

Efeitos do Exercício Acumulado e Contínuo sobre a Função Endotelial em Aorta de Ratos

Effects of Continuous and Accumulated Exercise on Endothelial Function in Rat Aorta

Juliana Edwiges Martinez, Elane de Fátima Taipeiro, Agnaldo Bruno Chies

Faculdade de Medicina de Marília, Marília, SP – Brasil

Resumo

Fundamento: A prática de exercícios em sessões curtas que se repetem ao longo do dia pode ser uma alternativa para tirar as pessoas da inatividade física.

Objetivo: Verificar se o exercício acumulado, tal como ocorre com o treinamento com exercício contínuo, melhora a função endotelial na aorta de ratos.

Métodos: Ratos Wistar machos foram divididos em 3 grupos: treinamento com exercício contínuo (ExC; 1 hora em esteira) ou com exercício acumulado (ExA; 4 sessões de 15 minutos ao longo do dia) por 5 dias/semana, durante 8 semanas, ou grupo sedentário (SED). Durante o treinamento, foram registrados o ganho de peso corporal e desempenho na esteira. No dia do sacrifício, anéis (3-5 mm) da aorta foram obtidos e montados em banho de órgãos.

Resultados: Animais ExC e ExA mostraram aptidão física significativamente maior em comparação com os SED. Paralelamente, em comparação com SED, animais ExC tiveram menor ganho de massa corporal, e aortas retiradas desses animais mostraram respostas contráteis à noradrenalina reduzidas e maior relaxamento induzido pela acetilcolina. Esses resultados não foram observados no grupo ExA.

Conclusões: Tanto o ExC quanto o ExA melhoraram a aptidão física, mas somente o ExC foi capaz de reduzir o ganho de peso corporal dos animais e melhorar a função endotelial. (Arq Bras Cardiol. 2017; 108(4):315-322)

Palavras-chave: Ratos; Exercício; Aptidão Física; Endotélio; Acetilcolina; Norepinefrina; Perda de Peso.

Abstract

Background: The practice of exercise in short bouts repeated throughout the day may be an alternative strategy to lift people out of physical inactivity.

Objective: to evaluate if accumulated exercise, as occurs in continuous exercise training, improve endothelial function in rat aorta.

Methods: Wistar male rats were divided into three groups: continuous exercise (CEX, 1 hour on the treadmill) or accumulated exercise (AEX, 4 bouts of 15 minutes / day) for 5 days/week for 8 weeks, or sedentary (SED). During the training period, body weight gain and increase in exercise performance were recorded. On sacrifice day, aorta was dissected into rings (3-5 mm) and mounted on the organ bath.

Results: Fitness was significantly greater in CEX and AEX rats as compared with SED animals. In addition, compared with the SED group, CEX animals had a lower body mass gain, and the aorta obtained from these animals had reduced contractile response to norepinephrine and greater acetylcholine-induced relaxation. These results were not observed in AEX animals.

Conclusions: Both CEX and AEX improved fitness, but only CEX led to reduced body weight gain and improved endothelial function. (Arq Bras Cardiol. 2017; 108(4):315-322)

Keywords: Rats; Exercise; Physical Fitness; Endothelium; Acetylcholine; Norepinephrine; Weight Loss.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Juliana Edwiges Martinez •

Alameda Guanabara, 555. CEP 17602-110, Ibirapuera, Tupã, SP – Brasil
E-mail: julianaedwmartinez@hotmail.com, julianaedwmartinez@gmail.com
Artigo recebido em 08/05/16, revisado em 07/11/16, aceito em 21/11/16

DOI: 10.5935/abc.20170036

Introdução

O exercício é considerado um importante instrumento na promoção da saúde e prevenção de doenças cardiovasculares. É definido como qualquer “atividade física planejada, estruturada e repetitiva que tem como objetivo final ou intermediário a melhora ou manutenção da forma física”.^{1,2} O padrão de atividade física que traz melhor benefício à saúde ainda é discutido na literatura. Normalmente, recomenda-se a prática de exercícios de intensidade moderada no mínimo 3 dias por semana,³ ou por sessões de 10 minutos ou mais em alta intensidade intercalados com intervalos de recuperação, i.e., períodos de exercícios leves ou repouso.^{4,5} Por outro lado, recomendações atuais também sugerem que sessões curtas de atividade física de intensidade moderada acumuladas ao longo do dia, até alcançar a meta de 30 minutos de exercícios – o chamado exercício acumulado² – podem ser aplicadas para melhorar a saúde ou como tratamento adjuvante de doenças cardiovasculares.⁶ De fato, a prática de exercício acumulado pode ser uma alternativa para tirar as pessoas da inatividade física.⁷

Os benefícios do exercício acumulado para a saúde já foram demonstrados: aumento dos níveis de lipoproteína de alta densidade,^{8,9} redução dos níveis pós-prandiais de triglicérides,¹⁰ dos níveis de pressão sanguínea,^{11,12} das dobras cutâneas e circunferência da cintura, e melhora da forma física e estado de humor.^{6,13} No entanto, não há evidências sobre a influência do exercício acumulado sobre a função endotelial.

Os benefícios do exercício na função endotelial ocorrem principalmente pelo aumento da tensão de cisalhamento na superfície endotelial, estimulando assim, a expressão do óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), ciclooxigenase 2 (COX-2) e superóxido dismutase-1 (SOD-1).¹⁴⁻¹⁷ No entanto, foi demonstrado, em culturas de células endoteliais, que o tempo de exposição à tensão de cisalhamento tem influência sobre a expressão dessas enzimas.^{15,18} Particularmente em relação ao eNOS, foi demonstrado que o tempo de exposição influencia o grau de fosforilação e, dessa forma, regula sua atividade.¹⁹ Portanto, pode-se inferir que a exposição a diferentes tempos de exercício possa ter diferentes efeitos na expressão de enzimas endoteliais. Assim, o objetivo deste estudo foi verificar se o treinamento por exercício acumulado melhora a função endotelial em aorta de rato similarmente ao que ocorre em consequência do treinamento por exercício contínuo.

Métodos

Animais

Trinta e três ratos machos Wistar pesando 300-400g foram mantidos em gaiolas plásticas (50 x 40 x 20 cm), 5 animais por gaiola, com comida e água “ad libitum”. O tamanho da amostra (n) foi determinado com base em estudos que avaliaram os efeitos do exercício contínuo sobre a função endotelial.^{16,20} Esses estudos serviram de base para o presente estudo que investiga os efeitos cardiovasculares do exercício acumulado. Durante o protocolo de exercício, os animais foram mantidos na sala de treinamento em ciclo claro/escuro de 12 horas, com início às 7h, à temperatura ambiente (25°C). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina de Marília (protocolo número 627/13).

Protocolo de exercício

Os ratos foram inicialmente treinados para caminhar em uma esteira (Movement Technology LX 170). Em seguida, foram submetidos a sessões diárias de 10 minutos de 0,3 a 0,5 km/h, sem inclinação, por duas semanas. No final desse período, os animais foram submetidos ao teste de desempenho de corrida na esteira. O teste consistia de exercício graduado na esteira com aumentos de 0,3 km/h a cada 3 minutos, iniciando a 0,3 km/h e aumentando até a intensidade máxima alcançada por cada rato. Com base nos resultados nesse teste, os animais foram aleatoriamente alocados em um dos seguintes grupos: sedentários (SED), treinados por exercício contínuo (ExC), ou treinados por exercício acumulado (ExA), com média de capacidade máxima de exercício similar em cada grupo. Em seguida, os animais do grupo ExC foram expostos a esse exercício 5 dias por semana, 1 hora por dia (iniciando à 9h da manhã) por 8 semanas. A intensidade do exercício foi aumentada progressivamente até a terceira semana, combinando-se tempo e velocidade, até o máximo de 2 horas por dia de exercício, a 60% da capacidade máxima de exercício. Paralelamente, os animais do grupo ExA foram submetidos a quatro sessões curtas de exercício (15 minutos, à mesma velocidade que aplicado ao grupo ExC) distribuídas regularmente ao longo do dia (07:30am, 10:25am, 01:05pm e 03:45pm), 5 dias por semana, por 8 semanas. Os ratos do grupo SED eram diariamente colocados na esteira parada. O peso corporal era medido semanalmente durante o período de treinamento. Cada animal foi submetido aos testes de capacidade de corrida no início do protocolo e na semana 6, para ajuste da intensidade do exercício e avaliação da melhora no desempenho.

Eutanásia e coleta das amostras

Ao final do período de treinamento, os animais foram sacrificados por inalação de CO₂ e exsanguinação por punção da veia cava. As amostras de sangue foram coletadas em seringas heparinizadas e centrifugadas (3500 rpm/10 min/4°C) para obtenção do plasma, que foi armazenado a -80°C. Em seguida, as aortas foram removidas e imersas em solução gelada de Krebs-Henseleit, e os corações foram pesados.

Substâncias Reativas com Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Os níveis de TBARS foram determinados pelo método de Yagi²¹ adaptado. Em resumo, a peroxidação lipídica foi determinada por reação do malondialdeído (MDA) com o ácido tiobarbitúrico para formar um composto cromogênico de cor de rosa que pode ser quantificado por espectrofotometria (em 532 nm). Os valores de absorvância detectados nas amostras foram interpolados na curva padrão do tetrametoxipropano (0-100 μM).

Capacidade antioxidante do plasma (Capacidade do plasma em reduzir íon férrico - FRAP)

O método descrito por Benzie e Strain²² baseia-se na capacidade do plasma em reduzir íons Fe⁺⁺⁺ a Fe⁺⁺ (FRAP, *Ferric Reducing Ability of Plasma*) na presença de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) em pH baixo, com a formação de Fe⁺⁺-tripiridil-triazina, de cor azul. Três soluções foram

preparadas antes do início dos experimentos: A (tampão acetato: 300 mM, pH 3,6 e 40 mM HCl), B (TPTZ - 2,4,6-tri-[2-piridil]-s-triazina -10 mM), e C ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 20 mM). O reagente de trabalho foi preparado adicionando-se A + B + C na razão 10:1:1 (V/V). Em seguida, as amostras de plasma (0,08 mL) foram adicionadas à mistura de água deionizada (2,4 mL) e reagente de trabalho (0,25 mL). Essa solução foi distribuída em microplaca em paralelo com a usada como branco (somente reagente de trabalho) e as amostras da curva padrão (FeSO_4 0-1000 mmol/L). As amostras foram lidas em espectrofotômetro a 593 nm, e suas concentrações calculadas (em $\mu\text{M/L}$) por interpolação na curva padrão.

Banho de órgãos

Em uma placa de Petri coberta com parafina, contendo solução de Krebs-Henseleit, as aortas foram cuidadosamente divididas em anéis (3-5 mm). Esses anéis foram colocados em banho de órgãos de 2 mL, fixado a um ganho de aço inoxidável ligado a um suporte estacionário e a um gancho conectado a um transdutor de força isométrica. O banho de órgãos continha uma solução de Krebs-Henseleit composta de (em mM): NaCl 130; KCl 4,7; CaCl_2 1,6; KH_2PO_4 1,2; MgSO_4 1,2; NaHCO_3 15 e glicose 11,1). A solução de Krebs-Henseleit foi mantida a 37°C e pH 7,4, e continuamente borbulhada com uma mistura de 95% de CO_2 e 5% de O_2 . A tensão foi monitorada constantemente e registrada utilizando-se o sistema de aquisição de dados Powerlab 8/30 d (ADInstruments, Austrália). Antes de se adicionar o medicamento, os anéis foram equilibrados durante 60 minutos sob uma tensão de repouso de 1,5 g.

Todas as preparações foram desafiadas com 10^{-4} mol/L de acetilcolina (ACh) após contração induzida por fenilefrina para se verificar a integridade endotelial. Algumas tiveram o endotélio removido mecanicamente, o que foi confirmado pela ausência de relaxamento em resposta à ACh. Posteriormente, as preparações intactas e as preparações sem endotélio foram desafiadas com concentrações cumulativas de noradrenalina (10^{-10} - 10^{-4} mol/L). As preparações intactas também foram desafiadas com concentrações cumulativas de noradrenalina na presença de N^{ω} -nitro-L-arginina metil éster (L-NAME, 10^{-4} mol/L), um inibidor não seletivo de NOS, adicionado 20 minutos antes do desafio. Ainda, as preparações intactas foram desafiadas com concentrações simples de ACh (10^{-4} mol/L) após contração induzida por fenilefrina 10^{-5} mol/L.

Curvas de concentração-resposta foram construídas com as respostas (g) a esses agentes vasoativos (adicionados em concentrações cumulativas ao banho de órgãos). Regressões não lineares (inclinações variáveis) revelaram a R_{max} (resposta máxima; ponto mais elevado de cada curva concentração-resposta) e o pEC_{50} (logaritmo negativo da concentração que provocou 50% da resposta máxima). O pEC_{50} é indicativo da sensibilidade à droga estudada.

As seguintes drogas foram utilizadas: cloreto de acetilcolina, bitartarato de norepinefrina L monohidratada, hidrocloreto de N $^{\omega}$ -nitro-L-arginina metil éster, e hidrocloreto de fenilefrina, todos adquiridos da Sigma Chemical Co.

Análise estatística

Os dados são descritos em média \pm erro padrão da média. Os dados obtidos nos grupos ExC e ExA foram comparados independentemente com os obtidos no grupo SED pelo teste *t* de Student. Antes da aplicação do teste, a normalidade dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. A análise estatística foi realizada usando-se o programa GraphPad Prism versão 6.0. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Resultados

Teste de capacidade de corrida

Durante o período de treinamento, uma melhora significativa no desempenho da corrida foi observada nos grupos ExC e ExA (Figura 1A e 1B) em comparação aos animais SED. Em contraste, no mesmo período, observou-se uma diminuição no desempenho no grupo SED.

Peso corporal e peso do coração

Durante o período de treinamento, o ganho de peso corporal foi significativamente menor ($p < 0,05$) nos ratos do grupo ExC ($11,69 \pm 3,28\%$; $n = 11$) em comparação aos animais SED ($21,38 \pm 1,19\%$; $n = 11$). Por outro lado, o ganho de peso corporal em animais do grupo ExA ($21,38 \pm 1,19\%$; $n = 11$) não foi estatisticamente diferente em comparação aos animais SED. O peso do coração no grupo ExC ($1,30 \pm 0,04$ g; $n = 11$) ou ExA ($1,37 \pm 0,05$ g; $n = 11$) não foi estatisticamente diferente daquele encontrado no grupo SED ($1,38 \pm 0,05$ g; $n = 11$).

TBARS e FRAP

Os valores de TBARS nos animais ExC e ExA [$17,85 \pm 3,57$ ($n = 11$) e $24,91 \pm 5,18$ ($n = 11$), respectivamente] não foram significativamente diferentes que no grupo SED [$20,88 \pm 5,29$ ($n = 11$)].

Tanto o exercício contínuo como o exercício acumulado não tiveram efeito sobre a capacidade antioxidante do plasma, uma vez que os valores de FRAP nos grupos ExC e ExA [$1309,00 \pm 74,04$ ($n = 11$) e $1222,00 \pm 55,98$ ($n = 11$), respectivamente] não foram significativamente diferentes que no grupo SED [$1215,00 \pm 57,11$ ($n = 11$)].

Respostas vasculares

O ExC reduziu a magnitude das respostas à noradrenalina na aorta, com redução significativa nos valores da R_{max} em comparação aos animais do grupo SED. No entanto, não foram observadas diferenças significativas nos valores pEC_{50} entre os grupos (Figura 2A). Tal redução na R_{max} à noradrenalina não foi observada nas preparações pré-tratadas com L-NAME (Figura 2C) ou em preparações sem endotélio (Figura 2E). Por outro lado, a pequena diminuição nas respostas à noradrenalina induzida por ExA não resultou em reduções significativas na R_{max} ou pEC_{50} (Figura 2B), e foi suprimida pela presença de L-NAME (Figuras 2C e D) ou pela remoção do endotélio (Figuras 2E e F).

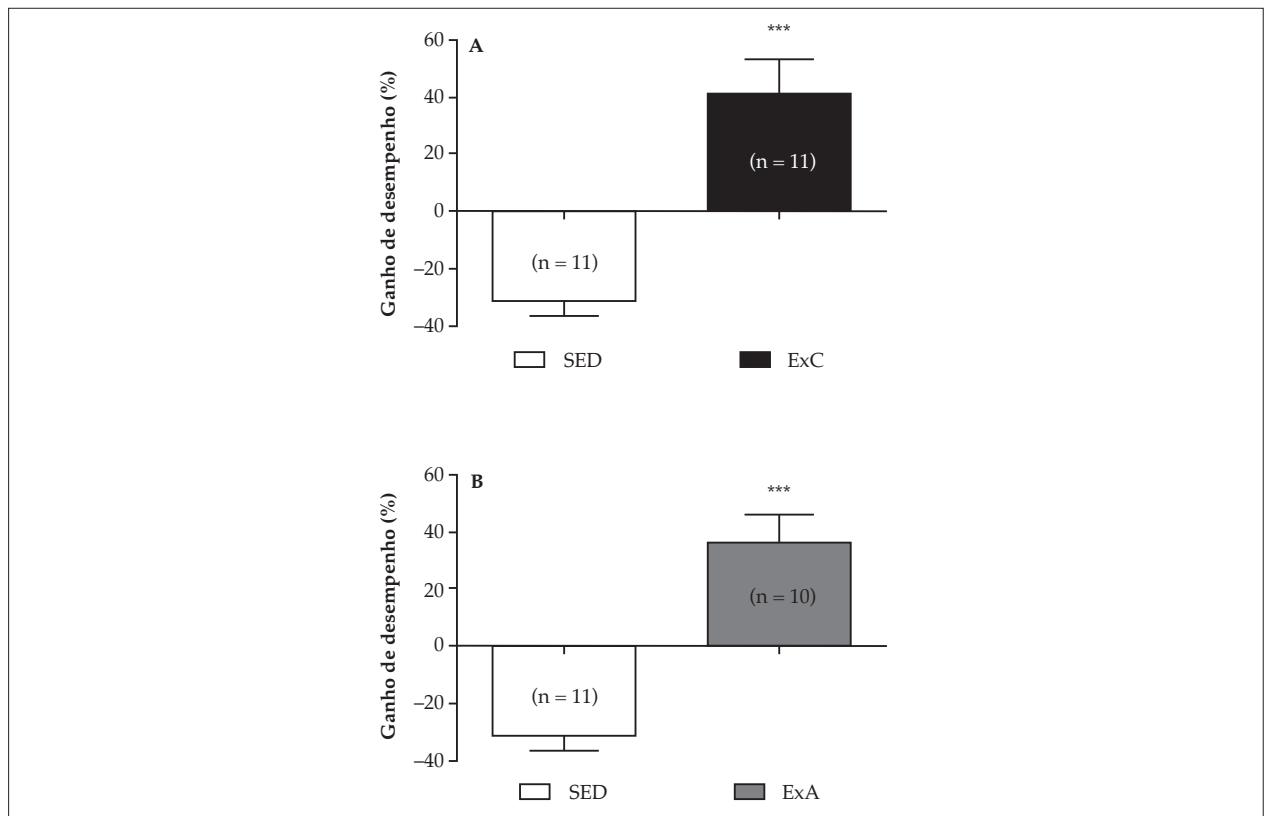


Figura 1 – Ganho de desempenho (%) nos animais submetidos ao treinamento com exercício contínuo (ExC; A) ou exercício acumulado (ExA; B), em comparação aos animais sedentários (SED). As colunas representam média \pm erro padrão da média; em parênteses, número de medidas independentes. *** $p < 0,001$ em comparação aos animais SED (teste t de Student não pareado).

Ainda, o ExC aumentou o relaxamento induzido por ACh (10^{-4} mol/L) da aorta intacta previamente contraída com fenilefrina (10^{-5} mol/L) (Figura 3A). Tal efeito não foi observado com o ExA (Figura 3B).

Discussão

A eficácia da prática de exercícios regulares na redução do risco de doenças cardiovasculares foi comprovada.³ No entanto, a ideia de que somente longas sessões de exercícios ou exercícios intensos são benéficos à saúde pode comprometer a adesão a essa prática.²³ De fato, a flexibilidade no regime de exercício, incluindo intensidade, duração e frequência, pode levar à melhora na adesão.^{6,24} A prática de exercício em sessões curtas, porém repetidas ao longo do dia pode ser uma maneira alternativa de se alcançar os benefícios do exercício.³

Em relação a doenças cardiovasculares, mais estudos são necessários para se confirmar os efeitos benéficos do exercício acumulado praticado em várias sessões curtas sobre o endotélio vascular. Nesse contexto, nós comparamos uma sessão de exercício contínuo (1 hora/dia) com a mesma quantidade de exercício distribuído em quatro sessões curtas, repetidas ao longo do dia para avaliar os efeitos benéficos e cumulativos do exercício. Apesar de não ter sido objetivo deste estudo, propor um programa de exercício que pudesse

ser usado em humanos (o que limita a extrapolação de nossos dados a humanos), o estudo levanta a discussão sobre a utilidade do exercício acumulado na prática clínica.

Interessante ressaltar que, neste estudo, não só o exercício contínuo, como também o exercício acumulado aumentou a capacidade de corrida na esteira dos animais. Apesar das limitações de modelos experimentais em reproduzir protocolos de treinamento destinados a humanos, esses achados sugerem que os efeitos positivos do exercício acumulado sobre a forma física observada nos animais também possam ocorrer em humanos.¹¹ Por exemplo, o exercício acumulado pode ser uma abordagem alternativa para ajudar indivíduos a abandonarem um estilo de vida sedentário.

A melhora na capacidade de corrida na esteira não foi acompanhada por mudanças no peso do coração ou nos níveis de TBARS ou FRAP. Esses resultados indicam que, apesar de os protocolos de ExC e ExA não terem aumentado as defesas antioxidantes, também não aumentaram significativamente os níveis plasmáticos de radicais livres. Tal fato pode ser explicado pela intensidade de exercícios aplicada – 50-60% da capacidade máxima – considerada uma intensidade moderada.

Além disso, o exercício aeróbico foi sugerido como uma estratégia no controle de peso.^{6,13} Sua efetividade foi comprovada na redução da pressão sanguínea,^{7,12} dos níveis pós-prandiais de triglicerídeos,¹⁰ das pregas cutâneas

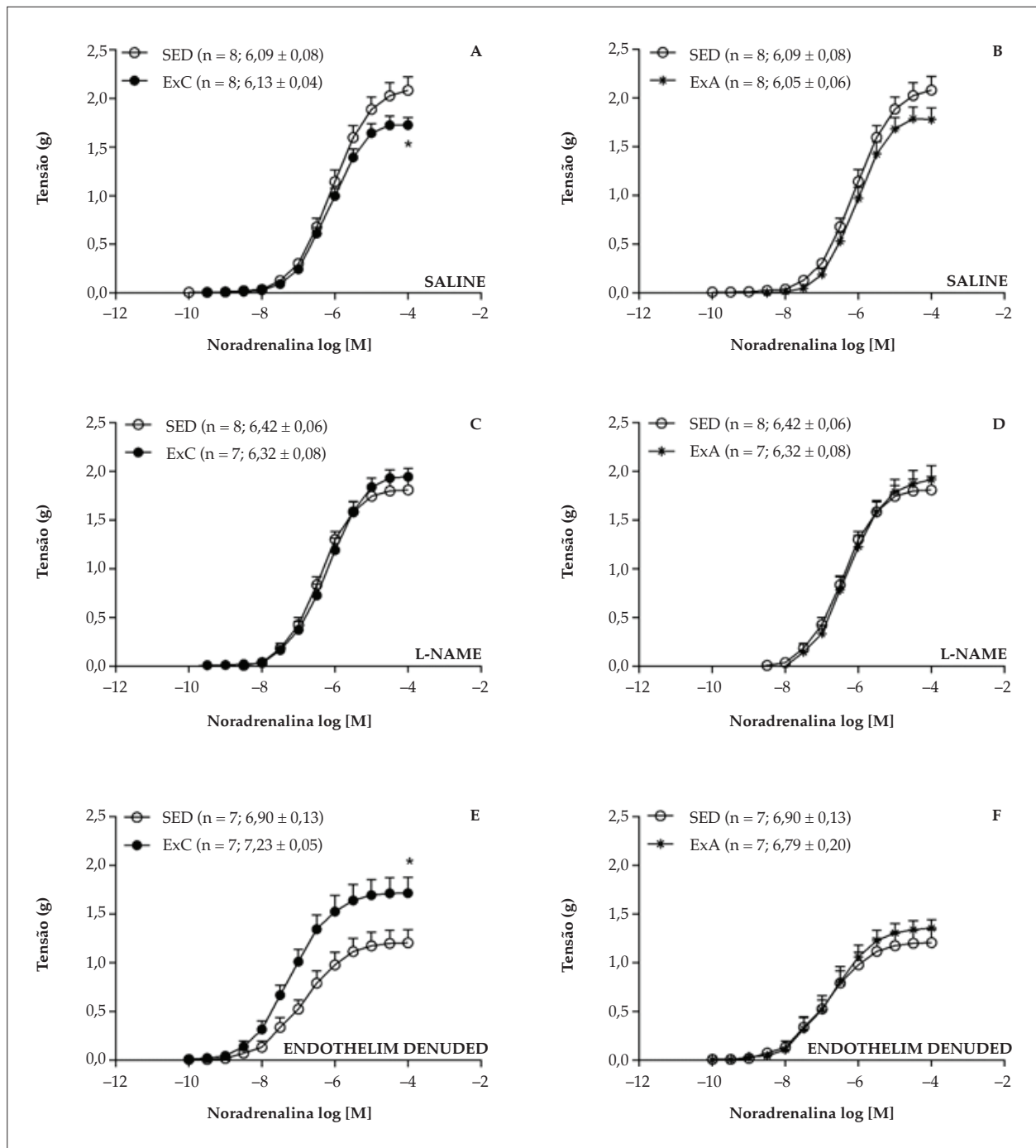


Figura 2 – Curvas de concentração-resposta à noradrenalina determinadas em preparações intactas de aorta obtida de animais submetidos a exercício contínuo (ExC) ou exercício acumulado (ExA), em comparação a animais sedentários (SED) não tratados (A e B) ou tratados com L-NAME 10^{-4} mol/L (C e D), e de preparações de aorta torácica sem endotélio não tratadas (E e F). Em parênteses, número de medidas independentes (n) seguido pelos valores de pEC50. Dados em média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$ em comparação ao grupo SED (teste t de Student não pareado).

e da circunferência da cintura,⁶ e no aumento nos níveis de lipoproteína de alta densidade.^{8,9} No presente estudo, contudo, em comparação aos animais do grupo SED, o ganho de peso corporal foi significativamente mais baixo no ExC mas não no grupo ExA.

Ainda, o exercício pode causar um aumento do fluxo laminar na superfície endotelial, aumentando, assim, a tensão de cisalhamento nessa superfície.²⁵ Uma tensão de cisalhamento aumentada no endotélio pode induzir a expressão de várias enzimas envolvidas na síntese de

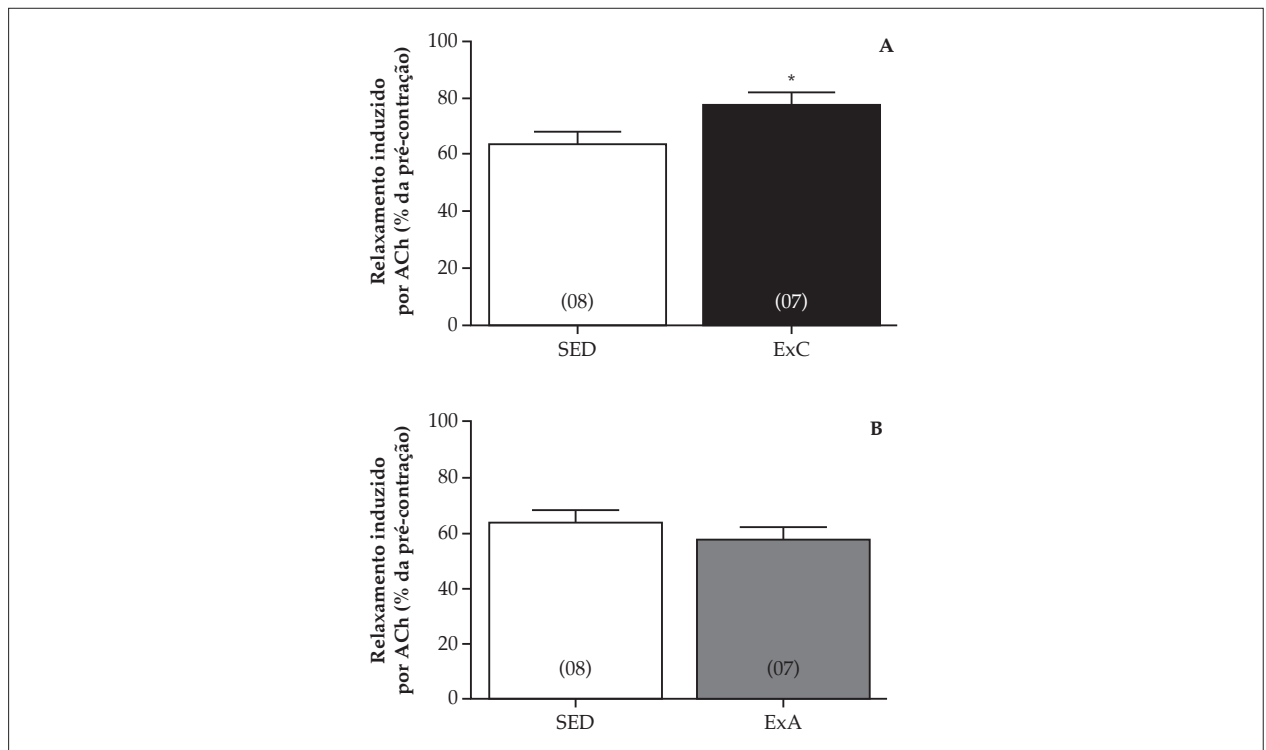


Figura 3 – Relaxamento induzido por acetilcolina (ACh; 10^{-4} mol/L), em % da pré-contratação induzida por fenilefrina (Phe; 10^{-5} mol/L), em animais submetidos ao treinamento com exercício contínuo (ExC, A) ou exercício acumulado (ExA, B) em comparação a animais sedentários (SED). As colunas representam média \pm erro padrão da média; em parênteses, número de medidas independentes. * $p < 0,001$ em comparação aos animais SED (teste t de Student não pareado).

substâncias que regulam o tônus vascular, o equilíbrio oxidativo local, o processo de coagulação e inflamação do endotélio.^{26,27} Assim, o exercício pode aumentar a produção endotelial de substâncias vasodilatadoras e, dessa forma, modular as respostas à noradrenalina em leitos vasculares, incluindo a aorta em ratos.^{14,16}

O presente estudo mostrou que o ExC diminuiu as respostas à noradrenalina na aorta, com redução da R_{max} , o que indica uma melhora na função endotelial. O principal fator relaxante derivado do endotélio é o NO, um gás difusível sintetizado principalmente pela enzima eNOS no endotélio vascular. Em nosso estudo, a redução da R_{max} foi suprimida pelo L-NAME, um inibidor não-seletivo de NOS, ou revertida em preparações sem endotélio. Uma vez que a expressão de eNOS pode aumentar com a tensão de cisalhamento, aumentando, assim, a síntese de NO,^{18,20,27} a redução das respostas à noradrenalina na aorta de rato induzida pelo ExC pode ser explicada pela maior eficiência dos mecanismos relacionados ao NO endotelial, em consequência de uma maior expressão de eNOS endotelial. O envolvimento do NO derivado do endotélio na redução das respostas à noradrenalina em aorta de animais expostos ao ExC também foi descrito por outros estudos.^{16,20,28}

O aumento na resposta à noradrenalina, caracterizada por elevação da R_{max} e pEC_{50} , induzido por ExC nas preparações da aorta sem endotélio foi inesperado, mas reforça o papel fundamental do endotélio na modulação dessa resposta nessas preparações. Além disso, o NO parece ser o principal mediador do relaxamento induzido por ACh nas preparações

com aorta de ratos.²⁹ Dessa forma, o aumento no relaxamento induzido por ACh corrobora o envolvimento de mecanismos relacionados ao NO no endotélio dessas preparações.

Infelizmente, a evidência de uma melhora na função endotelial foi demonstrada somente por estudos envolvendo exercício contínuo ou intermitente. Evidências de um efeito direto do ExA sobre o endotélio são escassas na literatura. Assim, uma vez que verificamos que o ExC melhora a função endotelial em nossas condições experimentais, começamos a investigar se a distribuição do exercício em sessões curtas (com duração total correspondente a uma sessão de exercício contínuo) levava a efeitos similares sobre o endotélio. O ExA não levou a aumentos significativos nas respostas à noradrenalina ou à ACh nas preparações da aorta, sugerindo que essa modalidade de exercício não exerce nenhum efeito sobre a função endotelial. Vale ressaltar que estudos prévios demonstraram que os efeitos da tensão de cisalhamento sobre as enzimas envolvidas na produção endotelial de substâncias regulatórias dependem do tempo de exposição ao exercício.^{18,19,27} Nossos achados sugerem que os efeitos benéficos do exercício sobre a função endotelial são alcançados somente se o exercício for praticado por um período suficiente.^{30,31} Contudo, o tempo mínimo necessário para que tais efeitos sejam observados é ainda desconhecido.

Nossos achados sobre o efeito do ExA sobre o endotélio vascular não são conclusivos e não podem ser extrapolados à prática clínica, dada a natureza experimental deste estudo, e ao fato de que, em nosso conhecimento, este é o primeiro estudo

que investiga esse efeito nessas condições. Ainda, em nosso estudo, as curvas de concentração-resposta à noradrenalina apresentou uma tendência descendente. Assim, é possível que a melhora na função endotelial induzida por ExA ocorra em animais com disfunção endotelial causada por envelhecimento, hipertensão, aterosclerose ou diabetes, e animais com exposição crônica ao álcool e/ou fumo.³² Na realidade, um dos poucos estudos sobre o efeito direto do ExA sobre a função endotelial foi realizado em adolescentes do sexo masculino submetidos à ingestão de café da manhã e almoço ricos em gordura. A dieta induziu a disfunção endotelial nesses indivíduos, a qual foi revertida por sessões curtas de exercício repetidas ao longo de um dia.³³ Além disso, foi demonstrado que 30 minutos de caminhada divididos em sessões de 10 minutos (com intervalos de 50 minutos de descanso) foi eficaz na redução da pressão sistólica em indivíduos hipertensos.³⁴ Tal redução pode estar envolvida, ao menos em parte, com a melhora na função endotelial induzida pelo exercício. Portanto, outros estudos com modelos de disfunção endotelial são necessários para melhor compreensão do potencial terapêutico do ExA.

Conclusão

Os protocolos de exercício contínuo e acumulado utilizado neste estudo melhorou a forma física dos animais, o que sugere a utilidade do ExA como estratégia para

introduzir os indivíduos a programas de treinamento físico. No entanto, em comparação ao ExC, o ExA não foi efetivo na prevenção do ganho de peso corporal ou na melhoria da função endotelial da aorta desses animais.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa, Análise e interpretação dos dados, Obtenção de financiamento e Redação do manuscrito: Martínez JE, Taipeiro EF; Obtenção de dados, Análise estatística e Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Martínez JE, Chies AB, Taipeiro EF.

Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de Dissertação de Mestrado de Juliana Edwiges Martínez pela Faculdade de Medicina de Marília.

Referências

1. Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep.* 1985;100(2):126-31.
2. Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee IM, et al., American College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2011;43(7):1334-59.
3. Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39(8):1423-34.
4. Rognmo Ø, Hetland E, Helgerud J, Hoff J, Slørdahl SA. High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2004;11(3):216-22.
5. Tordi N, Mourot L, Colin E, Regnard J. Intermittent versus constant aerobic exercise: effects on arterial stiffness. *Eur J Appl Physiol.* 2010;108(4):801-9.
6. Murphy MH, Blair SN, Murtagh EM. Accumulated versus continuous exercise for health benefit: a review of empirical studies. *Sports Med.* 2009;39(1):29-43.
7. Padilla J, Wallace JP, Park S. Accumulation of physical activity reduces blood pressure in pre- and hypertension. *Med Sci Sports Exerc.* 2005;41(8):1264-75.
8. Boreham CA, Wallace WF, Nevill A. Training effects of accumulated daily stair-climbing exercise in previously sedentary young women. *Prev Med.* 2000;30(4):277-81.
9. Mestek ML, Garner JC, Plaisance EP, Taylor JK, Alhassan S, Grandjean PW. Blood lipid responses after continuous and accumulated aerobic exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2006;16(3):245-54.
10. Miyashita M, Burns SF, Stensel DJ. Exercise and postprandial lipemia: effect of continuous compared with intermittent activity patterns. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(1):24-9.
11. Park S, Rink LD, Wallace JP. Accumulation of physical activity leads to a greater blood pressure reduction than a single continuous session, in prehypertension. *J Hypertens.* 2006; 24(9):1761-70.
12. von Känel R. Accumulation of 30 min of moderately intense physical activity is a clinically meaningful treatment to reduce systolic blood pressure in prehypertension. *J Hum Hypertens.* 2008;22(7):444-6.
13. Schmidt WD, Biber CJ, Kalscheuer LK. Effects of long versus short bout exercise on fitness and weight loss in overweight females. *J Am Coll Nutr.* 2001;20(5):494-501.
14. Donato AJ, Lesniewski LA, Delp MD. Ageing and exercise training alter adrenergic vasomotor responses of rat skeletal muscle arterioles. *J Physiol.* 2007;579(Pt 1):115-25.
15. Malek AM, Izumo S, Alper SL. Modulation by pathophysiological stimuli of the shear stress-induced up-regulation of endothelial nitric oxide synthase expression in endothelial cells. *Neurosurgery.* 1999;45(5):334-44.
16. Spier SA, Laughlin MH, Delp MD. Effects of acute and chronic exercise on vasoconstrictor responsiveness of rat abdominal aorta. *J Appl Physiol.* 1999;87(5):1752-7.
17. Cattaruzza M, Guzik TJ, Słodowski W, Pelvan A, Becker J, Halle M, et al. Shear stress insensitivity of endothelial nitric oxide synthase expression as a genetic risk factor for coronary heart disease. *Circ Res.* 2004;95(8):841-7.

18. Ishibazawa A, Nagaoka T, Takahashi T, Yamamoto K, Kamiya A, Ando J, et al. Effects of shear stress on the gene expressions of endothelial nitric oxide synthase, endothelin-1, and thrombomodulin in human retinal microvascular endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(11):8496-504.
19. Boo YC, Sorescu G, Boyd N, Shiojima I, Walsh K, Du J, et al. Shear stress stimulates phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase at Ser1179 by Akt-independent mechanisms: role of protein kinase A. *J Biol Chem.* 2002;277(5):3388-96.
20. Delp MD, McAllister RM, Laughlin MH. Exercise training alters endothelium-dependent vasoreactivity of rat abdominal aorta. *J Appl Physiol.* 1993;75(3):1354-63.
21. Yagi K. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. *Methods Mol Biol.* 1998;108:101-6.
22. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996;15(1):70-6.
23. Pate RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Macera CA, Bouchard C, et al. Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA.* 1995;273(5):402-7.
24. Perri MG, Anton SD, Durning PE, Ketterson TU, Sydeman SJ, Berlant NE, et al. Adherence to exercise prescriptions: effects of prescribing moderate versus higher levels of intensity and frequency. *Health Psychol.* 2002;21(5):452-8.
25. Rodríguez-Núñez I, Romero F, Saavedra MJ. Exercise-induced shear stress: Physiological basis and clinical impact. *Arch Cardiol Mex.* 2016;86(3):244-54.
26. Marin T, Gongol B, Chen Z, Woo B, Subramaniam S, Chien S, et al. Mechanosensitive microRNAs-role in endothelial responses to shear stress and redox state. *Free Radic Biol Med.* 2013;64:61-8.
27. Topper JN, Cai J, Falb D, Gimbrone MA Jr. Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(19):10417-22.
28. Chen HI, Li HT, Chen CC. Physical conditioning decreases norepinephrine-induced vasoconstriction in rabbits. Possible roles of norepinephrine-evoked endothelium-derived relaxing factor. *Circulation.* 1994;90(2):970-5.
29. Freitas MR, Schott C, Corriu C, Sassard J, Stoclet JC, Andriantsitohaina R, et al. Heterogeneity of endothelium-dependent vasorelaxation in conductance and resistance arteries from Lyon normotensive and hypertensive rats. *J Hypertens.* 2003;21(8):1505-12.
30. Johnson LR, Parker JL, Laughlin MH. Chronic exercise training improves A Ch-induced vasorelaxation in pulmonary arteries of pigs. *J Appl Physiol.* 2000;88(2):443-51.
31. Trott DW, Gunduz F, Laughlin MH, Woodman CR. Exercise training reverses age-related decrements in endothelium-dependent dilation in skeletal muscle feed arteries. *J Appl Physiol.* 2009;106(6):1925-34.
32. Favero G, Paganelli C, Buffoli B, Rodella LF, Rezzani R. Endothelium and its alterations in cardiovascular diseases: life style intervention. *Biomed Res Int.* 2014;801896.
33. Sedgwick MJ, Morris JG, Nevill ME, Barrett LA. The accumulation of exercise and postprandial endothelial function in boys. *Scand J Med Sci Sports.* 2014;24(1):e11-9.
34. Park S, Rink L, Wallace J. Accumulation of physical activity: blood pressure reduction between 10-min walking sessions. *J Hum Hypertens.* 2008;22(7):475-82.