprodutibilidade (variabilidade devido ao fato de que o sistema de medição a ser utilizado por diferentes avaliadores), o resultado encontrado para a reprodutibilidade

(0,05m) em relação à confiabilidade (0,08m) deixa claro que o uso de videogramas usando o Dvideo entre diferentes avaliadores tem boa confiabilidade.

A metodologia de videogrametria do modo de rastreamento manual, empregada neste estudo para ratos, além de apresentar baixo custo, precisão e confiabilidade verificadas, pode ser útil para pesquisa em diferentes modelos experimentais com ratos e outras espécies, como a análise do comportamento social dos ratos Wistar mantidos em ambiente enriquecido, análises em situações isoladas, como labirintos ou qualquer outra condição em que seja possível realizar a aquisição da imagem com vista superior.

Finalmente, é importante notar que o presente estudo não encerra esse tópico. O estudo apresenta a limitação de avaliar apenas uma espécie animal, ratos Wistar, em um ambiente enriquecido. Assim, embora a precisão e a confiabilidade do sistema Dvideo tenham sido confirmadas, estudos adicionais devem ser realizados, com animais de outra espécie, como ratos, principalmente por causa da diferença de tamanho corporal e da velocidade de deslocamento entre estas duas espécies animais, e a análise em outro ambiente.

CONCLUSÃO

A alta confiabilidade do sistema testado no presente estudo demonstra que o modo de rastreamento manual de videogrametria do Dvideo pode ser útil para a análise da distância percorrida em modelos experimentais que estudam os efeitos de diferentes variáveis no comportamento animal, tais como interação social, drogas, alimentos, dieta, atividade física e exercício entre outras.

REFERÊNCIAS

- AKAKA, W.H; HOUCK, B.A. The use of an ultrasonic monitor for recording locomotor activity. **Behavior Research Methods & Instrumentation**, v.12, n.5, p. 514-516, 1980.
- ASLANI, S.; HARB, M.R.; COSTA, P.S.; ALMEIDA, O.F.; SOUSA, N.; PALHA, J.A. Day and night: Diurnal phase influences the response to chronic mild stress. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 8, n. 82, p. 1-8 2014.
- AUGUSIAK, J.; BRINK, P.J. Studying the movement behavior of benthic macro invertebrates with automated video tracking. **Ecology and Evolution**, v. 5, n. 8, p. 1563-1575, 2015.
- BARROS, R.M.L; BRENIKOFER, R; LEITE, N.J; FIGUEROA, P.J. Development and evaluation of a system for three-dimensional kinematic analysis of human movements. *Brazilian Journal of Biomedical Engineering*, v. 15, n. 1, p. 79-86,1999.
- BARBIERI, F.A.; GOBBI, L.T.; SANTIAGO, P.R.; CUNHA, S.A. Performance comparisons of the kicking of stationary and rolling balls in a futsal context. **Sports Biomechanics**, v. 9, n. 1, p. 1-15, 2010.
- BARROS, R.M.L.; MISUTA, M.S.; MENEZES, R.P.; FIGUEROA, P.J.; MOURA, F.A.; CUNHA, S.A. Analysis of the Distances Covered by First Division Brazilian Soccer Players Obtained with an Automatic Tracking Method. **Journal of Sports Science & Medicine**, v. 6, n. 2, p. 233–242, 2007.
- BUENO, M.J.; CAETANO, F.G; PEREIRA, T.J.; SOUZA, N.M.; MOREIRA, G.D.; NAKAMURA, F.Y.; ET AL. Analysis of the distance covered by Brazilian professional futsal players during official matches. **Sports Biomechanics**, v. 13, n. 3, p. 230-240, 2014.
- CLARKE, R.L; SMITH, R.F; JUSTESEN, D.R. A programmable proximity-contact sensor to detect location or locomotion of animals. **Behavior Research Methods, Instruments, & Computers**, v. 24, n. 4, p. 515-518,1992.
- GAPENNE, O; SIMON, P; LANNOU, J. A simple method for recording the path of a rat in an open field. **Behavior Research Methods, Instruments, & Computers**, v. 22, n. 5, p. 443-448, 1990.
- GARLAND, T; SCHUTZ, H; CHAPPELL, M.A; KEENEY, B.K, MEEK, T.H, COPES, L.E, ET AL. 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, 2010.
- KILKENNY, C; BROWNE, W.J; CUTHILL, I.C; EMERSON, M; ALTMAN, D.G. Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. **PLoS Biol**, v. 8,n.6, e1000412 , 2010.

MARIN, M.T; ZANCHETA, R; PARO, A.H; POSSI, A.P; CRUZ, F.C; PLANETA C.S. Comparison of caffeine-induced locomotor activity between adolescent and adult rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 660, n. 3, p. 363-367, 2011.

MIKHAIL, E.M.; ACKERMAN, F.E. **Observations and least squares**. New York: IEP; 1976.

MONTGOMERY, D.C. **Introduction to statistical quality control**. Hoboken, NJ: Wiley; 2004.

NOLDUS, L.P; SPINK, A.J; TEGELENBOSCH, R.A. EthoVision: A versatile video tracking system for automation of behavioral experiments. **Behavior Research Methods, Instruments, & Computers**, v. 33, n. 3, p. 398-414, 2001.

PEREZ-LEIGHTON, C.E; GRACE, M; BILLINGTON, C.J.; KOTZ, C.M. Role of spontaneous physical activity in prediction of susceptibility to activity based anorexia in male and female rats. **Physiology & Behavior**, v. 135, p. 104-111, 2014.

PEREIRA, T.J.; NAKAMURA, F.Y.; JESUS, M.T.; VIEIRA, C.L.; MISUTA, M.S.; BARROS, R.M.; ET AL. Analysis of the distances covered and technical actions performed by professional tennis players during official matches. **Journal of Sports Sciences**, v. 35, n. 4, p. 361-368, 2016.

SMETHELLS, J.R; SWALVE, N.; BRIMIJOIN, S.; GAO, Y.; PARKS, R.J; GREER, A.; ET AL. Long-Term Blockade of Cocaine Self-Administration and Locomotor Activation in Rats by an Adenoviral Vector-Delivered Cocaine Hydrolase. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 357, n. 2, p. 375-381, 2016.

SZTAINBERG, Y.; CHEN, A. An environmental enrichment model for mice. **Nature Protocols**, v. 5, n. 9, p.1535-1539, 2010.

TARPY, R.M; MURCEK, R.J. An electronic device for detecting activity in caged rodents. **Behavior Research Methods, Instruments, & Computers**, v. 16, n. 4, p. 383-387, 1984.

VERWEY, M.; ROBINSON, B.; AMIR, S. Recording and Analysis of Circadian Rhythms in Running-wheel Activity in Rodents. **Journal of Visualized Experiments**, v. 24, n. 71, 2013.

XIE, H;; WU, Y; JIA, J; LI, G; ZHANG, Q; YU, K; ET AL. Enrichment-induced exercise to quantify the effect of different housing conditions: A tool to standardize enriched environment protocols. **Behavioural Brain Research**, v. 249, n. 89, 2013.

7 ESTUDO 2. EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO PERIODIZADO SOBRE O ACÚMULO DE ATIVIDADE FÍSICA ESPONTÂNEA, VOLUNTÁRIA E A INGESTÃO CALÓRICA EM RATOS WISTAR.

7.1 Materiais e métodos do estudo 2 da dissertação geral

7.1.1 Animais

Ratos (n=32) da linhagem Wistar (*Rattus Norvegicus Albinus Wistar*) com idade inicial de 90 dias foram mantidos em gaiolas coletivas, a temperatura controlada por ar condicionado de $25 \pm 1^\circ \text{C}$ e em ciclo claro/escuro de 12/12 horas, com livre acesso a água e ao alimento.

O experimento seguiu as recomendações das Resoluções Brasileiras de Bioética de Experimentos com Animais (lei federal nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O Estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Unisalesiano - Lins, (Protocolo nº 09/2015, em 27/08/2015) (Anexo B) .

7.1.2 Desenho experimental

Todos os animais foram mantidos em ambiente enriquecido durante todo o experimento, sendo consideradas como variáveis independentes o treinamento físico e a dieta hiperlipídica. Os animais foram avaliados através do teste de limiar anaeróbio pelo lactato mínimo (La_m) para natação com ratos (ARAÚJO et al., 2007) para verificação da evolução da aptidão física dos animais. Além disso, o La_m também serviu como parâmetro para distribuição dos quatro grupos experimentais, para que os mesmos apresentassem aptidão aeróbia similar e fossem compostos por animais com diferentes níveis de aptidão aeróbia:

Grupo controle (GC), n=8: dieta balanceada padrão e sem treinamento físico.

Grupo de treinamento periodizado (TPDP), n=8: dieta balanceada padrão submetidos ao treinamento periodizado de natação.

Grupo controle com dieta hiperlipídica (GDH), n=8: dieta hiperlipídica e sem treinamento físico.

Grupo treinamento periodizado dieta hiperlipídica (TPDH), n=8: dieta hiperlipídica submetidos ao treinamento periodizado de natação.

Inicialmente, o teste de La_m foi realizado após duas semanas de adaptação ao meio líquido, para evitar o efeito do estresse durante o teste. A adaptação consistiu de 1 sessão/dia de 20 minutos em água a $31 \pm ^\circ C$, com profundidade de 25 cm. Posteriormente ao teste de La_m , os animais foram divididos em quatro grupos de acordo com mesmo nível de aptidão aeróbia verificado pelo teste de ANOVA para garantir a homogeneidade, e alocados no ambiente enriquecido. Na semana seguinte os grupos de treinamento iniciaram o período de adaptação ao treinamento, com aumento progressivo da sobrecarga durante duas semanas. O protocolo de treinamento foi composto de seis semanas de treinamento, acompanhado dos procedimentos do experimento (Tabela 1). A intensidade do treinamento foi estipulada com base no La_m individual dos animais e ajustada semanalmente em 5% do La_m , durante todo o experimento (NICHOLAS et al., 2009).

Tabela 1 - Linha temporal dos procedimentos experimentais.

| SEMANAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|--|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Adaptação ao meio líquido para teste de La_m Pré | TD | TD | | | | | | | | |
| Teste de La_m | | TD | | | | | | GC | GT | |
| Adaptação ao treinamento | | | GT | GT | | | | | | |
| Período de treinamento | | | | | GT | GT | GT | GT | GT | GT |
| Adaptação ao teste La_m Pós | | | | | | | | GC | | |
| Sacrifício | | | | | | | | | | TD |

TD = Todos os grupos, GC = Grupo Controle, GT = Grupo Treinamento, La_m = Lactato Mínimo.

7.1.3 Ambiente enriquecido

O ambiente enriquecido (AE) é um ambiente onde são inseridos objetos para estimular os diversos repertórios dos animais. As características do ambiente enriquecido que foi utilizado no presente estudo são: dimensões de 1,30 m x 80 cm x 60 cm, composto por objetos inanimados, brinquedos coloridos, roda de atividade,

vasilhas para alocação de alimento e água (Figura 3). Todos os brinquedos foram trocados semanalmente com o intuito de manter a intensidade dos estímulos para o enriquecimento ambiental.

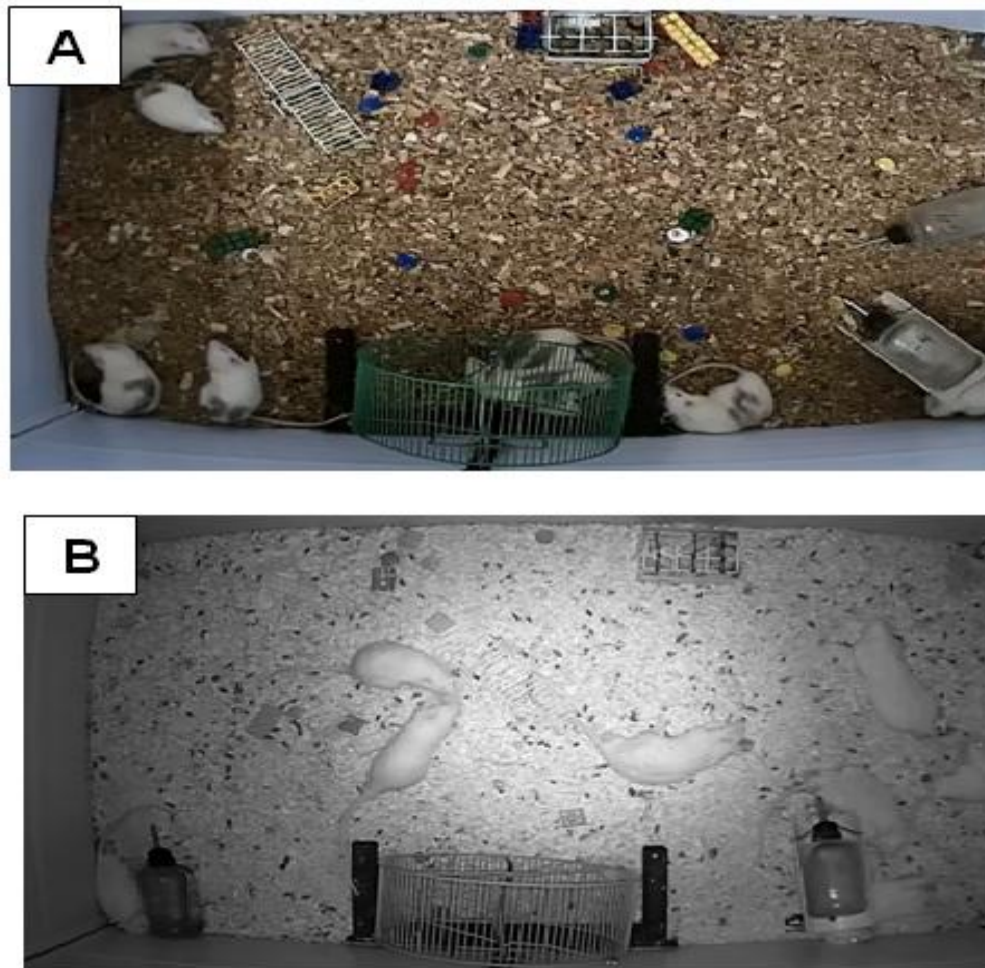


Figura 1 - Ambiente Enriquecido. A = visualização superior diurna; B = visualização superior noturna.

7.1.4 Controle da atividade física voluntária (AFV) e espontânea (AFE)

A atividade física espontânea foi mensurada pela análise do deslocamento dos animais (TADEU et al., 2017) por meio de filmagem realizada pela câmera e *Software* de gestão CITROX, e, posteriormente rastreado e os resultados reconstruídos em 2D utilizando o *software* Dvideow (Digital Video for Biomechanics for Windows 32 bits) (BARROS et al., 1999). Após esta etapa, as informações foram

calculadas em uma rotina desenvolvida no software Matlab® 2014a (Match Works Inc, Massachussets, Estados Unidos), para obtenção dos dados de deslocamento dos animais, expressos em metros. A filmagem foi realizada durante 8 semanas logo após a divisão dos grupos, no período escuro, onde ocorre maior atividade dos animais, das 20h00 às 21h00 (XIE et al., 2013).

A atividade voluntária foi mensurada por meio de uma roda de atividade inserida no ambiente enriquecido. Esta roda tem 20 cm de diâmetro, 10 cm de largura fixada em uma base com um pilar de metal onde está acoplado um ciclocomputador digital modelo Assize AS-100 para o controle do número das voltas para o cálculo semanal da distância total acumulada.

7.1.5 Protocolo de treinamento periodizado

As sessões de natação foram realizadas em um tanque de vidro medindo 2,00m x 1,00m x 1,00m contendo água a 40 cm de profundidade (Figura 2), com baias individuais de tal forma que os animais não pudessem interferir na atividade de natação do outro, com temperatura da água mantida em $31 \pm 1^\circ \text{C}$. O treinamento de natação periodizado teve duração de 6 semanas entre 8:00 e 10:00 h da manhã, prescrito com base na aptidão aeróbia de forma individual determinada pelo teste de La_m .



Figura 2 - Tanque de natação com baias individuais.

Após a semana de adaptação ao meio líquido para o teste de La_m , os animais do grupo treinamento periodizado (TP) e treinamento periodizado dieta hiperlipídica (TPDH) passaram por um período de adaptação, antes de iniciarem o protocolo de treinamento periodizado, de seis semanas. A adaptação ao treinamento foi feita com aumento gradativo da sobrecarga, até realizarem 50min de exercício com 5% mc, adaptado de Dos-Santos e Mello (2010). Na primeira semana os animais realizaram o exercício sem sobrecarga com aumento progressivo do volume (tempo), com 10min no primeiro dia, 20, 30, 40 e 50min nos dias seguintes. Na segunda semana o volume permaneceu constante (50min/sessão, 5dias/semana) e ocorreu uma adaptação à sobrecarga de 5% da mc, iniciando com 10 minutos de exercício com sobrecarga no primeiro dia, 20 min no segundo dia, 30 min no terceiro dia, 40 min no quarto dia e 50 min no quinto dia (Figura 3).

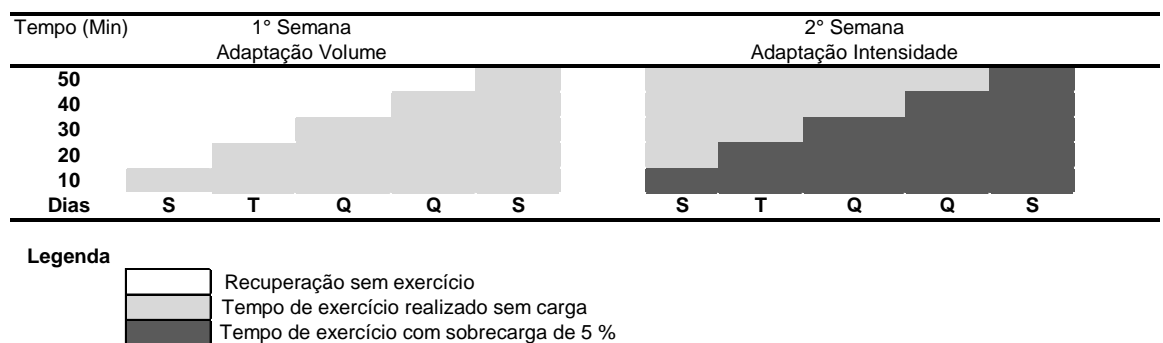


Figura 3 - Período de adaptação de duas semanas.

Após a adaptação ao treinamento, os animais foram submetidos ao protocolo de treinamento periodizado em períodos: básico, específico e polimento (Figura 4), com alternância de carga (volume e intensidade), das sessões de treinamento, conforme proposto Dos-Santos e Mello (2010), similar ao treinamento de alto desempenho em humanos.

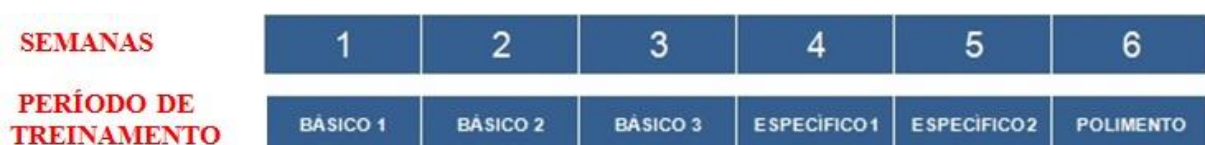


Figura 4 - Estrutura da periodização do treinamento durante o experimento.

Os estímulos durante as sessões de treinamento de natação para os grupos TP e TPDH, foram aplicados em níveis de intensidade aeróbia e anaeróbia. O treinamento aeróbio foi dividido em três diferentes níveis: A-1 (50% abaixo do limiar anaeróbio), A-2 Contínuo (valor do limiar anaeróbio), A-2 Intervalado com pausa passiva (20% acima do valor de Limiar) e A-3 Intervalado com pausa passiva (50% acima do valor do limiar). Para o treinamento anaeróbio a divisão dos níveis foi a seguinte: AN-1 (70% acima limiar) e AN-2 (100% acima do limiar).

O período preparatório básico de duas semanas foi composto de estímulos combinados entre A-1, A-2 Contínuo, A-2 Intervalado com pausa passiva, A-3 Intervalado com pausa passiva e AN-2, com duração total de 398 minutos e predominância de volume. O período específico foi composto de estímulos combinados entre A-2 Contínuo, A-2 Intervalado pausa passiva, A-3 Intervalado pausa passiva, e AN-1 e AN-2, com duração total de 482,5 minutos com aumento de volume e intensidade. Após estas duas fases, teve início o período de polimento, caracterizado pela redução de volume e intensidade em relação às fases anteriores com duração de 123 minutos (Tabela 2). Para o planejamento de quantificação da carga total de treinamento semanal (CTS), o cálculo foi realizado através da multiplicação do tempo de execução do exercício de natação (minutos) pela intensidade (percentual da massa corporal, % mc), considerando a soma de todos os estímulos de todas as sessões de treinamento realizados pelos respectivos grupos, sem levar em consideração os intervalos de recuperação. Assim, a carga de trabalho foi calculada da seguinte forma:

$$W = TE \times \% mc \text{ (UT)}$$

Onde: **W** = sobrecarga de trabalho de cada sessão de treinamento, expressas em unidades arbitrárias de treinamento (UT), **TE** = tempo total de exercícios, desconsiderando os intervalos de recuperação, **% mc** = percentual de massa corporal utilizada como sobrecarga com base no limiar anaeróbio do animal, durante o exercício.

Tabela 2 - Periodização utilizada durante o experimento.

| Período | Dias semana | Treino Principal | | | Treino Complementar | | | Total |
|------------------|-------------------|------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|
| | | IT | Rep x Temp x Rec | Sobrecarga (% Limiar) | IT | Tempo (minutos) | Sobrecarga (% Limiar) | Tempo (minutos) |
| BÁSICO | Segunda | A - 1 | 1 x 20 x (-) | 50%↓ | A -1 | 0 | 50%↓ | 20 |
| | Terça | A - 2 | 1 x 30 x (-) | Limiar | A -1 | 20 | 50%↓ | 50 |
| | Quarta | A - 3 | 6 x 4.0 x 1.5 | 60%↑ | A -1 | 15 | 50%↓ | 31 |
| | Quinta | A - 1 | 1 x 50 x (-) | 50%↓ | A -1 | 0 | 50%↓ | 50 |
| | Sexta | A -2 | 4 x 6.0 x 0.5 | 20%↑ | A -1 | 20 | 50%↓ | 44 |
| | Sáb/Dom | - | | Ausente | | | | |
| | Segunda | A -2 | 1 x 35 x (-) | Limiar | A -1 | 15 | 50%↓ | 50 |
| | Terça | A -3 | 6 x 4.0 x 1.5 | 60%↑ | A -1 | 25 | 50%↓ | 41 |
| | Quarta | AN - 2 | 6 x 0.5 x 3.0 | 100%↑ | A -1 | 30 | 50%↓ | 33 |
| | Quinta | A -3 | 6 x 2.5 x 1.0 | 60%↑ | A -1 | 30 | 50%↓ | 45 |
| | Sexta | A - 2 | 6 x 6.0 x 0.5 | 20%↑ | A -1 | 10 | 50%↓ | 34 |
| | ESPECÍFICO | Sáb/Dom | - | | Ausente | | | |
| Segunda | | AN - 1 | 4 x 5.0 x 1.5 | 70%↑ | A -1 | 20 | 50%↓ | 40 |
| Terça | | A - 2 | 5 x 6.0 x 0.5 | Limiar | A -1 | 20 | 50%↓ | 50 |
| Quarta | | A - 3 | 5 x 2.5 x 1.0 | 60%↑ | A -1 | 25 | 50%↓ | 37,5 |
| Quinta | | AN - 2 | 6 x 0.5 x 3.0 | 100%↑ | A -1 | 30 | 50%↓ | 33 |
| Sexta | | A - 2 | 5 x 6.0 x 0.5 | Limiar | A -1 | 20 | 50%↓ | 50 |
| Sáb/Dom | | - | | Ausente | | | | |
| Segunda | | A - 2 | 3 x 6.0 x 0.5 | Limiar | A -1 | 15 | 50%↓ | 33 |
| Terça | | AN - 1 | 4 x 1.5 x 0.5 | 70%↑ | A -1 | 15 | 50%↓ | 21 |
| Quarta | | A - 3 | 4 x 2.5 x 1.5 | 60%↓ | A -1 | 15 | 50%↓ | 25 |
| Quinta | | AN - 2 | 4 x 0.5 x 3.0 | 100%↑ | A -1 | 20 | 50%↓ | 22 |
| Sexta | | A - 2 | 4 x 5.0 x 0.5 | Limiar | A -1 | 15 | 50%↓ | 35 |
| Sáb/Dom | | - | | Ausente | | | | |
| Segunda | | A - 2 | 3 x 6.0 x 0.5 | Limiar | A -1 | 15 | 50%↓ | 33 |
| Terça | | AN -1 | 4 x 1.5 x 5.0 | 70%↑ | A -1 | 15 | 50%↓ | 21 |
| Quarta | | A - 3 | 4 x 2.5 x 1.5 | 60%↓ | A -1 | 15 | 50%↓ | 25 |
| Quinta | | AN - 2 | 4 x 0.5 x 3.0 | 100%↑ | A -1 | 20 | 50%↓ | 22 |
| Sexta | | A - 2 | 4 x 5.0 x 0.5 | Limiar | A -1 | 15 | 50%↓ | 35 |
| POLIMENTO | Sáb/Dom | - | | Ausente | | | | |
| | Segunda | AN -2 | 3 x 0.5 x 3.0 | 100%↑ | A -1 | 10 | SS | 11,5 |
| | Terça | A -3 | 3 x 2.5 x 1.5 | 60%↓ | A -1 | 10 | SS | 17,5 |
| | Quarta | A -2 | 4 x 6.0 x 0.5 | 20%↑ | A -1 | 20 | SS | 44 |
| | Quinta | - | Teste La _m | | | | | |
| | Sexta | A - 2 | 1 x 40 x (-) | Limiar | A -1 | 10 | 50%↓ | 50 |

IT = Intensidade do treinamento, Rep = repetição, Temp = tempo, Rec = recuperação passiva, ↓ (abaixo) e ↑ (acima), SS = sem sobrecarga adicional.

A figura 5 ilustra como foi distribuída a carga de treino ao longo da periodização de 6 semanas de treinamento.

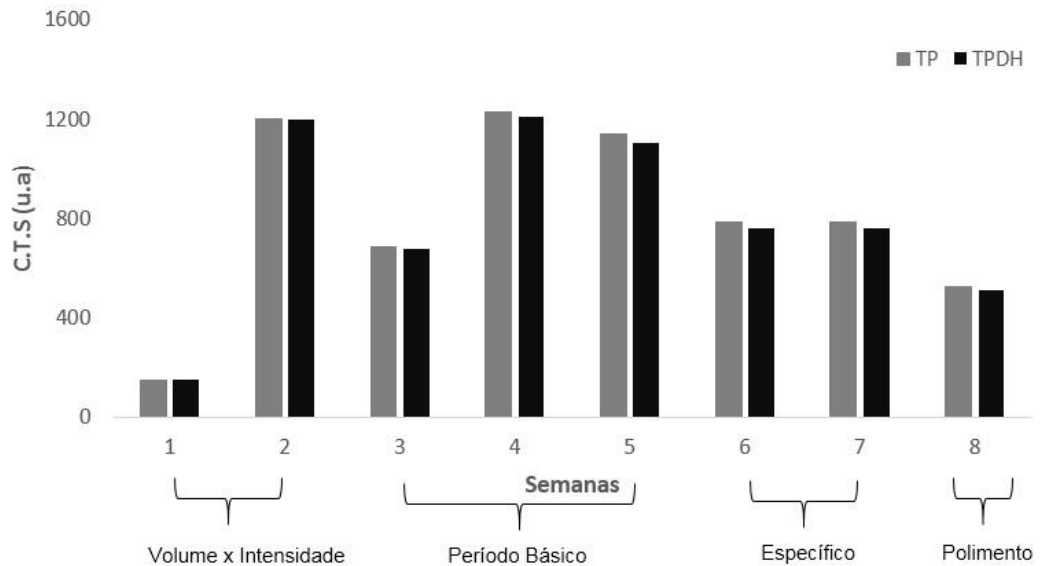


Figura 5 - Distribuição da carga de treino semanal (CTS) ao longo de 6 semanas de periodização com os períodos Básico, Específico e Polimento. TP = Treinamento Periodizado, TPDH = Treinamento Periodizado Dieta Hiperlipídica.

7.1.6 Determinação do limiar anaeróbio

Para a determinação do limiar anaeróbio foi utilizado o teste de La_m proposto para natação com ratos (ARAÚJO et al., 2007). O teste consiste, inicialmente, na indução da hiperlactacidemia com uma carga de 13% da massa corporal (mc), através do exercício de natação através de 2 séries de 30 segundos seguido de 30 segundos de recuperação, e depois retornando a água até sua exaustão (considerada como 10 segundos submerso na água). Após o período de exercício para indução da acidose, o animal passa por um período de recuperação de sete minutos e no oitavo minuto de recuperação é iniciado o teste incremental. O teste incremental tem início com carga inicial de 4,0 % mc (considerada abaixo o limiar anaeróbio) e aumento de carga de 0,5% mc a cada estágio, até a exaustão. Os estágios do teste têm duração de 5 minutos, separados por de 30 segundos para a coleta de sangue. O princípio do teste é fazer com que a concentração de lactato

sanguíneo possa baixar no início do teste (fase de redução na razão remoção/produção de lactato e retornar a subir fase de aumento da razão produção remoção de lactato). O La_m corresponde ao ponto mínimo da curva em formato de “U”, obtida pela concentração de lactato sanguíneo (eixo Y) versus a carga (%mc). No teste incremental foi obtido a partir de um ajuste polinomial de 2º ordem, com auxílio do software MS-excel®, o valor do La_m que representa o ponto de equilíbrio entre a produção e a remoção de ácido láctico.

7.1.7 Controle antropométrico, das dietas e da ingestão hídrica

Peso e comprimento corporal: A mensuração do peso foi realizada a partir da divisão dos grupos alocados no ambiente enriquecido, com intervalo de 24 horas durante as 8 semanas do experimento. O ganho de peso (Peso final - Peso inicial) foi calculado semanalmente durante as 8 semanas com a média semanal de cada grupo. Para medida dos mesmos foi utilizada uma balança eletrônica digital, marca Filizola® Mod BP LED (15 Kg x 5g), capacidade máxima 500g e mínima 0,002g. O comprimento nasoanal foi realizado ao fim do experimento, após anestesia do animal, com as medidas registradas em papel milimetrado.

Índice de Lee: o índice de Lee foi calculado, ao final do experimento, a partir da relação entre a raiz cúbica do peso corporal e o comprimento nasoanal do animal (ARAÚJO et al., 2009).

Índice de Lee: $3\sqrt{\text{Peso (g)}} / \text{CNA(cm)}$

onde: $3\sqrt{\text{ }} =$ raiz cúbica do peso corporal (g), CNA = comprimento naso-anal (mm)*10.

Após a eutanásia, o tecido abdominal epididimal (retroperitoneal) e abdominal visceral (omental) foram separados e pesados. Para medida dos mesmos foi utilizada balança eletrônica digital, marca Filizola® Mod BP LED (15 Kg x 5g).

A dieta padrão utilizada possui 3.938 Kcal/Kg de energia metabolizável constituída de 73,8% de carboidrato, 14,8% de proteína e 9,8% de lipídeos com vitaminas e minerais balanceados. Já a dieta hiperlipídica possui 5.494 Kcal/Kg de energia metabolizável, composta de 26,13% de carboidratos, 14,4% de proteínas e

57,6% de lipídios, e com vitaminas e minerais adicionados de forma balanceada e ajustado pela dieta controle (Tabela 3). As dietas utilizadas foram da marca Prag soluções (Jaú, São Paulo, Brasil). O controle da dieta foi realizado 2 vezes na semana, onde foi pesado a quantidade livre inicial oferecida e descontado o valor obtido na pesagem após 24h, considerando todos os pedaços obtidos espalhados após uma inspeção no ambiente enriquecido, assumido-se o valor restante como consumido pelos animais.

Consumo alimentar: o consumo alimentar foi determinado em período de 24 horas duas vezes na semana durante as oito semanas do experimento. A primeira coleta foi realizada no primeiro dia de semana do treinamento, e a segunda coleta no último dia de treinamento da semana, sempre as 11h 00 com o cálculo da ingestão da média semanal de cada grupo. A ingestão de alimento foi calculada da seguinte forma:

$$\text{Ingestão Alimento} = ((\text{SC}).100) / \text{SP}$$

onde: SP = soma peso de todo os animais da gaiola; SC = soma da ingestão alimentar da gaiola.

Baseado na ingestão de alimento e na quantidade de calorías o consumo de energia por meio da dieta foi calculado da seguinte forma segundo Diniz (2005):

Energia Ingerida = média do consumo de alimento x energia metabolizável da dieta expresso em Kcal/dia

Tabela 3 - Composição das dietas.

| INGREDIENTES | Dieta Padrão | | Dieta Hiperlipídica | |
|----------------------|---------------|--------------|---------------------|--------------|
| | g/Kg | Kcal | g/Kg | Kcal |
| Amido de Milho | 415,0 | 1.660 | 14,3 | 57,2 |
| Farelo de Soja | 305,0 | 1.281 | 410,0 | 1.722 |
| Sacarose | 80,0 | 320,0 | 80,0 | 320,0 |
| Maltodextrina | 70,0 | 280,0 | 70,0 | 280,0 |
| Banha | 0,0 | 0 | 302,0 | 2.718 |
| Óleo de Soja | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 |
| ÁC. Gráxo Soja | 50,0 | 350,0 | 50,0 | 350,0 |
| Celulose Microcrista | 31,7 | 0 | 25,4 | 0 |
| L-cistina | 1,8 | 72,0 | 1,8 | 72,0 |
| Cloreto Colina | 1,5 | 0 | 1,5 | 0 |
| Butil-hidroxitolueno | 0,014 | 0 | 0,0 | 0 |
| Mix min. mod 50 gps | 35,0 | 0 | 35,0 | 0 |
| Mix Vitamina | 10,0 | 40,0 | 10,0 | 40,0 |
| TOTAL | 1000,0 | 3.938 | 1000,0 | 5.494 |

7.1.8 Eutanásia

Ao final do período experimental, no dia seguinte após o último treinamento durante o período da manhã, os ratos foram anestesiados com tiopental sódico (50 mg/kg de peso corporal via injeção intraperitoneal).

7.1.9 Dosagens bioquímicas

A amostra de sangue foi coletada por punção cardíaca através de seringa de 2 ml e posteriormente centrifugado a 3.500 rpm durante 15 minutos. Após a centrifugação o soro foi armazenado em *freezer* a -80 °C para posterior dosagem de glicose, triglicerídeos, HDL, utilizando os seguintes métodos:

Glicemia: A concentração de glicose sérica foi determinada pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase-peroxidase utilizando kit comercial (Laborlab®) (HENRY, 1974).

Colesterol HDL: Determinado pelo método enzimático colorimétrico KIT Laborlab.

Trigliceridemia: Determinado pelo método enzimático- colorimétrico utilizando kit triglicérides GPO-PAP (Laborlab) e lido em espectrofotômetro.

8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi verificada com o teste de Shapiro-Wilk. Confirmada a normalidade dos dados, os resultados da Δ MC, índice de Lee, ingestão calórica, glicemia, HDL, TG, gordura epididimal e visceral, atividade física espontânea, voluntária e o limiar anaeróbio foram avaliados estatisticamente através de análise de variância com uma entrada (ANOVA *one-way*), seguido de pós-hoc de Bonferroni. A correlação de Pearson foi utilizada para verificar a associação entre a carga de treinamento semanal e a atividade física espontânea, atividade física voluntária e o consumo alimentar das seis semanas de treinamento, assim como a relação entre carga de treinamento semanal e a atividade física espontânea de cada semana considerando as 6 semanas de treinamento. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. Em todos os casos, o nível de significância adotado foi prefixado em 5%, e o software SPSS[®] utilizado para os testes estatísticos.

9 RESULTADOS

9.1 Composição Corporal, ingestão alimentar e parâmetros após o sacrifício dos animais.

Na tabela 4 estão apresentados os valores da variação da massa corporal (Δ MC), índice de Lee, consumo alimentar, glicemia, HDL, TG e gordura. Glicemia, HDL, TG e índice de Lee não apresentaram diferença significativa entre os grupos. Não houve diferença significativa em relação ao Índice de Lee após 8 semanas de experimento. Na análise ingestão alimentar, os dois grupos com dieta hiperlipídica, GDH e TPDH, apresentaram um consumo menor em relação aos grupos GC e TP. A gordura epididimal e visceral do grupo GDH foi maior em relação aos grupos GC, TP e TPDH.

Tabela 4 - Variação massa corporal (Δ MC), índice de Lee, consumo alimentar, glicemia, HDL, TG, gordura epididimal e visceral dos grupos após 8 semanas de experimento.

| Parâmetros | GC | TP | GDH | TPDH |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------------|
| Δ MC (g) | 93,25 \pm 27,86 | 51,37 \pm 46,35 | 78,50 \pm 36,04 | 56,62 \pm 28,80 |
| Índice de Lee (g/mm) | 5,75 \pm 0,49 | 5,46 \pm 0,37 | 5,64 \pm 0,47 | 5,27 \pm 0,35 |
| Consumo alimentar (g/100g) | 106,77 \pm 18,94 | 103,53 \pm 21,95 | 55,30 \pm 12,63*.& | 52,41 \pm 12,26*.& |
| Consumo alimentar (Kcal/Kg/dia) | 364,17 \pm 50,92 | 326,76 \pm 80,92 | 244,62 \pm 40,7*.& | 221,68 \pm 44,8*.& |
| Glicemia (mg/dl) | 100,77 \pm 14,20 | 94,12 \pm 27,94 | 106,57 \pm 21,44 | 85,26 \pm 32,17 |
| HDL (mg %) | 23,65 \pm 7,82 | 37,82 \pm 17,02 | 44,61 \pm 35,61 | 75,77 \pm 88,15 |
| TG (mg/dl) | 63,41 \pm 18,21 | 49,02 \pm 17,01 | 52,47 \pm 18,27 | 56,98 \pm 12,36 |
| Gordura Epididimal (g) | 6,70 \pm 1,23 | 4,8 \pm 1,83 | 8,0 \pm 3,28& | 6,2 \pm 1,79 |
| Gordura Visceral (g) | 4,22 \pm 1,49 | 2,63 \pm 1,65 | 6,98 \pm 4,50& | 4,90 \pm 1,72 |

Resultados expressos em média \pm erro padrão da média, n = 8 animais por grupo. GC = Grupo controle; TP = Grupo Treinamento Periodizado com dieta padrão; GDH = Grupo dieta hiperlipídica sem treinamento; TPDH = Grupo treinamento periodizado com dieta hiperlipídica; * $p \leq 0,05$ em relação aos grupos GC.; & $p \leq 0,05$ em relação ao grupo TP.

9.2 Atividade física voluntária (AFV), atividade física espontânea (AFE) e capacidade aeróbia.

Na tabela 5 são apresentados os resultados da AFV, AFE e La_m . A AFV não diferiu entre os grupos, enquanto que na AFE verificou-se que os grupos TP, GDH e TPDH apresentaram níveis significativamente menores de atividade em relação ao GC. O teste de La_m não apresentou diferença no início do experimento, porém ao final do experimento os grupos TP e TPDH apresentaram melhor capacidade aeróbia significativa em relação ao grupo GDH. No teste de La_m pré e pós realizados nos grupos que realizaram o treinamento periodizado, apenas o grupo TP apresentou diferença significativa.

Tabela 5 - Atividade física voluntária (AFV), atividade física espontânea (AFE) e a capacidade aeróbia (La_m) dos animais durante as 6 semanas de treinamento.

| | GC | TP | GDH | GTPH |
|------------------------------------|---------------|-------------------------------|----------------|--------------------------|
| AFV (km/dia) | 1,72 ± 0,52 | 1,27 ± 0,27 | 2,11 ± 1,50 | 1,50 ± 1,06 |
| AFE (m/h) | 22,35 ± 10,49 | 14,73 ± 12,33* | 14,79 ± 13,42* | 16,23 ± 12,41* |
| La_m pré (%mc) | 3,66 ± 0,40 | 3,67 ± 0,40 | 3,57 ± 0,60 | 3,51 ± 0,40 |
| La_m pós (%mc) | 3,29 ± 0,48 | 4,29 ± 1,38 ^{#&} | 2,57 ± 0,78 | 3,57 ± 0,53 [#] |

Resultados expressos em média ± erro padrão da média, n = 8 animais por grupo. GC = Grupo controle; TP = Grupo Treinamento Periodizado com dieta padrão; GDH = Grupo dieta hiperlipídica sem treinamento; TPDH = Grupo treinamento periodizado com dieta hiperlipídica. * $p \leq 0,005$ em relação ao grupo GC. # $p \leq 0,005$ em relação ao grupo GDH; & $p \leq 0,05$ para o teste t pré e pós.

A Tabela 6 apresenta os valores da AFV dos grupos ao longo das 8 semanas de experimento. Não houve diferença significativa durante o experimento no GC. Já para o GDH houve diferença significante na 3ª semana em relação a 5ª semana. Para grupos que realizaram o treinamento, foi identificado diferença significativa na 2ª semana em relação a 6ª semana para o grupo TP e da 1ª semana em relação a 4ª e 6ª semanas para o TPDH. Para fins estatísticos, utilizou-se o teste de ANOVA para medidas repetidas.

Tabela 6 - Deslocamento(m) dos animais durante as 8 semanas de experimento. SA: semana de adaptação ao treinamento 1- 2; ST: semana de treinamento 1 - 6.

| SEMANAS | | | | | | | | | |
|---------|---------------|--------------|---------------------------|--------------|---------------------------|---------------|--------------|---------------|-------|
| GRUPOS | Adaptação | | Treinamento | | | | | | p |
| | SA - 1 | SA - 2 | ST - 1 | ST - 2 | ST - 3 | ST - 4 | ST - 5 | ST - 6 | |
| GC | 17,44 ± 3,84 | 19,29 ± 4,65 | 31,39 ± 3,93 | 19,12 ± 1,99 | 27,64 ± 2,89 | 28,37 ± 1,68 | 17,78 ± 1,78 | 16,73 ± 2,891 | 0,21 |
| TP | 29,28 ± 17,64 | 10,75 ± 4,98 | 15,67 ± 10,91 | 3,61 ± 6,15* | 21,53 ± 11,84 | 16,01 ± 10,67 | 6,34 ± 6,49 | 14,85 ± 5,24 | 0,001 |
| GDH | 12,52 ± 7,83 | 11,10 ± 5,54 | 18,63 ± 14,57 | 7,47 ± 6,17 | 16,60 ± 9,76 [#] | 31,32 ± 20,19 | 0,80 ± 1,24 | 18,48 ± 11,63 | 0,001 |
| TPDH | 15,06 ± 3,69 | 12,34 ± 6,09 | 3,58 ± 0,75 ^{\$} | 18,47 ± 4,15 | 24,37 ± 4,96 | 23,68 ± 3,59 | 17,18 ± 2,65 | 15,33 ± 1,78 | 0,002 |

Resultados expressos em média ± erro padrão da média, n = 7 animais por grupo. GC = Grupo controle; TP = Grupo Treinamento Periodizado com dieta padrão; GDH = Grupo dieta hiperlipídica sem treinamento; TPDH = Grupo treinamento periodizado com dieta hiperlipídica. * $p \leq 0,005$ em relação a 6ª semana; [#] $p \leq 0,005$ em relação a 5ª semana; ^{\$} $p \leq 0,005$ em relação a 4ª e 6ª semanas.

As correlações entre a CTS com o CA, AFV e AFE estão apresentadas na tabela 7. A associação entre a carga de treino semanal e o consumo energético apresentou correlação muito fraca e sem significância estatística para ambos os grupos, assim como os valores de associação entre a carga de treino total semanal e a atividade física voluntária apresentaram correlação fraca para ambos os grupos, sem significância estatística. Já na associação entre a carga de treino total semanal e a atividade física espontânea para o grupo TP, a correlação é moderada ($r = -0,69$, $p < 0,05$), enquanto o grupo TPDH a correlação foi fraca sem significância estatística.

Tabela 7 - Correlação de Pearson (r) entre a carga de treinamento semanal (CTS), consumo alimentar (CA), atividade física voluntária (AFV) e a atividade física espontânea (AFE) dos grupos experimentais ao final do experimento.

| | Grupo | CA | AFV | AFE |
|-----------|-------|------|-------|--------|
| CTS (u.a) | TP | 0,05 | -0,10 | -0,69* |
| | TPDH | 0,08 | -0,39 | -0,24 |

TP = Grupo Treinamento Periodizado com dieta padrão, TPDH = Grupo treinamento periodizado com dieta hiperlipídica. *Correlação significativa ao nível de ($p \leq 0,005$).

Na tabela 8 é apresentada a análise de associação entre a CTS e a AFE dos grupos submetidos ao treinamento periodizado. Verificou-se correlação classificada como forte e com significância estatística para ambos os grupos durante o período básico da periodização (TP: $r = -0,90$, $p = 0,005$; TPDH: $r = -0,89$, $p = 0,008$).

Tabela 8 - Correlação de Pearson (r) entre a carga de treinamento semanal (CTS) e atividade física espontânea (AFE) dos grupos submetidos ao treinamento periodizado ao longo das 6 semanas de treinamento.

| | Semanas do período de treinamento | | | | | |
|------|-----------------------------------|--------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| TP | -0,66 | -0,90* | -0,49 | -0,38 | 0,27 | 0,17 |
| TPDH | -0,88* | -0,60 | -0,35 | -0,41 | -0,19 | -0,05 |

TP = Grupo Treinamento Periodizado com dieta padrão, TPDH = Grupo treinamento periodizado com dieta hiperlipídica. *Correlação significativa ao nível de $p \leq 0,005$.

As figuras 6 e 7 apresentam os dados de correlação das semanas que apresentaram correlações significantes (tabela 8) entre CTS e AFE. Na semana 1 do grupo TPDH (figura 6) e na semana 2 do TP (figura 7) do período de treinamento, as correlações foram fortes e com significância estatística (TPDH: $r = -0,882$; $r^2 = 0,778$; $p \leq 0,008$) e (TP: $r = -0,903$; $r^2 = 0,815$; $p \leq 0,005$).

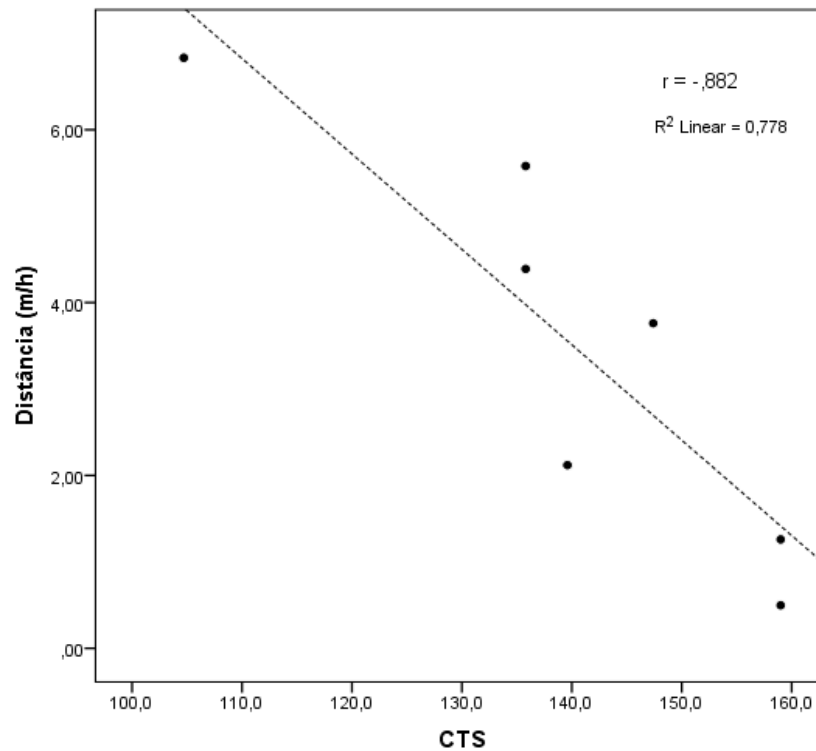


Figura 6 - Relação entre a carga de treinamento semanal (CTS) e atividade física espontânea (m/h) do grupo TPDH durante a 1ª semana de periodização.

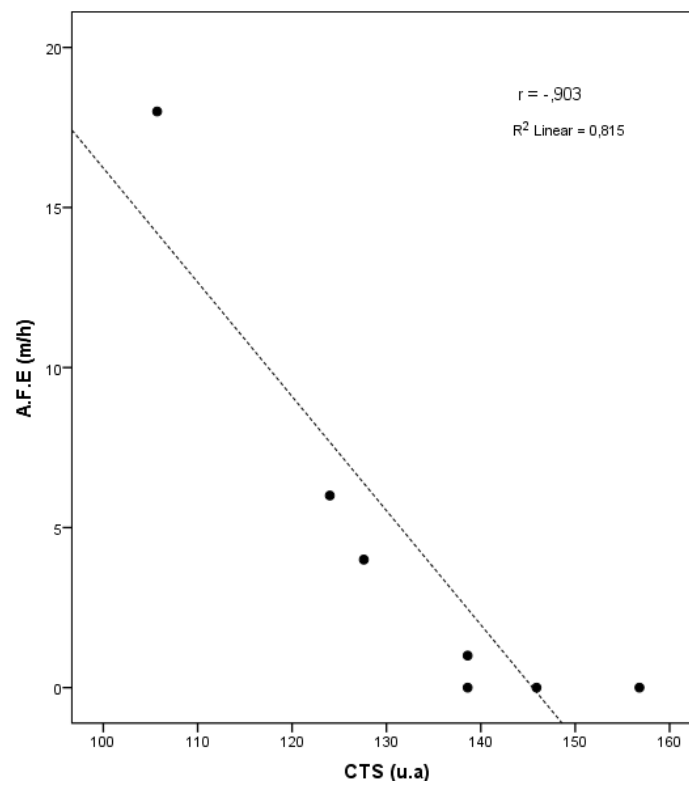


Figura 7 - Relação entre a carga de treinamento semanal (CTS) e atividade física espontânea (m/h) do grupo TP durante a 2ª semana de periodização.

10 DISCUSSÃO

10.1 Ingestão alimentar, dieta e composição corporal.

O principal objetivo deste estudo foi verificar o efeito do treinamento físico periodizado sobre o acúmulo de atividade física espontânea (deslocamento pela filmagem), voluntária (roda de atividades) e a ingestão calórica em ratos Wistar. O acúmulo de AFE apresentou diferença significativa nos grupos treinados com o modelo de periodização, especificamente durante o período básico onde ocorreu a maior sobrecarga de treinamento. A AFV não apresentou diferença significativa durante o experimento. No consumo alimentar, os dois grupos com dieta hiperlipídica apresentaram um consumo menor em relação aos grupos que consumiram dieta padrão.

Os valores de glicemia, HDL e TG não apresentaram diferença significativa entre os grupos. No entanto, estudos com modelo animal com duração de 8 semanas identificaram que o alto consumo de lipídeos conduz ao quadro de resistência a insulina e aumento das concentrações de TG (ROPELE et al., 2006; MOURA et al., 2012). Interessantemente, no presente estudo houve um cenário benéfico aos animais com dieta hiperlipídica, o que pode ser explicado pelo efeito do ambiente enriquecido, diferente dos resultados quando os animais são alojados em gaiolas convencionais alimentados com dieta hiperlipídica, onde as enzimas relacionadas com a homeostase do TG encontram-se alteradas favorecendo o acúmulo de TG (WANG et al., 2010), além do quadro de inflamação subclínica mediado por TNF- α e TLR-4, culminando em resistência à insulina (PAULI et al., 2009). Recentemente Jordão et al. (2015) demonstraram que o ambiente enriquecido é capaz de aumentar os níveis de atividade física dos animais proporcionando um melhor nível de condicionamento aeróbio, quando comparados com animais mantidos em gaiola convencional. Em outro estudo Xie et al. (2013) verificaram que o ambiente enriquecido foi capaz de estimular maior frequência de deslocamento, velocidade, distância e duração de movimentação dos animais. Já tem sido demonstrado que o aumento dos níveis de atividade física está associado à redução da adiposidade corporal, melhora do perfil lipídico, da sensibilidade à insulina (COELHO; BURINI, 2009). Nossos resultados demonstraram que o

ambiente enriquecido é uma boa opção para prevenir o aumento de glicemia e TG em animais tratados com dieta hiperlipídica.

Em relação ao HDL e TG, estudos realizados com atividade física relatam seus efeitos benéficos nos níveis de HDL e TG, esta combinação entre alta concentração de HDL e baixa de TG associada a níveis elevados de atividade física, é considerada protetora contra aterosclerose e infarto do miocárdio (KRAUS et al., 2002; KAZEMINASAB et al., 2013; WANG; XU, 2017). A alteração sérica de HDL é consequência de sua redução de degradação e aumento de sua síntese no fígado. Já a produção hepática de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) e apolipoproteína (apo B), associado ao aumento da atividade de lipoproteína lipase (LPL) aumentando o catabolismo das partículas ricas em TG (VLDL e quilomicron), também contribui para a diminuição dos níveis plasmáticos de TG (BERG et al., 1994; SPOSITO et al., 2007). Embora a mudança no padrão de alimentação (com maior ou menor concentração de gordura, mais ou menos calórica, rica ou pobre em açúcar) possa ser um fator de interferência em pesquisas que verificam o impacto do exercício na saúde, neste estudo foi possível observar o efeito da atividade física promovida pelo ambiente enriquecido sobre o HDL e o TG dos animais sem este fator de interferência. Interessantemente, mesmo o grupo GDH tratado com dieta hiperlipídica durante as 8 semanas de experimento, não apresentou diferença nos níveis de TG em relação aos demais grupos.

Não houve diferença significativa no ganho de massa e no índice de Lee entre os grupos. Para os grupos GC e GDH este cenário pode ser explicado por resultados de estudos que apontam o ambiente enriquecido como promotor de atividade física, capaz de influenciar no balanço energético dos animais controlando ou reduzindo o peso corporal (SUZUKI et al., 1992; TSAI et al., 2002; JORDÃO et al., 2015). Já para os grupos TP e TPDH, além do efeito do ambiente enriquecido existe uma grande demanda energética oriunda do protocolo de treinamento periodizado da natação. Mesmo assim os animais não apresentaram diferença na massa corporal e índice de Lee. Um estudo avaliou a progressão semanal do peso corporal e a composição corporal entre animais treinados, comparados aos sedentários alocados em caixas convencionais, e foi possível observar os efeitos benéficos do exercício sobre a composição corporal dos animais treinados, mas não no peso corporal. Assim, o gasto energético do exercício parece estar mais

associada a modificações na composição corporal. (WILTERDINK; BALLOR; KEESEY, 1993).

Embora não tenha ocorrido diferença significativa no índice de Lee, TG, HDL e glicemia entre os grupos, os resultados mostraram que a dieta hiperlipídica alterou a composição corporal nos animais do grupo CDH elevando a gordura dos tecidos epididimal e visceral dos animais em relação ao grupo TP. Mesmo inserido ao ambiente enriquecido que é promotor de atividade física, mas sem a presença do exercício de natação, os animais GDH apresentaram maior acúmulo de tecido adiposo. Os dados do presente estudo sugerem que a promoção de atividade física promovida pelo ambiente sozinho não foi capaz de evitar ou estimular a perda do tecido adiposo. Estudos prévios tem demonstrado que a dieta hiperlipídica é capaz de induzir o acúmulo de gordura provocando alterações no perfil lipídico em poucas semanas (SENE-FIORENSE et al., 2008; GOLLISCH et al., 2009; MOURA et al., 2012). No entanto, no presente estudo o treinamento periodizado foi eficiente em prevenir o acúmulo de gordura no grupo no grupo treinado GTDH, o qual apresentou valores de tecido adiposo semelhante aos grupos GC e TP alimentados com dieta padrão. Além disso, o treinamento periodizado baseado no estudo de Dos-Santos e Mello (2010) que é composto de muita variação de volume e intensidade, fez com que os animais do grupo TP reduzissem a gordura corporal a ponto de diferirem do GDH. A similaridade entre a gordura visceral e epididimal dos grupos que não realizaram o treinamento, GC e GDH, podem representar a eficiência do ambiente enriquecido em prevenir o acúmulo de gordura, uma vez que em estudos com gaiolas convencionais animais submetidos a dieta hiperlipídica apresentam maior conteúdo de gordura (SLATER; CAO, 2015). De fato, o ambiente enriquecido, é apontado como promotor de atividade física capaz de influenciar no peso corporal dos animais, de forma preventiva contra o acúmulo excessivo de tecido epididimal e visceral (SPERETTA et al., 2012; SUZUKI et al., 1992; WORTHAND et al., 2009).

Na análise de consumo calórico no final do experimento entre todos os grupos, os grupos alimentados com dieta hiperlipídica (GDH, TPDH), apresentaram menor consumo quando comparados com os grupos que consumiram a dieta padrão (GC, TP). Esta diferença na alimentação tem sido observada em estudos prévios onde a ingestão de dieta hiperlipídica para ratos encontrou-se reduzida comparada a dieta padrão (LEVIN, DUNN-MEYNELL, 2006; MACLEAN, 2009; ROCHA et al.,

2016). Este comportamento alimentar no grupo TPDH pode ser explicado pelo contexto do exercício físico, que modula tanto a liberação quanto a sensibilidade e expressão dos receptores de hormônios anorexígenos que atuam no hipotálamo responsável pelo controle energético, via inibição de apetite e controle do gasto de energia em forma de atividade física. (ZHANG et al., 2004; BLUNDELL et al., 2015; ROWLAND, 1998). Já para o grupo GDH, como foi discutido anteriormente, observou-se um acúmulo significativo de gordura visceral e epididimal em relação ao grupo TP, apesar do consumo calórico ter sido menor pelo grupo GDH. Segundo Velloso (2011), a dieta com alto teor de gordura saturada é capaz de ativar mecanismos de resistência no hipotálamo de insulina e leptina. Mediadores de resistência a leptina e insulina no hipotálamo como SOCS3, PTP1B, IKK, JNK, ativados via TL4 ou estresse de retículo endoplasmático, induzem a uma sinalização inflamatória resultando na perda do controle da saciedade elevando os níveis de estoque de gordura corporal.

10.2 Treinamento física e capacidade aeróbia.

No teste de capacidade aeróbia ao final do experimento, os animais do grupo TP e TPDH apresentaram melhor capacidade final em relação ao grupo GDH. Este resultado indica a efetividade do protocolo de treinamento periodizado e seus diferentes níveis de intensidades empregados, no contexto da melhora do desempenho dos animais. O protocolo de treinamento utilizado no presente estudo, proposto por Dos-Santos e Mello (2010), possui componentes aeróbios e anaeróbios baseados nas concentrações de lactato correspondente aos seus diferentes níveis de intensidade. Em uma revisão sistemática, Gomersall et al. (2012), sugeriram para futuros estudos investigar a *activitystat*, considerando-se que o estímulo do exercício deveria ser suficientemente alto em termos de demanda energética, extrapolando a faixa de tolerância do *set point* energético denominada limite de tolerância (Figura 1) que será interpretado como sobrecarga pelo organismo e ativará o suposto sensor do mecanismo de regulação de energia no hipotálamo, e que a carga deveria ser quantificada para garantir a exposição controlada ao estímulo realizado entre os grupos. Diferente de estudos anteriores, onde foram verificados o efeito de diferentes cargas de exercício no acúmulo de atividade física

sem considerar o limiar anaeróbio para a prescrição das intensidades do exercício (DALE et al., 2000; WILKIN et al., 2006; FRÉMEAUX et al., 2011; GOMERSALL et al., 2012) é importante ressaltar, que o presente estudo utilizou os diferentes níveis de intensidade das seções do treinamento de natação periodizado baseado no limiar individual dos animais durante o experimento (Tabela 2). Assim em determinados dias da semana os animais foram expostos a intensidades altas, acima do limiar elevando drasticamente a demanda energética na tentativa de extrapolar a faixa de tolerância, ativando o suposto sensor do mecanismo de regulação de energia no hipotálamo, cuja estratégia de resposta para garantir a regulação da homeostase energética, é reduzir os níveis de atividade física (ROWLAND, 1998). Por outro lado, uma vez que os estímulos intensos não foram realizados todos os dias, é possível que o treinamento ou a verificação das respostas agudas somente com intensidades altas tragam mais informações sobre os efeitos da intensidade do exercício sobre o nível de atividade física dos animais.

Já na análise intra grupo, somente o grupo TP apresentou melhora significativa na capacidade aeróbia (tabela 6), enquanto o grupo TPDH devido sua menor densidade corporal ocasionado pela maior concentração de tecido adiposo, pode ter apresentado menor esforço para se manter na superfície, impactando diretamente no efeito do treinamento sobre a capacidade aeróbia (REIS et al., 2011).

10.3 Atividade física voluntária, atividade física espontânea e a hipótese da *Activitystat*.

A postulação da existência da *activitystat* está fundamentada no mecanismo biológico em animais e humanos (ROWLAND, 1998; THORBURN; PROIETTO, 2000; EISENMANN; WICKEL, 2009). Recentemente uma revisão sistemática realizada por Gomersall et al. (2013), investigaram evidências atuais da *activitystat* na literatura e identificou 15 artigos dos quais 9 encontraram evidências de compensação nos níveis de atividade física, ou seja, quanto maior o acúmulo de atividade física empregado por um tempo, menor será o acúmulo no restante do tempo, afim de amenizar as alterações na homeostase energética.

Desta forma, avaliar o acúmulo de atividade física espontânea e voluntária em animais submetidos ao processo de treinamento de natação e alocados em

ambiente enriquecido pode contribuir para a compreensão do fenômeno da *activitystat*.

Na avaliação da atividade física voluntária através da roda de atividade (Tabela 5) não foi encontrada diferença significativa entre os grupos. É importante ressaltar, que o presente estudo, é o primeiro a utilizar modelo animal desenhado especificamente para investigar o efeito de compensação dos níveis de atividade física frente a estímulos de intensidade individualizada para os animais. Segundo GOMERSALL et al. (2013) estudos sobre a hipótese da *activitystat* investigam os aspectos compensatórios através dos níveis de atividade física ou do gasto energético, e até o presente momento não existe consenso na literatura sobre a resposta compensatória dos níveis de atividade física. Vários estudos em humanos não encontraram efeito de compensação nos níveis de atividade física em adultos obesos (CHURCH et al., 2007; ALAHAMADI et al., 2011), crianças obesas (MEIJER; WESTERTEP; VENSTAPPEN, 1999; ROWLANDS, 2009; BAGGET et al., 2010) e idosos (MORIO et al., 1998; MEIJER; WESTERTEP; VENSTAPPEN, 1999). Por outro lado, outros estudos relataram claras evidências de compensação (DONNELLY et al., 1996; SALLIS et al., 1999; MEIJER; WESTERTEP; VERSTAPPEN, 1999; KRIEMLER et al., 2010). Por exemplo WILKIN et al. (2006) concluíram que os níveis de atividade física diário entre crianças estavam relacionados com as características do ambiente onde estavam inseridas, como também por mecanismos que regulam os níveis de atividade física. Levando em conta a complexidade de encontrar uma resposta para o problema, o tempo de compensação pode ser uma resposta, tendo em vista que muitos estudos encontram evidências de compensação em intervenções que variam entre 1 e 3 meses de duração (GOMERSALL et al., 2013).

Em relação á atividade física espontânea medida pelo deslocamento dos animais no ambiente enriquecido os grupos TP, GDH e TPDH apresentaram menor AFE em relação ao grupo controle. O resultado do GDH é semelhante ao estudo realizado por Wong et al. (2014), onde após 6 semanas de exposição a dieta hiperlipídica os animais apresentaram baixos níveis de atividade espontânea e resistência a insulina. Segundo o estudo, se este comportamento for verdadeiro nos humanos, é possível estabelecer uma associação entre a dieta rica em gordura poliinsaturada e o sedentarismo. Recentemente, Johnson et al. (2017) verificou a

atividade física voluntária nos filhos de ratas alimentadas com dieta rica em gordura. Duas semanas antes da reprodução os animais foram divididos em grupo controle e dieta rica em gordura durante a gestação e lactação. Durante o período de desmame os animais foram submetidos ao ambiente de estímulos de aprendizagem espacial, memória e atividade física voluntária e após 90 dias foram testados. Os resultados apontaram uma redução significativa dos níveis de atividade física dos animais descendentes de mães alimentadas com dieta rica em gordura.

Na literatura, a redução dos níveis de atividade espontânea associados a dieta rica em gordura, vem sendo atribuída a disfunções em regiões do cérebro que controlam o comportamento. Um agente neuroquímico investigado é a orexina ou hipocretina, um peptídeo sintetizado na região do hipotálamo lateral que atua diretamente no cérebro e está associado aos níveis de atividade física espontânea (TESKE et al., 2008). Em um estudo no campo da neurociência realizado por Leighton et al. (2012), verificou-se que a sinalização de orexina encontrava-se alterada na obesidade induzida por dieta rica em gordura em modelo animal reduzindo os níveis de atividade física espontânea dos animais.

Os grupos TP e TPDH submetidos ao treinamento periodizado de natação, também apresentaram seus níveis de atividade física espontânea reduzidos em relação ao GC. Rowland (2008) postula que a regulação da quantidade de atividade física é uma estratégia para garantir a manutenção estável dos níveis de energia corporal.

Alguns estudos tem demonstrado um efeito compensatório em função de atividade física moderada e vigorosa, regulando para baixo o nível de atividade física voluntária (DONNELLY et al., 1996; SALLIS et al., 1997; MEIJER et al., 1999; KRIEMLER et al., 2010). Frémeaux et al. (2011), verificaram os níveis de atividade física e seus componentes moderados e vigorosos utilizando acelerômetro em 206 crianças. Os dados foram coletados em quatro ocasiões diferentes no período de 12 meses dentro e fora da escola, com o objetivo de verificar a hipótese da *activitystat*. Os resultados demonstraram efeito compensatório, ou seja, quanto maior o nível de atividade realizada no período escolar, menor era a atividade física no período fora da escola, corroborando com a hipótese da *activitystat*. Recentemente, Paravidino et al. (2016) avaliaram o efeito de diferentes intensidades de exercício no gasto energético de atividade física espontânea de adolescentes obesos durante 7 dias. A

conclusão do estudo mostra que houve um efeito de compensação no gasto energético com redução da atividade física espontânea entre o segundo e o sexto dia. Os resultados dos estudos descritos acima sugerem que o estímulo do exercício em diferentes intensidades, podem resultar em um efeito compensatório do gasto energético corporal, e que a redução dos níveis de atividade física espontâneo pode ser uma estratégia plausível para este controle. Embora existam relatos de efeito compensatório e questionamento quanto à eficiência do exercício como a única estratégia no controle de peso corporal, o exercício ainda deve ser estimulado, levando em consideração seus diversos benefícios a saúde.

Outro dado importante no estudo sobre a *activitystat* é considerar o parâmetro analisado no período sem exercício. Diferente de estudos realizados anteriormente que analisaram o gasto energético (GORAN; POEHLMAN, 1992; DALE et al., 2000; CHURCH et al., 2007; MANTHOU et al., 2010), no presente estudo, os níveis de atividade física e o consumo energético, foram as variáveis estudadas para verificar se existe um efeito compensatório sobre o exercício. Além destas duas variáveis analisadas, nós também analisamos a correlação entre a carga de treinamento semanal e a atividade física espontânea, que ao nosso conhecimento esta relação não foi apresentada em nenhum outro estudo, segundo nossa busca na literatura.

A associação encontrada entre a carga de treino total semanal e o consumo alimentar (Tabela 6) entre os grupos no final do experimento, apresentou correlação classificada como muito fraca e sem significância estatística ($p > 0,05$) para ambos os grupos (TP: $r = 0,05$; TPDH: $r = -0,08$). Corroborando com estes dados, outro estudo comparou o efeito de diferentes intensidades de corrida na esteira, no consumo alimentar em ratos. Os resultados demonstraram que o treinamento de alta e de baixa intensidade reduziram o consumo alimentar e o peso corporal quando comparado aos animais do grupo controle (KATCH; MARTIN; MARTIN, 1979). Estes dados reforçam a importância do exercício no controle da fome, aumentando o gasto energético e contribuindo para prevenção contra o acúmulo excessivo de gordura e controle de peso corporal (GORAN, 2000; SHEN et al., 2015). Por outro lado, diferente do estudo anterior, outros estudos mostraram que animais alojados em gaiolas com rodas de atividade, aumentavam significativamente seu consumo de energia através da dieta, proporcionalmente na medida em que os níveis de atividade física voluntária na roda eram aumentados (BELL et al., 1997; SWALLOW

et al., 2001). No presente estudo não foi encontrada compensação de energia gasta demandada pelo treinamento periodizado, compensada exclusivamente pelo consumo alimentar durante o experimento. O custo energético a curto prazo parece ser pago pelos estoques de energia acumulada em forma de gordura corporal e não diretamente pelo aumento do montante de calorias ingeridas. Por esta perspectiva, também é possível explicar o fato dos animais que realizaram o treinamento não acumularem tecido adiposo excessivamente quando comparados ao grupo controle.

Os valores de associação entre a carga de treino total semanal e a atividade física voluntária, também apresentaram correlação fraca para ambos os grupos (TP: $r = -0,10$; TPDH: $r = -0,39$) sem significância estatística. Um estudo conduzido por Kotz (2008), animais forçados a correr na esteira tiveram os níveis de atividade física voluntária reduzidos. Rhodes et al. (2003) identificaram regiões do cérebro que definem comportamento de roda em ratos. Através da comparação da imunorreatividade para FOS, que é expressa em resposta à estimulação neuronal, no cérebro de camundongos criados seletivamente para circulação de roda voluntária em relação aos animais controle, sete regiões do cérebro foram consideradas potencialmente responsáveis pela variação da roda entre os dois grupos: complexo caudado-putamen, córtex pré-frontal, córtex frontal medial, núcleo accumbens, córtex piriforme, córtex sensorial e hipotálamo lateral.

Até o presente momento nenhum estudo utilizou exercícios de natação periodizado e simultaneamente mensurou o acúmulo de atividade física voluntária e espontânea do animais no ambiente enriquecido ao mesmo tempo. O ambiente enriquecido ambiente enriquecido é capaz de promover aumento no acúmulo de atividade física, possibilitando explorar melhor o comportamento de animais (XIE et al., 2013).

Em relação a associação entre a carga de treinamento semanal e a atividade física espontânea (Tabela 6), para o grupo TP a correlação foi moderada e significativa ($r = -0,69$, $p < 0,05$), enquanto o grupo TPDH apresentou correlação fraca sem significância estatística ($r = 0,24$, $p > 0,05$). Uma vez que o protocolo de treinamento alterna volume e intensidade, há semanas em que a carga de treinamento é maior (figura 5). Deste modo é importante entender o comportamento da carga de treinamento ao longo de todo o período de treinamento, para identificar se há diferença entre a carga de treinamento e a AFE em determinado momento da

periodização, para ajudar entender melhor a hipótese da *activitystat*. Assim, o teste de ANOVA para medidas repetidas foi utilizado para verificar a atividade física voluntária dos grupos ao longo das 6 semanas de treinamento, e posteriormente uma análise de correlação pontual onde identificado a significância estatística.

Não houve diferença significativa durante as 6 semanas de experimento no GC nos níveis de AFE medida pelo deslocamento dos animais, enquanto que o grupo GDH apresentou diferença significativa maior na 3ª semana ($16,60 \pm 9,76$) em relação a 5ª semana ($0,80 \pm 1,24$). Para grupos que realizaram o treinamento, foi identificado diferença significativa na 2ª semana ($3,61 \pm 6,15$) em relação a 6ª semana ($14,85 \pm 5,24$) para o grupo TP, e da 1ª semana ($3,58 \pm 0,75$) em relação a 4ª e 6ª semanas ($23,68 \pm 3,59$; $15,33 \pm 1,78$) para o TPDH (tabela 7). O grupo TP foi o único que apresentou correlação significativa negativa entre CTS e a AFE. Wong et al. (2014) demonstraram evidências da relação biológica entre alimentação rica em gordura e a redução dos níveis de atividade física espontânea e resistência a insulina em ratos. Em um estudo clínico conduzido em humanos, Abbatecola et al. (2009) já havia demonstrado que o excesso de ácido graxo saturado na dieta está associado a redução dos níveis de atividade física na população idosa. Recentemente Scariot et al. (2016) mostraram o efeito protetor do treinamento sobre o declínio nos níveis de atividade física espontânea em ratos. Nossa suposição era que os animais do grupo TPDH apresentassem correlação negativa entre a CTS e a AFE como uma resposta compensatória do exercício físico de natação, mas não observamos esta correlação negativa. Esta se torna uma descoberta positiva por este ponto de vista.

Alem da análise de correlação entre CA, AFV e AFE com a CTS, nós fizemos a correlação entre AFE (distância percorrida) e a CTS em cada uma das 6 semanas do período de treinamento.

Verificou-se correlação classificada como forte e com significância estatística para ambos os grupos submetidos ao treinamento durante as semanas 1 e 2 dos (TP: $r = -0,90$, $p = 0,005$; TPDH: $r = -0,89$, $p = 0,008$, respectivamente). Estes dados reforçam a idéia de que existe um limiar de intensidade que leva a um efeito compensatório de redução da AFE, e quando o exercício é realizado acima dele os animais passam a regular para baixo o nível de AFE (veja figuras 5 e 6) e se exercitam menos (Tabela 7). Recentemente, foi demonstrado através de estudo em adolescentes com sobrepeso, que existe efeito compensatório no gasto energético da

atividade física espontânea medido por acelerômetro, em resposta ao estímulo decorrente do exercício aeróbio em diferentes intensidades baseado na frequência cardíaca máxima obtido no teste de *Shuttle Run* (PARAVIDINO et al., 2016). Beck et al. (2017), investigaram os mecanismos envolvidos na regulação da atividade física espontânea em ratos Wistar. Para isto, utilizaram um modelo com 50% de restrição alimentar durante 6 semanas, os resultados demonstraram uma redução nos estoques de substrato energético acompanhados de diminuição dos níveis de atividade física espontânea, aparentemente como uma forma de preservar energia. Rowland (1998), apresentou evidências de um centro de controle biológico que gerencia os níveis de energia capaz de regular os níveis de atividade física como estratégia de controle para equalizar os gastos energéticos. Perturbações externas podem quebrar o equilíbrio energético, ativando um efeito compensatório reduzindo os níveis de atividade física, cujo objetivo é de preservar e garantir o restabelecimento do níveis de energia em condição de homeostase.

De acordo com os dados do presente estudo, foi possível observar um efeito compensatório em animais submetidos ao programa de treinamento de natação periodizado. No entanto o estudo apresenta limitações por não ter um grupo que se exercitasse exclusivamente em alta intensidade nem outro com baixa intensidade, por exemplo, acima e abaixo do limiar anaeróbio, o que poderia trazer mais informações. Nosso protocolo combinou estímulos intensos leves e moderados, com alternância de intensidade e volume. Além disso, a avaliação do efeito agudo de várias horas após o exercício, também pode trazer informações importantes sobre a teoria da *activitystat*. Como visto em estudos anteriores, parece existir um estreita relação entre a intensidade do exercício e um efeito compensatório reduzindo os níveis de atividade física espontânea, posteriormente ao exercício. Porém, ainda são necessários mais estudos que utilizem a atividade física como a variável regulada e investiguem seu efeito agudo e crônico frente a diferentes intensidades de exercício baseado no limiar anaeróbio em modelos animais e humanos e ainda que seja verificado quanto tempo após o estímulo os animais ou humanos continuam a redução do nível de atividade física.

11 CONCLUSÕES

Os dados do presente estudo mostraram que após os períodos de treinamento periodizado de natação, a glicemia, HDL e TG não apresentaram diferença significativa entre os grupos avaliados. A gordura epididimal e visceral, apresentaram maiores valores no grupo GDH em relação apenas ao grupo TP. Estes dados evidenciam o efeito protetor contra o acúmulo de gordura no animais submetidos ao treinamento periodizado e os benefícios do acúmulo de atividade física promovido pelo ambiente enriquecido associado a uma alimentação padrão, no controle ao acúmulo excessivo de gordura.

Em relação ao consumo alimentar, os grupos alimentados com dieta rica em gordura apresentaram um consumo significativamente menor em relação ao grupos alimentados com dieta padrão. Para os níveis de AFV, não houve diferenças entre os grupos, assim como a associação entre o efeito do treinamento de natação periodizado sobre o acúmulo de AFV e com o consumo alimentar apresentaram correlação fraca e sem significância estatística entre os grupos.

No acúmulo de AFE, houve um efeito compensatório nos animais submetidos ao programa de treinamento de natação periodizado e também a dieta hiperlipídica através da redução do deslocamento em comparação aos animais do GC. Na relação entre a AFE e a CTS dos grupos treinados, apenas o grupo TP apresentou correlação moderada com significância estatística. Nas semanas em que o treinamento foi feito com a carga mais elevada o nível de AFE foi reduzido, ou seja, houve uma forte correlação negativa entre CTS e a AFE.

O ponto mais interessante no presente estudo, foi que a intensidade do exercício parece ser o fator determinante para o efeito compensatório nos níveis de atividade física espontâneo, assim como a dieta hiperlipídica também causou efeito compensatório na redução da AFE. Assim, foi possível observar diferentes situações que podem levar a uma redução dos níveis de atividade física espontânea, o que nos leva a crer que existem fatores biológicos responsivos a determinados estímulos capazes de interferir nos níveis de atividade física espontânea dos animais.

REFERÊNCIAS

- ABBATECOLA, A.M. et al. Plasma polyunsaturated fatty acids and age-related physical performance decline. **Rejuvenation Res.** v.12, n.1, p. 25-32, 2009.
- A.C.S.M. ACSM's **Guidelines for Exercise Testing and Prescription**. 7th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1995.
- ARAUJO, G. G. et al. Máxima Fase estável de lactato em ratos obesos de ambos os gêneros. **Rev Bras Med Esporte**, Niterói , v. 15, n. 1, p. 46-49, 2009 .
- BAGGET, C.D. **Studies of the "Activitystat" Hypothesis**. Raleigh, 2008. Thesis - (PhD) University of North Carolina of Raleigh.
- BARROS, R. M. L; BRENZIKOFER, R; LEITE, N.J; FIGUEROA, P. J. Development and evaluation of a system for three-dimensional kinematic analysis of human movements. **Brazilian Journal of Biomedical Engineering**, v. 15, p. 79-86, 1999.
- BLAIR, S.N; HAND, G.A; HILL, J.O. Energy balance: a crucial issue for exercise and sports medicine. **Br. J. Sport. Med.**, v. 49, p. 970–971, 2015.
- BAYNE, K. Potential for unintended consequences of environmental enrichment. **Laboratory animals and research results**. ILAR J., v. 46, p.129–139, 2005.
- BERG, A., BAUMSTARK, M.W., HALLE, M., KEUL, J. Physical activity and lipoprotein lipid disorders. **Sports Med**, v. 17, n.1, p. 6-21, 1994.
- BIJNEN, F.C.H; FESKENS, E.J.M; CASPERSEN, C.J; MOSTERD, W.L; KROMHOUT, D. Age, period, and cohort effects on physical activity among elderly men during 10 years of follow-up: The Zutphen Elderly Study. **J. Gerontol.** v. 53, n. 3, p. 235-241, May 1998.
- BRONIKOWSKI, A.M; RHODES, J.S; GARLAND, T.J; PROLLA, T.A; AWAD, T.A; GAMMIE, S.C. The evolution of gene expression in mouse hippocampus in response to selective breeding for increased locomotor activity. **J. Org. Evolution**, v. 58, p. 2079-2086, 2004.
- BOOTH, H.P; PREVOST, A.T; GULLIFORD, M.C. Access to weight reduction interventions for overweight and obese patients in UK primary care: population-based cohort study. **BMJ Open**, v. 5, 2015.
- CASPERSEN, C. J; MATHHEW, M. Z. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinction for health- relates research. **Public health Reports**. Rockville, v. 100, n.2, p.172-9, 1985.
- COSTA NETO, P. **Estatística**. São Paulo: Edgar Blucher, 1977.

DANTAS, R.A.E; PASSOS, K.E; PORTO, L.B; ZAKIR, J.C.O; REIS, M.C; NAVES, L.A. Physical activities in daily life and functional capacity compared to disease activity control in acromegalic patients: Impact in self- reported quality of life. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabl**, v. 57, n. 7, p. 550-557, 2013.

DAUVILLIERS, Y; WINKELMANN, J. Restless leg syndrome: Uptake on pathogenesis. **Curr Opin Pulm Med**, v. 19, p. 594-600, 2013.

DE ARAUJO, G.G; PAPOTI M. ; MANCHADO, F.B. ; MELLO, M.A.R. ; GOBATTO, C.A . Protocols for hyperlactatemia induction in the lactate minimum test adapted to swimming rats. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*, v. 148, p. 888-892, 2007.

DIAMOND, M.C. Response of the brain to enrichment. **Anais da academia Brasileira de ciências**, v. 73, p. 211-220, 2001.

DINIZ, Y.S. ; Faine, L.A. ; Galhardi, C.M, et al. Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats. **Nutrition**, v. 2, p.749–55, 2005.

DOS-SANTOS, J. W.; MELLO, M. A. Endurance swimming periodized training in rats. **Journal of Exercise Physiology Online**, v. 13, n. 5, p. 29-43, 2010.

DUNN, A. L; GARCIA, M. E; MARCUS, B. H; KAMPERT, J. B; KOHL, H. W; BLAIR, S. N. Six-month physical activity and fitness changes in Project Active, a randomized trial. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 30, p. 1076-1083, 1998.

EIKELBOOM, R; LATTANZIO, S.B. Wheel access duration in rats: II. day-night and within-session changes. **Behav. Neurosci.**, v. 117, p. 825–832, 2003.

FIELDING, R.A., GURALNIK, J.M., KING, A.C., PAHOR, M., MCDERMOTT, M.M., TUDOR-LOCKE, C., et al. Dose of physical activity, physical functioning and disability risk in mobility-limited older adults: **The LIFE study**. v.12, n.8, e0182155, 2017.

FINK, J.S; REIS, D.J. Genetic variation in midbrain dopamine cell number: Parallel with differences in responses to dopaminergic agonists and in naturalistic behaviors mediated by central dopaminergic systems. **Brain Res**, v. 222, p. 335-349, 1981.

GOMERSALL, S.R; ROWLANDS, A.V; ENGLISH, C; MAHER, C; OLDS, T.S. The Activitystat hypothesis: the concept, the evidence and the methodologies. **Sports. Med.**, v. 43, p.135-4, 2013.

GARLAND, T. et al. "The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and

rodent perspectives." **The Journal of experimental biology**, v. 214, p. 206-229, 2011.

GHIASI, R; GHADIRI, S.F; SOMI, M.H. Swim Training Improves HOMA-IR in Type 2 Diabetes Induced by High Fat Diet and Low Dose of Streptozotocin in Male Rats. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 5, p. 379-384, 2015.

GOODMAN, R.L; MACKETT, J. P. Activity compensation and activity synergy in British 8-13 year olds. **Prev. Med.**, v. 53, p. 293–298, 2011.

GOLLISCH, K.S., BRANDAUE, R.J, JESSEN, N., TOYODA, T., NAYE, R.A., HIRSHMAN, M.F., et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** n. 297, n. 2, p. 495-504, 2009.

GOBATTO, C.A; MELLO, M.A.R; SIBUYA, C.Y; AZEVEDO, J.R.M; SANTOS, L.A; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 130, p. 21-7, 2001.

KRAUS, W., HOUMARD, J., DUSCHA, B., et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. **N. Engl J. Med.** v. 347, n.19, p.1483–1492, 2002.
GORAN, M.I. Energy Metabolism and Obesity. **Medical Clinics of North America.** v. 84, n. 2, p. 347 - 362, 2000.

HEIDBREDE, C.A; WEISS, I.C; DOMENEY, A.M; PRYCE, C; HOMBERG, J; HEDOU, G; FELDON, J; MORAN, M.C; NELSON, P. Behavioral, neurochemical, and endocrinological characterization of the early social isolation syndrome. **Neuroscience**, v. 100, p. 749–768, 2000.

HASKELL, W.L. Health consequences of physical activity: understanding and challenges regarding dose-response. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 26, p. 649-660, 1994.

HASTINGS, J.E, BARKLEY, R.A. A review of psychophysiological research with hyperkinetic children. **J. Abnorm Child. Psych**, v. 6, p. 413-447, 1978.

JORDÃO, L.F. ; BARBIERI, R.A. ; ASSIS, W.F. ; HIGINO, W.P. ; SANTOS, J.W. ; LEME, J.A.C.A. Effects of enriched environment on maximal lactate steady state of wistar rats. **Bioscience Journal**, v. 31, p. 1253-1259, 2015.

JOSEPH, R. Environmental influences on neural plasticity, the limbic system, emotional development and attachment: A review. **Child Psychiatry and human development**, v. 29, p. 189 - 208, 1999.

JUNGLING, A.; DORA REGLODI, D.; ZSOFIA NOZOMI KARADI, Z. N.; GABOR HORVATH, G.; JOZSEF FARKAS, J.; BALAZS GASZNER, B.; ANDREA TAMAS, A.

Effects of Postnatal Enriched Environment in a Model of Parkinson's Disease in Adult Rats. **Int. J. Mol. Sci.**, v.18, n. 6, p. 406, 2017.

KAZEMINASAB, F., MARANDI, M., GHAEDI, K., et al. Endurance training enhances LXR α gene expression in Wistar male rats. **Eur J Appl Physiol.** v. 113, n. 9, p. 2285–2290, 2013.

KATCH, V.L., MARTIN, R., MARTIN, J. Effects of exercise intensity on food consumption in the male rat. **Am J Clin Nutr**, v. 32, p. 1401–1407, 1979.

KNAB, A.M; LIGHTFOOT, J.T. Does the difference between physically active and couch potato lie in the dopamine system? **Int. J. Bio.I Sci.**, v. 6, p. 133-150, 2010.

KIVINIEMI, A.M; HAUTALA, A.J; KARJALAINEN, J.J. Acute post-exercise change in blood pressure and exercise training response in patients with coronary artery disease. **Frontiers in Physiology**, v. 5, p. 526, 2014.

KING, D.P; ZHAO, Y; SANGORAM, A.M. Positional Cloning of the Mouse Circadian Clock Gene. **Cell**, v. 89, p. 641-653, 1997.

KOBILO, T.; LIU, Q.R.; GANDHI, K.; MUGHAL, M.; SHAHAM, Y.; VAN PRAAG, H. Running is the neurogenic and neurotrophic stimulus in environmental enrichment, **Learn Mem**, v. 18, n. 9, p. 605-609, 2011.

KRON, L; KATZ, J.L; WEINER, H. Hyperactivity in anorexia nervosa: A fundamental feature. **Compr. Psychiatry**, v. 19, p. 433-440, 1978.

LARSON, D. E.; TATARANNI, P. A.; FERRARO, R. T.; RAVUSSIN, E. Ad libitum food intake on a “cafeteria diet” in native American women: relations with body composition and 24-h energy expenditure. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 62, n. 5, p. 911-917, 1995.

MALINA, R. Biocultural factors in developing physical activity levels. In: SMITH, A. L, BIDDLE, S.J.H. **Youth Physical Activity and Sedentary Behavior**. Champaign: Human Kinetics, 2008, P. 141-166.

MARTA, C. E., LAUREN, B., SHERAR, A.D., MOSEWICH, K.C., KOWALSKI, D.A. ADAM, D.G., BAXTER-JONES. Does Controlling for Biological Maturity Improve Physical Activity Tracking? **Medicine & science in sports & exercise**. v. 43, n. 5, p. 800 -807, 2011.

MELANI, R.; CHELINI, G.; CENNI, M.C.; BERARDI, N. Enriched environment effects on remote object recognition memory. **Neuroscience**, n. 3, v.352, n.3, p. 296-305, 2017.

MOLENA-FERNANDES, C. Effects of exercise and metformin on the prevention of glucose intolerance: a comparative study. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 48, n. 12, p. 1101-1108, Dec. 2015.

MOURA, L. P et al. Alterações bioquímicas e hepáticas em ratos submetidos à uma dieta hiperlipídica/hiperenergética. **Rev. Nutr., Campinas** , v. 25, n. 6, p. 685-693, 2012 .

NICHOLAS. A. et al. Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 41, n. 3, p 687-708, Mar. 2009.

NOVELLI, E. L .B; DINIZ, Y. S; GALHARDI, C. M; EBAID, G. M; RODRIGUES, H. G; MANI, F; FERNANDES, A. A. H; CICOGNA, A. C; FILHO, J. L. V. B. N, Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v. 41, p. 11-9, 2007.

OLSSON, I.A; DAHLBORN, K. Improving housing conditions for laboratory mice: a review of 'environmental enrichment'. **Lab. Anim.**, v. 36, p. 243–273, 2002.

OLIVEIRA, D.O; GRACE, K.Z.S; THAIS, B.C. Hesperidin associated with continuous and interval swimming improved biochemical and oxidative biomarkers in rats. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 10, p. 27, 2013.

OLIVA, L., ARANDA, T., CAVIOLA, G., FERNÁNDEZ-BERNAL, A., ALEMANY, M., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A., & REMESAR, X. (2017). In rats fed high-energy diets, taste, rather than fat content, is the key factor increasing food intake: a comparison of a cafeteria and a lipid-supplemented standard diet. **PeerJ**, 5, e3697.

PAULI, J.R. et al. Novos mecanismos pelos quais o exercício físico melhora a resistência à insulina no músculo esquelético. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 53, n. 4, p. 399-408, 2009.

PEDERSEN, B.K; SALTIN, B. Exercise as medicine - evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. **Scand. Med. Sci. Sports.**, v.3, p. 1 -72, 2015.

REIS, I.G.M., ARAUJO, G.G., & GOBATTO, C.A. Maximal lactate steady state in swimming rats by a body density-related method of workload quantification. **Comparative Exercise Physiology (Print)**, v. 7, n. 4, p. 179- 184, 2011.

ROMA, R. B., MICHELLE, J. S, JILLIAN, L. Voluntary Exercise and Monounsaturated Canola Oil Reduce Fat Gain in Mice Fed Diets High in Fat. **J. Nutr.** v. 127, n. 10, p. 2006-2010, 1997.

ROSENZWEIG, M.R; BENNETT, E.L; DIAMOND, M.C; WU, S.Y; SLAGLE, R.W; AND SAFFRAN, E. Influences of environmental complexity and visual stimulation on development of occipital cortex in rat. **Brain Res**, v. 14, p. 427–445, 1969.

ROSS, R, JANSSEN, I. Physical activity, total and regional obesity: dose-response considerations. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 33, n. 6, p. 521-527, 2001.

ROPELLE, E.R, PAULI, J.R, PRADA, P.O, SOUZA, C.T, PICARDI, P.K, FARIA, M.C, et al. Reversal of diet-induced insulin resistance with a single bout of exercise in the rat: the role of PTP1B and IRS-1 serine phosphorylation. **J Physiol.** v. 577, n. 3, p. 997-1007, 2006.

ROPELLE, E.R, PAULI, J.R, PRADA, P., CINTRA, D.E., ROCHA, G.Z., MORAES, J.C., et al. Inhibition of hypothalamic Foxo1 expression reduced food intake in diet-induced obesity rats. **J Physiol.** v. 587, p. 2341-51, 2009.

ROWLAND, T.W. The biological basis of physical activity. **Med. Sci. Sports. Exerc.**,v. 30, p. 392-399, 1998.

ROWLAND, T.W. **Biologic regulation of physical activity.** New Zealand: Human Kinetics, 2017.

SALGADO, B. C; JONES, M; ILGUN, S; MCCORD, G; LOPER-POWERS, M; VAN HOUTEN, P. Effects of a 4-month Ananda yoga program on physical and mental health outcomes for persons with multiple sclerosis. **Int. J. Yoga Therap.**, v. 23, p. 27–38, 2013.

SANTOS, J.W. **Protocolos de treinamento aeróbio intervalado e da periodização para natação com ratos.** Rio Claro, 2004. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências.

SENE-FIORESE, M., DUARTE, F.O., SCARMAGNAN, I F.R., CHEIK, N.C., MANZONI, M.S., NONAKA, K.O, et al. Efficiency of intermittent exercise on adiposity and fatty liver in rats fed with high-fat diet. **Obesity (Silver Spring).** v.16, n.10, p. 2217-2222, 2008.

SLATER, A.M; CAO, L.A. A protocol for housing mice in an enriched environment. **J. Vis. Exp.** v. 100, p. 1 - 8, 2015.

MOURA, L. P et al. Alterações bioquímicas e hepáticas em ratos submetidos à uma dieta hiperlipídica/hiperenergética. **Rev. Nutr.**, Campinas , v. 25, n. 6, p. 685-693, 2012 .

SHEN, Y., XU, X., YUE, K., XU, G. Effect of different exercise protocols on metabolic profiles and fatty acid metabolism in skeletal muscle in high-fat diet-fed rats. **Obesity (Silver Spring).** v. 23, n. 5, p.1000- 6, 2015.

SILVA, R.N; BUENO P.G; AVÓ, L.R.S; NONAKA, K.O; SELISTRE-ARAÚJO, H.S; LEAL, A.M.O. Effect of physical training on liver expression of activin A and follistatin

in a nonalcoholic fatty liver disease model in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 47, p. 746-752, 2014.

SPERETTA, G.F. et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. **Clinics**, v. 67, n.12, p. 1469-1477, 2012.

SPOSITO, A. C. et al . IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo , v. 88, n. 1, p. 2-19, 2007.

SZTAINBERG, Y; Chen A. An environmental enrichment model for mice. **Nature Protocols**, v. 5 n. 9, p. 1535-9, 2010.

STOTZER, U.S; RODRIGUES, M.F.C; DOMINGOS. M,M; GATTI, G.H.S; DUARTE, F.O; GATTO, C.V.G; DUARTE, A.C.G.O; SHIGUEMOTO, G.E; PEREZ, S.E.A; SELISTRE-DE-ARAUJO, H.S. Resistance Training Suppresses Intra-abdominal Fatty Acid Synthesis in Ovariectomized Rats. **International Journal of Sports Medicine**, v. 36, n.3, p. 226-33, 2015.

SWALLOW, J., KOTEJA, P., CARTER, P., GARLAND, T. Food consumption and body composition in mice selected for high wheel-running activity. **Journal of Comparative Physiology B**. v. 171, n. 8, p. 651–659, 2001.

SUZUKI, K.; MACHIDA, K.; KARIYA, M. [Conditions for low-intensity voluntary wheel running in rats and its chronic effects on health indexes]. *Nihon eiseigaku zasshi*. **Japanese journal of hygiene**, v. 47, n. 5, p. 939-951, 1992.

TADEU, O.T; DOS-SANTOS, J.W; SANTIAGO, P.R.P; LEME, J.C.A. Accuracy and reliability of a videogrammetry system in the analysis of displacement of Wistar rats. **Motriz**. v. 23, n. 3, e101756, 2017.

TESKE, J.A.; BILLINGTON, C.J.; KOTZ, C.M. Neuropeptidergic mediators of spontaneous physical activity and non-exercise activity thermogenesis. **Neuroendocrinology**, v. 87, p. 71-90, 2008.

TELAMA, R; YANG, X. Decline of physical activity from youth to young adulthood in Finland. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 32, p. 1617-1622, 2000.

TEGTBUR, U; BUSSE , M. W.; BRAUMANN, K. M. Estimation of individual equilibrium between production and catabolism during exercise . **Medicine Science of Sports Exercise**, New York, v.25, n.5, p.620-627, 1993.

TREMBLAY, A; POEHLMAN, E.T; DESPRES, J.P; THERIAULT, G; DANFORTH, E; BOUCHARD, C. Endurance training with constant energy intake in identical twins: changes over time in energy expenditure and related hormones. **Metabolism.**, v. 45, n. 5, p. 499-503, may1997.

TSAI, P.-P. et al. Impact of environmental enrichment in mice. 1: Effect of housing

conditions on body weight, organ weights and haematology in different strains. **Laboratory animals**, v. 36, n. 4, p. 411-419, 2002.

TURIN, B. Energy requirements of children and adolescents. **Pub. Health Nutr**, v. 8, p. 968-993, 2005.

VARTY, G.B; PAULUS, M.P; BRAFF, D.L; GEYER, M.A. Environmental enrichment and isolation rearing in the rat: effects on locomotor behavior and startle response plasticity. **Biol. Psychiatry**, v. 47, n.10, p. 864-73, 2000.

VIEIRA, T.A.; CARVALHO, R.L.P.; FERREIRA, S.C.; OLIVEIRA, A.P.; MODESTO JUNIOR, O.; ASSIS, W.F.; LEME, J.A.C.A. The Effects of Environmental enrichment on Biochemical and Metric Parameters of aged Rats. **Bioscience Journal**, v. 31, p. 982-987, 2015.

VOLTARELLI, F.A; GOBATTO, C.A; MELLO, M.A.R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, v.35, p.1-6, 2002.

WANG, Y., XU, D. Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins. **Lipids in Health and Disease**. v.16, n.132, p. 1 - 8, 2017.

WANG, et al. The mechanism of dietary cholesterol effects on lipids metabolism in rats. **Health an Disease**, v. 9, n.4, p. 2 - 6, 2010.

WILKIN, T.J; MALLAM, K.M; METCALF, B.S; JEFFERY, A.N; VOSS L.D. Variation in physical activity lies with the child, not his environment: evidence for an 'activitystat' in young children (EarlyBird 16). **Int. J. Obes.** (Lond), v. 30, p. 1050-5, 2006.

WILTERDINK, E.J, BALLOR, D.L, KEESEY, R.E. Changes in body composition and daily energy expenditure induced in rats during eight weeks of daily swim training. **Int J Obes Relat Metab Disord**. v.17, n. 3, p.139-143, 1993.

WONG, C.K; BOTTA, A; PITHER, J; DAI, C; GIBSON, W.T; GHOSH, S. A high-fat diet rich in corn oil reduces spontaneous locomotor activity and induces insulin resistance in mice. **J. Nutr. Biochem.**, v. 26, n.4, p. 319-26, 2015.

ZHANG, Y., et al., Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, n.6505), p. 425-432, 1994.

YUDKIN, J.S; ERINGA, E; STEHOUWER, C.D. "Vasocrine" signalling from perivascular fat: a mechanism linking insulin resistance to vascular disease. **Lancet**, v. 365, n. 9473, p. 1817-20, 2005.

ANEXOS

Anexo A - Artigo publicado no periódico científico MOTRIZ - JOURNAL OF PHYSICAL EDUCATION.

Motriz, Rio Claro, v.23 n.3, 2017, e101756

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1980-6574201700030006>

Original article (short paper)

Accuracy and reliability of a videogrammetry system in the analysis of displacement of Wistar rats

Oswaldo Tadeu da Silva Junior

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro, SP, Brazil

Paulo Roberto Santiago

Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil

Jose Alexandre Almeida Leme Curiacos

Centro Universitário Católica Salesiano Auxilium, Lins, SP, Brazil

Julio Wilson dos Santos

Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Bauru, SP, Brazil

Abstract — Aims: The behavior of laboratory animals has been studied through displacement, with different objectives by researchers. **Methods:** Although different methods have already been used in the tracking of laboratory animals, manual tracking mode videogrammetry for 2D analysis of displacement has not been observed in animal studies. The aim of this study was to verify the accuracy and reliability of determining the displacement of Wistar rats by means of videogrammetry software Dvideo. The accuracy (between the known distance and distance traced) was determined by 3 different evaluators twice consecutive, by videoing a course of 10 meters in the enriched environment together with further analysis of the displacement of the midpoint marked on an apparatus. To calculate reliability (accuracy of the measurement system) and reproducibility (precision of the evaluators) to obtain the ratio of precision to tolerance (P/T), eight animals were filmed for 10 minutes in the enriched environment and analysis of distance covered by one of the animals by three different reviewers thrice consecutive. **Results:** The results obtained in the course of 10 meters of the known distance demonstrated accuracy of 0.10 m, precision of 0.05 m, and bias of 0.07 m. In the reliability test during the 10 minutes of displacement (m) of animal, the ratio of precision to tolerance (P/T) = 0.1 m was found between three different evaluators, demonstrating adequate capacity of the measure. **Conclusion:** The manual tracking mode of the Dvideo presented high reliability and it can be employed for the displacement analysis of studies with rat experimental models.

Anexo B - Parecer do Comitê de ética.

Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium - Araçatuba SP

UniSALESIANO

**COMISSÃO DE ÉTICA E PESQUISA NO USO DE ANIMAIS –
CEUA / UniSALESIANO**

Ofício CEUA - UniSALESIANO 09/2015

Araçatuba – SP, 27 de agosto de 2015

Prezado (a) Senhor (a), José Alexandre Curiacos de Almeida Leme.

Informamos que o projeto de pesquisa intitulado “Efeitos da dieta hiperlipídica e treinamento físico no set point de ratos Wistar.” (processo nº 09/2015), apresentado por Vossa Senhoria ao CEUA - UniSALESIANO, foi apreciado pelo referido Comitê, tendo sido considerado **APROVADO**.

Cordialmente,

Profª. Ms. Paula Raquel Galbiati Terçariol

Coordenadora do Comitê de Ética e Pesquisa no Uso de Animais –
CEUA - UniSALESIANO de Araçatuba

Ilmo(a) Sr(a).

Prof(a). José Alexandre Curiacos de Almeida Leme- **Orientador(a)**

UniSALESIANO – Lins - SP.