

Myla de Aguiar Bittencourt

**Aclimatação ao calor e exercício: adaptações  
fenotípicas musculares e de desempenho aeróbio  
induzidas pelo treinamento intervalado**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação  
em Educação Física, como requisito para obtenção do grau de  
Doutora em Educação Física, na área de Biodinâmica do  
Desempenho Humano.

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Luiz Guilherme Antonacci Guglielmo

Coorientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Samuel Penna Wanner

Florianópolis

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Bittencourt, Myla de Aguiar

Aclimação ao calor e exercício: adaptações  
fenotípicas musculares e de desempenho aeróbio  
induzidas pelo treinamento intervalado / Myla de  
Aguiar Bittencourt ; orientador, Dr. Luiz Guilherme  
Antonacci Guglielmo, coorientador, Dr. Samuel  
Penna Wanner, 2019.  
129 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Desportos, Programa de Pós  
Graduação em Educação Física, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

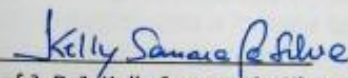
1. Educação Física. 2. aclimação ao calor. 3.  
treinamento intervalado. 4. estresse térmico. I.  
Antonacci Guglielmo, Dr. Luiz Guilherme . II. Penna  
Wanner, Dr. Samuel . III. Universidade Federal de  
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Educação  
Física. IV. Título.

Myla de Aguiar Bittencourt

**ACLIMATAÇÃO AO CALOR E EXERCÍCIO: ADAPTAÇÕES  
FENOTÍPICAS MUSCULARES E DE DESEMPENHO AERÓBIO  
INDUZIDAS PELO TREINAMENTO INTERVALADO**

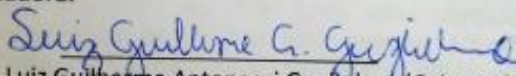
Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de  
"Doutora" e aprovada em sua forma final pelo Programa Pós-  
graduação em Educação Física da Universidade Federal de Santa  
Catarina

Florianópolis, 3 de maio de 2019.

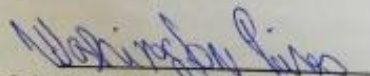


Prof.<sup>a</sup>, Dr.<sup>a</sup>. Kelly Samara da Silva  
Coordenadora do Curso

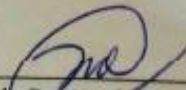
**Banca Examinadora:**



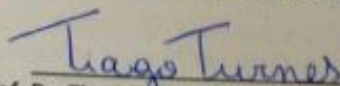
Prof.<sup>o</sup> Dr. Luiz Guilherme Antonacci Guglielmo (Orientador)  
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Dr. Washington Pires (membro externo)  
Universidade Federal de Governador Valadares



Prof. Dr. Ricardo Dantas de Lucas (membro interno)  
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Dr. Tiago Turnes (membro interno)  
Universidade Federal de Santa Catarina



## AGRADECIMENTOS

Gostaria de exprimir meus agradecimentos a todos que contribuíram, de alguma forma, na concretização desse trabalho.

Primeiro, quero agradecer às duas pessoas que deram oportunidade para dar início a essa tese, aos meus orientadores Luiz Guilherme Antonacci Guglielmo e Samuel Penna Wanner. Agradeço aos dois por terem confiado e aceitado entrar junto comigo nesse projeto; agradeço por terem confiado no meu trabalho, mesmo antes de me conhecerem; agradeço pelo apoio, parceria, ensinamentos durante toda a jornada que essa tese me proporcionou. Além disso, gostaria de agradecer ao Prof<sup>o</sup> Samuel por todo seu empenho em ser muito mais que um orientador, por toda sua participação nesse trabalho mesmo a distância e, principalmente, pelo acolhimento durante o período de coleta de dados em seu laboratório. Ao Prof. Luiz, meu obrigado pela oportunidade e coragem em encarar, junto comigo, o desafio em me orientar frente a um tema novo no laboratório. Muito obrigada a vocês!

Depois, gostaria de agradecer a várias outras pessoas que contribuíram, cada uma de sua maneira, para a finalização desse estudo. Aos meus colegas de laboratório, tanto do LAEF quanto do LAFISE, obrigada pelos momentos de ensinamentos, trocas, conversas e choros. Todos esses momentos foram importantes para o meu crescimento pessoal e acadêmico. Obrigada em especial à Ana Kunstetter e ao Nicolas pela amizade e apoio durante a minha estadia em BH; vocês foram muito importantes. Obrigada a todos os meus colegas do LAEF, pois conviveram boa parte dessa jornada comigo. Não vou citar nomes, pois todos foram, e são, especiais e importantes, cada um do seu jeito.

Não posso deixar de agradecer a todas as pessoas especiais em minha vida que me dão base para concretizar todos os meus sonhos e me acompanham durante as partes mais difíceis. Primeiro, a minha família, aos meus pais pela luta e coragem para que eu, e minhas irmãs, alcançássemos nossos objetivos e felicidade, mesmo frente a inúmeras dificuldades.

Agradeço as minhas irmãs pelo apoio e parcerias durante a vida. Em especial, a minha irmã Ize pois, além da amizade, apoio e parceria, “botou a mão na massa” comigo para concretizar parte da tese. Agradeço aos meus amigos e amigas, todos, pela amizade sincera, pela conversa “terapêutica” e pelos momentos de alegrias que me proporcionam. Agradeço ao meu amor, Jonathan, pelo apoio e por sempre acreditar e me incentivar a seguir em frente, mesmo nos momentos em que nem eu mais acreditava.

Por último, agradeço às agências de fomento à pesquisa, o CNPq, CAPES e FAPEMIG, por darem subsídio orçamentário a realização dessa pesquisa.

A todos vocês, meus sinceros agradecimentos.



## Resumo

Para diminuir o efeito estressor do calor (aclimação ao calor) e melhorar o desempenho aeróbio, protocolos de treinamentos contínuos no ambiente quente são tradicionalmente utilizados. No entanto, o treinamento intervalado no calor, por ser de alta intensidade, pode ser uma importante ferramenta para aumentar o estresse térmico e ocasionar uma aclimação ao calor mais eficaz. No entanto, pouco se conhece sobre as adaptações relacionadas com o treinamento intervalado e o ambiente quente e as respostas relacionadas com os efeitos potencialmente estressores: treinamento de alta intensidade e calor. Com isso, o objetivo da atual pesquisa é investigar as adaptações termorregulatórias, alterações fenotípicas muscular e de desempenho aeróbio após aclimação ao calor com treinamento intervalado em ambiente quente. Para tanto, o trabalho foi dividido em 3 delineamentos experimentais. O primeiro, teve como objetivo identificar o melhor modelo de treinamento intervalado no calor que melhor gere adaptações características da aclimação. Para isso, 24 animais foram divididos em 3 grupos, dois com modelos diferentes de treinamento intervalado (HIIT<sub>100%</sub>: treinamento intervalado à 100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: treinamento intervalado à 85% da velocidade máxima) e o terceiro grupo não treinado (NT). O segundo delineamento teve como objetivo estudar as diferentes respostas termorregulatórias e de desempenho aeróbio após os dois estímulos estressores: exposição ao calor e treinamento intervalado. Para isso, 40 animais foram divididos em 4 grupos, onde foram separados em: treinamento no calor, treinamento no ambiente temperado, somente exposto ao calor e grupo controle. O terceiro delineamento objetivou estudar as possíveis alterações fenotípicas no músculo sóleo após os mesmos estímulos estressores. Para isso, 24 animais foram divididos nos mesmos grupos experimentais do delineamento 2. Os resultados do delineamento 1 apresentaram que ambos os treinamentos intervalados foram efetivos em gerar



respostas de melhor eficiência termorregulatória e de desempenho aeróbio no calor do que o grupo que não recebeu treinamento. No entanto, o grupo HIIT<sub>100%</sub> obteve esses resultados com menores sessões de treinamento. Os resultados dos delineamentos 1 e 2 mostraram que o estímulo gerado pelo treinamento intervalado foi suficiente para gerar as respostas de melhor eficiência termorregulatória e de desempenho aeróbio no calor, após 2 semanas de intervenção. Além disso, essas respostas parecem ter relação com o aumento da expressão gênica da PGC-1alfa e não com a alteração da HSP70, medidas no músculo sóleo. Conclusão, o treinamento intervalado de alta intensidade parece ser suficiente para gerar respostas características da aclimação ao calor, não sendo necessário expor simultaneamente os animais ao calor. Além disso, essas respostas parecem ter relação com a melhora do sistema oxidativo, representado tanto pelo aumento da expressão da PGC-1 alfa e pela melhora na eficiência mecânica encontrados após período de intervenção nos grupos treinados, o que resultou em melhora na eficiência termorregulatória do exercício no calor.



## Abstract

To reduce the stressor effect of heat (heat acclimation) and improve aerobic performance, endurance training protocols in the warm environment are traditionally used. However, the interval training in the heat, being of high intensity, can be an important tool to increase the thermal strain and to cause a more effective heat acclimation. However, little is known about the adaptations related to interval training and the warm environment and the responses related to the potentially stressful effects: high intensity training and heat. With this, the objective of the current research is to investigate the thermoregulatory adaptations, phenotypic alterations related to thermotolerance and of aerobic performance after heat acclimation protocol with interval training in warm environment. For this, the study was divided into 3 experimental designs. The first one, aimed to identify the best model of interval training in the heat that better generate adaptations characteristic of heat acclimation. For this, 24 animals were divided into 3 groups, two with different models of interval training and the third group not trained. The second objective was to study the different thermoregulatory and aerobic performance responses after the two stressors: heat exposure and interval training. For this, 40 animals were divided into 4 groups, where they were separated in: training in the heat, training in the temperate environment, only exposed to heat and control group. The third study aimed to study the possible phenotypic changes in the soleus muscle after the same stressors. For this, 24 animals were divided in the same experimental groups of the design 2. The results of the design 1 showed that both interval training were effective in generating responses of better thermoregulatory efficiency and of aerobic performance in the heat than the group that did not receive training. However, the HIIT<sub>100%</sub> group obtained these results with smaller training sessions. The results of the designs 1 and 2 showed that the stimulus generated by the interval training was sufficient to generate

the thermoregulatory efficiency and the aerobic performance in the heat response after 2 weeks of intervention. Moreover, these responses seem to be related to the increase in the gene expression of PGC-1alpha and not to the alteration of HSP70 measured in the soleus muscle. Conclusion, the high-intensity interval training seems sufficient to generate typical responses to heat acclimatization, and it is not necessary to simultaneously expose the animals to heat. In addition, these responses seem to be related to the improvement of the oxidative system, represented by both the increase in PGC-1 alpha expression and the improvement in mechanical efficiency found after the intervention period in the trained groups.



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. RESUMO DAS ADAPTAÇÕES RELACIONADAS COM A ACLIMATAÇÃO AO CALOR.....	27
FIGURA 2. CARGA DE TRABALHO (J) DURANTE A 1ª, DO MEIO E ÚLTIMA SESSÃO DE TREINAMENTO NOS GRUPOS SUBMETIDOS AO HIIT E CARGA DE TRABALHO TOTAL APÓS TODAS AS SESSÕES DE TREINAMENTO. ....	55
FIGURA 3. TEMPERATURA COLÔNICA E DA CAUDA DA PELE DURANTE A 1ª E ÚLTIMA SESSÃO DE TREINAMENTO OU EXPOSIÇÃO PASSIVA AO CALOR.....	56
FIGURA 4. TEMPERATURA COLÔNICA NO INÍCIO E NO FINAL DA INTERVENÇÃO, VARIAÇÃO DA TEMPERATURA COLÔNICA AO LONGO DA INTERVENÇÃO (FINAL-INICIAL); E TEMPERATURA DA PELE DA CAUDA NO FINAL DA INTERVENÇÃO DURANTE A 1ª E ÚLTIMA SESSÃO DE TREINAMENTO OU EXPOSIÇÃO PASSIVA AO CALOR.....	58
FIGURA 5. RAZÃO ENTRE A VARIAÇÃO DA $T_{COL}$ E A DISTÂNCIA PERCORRIDA ( $^{\circ}C/Km$ ) DURANTE A 1ª E ÚLTIMA SESSÃO DE TREINAMENTO NO CALOR ( $32^{\circ}C$ ), OU DURANTE TODAS AS SESSÕES DO HIIT <sub>100%</sub> E DO HIIT <sub>85%</sub> ..	59
FIGURA 6. CARGA DE TRABALHO DURANTE OS EXERCÍCIOS INCREMENTAIS ATÉ A FADIGA VOLUNTÁRIA NO AMBIENTE DE $32^{\circ}C$ , REALIZADOS NOS MOMENTOS PRÉ- E PÓS-INTERVENÇÃO (J)..	60
FIGURA 7. TEMPERATURA COLÔNICA E DA PELE DA CAUDA DURANTE OS EXERCÍCIOS INCREMENTAIS ATÉ A FADIGA NO AMBIENTE QUENTE ( $32^{\circ}C$ ), REALIZADOS NOS MOMENTOS PRÉ- E PÓS- INTERVENÇÕES ..	62
FIGURA 8. A TEMPERATURA COLÔNICA INICIAL E FADIGA, VARIAÇÃO DA TEMPERATURA COLÔNICA AO LONGO DA INTERVENÇÃO (FINAL-INICIAL) E TEMPERATURA DA PELE DA CAUDA NA FADIGA DURANTE OS EXERCÍCIOS INCREMENTAIS ATÉ A FADIGA NO CALOR ( $32^{\circ}C$ ), REALIZADOS NOS MOMENTOS PRÉ- E PÓS-INTERVENÇÃO.....	63
FIGURA 9. RAZÃO ENTRE A VARIAÇÃO DA TEMPERATURA COLÔNICA E A DISTÂNCIA PERCORRIDA ( $^{\circ}C/Km$ ) DURANTE OS EXERCÍCIOS INCREMENTAIS ATÉ A FADIGA NO CALOR ( $32^{\circ}C$ ), REALIZADOS NOS MOMENTOS PRÉ- E PÓS-INTERVENÇÃO..	64

FIGURA 10. CARGA DE TRABALHO (J) DURANTE O EXERCÍCIO INCREMENTAL EM AMBIENTE QUENTE (32°C) ATÉ FADIGA, REALIZADO APÓS AS 2 SEMANAS DE INTERVENÇÃO..	70
FIGURA 11. TEMPERATURA COLÔNICA E DA PELE DA CAUDA DURANTE O EXERCÍCIO INCREMENTAL ATÉ A FADIGA NO CALOR, APÓS PERÍODO DE INTERVENÇÃO. ...	71
FIGURA 12. TEMPERATURAS CORPORAIS (°C) DURANTE O EXERCÍCIO INCREMENTAL EM AMBIENTE QUENTE (32°C) ATÉ FADIGA, APÓS AS INTERVENÇÕES DE 2 SEMANAS..	73
FIGURA 13. RAZÃO ENTRE A VARIAÇÃO DA TEMPERATURA COLÔNICA E A DISTÂNCIA PERCORRIDA PELOS RATOS (°C/KM) DURANTE O EXERCÍCIO INCREMENTAL ATÉ A FADIGA VOLUNTÁRIA, REALIZADO NO AMBIENTE QUENTE. ....	74
FIGURA 14. VO <sub>2</sub> (ML/MIN/KG <sup>0,75</sup> ) NOS 3 MINUTOS FINAIS DO EXERCÍCIO DE VELOCIDADE CONSTANTE (15 M/MIN) E TEMPO FIXO (15 MIN; A) NO AMBIENTE QUENTE (32°C) E EFICIÊNCIA MECÂNICA (%; B), APÓS AS 2 SEMANAS DE INTERVENÇÃO..	76
FIGURA 15. LACTATO SANGUÍNEO (MMOL/L) MEDIDO LOGO APÓS O FIM DO EXERCÍCIO CONTÍNUO E SUBMÁXIMO NO AMBIENTE DE 32°C.....	77
FIGURA 16. T <sub>COL</sub> E DA T <sub>PELE</sub> DURANTE O EXERCÍCIO SUBMÁXIMO E CONTÍNUO NO AMBIENTE QUENTE (32°C).....	79
FIGURA 17. TEMPERATURAS CORPORAIS (°C) DURANTE O EXERCÍCIO SUBMÁXIMO E CONTÍNUO NO AMBIENTE QUENTE (32°C), APÓS AS 2 SEMANAS DE INTERVENÇÃO. ....	80
FIGURA 18. A RAZÃO ENTRE A VARIAÇÃO DA T <sub>COL</sub> PELA DISTÂNCIA PERCORRIDA (°C/KM) DURANTE O EXERCÍCIO SUBMÁXIMO E CONTÍNUO NO AMBIENTE QUENTE (32°C), APÓS AS 2 SEMANAS DE INTERVENÇÃO..	81
Figura 19. Expressão relativa dos RNAm dos genes HSP70 e do PGC-1 $\alpha$ , 48 horas após a última sessão de intervenção.....	85





## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS E ORGANIZAÇÃO TEMPORAL DAS ETAPAS DO DELINEAMENTO 1. ....	35
TABELA 2. DESCRIÇÃO DOS PROTOCOLOS DE TREINAMENTO INTERVALADOS DOS GRUPOS HIIT <sub>100%</sub> E HIIT <sub>85%</sub> E DO NT. ....	37
TABELA 3. DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS E ORGANIZAÇÃO TEMPORAL DAS ETAPAS DO DELINEAMENTO 2. ....	41
TABELA 4. MÉDIA DA TEMPERATURA AMBIENTE (°C) DURANTE OS EXERCÍCIOS INCREMENTAIS (PRÉ- E PÓS-INTERVENÇÃO) E DURANTE O INÍCIO, METADE E FINAL DA INTERVENÇÃO NOS TRÊS GRUPOS EXPERIMENTAIS, DELINEAMENTO 1. ....	54
TABELA 5. TEMPERATURA AMBIENTE (°C) E MASSA CORPORAL (G), MEDIDAS NOS EXERCÍCIOS INCREMENTAIS ATÉ A FADIGA NO CALOR, ANTES E APÓS AS INTERVENÇÕES DE 2 SEMANAS, PARA TODOS OS GRUPOS, DELINEAMENTO 2.	65
TABELA 6. VARIÁVEIS DE DESEMPENHO AERÓBICO E TERMORREGULATÓRIAS DURANTE O EXERCÍCIO INCREMENTAL ATÉ A FADIGA VOLUNTÁRIA EM AMBIENTE QUENTE, REALIZADO ANTES DO PERÍODO DE INTERVENÇÃO, DELINEAMENTO 2 .....	67
TABELA 7. MASSA CORPORAL (°C), MASSA DE TECIDO ADIPOSOS TOTAL (G) E TECIDO ADIPOSOS CORPORAL (%) 48H APÓS AS INTERVENÇÕES DE 2 SEMANAS, PARA TODOS OS GRUPOS, DELINEAMENTO 3. ....	83



RESUMO .....	7
ABSTRACT .....	10
LISTA DE FIGURAS .....	13
LISTA DE TABELAS .....	16
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
<b>1 INTRODUÇÃO/REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1 EXERCÍCIO FÍSICO E HIPERTERMIA .....</b>	<b>16</b>
<b>1.2 ACLIMATAÇÃO AO CALOR .....</b>	<b>17</b>
<b>1.3 TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE E     ACLIMATAÇÃO AO CALOR.....</b>	<b>19</b>
<b>1.4 ADAPTAÇÕES TERMORREGULATÓRIAS: EFEITOS DA     ACLIMATAÇÃO AO CALOR COM TREINAMENTO INTERVALADO .....</b>	<b>23</b>
<b>1.5 TERMOTOLERÂNCIA: EFEITOS DA ACLIMATAÇÃO AO CALOR COM     TREINAMENTO INTERVALADO .....</b>	<b>25</b>
<b>1.5 OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>31</b>
1.5.1 Objetivos Específicos.....	31
1.5.1.1 Delineamento 1.....	31
1.5.1.2 Delineamento 2.....	31
1.5.1.3 Delineamento 3.....	31
<b>1.6 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>32</b>

<b>2 FUNDAMENTAÇÃO METODOLÓGICA.....</b>	<b>34</b>
<b>2.1 CUIDADOS ÉTICOS.....</b>	<b>34</b>
<b>2.2 ANIMAIS.....</b>	<b>34</b>
<b>2.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>34</b>
2.3.1 Delineamento 1. ....	35
2.3.2 Delineamento 2 .....	39
2.3.3 Delineamento 3: .....	42
<b>2.4 PROCEDIMENTOS.....</b>	<b>42</b>
2.4.1 Delineamento 1 .....	42
2.4.1.1 Familiarização à corrida em esteira rolante .....	42
2.4.1.2 Exercício com aumentos progressivos da velocidade (incremental) .....	43
2.4.2 Delineamento 2 .....	43
2.4.2.1 Os procedimentos 2.4.1.1 e 2.4.1.2 foram repetidos. ....	43
2.4.2.2 Exercício submáximo utilizado para o cálculo da economia de corrida .....	44
2.4.2.3 Exercício de velocidade constante para avaliação das adaptações termorregulatórias .....	44
2.4.3 Delineamento 3 .....	44
2.4.3.1 Os procedimentos 2.4.1.1 e o 2.4.1.2 foram repetidos ...	44
2.4.3.2 Decapitação e retirada do músculo sóleo .....	45
2.4.3.3 Retirada e pesagem tecido adiposo total.....	45
2.4.3.4 Extração de RNA total utilizando-se Trizol .....	45
2.4.3.5 RT-qPCR.....	46
<b>2.5 VARIÁVEIS MEDIDAS .....</b>	<b>47</b>
2.5.1 Variáveis de controle.....	47
2.5.1.1 Temperatura ambiente .....	47
2.5.1.2 Massa corporal.....	48
2.5.2 Desempenho físico.....	48
2.5.2.1 Tempo de exercício até a fadiga .....	48
2.5.2.2 Velocidade máxima .....	48

2.5.2.4	Concentração de Lactato ([La]) .....	48
2.5.3	Termorregulatórias .....	49
2.5.3.1	Temperatura colônica (T <sub>COL</sub> ) .....	49
2.5.3.2	Temperatura da pele da cauda (T <sub>PELE</sub> ) .....	49
2.5.3.3	Consumo de oxigênio (VO <sub>2</sub> ) .....	50
2.5.4	Variáveis histológicas .....	50
2.5.4.1	Tecido muscular .....	50
2.5.4.2	Tecido adiposo total .....	50
<b>2.6</b>	<b>VARIÁVEIS CALCULADAS .....</b>	<b>50</b>
2.6.1	Carga de Trabalho .....	50
2.6.2	Eficiência Mecânica (%) .....	50
2.6.3	Eficiência Termorregulatória .....	50
2.6.4	Porcentagem de tecido adiposo corporal (%) .....	50
<b>2.7</b>	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA .....</b>	<b>52</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>53</b>
<b>3.1</b>	<b>DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 1 .....</b>	<b>53</b>
3.1.1	Temperatura ambiente e massa corporal .....	53
3.1.2	Mudanças na carga de trabalho e parâmetros termorregulatórios durante as sessões de intervenção .....	54
3.1.3	Mudanças no desempenho aeróbio e em parâmetros termorregulatórios após as intervenções .....	60
<b>3.2</b>	<b>DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 2 .....</b>	<b>65</b>
3.2.1	Temperatura ambiente e massa corporal .....	65
3.2.2	Valores das variáveis termorregulatórias, de desempenho aeróbio no momento pré-intervenção. ....	66
3.2.3	Variáveis de desempenho aeróbio e termorregulatórias após período de intervenção .....	69
3.2.3.1	Exercício incremental até a fadiga no calor .....	69
3.2.3.2	Exercício constante e submáximo no calor .....	76

<b>3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 3</b> .....	<b>82</b>
3.3.1 Massa corporal e massa total do tecido adiposo .....	82
3.3.2 Expressão do RNAm da HSP70 e da PGC-1 $\alpha$ .....	84
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	<b>86</b>
<b>4.1 DELINEAMENTO 1</b> .....	<b>86</b>
<b>4.2 DELINEAMENTO 2</b> .....	<b>93</b>
<b>4.3 DELINEAMENTO 3</b> .....	<b>102</b>
<b>4.4 DISCUSSÃO GERAL DOS 3 DELINEAMENTOS</b> .....	<b>108</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>110</b>
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>111</b>

# 1 INTRODUÇÃO/REVISÃO DE LITERATURA

## 1.1 EXERCÍCIO FÍSICO E HIPERTERMIA

Diversos estudos já relacionaram a redução no desempenho físico aeróbio com o aumento da temperatura corporal interna ( $T_{INT}$ ) em humanos (GONZÁLEZ-ALONSO *et al.*, 1999; NYBO, 2008; WEBB, 1995) e também animais de experimentação, como roedores (KUNSTETTER, A. C. *et al.*, 2014; PIRES *et al.*, 2013). Essa fadiga induzida pela hipertermia acontece quando os indivíduos são expostos a condições de estresse térmico não compensável<sup>1</sup>, resultando em aumento progressivo da temperatura interna e consequente interrupção do esforço físico (NYBO e NIELSEN, 2001; NYBO e NIELSEN, 2001; NYBO e SECHER, 2004). Os mecanismos fisiológicos associados com a fadiga induzida pela hipertermia parecem envolver principalmente alterações no sistema nervoso central (NYBO, L; NIELSEN, 2001b; NYBO, LARS; SECHER, 2004), com comprometimento posterior das funções cardiovasculares. Em conjunto, essas respostas podem limitar a contribuição metabólica para contração muscular, devido à concorrência da pele (em dissipar calor) com o músculo (para manter a contração muscular) pelo fluxo sanguíneo durante o exercício em ambiente quente (SAWKA *et al.*, 2011; GONZÁLEZ-ALONSO e CALBET, 2003). A partir desses achados, despertou-se o interesse em estudar estratégias que possam diminuir/minimizar as influências negativas do ambiente quente e que, consequentemente, possam aumentar o desempenho físico em eventos esportivos realizados no calor.

O exercício físico acarreta inúmeras alterações metabólicas, autonômicas e centrais que, em conjunto, interferem na regulação da  $T_{INT}$ . O aumento da contratilidade muscular induz maior utilização de substratos energéticos que aumentam a taxa

---

<sup>1</sup> Capacidade de dissipar o calor corporal não é suficiente para superar a de produção metabólica de calor ou o ganho a partir do ambiente.

metabólica e, conseqüentemente, a produção muscular de calor (BLOCK, 1994; GONZÁLEZ-ALONSO *et al.*, 2000). Por outro lado, o aumento na dissipação acontece de forma mais tardia, cerca de 10 min após o início do exercício, com novo estado de equilíbrio sendo atingido dentre 50 a 60 min (GRUCZA, 1983). Como as taxas de produção e dissipação de calor apresentam respostas temporais diferentes, observa-se acúmulo de calor corporal no início do exercício e conseqüente aumento da  $T_{INT}$ . No ambiente quente, o estresse térmico é aumentando pela maior transferência de energia térmica (para facilitar a leitura, iremos utilizar o termo calor como sinônimo) do ambiente para o corpo, através de processos físicos (condução, convecção e radiação), o que também resulta em aumento da  $T_{INT}$  (NYBO e NIELSEN, 2001a, b; GONZÁLEZ-ALONSO e CALBET, 2003). Dessa forma, a exposição ao ambiente quente e o exercício muscular interagem para reduzir o desempenho aeróbio. A partir das considerações acima, inúmeras estratégias têm sido estudadas para minimizar o estresse térmico associado com o exercício no calor. Dentre elas, a aclimatação ao calor parece produzir adaptações importantes que promovem tanto uma maior termotolerância quanto uma melhora (atenuação) das respostas termorregulatórias nessas situações (SUNDERLAND, MORRIS E NEVILL, 2008).

## 1.2 ACLIMATAÇÃO AO CALOR

A aclimatação ao calor é caracterizada por sucessivas exposições ao estresse térmico quente que resultam em diminuição do efeito negativo do calor (HOROWITZ; KODESH, 2010). É importante ressaltar a diferença que existe entre os termos usualmente utilizados nos estudos sobre esse assunto; o termo aclimatação é utilizado para descrever alterações fisiológicas ou comportamentais que ocorrem dentro de um organismo induzidas artificialmente (como alteração artificial da temperatura ambiente); já o termo aclimatização refere-se a estas alterações fisiológicas geradas a partir de processos naturais (por exemplo, mudanças geográficas ou sazonais; IUPS, 2001). Portanto, o primeiro termo será utilizado no presente trabalho, pois representa melhor o procedimento experimental utilizado no



mesmo. Dessa forma, a aclimação gera redução no armazenamento de calor (alterações sistêmicas do sistema termorregulatório; discutidas no capítulo 1.3) e/ou maior tolerância ao ambiente quente (adaptação que usualmente está associada com adaptações fenotípicas, discutidas no capítulo 1.4) (CHALMERS *et al.*, 2014; SAWKA *et al.*, 2011; TAYLOR, 2014).

A aclimação ao calor pode ser induzida por protocolos caracterizados pela exposição passiva a ambientes quentes, ativa (exercício físico) ou ambas. Esses protocolos se diferenciam, por exemplo, pela frequência (7-15 dias) e duração (40-90 min) das exposições, intensidade do exercício (fixa: ~50% do  $VO_{2max}$ , ou não: hipertermia controlada), temperatura ambiente (30-38°C), umidade relativa do ar (30-85%) (JAMES *et al.*, 2017; KARLSEN *et al.*, 2015; KEISER *et al.*, 2015; LORENZO *et al.*, 2010; NIELSEN, B. Y. B. *et al.*, 1993; NIELSEN, BODIL *et al.*, 1997; RACINAIS, SEBASTIEN *et al.*, 2014; RACINAIS, SÉBASTIEN *et al.*, 2015). Com isso, grupos de estudos voltados para área de *performance* começaram a estudar a possibilidade de o treinamento no calor resultar em melhoras no desempenho aeróbio em provas realizadas no ambiente quente (KEISER *et al.*, 2015; RACINAIS, SEBASTIEN *et al.*, 2014) ou até mesmo no temperado (KEISER *et al.*, 2015; LORENZO *et al.*, 2010). Para exemplificar esses estudos, Keiser e colaboradores (2015) observaram que 10 dias de treinamento contínuo (90 min a 50% da  $FC_{MÁX}$ ) a 38°C resultaram em melhoras expressivas no desempenho (aumento da potência máxima e média no ciclismo e  $VO_{2MÁX}$ ) em testes realizados no calor, em comparação ao grupo que treinou no ambiente temperado. Esse mesmo trabalho não observou melhora no desempenho aeróbio no ambiente temperado, após aclimação ao calor. No entanto, outros autores observaram a existência de adaptação cruzada. Lorenzo e colaboradores (2010) observaram aumento em variáveis de desempenho (como o consumo de oxigênio e a carga de trabalho relacionada com o limiar de lactato) também em provas realizadas em ambiente temperado (13°C, 30%UR), após 10 sessões de exercício contínuo (50% do  $VO_{2MÁX}$ ) a 40°C. É importante salientar as diferenças de avaliação realizadas nesses trabalhos. Entre os dois trabalhos supracitados, o primeiro realizou teste incremental até exaustão (tempo não fixo), enquanto o segundo realizou teste que consistiu da realização do máximo de esforço

(velocidade auto-regulada) em tempo pré-fixado (60 min). Estas diferenças nos métodos dificultam as comparações entre os resultados.

Apesar da diversidade de protocolos, esses trabalhos preconizam que treinar no calor pode resultar em adaptações mais expressivas nos sistemas termorregulatório e cardiovascular, resultando em menores, ou mais lentos, aumentos da temperatura corporal ao longo do exercício e, conseqüentemente, resultando em melhor desempenho aeróbio. Apesar de divergências quanto ao desempenho em ambiente temperado, existem muitas evidências que treinar no calor resulta em melhoras na performance em provas realizadas também no ambiente quente.

Interessantemente, grande parte desses estudos utiliza métodos tradicionais de treinamento contínuo, caracterizados por esforços de baixa e média intensidade, como ferramenta para aumentar o estresse térmico e promover a aclimatação ao calor. Por exemplo, Nielsen e colaboradores (1997) estudaram o efeito de 13 dias consecutivos de treino, com 45% da carga relativa ao consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2max}$ ), durante exercício contínuo até a fadiga no ambiente quente (35°C). Janet e colaboradores (2016) utilizaram um protocolo diferente, ao estudar os efeitos de 5 sessões de treinamento, com 90 minutos de duração, e hipertermia controlada (conhecida como aclimatação isotérmica<sup>2</sup>) em temperatura ambiente de 36°C. Dessa forma, é difícil identificar o papel de intensidades elevadas de esforço físico sobre o aumento do estresse térmico durante as sessões de exercício e conseqüente aclimatação ao calor.

### 1.3 TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE E ACLIMATAÇÃO AO CALOR

O treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT, do inglês: *High Intensity Interval Training*) consiste de uma sucessão de estímulos de exercícios que se caracterizam por estágios com

---

<sup>2</sup> Os estímulos de exercício, durante as sessões de aclimatação ao calor, são controlados pela temperatura corporal; ou seja, quanto maior a temperatura corporal menor é o estímulo do exercício.

curtos episódios de alta intensidade, intercalados por blocos de baixa intensidade e recuperativos (BILLAT, 2001). Inúmeras variáveis podem ser manipuladas nesse tipo de treinamento, como intensidade dos esforços físicos (submáxima, máxima e supramáxima; relativa à velocidade máxima, por exemplo), períodos de recuperação (menores ou iguais ao tempo de estímulo) e números de estágios realizados em cada sessão de treino (BILLAT, 2001; BUCHHEIT; LAURSEN, 2013). No entanto, o volume e a intensidade dos estímulos, assim como o volume total da sessão, parecem ser as variáveis mais importantes para gerar adaptações ao organismo (BILLAT, 2001; BUCHHEIT; LAURSEN, 2013).

Pesquisadores das ciências do esporte utilizam diversos protocolos de HIIT com diferentes formas de estruturação da carga de treinamento, sendo estas dependentes das intensidades dos esforços requeridas. Intensidades dos esforços, compreendidas entre intensidades relacionadas com o consumo máximo de oxigênio ( $vVO_{2MÁX}$ ) e 120% da  $vVO_{2MÁX}$ , resultam em protocolos mais curtos de intervalos de esforço (menores que 2 min), mesmo tempo de intervalos recuperativos, e menor duração total da sessão. Adicionalmente, estímulos de esforço com intensidades menores (abaixo da  $vVO_{2MÁX}$  e acima da máxima fase estável do lactato), resultam em sessões com estímulos mais longos (2-8 min) e intervalos recuperativos menores (cerca da metade do tempo estipulado no estímulo do esforço), tornando as sessões de treinamento mais longas. Treinamentos intervalados com intensidades maiores que 120%  $vVO_{2MÁX}$  são caracterizados por possuírem intervalos de esforço muito curtos (menores que 30 segundos) e tempos recuperativos mais longos (2-5 minutos, aproximadamente); devido a estas características, estes treinamentos possuem uma contribuição anaeróbia maior para a ressíntese do ATP, do que os outros dois descritos anteriormente. (BILLAT, L. V., 2001; BILLAT, V. L. *et al.*, 2000; BUCHHEIT; LAURSEN, 2013; LAURSEN; JENKINS, 2002). No entanto, esses estudos foram realizados com atletas moderadamente e bem treinados. Para outras populações, como cardiopatas ou sedentários, pouco se conhece sobre as formas de estruturação da carga em diferentes treinamentos intervalados.

Tem sido evidenciado que protocolos de HIIT por provocarem a utilização do máximo consumo de oxigênio, portanto, estimulam ao máximo os sistemas de transporte e utilização do oxigênio, resultando em ferramenta mais eficaz para melhorar o  $VO_{2MÁX}$  (LAURSEN; JENKINS, 2002; MIDGLEY, A.; MC NAUGHTON, 2006; MIDGLEY, A. W.; MCNAUGHTON; WILKINSON, 2006). Somado a isso, outros estudos apontam adaptações oxidativas importantes após treinamentos intervalados (discutidas melhor no capítulo 1.4) (GIBALA *et al.*, 2006; GRANATA *et al.*, 2016), que estão relacionadas com a melhora na participação de vias metabólicas aeróbias na ressíntese de ATP. A combinação dessas adaptações, obtidas pelo treinamento físico intervalado, manifesta-se através do aumento da capacidade de sustentar elevadas intensidades de esforço (COYLE *et al.*, 1991). Além disso, sessões mais curtas de treino e menos sessões são requeridas para gerar melhoras do desempenho em relação aos treinamentos contínuos prolongados que vêm sendo tradicionalmente utilizados (BURGOMASTER *et al.*, 2008; GIBALA *et al.*, 2006).

Além da redução do número das sessões de treinamento, exercícios de alta intensidade parecem estar relacionados com maior estresse térmico do que exercícios com baixa intensidade e contínuos (GIBSON *et al.*, 2016; SUNDERLAND; MORRIS; NEVILL, 2008). Foi observado em modelo animal que a velocidade de aumento da temperatura cerebral foi maior quanto maior a intensidade do exercício realizado em ambiente temperado (KUNSTETTER, A. C. *et al.*, 2014). Dentro da mesma ideia, em ambiente quente, a  $T_{INT}$  também foi correlacionada com o aumento da intensidade do exercício (TANAKA; YANASE; NAKAYAMA, 1988). Portanto, exercícios de alta intensidade, ao induzirem maior estresse térmico, podem ser uma ferramenta mais efetiva para aclimação ao ambiente quente.

Existem relatos de respostas de aclimação ao calor após exercícios de alta intensidade em humanos (KELLY *et al.*, 2016; PETERSEN *et al.*, 2010; SUNDERLAND; MORRIS; NEVILL, 2008). Kelly e colaboradores (2016) observaram melhoras em variáveis cardiovasculares (como, por exemplo, redução na FC durante mesmo exercício submáximo no calor) e de desempenho no grupo que realizou 5 sessões de treinamento intervalado de

alta intensidade no calor (38°C) quando comparado com o grupo que treinou (o mesmo protocolo de exercício) no ambiente temperado (22°C). No entanto, os pesquisadores não observaram alterações claras nas respostas de variáveis termorregulatórias entre os grupos. O mesmo observou-se no estudo de Petersen e colaboradores (2010), no qual somente o grupo que treinou no calor (4 sessões de treinamento intervalado) apresentou melhoras nas variáveis cardiovasculares e de desempenho, também sem alterações evidentes nas medidas termorregulatórias, como a  $T_{INT}$ . Importante deixar claro que esses dois estudos utilizaram dois grupos experimentais, o grupo aclimação e o grupo controle (realizava o mesmo protocolo de treinamento só que no ambiente temperado). Após um protocolo de treino específico e com exercícios específicos para esportes coletivos, Sunderland, Morris e Nevill (2008) observaram melhoras nas respostas termorregulatórias (aumento mais lento da temperatura interna e menor temperatura interna inicial) somente no grupo aclimatado, que treinou no calor. Importante ressaltar que todos esses estudos avaliaram o efeito da aclimação em diferentes testes no calor (incrementais ou distâncias fixas) e com protocolos de treinamentos com intensidades diferentes, dificultando comparações e conclusões robustas sobre a eficácia desses treinamentos em induzir aclimação ao calor.

Após a contextualização acima, observa-se que pouco se conhece sobre o efeito dos diferentes tipos de protocolos de treinamento intervalado no calor na indução de adaptações relacionadas com a aclimação ao calor. Portanto, as primeiras perguntas abordadas por esta tese, relacionada com o primeiro delineamento experimental, é: ao se comparar dois protocolos de HIIT com diferentes intensidades e volumes, qual protocolo promove uma aclimação melhor? Como as respostas termorregulatórias respondem durante o período de intervenção aos diferentes protocolos de HIIT no calor? A hipótese norteadora deste primeiro delineamento é que o treinamento intervalado com maior intensidade produzirá maior estresse térmico durante as sessões de treinamento e, portanto, resultará em maiores adaptações termorregulatórias e de desempenho aeróbio.

#### 1.4 ADAPTAÇÕES TERMORREGULATÓRIAS: EFEITOS DA ACLIMATAÇÃO AO CALOR COM TREINAMENTO INTERVALADO

Existem evidências apontando a ocorrência de adaptações no sistema termorregulatório após diferentes protocolos de aclimação ao calor (HOROWITZ, 2007; NIELSEN, B, 1998). O controle preciso da  $T_{INT}$ , como já mencionado nos capítulos anteriores, é representado pela interação entre a produção metabólica e a dissipação de calor. Além disso, a regulação da  $T_{INT}$  é diretamente influenciada pela temperatura do ambiente externo. Por exemplo, uma temperatura do ambiente quente confere aumento do estresse térmico, pois, em alguns casos, pode ocorrer a inversão do gradiente de calor entre o ambiente e a pele; resultando em maior transferência de energia térmica para a pele e interferindo na  $T_{INT}$ .

Exposições crônicas ao ambiente quente resultam em respostas termorregulatórias importantes em animais de experimentação. Sareh e colaboradores (2011) observaram redução da temperatura corporal durante exposição passiva ao calor (40°C), após 5 dias ininterruptos de exposição ao ambiente quente (37°C). Além disso, estes autores também identificaram redução da atividade voluntária em camundongos. Francesconi e colaboradores (1982) também utilizaram animais de experimentação (ratos) e demonstraram que a aclimação passiva ao calor não altera o desempenho aeróbio no calor. Além disso, observaram redução da temperatura da cauda em exercício contínuo até a exaustão, após 4 semanas de exposição passiva ao calor (35°C). Dessa forma, concluíram que o mecanismo que gera adaptação à exposição passiva ao calor está relacionado com melhora de mecanismo comportamentais de dissipação de calor (como espalhar a saliva e inatividade) que não relacionados com o aumento do fluxo sanguíneo direcionado para a cauda. Dessa forma, parece que a adaptação encontrada pela exposição passiva ao calor, em ratos, é gerada por mecanismos termorregulatórios específicos de dissipação de calor e que por sua vez resultam em redução da temperatura corporal. No entanto, não parecem ter relação positiva com o exercício no calor.

Em humanos, observou-se adaptações termorregulatórias no exercício no calor e melhora do desempenho em exercício no ambiente quente, após período de aclimação ao calor e treinamento aeróbio (LORENZO *et al.*, 2010; MAGALHÃES, *et al.*, 2010; NIELSEN, *et al.*, 1997). Nielsen e colaboradores (1993) observaram redução da temperatura média do corpo ao longo de 10 sessões de aclimação ao calor que consistiram de exercício constante, além de menores valores de  $T_{INT}$ , maior taxa de evaporação de suor e aumento no fluxo sanguíneo da pele. Estudos com treinamentos no calor com animais são mais escassos e trazem poucos elementos em relação ao desempenho aeróbio e mecanismos termorregulatórios associados. Para exemplificar, estudo de Kodesh e Horowitz (2010) observaram melhora na força isométrica no músculo sóleo, após 30 dias de aclimação ao calor com treinamento contínuo. Este efeito parece ter sido em relação ao treinamento somado ao calor, pois os grupos que foram somente expostos ao calor ou ao treinamento contínuo não observaram respostas tão expressivas quanto ao grupo que treinou no calor. Esses resultados reforçam o efeito estresse-específico que a aclimação ao calor e treinamento acarretam.

Em relação ao treinamento intervalado e aclimação ao calor, as adaptações termorregulatórias são menos estudadas. Apesar de já existirem alguns estudos sobre este tema, conforme mencionado no capítulo 1.2, pouco se conhece sobre as adaptações no sistema termorregulatório (KELLY *et al.*, 2016; PETERSEN *et al.*, 2010; SUNDERLAND; MORRIS; NEVILL, 2008). Para exemplificar, estudo recente de Reeve e colaboradores (2019) observou reduções na  $T_{INT}$  basal e da pele, após 5 sessões de aclimação ao calor (35°C) envolvendo treinamento intervalado (12 x 1 min a 100% pico de potência, com 1 min de intervalo recuperativo entre os estágios), em humanos. No entanto, este e os demais estudos não observaram o efeito isolado dos estímulos estressores: exposição ao calor e treinamento intervalado.

A partir dos achados descritos acima, observa-se que a literatura ainda não possui informações claras sobre o efeito do treinamento intervalado no calor e as possíveis adaptações termorregulatórias que estariam associadas com a melhora do

desempenho em mesmo ambiente. Além disso, faltam informações sobre como essas adaptações se inter-relacionam com os dois estímulos estressores: exposição crônica ao calor e treinamento intervalado. Portanto, as seguintes perguntas abordadas por esta tese, mais especificamente no delineamento experimental 2, é: como os dois estímulos estressores (treinamento intervalado e exposição passiva ao calor) influenciam nas respostas termorregulatórias e de desempenho aeróbio característicos da aclimatação ao calor? Além disso, como os mecanismos termorregulatórios (produção e dissipação de calor) são influenciados por esses fatores? A hipótese é que o grupo que treinar no calor apresentará adaptações mais expressivas em relação ao grupo que treinar no ambiente temperado ou ao grupo que for exposto passivamente ao ambiente quente. Essas adaptações mais expressivas seriam caracterizadas por um maior aumento da dissipação de calor, resultando em menor  $T_{INT}$  ao longo do exercício e, conseqüentemente, maior tolerância ao esforço físico no calor.

## 1.5 TERMOTOLERÂNCIA: EFEITOS DA ACLIMATAÇÃO AO CALOR COM TREINAMENTO INTERVALADO

Além de ser usado para investigar de forma mais controlada as adaptações induzidas pela aclimatação ao calor, utiliza-se o modelo animal para tentar compreender os mecanismos moleculares envolvidos nessas adaptações, a partir do emprego de técnicas mais invasivas. A aclimatação ao calor gera adaptações termorregulatórias sistêmicas já mencionadas no capítulo 1.3 desse estudo, mas outros estudos também indicam a existência de uma maior termotolerância<sup>3</sup> após esse fenômeno adaptativo, que é resultado de alterações fenotípicas importantes (HOROWITZ, 2016). Além disso, compreender melhor como os estímulos oferecidos (treinamento intervalado e exposição ao calor) podem interagir, à nível molecular, é importante para melhor entendimento sobre os mecanismos que explicam o aumento da

---

<sup>3</sup> Melhora na resposta celular frente a um estímulo subsequente de estresse ao calor.



tolerância ao exercício em ambientes quentes; e assim relacionar com as alterações sistêmicas envolvidas com a aclimação ao calor.

O termo plasticidade fenotípica tem sido empregado em muitos campos biológicos; uma definição amplamente aceita é “a capacidade de um único genótipo para exibir uma gama de fenótipos em resposta à variação do ambiente” (FORDYCE, 2006). Dessa forma, a plasticidade fenotípica relacionada com a aclimação ao calor se manifesta como forma protetora ao novo estímulo térmico estressor. De forma geral, a homeostase da aclimação está relacionada com programas moleculares que induzem a expressão de transcriptomas<sup>4</sup>, após sucessivos estímulos de calor. Na aclimação ao calor, existem inúmeras evidências que os mecanismos epigenéticos são importantes no processo para promover maior termotolerância. Mecanismos epigenéticos afetam a acessibilidade do DNA para fatores de transcrição<sup>5</sup>, regulando assim a expressão gênica e controlando o fenótipo. O fenótipo do indivíduo aclimatado pelo calor confere citoproteção contra novos estressores (revisão em HOROWITZ, 2016). No parágrafo abaixo, esses mecanismos foram explicados com maiores detalhes.

Os transdutores que levam as informações do estímulo ambiental ao núcleo celular parecem ser estimulados por aumentos do Ca<sup>+</sup> e proteína ativada por mitôgeno (do inglês, AMPK). Adaptações fenotípicas relacionadas com a aclimação ao calor parecem ser subdivididas em duas fases: de curto e longo prazo. As alterações fenotípicas de curto prazo (2-5 dias) parecem causar, após o aumento de Ca<sup>+</sup> intracelular e a ativação da AMPK, a ativação das proteínas de choque térmico (do inglês, HSPs) para fosforilar a histona<sup>6</sup> H3, que serve para acetilar a histona H4;

---

<sup>4</sup> Conjunto completo das substâncias transcritas (RNAs mensageiros, RNAs ribossômicos, RNAs transportadores e os microRNAs).

<sup>5</sup> São proteínas que se ligam ao DNA de células eucarióticas para permitir ligação entre a enzima RNA-polimerase e o DNA, possibilitando a transcrição e posterior tradução das proteínas.

<sup>6</sup> Proteínas responsáveis pela compactação e descompactação do DNA. Importantes na regulação dos genes, tornando-os mais ou menos acessíveis à ação da RNA-polimerase.

alterações termorregulatórias autonômicas parecem ser mais importantes nessa fase, para compensar a quantidade de respostas intracelulares desse momento. A aclimação de longo prazo (25-30 dias) acontece quando a histona H4 já está acetilada, correspondendo ao período de estabilização dos efetores autonômicos nos ajustes termorregulatórios. Ou seja, a resposta molecular antecede a necessidade de maiores alterações autonômicas e assim ajustes termorregulatórios. Além disso, fatores de choque térmico (do inglês, HSF) ligam-se aos elementos de choque térmico (do inglês, HSE) nos promotores dos genes HSPs, iniciando a transcrição e tradução das proteínas que resultam em maior citoproteção (HOROWITZ, 2016; HOROWITZ; KODESH, 2010; KOLYBABA; CLASSEN, 2014; MOSELEY, 2019).

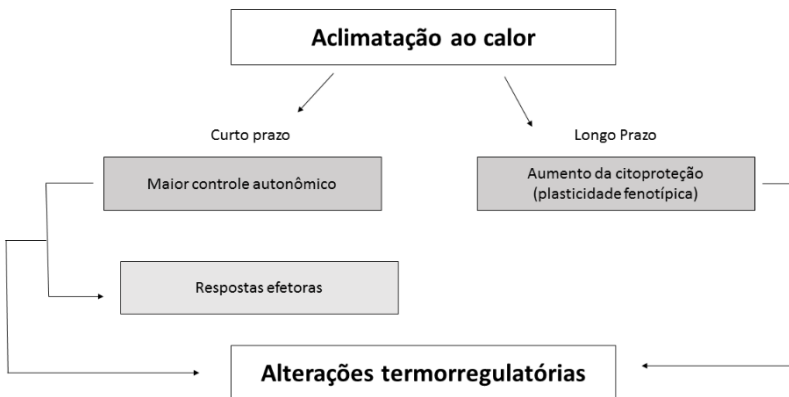


Figura 1. Resumo das adaptações relacionadas com a aclimação ao calor. Em curto prazo, as alterações autonômicas são mais determinantes para diminuição do estresse térmico. Em longo prazo, as alterações fenotípicas sobressaem sobre as autonômicas, e a homeostase térmica acontece. Adaptado do Horowitz e Kodesh, 2010

As HSPs são chaperonas<sup>7</sup> que previnem efeitos deletérios (como apoptose) geradas a partir de situações estressoras, como a exposição a temperaturas elevadas (DEROCHER *et al.*, 2016; SAMALI, 1999). Ou seja, quando as chaperonas são requeridas,

<sup>7</sup> Proteínas que facilitam o enovelamento proteico e, assim, a formação correta de novas proteínas.

indicam maior controle celular para assegurar a formação de novas proteínas e assim impedir a perda das mesmas. Kuennen e colaboradores (2011) sugerem que as HSPs estejam relacionadas com as adaptações clássicas da aclimação ao calor, como redução da  $T_{INT}$  e aumento da dissipação de calor. Estes autores observaram que, após inibição da resposta das HSP, via suplementação com quercetina, houve redução dessas adaptações termorregulatórias. Além disso, estudos com animais mostraram que exposições passivas ao calor promovem regulação epigenética desse gene, resultando em maior tolerância ao calor (TETIEVSKY *et al.*, 2014).

Corroborando os achados apresentados acima, obsevou-se, em ratos, aumento na expressão gênica das HSPs no coração (ASSAYAG *et al.*, 2010; MALOYAN, ALINA *et al.*, 2005; MALOYAN, ALINA; PALMON; HOROWITZ, 2017) e no hipotálamo (WALTERS *et al.*, 2017) após aclimação passiva ao calor. Além disso, em humanos, outros estudos observaram aumento na expressão gênica das HSPs após dois diferentes protocolos de aclimação ativa ao calor, caracterizados por exercícios de velocidade fixa (GIBSON *et al.*, 2015) e hipertermia controlada (GIBSON *et al.*, 2015; MAGALHÃES, F. D. C. *et al.*, 2010), em células do sangue. É importante ressaltar que os protocolos de exercício utilizados não foram semelhantes ao protocolo proposto pelo presente trabalho. Interessantemente, um estudo do tipo high-throughput (mapeamento geral sobre genes importantes) investigou alterações em genes “marcadores” vinculados ao estresse térmico, como a HSP70 (subunidade do HSP; KODESH e HOROWITZ, 2010). Esse mesmo gene estava alterado no grupo que treinou a uma velocidade constante em ambiente quente. Apesar desse último estudo também não ter sido realizado com treinamento de alta intensidade, o mesmo é importante para nos guiar sobre genes importantes para promover adaptações relacionadas ao exercício e estresse térmico. No entanto, não foram observadas as possíveis interações ou influências do treinamento aeróbio de alta intensidade sobre essas adaptações.

Treinamentos aeróbios regulares também induzem alterações fenotípicas que, em conjunto com outras adaptações sistêmicas e centrais, provocam mudanças marcantes na bioenergética muscular. A mitocôndria é uma organela celular que

determina a função oxidativa em atividades prolongadas de contração muscular; portanto, melhoras no desempenho aeróbio estão relacionadas com o aumento de enzimas oxidativas e biogênese mitocondrial (revisar em (COFFEY; HAWLEY, 2007). Biogênese mitocondrial pode ser definida como crescimento e divisão de mitocôndrias pré-existentes. Co-ativador-1 'alfa' do receptor ativado por proliferador do peroxissoma (PGC-1 $\alpha$ <sup>8</sup>) tem sido amplamente estudado no contexto da biogênese mitocondrial (HOOD, 2006). A PGC-1 $\alpha$  corresponde a um complexo de coativadores capazes de estimular vias de transcrição e regular a expressão gênica (RUAS *et al.*, 2012).

Lin e colaboradores (2002) identificaram aumento da expressão da PGC-1 $\alpha$  no músculo esquelético de roedores e observaram maior quantidade nas fibras musculares do tipo I (contração lenta). Além disso, outros estudos identificaram aumento da expressão (WEN *et al.*, 2014) e da ativação da proteína (OLIVEIRA *et al.*, 2014) da PGC-1 $\alpha$  no músculo de camundongos; e este aumento foi diretamente relacionado com a intensidade do exercício contínuo. Ou seja, o exercício de maior intensidade gerou maior expressão desse cofator. Os mesmos autores também observaram aumento da atividade da proteína citrato sintase (participante da via oxidativa). Portanto, observa-se que esse cofator parece estar relacionado com a indução de biogênese mitocondrial e, conseqüentemente, com a melhora bioenergética muscular após exercício aeróbio.

Em respostas a treinamento aeróbios intervalados, essas adaptações podem ser ainda mais expressivas. Em estudo com modelo animal, observou-se aumento da expressão gênica do RNAm da PGC-1 $\alpha$ , no músculo de ratos, até 18 horas após a sessão de treinamento; e esta foi maior do que no grupo que exercitou em exercício constante e moderado (TERADA *et al.*, 2005). Além disso, outro estudo também aponta adaptações oxidativas maiores após treinamento intervalado de alta intensidade. Chillbeck e colaboradores (1998) identificaram maior oxidação de gorduras em mitocôndrias musculares de animais submetidos a treinamentos intervalados; esta adaptação foi maior

---

<sup>8</sup> complexo de coativadores capazes de estimular vias de transcrição e regular a expressão gênica

do que aquela observada nos ratos que treinaram com sessões contínuas e de moderada intensidade. O aumento da resposta oxidativa pelo treinamento intervalado também foi observado em humanos (GRANATA *et al.*, 2016). Portanto, mudanças fenotípicas mitocondriais parecem ser importantes adaptações induzidas por treinamentos aeróbios, principalmente os intervalados de alta intensidade.

Observa-se que nos estudos de aclimação ao calor envolvendo a realização de exercício em ambiente quente pouco se conhece sobre as adaptações fenotípicas isoladas e as possíveis interações entre esses dois estímulos estressores: exposição ao calor e exercício. Isso fica mais evidente no contexto de treinamentos intervalados de alta intensidade. A partir da contextualização acima, identifica-se que a intensidade do exercício parece ser um fator determinante para as adaptações fenotípicas, portanto, não considerá-la nas interpretações sobre os efeitos do exercício, no fenômeno de aclimação ativa ao calor, pode gerar uma grande confusão.

Em resumo, pouco se conhece sobre o efeito somado e isolado induzido pela exposição ao calor e pelo treinamento aeróbio intervalado. Neste contexto, as perguntas abordadas no terceiro delineamento experimental do presente trabalho foram: Como a musculatura esquelética adapta-se fenotipicamente, em relação à expressão das proteínas PGC-1 $\alpha$  e HSP70, após 2 semanas de treinamento de alta intensidade no calor? Além disso, como os fatores potencialmente estimulantes (exposição ao ambiente quente e treinamento intervalado) influenciam nessas adaptações? Nossa hipótese é que os ratos submetidos ao treinamento intervalado no calor apresentarão maior expressão dos genes estudados, quando comparados aos ratos expostos passivamente ao calor ou submetidos ao treinamento intervalado em ambiente temperado.

## 1.5 OBJETIVO GERAL

Investigar as possíveis alterações nas variáveis termorregulatórias, alterações fenotípicas musculares e de

desempenho aeróbio, após 2 semanas de aclimação ao calor induzida por treinamento intervalado realizado em ambiente quente. Para alcançar os objetivos listados acima, serão realizados experimentos com ratos.

### **1.5.1 Objetivos Específicos**

#### 1.5.1.1 Delineamento 1

1.5.1.1.1 Identificar qual protocolo de treinamento intervalado que promove adaptações termorregulatórias e ganhos de desempenho aeróbico (adaptações características da aclimação ao calor) mais evidentes durante exercício realizado em ambiente quente;

1.5.1.1.2 Verificar e relacionar as respostas termorregulatórias (temperatura colônica e da pele da cauda) ao longo das sessões de treinamento no calor nos diferentes protocolos de treinamento intervalado com os resultados encontrados após as intervenções;

#### 1.5.1.2 Delineamento 2

1.5.1.2.1 verificar os efeitos do treinamento intervalado e da exposição ao calor sobre as adaptações termorregulatórias (temperatura da pele da cauda, temperatura interna e produção metabólica de calor) observadas durante diferentes exercícios realizados em esteira (velocidade constante e incremental até a fadiga) e em ambiente quente, em ratos aclimatados ao calor;

#### 1.5.1.3 Delineamento 3

1.5.1.3.1 verificar as possíveis alterações na expressão gênica muscular de PGC-1 $\alpha$  e de HSP70, após protocolo de treinamento intervalado no calor;

### 1.6 JUSTIFICATIVA

Com o intuito de ampliar o conhecimento sobre os efeitos da aclimação ao calor e do treinamento intervalado em aspectos termorregulatórios e na termotolerância, o presente projeto

estabeleceu de uma nova parceria. Esta parceria foi estabelecida entre o Laboratório de Esforço Físico (LAEF; PPGEF), da Universidade Federal de Santa Catarina, e o Laboratório de Fisiologia do Exercício (LAFISE; PPGCE), da Universidade Federal de Minas Gerais, e do Laboratório de Regulação da Expressão Gênica (LABREG), Fiozacruz/PR. Como o LAEF (UFSC) não possui instalações e equipamentos adequados para realizar os experimentos propostos com animais, os mesmos foram realizados no LAFISE (UFMG) e no LABREG (Fiozacruz/PR).

Para realizar estudos mais controlados sobre mecanismos subjacentes às adaptações induzidas pela aclimatação ao calor ou pelo treinamento, faz-se necessário o uso de animais experimentais para identificação das adaptações fenotípicas e termorregulatórias que resultam em diminuição dos efeitos negativos do calor e em melhora do desempenho aeróbio nestas condições ambientais. É importante destacar a dificuldade para se estudar adaptações/mecanismos em humanos, pois tais estudos requerem a utilização de métodos invasivos, inviabilizando-os. A partir disso, o modelo animal pode ser considerado útil no estudo dos mecanismos subjacentes à aclimatação ao calor. Além disso, a padronização de um modelo para estudar aclimatação ao calor e exercício de alta intensidade facilitará a realização de estudos posteriores sobre as respostas adaptativas, além de possibilitar futuras comparações com estudos realizados em humanos. Dessa forma, faz-se necessário o estudo de protocolos de treinamento intervalados adequados para gerar respostas de aclimatação ao calor e que permitam compreender como o estresse térmico relaciona-se com essas adaptações termorregulatórias e alterações fenotípicas.

A técnica utilizada para análise de adaptações moleculares induzidas pela aclimatação ao calor e pelo treinamento intervalado (RT-qPCR) nos dará uma visão mais específica sobre a ação dos genes estudados. Isso proporcionará um direcionamento importante na identificação dos fatores determinantes da aclimatação ao calor (efeito do treinamento, efeito da exposição ao ambiente quente ou a somação dos dois estímulos) para futuros estudos envolvendo o tema. Além disso, os protocolos tradicionais de treinamento no calor (com duração aproximada de 15 dias) são muitas vezes impraticáveis por grande

parte de atletas de elite. Com isso, o treinamento intervalado de alta intensidade pode ser uma ferramenta interessante que possibilita reduzir o número de sessões de treinos em ambiente quente que antecedem a competição alvo. Com isso, a realização de estudos envolvendo o treinamento intervalado pode ser importante para melhor compreender uma ferramenta potencialmente capaz de induzir aclimação ao calor de forma mais tempo-eficiente.

Em resumo, os achados que levantados por esta tese ajudarão na compreensão e na adoção de intervenções que possam minimizar o estresse térmico em provas/competições realizadas em ambiente quente.



## 2 FUNDAMENTAÇÃO METODOLÓGICA

### 2.1 CUIDADOS ÉTICOS

Todos os procedimentos experimentais utilizados nesta tese foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais, sob o protocolo número 364/2016.

### 2.2 ANIMAIS

Foram utilizados um total de 95 ratos (Wistar) machos, com peso entre 250 e 350 g, provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Esses animais foram mantidos em caixas coletivas de polipropileno (49 X 34 X 16 cm), forradas com maravalha, com acesso à água filtrada e ração (Nuvilab CR1) *ad libitum*. A reposição de ração e água, assim como a troca de maravalha, foram realizadas três vezes por semana. A temperatura do laboratório foi controlada em  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , com ciclo claro/escuro de 12:12 h (luz acesas das 7 h às 19 h). Os ratos foram mantidos nessas condições até alcançarem a massa corporal pré-estabelecido (250 g).

### 2.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Durante as situações experimentais, os animais não tiveram acesso à água e ração e foram retirados da caixa-casa, somente, anteriormente ao início das sessões experimentais/exercício. Os experimentos foram realizados na fase clara do dia, no período da tarde. Considerando essas informações, o presente trabalho foi composto por 3 delineamentos experimentais, que estão descritos separadamente para maior compreensão do leitor.

### 2.3.1 Delineamento 1: Comparação entre dois diferentes protocolos de HIIT no calor.

Esse experimento objetivou investigar os efeitos de dois diferentes protocolos de treinamento intervalado no calor sobre as adaptações termorregulatórias e o desempenho aeróbico, avaliados durante exercício incremental até a fadiga em ambiente quente. O delineamento foi composto por 3 grupos experimentais, com 8 animais em cada grupo. Dois grupos realizaram diferentes treinamentos intervalados de alta intensidade: a 85% da velocidade máxima (HIIT<sub>85%</sub>) ou a 100% da velocidade máxima (HIIT<sub>100%</sub>) em ambiente quente (32°C), enquanto o terceiro grupo não foi submetido a nenhum treinamento (não treinado, NT), sendo somente exposto ao mesmo ambiente quente. Quarenta e oito horas antes e após 2 semanas de intervenção, os três grupos foram submetidos a exercícios progressivos (olhar em 2.4.1.2) até a fadiga voluntária, para avaliação das respostas termorregulatórias (temperatura colônica;  $T_{COL}$  e temperatura da pele da cauda;  $T_{PELE}$ ) e do desempenho físico aeróbico; além da identificação da velocidade máxima atingida no exercício ( $V_{MAX}$ ), utilizada para prescrição da intensidade do treinamento (olhar tabela 2). As variáveis termorregulatórias também foram mensuradas durante todas as sessões de intervenção nos três grupos. A tabela 1 descreve a organização temporal dos experimentos do delineamento 1.

Tabela 1. Distribuição dos grupos experimentais e organização temporal das etapas do delineamento 1.

<b>Grupo/dia</b>	<b>1</b>	<b>3-16</b>	<b>18</b>
<b>HIIT<sub>100%</sub></b>	Exercício incremental PRÉ 32°C	Treinamento intervalado a 100% da $V_{MAX}$ 32°C	Exercício incremental PÓS 32°C
<b>HIIT<sub>85%</sub></b>	Exercício incremental PRÉ 32°C	Treinamento intervalado a 85% da $V_{MAX}$ 32°C	Exercício incremental PÓS 32°C
<b>NT</b>	Exercício incremental PRÉ 32°C	Repouso dentro da esteira 32°C	Exercício incremental PÓS 32°C

Legenda: HIIT<sub>100%</sub>: grupo treinamento intervalado de alta intensidade a 100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: grupo treinamento intervalado de alta intensidade a 85% da velocidade máxima; NT: grupo não treinado; V<sub>MÁX</sub>: velocidade máxima.

A tabela 2 apresenta os protocolos de treinamento que os grupos HIIT<sub>100%</sub> e HIIT<sub>85%</sub> realizaram, assim como o tempo de exposição do grupo NT à esteira rolante (e ao calor).

Tabela 2. Descrição das intervenções de 2 semanas às quais os grupos HIIT<sub>100%</sub> e HIIT<sub>85%</sub> e do NT foram submetidos.

	HIIT <sub>100%</sub>				HIIT <sub>85%</sub>		NT	
	1ª semana		2ª semana		1ª semana		2ª semana	
	Int. (%V <sub>MÁX</sub> )	4 x 95%			4x85%	6x85%	0%	0%
Segunda	Esforço (min)	2	--	4	4	--	--	
	R. ativa (min)	2	--	2	2	--	--	
	DTS (min)	19	--	27	39	27	39	
Terça	Int. (%V <sub>MÁX</sub> )	--	7x100%	4x85%	7x85%	0%	0%	
	Esforço (min)	--	2	4	4	--	--	
	R. ativa (min)	--	2	2	2	--	--	
	DTS (min)	--	31	27	45	27	45	
Quarta	Int. (%V <sub>MÁX</sub> )	5x 95%	--	5x85%	7x85%	0%	0%	
	Esforço (min)	2	--	4	4	--	--	
	R. ativa (min)	2	--	2	2	--	--	
	DTS (min)	23	--	33	45	33	45	
Quinta	Int. (%V <sub>MÁX</sub> )	--	8x100%	5x85%	8x85%	0%	0%	
	Esforço (min)	--	2	4	4	--	--	
	R. ativa (min)	--	2	2	2	--	--	
	DTS (min)	--	35	33	51	33	51	
Sexta	Int. (%V <sub>MÁX</sub> )	6x95%	--	6x85%	8x85%	0%	0%	
	Esforço (min)	2	--	4	4	--	--	
	R. ativa (min)	2	--	2	2	--	--	
	DTS (min)	27	--	39	51	39	51	
Sábado	Int. (%V <sub>MÁX</sub> )	--	9x100%	--	--	--	--	
	Esforço (min)	--	2	--	--	--	--	
	R. ativa (min)	--	2	--	--	--	--	
	DTS (min)	--	39	--	--	--	--	
Domingo	Int. (%V <sub>MÁX</sub> )	7x 95%	--	--	--	--	--	
	Esforço (min)	2	--	--	--	--	--	
	R. ativa (min)	2	--	--	--	--	--	
	DTS (min)	31	--	--	--	--	--	

Legenda: HIIT<sub>100%</sub>: grupo treinamento intervalado de alta intensidade a 100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: grupo treinamento intervalado de alta intensidade a 85% da velocidade máxima; NT: grupo não treinado; DTS: Duração total da sessão; V<sub>MÁX</sub>: velocidade máxima; Int.: intensidade. A intensidade da recuperação ativa (R. ativa) para todos os grupos treinados foi de 65% da V<sub>MÁX</sub>. Todos os grupos foram exposto ao ambiente de 32°C durante todas as sessões experimentais.

**2.3.2 Delineamento 2:** Investigação dos efeitos isolados e somados do treinamento intervalado de alta intensidade e da exposição ao ambiente quente sobre as respostas termorregulatórias, avaliadas durante diferentes tipos de exercícios realizados na esteira e no calor.

Esse experimento teve como objetivo identificar se as adaptações relacionadas à aclimação ao calor ocorrem devido aos estímulos causados pelo treinamento intervalado, pela exposição ao calor ou por ambos. Além disso, o delineamento utilizou dois diferentes protocolos de exercício para avaliar as respostas termorregulatórias após as intervenções. Nessa etapa do estudo, 40 animais foram divididos em 4 grupos, com 10 animais cada. Dois grupos foram submetidos a 2 semanas de treinamento intervalado idêntico ao HIIT<sub>100%</sub> realizado no delineamento 1, um no ambiente de 32°C (TR<sub>32°C</sub>) e outro no ambiente de 24°C (TR<sub>24°C</sub>). Dois outros grupos foram mantidos em repouso na mesma esteira e durante o mesmo tempo que os grupos treinados; um no ambiente de 32°C (NT<sub>32°C</sub>) e o outro no ambiente de 24°C (NT<sub>24°C</sub>). Todos os grupos realizaram exercícios incrementais antes e após o período de 14 dias de intervenção, para observação das respostas termorregulatórias e de desempenho físico (assim como no delineamento 1). Além disso, a economia de corrida desses animais foi avaliada (descrito em 2.5.3.3). Em adição a essas análises, os ratos ainda foram expostos a um exercício de velocidade constante e submáximo, 48 horas após o exercício incremental no calor. Ao final do protocolo de exercício constante, foi realizada uma pequena incisão na ponta da cauda do animal para retirada de sangue e posterior análise das concentrações de lactato (olhar em 2.5.2.4.). Todos os exercícios realizados nos momentos pré e pós-intervenções ocorrem no ambiente quente (32°C). A única exceção ocorreu antes do período de intervenção, 48 h após o exercício incremental no calor, quando todos os grupos também foram expostos a um exercício incremental no ambiente de 24°C. Esse exercício serviu para identificar a  $V_{MÁX}$  e assim prescrever a intensidade das sessões de treinamento do grupo que foi treinado no ambiente de 24°C; a ordem desses exercícios incrementais foi aleatória e balanceada. Após o último exercício no calor

(constante), os animais foram eutanasiados com sobredose de anestésicos. A tabela 3 apresenta a distribuição dos grupos experimentais e organização temporal das etapas desse delineamento.

Tabela 3. Distribuição dos grupos experimentais e organização temporal das etapas do experimento 2.

Grupo/dia	Dia 1	Dia 3	Dias 5-19	Dia 21	Dia 23
<b>HIIT<sub>32°C</sub></b>	Exercício incremental Pré 32°C ou 24°C	Exercício incremental Pré 32°C ou 24°C	Sessões de HIIT 32°C	<b>Exercício Incremental Pós 32°C</b>	<b>Exercício constante 32°C</b>
<b>HIIT<sub>24°C</sub></b>	Exercício incremental Pré 32°C ou 24°C	Exercício incremental Pré 32°C ou 24°C	Sessões de HIIT 24°C	<b>Exercício Incremental Pós 32°C</b>	<b>Exercício constante 32°C</b>
<b>NT<sub>32°C</sub></b>	Exercício incremental Pré 32°C ou 24°C	Exercício incremental Pré 32°C ou 24°C	Repouso 32°C	<b>Exercício Incremental Pós 32°C</b>	<b>Exercício constante 32°C</b>
<b>NT<sub>24°C</sub></b>	Exercício incremental Pré 32°C ou 24°C	Exercício incremental Pré 32°C ou 24°C	Repouso 24°C	<b>Exercício Incremental Pós 32°C</b>	<b>Exercício constante 32°C</b>

Legenda: TR<sub>32°C</sub>: grupo treinado com HIIT no ambiente de 32°C; TR<sub>24°C</sub>: grupo treinado com HIIT no ambiente de 24°C; NT<sub>32°C</sub>: grupo sedentário exposto ao ambiente de 32°C; NT<sub>24°C</sub>: grupo sedentário e controle.

### 2.3.3 Delineamento 3: Alterações fenotípicas musculares induzidas pela exposição ao ambiente quente e/ou pelo treinamento intervalado de alta intensidade

Essa etapa teve como objetivo identificar as adaptações fenotípicas no músculo esquelético (sóleo) induzidas pela aclimação ao calor com treinamento intervalado. Trinta e dois ratos foram divididos em 4 grupos, com 6 animais cada. Os grupos foram os mesmos descritos no delineamento 2. Quarenta e oito horas depois da última sessão de intervenção, todos os animais

foram eutanasiados através de decapitação (olhar em 2.4.3.2.). Nesse momento, os animais foram retirados da caixa-casa e um pano foi colocado ao redor do corpo, para imobilizá-los e assim fixá-los na guilhotina para posterior decapitação. Após decapitação, o músculo sóleo foi rapidamente removido e armazenado para posterior análise da expressão gênica (olhar em 2.4.3.5.). Esse músculo possui maior quantidade de fibras do tipo I, ou seja, tem características mais oxidativas (SILVA CORNACHIONE *et al.*, 2011). Além da remoção do sóleo, todo o tecido adiposo foi retirado e posteriormente pesado (olhar em 2.4.3.3), para comparação da massa adiposa entre os grupos experimentais

## 2.4 PROCEDIMENTOS

### 2.4.1 Delineamento 1

#### 2.4.1.1 Familiarização à corrida em esteira rolante

Antes do início das sessões experimentais, os ratos foram submetidos ao protocolo de familiarização ao exercício físico, o qual consistiu em correr em uma esteira rolante projetada para pequenos roedores (Gaustec Magnetismo; Nova Lima, MG, Brasil) por meio de sessões diárias realizadas em 5 dias consecutivos. Os ratos foram encorajados a correr por estímulos elétricos leves (0,5 mA), fornecidos por uma grade de metal localizada na parte traseira da esteira. Ao final do protocolo de familiarização, os animais eram capazes de correr durante 5 min a uma velocidade constante de 15 m/min e a uma inclinação de 5%, com exposição mínima aos estímulos elétricos. A partir do 3<sup>o</sup> dia de familiarização, os animais também foram familiarizados à inserção da sonda utilizada para a temperatura colônica. A temperatura ambiente foi medida utilizando-se um termopar (YSI-400A, Yellow Springs Instruments, OH), colocado na parte superior da caixa de acrílico que envolve a esteira rolante, e foi mantida em  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  (mesma temperatura mantida no biotério setorial). A familiarização serviu

para indicar aos animais o sentido correto da corrida. Os animais que foram frequentemente expostos ao estímulo elétrico foram excluídos do estudo (cerca de 10% dos animais) .

#### 2.4.1.2 Exercício com aumentos progressivos da velocidade (incremental)

Antes e após as duas semanas de intervenção, os animais foram submetidos ao exercício em esteira com velocidade incremental. O exercício foi iniciado com velocidade de 10 m/min, com incremento de 1 m/min a cada 3 minutos, e inclinação fixa em 5% (RABELLO *et al.*, 2015). Os animais realizaram o exercício até a interrupção voluntária. A interrupção voluntária foi caracterizada pela permanência de, pelo menos, 10 segundos na parte metálica da esteira (grade elétrica). O exercício foi realizado em ambiente quente (32°C).

### 2.4.2 Delineamento 2

2.4.2.1 Os procedimentos 2.4.1.1 e 2.4.1.2 foram repetidos.

No entanto, no procedimento 2.4.1.2 (i.e., exercício com aumentos progressivos da velocidade) os animais também foram expostos, no momento pré-intervenção, ao mesmo exercício só que em ambiente temperado (24°C).

2.4.2.2 Exercício submáximo utilizado para o cálculo da economia de corrida

Antes e após as sessões de intervenção, foram realizados exercícios para a medida do consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) e, conseqüentemente, cálculo da economia de corrida. Este exercício foi realizado no mesmo dia, 3 h antes do exercício progressivo. O exercício consistiu de uma corrida em esteira



rolante com velocidade constante e submáxima (15 m/min) durante 15 minutos, realizada em ambiente quente (32°C).

### 2.4.2.3 Exercício de velocidade constante para avaliação das adaptações termorregulatórias

Após as intervenções, mais especificamente quarenta e oito horas após o exercício incremental no calor, os animais foram submetidos a uma corrida em esteira com velocidade constante de 17 m/min. Esta velocidade correspondeu a 70% da  $V_{MÁX}$  média atingida pelos 3 grupos do delineamento 1, após período de intervenção. A padronização da intensidade foi dada pela carga de trabalho fixa, garantindo que os parâmetros fisiológicos medidos não seriam influenciados pela intensidade absoluta do exercício. A partir de dados prévios obtidos no Laboratório de Fisiologia do Exercício da UFMG, observou-se que as principais respostas termorregulatórias ocorrem entre 6 min e 30 min após o início de exercícios com velocidade constante (WANNER, . *et al.*, 2007). Estas observações justificam a duração pré-estabelecida do exercício em 30 min. O exercício foi realizado em temperatura ambiente de 32°C. Ao final desse exercício, uma pequena incisão foi feita na porção distal da cauda dos animais para retirada de 25  $\mu$ L de sangue.

## 2.4.3 Delineamento 3

### 2.4.3.1 Os procedimentos 2.4.1.1 e o 2.4.1.2 foram repetidos

No entanto, o procedimento 2.4.1.2 (i.e., exercício com aumentos progressivos da velocidade) foi repetido 2 vezes para esses animais; um na temperatura ambiente de 24°C e o outro em 32°C. Dessa forma, o grupo que treinou no calor recebeu prescrição do treinamento (relativo à  $V_{MÁX}$ ) relacionada com o exercício no mesmo ambiente; a mesma coisa foi feita para o grupo que treinou no ambiente temperado.

#### 2.4.3.2 Decapitação e retirada do músculo sóleo

Quarenta e oito h após a última sessão experimental, os animais foram retirados das suas caixas-casa e conduzidos, com cuidado, até a sala onde se encontrava a guilhotina. Em menos de 5 s, o animal foi decapitado e a parte inferior do seu corpo foi transferida para uma mesa cirúrgica, onde o sóleo foi retirado. Logo após a retirada, o material biológico foi rapidamente introduzido em tubos plásticos (marca Eppendorf), que foram então imersos em nitrogênio líquido, possibilitando o congelamento rápido dos tecidos. Na sequência, foram armazenados em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  até posterior análise da expressão de alguns genes por meio da reação em cadeia da polimerase quantitativa, em tempo real (RT-qPCR). Todo o campo e material cirúrgicos foram previamente autoclavados e descontaminados com RNAaway.

#### 2.4.3.3 Retirada e pesagem tecido adiposo total

Logo após a retirada do sóleo, coxins de tecido adiposo foram retirados de cada animal. Mais especificamente, os tecidos adiposos epididimal, mesentérico e retroperitoneal foram retirados e pesados, conjuntamente, para posterior comparação entre grupos.

#### 2.4.3.4 Extração de RNA total utilizando-se Trizol

Após retirada do tecido muscular, foi realizada a extração do RNA para sua posterior quantificação. Após adição de 200  $\mu\text{l}$  de clorofórmio, a suspensão foi homogeneizada e incubada por 15 min no gelo e posteriormente centrifugada a  $13.400 \times g$  por 10 min. O sobrenadante foi cuidadosamente transferido para outro tubo contendo o mesmo volume de isopropanol 95% e incubado a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 12-18 h. O RNA assim precipitado foi então lavado com etanol 70%, seco e ressuspenso em água autoclavada, estéril e

livre de RNase. A concentração do RNA total foi determinada por espectrofotômetro considerando 1 unidade de absorbância 260 nm = 40 µg/ml.

#### 2.4.3.5 RT-qPCR

O PCR quantitativo em tempo real foi utilizado para quantificar o nível de mRNA dos genes HSP70 (Genebank NM\_031971.2) e PGC-1 $\alpha$  (genebank AB025784). O gene GAPDH (genebank AF106860.2) foi utilizado como controle interno da reação. Inicialmente uma biblioteca de cDNA foi obtida a partir das amostras de RNA extraídas. Para tanto foi utilizada 200 U da enzima transcriptase reversa Superscript II® da Invitrogen, conforme as instruções do fabricante. Para a síntese da primeira fita de cDNA foi preparado um mix nas seguintes condições: 2 µg de RNA total, 0.5 µg de oligo d(T), 1X tampão RT, 10 mM DTT, 0.5 mM dNTP, 40 U RNase e 200 U de transcriptase reversa Superscript II, em um volume final de 20 µl. A reação do cDNA foi incubada a 42°C por 60 min. Após a síntese da primeira fita, a reação foi inativada a 70°C por 20 min, e o cDNA foi diluído 15X em água deionizada. O cDNA recém sintetizado foi armazenado a -20°C para posterior utilização.

Os iniciadores foram retirados e descritos previamente por Liu *et al.* (2009; PGC-1 $\alpha$ ) e Murlasists *et al.* (2006; HSP70). As reações foram preparadas separadamente contendo 10 pmoles de cada iniciador dos genes em teste (HSP70 ou PGC-1 $\alpha$ ) mais os iniciadores do gene controle, tampão 1X SYBR GREEN® (Applied Biosystems), e 5 µl de DNA e água deionizada para completar o volume final da reação de 20 µl. A amplificação foi realizada pelo Sistema de Detecção de seqüência Gene-Amp 5700 (PE Applied Biosystems). O corante SYBR GREEN intercala na fita dupla de DNA permitindo quantificar o produto de PCR a cada ciclo da reação. O programa de amplificação realizou as seguintes etapas: 95°C por 10 min e 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 s, anelamento a 60°C por 15s e extensão a 72°C por 30s.

A quantificação relativa da expressão dos genes alvos (HSP70 e PGC-1 $\alpha$ ) foram realizadas de acordo com o método  $2^{-\Delta\Delta CT}$  descrito por Livak e Schmittgen (2001). Nesse método, o  $\Delta CT$  foi determinado a partir da subtração do limiar de ciclos ( $C_T$ ) para

a amplificação do gene alvo pelo  $C_T$  para a amplificação do normalizador (GAPDH). A partir desses resultados, foi utilizado como um exponencial negativo na base 2 para cálculo da expressão relativa de cada animal.

## 2.5 VARIÁVEIS MEDIDAS

### 2.5.1 Variáveis de controle

#### 2.5.1.1 Temperatura ambiente

A temperatura ambiente foi medida no interior da esteira por meio de um termopar (Yellow Spring Instruments – YSI, modelo 409B, OH, EUA), fixado na parte superior da caixa de acrílico que envolve a esteira e acoplado a um teletermômetro (YSI, modelo 400A). Durante as situações experimentais em ambiente temperado e em ambiente quente, a temperatura na esteira foi mantida em 24°C e 32°C, respectivamente. A temperatura ambiente foi controlada utilizando-se um ar condicionado (ambiente temperado) ou um aquecedor (ambiente quente). A temperatura de 24°C foi selecionada como um ambiente temperado, pois dados anteriores sugerem que temperatura ambiente variando de 24 a 26°C correspondem à extremidade inferior da zona termoneutra de ratos em repouso mantidos dentro da câmara que continha a esteira rolante (WANNER, *et al.*, 2015). Somado a isso, estudos prévios mostraram que ratos operando a 32°C apresentam prejuízo no desempenho aeróbico e maiores aumentos no  $T_{INT}$  e  $T_{PELE}$ , em relação aos ratos que correm a 23-24°C (DRUMMOND *et al.*, 2016)

#### 2.5.1.2 Massa corporal

A massa corporal dos animais foi registrada 3 vezes por semana, logo após o exercício, utilizando-se uma balança eletrônica (Filizola®). As alterações da massa corporal foram

utilizadas como uma estimativa do estado de saúde dos animais, visto que, na faixa etária avaliada, espera-se que ratos apresentem aumentos contínuos na sua massa corporal.

## 2.5.2 Desempenho físico

### 2.5.2.1 Tempo de exercício até a fadiga

O tempo de exercício até a fadiga, medido em minutos, correspondeu ao intervalo entre o início do exercício e o momento em que os animais interromperam, voluntariamente, o esforço físico.

### 2.5.2.2 Velocidade máxima

A velocidade máxima de corrida ( $V_{MÁX}$ ) foi calculada, adaptando-se a equação proposta por (Kuipers *et al.* (1985) para o cálculo da potência máxima:

$V_{MÁX} = V1 + (V2 \times t/180)$ . Sendo, V1: velocidade da esteira atingida no último estágio completo; V2: incremento na velocidade da esteira a cada estágio; t: tempo gasto no estágio incompleto (em segundos).

### 2.5.2.4 Concentração de Lactato ([La])

Ao final do exercício em velocidade constante, realizado no delineamento 2, foi coletada amostra de sangue (25  $\mu$ L) na porção distal da cauda por meio de uma pequena incisão, para medir a concentração sanguínea de lactato (em  $\text{mmol/L}^{-1}$ ). Essa amostra foi armazenada em tubos de Eppendorf (1,5 mL) contendo 50  $\mu$ L de fluoreto de sódio (1%). A análise da concentração de lactato foi realizada utilizando-se um analisador electroquímico (YSI 2700 STAT®, Yellow Springs, Ohio, EUA).

### 2.5.3 Termorregulatórias

#### 2.5.3.1 Temperatura colônica ( $T_{COL}$ )

O registro da  $T_{COL}$  foi realizado por meio de sonda (Measurement Specialties, modelo 4491RJ) introduzida a uma profundidade de 7 cm além do esfíncter anal, acoplada por um teletermômetro (YSI, modelo 400A). Para facilitar a introdução, foi aplicada vaselina ao redor da ponta da sonda. A mesma foi afixada no terço proximal da cauda do animal, com auxílio de esparadrapos. Os dados foram registrados manualmente a cada minuto.

#### 2.5.3.2 Temperatura da pele da cauda ( $T_{PELE}$ )

Nos dias dos experimentos, foi fixado um termopar (YSI Inc., de Dayton, OH, EUA) na superfície lateral do terço proximal da cauda de cada animal, acoplado ao teletermômetro (YSI, modelo 400<sup>a</sup>), para a medida da temperatura da pele. A partir dos estudos abordados na revisão de literatura, observa-se uma participação importante da vasculatura da pele da cauda na dissipação de calor durante o exercício físico em esteira (WANNER, *et al.*, 2015). Os dados foram registrados manualmente a cada minuto.

#### 2.5.3.3 Consumo de oxigênio ( $VO_2$ )

Durante o exercício descrito em 2.4.2.2, realizado no delineamento 2, o  $VO_2$  foi medido continuamente através de calorimetria indireta de fluxo aberto (LE8700, Panlab, Harvard Apparatus). Para medir o  $VO_2$ , foi utilizada uma configuração de esteira diferente (LE400, Panlab, Harvard Apparatus, Cornella,

Espanha). Os dados de  $\text{VO}_2$  foram analisados utilizando o software Metabolism (versão 2.2.01, Panlab, Harvard Apparatus) e transformados em mililitros por minuto e depois relativizados pela massa corporal ( $\text{mLO}_2.\text{kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ). O equipamento foi calibrado semanalmente com uma mistura gasosa conhecida (alto  $\text{O}_2 = 49,99\%$ , alto  $\text{CO}_2 = 1,50\%$ , baixa  $\text{O}_2 = 20,00\%$ , baixo  $\text{CO}_2 = 0,00\%$ ).

## **2.5.4 Variáveis histológicas**

### **2.5.4.1 Tecido muscular**

No delineamento 3, o sóleo da perna esquerda foi retirado para posterior quantificação da expressão gênica de RNAm das proteínas PGC-1 $\alpha$  e HSP70.

### **2.5.4.2 Tecido adiposo total**

No delineamento 3, o somatório da massa de três coxins de tecido adiposo (epididimal, mesentérico e retroperitoneal) foi calculado (g) após o período de intervenção.

## **2.6 VARIÁVEIS CALCULADAS**

### **2.6.1 Carga de Trabalho**

A carga de trabalho (J) foi calculada utilizando-se a equação a seguir: carga de trabalho =  $m.g.v.\text{sen}\theta.t$ , onde  $m$  = massa corporal em kg;  $g$  = aceleração da gravidade ( $9.8 \text{ m.s}^{-2}$ );  $v$  = velocidade em  $\text{m.min}^{-1}$ ;  $\text{sen}\theta$  = seno da inclinação da esteira ( $5^\circ$ ); e  $t$  = tempo em minutos.

### 2.6.2 Eficiência Mecânica (%)

A eficiência mecânica foi calculada dividindo a carga de trabalho (J) pelo  $VO_2$ ; o resultado obtido foi então multiplicado por 100. A carga de trabalho e o  $VO_2$  foram mensurados e calculados durante o exercício realizado em velocidade constante e submáxima, descrito em 2.4.2.2. Além disso, para esse cálculo, o  $VO_2$  foi medido em calorias e multiplicado por 4,184, para transformação em joule (J).

### 2.6.3 Eficiência Termorregulatória

Primeiramente, foi calculada a razão entre a variação (final-inicial) da  $T_{COL}$  ( $^{\circ}C$ ) e a distância total percorrida (km) durante o exercício, sendo expressa, portanto, em  $^{\circ}C/km$ . Esta razão está inversamente relacionada à eficiência termorregulatória; ou seja, quanto maior a razão, menor a eficiência (RABELO *et al.*, 2018).

### 2.6.4 Porcentagem de tecido adiposo corporal (%)

Para calcular a porcentagem de tecido adiposo corporal, o tecido adiposo total (g) foi dividido pela massa corporal (g) e, na sequência, o valor encontrado foi multiplicado por 100, resultando em valores em %.

## 2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Primeiramente, os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk (distribuição de Gauss) para verificar a normalidade e ao teste de Levene para verificar a homocedasticidade dos dados. Os dados foram expressos em valores de média  $\pm$  Erro padrão da média. Após isso, análises de Anova de 2 vias com medida repetida (tempo como medida repetida) foram empregadas nas variáveis termorregulatórias, de desempenho e nas variáveis histológicas. O software utilizado para análises e



criação dos gráficos foi Statistica 8.0 (Statsoft, Tulsa, Oklahoma, EUA). O nível de significância utilizado correspondeu a  $p < 0,05$ .



### 3 RESULTADOS

#### 3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 1

##### 3.1.1 Temperatura ambiente e massa corporal

A temperatura média do ambiente onde os experimentos foram realizados não foi diferente entre os grupos e entre os exercícios incrementais (pré- e pós-intervenção) ou ao longo das sessões de intervenção (primeira, intermediária e última;  $p > 0,05$  para todas as comparações; tabela 4). Isso indica o controle da temperatura ambiente durante os experimentos foi realizado com sucesso.

Antes da intervenção, o grupo HIIT<sub>85%</sub> apresentou uma massa corporal menor do que o grupo não treinado (NT); estes valores permaneceram menores após as 2 semanas de intervenção (HIIT<sub>85%</sub>: de  $263,5 \pm 7,1$  g para  $297,1 \pm 8,9$  g vs. NT: de  $304,7 \pm 16,4$  g para  $340,4 \pm 11,6$  g;  $F_{\text{GRUPO}} = 3,80$ ,  $p < 0,05$ ). Entretanto, não houve diferenças na massa corporal entre os grupos HIIT<sub>85%</sub> e HIIT<sub>100%</sub> ou entre os grupos HIIT<sub>100%</sub> e NT. Além disso, o ganho de massa corporal foi similar entre os três grupos (HIIT<sub>100%</sub>:  $39,5 \pm 7,4$  g vs. HIIT<sub>85%</sub>:  $33,6 \pm 3,8$  g vs. NT:  $35,7 \pm 16,1$  g;  $F_{\text{GRUPO}} = 0,09$ ,  $p > 0,05$ ).

Tabela 4. Média da temperatura ambiente (°C) durante os exercícios incrementais (pré- e pós-intervenção) e durante o início, metade e final da intervenção nos três grupos experimentais.

Grupo	Exercício Pré	Exercício Pós	1ª sessão	Sessão intermediária	Última sessão
HIIT <sub>100%</sub>	32,10 ± 0,04	32,10 ± 0,05	32,10 ± 0,15	32,17 ± 0,03	32,07 ± 0,05
HIIT <sub>85%</sub>	32,09 ± 0,04	32,24 ± 0,05	32,35 ± 0,34	32,13 ± 0,09	32,19 ± 0,14
NT	32,08 ± 0,06	32,09 ± 0,06	32,20 ± 0,10	31,99 ± 0,13	31,95 ± 0,21

Legenda: HIIT<sub>100%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 85% da velocidade máxima; NT: não treinado. Os dados estão expressos em média ± EPM. A média da temperatura ambiente foi calculada a partir de dados coletados a cada minuto durante o exercício ou exposição passiva ao calor. A sessão intermediária no grupo HIIT<sub>100%</sub> correspondeu à quarta sessão de treinamento; já nos grupos HIIT<sub>85%</sub> e NT correspondeu à quinta sessão de intervenção.

### 3.1.2 Mudanças na carga de trabalho e parâmetros termorregulatórios durante as sessões de intervenção

A carga de trabalho durante as sessões de treinamento nos dois grupos HIIT aumentou durante as 2 semanas de intervenção ( $F_{\text{MOMENTO}} = 1051,7$ ;  $p < 0,001$ , figura 2). O grupo HIIT<sub>85%</sub> apresentou maiores cargas nos três momentos avaliados: primeira, intermediária e última sessão de treinamento ( $F_{\text{GRUPO}} = 7,43$ ;  $p < 0,05$ ). Além disso, a carga de trabalho total foi 60% maior no grupo HIIT<sub>85%</sub> em comparação ao grupo HIIT<sub>100%</sub> (Figura 2B).

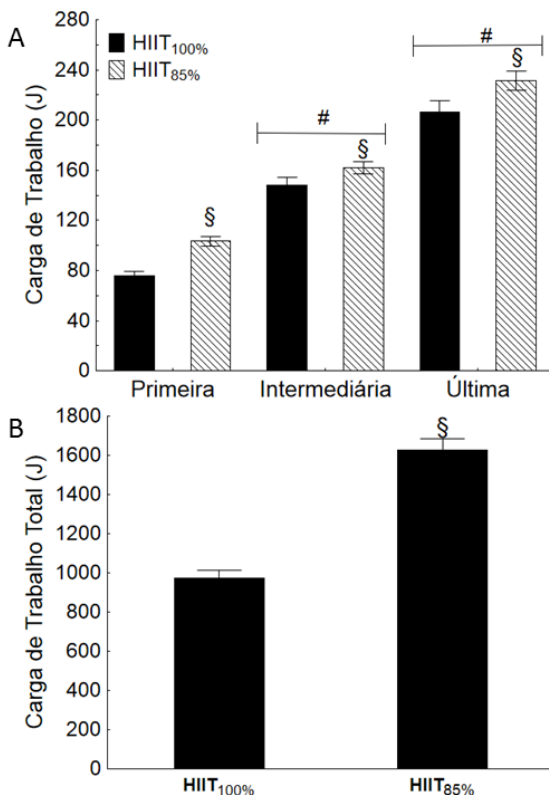


Figura 2. Carga de trabalho (J) durante a 1<sup>a</sup>, do meio e última sessão de treinamento nos grupos submetidos ao HIIT (A) e carga de trabalho total após todas as sessões de treinamento (B). HIIT<sub>100%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 85% da velocidade máxima. Os valores estão expressos em média  $\pm$  EPM. § denota diferença significativa do HIIT<sub>100%</sub> ( $p < 0,05$ ); # denota diferença significativa da 1<sup>a</sup> sessão de treinamento ( $p < 0,05$ ).

A  $T_{COL}$  e a  $T_{PELE}$  aumentaram durante a primeira e a última sessão de treinamento ou exposição passiva ao calor nos três grupos. No entanto, os dois grupos treinados apresentaram maiores valores da  $T_{COL}$  no último estágio de exercício na primeira (Figura 3A;  $F_{INTERAÇÃO} = 15,18$ ;  $p < 0,001$ ) e última sessão (Figura 3B;  $F_{INTERAÇÃO} = 24,30$ ;  $p < 0,001$ ) de treinamento, em comparação ao grupo NT. Não houve diferença estatística na  $T_{COL}$  entre os

grupos treinados ( $p > 0,05$ ). Além disso, as duas sessões de intervenção geraram o mesmo perfil de alteração na curva da  $T_{COL}$  ao longo do tempo no grupo NT; observou-se um aumento inicial, seguido de manutenção dessa variável até o final da sessão. Em relação à  $T_{PELE}$ , houve interação entre o momento e o grupo na primeira (Figura 3C;  $F_{INTERAÇÃO} = 3,89$ ;  $p < 0,001$ ) e na última sessão (Figura 3D;  $F_{INTERAÇÃO} = 2,36$ ;  $p < 0,05$ ). Mas, a análise *post hoc* somente detectou diferença ao longo do tempo nas duas sessões nos grupos HIITs ( $p < 0,001$ ).

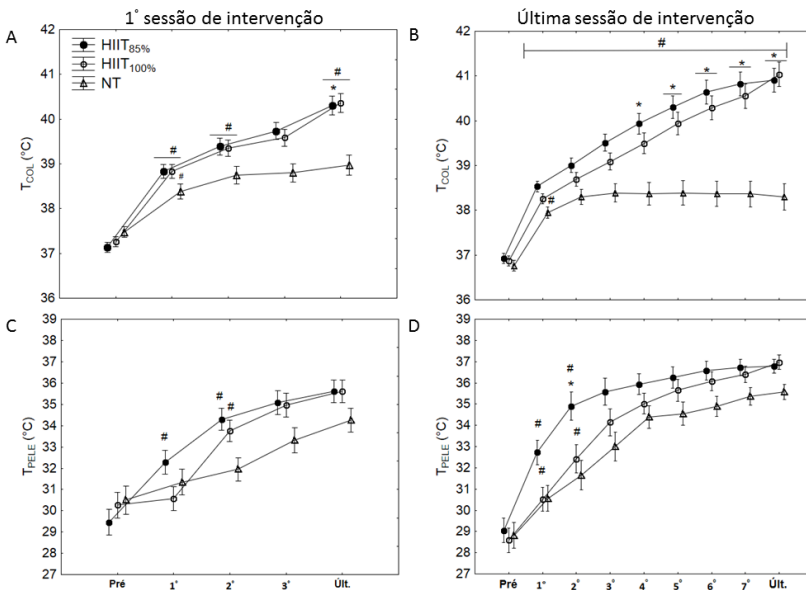


Figura 3. Temperatura colônica (A e B) e da cauda da pele (C e D) durante a 1ª e última sessão de treinamento ou exposição passiva ao calor. # denota diferença significativa em relação ao estágio anterior da sessão ( $p < 0,05$ ). Os valores estão expressos em média  $\pm$  EPM. \* denota diferença significativa em relação ao NT do mesmo estágio da sessão ( $p < 0,05$ ). Nota: NT não foi exposto a nenhum tipo de exercício, somente exposto ao ambiente quente (32°C) durante o mesmo tempo que os animais do HIIT<sub>85%</sub>. HIIT<sub>100%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 85% da velocidade máxima;  $T_{COL}$ : temperatura colônica;  $T_{PELE}$ : temperatura da pele da cauda. Eixo “x” descreve os estágios das intervenções.

Para melhor compreensão das alterações nas temperaturas corporais induzidas pelas intervenções, avaliou-se as  $T_{COL}$  e  $T_{PELE}$  iniciais e finais. Visto que a  $T_{PELE}$  inicial é influenciada pela postural corporal adotada pelo animal, a mesma não foi incluída nesta análise. Dessa forma, a  $T_{COL}$  inicial não se diferenciou entre os grupos nas duas sessões de treinamento observadas ( $F = 1,59$ ;  $p > 0,05$ ; Figura 4A), mas diminuiu na última sessão em comparação com a primeira em todos os grupos ( $F = 8,46$ ,  $p < 0,05$ ; Figure 3<sup>a</sup>); não foi observada interação entre grupos e momentos em relação à  $T_{COL}$  inicial ( $F = 0,39$ ;  $p > 0,05$ ). Em relação à  $T_{COL}$  final, foi observada interação entre os fatores momento e grupo ( $F = 9,68$ ,  $p < 0,05$ ). Os grupos HIIT<sub>100%</sub> e HIIT<sub>85%</sub> tiveram maiores valores nessa variável quando comparados ao grupo NT, nas duas sessões de treinamento analisadas (e.g., última sessão: HIIT<sub>100%</sub>  $41,03 \pm 0,22^{\circ}\text{C}$  vs. HIIT<sub>85%</sub>  $40,90 \pm 0,21^{\circ}\text{C}$  vs. NT  $38,43 \pm 0,22^{\circ}\text{C}$ ;  $p < 0,05$ ). No entanto, somente o grupo HIIT<sub>100%</sub> apresentou aumento nessa variável na última em relação à primeira sessão. Similarmente, observou-se uma interação significativa na variação da  $T_{COL}$  (Figura 4C;  $F = 6.45$ ,  $p < 0.05$ ), com maiores valores sempre observados nos grupos HIIT do que no grupo NT. Novamente, somente o grupo HIIT<sub>100%</sub> apresentou maiores mudanças na  $T_{COL}$  na última sessão de treinamento quando comparada à primeira sessão.

Em relação a perda de calor pela cauda, a  $T_{PELE}$  final foi influenciada significativamente pelo momento ( $F = 24.56$ ,  $p < 0.05$ ) e grupo ( $F = 3.68$ ,  $p < 0.05$ ; Figura 4D), entretanto não houve interação entre esses fatores ( $F = 0.05$ ,  $p > 0.05$ ).  $T_{PELE}$  final foi maior nos grupos HIIT do que no grupo NT na primeira e última sessões (última sessão: HIIT<sub>100%</sub>  $36.97 \pm 0.28^{\circ}\text{C}$  vs. HIIT<sub>85%</sub>  $36.78 \pm 0.29^{\circ}\text{C}$  vs. NT:  $35.57 \pm 0.44^{\circ}\text{C}$ ; figura 4D;  $p < 0.05$ ). Além do que,  $T_{PELE}$  final foi maior na última sessão comparada com a primeira em todos os grupos.

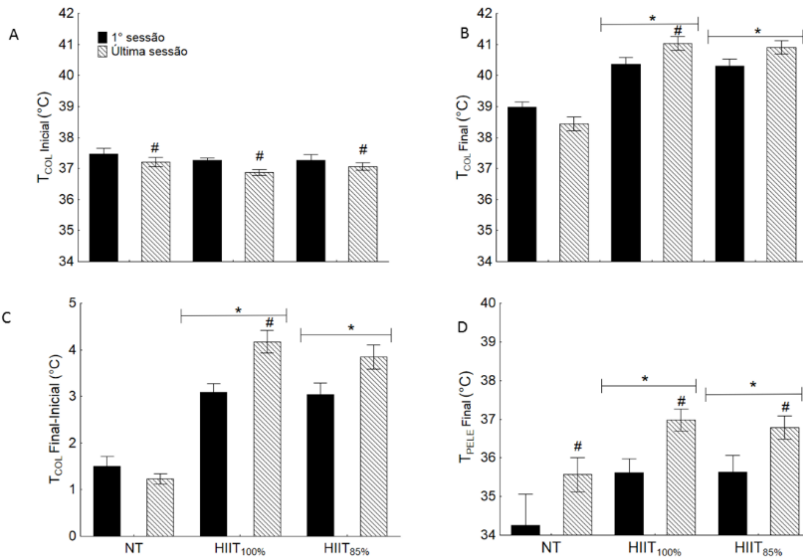


Figura 4. Temperatura colônica no início (A) e no final da intervenção (B), variação da temperatura colônica ao longo da intervenção (final-inicial); C) e temperatura da pele da cauda no final da intervenção (D) durante a 1ª e última sessão de treinamento ou exposição passiva ao calor. Os valores estão expressos em média  $\pm$  EPM. # denota diferença em relação a 1ª sessão de treinamento ( $p < 0,05$ ); \* denota diferença em relação ao NT na mesma sessão de treinamento ( $p < 0,05$ ). HIIT<sub>100%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 85% da velocidade máxima; T<sub>COL</sub>: temperatura colônica; T<sub>PELE</sub>: temperatura da pele da cauda.

Para a melhor compreensão da relação entre a termorregulação e a carga de trabalho desempenhada pelos animais, foi calculada a razão entre a variação da T<sub>COL</sub> e a distância percorrida para cada sessão de intervenção (Fig. 5). Esta razão está inversamente associada à eficiência termorregulatória. Diferenças significativas para o momento e o grupo foram observadas para essa variável (Figura 5A;  $F_{GRUPO} = 7.21$ ,  $p < 0.05$ ;  $F_{MOMENTO} = 108.91$ ,  $p < 0.001$ ). Ocorreu uma redução da razão nos dois grupos submetidos ao HIIT na última sessão de treinamento em comparação à primeira sessão ( $p < 0.001$ ). O grupo HIIT<sub>100%</sub> apresentou maiores valores da razão entre a variação da T<sub>COL</sub> e a distância percorrida nas duas sessões de treinamento avaliadas, em comparação ao grupo HIIT<sub>85%</sub> ( $p < 0.05$ ). Quando a razão foi



analisada ao longo de todas as sessões de treinamento, essa variável apresentou uma redução inicial na 3ª sessão de treinamento no grupo HIIT<sub>100%</sub> ( $F = 23.99$ ;  $p < 0.001$ ; Figura 5B) e na 5ª sessão no grupo HIIT<sub>85%</sub> ( $F = 12.18$ ;  $p < 0.001$ ; Figura 5C).

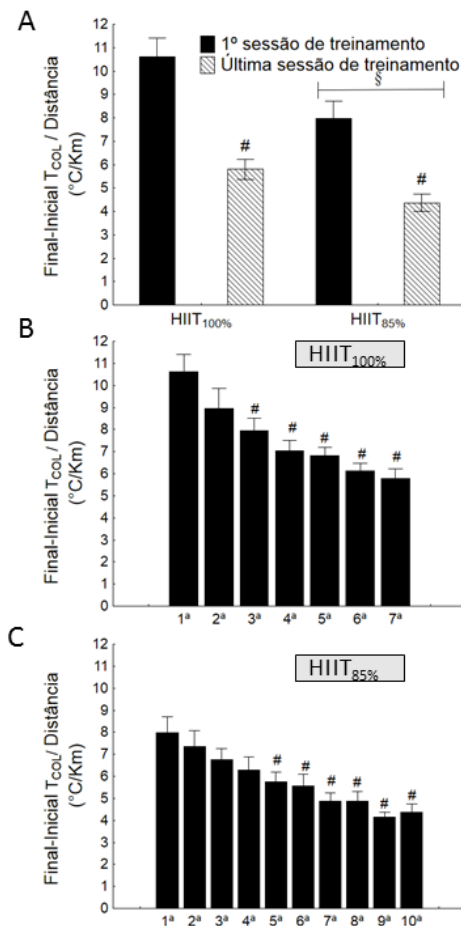


Figura 5. Razão entre a variação da T<sub>COL</sub> e a distância percorrida (A; °C/Km) durante a 1ª e última sessão de treinamento no calor (32°C), ou durante todas as sessões do HIIT<sub>100%</sub> (B) e do HIIT<sub>85%</sub> (C). Os valores estão expressos em média  $\pm$  EPM. # denota diferença em relação à 1ª sessão de treinamento ( $p < 0,05$ ); § denota diferença em relação ao HIIT<sub>100%</sub> ( $p < 0.05$ ). HIIT<sub>100%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade

a 100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 85% da velocidade máxima; T<sub>COL</sub>: temperatura colônica.

### 3.1.3 Mudanças no desempenho aeróbio e em parâmetros termorregulatórios após as intervenções

A análise estatística revelou interação entre grupo e momento para a carga de trabalho durante os exercícios incrementais até a fadiga ( $F = 8,39$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 6). A carga de trabalho no primeiro exercício incremental (pré-intervenção) não foi diferente entre os grupos. No entanto, os dois grupos submetidos ao HIIT apresentaram maiores desempenhos aeróbicos no exercício incremental pós-intervenção em comparação com o exercício pré-intervenção. As mudanças induzidas pelas 2 semanas de intervenção foram similares entre os grupos submetidos ao HIIT; no entanto, ambos apresentaram maiores alterações do que o grupo NT (HIIT<sub>100%</sub>:  $86,5 \pm 21,5$  J vs. HIIT<sub>85%</sub>:  $130,4 \pm 20,4$  J vs. NT:  $7,9 \pm 20,9$  J;  $F = 8,39$ ;  $p < 0,05$ ).

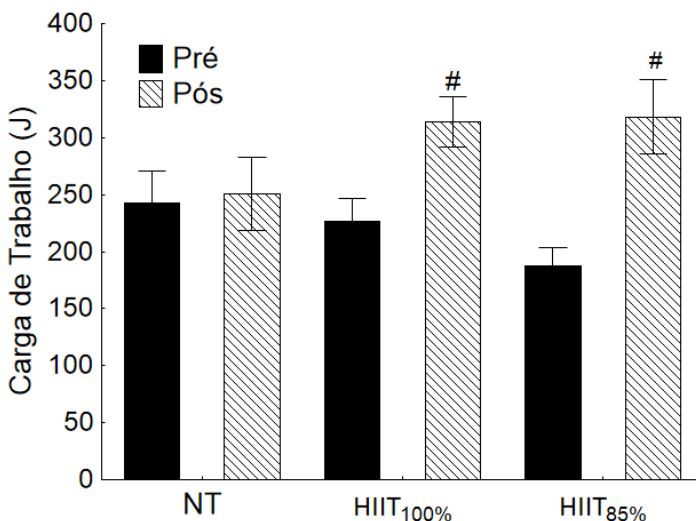


Figura 6. Carga de trabalho durante os exercícios incrementais até a fadiga voluntária no ambiente de 32°C, realizados nos momentos pré- e pós-intervenção (J). Os valores estão expressos em média  $\pm$  EPM. #

denota diferença em relação ao momento pré-intervenção ( $p < 0.05$ ). HIIT<sub>100%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 85% da velocidade máxima; NT: não treinado.

Como esperado, a  $T_{COL}$  e a  $T_{PELE}$  aumentaram constantemente durante todo o exercício incremental pré-intervenção (Figura 7A e C); estes aumentos foram similares entre os grupos. Embora uma interação entre grupo x momento para  $T_{COL}$  tenha sido observada no segundo exercício incremental ( $F_{INTERAÇÃO} = 2,79$ ;  $p < 0,001$ ; Figura 7B), a análise *post hoc* não conseguiu identificar a diferença entre as médias dos grupos. Além disso, para a  $T_{PELE}$ , as observações feitas no momento pré-intervenção foram semelhantes às aquelas observadas para a  $T_{COL}$ . Durante o incremental realizado após período de intervenção, foi encontrada influência somente do momento ( $F = 163,40$ ;  $p < 0,001$ ; Figura 7D), mas do grupo ( $F = 0,06$ ;  $p > 0,05$ ). Dessa forma, a partir de 10 minutos após o início do exercício, todos os grupos exibiram aumentos progressivos na  $T_{PELE}$  que persistiram até o momento da fadiga.

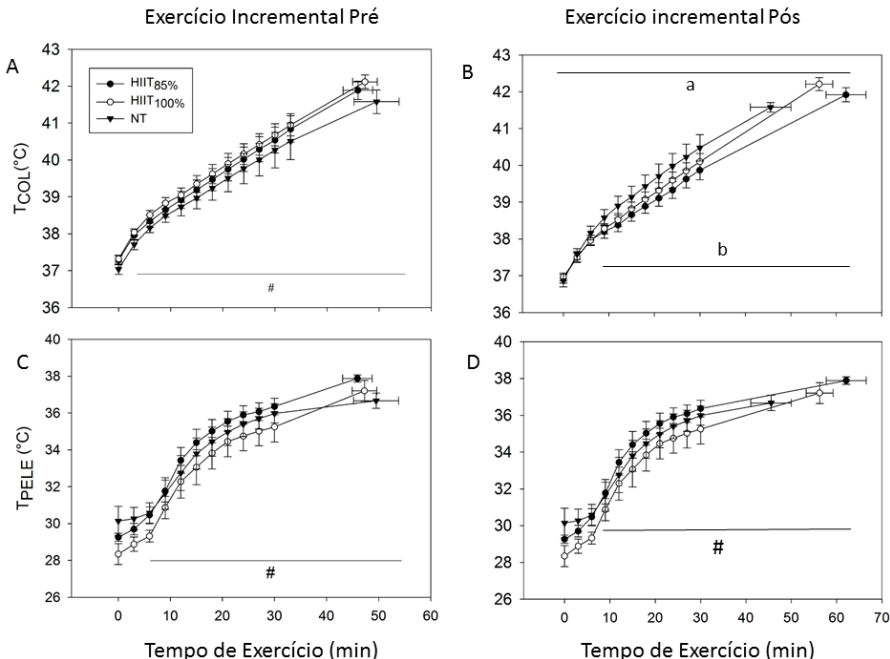


Figura 7. Temperatura colônica (A e B) e da pele da cauda (C e D) durante os exercícios incrementais até a fadiga no ambiente quente (32°C), realizados nos momentos pré- (A e C) e pós- intervenções (B e D). Os valores estão expressos em média  $\pm$  EPM. # denota diferença em relação ao momento pré-exercício (tempo zero;  $p < 0,05$ ); a: denota diferença em relação ao momento pré-exercício (tempo zero;  $p < 0,05$ ) para o HIIT<sub>85%</sub>; b: denota diferença em relação ao momento pré-exercício (tempo zero;  $p < 0,05$ ) para o HIIT<sub>100%</sub> e UN. HIIT<sub>100%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 85% da velocidade máxima; NT: não treinado.  $T_{COL}$ : temperatura colônica;  $T_{PELE}$ : temperatura da pele da cauda.

A  $T_{COL}$  inicial e na fadiga, a variação da  $T_{COL}$  e a  $T_{PELE}$  na fadiga também foram comparadas entre os grupos e momentos (ou seja, primeiro vs. segundo exercício incremental). Não foram encontrados efeitos significativos do grupo e nem interação (grupo e momento) em nenhuma das variáveis analisadas. No entanto, observou-se efeito significativo em relação ao momento nas variáveis  $T_{COL}$  inicial ( $F = 10,42$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 8A) e variação da

$T_{COL}$  ( $F = 5,56$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 8C); o mesmo efeito não foi observado para as variáveis  $T_{COL}$  (Figura 8B;  $F = 0,06$   $p > 0,05$ ) e  $T_{PELE}$  medidas na fadiga ( $F = 1,55$   $p > 0,05$ ; Figura 8D).

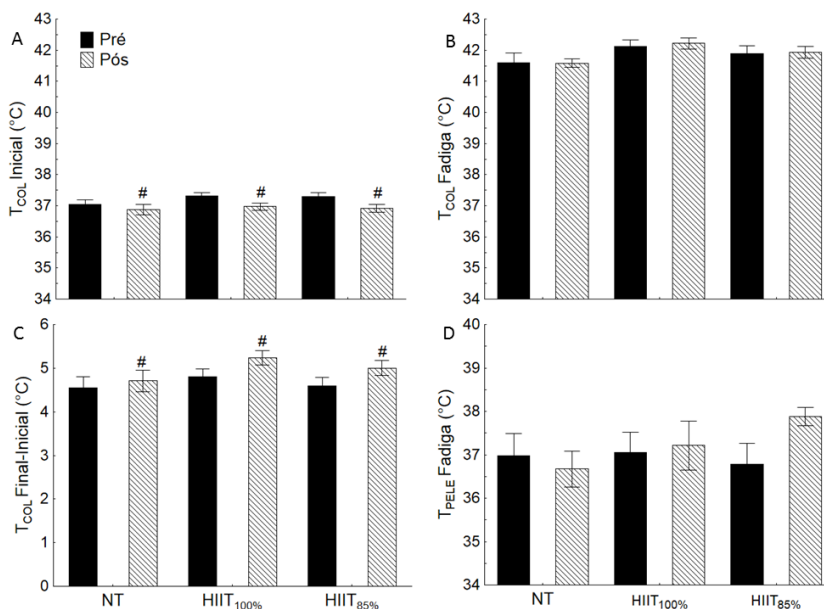


Figura 8. A temperatura colônica inicial (A) e fadiga (B), variação da temperatura colônica ao longo da intervenção (final-inicial; C) e temperatura da pele da cauda na fadiga (D) durante os exercícios incrementais até a fadiga no calor ( $32^{\circ}\text{C}$ ), realizados nos momentos pré- e pós-intervenção. Os valores estão expressos em média  $\pm$  EPM. # denota diferença em relação ao momento pré-intervenção ( $p < 0,05$ ). HIIT<sub>100%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 85% da velocidade máxima; NT: não treinado.  $T_{COL}$ : temperatura colônica;  $T_{PELE}$ : temperatura da pele da cauda.

A razão entre a variação da  $T_{COL}$  e a distância percorrida pelos ratos também foi calculada para identificar as alterações na eficiência termorregulatória após as 2 semanas de intervenção. Essa variável apresentou interação entre o momento e o grupo ( $F_{INTERAÇÃO} = 11,39$ ;  $p < 0,001$ ), mas a análise *post hoc* somente observou diferença significativa entre os momentos pré- e pós-intervenção no grupo HIIT<sub>85%</sub> ( $p < 0,05$ ). Portanto, não houve

diferença significativa entre os três grupos (HIIT<sub>100%</sub>, HIIT<sub>85%</sub> e NT) independente do momento avaliado (Figura 9A;  $p > 0,05$ ). Para compreender melhor essa resposta, nós decidimos realizar outra análise (i.e., calcular a variação entre os momentos pré- e pós-intervenção para cada grupo e então comparar essas variações). Dessa forma, a figura 9B apresenta que ambos os grupos submetidos ao HIIT exibiram variação similar na razão e os dois grupos foram diferentes do NT (melhoraram a eficiência termorregulatória), após as 2 semanas de intervenção ( $F = 10,49$ ;  $p < 0,001$ ).

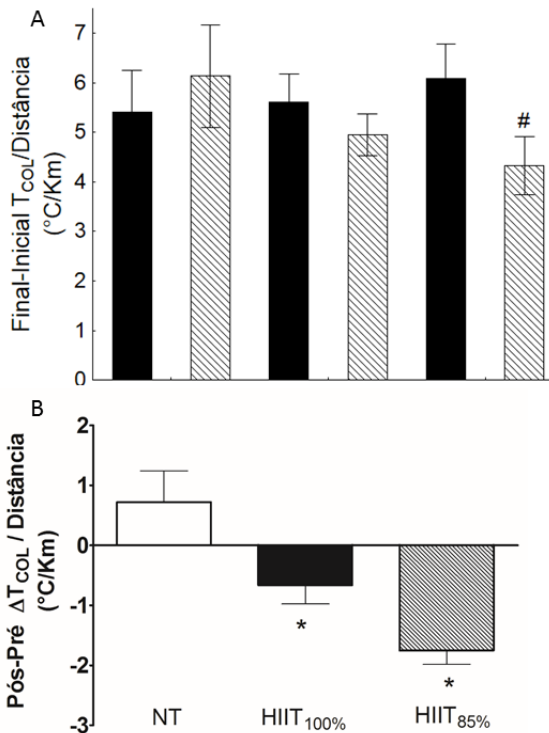


Figura 9. Razão entre a variação da temperatura colônica e a distância percorrida (°C/Km) durante os exercícios incrementais até a fadiga no calor (32°C), realizados nos momentos pré- e pós-intervenção (A). Diferença na razão para cada grupo entre os dois momentos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  EPM # denota diferença em relação ao momento pré intervenção ( $p < 0,05$ ). \* denota diferença em relação ao NT ( $p < 0,05$ ). HIIT<sub>100%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a

100% da velocidade máxima; HIIT<sub>85%</sub>: treinamento intervalado de alta intensidade a 85% da velocidade máxima; NT: não treinado. T<sub>COL</sub>: temperatura colônica.

### 3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 2

#### 3.2.1 Temperatura ambiente e massa corporal

A tabela 5 apresenta os valores de temperatura ambiente (°C) e de massa corporal (g), medidas durante o exercício incremental até a fadiga no calor, antes e após o período de intervenção para o delineamento 2. Não houve diferença estatística entre os grupos na variável de temperatura ambiente pré- ( $F_{\text{GRUPO} \times \text{AMBIENTE}}$ : 0,60,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 4,93,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 1,52,  $p > 0,05$ ) e pós-intervenção ( $F_{\text{GRUPO} \times \text{AMBIENTE}}$ : 0,69,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 1,03,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 1,00,  $p > 0,05$ ), assim como na massa corporal pré- ( $F_{\text{GRUPO} \times \text{AMBIENTE}}$ : 0,00,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 0,92,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 0,81,  $p > 0,05$ ) e pós-intervenção ( $F_{\text{GRUPO} \times \text{AMBIENTE}}$ : 0,22,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 1,50,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 0,51,  $p > 0,05$ ).

Tabela 5. Temperatura ambiente (°C) e massa corporal (g), medidas nos exercícios incrementais até a fadiga no calor, antes e após as intervenções de 2 semanas, para todos os grupos.

Grupos	T <sub>AMB</sub> Pré	T <sub>AMB</sub> Pós	MC Pré	MC Pós
HIIT <sub>32°C</sub>	32,15 ± 0,06	32,12 ± 0,05	274,7 ± 8,5	322,7 ± 9,3
HIIT <sub>24°C</sub>	31,99 ± 0,04	32,02 ± 0,05	285,1 ± 15,3	342,8 ± 15,2
NT <sub>32°C</sub>	32,08 ± 0,06	32,30 ± 0,06	265,2 ± 5,5	319,8 ± 9,3
NT <sub>24°C</sub>	32,09 ± 0,05	31,98 ± 0,08	275,3 ± 11,4	328,7 ± 13,1

Legenda: HIIT<sub>32°C</sub>: grupo treinamento intervalado no ambiente de 32°C; HIIT<sub>24°C</sub>: grupo treinamento intervalado no ambiente de 24°C; NT<sub>32°C</sub>:

grupo não treinado exposto ao ambiente de 32°C; NT<sub>24°C</sub>: grupo não treinado exposto ao ambiente de 24°C. T<sub>AMB</sub>: temperatura ambiente. MC: massa corporal. Os dados estão expressos em média ± EPM. A média da temperatura ambiente foi calculada a partir de dados coletados a cada minuto durante o exercício ou exposição passiva ao calor.

### **3.2.2 Valores das variáveis termorregulatórias, de desempenho aeróbio no momento pré-intervenção.**

A tabela 6 mostra que nenhuma variável termorregulatória e de desempenho estudada apresentou diferenças significativas entre os diferentes grupos no momento pré-intervenção.



Tabela 6. Variáveis de desempenho aeróbico e termorregulatórias durante o exercício incremental até a fadiga voluntária em ambiente quente, realizado antes do período de intervenção.

Grupos	Exercício Incremental Pré									
	NT <sub>24°C</sub>	NT <sub>32°C</sub>	HIIT <sub>24°C</sub>	HIIT <sub>32°C</sub>	F <sub>INTER</sub>	P <sub>INTER</sub>	F <sub>GR</sub>	P <sub>GR</sub>	F <sub>AMB</sub>	P <sub>AMB</sub>
<b>Carga Trabalho (J)</b>	198,8	188,9	179,	188,9						
<b>EPM</b>	12,8	12,3	10,91	7,6	0,78	0,38	0,77	0,38	0,00	0,98
<b>T<sub>COL</sub> Inicial (°C)</b>	36,82	36,77	37,06	37,03						
<b>EPM</b>	0,07	0,16	0,20	0,10	0,00	0,95	2,95	0,09	0,04	0,82
<b>T<sub>COL</sub> Fadiga (°C)</b>	41,72	41,70	41,61	41,74						
<b>EPM</b>	0,16	0,14	0,15	0,12	0,29	0,59	0,06	0,80	0,14	0,70
<b>Δ T<sub>COL</sub> (°C)</b>	4,90	4,92	4,55	4,70						
<b>EPM</b>	0,21	0,19	0,17	0,14	0,15	0,70	2,44	0,12	0,23	0,63
<b>T<sub>PELE</sub> Fadiga (°C)</b>	36,33	35,97	36,81	35,61	1,00					
<b>EPM</b>	0,20	0,45	0,57	0,35		0,32	0,01	0,89	3,49	0,07
<b>VO2 (ml/min/kg<sup>0,75</sup>)</b>	52,66	53,62	53,18	52,49	0,15					
<b>EPM</b>	1,85	2,00	2,01	2,33		0,69	0,02	0,88	0,00	0,95
<b>Taxa Distância (°C/Km)</b>	5,94	6,05	6,24	6,10	0,07					
<b>EPM</b>	0,47	0,44	0,41	0,42		0,78	0,14	0,70	0,00	0,97

Legenda: Os dados estão expressos como média ± EPM. HIIT<sub>32°C</sub>: grupo treinamento intervalado no ambiente de 32°C; HIIT<sub>24°C</sub>: grupo treinamento intervalado no ambiente de 24°C; NT<sub>32°C</sub>: grupo não treinado exposto ao ambiente de 32°C; NT<sub>24°C</sub>: grupo não treinado exposto ao ambiente de 24°C.

### 3.2.3 Variáveis de desempenho aeróbico e termorregulatórias após período de intervenção

#### 3.2.3.1 Exercício incremental até a fadiga no calor

Após o período de 2 semanas de intervenção, as mesmas variáveis foram estudadas e plotadas nas figuras que serão apresentadas abaixo. Para o estudo de possíveis respostas relacionadas com a aclimação ao calor durante o exercício, foram utilizadas duas formas de exercício: incremental até a fadiga voluntária (Figuras 10, 11, 12 e 13) e exercício com velocidade constante (17 m/min) e duração pré-estabelecida em 30 min para

todos os grupos (Figuras 15, 16 e 17). Os dois protocolos de exercício foram realizados em ambiente quente (32°C). Além disso, para analisar a eficiência mecânica durante o exercício no calor, os animais foram expostos a outro exercício com velocidade constante (15 m/min) durante 15 min, dentro de uma esteira que possibilitou a mensuração do consumo de oxigênio (Figura 14).

A figura 10 apresenta a carga de trabalho após o período de 2 semanas de intervenção. Os grupos treinados apresentaram maiores cargas de trabalho do que os grupos sedentários, independente do ambiente ao qual foram expostos durante a intervenção ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}$ : 0,95  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 35,33,  $p < 0,001$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 0,71,  $p > 0,05$ ) (NT<sub>24°C</sub>: 202,62 ± 17,11 J; NT<sub>32°C</sub>: 174,06 ± 16,36 J; HIIT<sub>24°C</sub>: 280,29 ± 20,35 J; HIIT<sub>32°C</sub>: 282,37 ± 8,96 J).

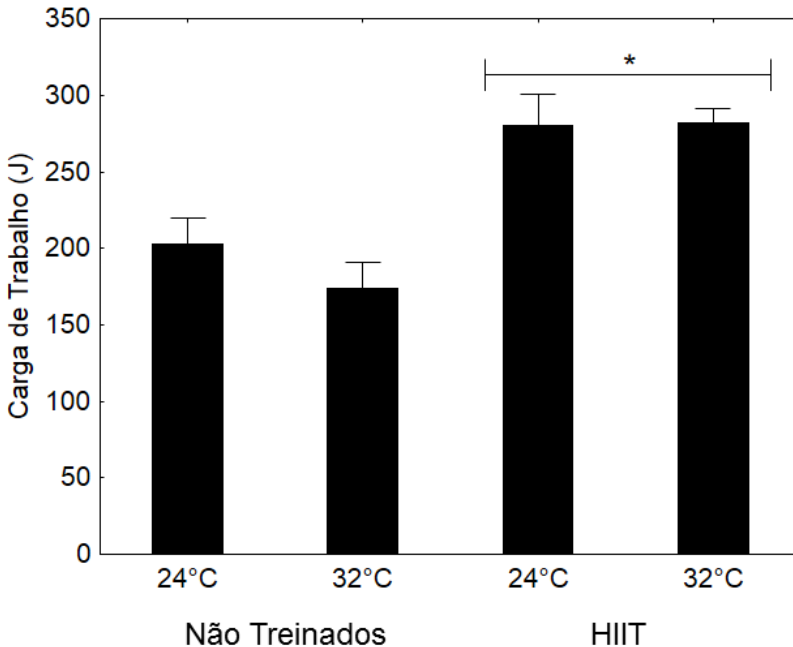


Figura 10. Carga de trabalho (J) durante o exercício incremental em ambiente quente (32°C) até fadiga, realizado após as 2 semanas de intervenção. \* denota diferença significativa em relação aos grupos não treinados ( $p < 0,001$ ). HIIT: do inglês, Treinamento intervalado de alta intensidade.

A figura 11 apresenta os valores de  $T_{COL}$  e  $T_{PELE}$  ao longo do exercício incremental no calor, após o período de intervenção. A Figura 10A apresenta que os valores de  $T_{COL}$  aumentaram continuamente durante todo o exercício incremental para todos os grupos ( $p < 0,001$ ). No entanto, no momento da fadiga, os grupos que treinaram apresentaram maiores valores de  $T_{COL}$  quando comparados aos grupos sedentários ( $F_{GRUPO \times MOMENTO}$ : 6,60,  $p < 0,001$ ). Em relação à figura 11B, observou-se maiores valores da  $T_{PELE}$  durante todo o tempo de exercício nos grupos que foram expostos ao ambiente de  $32^{\circ}C$ , independentemente do status de treinamento ( $F_{AMBIENTE}$ : 4,93,  $p < 0,05$ ). Além disso, todos os grupos tiveram aumentos contínuos até a fadiga ( $F_{MOMENTO}$ : 119,57,  $p < 0,001$ ).

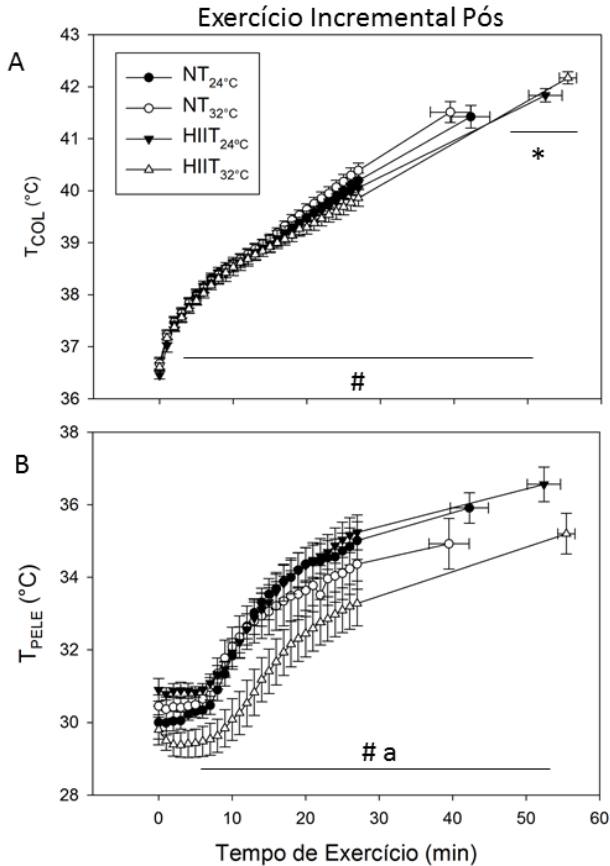


Figura 11. Temperatura colônica (A) e da pele da cauda (B) durante o exercício incremental até a fadiga no calor, após período de intervenção. Os dados estão expressos em média  $\pm$  EPM. # denota diferença em relação ao momento pré-exercício (tempo zero;  $p < 0,05$ ). \* denota diferença em relação aos grupos não treinados no mesmo momento ( $p < 0,05$ ). a denota diferença significativa entre os grupos do ambiente calor e temperado ( $p < 0,05$ ). NT<sub>24°C</sub>: Grupo não treinado; NT<sub>32°C</sub>: grupo não treinado e exposto ao ambiente de 32°C; HIIT<sub>24°C</sub>: grupo exposto ao treinamento intervalado de alta intensidade; HIIT<sub>32°C</sub>: grupo exposto ao treinamento intervalado de alta intensidade e ao ambiente de 32°C.

Para melhor compreensão das respostas termorregulatórias durante o exercício incremental no calor, os valores de temperatura foram avaliados no início e na fadiga (Fig.

12). A figura 12A apresenta similaridade nas respostas da  $T_{COL}$  inicial entre os grupos ( $F_{INTERAÇÃO}$ : 0,55,  $p > 0,05$ ;  $F_{GRUPO}$ : 1,94,  $p > 0,05$ ;  $F_{AMBIENTE}$ : 0,57,  $p > 0,05$ ) ( $NT_{24°C}$ :  $36,6 \pm 0,1$  °C;  $NT_{32°C}$ :  $36,6 \pm 0,1$  °C;  $HIIT_{24°C}$ :  $36,4 \pm 0,0$  °C;  $HIIT_{32°C}$ :  $36,6 \pm 0,0$  °C). Além disso, no momento da fadiga, a  $T_{COL}$  (Fig. 12B) apresentou maiores valores nos grupos treinados quando comparados aos grupos não treinados, independente do ambiente ao qual os ratos foram expostos ( $F_{INTERAÇÃO}$ : 0,47,  $p > 0,05$ ;  $F_{GRUPO}$ : 8,97,  $p < 0,05$ ;  $F_{AMBIENTE}$ : 1,41,  $p > 0,05$ ) ( $NT_{24°C}$ :  $41,42 \pm 0,23$  °C;  $NT_{32°C}$ :  $41,51 \pm 0,21$  °C;  $HIIT_{24°C}$ :  $41,83 \pm 0,13$  °C;  $HIIT_{32°C}$ :  $42,17 \pm 0,12$  °C). Da mesma forma, os valores de delta da  $T_{COL}$  (final – inicial) também apresentaram maiores valores nos grupos treinados (Fig. 12C;  $F_{INTERAÇÃO}$ : 0,057,  $p > 0,05$ ;  $F_{GRUPO}$ : 11,37,  $p < 0,05$ ;  $F_{AMBIENTE}$ : 0,46,  $p > 0,05$ ). A figura 12D mostra que os grupos que foram expostos ao ambiente quente tiveram menores valores da  $T_{PELE}$  no momento da fadiga, independente do status de treinamento ( $F_{INTERAÇÃO}$ : 0,10,  $p > 0,05$ ;  $F_{GRUPO}$ : 0,61,  $p > 0,05$ ;  $F_{AMBIENTE}$ : 3,95,  $p = 0,05$ ) ( $NT_{24°C}$ :  $35,91 \pm 0,45$ °C;  $NT_{32°C}$ :  $34,92 \pm 0,74$ °C;  $HIIT_{24°C}$ :  $36,56 \pm 0,51$ °C;  $HIIT_{32°C}$ :  $35,20 \pm 0,58$ °C).

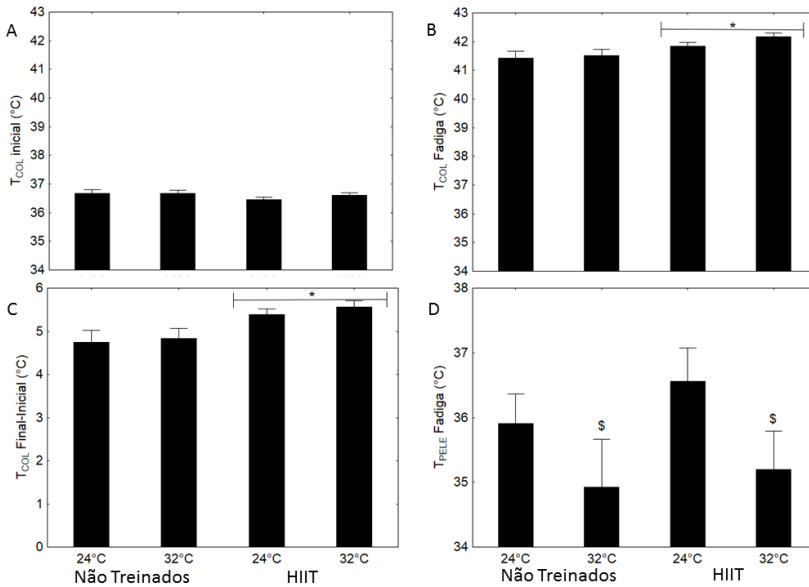


Figura 12. Temperaturas corporais ( $^{\circ}\text{C}$ ) durante o exercício incremental em ambiente quente ( $32^{\circ}\text{C}$ ) até fadiga, após as intervenções de 2 semanas. Os valores de  $T_{\text{COL}}$  no início (A), no momento da fadiga (B) e sua variação ao longo do exercício (C), além da  $T_{\text{PELE}}$  na fadiga (D), foram plotados. Os dados estão expressos em média  $\pm$  EPM. \* denota diferença significativa em relação aos grupos não treinados ( $p < 0,05$ ); \$ denota diferença significativa em relação aos grupos que foram expostos ao ambiente de  $24^{\circ}\text{C}$  ( $p = 0,05$ ).  $T_{\text{COL}}$ : temperatura colônica;  $T_{\text{PELE}}$ : temperatura da pele da cauda; HIIT: do inglês, Treinamento intervalado de alta intensidade.

Para melhor compreender as relações entre o desempenho aeróbio e a regulação térmica, foi calculada a razão entre a variação da  $T_{\text{COL}}$  (em  $^{\circ}\text{C}$ ) dividida pela distância total percorrida (em km; Fig. 13). A figura 13A mostra uma redução dessa razão nos grupos treinados ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}$ : 2,27,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 12,05,  $p < 0,001$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 0,50,  $p > 0,05$ ) ( $\text{NT}_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $6,79 \pm 0,57^{\circ}\text{C}/\text{km}$ ;  $\text{NT}_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $7,85 \pm 0,53^{\circ}\text{C}/\text{km}$ ;  $\text{HIIT}_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $5,84 \pm 0,56^{\circ}\text{C}/\text{km}$ ;  $\text{HIIT}_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $5,46 \pm 0,24^{\circ}\text{C}/\text{km}$ ); este resultado significa que os ratos treinados apresentaram maior eficiência termorregulatória. Somado a isso, a figura 13B também apresenta redução dessa variável quando os valores medidos no pós-exercício foram subtraídos dos valores pré-intervenção ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}$ : 1,35,  $p > 0,05$ ;

$F_{\text{GRUPO}}$ : 12,60,  $p < 0,001$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 0,47,  $p > 0,05$ ) ( $NT_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $0,84 \pm 0,48^{\circ}\text{C}$ ;  $NT_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $1,80 \pm 0,53^{\circ}\text{C}$ ;  $HIIT_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $-0,39 \pm 0,60^{\circ}\text{C}$ ;  $HIIT_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $-0,63 \pm 0,44^{\circ}\text{C}$ ). Além disso, esses dados representam correlação inversa com os dados de carga de trabalho no mesmo exercício ( $r = -0,79$ ;  $p < 0,05$ ). Ou seja, as maiores cargas de trabalho atingidas estão relacionadas com os menores valores da variável de  $\Delta T_{\text{COL}}/\text{Km}$  (que representa maior eficiência termorregulatória).

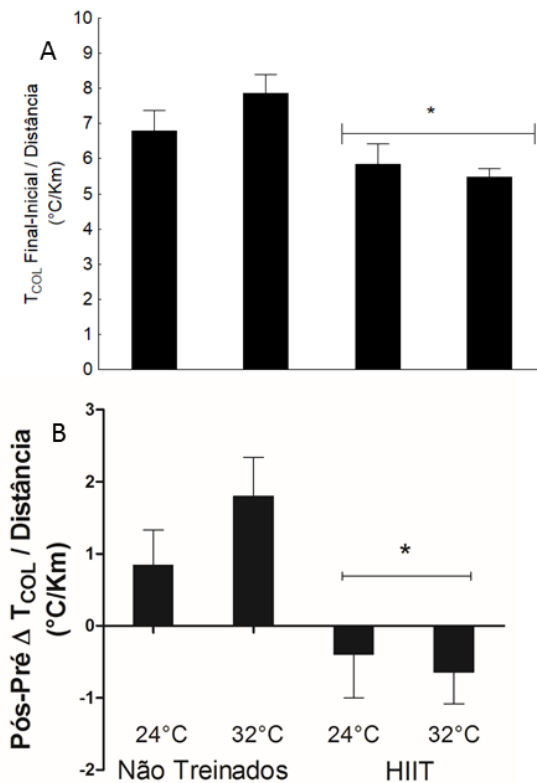


Figura 13. Razão entre a variação da temperatura colônica e a distância percorrida pelos ratos ( $^{\circ}\text{C}/\text{Km}$ ) durante o exercício incremental até a fadiga voluntária, realizado no ambiente quente. Valores após período de intervenção (A) e valores das alterações induzidas pela intervenção (pré – pós; B). Os dados estão expressos em média  $\pm$  EPM. \* denota diferença significativa em relação aos grupos não treinados ( $p < 0,001$ ).  $T_{\text{COL}}$ : temperatura colônica.

Para determinar a eficiência mecânica, e também a produção indireta de calor, foi mensurado o consumo de oxigênio durante 15 min de exercício de velocidade constante (15 m/min). A figura 14 apresenta os valores de  $VO_2$  nos 3 min finais do teste, após estabilização do mesmo. Pode-se observar que os grupos treinados apresentaram menores valores de  $VO_2$  quando comparados aos não treinados ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}$ : 3,61,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 11,23,  $p < 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 0,27,  $p > 0,05$ ) ( $NT_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $50,36 \pm 0,99$  ml/min/kg<sup>0,75</sup>;  $NT_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $51,87 \pm 0,97$  ml/min/kg<sup>0,75</sup>;  $HIIT_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $48,77 \pm 1,31$  ml/min/kg<sup>0,75</sup>;  $HIIT_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $46,11 \pm 1,06$  ml/min/kg<sup>0,75</sup>). A eficiência mecânica apresenta que os grupos treinados tiveram maiores valores da mesma, após o período de intervenção ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}$ : 3,48,  $p = 0,07$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 14,60,  $p < 0,001$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 0,02,  $p > 0,05$ ) ( $NT_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $0,93 \pm 0,02$  %;  $NT_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $0,89 \pm 0,01$  %;  $HIIT_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $0,98 \pm 0,03$  %;  $HIIT_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $1,03 \pm 0,02$  %).



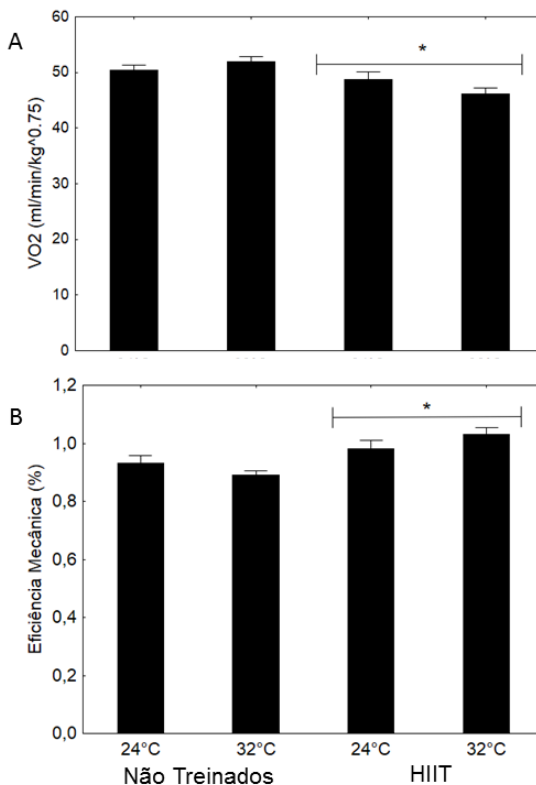


Figura 14. VO<sub>2</sub> (ml/min/kg<sup>0,75</sup>) nos 3 minutos finais do exercício de velocidade constante (15 m/min) e tempo fixo (15 min; A) no ambiente quente (32°C) e eficiência mecânica (%; B), após as 2 semanas de intervenção. Os dados estão expressos em média ± EPM. \* denota diferença significativa em relação aos grupos não treinados (p < 0,05). VO<sub>2</sub>: volume de oxigênio consumido.

### 3.2.3.2 Exercício constante e submáximo no calor

Além do exercício incremental até a fadiga, também foi realizado um exercício com velocidade constante e submáxima (17 m/min) durante 30 min no ambiente quente (32°C), para avaliação das respostas termorregulatórias. A padronização da

intensidade foi dada pela carga de trabalho fixa, garantindo que os parâmetros fisiológicos medidos não eram influenciados pela intensidade do exercício. A carga de trabalho realizada pelos animais dos quatro grupos foi semelhante durante esse protocolo de exercício ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}$ : 0,24,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 0,53,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 1,54,  $p > 0,05$ ) ( $NT_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $142,9 \pm 5,7$  J;  $NT_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $139,0 \pm 4,0$  J;  $HIIT_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $149,2 \pm 6,6$  J;  $HIIT_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $140,3 \pm 4,0$  J).

A figura 15 apresenta os valores de lactato sanguíneo logo após o fim do exercício contínuo e submáximo no calor. Os grupos que foram expostos ao ambiente de  $32^{\circ}\text{C}$  apresentaram valores significativamente menores do que os grupos expostos ao ambiente de  $24^{\circ}\text{C}$  ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}$ : 0,39,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 0,50,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 7,36  $p < 0,05$ ) ( $NT_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $3,89 \pm 0,38$  mmol/L;  $NT_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $2,92 \pm 0,23$  mmol/L;  $HIIT_{24^{\circ}\text{C}}$ :  $3,50 \pm 0,25$  mmol/L;  $HIIT_{32^{\circ}\text{C}}$ :  $2,90 \pm 0,26$  mmol/L). Vale ressaltar que o status de treinamento não interferiu no aumento de lactato induzido pelo exercício contínuo, submáximo e com mesma carga de trabalho.

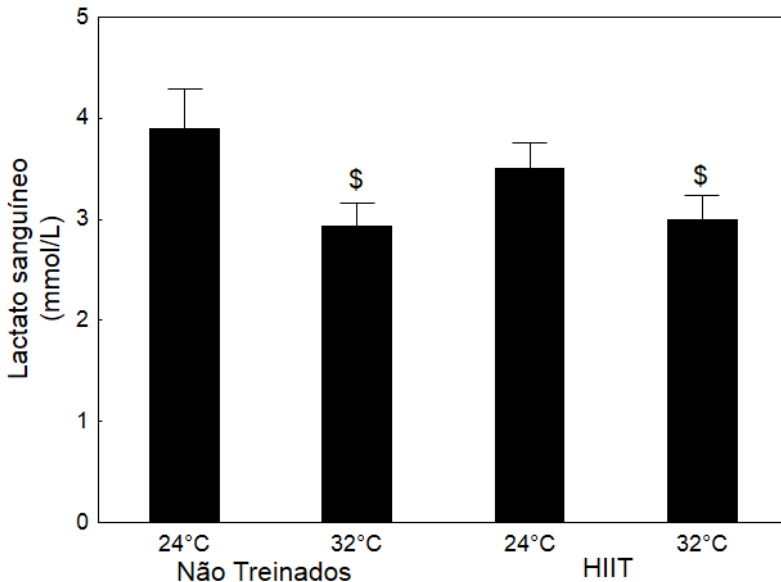


Figura 15. Lactato sanguíneo ( $\text{mmol/L}^{-1}$ ) medido logo após o fim do exercício contínuo e submáximo no ambiente de  $32^{\circ}\text{C}$ . Os dados estão expressos em média  $\pm$  EPM. \$ diferença significativa em relação aos grupos que foram expostos ao ambiente de  $24^{\circ}\text{C}$  ( $p < 0,05$ ).

As respostas termorregulatórias ao longo de todo o protocolo desse exercício estão representadas na figura 16. A figura 16A indica que a  $T_{COL}$  apresentou aumentos mais abrupto nos primeiros 9 primeiros minutos de exercício, para os grupos treinados. Já os grupos não treinados, tiveram aumentos contínuos, no entanto mais lentos do que os grupos treinados ( $F_{GRUPO \times AMBIENTE \times MOMENTO}$ : 0,14,  $p > 0,05$ ;  $F_{GRUPO \times MOMENTO}$ : 6,83,  $p < 0,001$ ;  $F_{AMBIENTE \times MOMENTO}$ : 0,37,  $p > 0,05$ ;  $F_{GRUPO \times AMBIENTE}$ : 0,69,  $p > 0,05$ ). Em relação à  $T_{PELE}$ , observou-se aumento contínuo para todos os grupos (figura 16B;  $F_{GRUPO \times AMBIENTE \times MOMENTO}$ : 0,71,  $p > 0,05$ ;  $F_{GRUPO \times MOMENTO}$ : 0,23,  $p > 0,05$ ;  $F_{AMBIENTE \times MOMENTO}$ : 0,20,  $p > 0,05$ ;  $F_{GRUPO \times AMBIENTE}$ : 0,02,  $p > 0,05$ ;  $F_{MOMENTO}$ : 83,22,  $p < 0,001$ ).

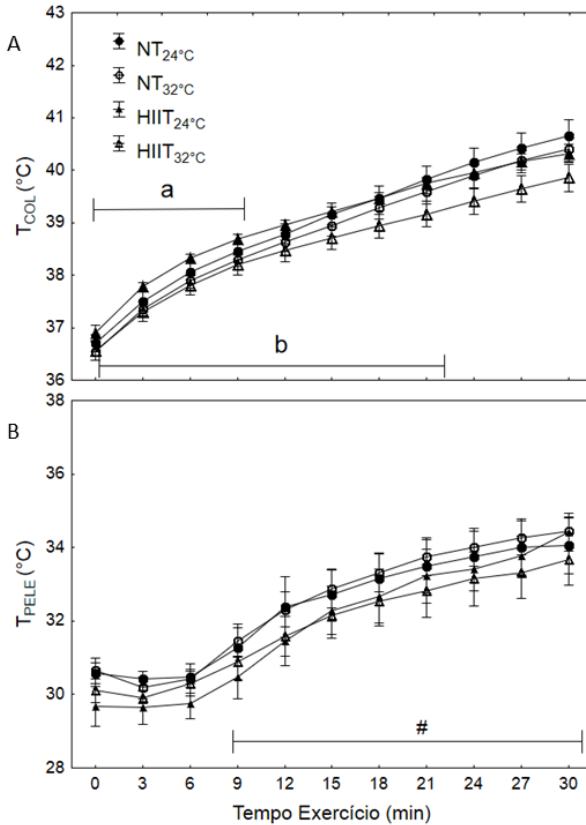


Figura 16. T<sub>COL</sub> (A) e da T<sub>PELE</sub> (B) durante o exercício submáximo e contínuo no ambiente quente (32°C). Os dados estão expressos em média ± EPM. a denota diferença significativa em relação ao momento prévio de exercício para os grupos HIIT ( $p < 0,05$ ). b denota diferença significativa em relação ao momento prévio de exercício para os grupos não treinados ( $p < 0,05$ ). # denota diferença significativa em relação ao tempo zero (pré-exercício) para todos os grupos. T<sub>COL</sub>: temperatura colônica; T<sub>PELE</sub>: temperatura da pele da cauda.

Para melhor compreensão dessas repostas, foram extraídos os valores de T<sub>COL</sub> no início do exercício (Fig. 17 A), ao final do exercício (Fig. 17 B), da variação ao longo do exercício (Fig. 17 C) e da T<sub>PELE</sub> ao final do exercício (Fig. 17 D). Em relação à T<sub>COL</sub> inicial, não foram encontrados efeitos principais de grupo e ambiente e nem interação entre os dois fatores. ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}$ : 0,25,

$p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}: 0,45$ ,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}: 2,04$ ,  $p > 0,05$ ) ( $NT_{24^{\circ}\text{C}}: 36,70 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$ ;  $NT_{32^{\circ}\text{C}}: 36,54 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$ ;  $HIIT_{24^{\circ}\text{C}}: 36,90 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$ ;  $HIIT_{32^{\circ}\text{C}}: 36,57 \pm 0,20^{\circ}\text{C}$ ). Resultados semelhantes foram observados para a  $T_{\text{COL}}$  ao final do exercício ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}: 0,28$ ,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}: 3,43$ ,  $p = 0,07$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}: 2,22$ ,  $p > 0,05$ ). No entanto, vale ressaltar que houve uma tendência de diminuição da  $T_{\text{COL}}$  ao final do exercício para os grupos treinados ( $p = 0,07$ ) ( $NT_{24^{\circ}\text{C}}: 40,65 \pm 0,30^{\circ}\text{C}$ ;  $NT_{32^{\circ}\text{C}}: 40,40 \pm 0,24^{\circ}\text{C}$ ;  $HIIT_{24^{\circ}\text{C}}: 40,31 \pm 0,17^{\circ}\text{C}$ ;  $HIIT_{32^{\circ}\text{C}}: 39,78 \pm 0,29^{\circ}\text{C}$ ). Quando observada a variação da  $T_{\text{COL}}$ , identificou-se um menor aumento da mesma ao longo do exercício nos grupos que treinaram ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}: 0,04$ ,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}: 6,56$ ,  $p < 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}: 0,37$ ,  $p > 0,05$ ) ( $NT_{24^{\circ}\text{C}}: 3,95 \pm 0,31^{\circ}\text{C}$ ;  $NT_{32^{\circ}\text{C}}: 3,86 \pm 0,20^{\circ}\text{C}$ ;  $HIIT_{24^{\circ}\text{C}}: 3,40 \pm 0,22^{\circ}\text{C}$ ;  $HIIT_{32^{\circ}\text{C}}: 3,21 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$ ). A análise da  $T_{\text{PELE}}$  ao final do exercício constante e submáximo no ambiente de  $32^{\circ}\text{C}$  não indicou a existência de efeitos principais de grupo e ambiente e nem interação entre os dois fatores ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}: 1,19$ ,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}: 0,26$ ,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}: 0,22$ ,  $p > 0,05$ ) ( $NT_{24^{\circ}\text{C}}: 34,05 \pm 0,75^{\circ}\text{C}$ ;  $NT_{32^{\circ}\text{C}}: 34,43 \pm 0,39^{\circ}\text{C}$ ;  $HIIT_{24^{\circ}\text{C}}: 34,41 \pm 0,51^{\circ}\text{C}$ ;  $HIIT_{32^{\circ}\text{C}}: 33,43 \pm 0,75^{\circ}\text{C}$ ).

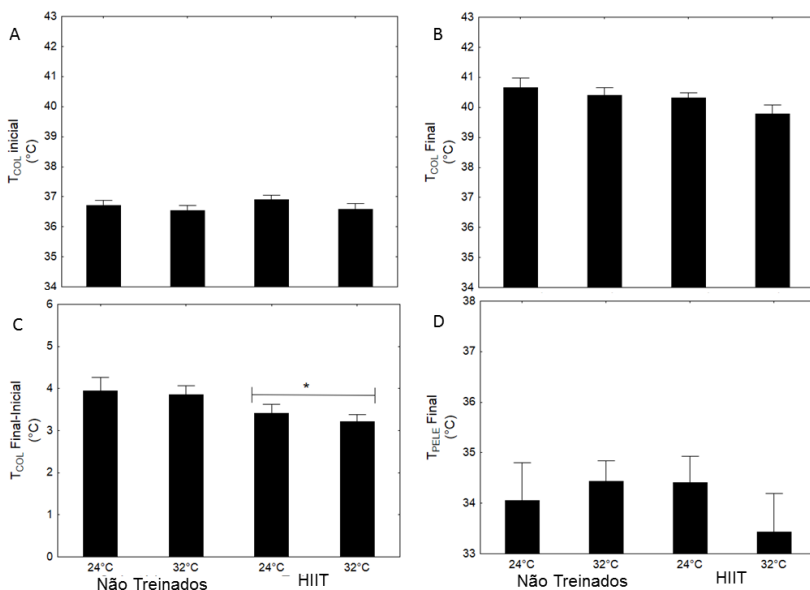


Figura 17. Temperaturas corporais ( $^{\circ}\text{C}$ ) durante o exercício submáximo e contínuo no ambiente quente ( $32^{\circ}\text{C}$ ), após as 2 semanas de intervenção.

Valores de  $T_{COL}$  no início (A), ao final (B) e sua variação ao longo do exercício (C), além da  $T_{PELE}$  ao final do exercício (D). Os dados estão expressos em média  $\pm$  EPM. \* denota diferença significativa em relação aos grupos não treinados ( $p < 0,05$ ).  $T_{COL}$ : temperatura colônica;  $T_{PELE}$ : temperatura da pele da cauda.

Para melhor compreensão das respostas termorregulatórias induzidas pelo exercício contínuo realizado a uma mesma carga de trabalho no calor, também foi calculado a razão entre a variação da  $T_{COL}$  dividida pela distância percorrida (em  $^{\circ}C/km$ ). Conforme os resultados apresentados na figura 18, os grupos treinados tiveram menores valores dessa razão (ou seja, apresentaram maiores eficiência termorregulatória) quando comparados aos não treinados ( $F_{INTERAÇÃO}: 0,04$ ,  $p > 0,05$ ;  $F_{GRUPO}: 6,56$ ,  $p < 0,05$ ;  $F_{AMBIENTE}: 0,37$ ,  $p > 0,05$ ) ( $NT_{24^{\circ}C}: 7,75 \pm 0,60^{\circ}C/km$ ;  $NT_{32^{\circ}C}: 7,57 \pm 0,40^{\circ}C/km$ ;  $HIIT_{24^{\circ}C}: 6,67 \pm 0,43^{\circ}C/km$ ;  $HIIT_{32^{\circ}C}: 6,29 \pm 0,33^{\circ}C/km$ ). Na mesma direção, o acúmulo de calor também foi menor no exercício submáximo e contínuo no ambiente quente, somente para os grupos que treinaram.

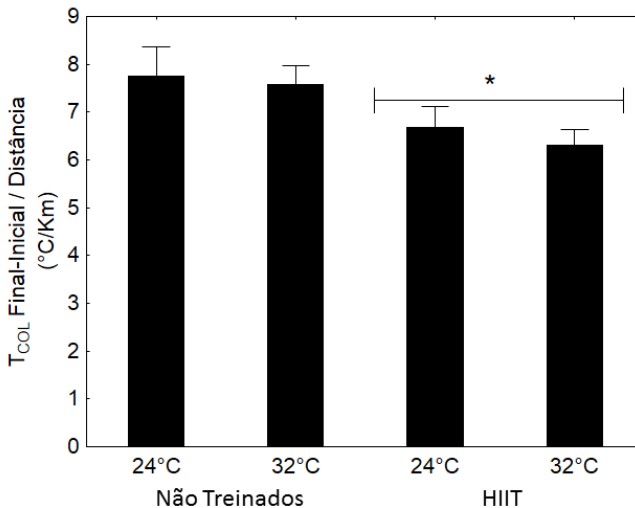


Figura 18. A razão entre a variação da  $T_{COL}$  pela distância percorrida ( $^{\circ}C/km$ ) durante o exercício submáximo e contínuo no ambiente quente ( $32^{\circ}C$ ), após as 2 semanas de intervenção. Os dados estão expressos

em média  $\pm$  EPM. \* denota diferença significativa em relação aos grupos não treinados ( $p < 0,05$ ). T<sub>COL</sub>: temperatura colônica.

### 3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 3

#### 3.3.1 Massa corporal e massa total do tecido adiposo

No delineamento 3, os animais foram expostos ao mesmo protocolo de treinamento intervalados de alta intensidade ou à mesma exposição ao calor que os animais pertencentes ao delineamento 2. Quarenta e oito horas após a última sessão das intervenções, os ratos foram sacrificados e foi realizada a remoção do músculo sóleo para análises futuras. Esses grupos não apresentaram diferenças em relação à massa corporal antes do período de intervenção ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}: 0,17, p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}: 0,87 p > 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}: 3,70, p = 0,06$ ) (NT<sub>24°C</sub>: 243,80  $\pm$  12,42 g; NT<sub>32°C</sub>: 255,50  $\pm$  5,20 g; HIIT<sub>24°C</sub>: 247,83  $\pm$  6,61 g; HIIT<sub>32°C</sub>: 266,00  $\pm$  6,65 g). A tabela 7 apresenta os valores médios da massa corporal, da massa total de tecido adiposo (g) e da porcentagem de tecido adiposo corporal após o período de 2 semanas de intervenção. Como observado na tabela, os valores de massa corporal (g), de massa total do tecido adiposo (g) e de porcentagem do tecido adiposo corporal, após período de intervenção, não se diferiram entre os grupos.

Tabela 7. Massa corporal (°C), massa de tecido adiposo total (g) e tecido adiposo corporal (%) 48h após as intervenções de 2 semanas, para todos os grupos.

<b>Grupos</b>	<b>NT<sub>24°C</sub></b>	<b>NT<sub>32°</sub></b>	<b>HIIT<sub>24°</sub></b>	<b>HIIT<sub>32°</sub></b>	<b>F<sub>INTE</sub></b>	<b>P<sub>INTE</sub></b>	<b>F<sub>GR</sub></b>	<b>P<sub>GR</sub></b>	<b>F<sub>AM</sub></b>	<b>P<sub>AMB</sub></b>
		C	C	C	R	R			B	
<b>MC (g)</b>	297,2	310,3	301,5	323,0						
<b>EPM</b>	16,6	6,8	11,5	5,7	0,15	0,69	0,6 5	0,4 2	2,73	0,11
<b>TAT (g)</b>	11,90	13,09	11,10	13,57						
<b>EPM</b>	1,08	1,16	0,85	0,83	0,39	0,53	0,0 2	0,8 7	3,27	0,08
<b>TAT corpora l (%)</b>	26,54	24,40	27,66	24,21						
					0,13	0,72	0,0 6	0,8	2,36	0,14

Legenda: TR<sub>32°C</sub>: grupo treinamento no ambiente de 32°C; TR<sub>24°C</sub>: grupo treinamento no ambiente de 24°C; SED<sub>32°C</sub>: grupo sedentário e exposto ao ambiente de 32°C; SED<sub>24°C</sub>: grupo sedentário e controle. MC: massa corporal; EPM: erro padrão da média; TAT: tecido adiposo total; INTER: interação; GR: grupo; AMB: ambiente



### 3.3.2 Expressão do RNAm da HSP70 e da PGC-1 $\alpha$

Quarente e oito horas após o término das intervenções, também foi avaliada uma possível adaptação fenotípica muscular, caracterizada pela expressão de dois genes: HSP70 e PGC-1 $\alpha$ . Esses resultados podem ser observados na figura 19.

A figura 19A apresenta os valores médios da expressão gênica da HSP70, 48 h após a última sessão de intervenção para todos os grupos. Observa-se que os grupos expostos ao ambiente de 32°C tiveram menores valores de RNAm desse gene, independentemente do status de treinamento ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}$ : 0,01,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 0,39  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 5,78,  $p < 0,05$ ) (NT<sub>24°C</sub>: 8,3  $\pm$  3,0 U.A.; NT<sub>32°C</sub>: 2,3  $\pm$  2,2 U.A.; HIIT<sub>24°C</sub>: 6,6  $\pm$  3,5 U.A.; HIIT<sub>32°C</sub>: 1,0  $\pm$  0,9 U.A.). A figura 19B mostra que os grupos que treinaram tiveram maiores expressões de RNAm da PGC-1 $\alpha$ , 48 h após a última intervenção, do que os ratos que não treinaram, independentemente do ambiente ao qual foram expostos ( $F_{\text{INTERAÇÃO}}$ : 1,04,  $p > 0,05$ ;  $F_{\text{GRUPO}}$ : 10,80  $p < 0,05$ ;  $F_{\text{AMBIENTE}}$ : 3,75,  $p = 0,06$ ) (NT<sub>24°C</sub>: 2,7  $\pm$  0,3 U.A.; NT<sub>32°C</sub>: 2,3  $\pm$  0,2 U.A.; HIIT<sub>24°C</sub>: 4,5  $\pm$  0,4 U.A.; HIIT<sub>32°C</sub>: 3,2  $\pm$  0,4 U.A.). Como o fator ambiente demonstrou uma tendência de efeito para esse gene, foi realizado teste T de amostras independentes para comparação direta entre os grupos. O teste T somente demonstrou efeito, mais uma vez, entre o grupo treinado vs. não treinado (NT<sub>24°C</sub> vs. HIIT<sub>24°C</sub>: t-valor: -3,01,  $p < 0,05$ ; e NT<sub>24°C</sub> vs. NT<sub>32°C</sub>: t-valor:0,82;  $p > 0,05$ ).

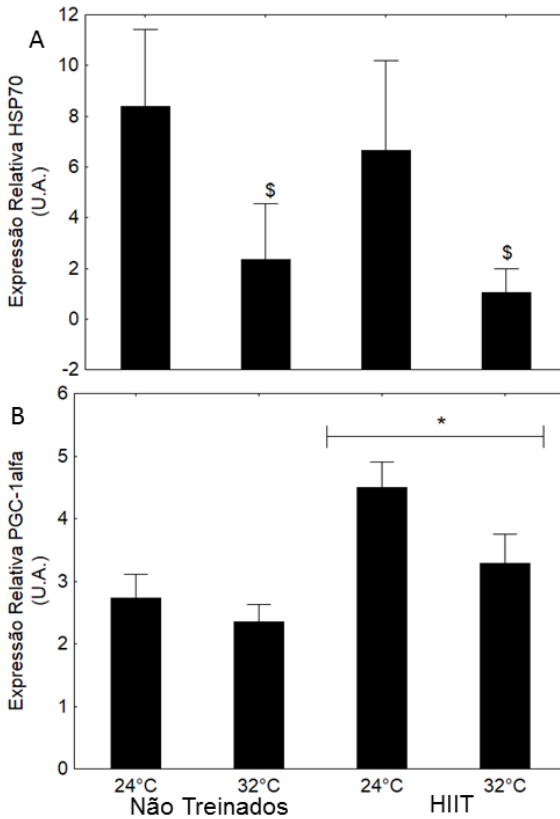


Figura 19. Expressão relativa dos RNAm dos genes HSP70 (A) e do PGC-1 $\alpha$  (B), 48 horas após a última sessão de intervenção. Os dados estão expressos em média  $\pm$  EPM. \* denota diferença significativa em relação aos grupos não treinados ( $p < 0,05$ ); § denota diferença estatística em relação aos grupos expostos ao ambiente de 24°C ( $p < 0,05$ ). Os dados da fig. 18A foram multiplicados por 100 e os da fig. 10B foram multiplicados por 1000, para melhorar a visualização.

## 4 DISCUSSÃO

Nessa seção, foram apresentados e discutidos artigos que dialogam com os resultados do presente trabalho, incluindo artigos que envolvam experimentos realizados com animais de experimentação ou seres humanos. Apesar de existirem diferenças entre os modelos experimentais, algumas citadas no artigo de Wanner *et al.*, 2015 quando oportuno, os resultados do fenômeno estudado com ratos serão comparados com o que já foi encontrado com humanos. No entanto, para maior detalhamento dos mecanismos do fenômeno investigado, artigos que utilizaram animais de experimentação também foram utilizados. Além disso, os resultados foram discutidos de acordo com a distribuição dos experimentos nos três delineamentos. Vale ressaltar que, aqueles resultados já discutidos, não foram abordados novamente no delineamento seguinte.

### 4.1 DELINEAMENTO 1

O delineamento 1 do estudo investigou o efeito de diferentes estratégias de aclimação ao calor, que consistiram de exposição passiva a um ambiente quente e de dois diferentes protocolos de HIIT realizados neste mesmo ambiente quente, sobre as respostas termorregulatórias e o desempenho aeróbio de ratos submetidos a um exercício incremental até a fadiga. Como esperado, a nossa primeira hipótese foi confirmada, uma vez que ratos submetidos aos protocolos de HIIT exibiram maior carga de trabalho e eficiência termorregulatória no exercício incremental pós-intervenção do que ratos expostos passivamente ao calor. Em contrapartida, a hipótese de que um protocolo de HIIT caracterizado por intensidades mais altas de corrida induziria maiores adaptações termorregulatórias e melhorias de desempenho aeróbio não foi confirmada. No entanto, um aspecto novo do presente estudo é o fato de que a adaptação ocorreu mais rapidamente (com menos sessões de treinamento no HIIT<sub>100%</sub>), conforme evidenciado pela melhora na eficiência termorregulatória

já na terceira sessão de treinamento; esta melhora somente ocorreu na quinta sessão do HIIT<sub>85%</sub>. Entretanto, as observações de que o maior estresse térmico durante as sessões de intervenção (estimado a partir do cálculo da eficiência termorregulatória; Figura 4) representa uma melhor adaptação relacionada à aclimação ao calor contradizem nossa segunda hipótese. Visto que, as diferenças encontradas no estresse térmico durante as sessões de intervenção entre os grupos HIIT, não resultou em diferentes respostas termorregulatórias e de desempenho aeróbio após o período de intervenção.

Os animais não treinados não apresentaram adaptações termorregulatórias claras ou melhora no desempenho aeróbio após 2 semanas de exposição passiva ao calor. A única adaptação observada foi a redução da  $T_{COL}$  inicial durante as sessões de intervenção e no teste incremental pós-intervenção. No entanto, esse resultado pode gerar diferentes interpretações, as quais serão discutidas mais abaixo. De qualquer forma, fica claro que 10 sessões de exposição passiva ao calor, com duração entre 27 e 51 min/sessão, não fornecem estímulos térmicos suficientemente fortes para aclimatar os ratos. Estudo prévio de aclimação passiva ao calor mostra que 5 dias ininterruptos de exposição ao ambiente de 37°C são suficientes para gerar aclimação (SAREH *et al.*, 2011). No entanto, o tempo de exposição e a temperatura ambiente utilizados neste estudo foram maiores do que aqueles utilizados no presente trabalho, podendo, portanto, justificar os resultados diferentes. Além disso, Sareh *et al.* (2011) não mediram o desempenho aeróbio dos camundongos.

Com o intuito de identificar qual é o protocolo mais efetivo na promoção de aclimação ao calor, foram comparadas duas intervenções com 2 diferentes protocolos de HIIT no calor. Nós acreditávamos que o HIIT<sub>100%</sub> seria o protocolo que induziria maior estresse térmico por conta da maior intensidade das sessões de treinamento e, portanto, promoveria aclimação ao calor mais efetiva do que o HIIT<sub>85%</sub>. Aparentemente, o maior estresse termorregulatório observado no grupo HIIT<sub>100%</sub> (apresentado pela fig. 4A) foi contrabalanceado pela maior carga de trabalho no HIIT<sub>85%</sub>, resultando em respostas termorregulatórias e de desempenho similares após 2 semanas de intervenção. Apesar de ter sido encontrada uma melhora na eficiência termorregulatória

com menos sessões no HIIT<sub>100%</sub> (Fig 4B), respostas semelhantes entre os grupos HIIT<sub>100%</sub> e HIIT<sub>85%</sub> foram observadas ao final das intervenções. É importante deixar claro aqui, que as diferenças temporais encontradas entre os grupos HIIT parecem não estar sendo causadas por artifício matemático pela comparação na ANOVA de 1 via (sete sessões do HIIT<sub>100%</sub> e dez sessões do HIIT<sub>85%</sub>). Pois, após verificação e comparação estatística das 7 primeiras sessões do grupo HIIT<sub>85%</sub>, só foi observada diferença entre a 1ª e 7ª sessão; não foi observada diferença em sessões anteriores da 3ª, como encontrado no HIIT<sub>100%</sub>. Dessa forma, reforça a evidência de que o HIIT<sub>100%</sub> teve uma redução do estresse térmico em menos sessões do que no HIIT<sub>85%</sub>.

Devido ao aumento da massa corporal durante o período de intervenção, foi calculada a carga de trabalho para comparar, de maneira mais precisa, as mudanças no desempenho aeróbio entre os grupos. Os dados obtidos indicam que ambos os protocolos de HIIT aumentaram similarmente a carga de trabalho no exercício incremental após 2 semanas de intervenção., apesar da carga de trabalho ter sido 60% maior ao longo de todo o treinamento no HIIT<sub>85%</sub> e as maiores intensidades do treinamento estarem registradas no HIIT<sub>100%</sub>. Existem poucos trabalhos que verificaram o efeito do volume e da intensidade em relação a melhoras de desempenho aeróbio no modelo experimental utilizado. Estudo recente que comparou o efeito do volume e da intensidade em treinamentos contínuos aeróbios (8 semanas em ambiente temperado), reportou que treinamentos contínuos com maiores variações de intensidades parecem estar mais relacionadas com maiores cargas de trabalho, do que treinamento com variações nos volumes (duração das sessões), após período de intervenção (TEIXEIRA-COELHO *et al.*, 2017). Além disso, outro estudo apresentou que o treinamento intervalado de alta intensidade resulta em maiores ganhos de VO<sub>2</sub> e de volume sistólico comparado aos treinamentos contínuos e moderada-baixa intensidade (HELGERUD *et al.*, 2007). Portanto, os dois estudos citados apresentam evidências de que a intensidade parece estar mais relacionada com o desempenho aeróbio do que o volume do treinamento. No entanto, esses estudos não reproduzem o desenho experimental do atual estudo, pois não fazem comparações, das variáveis estudadas, com diferentes treinamentos intervalados: maior intensidade ou maior volume,

como no atual estudo. Dessa forma, parece que a maior intensidade do HIIT<sub>100%</sub> foi compensada pelo maior volume (tempo total da sessão) e a maior carga de trabalho do HIIT<sub>85%</sub>, resultando, portanto, em respostas de desempenho aeróbio similares entre os grupos.

Considerando que os ratos do grupo HIIT<sub>100%</sub> foram submetidos a um número menor de sessões de treinamento que tiveram menor duração, e que uma adaptação termorregulatória foi observada mais rapidamente neste grupo (HIIT<sub>100%</sub>: 3ª sessão; HIIT<sub>85%</sub>: 5ª sessão) (Fig. 4), é razoável sugerir que o protocolo HIIT<sub>100%</sub> foi mais tempo-eficiente do que o protocolo HIIT<sub>85%</sub> nas duas semanas investigadas. Além disso, as diferenças no estresse térmico dos ratos observadas entre os grupos durante as sessões de treinamento (Fig. 4) estão de acordo com os resultados de estudos envolvendo humanos e ratos (GIBSON *et al.*, 2016; KUNSTETTER, A. C. *et al.*, 2014; TANAKA; YANASE; NAKAYAMA, 1988). Esses três estudos indicaram a existência de uma relação direta entre aumento da intensidade do exercício e o aumento do estresse térmico. É importante notar que as características do exercício utilizado (intensidade e duração), associadas com o estresse térmico ambiental, resultou em estresse térmico não compensável, condição caracterizada pela incapacidade de o rato dissipar o calor metabólico produzido, o que leva ao aumento ininterrupto da  $T_{COL}$  durante o esforço físico (SAWKA *et al.*, 2011; WANNER *et al.*, 2015).

A  $T_{COL}$  inicial foi reduzida nos grupos treinados. No entanto, o mesmo efeito foi observado no grupo NT, sugerindo que todos os três protocolos, incluindo a exposição passiva ao calor, induziram adaptações. Esta redução da temperatura interna em repouso é comumente reportada em protocolos de aclimação ao calor realizados em humanos (MAGALHAES *et al.*, 2010; NIELSEN *et al.*, 1993). Entretanto, no atual estudo, relacionar a redução da  $T_{COL}$  pré-exercício a uma adaptação causada pela aclimação ao calor merece cautela. Antes da avaliação da  $T_{COL}$  inicial, existe a inserção do sensor colônico e, portanto, a manipulação no animal. Este procedimento representa um estresse psicológico que aumenta a temperatura corporal em animais dessa espécie (EIKELBOOM, 1986; KUNSTETTER, *et al.*, 2017). Dessa forma, não podemos descartar a hipótese de que

esta redução da  $T_{COL}$  inicial foi causada pela habituação do rato a esse estímulo estressor. Portanto, a pergunta se a redução da  $T_{COL}$  inicial foi mediada pela aclimação ao calor ou pela habituação ao manuseio deve ser melhor investigada com o uso de tecnologias não invasivas (telemetria) ou incluindo um novo grupo controle (sem treinamento e sem exposição ao calor). Este grupo controle foi incluído no delineamento 2 do atual trabalho.

A  $T_{COL}$ , mensurada no momento da fadiga durante o exercício incremental pós-intervenções, foi similar entre os grupos. No entanto, o tempo transcorrido até que esse valor de temperatura fosse atingido foi menor nos grupos HIIT em comparação ao grupo NT. Isso significa que os grupos que treinaram no calor aumentaram a eficiência termorregulatória, pois apresentaram uma alteração similar na  $T_{COL}$  induzida pelo exercício com maiores valores de carga de trabalho. Estudos prévios com humanos reportaram que indivíduos aclimatados ao calor exercitam-se por períodos mais longos antes de atingirem uma temperatura corporal de  $40,5^{\circ}\text{C}$  (NIELSEN, *et al.*, 1993). A melhoria da eficiência termorregulatória observada no presente trabalho pode ter sido resultado de adaptações na dissipação e/ou na produção de calor. Esta última, foi melhor discutida no delineamento 2.

A melhora na perda de calor não evaporativa aparentemente não está por trás da melhora na eficiência termorregulatória após os dois protocolos de HIIT no presente trabalho. Esses achados confirmam as observações de que ratos com alta capacidade intrínseca aeróbia possuem maior eficiência termorregulatória, mas sem alteração da perda de calor pela cauda, em relação a ratos com capacidades aeróbias padrão e baixa (RABELO *et al.*, 2018). Entretanto, Santiago *et al.* (2016) encontraram resultados diferentes daqueles do estudo atual, uma vez que observaram aumento na perda de calor não evaporativa de ratos durante exercício incremental até a fadiga, realizado após 8 semanas de treinamento aeróbio com velocidade constante. No entanto, todas as sessões de treinamento e de exercícios incrementais foram realizadas em ambiente temperado. Além disso, os animais estudados (ratos Wistar) eram mais novos (4 semanas de idade no início do experimento) do que aqueles utilizados no trabalho atual; essas diferenças metodológicas

podem explicar os diferentes resultados encontrados. É importante ressaltar que a perda de calor não evaporativa através da cauda é dependente da vasodilatação cutânea que aumenta a condutividade térmica da pele e favorece a troca de energia por convecção (ROMANOVSKY, 2018). No entanto, a convecção é mais relevante em ambientes temperados, pois aumenta o gradiente entre a pele e o ambiente, facilitando essa troca de calor.

Estudo recente relatou que a vasodilatação da pele da cauda não explica totalmente a perda de calor em ratos (MALHEIROS-LIMA *et al.*, 2018). Estes pesquisadores relataram que ratos submetidos à desnervação da artéria caudal apresentavam prejuízos marcantes na perda de calor através da cauda, mas um aumento “normal” da temperatura interna induzido pelo exercício. Portanto, diferenças em vias alternativas para a dissipação de calor que não a vasodilatação da pele da cauda (por exemplo, vasodilatação da orelha e evaporação através da respiração) poderiam explicar a melhoria da eficiência termorregulatória em ratos treinados. A vasodilatação da orelha pode ser uma via funcional para a dissipação de calor durante o exercício, embora sua eficácia nunca tenha sido investigada sob tais condições. Em relação à perda de calor evaporativa, existem evidências que a evaporação da água a partir do trato respiratório depende da intensidade do exercício (TANAKA; YANASE; NAKAYAMA, 1988) e que, portanto, esta via também pode contribuir para a termorregulação de ratos submetidos ao exercício. Além disso, estudos com humanos apresentam melhora na capacidade evaporativa após treinamento no calor (MAGALHÃES, *et al.*, 2010; NIELSEN, *et al.*, 1997). Uma perda de calor por evaporação facilitada pode ser particularmente relevante para os animais, ou humanos, que se exercitam em ambientes quentes, já que a evaporação é a única via de dissipação de calor possível contra um gradiente térmico. Além disso, o comportamento de espalhar saliva sobre o corpo é um importante mecanismo termolítico adjunto, particularmente em ambientes quentes (HAINSWORTH, 1968). Digno de nota, é provável que a importância desta via termolítica seja menor durante a corrida em esteira, porque os ratos são incapazes de espalhar saliva sobre sua pele enquanto estão correndo (SHELLOCK; RUBIN, 1984). Em conjunto, as informações mencionadas logo acima indicam que não podemos descartar que



os ratos treinados tenham maior perda de calor por evaporação a partir do trato respiratório do que os ratos NT, o que também poderia explicar as diferenças entre grupos na eficiência termorregulatória.

Como a perda de calor na cauda não foi melhorada após os dois protocolos de HIIT, sugerimos que a eficiência mecânica possa ter sido maior e, conseqüentemente, a produção de calor metabólico possa ter sido menor em ratos treinados. Essa sugestão é corroborada por um relato anterior mostrando que três diferentes protocolos de treinamento aeróbio, consistindo de corridas realizadas em velocidade submáxima e constante, melhoram a eficiência mecânica de ratos (TEIXEIRA-COELHO *et al.*, 2017). Mudanças induzidas pelo treinamento físico na eficiência mecânica podem resultar de adaptações centrais e periféricas. As adaptações centrais incluem alterações nas neurotransmissões dopaminérgica e serotoninérgica no caudado-putâmen (RABELO *et al.*, 2017), uma área envolvida no controle motor e na motivação para o exercício. Já as adaptações periféricas incluem melhoras na técnica de corrida e na transferência de energia elástica durante ciclos de alongamento e encurtamento (SAUNDERS *et al.*, 2004), bem como um conteúdo mitocondrial aumentado, o que resulta em capacidade respiratória muscular aumentada (HOLLOSZY, 2008). Alguns desses aspectos foram estudados e, portanto, serão discutidos com mais profundidade nos próximos delineamentos do presente trabalho.

A prescrição da intensidade das sessões de treinamento tendo como base velocidades relacionadas à velocidade máxima, conforme realizado no presente estudo, também é tipicamente usada em humanos (SILVA *et al.*, 2017; SMITH; COOMBES; GERAGHTY, 2003). Assim, os presentes achados são sugestivos de que os humanos também experimentam adaptações termorregulatórias após serem submetidos ao HIIT em ambientes quentes. Finalmente, mais estudos em ratos são necessários para entender melhor os mecanismos cerebrais e moleculares subjacentes às adaptações induzidas pelo treinamento de intensidade elevada e / ou aclimação ao calor e o atual modelo proposto pode ser uma ferramenta importante para esses estudos.

Como fechamento da discussão do primeiro delineamento, concluímos que os dois protocolos do HIIT realizados no calor induzem maiores adaptações termorregulatórias e melhor desempenho aeróbio do que a exposição passiva ao calor. Mesmo existindo diferenças no estresse térmico durante as sessões de treinamento, essas adaptações relacionadas à aclimação ao calor (ou seja, maior eficiência termorregulatória e carga de trabalho durante o exercício incremental) são semelhantes entre os dois protocolos HIIT, pelo menos no período investigado no presente estudo. Curiosamente, a maior eficiência termorregulatória em ratos submetidos ao HIIT parece ocorrer na ausência de uma melhora na perda de calor na cauda, de modo que o efeito da produção metabólica de calor, influenciado pelo treinamento e/ou pela exposição passiva ao calor, pode ter influenciado na eficiência termorregulatória. Além disso, vale ressaltar que a alta intensidade, oferecida pelo treinamento proposto, pode ter uma contribuição mais efetiva na adaptação referente a esse fenômeno estudado: aclimação ao calor. Assim, considerando o menor número de sessões e a menor duração dessas sessões no HIIT<sub>100%</sub> do que no HIIT<sub>85%</sub>, o HIIT<sub>100%</sub> parece ser uma estratégia mais eficiente para induzir a aclimação ao calor.

## 4.2 DELINEAMENTO 2

O delineamento 2 desta tese investigou o efeito do ambiente e do treinamento de alta intensidade sobre as respostas termorregulatórias e o desempenho aeróbio de ratos submetidos a um exercício até a fadiga. Diferentemente do primeiro delineamento, os ratos também foram submetidos a um exercício com mesma carga de trabalho (i.e., corrida de velocidade constante) em ambiente quente, após as duas semanas de intervenção. A nossa primeira hipótese foi que o grupo que treinou no calor teria maiores adaptações termorregulatórias e de desempenho aeróbio do que os outros grupos experimentais. Esta hipótese foi negada, uma vez que o treinamento de alta intensidade (HIIT) gerou adaptações nas variáveis termorregulatórias e no desempenho, de maneira independente

do ambiente ao qual os animais foram expostos. Portanto, o ambiente onde os experimentos foram realizados parece não ser um fator determinante para que o HIIT promova adaptações características da aclimação ao calor. É importante destacar que essas observações foram feitas nos dois protocolos de corrida avaliados (i.e., incremental até a fadiga e corrida em velocidade constante e submáxima). Além disso, a partir dos resultados do primeiro delineamento, nossa segunda hipótese era que a eficiência termorregulatória estaria relacionada com a adaptação da produção metabólica de calor; esta hipótese foi confirmada, pois os grupos que se aclimataram por meio da realização de treinamento, tiveram menor consumo de oxigênio durante corrida com velocidade constante no ambiente quente, após o período de intervenção

Com o intuito de observar um possível efeito somatório da exposição ao ambiente quente e do treinamento de alta intensidade nas adaptações características da aclimação ao calor, 4 grupos experimentais foram formados, possibilitando assim avaliar apenas o efeito isolado do ambiente quente ( $NT_{32^{\circ}C}$ ), do treinamento ( $HIIT_{24^{\circ}C}$ ) e efeito somatório desses dois fatores ( $HIIT_{32^{\circ}C}$ ), além do grupo controle ( $NT_{24^{\circ}C}$ ), sobre as mesmas variáveis termorregulatórias e de desempenho já investigadas no delineamento 1. Para melhor avaliação dessas possíveis adaptações, foi incluído nesse delineamento mais dois protocolos de exercício no ambiente quente; ambos com velocidade submáximas e constantes, no entanto, utilizados para avaliar respostas diferentes. Um protocolo de exercício foi utilizado para avaliar as respostas termorregulatórias durante exercício com mesma carga de trabalho para todos os grupos, o outro, possibilitou estudar outras respostas adaptativas que não foram estudadas no delineamento 1, tais como as alterações na eficiência mecânica e na produção metabólica de calor.

A Tabela 6 apresenta a homogeneidade da amostra no início do período de intervenção, como esperado. Isso reforça que, os efeitos encontrados, e discutidos abaixo, estão relacionados com a intervenção de 2 semanas.

As adaptações termorregulatórias e de desempenho observadas aconteceram nos grupos treinados, independente do

ambiente a que foram expostos durante as sessões de treinamento. Dessa forma, o presente trabalho apresenta como novidade que o treinamento intervalado de alta intensidade, pelo menos em ratos, parece acarretar em adaptações importantes relacionadas à aclimação ao calor sem a necessidade da exposição simultânea ao ambiente quente, achado que difere da nossa hipótese inicial. Estes resultados estão em desacordo com estudos anteriores realizados com seres humanos, os quais apontam que o treinamento e a exposição ao ambiente quente, em conjunto, são fatores importantes para a aclimação efetiva ao calor e para a melhora da tolerância ao exercício em ambiente quente (COHEN; GISOLFI, 1982; LORENZO *et al.*, 2010; SAWKA *et al.*, 2011). Em particular, o estudo de LORENZO *et al.* (2010) mostrou que somente o treinamento aeróbio (10 sessões com intensidade de 50%  $VO_{2máx}$ ) realizado em ambiente quente (40°C) promoveu melhoras importantes no desempenho aeróbio (medido através do desempenho em exercício realizado em intensidade auto-selecionada, e através da medida do limiar de lactato e  $VO_{2máx}$ ) e em algumas medidas termorregulatórias (como temperatura corporal interna); esses resultados não foram encontrados quando o mesmo treinamento foi realizado no ambiente temperado. No entanto, este estudo investigou atletas bem treinados e realizou a aclimação ao calor, utilizando treinamento contínuo e de intensidade mais baixa do que aquela utilizada no trabalho atual. Vale lembrar que realizamos a prescrição da intensidade das sessões de treinamento, de forma relativas à velocidade máxima alcançada no exercício incremental até a fadiga, realizado sob as mesmas condições ambientais nas quais o treinamento foi realizado. Ou seja, o grupo que treinou no ambiente temperado foi submetido ao exercício incremental no mesmo ambiente e, portanto, obteve maior valor de velocidade máxima atingida (HIIT<sub>24°C</sub>: 26,3 ± 0,9 m/min) do que o grupo que treinou no ambiente quente (HIIT<sub>32°C</sub>: 24,4 ± 0,5 m/min). Observa-se que a velocidade relativa foi igual nos dois ambientes, embora a velocidade absoluta não tenha sido. Essas características do nosso treinamento, velocidades-relativas semelhantes e absolutas diferentes, podem ter contribuído para respostas de aclimação ao calor semelhantes observadas nos grupos treinados.

Outro ponto relevante observado nessa etapa do estudo foi que o consumo de oxigênio e, conseqüentemente, a produção de

calor sofreram influência somente do treinamento. A redução dessas variáveis, observada após o período de intervenção, demonstra que a produção aeróbia de energia foi otimizada para um mesmo estímulo (intensidade e volume) de exercício realizado em ambiente quente. Estudos prévios com humanos indicam que o treinamento intervalado de alta intensidade promove aumentos mais rápidos do  $VO_{2máx}$  e maximiza a melhora nas atividades de enzimas mitocondriais musculares (GIBALA; MCGEE, 2008; LAURSEN; JENKINS, 2002; ROSS; LEVERITT, 2001), adaptações que podem justificar a melhora do metabolismo aeróbio. O treinamento utilizado no presente estudo caracteriza-se por intensidades (ou velocidades, no caso da corrida) mais altas e volumes baixos durante as sessões de exercício físico. Acredita-se que a maior capacidade do sistema cardiorrespiratório acontece quando se exercita em intensidades próximas da máxima velocidade aeróbia (BUCHHEIT; LAURSEN, 2013). No trabalho atual, utilizou-se valores próximos (95%) e iguais à velocidade máxima atingida no protocolo de exercício incremental até a fadiga. Este protocolo caracteriza-se por aumentos da velocidade a cada 3 minutos de corrida. Estudo prévio do laboratório demonstrou que o trabalho realizado durante este exercício incremental apresenta associação positiva e significativa com o  $VO_{2máx}$  de ratos não treinados (PICOLI *et al.*, 2018; TEIXEIRA-COELHO *et al.*, 2017). Portanto, os resultados obtidos neste trabalho parecem estar relacionados com a alta intensidade aeróbia do treinamento estipulado.

Cabe lembrar que o  $VO_{2máx}$  não foi medido no estudo atual, pois, durante a realização de estudo piloto, verificou-se a existência de mortalidade de animais em até 24 horas após o término do exercício incremental até a fadiga no calor. Existem relatos na literatura de morte causada por choque hipertérmico (termo não técnico, insolação) em atletas expostos a longos períodos de exercício em condições extremas (temperatura ambiente e umidade altas) (NAVARRO *et al.*, 2017). Esse quadro caracteriza-se por acúmulo rápido de calor corporal, devido à incapacidade de se dissipar todo o calor produzido a partir do metabolismo ou ganho a partir do ambiente, resultando em desnaturação de enzimas e danos celulares (ARMSTRONG, 2007). O  $VO_{2MAX}$  foi medido em câmara metabólica específica para roedores; esta, por sua vez, é totalmente vedada, o que pode ter

resultado em alta umidade durante o exercício no calor, além da alta temperatura à qual os ratos foram expostos durante o exercício (32°C). Portanto, a partir desta observação, optou-se por somente avaliar o consumo de oxigênio em intensidades submáximas (15 m/min).

O VO<sub>2</sub> medido durante um exercício com velocidade constante e submáxima possibilita a determinação da eficiência mecânica (SAUNDERS *et al.*, 2004). Teixeira e colaboradores (2017) também observaram melhora na eficiência mecânica da corrida após treinamento aeróbio contínuo de 8 semanas em ratos. Somado a essa informação, o estudo de Rabelo et al (2019) observaram que os ratos que corriam por maior tempo (maior capacidade intrínseca ao exercício) tinham um menor aumento da temperatura interna para cada distância percorrida (ou seja melhorou a eficiência termorregulatória), além de melhorar a eficiência mecânica para corrida. O que nos leva a pensar que possivelmente existe uma relação inversa entre essas duas variáveis: consumo de oxigênio e eficiência termorregulatória. Ou seja, quanto maior o consumo de oxigênio, para o mesmo estímulo de exercício, menor será a eficiência termorregulatória. Essa correlação não foi realizada pelo atual estudo, pois essas medidas foram realizadas em diferentes protocolos de exercícios, por limitações metodológicas, o que dificulta essa conclusão. No entanto, essas evidências, em conjunto, reforçam que possivelmente a menor produção de calor ao longo do exercício pode ter contribuído para melhor eficiência termorregulatória durante o exercício no calor. O mais interessante é que a exposição crônica ao ambiente quente parece nada ter contribuído para esse efeito. Além disso, o VO<sub>2</sub> em exercício constante e submáximo também representa medida de economia de corrida (SAUNDERS *et al.*, 2004). Corredores com boa economia de corrida utilizam menos consumo de oxigênio para mesma carga externa, e existem dados na literatura associando essa variável como um melhor preditor para desempenho aeróbio do que o VO<sub>2MÁX</sub> (MORGAN; MARTIN; KRAHENBUHL, 1989). Considerando todos os pontos discutidos acima, para melhor aprofundamento das adaptações relacionadas com a exposição passiva crônica ao calor e efeitos metabólicos do treinamento intervalado aeróbio, no delineamento 3 foi discutido sobre as alterações fenotípicas

relacionadas com esse protocolo de aclimação ao calor (treinamento intervalado e ambiente quente).

A aclimação ao calor alcançada por meio de exposições passivas ao ambiente quente pode gerar adaptações na dissipação e na produção de calor (HOROWITZ; KODESH, 2010). Estudos indicam que a produção metabólica de calor fica mais eficiente após protocolos de aclimação passiva ao calor (com pelo menos 5 dias de exposição à temperatura ambiente de 34°C (HOROWITZ, 2003). No entanto, no nosso trabalho esses valores reduzidos em repouso não foram encontrados. A nossa intenção não era investigar os efeitos da aclimação em situações basais e, em função disso, o metabolismo dos ratos não foi medido durante um período prolongado de repouso. De maneira indireta, temos uma evidência que 7 sessões de exposição passiva ao calor não altera o metabolismo basal de ratos; observou-se que o grupo que foi somente exposto ao ambiente quente (sem realizar treinamento) não teve alterações de valores no consumo de oxigênio no momento pré-exercício. Mas, este resultado pode ser justificado pelo tempo curto de exposição dos ratos ao calor em comparação com os outros trabalhos.

Além dos comentários acima, Fransesconi et al (1982), utilizando modelo animal com rato, demonstraram que a aclimação ao calor passiva (até 4 semanas de exposição ao calor de 35°C) não melhora a tolerância do exercício no calor. E concluem que o mecanismo que gera adaptação à exposição passiva ao calor está relacionado com a redução do fluxo sanguíneo pela cauda durante o exercício. Como durante o exercício existe uma maior demanda de fluxo sanguíneo para o músculo, esse efeito pode ser alterado e/ou sobreposto pelo exercício. Interessantemente, esses dados também foram encontrados no atual trabalho. Animais que foram expostos ao calor, tiveram reduções da  $T_{PELE}$  durante exercício incremental até a fadiga no calor. No entanto, somente os animais expostos ao calor e ao treinamento (ao mesmo tempo) tiveram maior desempenho aeróbio no calor. Ou seja, mesmo que o efeito da exposição isolada ao calor tenha gerado adaptações termorregulatórias (redução da  $T_{PELE}$ ) durante o exercício no mesmo ambiente, o treinamento intervalado parece ter invertido, e sobressaído, o efeito negativo da exposição passiva ao calor,

gerando maior tolerância do exercício em ambientes quentes. Essa discussão apresenta mais uma evidência do efeito do treinamento intervalado sobre as respostas adaptativas da maior tolerância do exercício no calor e aclimação ao calor.

Após os pontos acima discutidos, parece que o treinamento intervalado sobrepõe os efeitos da exposição passiva ao calor, quando avaliado em exercício. Existem outros trabalhos com humanos que investigaram o efeito do treinamento intervalado de alta intensidade no calor, no entanto, não investigaram especificamente os efeitos isolados e combinados do ambiente e do treinamento intervalado (KELLY *et al.*, 2016; PETERSEN *et al.*, 2010; RACINAIS, SEBASTIEN *et al.*, 2012; REEVE, T; GORDON, R; LAURSEN, P.B; JASON, 2019). Dessa forma, as possíveis relações com as adaptações termorregulatórias e o desempenho aeróbio não ficam claras nesses estudos. Além disso, os tradicionais protocolos de aclimação ao calor e treinamento utilizam os tradicionais exercícios com intensidades baixa-moderada e contínuos (JAMES *et al.*, 2017; KARLSEN *et al.*, 2015; KEISER *et al.*, 2015; LORENZO *et al.*, 2010; NIELSEN, B. Y. B. *et al.*, 1993; NIELSEN, BODIL *et al.*, 1997; RACINAIS, SEBASTIEN *et al.*, 2014; RACINAIS, SÉBASTIEN *et al.*, 2015), dificultando a avaliação do efeito da alta intensidade sobre as adaptações relacionadas com o fenômeno estudado.

Para avaliar os possíveis efeitos termorregulatórios relacionados com os tradicionais efeitos da aclimação ao calor com o treinamento intervalado em ambiente quente, utilizou-se dois protocolos diferentes de exercício no calor. O primeiro protocolo observou as respostas termorregulatórias até a fadiga, e no segundo protocolo de exercício, essas mesmas respostas termorregulatórias, foram observadas durante exercício contínuo e submáximo (com mesma velocidade e tempo de exercício) para todos os animais. Neste último protocolo de exercício, os animais foram estimulados a correr com a mesma carga de trabalho para todos os grupos, durante 30 minutos, portanto, as respostas termorregulatórias podiam ser observadas sem a influência da intensidade (esta foi melhor discutida no parágrafo abaixo) e do tempo do exercício agudo. Após o enunciado acima, observou-se que nos dois protocolos de exercício no calor as respostas de eficiência termorregulatória e de variação da  $T_{COL}$  foram similares.



Ou seja, foi observada melhora da eficiência termorregulatória e menor aumento da  $T_{COL}$  somente nos grupos treinados, nos dois protocolos de exercício (incremental e constante). Essas observações reforçam que a intervenção foi efetiva para os grupos que treinaram, independente da temperatura ambiente ao qual estavam expostos. No entanto, a redução da  $T_{PELE}$ , nos grupos expostos ao calor, somente foi observada quando os animais foram expostos ao exercício incremental até a fadiga (Fig. 10 e 11). A  $T_{PELE}$  pode ter maior influência da intensidade do que do volume (tempo) do exercício, portanto não sendo observada sua alteração após exercício com intensidade constante. Tornando-se, portanto, dependente do protocolo de exercício. Cabe lembrar que esse estudo foi o primeiro a avaliar as respostas termorregulatórias, relacionadas com a aclimação ao calor com treinamento intervalado no ambiente quente, em dois protocolos diferentes de exercício no calor. Portanto, a discussão com outros estudos torna-se restrita e ineficaz. De qualquer forma, outros estudos, com enfoque nas variações termorregulatórias durante exercício no calor com diferentes intensidades e durações, seriam necessários para afirmar essa hipótese levantada.

Logo após o protocolo de exercício submáximo e contínuo, observou-se que a média do lactato sanguíneo foi menor do que 4mmol/L para todos os grupos. Manchado, et al (2005) observaram que a máxima fase estável do lactato em ratos wistar é de 3.9mmol/L. Considerando esses achados com o do atual trabalho, pode-se dizer que todos os grupos exercitaram-se em intensidades similares e abaixo da máxima fase estável. O que contribuí para caracterizar que esse protocolo de exercício para avaliar a aclimação ao calor possui, além de similar carga de trabalho, também mesmo estímulo de intensidade relativa para todos os grupos. Isso facilita a visualização das respostas frente ao estímulo da intervenção de 2 semanas (efeito crônico) e não do exercício (efeito agudo) utilizado para avaliar essas respostas. Além disso, interessantemente, o valor do lactato sanguíneo foi menor nos grupos expostos ao calor. A redução do lactato sanguíneo no sangue pode estar relacionada com a menor produção ou maior recaptção do lactato pelos tecidos durante o exercício de baixa-média intensidade (como o qual eles estavam expostos) (HALL, 2010; ZOULOUMIAN; FREUND, 1981a, b). Alguns estudos mostraram que durante exercícios no calor a

concentração de lactato no sangue é maior (DE BARROS *et al.*, 2011; FINK, W.J; COSTILL, D L; HANDEL, 1975). Fink et al (1975) além dessa resposta, observaram aumento da taxa de glicogênio, nessas mesmas condições. Portanto, concluem que o aumento da concentração de lactato e da taxa de glicogênio é resultado da hipóxia muscular causada pela redução do fluxo sanguíneo local, ou seja, aumento da produção de lactato nessas condições ambientais de exercício. Esses efeitos não foram estudados a longo prazo, como no atual estudo. Além disso, no nosso estudo o fluxo sanguíneo (medido pela  $T_{PELE}$ ) não sofreu alteração nos grupos expostos ao calor. Ou seja, a resposta de redução do lactato sanguíneo foi independente da redução da  $T_{PELE}$  nesse exercício. Pode-se, portanto, pensar que a redução do lactato sanguíneo, após exposição passiva ao calor, pode ter relação com a melhora da remoção do mesmo durante o exercício submáximo e constante no calor. Além disso, uma terceira observação a partir desses resultados, foi que os ratos aclimatados parecem não ter relação com alteração da via anaeróbia. Visto que, os grupos que obtiveram melhor tolerância do exercício no calor (HIIT<sub>24°C</sub> e HIIT<sub>32°C</sub>; medido pela carga de trabalho após intervenção) não correspondem aos mesmos grupos que tiveram maior concentração do lactato sanguíneo em exercício com estímulo padronizado (NT<sub>24°C</sub> e HIIT<sub>24°C</sub>). Parece, portanto que essa via energética não influenciou a maior tolerância do exercício no calor.

Vale a pena evidenciar alguns pontos reproduzíveis, e outros diferentes, em relação aos delineamentos 1 e 2 desse trabalho. Observamos similaridade nas respostas de eficiência termorregulatória e da carga de trabalho após a finalização dos dois delineamentos iniciais dessa tese. Consideramos essas variáveis como as mais representativas para o estudo do fenômeno analisado. Pois representa a tolerância do exercício no ambiente quente (carga de trabalho) e como o sistema termorregulatório responde durante o exercício (eficiência termorregulatória), após período de intervenção. Portanto, a reprodutibilidade dessas variáveis mostra que os protocolos de aclimação ao calor apresentam respostas sólidas e concisas. Somado a isso, correlação apresentada entre essas duas variáveis, apresenta uma mais uma evidência de que a melhora do desempenho aeróbio no calor tem relação com a melhor eficiência termorregulatória encontrada nos animais que

treinaram. Além de facilitar o uso do mesmo protocolo para outros estudos de interesse sobre o tema. Outras respostas foram diferentes entre os delineamentos. No delineamento 2 observou-se aumento na  $T_{COL}$  no momento da fadiga nos grupos treinados, após período de intervenção. Na primeira parte desse estudo (delineamento 1), esse efeito não foi observado. Mesmo que essa resposta não tenha sido reproduzida, a mesma não apresentou resultados antagônicos, apenas diferentes. Vale lembrar que, de acordo com o estudo de Rabelo et al (2019), animais que tem maior capacidade intrínseca ao exercício podem atingir maiores valores de temperatura interna. Isso pode justificar as diferenças entre os dois grupos de animais utilizados nos dois delineamentos experimentais; sendo essas informações importantes para serem consideradas em estudos futuros.

Como fechamento da discussão do segundo delineamento, concluímos que as adaptações termorregulatórias (eficiência termorregulatória e  $T_{COL}$ ) e de desempenho aeróbio (carga de trabalho) encontradas no delineamento 1 parecem ser decorrentes do treinamento intervalado e não da exposição ao calor. No entanto, com os resultados do delineamento 3, essas evidências foram também discutidas no próximo capítulo da discussão. Além disso a maior eficiência termorregulatória parece estar relacionada com o menor consumo de oxigênio, ou menor produção metabólica de calor; e esta também só foi observada nos grupos treinados, independente da temperatura do ambiente ao qual foram expostos. Interessantemente, mesmo que encontrado alguns efeitos da exposição ao calor (redução do lactato sanguíneo e  $T_{PELE}$ ), esses efeitos parecem ter sido contrabalanceados pelo treinamento intervalado, seu efeito sobressaiu em relação à melhora da eficiência termorregulatória e de desempenho aeróbio do exercício no calor. Podendo, esta, ser influenciada pela alta intensidade ocasionada pelos protocolos de treinamentos intervalados.

#### 4.3 DELINEAMENTO 3

O delineamento 3 do atual estudo investigou os efeitos das adaptações fenotípicas após protocolo de aclimação ao calor idêntico ao delineamento 2, sobre dois genes: HSP70 e PGC-1 $\alpha$ . Nessa parte do estudo também foi investigada a possível alteração do tecido adiposo após período de intervenção, entre os grupos. Como hipótese desse delineamento, pensamos que a expressão da HSP70 fosse estar aumentada nos grupos aclimatados, além da maior expressão da PGC-1 $\alpha$  nos grupos treinados. Sendo que essas expressões seriam maiores nos grupos que receberam calor mais treinamento. No entanto, nossa hipótese foi confirmada pela metade. Os resultados dessa parte do estudo apresentam que a alteração da expressão da HSP70 nos grupos expostos ao calor e a alteração da expressão da PGC-1 $\alpha$  nos grupos treinados, demonstram alterações fenotípicas independentes e que esses dois estímulos específicos em conjunto, não parecem ter relação com o efeito de maior tolerância ao exercício no calor encontrada nos delineamentos anteriores. Mais uma vez, somente o treinamento parece ter influenciado as respostas fenotípicas após protocolo de aclimação ao calor com treinamento intervalado em ambiente quente.

As alterações fenotípicas estudadas foram discutidas, inicialmente, de forma separada, depois de forma conjunta, em parágrafos subsequentes. A discussão da HSP70 foi realizada primeiro, pois representa de forma tradicional a alteração fenotípica associada com a termotolerância.

A redução da expressão de RNAm da HSP70 nos grupos expostos ao calor, independentemente do nível de treinamento, representa resultado diferente ao que foi hipotetizado. Observeu-se alteração na expressão gênica das HSPs em tecidos do coração (ASSAYAG *et al.*, 2010; MALOYAN, A; PALMON; HOROWITZ, 1999; MALOYAN, *et al.*, 2005) e do hipotálamo (WALTERS *et al.*, 2017) após aclimação passiva ao calor, em ratos. Além disso, outros estudos observam aumento na expressão gênica das HSPs após dois tipos de protocolos de aclimação ativa ao calor caracterizados por exercícios de velocidade fixa (GIBSON *et al.*, 2015) e hipertermia controlada (GIBSON *et al.*, 2015; MAGALHÃES, F. D. C. *et al.*, 2010), em células do sangue em humanos. Somado a esses estudos, Kodesh *et al.* (2011) investigaram as adaptações fenotípicas

associadas e isoladas com a exposição crônica ao calor e o treinamento contínuo aeróbio, em ratos. Após 30 dias de treinamento contínuo aeróbio no calor, observaram alteração da expressão da HSP70 nas 3 condições experimentais (exposição passiva ao calor, treinamento e exposição ao calor mais treinamento) no músculo sóleo. Ou seja, neste estudo, HSP70 parece ter sido alterada tanto pelo estresse do calor quanto pelo metabólico do exercício. Esses resultados não vão ao encontro dos resultados do atual trabalho, pois as alterações encontradas nessa tese foram somente do efeito do calor; e o exercício não alterou essa resposta. Ou seja, o grupo treinado sem exposição ao calor não gerou resposta fenotípica para esse gene. No entanto, é importante ressaltar que, apesar desse estudo ter observado o efeito isolado e combinado dos estímulos estressores, os protocolos de exposição passiva e ativa ao calor foram diferentes. No nosso estudo, utilizamos o treinamento intervalado, que por sua vez, representa maiores intensidades de exercício e menor tempo do mesmo. Além disso, técnicas diferentes de análise molecular foram utilizadas entre os estudos; este ponto foi discutido em parágrafo abaixo.

Após período de intervenção, também foi observado aumento da expressão de RNAm da PGC-1 $\alpha$  no sóleo somente nos grupos treinados. Outro estudo também corrobora com o efeito encontrado no atual trabalho (MASUZAWA *et al.*, 2018). No entanto, cabe ressaltar que estes estudos utilizaram treinamentos contínuos e de baixa-média intensidade. Somado a isso, foi encontrado que a intensidade do exercício parece influenciar a expressão gênica (WEN *et al.*, 2014) e o aumento da proteína da PGC-1 $\alpha$  (OLIVEIRA *et al.*, 2014), após exercício em diferentes intensidade em ratos. No entanto, esses trabalhos não apresentam o efeito do calor sobre esses resultados. Isso nos leva a pensar que o treinamento aeróbio de alta intensidade parece ter uma relevância maior sobre a alteração da PGC-1 $\alpha$  e esta ter gerado efeito sobreposto ao efeito encontrado com a HSP70, sobre os aspectos fenotípicos musculares; o que resultou em melhora do desempenho aeróbio no calor aos grupos treinados, independente da temperatura ambiente ao qual estavam expostos. Além disso, têm sido evidenciados que maior expressão desse gene está associado com maior biogênese mitocondrial (LIN, J; WU, H; TARR, P.T; ZHANG, C; WU, 2002; LIN;

HANDSCHIN; SPIEGELMAN, 2005). Dessa forma, podemos concluir que o aumento da expressão da PGC-1 $\alpha$  pode ter relação com a maior quantidade de mitocôndrias nos grupos treinados.

Além das respostas acima citadas, o estudo do (Kodesh e Horowitz (2010) estudaram os efeitos fenotípicos, através de técnica de “high-throughput” (mapeamento geral sobre genes importantes), de 4-3 grandes grupos de genes que chamaram de: genes relacionados com o metabolismo, com citoproteção e com a contração muscular. Para tanto, dividiram os animais em 4 grupos onde foram expostos somente ao calor, somente ao treinamento contínuo aeróbio e a ambos, como o atual trabalho. O estímulo do treinamento foi de 30 dias com exercício de velocidade constante e progressivas entre as sessões (início 35 min, 10m/min; final 60min, 20m/min) e a exposição ao calor foi em ambiente de 34°C por, também, 30 dias. Após período de intervenção, observaram que os animais que treinaram no calor apresentaram maior amplitude de força e relaxamento muscular do que os outros grupos. Além disso, também observaram que esse mesmo grupo teve uma maior alteração fenotípica de genes relacionados com o metabolismo do que os outros grupos; inclusive maior do que o grupo que somente treinou. Portanto, os autores concluíram que as adaptações fenotípicas encontradas são específicas ao tipo estressor e que, apesar de todos os grupos sofrerem alterações em todos os grupos de genes relacionados (mas em magnitudes diferentes), somente o grupo que treinou no calor aumentou a geração de força no músculo estudado. Dessa forma, os autores concluem que os genes que diferenciam as respostas estão relacionados com o metabolismo e não com respostas de estresse térmico. Interessantemente, no nosso estudo esses resultados não foram tão parecidos, visto que os dois grupos que treinaram tiveram o mesmo aumento da expressão RNAm do gene associado com o metabolismo (PGC-1 $\alpha$ ). No entanto, cabe lembrar que, como o treinamento utilizado pelo estudo foi diferente, possivelmente o treinamento de alta intensidade por ter gerado respostas mais expressivas e máximas nos dois grupos expostos ao treinamento, no presente trabalho, o que representa a diferença dos resultados.

A interpretação dos resultados dos estudos requer muito cuidado e atenção. Primeiro, porque as alterações fenotípicas são

complexas vias que acionam fatores de transcrição e, a partir, disso, estimulam a formação de novas proteínas (que também são reguladas por outras proteínas, como fatores pós-transcricionais). Ou seja, as expressões gênicas recebem vários pontos de controle de regulação e portanto, vários genes estão envolvidos em controles de mesma via. Segundo, porque as técnicas utilizadas nos estudos são diferentes o que requer também interpretações específicas. Por exemplo, no atual estudo, foi realizado a análise de RT-qPCR que mensura a quantidade de RNAm presente na célula no determinado momento da extração do tecido. Considerando esses pontos, a técnica utilizada no estudo de Kodesh e Horowitz (2010) são de cDNA array. Esta última, refere-se ao mapeamento de vários genes ao mesmo tempo, portanto menos sensível do que a do atual estudo. Além disso, utilizaram 2 animais, de cada grupo estudado, agrupados para analisar os resultados. Ou seja, no nosso trabalho a análise foi realizada especificamente para os genes selecionados e com quantidades de amostras maiores para cada grupo (6 animais), o que representa resultados mais precisos.

Após os comentários acima, pode-se portanto, interpretar os resultados das seguintes maneiras: 1) a redução da expressão da HSP70 pode ter acontecido em decorrência do momento ao qual o tecido foi extraído. Ou seja, se tivesse sido realizada em outro momento (sessões de intervenção anteriores, por exemplo), o resultado poderia ter resultado em aumento. 2) Uma segunda interpretação para a redução dessa expressão pode ser dada pelo papel redundante dessa proteína, ou seja, outras proteínas podem estar desempenhando o papel dessa proteína que está diminuída. Ou seja, talvez a redução desse subtipo de HSP interaja com aumento de outro(s) subtipos. De qualquer forma, mesmo que alguns estudos indiquem aumento dessas expressões, o mais importante desse resultado encontrado é que existiu alteração fenotípica para esse gene e, portanto, o estímulo oferecido (calor) parece ser suficiente para estimular a formação de genes específicos para citoproteção (como o HSP70). Além disso, no protocolo utilizado pelo atual trabalho, esse efeito não foi influenciado pelo treinamento intervalado e essa alteração não resultou em melhoria na tolerância do exercício no calor.

Mesmo que haja diferentes interpretações, esses resultados apresentam que a HSP70 teve influência somente do calor e essas alterações não parecem influenciar a maior tolerância do exercício no ambiente quente (encontrado nos delineamentos 1 e 2 do estudo). Além disso, PGC-1 $\alpha$  teve respostas fenotípicas influenciada somente pelo outro estímulo, o treinamento intervalado. É importante destacar que esses resultados foram encontrados no mesmo momento em que os outros animais, utilizados no delineamento 2, foram expostos ao exercício incremental até a fadiga para avaliação das respostas termorregulatórias e de desempenho aeróbio. Portanto, podemos concluir que o aumento da expressão da PGC-1 $\alpha$  parece estar relacionada com a maior tolerância do exercício no calor observadas. Esses resultados, em conjunto, indicam uma adaptação fenotípica específica para cada tipo estressor (treinamento intervalado e calor) e que o estímulo do treinamento intervalado parece ter predominado, ou sobreposto, ao estímulo do calor ao qual os animais desse estudo foram expostos. O mais interessante é que o treinamento, talvez por ser de alta intensidade, pode gerar respostas fenotípicas tão expressivas que são suficientes para resultar em melhora na tolerância ao exercício no calor.

Os resultados do tecido adiposo apresentados no delineamento 3, demonstraram que o treinamento não influenciou na perda do tecido adiposo, visto que todos os grupos tiveram valores similares dessa variável. Estudo apontou redução do tecido adiposo total após treinamento intervalado de 10 semanas em ratos obesos (MAILLARD *et al.*, 2019). No entanto, o treinamento do estudo citado foi maior do que a do presente estudo, podendo, portanto, justificar as diferenças dos resultados. De qualquer forma, os resultados do atual trabalho apontam que essa variável não influenciou os efeitos encontrados e discutidos aqui nessa tese.

Como conclusão dessa parte da discussão, os dois genes estudados sofreram alteração fenotípica após 2 semanas de intervenção. A HSP70 parece ter relação com a exposição ao calor, já o treinamento intervalado não interferiu a expressão desse gene. De forma contrária, o gene da PGC-1 $\alpha$  parece receber influência somente do treinamento. De forma geral,



mesmo que tenha relação da HSP70 com a termotolerância, o gene HSP70 não parece ter contribuído para a melhora do desempenho aeróbio no calor. No entanto, cabe ressaltar que essa resposta parece ser dependente do estímulo estressor e de como o estresse ao calor é avaliado (seja em repouso ou exercício). Além disso, o treinamento intervalado de alta intensidade parece acionar vias moleculares importantes que se relacionam com a melhor resposta do exercício no calor. E esses resultados demonstraram que a resposta adaptativa desses estímulos, mesmo a nível molecular, parece ser estresse-específico.

#### 4.4 DISCUSSÃO GERAL DOS 3 DELINEAMENTOS

De forma geral, os 3 delineamentos apresentaram que, após intervenção de 2 semanas, somente os grupos que treinaram, independentemente do ambiente ao qual foram expostos, aumentaram o desempenho aeróbio no calor e essa resposta teve associação com a melhora da eficiência termorregulatória desses grupos. Essa melhora da eficiência termorregulatória parece ter relação com a melhora da eficiência mecânica (ou menor produção de calor), que por sua vez pode ter relação com a adaptação fenotípica associadas com a PGC-1 $\alpha$  encontrada após exposição dos animais ao mesmo treinamento intervalado de alta intensidade. Ou seja, o treinamento de alta intensidade pode ter gerado aumento da quantidade de mitocôndrias musculares nesses grupos, o que resultou em melhor eficiência mecânica. A partir disso, pode-se deduzir que a adaptação do metabolismo oxidativo parece ter contribuído para esses resultados. Além disso, a exposição ao calor diminuiu a  $T_{PELE}$  no exercício incremental e a expressão gênica da HSP70, independente do status do treinamento com esses animais. Ou seja, mesmo que tenha ocorrido adaptação em relação à exposição ao calor, essas alterações não parecem ter relação com a melhora do exercício no calor. Dessa forma, esses resultados demonstram que as adaptações, tanto termorregulatórias, como fenotípicas no sóleo são caracterizadas por serem estresse-específico e que as adaptações do treinamento aeróbio de alta intensidade parecem

prevalecer/sobressair sobre as adaptações da exposição ao calor, quando avaliadas seus efeitos em exercício.

A partir do resumo dos resultados acima descritos, podemos concluir que o treinamento intervalado, talvez por ser de alta intensidade, parece ter sido suficiente para gerar adaptações expressivas importantes, tanto no sistema termorregulatório como alterações fenotípicas no sóleo, que resultaram em melhor desempenho aeróbio em exercício no calor. Sendo, portanto, uma importante ferramenta de redução do estresse térmico, ou seja, de aclimatação ao calor. E pode representar uma ferramenta mais rápida de adaptação do que outros treinamentos contínuos, ou seja, é tempo-eficiente.

## 5 CONCLUSÃO

O treinamento intervalado de alta intensidade acarretou modificações no sistema termorregulatório e molecular que resultaram em maior eficiência termorregulatória durante o exercício no calor. A melhora oxidativa parece ter contribuído nas alterações termorregulatórias encontradas; tanto molecularmente (pela alteração da PGC-1 $\alpha$ ), quanto sistemicamente (melhora na eficiência mecânica ou menor produção de calor). O mais interessante foi que o treinamento, talvez por ser em alta intensidade, acarretou adaptações semelhantes ao da aclimação ao calor e que, portanto, gerou efeito de diminuição do estresse térmico em exercícios, tanto constantes como incrementais no calor e possibilitou maior desempenho aeróbio em ambiente quente, ao menos em ratos.



## 6 REFERÊNCIAS

- ASSAYAG, M. *et al.* Long- but not short-term heat acclimation produces an apoptosis-resistant cardiac phenotype: A lesson from heat stress and ischemic/reperfusion insults. *Cell Stress and Chaperones*, v. 15, n. 5, p. 651–664, 2010.
- BILLAT, L. V. Interval Training for Performance: A Scientific and Empirical Practice. *Sports Medicine*, v. 31, n. 2, p. 75–90, 2001..
- BILLAT, V. L. *et al.* Intermittent runs at the velocity associated with maximal oxygen uptake enables subjects to remain at maximal oxygen uptake for a longer time than intense but submaximal runs. *European Journal of Applied Physiology*, v. 81, n. 3, p. 188–196, 2000.
- BLOCK, B. A. Thermogenesis in muscle. *Annual review of physiology*, v. 56, n. October, p. 535–577, 1994.
- BUCHHEIT, M.; LAURSEN, P. B. High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle: Part I: Cardiopulmonary emphasis. *Sports Medicine*, v. 43, n. 5, p. 313–338, 2013.
- BURGOMASTER, K. A. *et al.* Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *The Journal of Physiology*, v. 586, n. 1, p. 151–160, 2008.
- CHALMERS, S. *et al.* Short-term heat acclimation training improves physical performance: A systematic review, and exploration of physiological adaptations and application for team sports. *Sports Medicine*, v. 44, n. 7, p. 971–988, 2014.
- CHILIBECK, P. D. *et al.* Higher mitochondrial fatty acid oxidation following intermittent versus continuous endurance exercise training. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, v. 76, n. 9, p. 891–4, 1998.
- COFFEY, V. G.; HAWLEY, J. A. The Molecular Basis of Training Adaptation. *Sports Medicine*, v. 37, n. 9, p. 737–763, 2007.
- COHEN, J. S.; GISOLFI, C. V. *Effects of interval training on work-heat tolerance of young women. Medicine and Science in Sports*

*and Exercise*. [S.l: s.n.], 1982

COYLE, E. F. *et al.* Physiological and biomechanical factors associated with elite endurance cycling performance. *Medicine and science in sports and exercise*, v. 23, n. 1, p. 93–107, 1991.

DE BARROS, C. L. *et al.* Maximal lactate steady state is altered in the heat. *Int J Sports Med*, v. 32, n. 10, p. 749–753, 2011.

DEROCHER, A. E. *et al.* Expression of a Conserved Family of Cytoplasmic Low Molecular Weight Heat Shock Proteins during Heat Stress and Recovery Published by: American Society of Plant Biologists ( ASPB ). 1. v. 96, n. 4, p. 1038–1047, 2016.

DRUMMOND, L. R. *et al.* Brain Temperature in Spontaneously Hypertensive Rats during Physical Exercise in Temperate and Warm Environments. *PLoS ONE*, v. 11, n. 5, p. 1–19, 2016.

EIKELBOOM, R. Learned anticipatory rise in body temperature due to handling. *Physiology and Behavior*, v. 37, n. 4, p. 649–653, 1986.

FINK, W.J; COSTILL, D L; HANDEL, P. J. Leg Muscle Metabolism during Exercise in the Heat and Cold \*. v. 90, p. 1–8, 1975.

FORDYCE, J. A. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *Journal of Experimental Biology*, v. 209, n. 12, p. 2377–2383, 2006.

FRANCESCONI, R.; HUBBARD, R.; MAGER, M. Thermoregulatory responses in the rat to exercise in the heat following prolonged heat exposure. *Journal of Applied Physiology*, v. 52, n. 3, p. 734–738, 1982.

GIBALA, M. J. *et al.* Short-term sprint interval *versus* traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *The Journal of Physiology*, v. 575, n. 3, p. 901–911, 2006.

GIBALA, M. J.; MCGEE, S. L. Metabolic Adaptations to Short-term High-Intensity Interval Training. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, v. 36, n. 2, p. 58–63, 2008.

GIBSON, O. R. *et al.* Isothermic and fixed-intensity heat

- acclimation methods elicit equal increases in Hsp72 mRNA. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, v. 25, n. S1, p. 259–268, 2015.
- GIBSON, O. R. *et al.* Power relative to body mass best predicts change in core temperature during exercise-heat stress. *Journal of Strength and Conditioning Research*, n. June, p. 1, 2016.
- GONZÁLEZ-ALONSO, J. *et al.* Heat production in human skeletal muscle at the onset of intense dynamic exercise. *J Physiol*, v. 524 Pt 2, p. 603–615, 2000.
- GONZÁLEZ-ALONSO, J. *et al.* Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, v. 86, n. 3, p. 1032–9, 1999.
- GRANATA, C. *et al.* Training intensity modulates changes in PGC-1 $\alpha$  and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. *FASEB Journal*, v. 30, n. 2, p. 959–970, 2016.
- GRUCZA, R. Applied Physiology Body Heat Balance in Man Subjected to Endogenous and Exogenous Heat Load \*. p. 419–433, 1983.
- HAINSWORTH, F. R. Evaporative water loss from rats in the heat. *The American journal of physiology*, v. 214, n. 5, p. 979–982, 1968.
- HALL, G. VAN. Lactate kinetics in human tissues at rest and during exercise. p. 499–508, 2010.
- HELGERUD, J. A. N. *et al.* Aerobic High-Intensity Intervals Improve  $\dot{V}O_2$ . n. 11, p. 665–671, 2007.
- HOLLOSZY, J. Regulation By Exercise of Skeletal Muscle. *J Physiol Pharmacol*, v. 59, n. 7, p. 5–18, 2008.
- HOOD, D. A. Coordination of metabolic plasticity in skeletal muscle. *Journal of Experimental Biology*, v. 209, n. 12, p. 2265–2275, 2006.
- HOROWITZ, M. Epigenetics and cytoprotection with heat acclimation. *Journal of Applied Physiology*, v. 120, n. 6, p. 702–

710, 2016.

HOROWITZ, M. Heat acclimation and cross-tolerance against novel stressors: genomic-physiological linkage. *Progress in Brain Research*, v. 162, n. 06, p. 373–392, 2007.

HOROWITZ, M. Matching the Heart to Heat-Induced Circulatory Load : Heat-Acclimatory Responses. n. 15, p. 215–222, 2003.

HOROWITZ, M.; KODESH, E. Molecular signals that shape the integrative responses of the heat-acclimated phenotype. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 42, n. 12, p. 2164–2172, 2010.

IUPS, Glossary of terms for thermal physiology. Third Edition. The Commission for Thermal Physiology of the International Union of Physiological Sciences. 2001

JAMES, C. A. *et al.* Short-term heat acclimation improves the determinants of endurance performance and 5-km running performance in the heat. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, v. 42, n. 3, p. 285–294, 2017.

KARLSEN, A. *et al.* Time course of natural heat acclimatization in well-trained cyclists during a 2-week training camp in the heat. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, v. 25, n. S1, p. 240–249, 2015.

KEISER, S. *et al.* Heat training increases exercise capacity in hot but not in temperate conditions: a mechanistic counter-balanced cross-over study. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, p. ajpheart.00138.2015, 2015.

KELLY, M. *et al.* Short Duration Heat Acclimation in Australian Football Players. *Journal of sports science & medicine*, v. 15, n. 1, p. 118–25, 2016.

KODESH, E. *et al.* Heat acclimation and exercise training interact when combined in an overriding and trade-off manner: physiologic-genomic linkage. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, v. 301, n. 6, p. R1786-97, 2011.



KODESH, E.; HOROWITZ, M. Soleus adaptation to combined exercise and heat acclimation: Physiogenomic aspects. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 42, n. 5, p. 943–952, 2010.

KOLYBABA, A.; CLASSEN, A. K. Sensing cellular states - Signaling to chromatin pathways targeting Polycomb and Trithorax group function. *Cell and Tissue Research*, v. 356, n. 3, p. 477–493, 2014.

KUENNEN, M. *et al.* Thermotolerance and heat acclimation may share a common mechanism in humans. *AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 301, n. 2, p. R524–R533, 2011.

KUIPERS, H. *et al.* Variability of Aerobic Performance in the Laboratory and Its Physiologic Correlates. v. 6, 1985.

KUNSTETTER, A. C. *et al.* Association between the increase in brain temperature and physical performance at different exercise intensities and protocols in a temperate environment. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 47, n. 8, p. 679–688, 2014.

KUNSTETTER, A. C. *et al.* Pre-exercise exposure to the treadmill setup changes the cardiovascular and thermoregulatory responses induced by subsequent treadmill running in rats. *Temperature*, v. 8940, n. November, p. 00–00, 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23328940.2017.1388343>>.

LAURSEN, P. B.; JENKINS, D. G. The scientific basis for high-intensity interval training: optimising training programmes and maximising performance in highly trained endurance athletes. *Sports Med.*, v. 32, n. 1, p. 53–73, 2002.

LAWRENCE E. ARMSTRONG, P. . Exertional Heat Illness during Training and Competition. p. 556–572, 2007.

LIN, J; WU, H; TARR, P.T; ZHANG, C; WU, Z. Transcriptional co-activator PGC-1 $\alpha$  drives the formation of slow-twitch muscle fibre. *Nature*, v. 418, n. 15, 2002.

LIN, J.; HANDSCHIN, C.; SPIEGELMAN, B. M. Metabolic control

through the PGC-1 family of transcription coactivators. v. 1, n. June, p. 361–370, 2005.

LIU, X. M. *et al.* Glucose metabolic and gluconeogenic pathways disturbance in the intrauterine growth restricted adult male rats. *Chinese Medical Sciences Journal*, v. 24, n. 4, p. 208–212, 2009.

LORENZO, S. *et al.* Heat acclimation improves exercise performance. *Journal Apply Physiology*, v. 109, n. 9, p. 1140–1147, 2010.

MAGALHÃES, F. C. *et al.* Thermoregulatory Efficiency is Increased after Heat Acclimation in Tropical Natives. *Journal of PHYSIOLOGICAL ANTHROPOLOGY*, v. 29, n. 1, p. 1–12, 2010.

MAGALHÃES, F. D. C. *et al.* Heat and exercise acclimation increases intracellular levels of Hsp72 and inhibits exercise-induced increase in intracellular and plasma Hsp72 in humans. *Cell Stress and Chaperones*, v. 15, n. 6, p. 885–895, 2010.

MAILLARD, F. *et al.* High intensity interval training promotes total and visceral fat mass loss in obese Zucker rats without modulating gut microbiota. p. 1–19, 2019.

MALHEIROS-LIMA, M. R. *et al.* Physical exercise-induced cardiovascular and thermoregulatory adjustments are impaired in rats subjected to cutaneous artery denervation. *Frontiers in Physiology*, v. 9, n. FEB, p. 1–16, 2018.

MALOYAN, A. *et al.* HIF-1 $\alpha$ -targeted pathways are activated by heat acclimation and contribute to acclimation-ischemic cross-tolerance in the heart. *Physiological Genomics*, v. 23, n. 1, p. 79–88, 2005.

MALOYAN, A.; PALMON, A.; HOROWITZ, M. Heat acclimation increases the basal HSP72 level and alters its production dynamics during heat stress. *The American journal of physiology*, v. 276, n. 5 Pt 2, p. R1506-15, 1999.

MALOYAN, A.; PALMON, A.; HOROWITZ, M. Heat acclimation increases the basal HSP72 level and alters its production dynamics during heat stress. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 276, n. 5, p. R1506–R1515, 2017.

- MANCHADO, F. B; GOBATTTO, C.A; CONTARTEZE, R.V; PAPOTI, M. M. M. A. . MAXIMAL LACTATE STEADY STATE IN RUNNING RATS. *Journal of Exercise Physiologyonline*, v. 8, n. 4, p. 21–28, 2005.
- MASUZAWA R; KONNO R; OSHAWA I; WARANABE A; KAWNO F. Muscle type-specific RNA polymerase II recruitment during PGC-1 $\alpha$  gene transcription after acute exercise in adult rats. 2018.
- MIDGLEY, A.; MC NAUGHTON, L. Time at or near VO<sub>2</sub>max during continuous and intermittent running. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, v. 46, p. 1–14, 2006.
- MIDGLEY, A. W.; MCNAUGHTON, L. R.; WILKINSON, M. Is there an Optimal Training Intensity for Enhancing the Maximal Oxygen Uptake of Distance Runners? *Sports Medicine*, v. 36, n. 2, p. 117–132, 2006.
- MORGAN, D. W.; MARTIN, P. E.; KRAHENBUHL, G. S. Factors Affecting Running Economy. v. 330, p. 310–330, 1989.
- MOSELEY, P. Heat shock proteins and heat adaptation of the whole organism. n. 13, p. 13–28, 2019.
- MURLASITS, Z. *et al.* Resistance training increases heat shock protein levels in skeletal muscle of young and old rats. *Experimental Gerontology*, v. 41, n. 4, p. 398–406, 2006.
- NAVARRO, C. S. *et al.* Exertional Heat Stroke. v. 16, n. 5, p. 304–305, 2017.
- NIELSEN, B. *et al.* Acute and adaptive responses in humans to exercise in a warm, humid environment. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, v. 434, n. 1, p. 49–56, 1997.
- NIELSEN, B. Heat Acclimation - Mechanisms of Adaptation to Exercise in the Heat. *Int. J. Sports Med.*, v. 19, p. S154–S156, 1998.
- NIELSEN, B. Y. B. *et al.* Human circulatory and thermoregulatory adaptations with heat acclimation and exercise in a hot, dry environment. *Journal of Physiology*, v. 460, n. 1, p. 467–485, 1993.
- NYBO, L. Hyperthermia and fatigue. *Journal of Applied Physiology*,

v. 104, n. 3, p. 871–878, 2008.

NYBO, L.; NIELSEN, B. activity during exercise with progressive hyperthermia Perceived exertion is associated with an altered brain activity during exercise with progressive hyperthermia. *J Appl Physiol Journal of Applied Physiology at University Wales Aberystwyth on*, v. 91, p. 2017–2023, 2001.

NYBO, L.; NIELSEN, B. Middle cerebral artery blood velocity is reduced with hyperthermia during prolonged exercise in humans. *The Journal of physiology*, v. 534, n. Pt 1, p. 279–286, 2001a.

NYBO, L.; NIELSEN, B. Perceived exertion is associated with an altered brain activity during exercise with progressive hyperthermia. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, v. 91, n. 5, p. 2017–2023, 2001b.

NYBO, L.; SECHER, N. H. Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise. *Progress in Neurobiology*, v. 72, n. 4, p. 223–261, 2004.

OLIVEIRA, N. R. C. *et al.* Treadmill training increases SIRT-1 and PGC-1  $\alpha$  protein levels and AMPK phosphorylation in quadriceps of middle-aged rats in an intensity-dependent manner. *Mediators of Inflammation*, v. 2014, 2014.

PETERSEN, C. J. *et al.* Partial heat acclimation in cricketers using a 4-day high intensity cycling protocol. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, v. 5, n. 4, p. 535–545, 2010.

PICOLI, C. DE C. *et al.* Peak velocity as an alternative method for training prescription in mice. *Frontiers in Physiology*, v. 9, n. FEB, p. 1–5, 2018.

PIRES, W. *et al.* Physical Exercise Performance in Temperate and Warm Environments Is Decreased by an Impaired Arterial Baroreflex. *PLoS ONE*, v. 8, n. 8, p. 1–15, 2013.

RABELO, P. C. R. *et al.* Rats with higher intrinsic exercise capacities exhibit greater preoptic dopamine levels and greater mechanical and thermoregulatory efficiencies while running. *Journal of Applied Physiology*, p. japplphysiol.00092.2018, 2018.

RACINAIS, S. *et al.* Consensus Recommendations on Training

and Competing in the Heat. *Sports Medicine*, v. 45, n. 7, p. 925–938, 2015.

RACINAIS, S. *et al.* Effect of heat and heat acclimatization on cycling time trial performance and pacing. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 47, n. 3, p. 601–606, 2014.

RACINAIS, S. *et al.* Individual responses to short-term heat acclimatisation as predictors of football performance in a hot, dry environment. *British Journal of Sports Medicine*, v. 46, n. 11, p. 810–815, 2012.

REEVE, T; GORDON, R; LAURSEN, P.B; JASON, K. . Impairment of Cycling Capacity in the Heat in Well-Trained Endurance Athletes After High-Intensity Short-Term Heat Acclimation. *Journal of sport rehabilitation*, 2019.

ROMANOVSKY, A. A. *The thermoregulation system and how it works*. 1. ed. [S.l.]: Elsevier B.V., 2018. v. 156.

ROSS, A.; LEVERITT, M. Long-term metabolic and skeletal muscle adaptations to short-sprint training: implications for sprint training and tapering. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, v. 31, n. 15, p. 1063–82, 2001.

RUAS, J. L. *et al.* A PGC-1 $\alpha$  isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy. *Cell*, v. 151, n. 6, p. 1319–1331, 2012.

SAMALI, A. Presence of a pre-apoptotic complex of pro-caspase-3, Hsp60 and Hsp10 in the mitochondrial fraction of Jurkat cells. *The EMBO Journal*, v. 18, n. 8, p. 2040–2048, 1999.

SANTIAGO, H. P. *et al.* The improvement of exercise performance by physical training is related to increased hypothalamic neuronal activation. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, v. 43, n. 1, p. 116–124, 2016.

SAREH, H. *et al.* Response of mice to continuous 5-day passive hyperthermia resembles human heat acclimation. *Cell Stress and Chaperones*, v. 16, n. 3, p. 297–307, 2011.

SAUNDERS, P. U. *et al.* Factors Affecting Running Economy in Trained Distance Runners. v. 34, n. 7, p. 465–485, 2004.

SAWKA, M. N. *et al.* Integrated Physiological Mechanisms of Exercise Performance , Adaptation , and Maladaptation to Heat Stress. v. 1, n. October, p. 1883–1928, 2011.

SHELLOCK, F. G.; RUBIN, S. A. Temperature regulation during treadmill exercise in the rat. *Journal of Applied Physiology*, v. 57, n. 6, p. 1872–1877, 1984.

SILVA CORNACHIONE, A. *et al.* Characterization of Fiber Types in Different Muscles of the Hindlimb in Female Weanling and Adult Wistar Rats. *Acta Histochemica Et Cytochemica*, v. 44, n. 2, p. 43–50, 2011.

SILVA, R. *et al.* Effects of a 4-week high-intensity interval training on pacing during 5-km running trial. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 50, n. 12, p. 1–7, 2017.

SMITH, T.; COOMBES, J.; GERAGHTY, D. Optimising high-intensity treadmill training using the running speed at maximal O<sub>2</sub> uptake and the time for which this can be maintained. *European journal of applied physiology*, v. 89, n. 3–4, p. 337–343, 2003.

SUNDERLAND, C.; MORRIS, J. G.; NEVILL, M. E. A heat acclimation protocol for team sports OFICIAL. *British Journal of Sports Medicine*, v. 42, n. 5, p. 327–333, 2008.

TANAKA, H.; YANASE, M.; NAKAYAMA, T. Body Temperature Regulation in Rats during Exercise of Various Intensities at Different Ambient Temperatures. *Japanese Journal of Physiology*, v. 38, p. 167–177, 1988.

TAYLOR, N. A. S. Human heat adaptation. *Comprehensive Physiology*, v. 4, n. 1, p. 325–365, 2014.

TEIXEIRA-COELHO, F. *et al.* Effects of manipulating the duration and intensity of aerobic training sessions on the physical performance of rats. *PLoS ONE*, v. 12, n. 8, p. 1–19, 2017.

TERADA, S. *et al.* Effects of high-intensity intermittent swimming on PGC-1 $\alpha$  protein expression in rat skeletal muscle. *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 184, n. 1, p. 59–65, 2005.

TETIEVSKY, A. *et al.* Heat acclimation memory: do the kinetics of the deacclimated transcriptome predispose to rapid reacclimation

and cytoprotection? *Journal of Applied Physiology*, v. 117, n. 11, p. 1262–1277, 2014.

WALTERS, T. J. *et al.* HSP70 expression in the CNS in response to exercise and heat stress in rats. *Journal of Applied Physiology*, v. 84, n. 4, p. 1269–1277, 2017.

WANNER, S. P. *et al.* Muscarinic cholinceptors in the ventromedial hypothalamic nucleus facilitate tail heat loss during physical exercise. *Brain Research Bulletin*, v. 73, n. 1–3, p. 28–33, 2007.

WANNER, S. P. *et al.* Thermoregulatory responses in exercising rats: methodological aspects and relevance to human physiology. *Temperature*, v. 2, n. 4, p. 457–475, 2015.

WEBB, P. The physiology. *Journal of Applied Physiology*, p. R838–R850, 1995.

WEN, X. *et al.* Effect of exercise intensity on isoform-specific expressions of NT-PGC-1  $\alpha$  mRNA in mouse skeletal muscle. *BioMed Research International*, v. 2014, 2014.

ZOULOUMIAN, P.; FREUND, H. Lactate After Exercise in Man: II. Mathematical Model. p. 135–147, 1981a.

ZOULOUMIAN, P.; FREUND, H. Lactate After Exercise in Man: III. Properties of the Compartment Model. p. 149–160, 1981b.

