

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ- REITORIA DE PÓS GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS**

JOSÉ UILIEN DE OLIVEIRA

**EFEITOS DO EXERCÍCIO AERÓBIO EM DIFERENTES
MOMENTOS NO CICLO CLARO-ESCURO SOBRE A
COMPOSIÇÃO CORPORAL, DESEMPENHO FÍSICO E
PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS
WISTAR**

SÃO CRISTÓVÃO

2025

JOSÉ UILLEN DE OLIVEIRA

**EFEITOS DO EXERCÍCIO AERÓBIO EM DIFERENTES
MOMENTOS NO CICLO CLARO-ESCURO SOBRE A
COMPOSIÇÃO CORPORAL, DESEMPENHO FÍSICO E
PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS
WISTAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Fisiológicas.

SÃO CRISTÓVÃO

2025

	<p>JOSÉ ULLIEN DE OLIVEIRA</p> <p>EFEITOS DO EXERCÍCIO AERÓBIO EM DIFERENTES MOMENTOS NO CICLO CLARO-ESCURO SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, DESEMPENHO FÍSICO E PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS WISTAR</p> <p>2025</p>
--	--

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

Oliveira, José Uilien de

O48e Efeitos do exercício aeróbio em diferentes momentos no ciclo claro-escuro sobre a composição corporal, desempenho físico e parâmetros de estresse oxidativo em ratos Wistar / José Uilien de Oliveira; orientador Felipe José Aidar Martins. – São Cristóvão, SE, 2025.

74 f. : il.

Tese (doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, 2025.

1. Exercícios físicos. 2. Ritmos circadianos. 3. Estresse oxidativo. 4. Desempenho. I. Martins, Felipe José Aidar, orient. II. Título.

CDU 612.014.44:796.015

JOSÉ UILIEN DE OLIVEIRA

**EFEITOS DO EXERCÍCIO AERÓBIO EM DIFERENTES
MOMENTOS NO CICLO CLARO-ESCURO SOBRE A
COMPOSIÇÃO CORPORAL, DESEMPENHO FÍSICO E
PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM
RATOS WISTAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Aprovada em 01/08/2025

1º Examinador: Prof^a. Dr^a. Jessica Maria Dantas Araújo Aragão

2º Examinador: Prof. Dr. José Ronaldo dos Santos

3º Examinador: Prof. Dr. Jymmys Lopes dos Santos

4º Examinador: Prof. Dr. Diego Pinto de Oliveira

5º Examinador: Prof. Dr. Felipe José Aidar Martins

Dedico este trabalho a minha mãe *Claudia de Oliveira*, professora inspiradora e de caráter bondoso, e minha avó Maria Francisca de Oliveira. Ambas sempre preocupadas e dando apoio a minha jornada.

“Todos os homens sonham, mas não da mesma forma. Os que sonham de noite, nos recessos poeirentos das suas mentes, acordam de manhã para verem que tudo, afinal, não passava de vaidade. Mas os que sonham acordados, esses são homens perigosos, pois realizam os seus sonhos de olhos abertos, tornando-os possíveis.”

Thomas Edward Lawrence.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha mãe, minha avó e familiares pelo apoio.

Ao meu orientador Professor Dr. Felipe José Aidar, por oportunizar, guiar e apoiar esse grande momento em minha vida.

Aos colegas do programa e do grupo de pesquisa, que dentro do possível ajudaram dedicando um tempinho da sua vida a este trabalho.

A todos os colaboradores que fazem parte do Laboratório de Análise de Alimentos e Enzimologia da Universidade Federal de Sergipe. Obrigado por tudo!

Aos professores do programa que em suas aulas puderam colaborar solucionando dúvidas e alimentando a inspiração pela prática docente.

Aos professores externos ao programa Professor Dr. Anderson Carlos Marçal, parte fundamental nesse trabalho, Professor Dr. Jymmys Lopes dos Santos colaborou efetivamente para a construção dessa conquista e a Professora Dr^a. Ana Mara de Oliveira e Silva colaborando e permitindo um grande aprendizado. Muito obrigado!

Agradeço de coração em especial a Jainara Lima e Jessica Denielle, pois este trabalho alcançou esse patamar graças a sua colaboração. Aos professores: Damião Alves, Damião Barbosa e a EMEF Prof.^a Maria Carlota de Melo, o apoio de vocês foi primordial nessa jornada.

Imensamente grato a todos!

RESUMO

Efeitos do exercício aeróbio em diferentes momentos no ciclo claro-escuro sobre a composição corporal, desempenho físico e parâmetros de estresse oxidativo em ratos Wistar, José Uilien de Oliveira, São Cristóvão, 2025

O Treinamento físico é reconhecido como uma intervenção de baixo custo, além de ser uma estratégia segura e importante na prevenção e tratamento de doenças, e envolve ajustes comportamentais e moleculares de diferentes vias metabólicas. Dentre estas, ainda é pouco explorada a influência do treinamento físico sobre o ritmo circadiano, especialmente no contexto muscular e redox. Nesta perspectiva, o presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do exercício aeróbio realizado em diferentes fases do ciclo claro-escuro sobre a composição corporal, desempenho físico e parâmetros de estresse oxidativo e resposta antioxidante em ratos *Wistar*. Ratos machos foram submetidos a um protocolo de treinamento aeróbio em esteira durante o período claro (dia) ou escuro (noite) por sete semanas, cinco dias por semanas, e os efeitos foram avaliados em diferentes tecidos e tempos pós-exercício (1h, 24h, 48h e 72h). Os animais exercitados durante a noite apresentaram maior desempenho físico, menor estresse oxidativo e melhor resposta antioxidante, especialmente no músculo sóleo ($p < 0,01$), abundante em fibras oxidativas. Já o treinamento diurno promoveu aumento do estresse oxidativo, particularmente no músculo gastrocnêmio ($p < 0,01$), seguido por um aumento tardio da atividade antioxidante ($p < 0,05$) e da síntese de proteínas, sugerindo uma resposta adaptativa compensatória. Na composição corporal, o exercício aeróbio reduziu a gordura visceral independentemente do horário do treinamento ($p < 0,0001$), o que sugere que os mecanismos lipolíticos são menos sensíveis à modulação circadiana. Além disso, diferenças específicas na massa muscular foram observadas: o sóleo respondeu positivamente ao exercício em ambos os horários ($p < 0,01$), ($p < 0,0001$) respectivamente, enquanto o gastrocnêmio apresentou hipertrofia apenas no período diurno ($p < 0,05$), e o quadríceps não demonstrou alterações significativas ($p > 0,05$). Essas evidências sugerem que o momento em que o exercício aeróbio é executado pode atuar de forma específica sobre as adaptações muscular redox, reforçando o papel do ritmo circadiano na regulação do metabolismo muscular e na performance. A realização do exercício na fase ativa dos roedores (período escuro) mostrou-se mais eficaz para a promoção de benefícios funcionais e antioxidantes. Por fim, os resultados ressaltam a importância de considerar o ritmo biológico na elaboração de protocolos de treinamento físico em modelos experimentais. Sugere-se a investigação e avaliação de mais componentes relacionados ao ciclo circadiano e à sinalização redox, o que poderá ser abordado em investigações futuras.

Palavras-chaves: treinamento físico, ritmo circadiano, estresse oxidativo, desempenho.

ABSTRACT

Effects of aerobic exercise at different time points in the light-dark cycle on body composition, physical performance, and oxidative stress parameters in wistar rats, José Uilien de Oliveira, São Cristóvão, 2025

Physical training is recognized as a low-cost intervention, as well as being a safe and essential strategy in the prevention and treatment of diseases. These events involve behavioral and molecular adjustments of different metabolic pathways. Among these, the influence of physical training on the circadian rhythm, especially in the muscular and redox context, is still under-explored. In this perspective, the present study aimed to investigate the effects of aerobic exercise performed at different phases of the light-dark cycle on body composition, physical performance, and parameters of oxidative stress and antioxidant response in Wistar rats. Male rats were subjected to an aerobic training protocol on a treadmill during the light (day) or dark (night) period for seven weeks, and the effects were evaluated in different tissues and post-exercise times (1h, 24h, 48h, and 72h). Animals exercised at night showed higher physical performance, lower oxidative stress, and better antioxidant response, especially in the soleus muscle ($p < 0.01$), which is abundant in oxidative fibers. Daytime training promoted increased oxidative stress, particularly in the gastrocnemius muscle ($p < 0.01$), followed by a delayed increase in antioxidant activity ($p < 0.05$) and protein synthesis, suggesting a compensatory adaptive response. In terms of body composition, aerobic exercise significantly reduced visceral fat, regardless of training time ($p < 0.0001$), suggesting that lipolytic mechanisms are less sensitive to circadian modulation. In addition, specific differences in muscle mass were observed: the soleus responded positively to exercise at both times ($p < 0.01$), ($p < 0.0001$) respectively, while the gastrocnemius showed hypertrophy only during the daytime ($p < 0.05$), and the quadriceps showed no significant changes ($p > 0.05$). This evidence suggests that the time at which aerobic exercise is performed may have a specific effect on muscle and redox adaptations, reinforcing the role of the circadian rhythm in regulating metabolism and performance. Exercise during the active phase of the rodents (dark period) proved to be more effective in promoting functional and antioxidant benefits. Finally, the results highlight the importance of considering biological rhythms when designing physical training protocols in experimental models. Further investigation and evaluation of components related to the circadian cycle and redox signaling are suggested, which could be addressed in future research.

Keywords: physical training, circadian rhythm, oxidative stress, performance.

RESUMO PARA A SOCIEDADE

Efeitos do exercício aeróbio em diferentes momentos no ciclo claro-escuro sobre a composição corporal, desempenho físico e parâmetros de estresse oxidativo em ratos Wistar, José Uilien de Oliveira, São Cristóvão, 2025.

A prática de exercício físico é uma forma segura, acessível e eficaz de prevenir e tratar diversas doenças. Este estudo buscou entender como o horário em que o exercício é realizado pode influenciar o corpo, especialmente em relação ao metabolismo muscular e ao equilíbrio entre substâncias oxidantes e antioxidantes. Os pesquisadores treinaram ratos em esteira por sete semanas, durante o dia e noite. Eles observaram como esses treinos afetaram o desempenho físico, a composição corporal e o estresse causado nas células dos músculos. Os resultados mostraram que os ratos que se exercitaram à noite, período em que são naturalmente mais ativos, tiveram melhor desempenho, menos estresse oxidativo e uma resposta antioxidante mais eficiente, principalmente em músculos usados em atividades de longa duração. Já os que treinaram durante o dia apresentaram maior estresse celular, mas também mostraram sinais de adaptação do organismo com o tempo. Independentemente do horário, todos os animais reduziram a gordura visceral, aquela que se acumula ao redor dos órgãos, o que é benéfico para a saúde. Porém, os músculos responderam de maneira diferente dependendo do horário: alguns cresceram mais com treino diurno, outros com treino noturno. Esses achados destacam a importância do nosso relógio biológico, o chamado ritmo circadiano, na forma como o corpo responde ao exercício. Realizar atividades físicas no momento em que estamos naturalmente mais ativos pode trazer mais benefícios para o desempenho e a saúde.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1 – Classificação dos biomarcadores relacionados ao estresse oxidativo.....	23
Tabela 2 – Delineamento dos grupos experimentais.....	38
Quadro 1 – Protocolo de Adaptação e Capacidade aeróbica máxima.....	40
Figura 1 – Ativação da molécula AMPK e beta-oxidação após exercício físico aeróbio.	19
Figura 2 – Mecanismos de produção de EROs durante o exercício.....	27
Figura 3 – Desenho esquemático do relógio molecular.....	29
Figura 4 – Linha do tempo de execução dos procedimentos realizados.....	38
Figura 5 – Protocolo de aplicação da intensidade treinamento aeróbio.....	41
Figura 6 – Aplicação do volume de tempo de treinamento aeróbio.....	41
Figura 7 – Análise da composição corporal de animais sedentários e treinados.....	46
Figura 8 – Análise do peso absoluto e relativo dos tecidos musculares.....	47
Figura 9 – Gráfico do TCAM nos períodos Dia (ciclo claro) e Noite (ciclo escuro).....	48
Figura 10 – Análise das concentrações de FRAP no tecido cardíaco.....	49
Figura 11 – Análise das concentrações de FRAP nos tecidos musculares: Quadríceps, Gastrocnêmio e Sóleo.....	50
Figura 12 – Análise das concentrações de proteínas totais no tecido cardíaco.....	51
Figura 13 – Análise das concentrações de proteínas totais nos tecidos musculares: Quadríceps, Gastrocnêmio e Sóleo.....	52
Figura 14 – Análise das concentrações de marcadores de estresse oxidativo MDA e SH no tecido muscular Gastrocnêmio.....	53

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

- OH - Radical hidroxila
- $^1\text{O}_2$ - Oxigênio singlete
- 8-oxo-dG - 8-hidroxidesoxiguanosina
- ACSM - American College of Sports Medicine
- ATP - adenosina trifosfato
- Ca^{2+} - Cálcio intracelular
- CAT - Catalase
- CPT-1 - Carnitina palmitoiltransferase 1
- DNA - ácido desoxirribonucleico
- ERN - Espécies reativas de nitrogênio
- EROs - espécies reativas de oxigênio
- FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power
- GPX - Glutadiona Peroxidase
- GSH - Glutathiona
- H_2O_2 - Peróxido de hidrogênio
- HDL - High-Density Lipoprotein
- HO_2 - Radical hidroperoxila
- HOCl - ácido hipocloroso
- MAPK - proteína quinase ativada por mitógeno
- MDA - Malonaldeído
- ME - Tecido muscular esquelético
- NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
- NF- κ B – Nuclear factor- κ B
- $\text{NO}\cdot$ - Radical óxido nítrico
- NOX - NADPH oxidase
- TCAM – Teste de Capacidade Aeróbia Máxima

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Hipóteses.....	15
1.2 Referencial Teórico.....	16
2 OBJETIVOS	36
2.1 Objetivo Geral.....	36
2.2 Objetivos Específicos.....	36
3 METODOLOGIA	37
3.1 Animais.....	37
3.2 Delineamento experimental.....	37
3.3 Protocolo de aplicação do ciclo claro - escuro.....	39
3.4 Protocolo de adaptação, testes e de treinamento.....	39
3.5 Preparo do Material biológico.....	42
3.6 Índice de Massa corpórea.....	42
3.7 Quantificação de proteínas -Bradford.....	42
3.7.1 Preparação de curvas de proteínas individuais.....	42
3.7.2 Determinação espectrofotométrica da proteína total dos tecidos.....	43
3.8 Análise da atividade redox.....	43
3.8.1 Análise da Capacidade Antioxidante (FRAP).....	43
3.8.2 Determinação de MDA (TBARS).....	43
3.8.3 Sulfidrilas Totais (Tiois).....	44
3.9 Análise Estatística.....	44
4 RESULTADOS	45
4.1 Efeitos do treinamento aeróbio em momentos do dia e da noite na composição corporal.....	45
4.2 Desempenho Físico no teste de capacidade aeróbia varia conforme o período do dia que o exercício é realizado.....	47
4.3 Respostas redox ao exercício e adaptação temporal ao músculo esquelético.....	48
5 DISCUSSÃO	54
6 CONCLUSÃO	58
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXO	74
APÊNDICE	75

1 INTRODUÇÃO

A quantidade de estudos científicos que envolvem a análise do efeito exercícios físicos na saúde aumenta exponencialmente (Smith e Zigmond, 2003; Wang et al, 2019). De acordo com eles, o desenvolvimento de métodos de treinamento monitorados e executados requer um rigor técnico exigido para cada modalidade e em ambiente controlado.

Em roedores, o exercício físico pode ser induzido por meio de aparatos adaptados, capazes de recrutar grupamentos musculares semelhantes aos utilizados por seres humanos. A utilização de roedores como modelo experimental para se avaliar os efeitos de diferentes modalidades de exercício físico é uma alternativa viável e importante, devido a sua reprodutibilidade da carga de treinamento e a possibilidade de afastar respostas não específicas relacionadas ao estresse (Toval et al, 2017; Toval et al, 2020). Todavia, variações nas condições ambientais de alojamento ou criação, número de animais por gaiola, composição alimentar ou período do ciclo claro/escuro, podem afetar as adaptações ao exercício promovidas pelos programas de treinamento, refletindo numa baixa capacidade física do animal (González-Alonso, Crandall e Johnson, 2008; Castelhana-Carlos e Baumans, 2009; Pellizzon e Ricci, 2020).

Para essa última variável citada anteriormente, um estudo de revisão expôs que apenas 44,5% dos estudos descreveram o horário de início dos ciclos claro/escuro e alguns estudos deram dados precisos sobre o horário de início do experimento. Ainda, foi notado que 74% dos relatos que descrevem o ciclo claro-escuro, os experimentos desenvolveram-se durante o período da fase clara, mas na maioria deles não foi encontrada justificativa para a escolha desse período (Garrigos et al, 2021). É importante destacar que a luz é o principal sincronizador dos ritmos circadianos, por meio da ação do núcleo supraquiasmático e dos relógios periféricos, resultando ao longo do dia em diferentes respostas metabólicas (Hawkins, Golledge, 2018; Valentinuzzi).

A maioria dos modelos experimentais utilizados em pesquisas apresentam atividade predominantemente noturna (Verra et al., 2020). O que pode refletir no exercício, onde variáveis como habituação duração da sessão, velocidade, frequência e duração do programa de exercícios, que pode impactar são determinantes para

garantir a reprodutibilidade do treinamento (Toval et al, 2017; Toval et al, 2020; Brown et al, 2017). Outros pontos relevantes a abordar são os fatores como o tempo decorrido entre a última sessão de exercícios, os testes propostos e a coleta biológica, a fim de evitar interpretações errôneas circadianas e metabólicas (Scheer et al, 2009; Barnard e Nolan, 2008).

Além disso, o exercício modula o estresse oxidativo por meio de mecanismos que envolvem a ativação de vias antioxidantes e a regulação de mediadores como glucocorticoides, citocinas e temperatura corporal (Tahara & Shibata, 2018). Alterações no ciclo claro-escuro, por sua vez, podem exacerbar o estresse oxidativo sistêmico, especialmente em modelos de obesidade ou dieta hipercalórica, sendo que o exercício aeróbico pode atenuar esses efeitos ao melhorar a resposta antioxidante e reduzir marcadores inflamatórios (Tan et al., 2024; Cortés-Espinar et al., 2023). Assim, há uma interação dinâmica entre exercício aeróbico, estresse oxidativo e o ciclo claro-escuro em roedores, com implicações relevantes para a regulação circadiana e metabolismo.

Os estudos pré-clínicos envolvendo roedores podem ser beneficiados se demandas como as supracitadas forem incluídas em seus desenhos experimentais. Portanto, o objeto desse estudo é investigar os efeitos do exercício aeróbico realizado em diferentes fases do ciclo claro-escuro sobre a composição corporal, desempenho físico e parâmetros de estresse oxidativo e resposta antioxidante em ratos Wistar. A fim de permitir a reprodutibilidade do mesmo delineamento experimental, incluindo as intervenções no ciclo claro e escuro, horário de início e término dos experimentos e coletas de material biológico.

1.1 Hipóteses

- Hipótese alternativa (H_1):
O horário do exercício físico aeróbico modula diferencialmente as respostas metabólicas, antioxidantes e de desempenho físico em ratos *Wistar*, promovendo adaptações mais favoráveis durante a fase ativa do ciclo claro-escuro.
- Hipótese nula (H_0):
O horário do exercício físico aeróbico não influencia significativamente as respostas metabólicas, antioxidantes ou de desempenho físico em ratos *Wistar*.

1.2 Referencial Teórico

1.2.1 Treinamento Aeróbio e seus benefícios metabólicos e moleculares

O treinamento aeróbio (TA) é uma modalidade de exercício físico que por meio dos ajustes de suas variáveis, promove adaptações metabólicas importantes no organismo. Devido aos seus benefícios metabólicos e fisiológicos, o TA é amplamente recomendado como principal estratégia de prevenção e tratamento para diversas doenças (Wewege et al., 2018). Essa modalidade de treinamento é caracterizada pela utilização de oxigênio (O₂) na oxidação de substratos, que fornece energia para a contração muscular. Geralmente, as atividades aeróbicas são de longa duração, realizadas de forma contínua e com intensidades baixas ou moderadas (Dominiciano et al., 2010).

Diante dos benefícios proporcionados pelo exercício aeróbio, organizações mundiais e especialistas da área da saúde, embasadas em evidências científicas, enfatizam a prática de exercícios físicos como estratégia fundamental para combater o sedentarismo e promover a longevidade. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda a prática de 150 a 300 minutos semanais de atividade aeróbica moderada a vigorosa para todas as pessoas, incluindo aquelas com algum tipo de incapacidade ou doença crônica (Camargo e Anez, 2020). Além disso, o American College of Sports Medicine (ACSM) sugere a realização de atividades aeróbicas de treinamento moderado por, no mínimo, 30 minutos, cinco dias por semana, ou exercícios de treinamento vigoroso por pelo menos 20 minutos, três dias por semana, para indivíduos saudáveis entre 18 e 65 anos (Franklin et al, 2021).

Essas recomendações baseiam-se nas alterações agudas e crônicas promovidas pelo treinamento aeróbico. Pessoas que têm estilo de vida ativo desde jovens previnem o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, Diabetes *Mellitus* tipo 2, sarcopenia, osteoporose, entre outras patologias que reduzem a expectativa de vida do indivíduo (Wewege et al, 2018). A prescrição do treinamento aeróbio deve ser realizada a partir do controle de suas variáveis: volume, intensidade e o tipo de modalidade de treinamento levando-se em consideração a recuperação entre cada sessão, com base na individualidade biológica do sujeito (Rejc, Del Torto e Lazzer, 2017).

Assim, a prescrição adequada do TA é fundamental para maximizar seus benefícios, melhorando os componentes da aptidão física individualizada, reduzindo as consequências de lesões, promovendo maior adesão ao programa de exercícios um longo prazo.

Sob essa perspectiva, uma revisão sistemática demonstrou que o exercício aeróbio isolado é capaz de melhorar uma série de fatores de risco de associados à síndrome metabólica (Wewege et al. 2018). O TA reduz a dislipidemia, aumentando os níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL) e diminuindo os níveis de triglicérides, o que reduz o risco do desenvolvimento de doenças cardiovasculares, além de diminuir a pressão arterial em adultos com síndrome metabólica (Wewege et al. 2018). Além desses benefícios, o exercício regular reduz os riscos de doenças metabólicas crônicas, como diabetes tipo 2 e doença hepática esteatótica associada a síndrome metabólica, sendo que muitos desses benefícios metabólicos do exercício dependem de influências adaptativas do músculo esquelético (Thyfault e Bergouignan, 2020). Dessa forma, o músculo esquelético exerce função central na regulação metabólica, sendo um dos principais tecidos responsáveis pela homeostase energética durante e após o exercício, proporcionando adaptações fisiológicas e metabólicas, reforçando a importância do exercício como estratégia terapêutica para prevenir a síndrome metabólica e suas comorbidades (Aoi, Naito e Toshikazu Yoshikawa, 2011).

Considerando esse enfoque, estudo realizado com humanos previamente inativos, com sobrepeso ou obesidade sugere que diferentes doses de exercício, independentemente do volume ou intensidade, diminuiriam a gordura hepática e o tecido adiposo visceral (Keating et al, 2015). O que demonstra os efeitos do exercício na manutenção energética e sua capacidade de interação com outros tecidos, além do impacto significativo no sistema periférico.

O exercício aeróbio é capaz de promover ajustes na massa corporal e pressão arterial diastólica, onde nem a duração do programa de exercícios ou intervenção dietética, parecem mostrar benefícios adicionais em pessoas com síndrome metabólica (Ostman, 2017). Esses resultados evidenciam que o exercício aeróbio é uma estratégia eficaz na modulação de fatores de risco metabólicos, reforçando sua importância na prevenção e no tratamento da síndrome metabólica.

Dessa forma, compreender os mecanismos pelos quais o exercício físico influencia a homeostase energética e a interação com outros tecidos é fundamental para a melhorar a saúde metabólica a longo prazo.

Com isso, o exercício físico promove efeitos metabólicos que atenuam fatores de risco associados a síndrome metabólica, reduzindo depósitos de gordura corporal e a inflamação (Yarizadeh et al. 2021), conseqüentemente, devido a demanda energética exigida proporciona alterações na biogênese mitocondrial de maneira coordenada, modulando a quantidade e a qualidade das mitocôndrias no tecido muscular esquelético (ME), reverberando em outros tecidos (Lee e Wook, 2018). Estudo recente por Lin et al. (2024) mostrou que o treinamento físico melhora a disfunção mitocondrial e resistência à insulina por meio de ajustes benéficos nesta organela através da ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) estimulada pela irisina, miosina conhecida por ser ativada por meio da contração muscular.

Além disso, a ativação da AMPK promove a ativação do coativador gama 1-alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PGC-1 α), um regulador importante da biogênese mitocondrial e da capacidade oxidativa (Zhou et al, 2024). Após ativação do PGC-1 α , a associação ao receptor ativado por proliferadores de peroxissomo tipo beta (PPAR β) induz a transcrição do fator respiratório nuclear 1 (NRF1) molécula-chave envolvida na regulação de genes importantes da biogênese mitocondrial (Zhou et al, 2024). Além destes eventos intracelulares, há também o aumento da expressão da carnitina palmitoiltransferase 1 (CPT-1), promovida pelo exercício físico, esta molécula está envolvida na oxidação de ácidos graxos. Como consequência, ocorre melhora da eficiência energética e da sensibilidade à insulina em diferentes territórios teciduais do corpo inteiro (Toledo e Goodpaster, 2013) **(Figura 1)**.

Deste modo, podemos enfatizar que o exercício aeróbio desencadeia respostas Benéficas para a saúde mitocondrial e isso está associado à longevidade e a uma maior capacidade intrínseca do exercício (Aon et al, 2021).

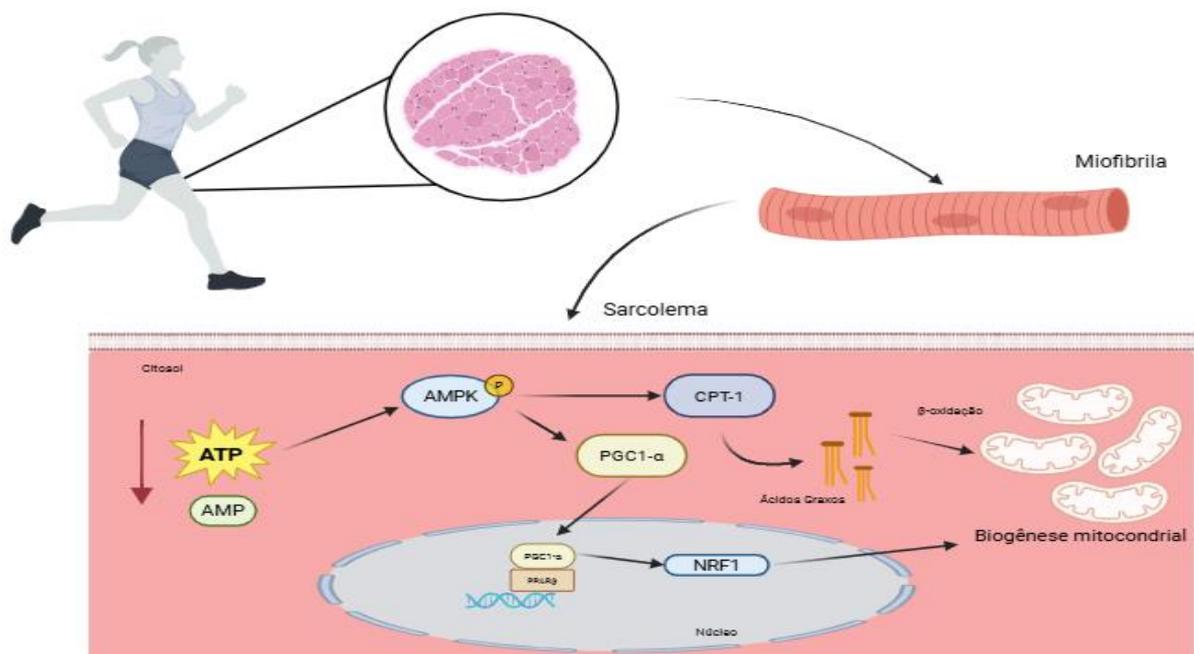


Figura 1: Ativação da molécula AMPK na participação da biogênese mitocondrial e beta-oxidação após exercício físico aeróbio. Fonte: Biorender.

O aumento da atividade mitocondrial eleva a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), onde os níveis moderados, promovem adaptações celulares, que envolvem o aumento da expressão de enzimas antioxidantes e ativação de mecanismos de reparo (Powers et al, 2024). Essa resposta adaptativa reduz o estresse oxidativo crônico, o que pode resultar na proteção contra disfunções metabólicas e inflamatórias associadas à diversas comorbidades (He et al, 2016).

1.2.2 Marcadores de estresse oxidativo no exercício físico

O exercício aeróbio modula o estado redox dependendo do manejo das variáveis como, intensidade e duração. Além disso, exercícios de alta intensidade levam ao aumento da peroxidação lipídica e lesões celulares. Essas alterações a longo prazo, promovem adaptações e melhorias no sistema antioxidante, fortalecendo os mecanismos de defesa celular (Gomes, Silva e Oliveira, 2012). Assim, marcadores de dano oxidativo são frequentemente avaliados para monitorar a integridade celular e a resposta adaptativa ao exercício (Delwing-de Lima et al, 2017).

Neste contexto, compreender as relações entre marcadores de estresse oxidativo e danos teciduais são fundamentais para avaliação dos impactos do exercício no metabolismo, principalmente quando são realizados estudos clínicos,

onde podemos analisar de maneira mais aprofundada os mecanismos subjacentes ao exercício físico.

1.2.2.1 Biomarcadores de estresse oxidativo

O estresse oxidativo começou a ser estudado a partir da década de 80, sofrendo alterações no seu conceito a partir das descobertas realizadas, que mostravam os seus efeitos no organismo. Atualmente, o conceito de estresse oxidativo é definido como: desequilíbrio entre os sistemas oxidantes e antioxidantes, sendo esse desequilíbrio favorável aos oxidantes, levando a interferências em sinalização e controle redox e/ou danos moleculares em lipídeos, proteínas e DNA (Sies, 2020). No ano de 1985, Sies e Cadenas demonstraram que os radicais livres, podem surgir tanto de fontes externas, como radiação e toxinas, quanto de processos celulares normais, e podem ser detectados por diversos biomarcadores (Ji e Yeo, 2021). Assim, os radicais livres são considerados os principais agentes responsáveis pelos efeitos deletérios do estresse oxidativo, uma vez que o aumento da sua produção pode desencadear alterações funcionais e estruturais importantes em células e tecidos, responsáveis pelo desenvolvimento de algumas doenças.

Nesta perspectiva, os radicais livres são subprodutos tóxicos do metabolismo aeróbico extremamente reativos que possuem elétrons desemparelhados, que levam a lesões oxidativas e teciduais importantes, como também participam de vias de sinalização redox no organismo (Hassan et al, 2024). Por ser um processo natural do organismo, o corpo possui um sistema para manter o equilíbrio e neutralizar essas moléculas tóxicas. Os antioxidantes possuem papéis protetores e sua função é neutralizar os radicais livres, podendo ser encontrados em alimentos (exógenos) ou produzidos pelo organismo (endógenos), atuando contra processos patológicos mediados pelo estresse oxidativo (Gulcin, 2020). Nesse sentido, o equilíbrio entre a produção de radicais livres e a ação dos antioxidantes é essencial para a manutenção da homeostase corporal, no qual as mudanças nesses mecanismos são fatores determinantes para o desenvolvimento de diversas doenças e disfunções fisiológicas (Sharifi-Rad et al, 2020).

Os radicais livres mais estudados e conhecidos envolvem as espécies reativas de oxigênio (ERO) e as espécies reativas de nitrogênio (ERN), sendo as EROs moléculas que contêm pelo menos um átomo de oxigênio e elétrons desemparelhados, dentre os quais estão o radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxila ($\bullet OH$), radical hidroperoxila (HO_2), oxigênio singlete (1O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), bem como radicais livres de nitrogênio como o óxido nítrico ($NO\bullet$) e o peroxinitrito ($ONOO^-$) (Jakubczyk et al, 2020). Em condições fisiológicas normais, as EROs são formadas por meio de processos celulares, como metabolismo aeróbico, processos inflamatórios, bem como moléculas sinalizadoras (Jakubczyk et al, 2020). Essas moléculas atuam em processos que induzem a diferenciação celular e a apoptose, contribuindo assim para o processo natural de envelhecimento, contrações musculares, regulação do tônus vascular e determinam atividade bactericida e bacteriostática (Jakubczyk et al, 2020). Todavia, quando a produção dessas espécies reativas excede a capacidade do organismo em neutralizá-las, há o estresse oxidativo, responsável por potenciais danos às estruturas celulares. Assim, o organismo possui mecanismos antioxidantes que são capazes de controlar e equilibrar esses processos, neutralizando o excesso de EROs e ERNs (Pisoschi e Pop, 2015).

Os mecanismos antioxidantes do organismo são essenciais, pois eles atuam na manutenção da homeostase redox agindo como defesa contra os efeitos das EROs e ERNs. Esse sistema possui duas categorias de enzimas antioxidantes, as endógenas, produzidas pelo próprio organismo, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), e exógenas, obtidos por meio da alimentação, como a vitamina C, vitamina E, glutathione (GSH), carotenoides, flavonoides, selênio e etc. (Jomova et al, 2023). Devido aos seus benefícios na neutralização das espécies reativas, as moléculas antioxidantes são amplamente estudadas para prevenir ou tratar doenças decorrentes do estresse oxidativo (Martemucci et al, 2023).

Apesar da atuação como agentes deletérios, as EROs e ERNs também exercem funções fisiológicas essenciais, atuando como segundos mensageiros em diversas vias de sinalização celular, sendo conhecida como sinalização redox. Isso se caracteriza como um processo pelo qual as células utilizam determinadas espécies reativas como moléculas sinalizadoras para regular eventos como transformação e diferenciação celular (Ji e Yeo, 2021).

As espécies reativas modulam vias como fator nuclear- κ B (NF- κ B), proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), fosfatidilinositol 3-quinase/proteína quinase B (PI3K/Akt), cálcio intracelular (Ca^{2+}) e proteínas quinases que participam em importantes eventos intracelulares como inflamação, apoptose, proliferação e resposta ao estresse (Jomova et al, 2023).

O aumento da produção de EROs de maneira crônica é capaz de ativar as vias de sinalização da NF- κ B e MAPK, estas moléculas estão envolvidas na gênese de diversas patologias, como diabetes e sarcopenia (Kramere e Goodyear, 2007). Todavia, durante o exercício, a produção transitória de EROs também é capaz de ativá-las. Por sua vez, MAPK quando ativada pelo exercício físico promove crescimento e diferenciação celular, enquanto o NF- κ B, em concentrações moderadas no meio intracelular, estimula a inflamação e o turnover proteico (Ji, Gomez-Cabrera e Vina 2006). Deste modo, apesar destas moléculas participarem em diversas funções no metabolismo muscular, ainda não completamente esclarecida o papel destas em diferentes condições fisiológicas e/ou em outros tipos de doenças que acometem o ser humano.

Assim a quantificação de biomarcadores associados às reações fisiológicas desencadeadas por EROs e ERNs torna-se essencial para avaliar o estado redox celular. Esses permitem analisar os desequilíbrios entre a produção de espécies reativas e os mecanismos antioxidantes, fundamentais para se avaliar os impactos do estresse oxidativo em diferentes contextos metabólicos e patológicos.

Acompanhar a progressão de doenças e monitorar os efeitos de intervenções antioxidantes (Marrocco, Altieri e Peluso, 2017). Devido à curta meia-vida das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, sua detecção direta é limitada, tornando necessário o uso de produtos secundários derivados de suas interações com lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. Dessa forma, os biomarcadores podem ser classificados em 5 tipos (nomeados como Tipo 0 a 4) (**Tabela 1**) com base na relação com o estresse oxidativo e sua função biológica, de acordo com a tabela abaixo, adaptada por Sies (2020) e Ghezzi (2020).

Tabela 1: Classificação dos biomarcadores relacionados ao estresse oxidativo: Malonaldeído (MDA), 8-hidroxidesoxiguanosina (8-oxo-dG); ácido hipocloroso (HOCl); Superóxido dismutase (SOD); Catalase (CAT); Glutadiona Peroxidase (GPX); NADPH oxidases (NOX); Xantina Oxidase (XO); Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP).

Tipo	Biomarcador
Tipo 0	Medição direta de molécula específica de EROs (por exemplo, H ₂ O ₂)
Tipo 1	Carbonilas de proteína; MDA, isoprostanos; 8-oxo-dG
Tipo 2	HOCl; ácido úrico, alantoína
Tipo 3	SOD, CAT, GPX, NOX, XO, FRAP, bilirrubina;
Tipo 4	Fatores genéticos e mutações

Fonte: adaptado por Sies (2020) e Ghezzi (2020)

Para uma identificação fidedigna do estado de estresse oxidativo, a utilização de mais de um biomarcador é recomendada. Assim, o estresse oxidativo é indicado como fator causal ou de risco em diversas doenças, embora as vias de sua atuação ainda não sejam claras (Ghezzi, 2020). Um estudo de meta análise identificou cerca de 50 doenças associadas a produtos de peroxidação lipídica, como os F2-isoprostanos com isso biomarcadores utilizados para estudar essa relação podem ser classificados em cinco tipos (0, 1, 2, 3, 4 e 5) conforme as características seguintes: (Tipo 0): Medidas diretas de espécies reativas (como H₂O₂, O₂•⁻) em amostras biológicas; (Tipo 1): de dano oxidativo, como produtos de oxidação de lipídios, proteínas e DNA; (Tipo 2): de ativação de enzimas produtoras de EROs; (Tipo 3): antioxidantes e enzimas relacionadas; e (Tipo 4): genéticos, que indicam predisposição do hospedeiro (Ghezzi, 2020). Ainda não há biomarcadores diretos de EROs em humanos, mas técnicas de imagem podem tornar isso possível no futuro.

Além disso, a detecção de EROs em tecidos específicos, como o músculo esquelético, tem se mostrado essencial para entender a dinâmica do estresse oxidativo em condições fisiológicas e patológicas. O músculo esquelético é um tecido susceptível ao estresse oxidativo por causa do seu elevado consumo de oxigênio durante o exercício e a presença de grande quantidade de mitocôndrias, que são uma das principais fontes de EROs (Chen et al, 2022).

1.2.2.2 Efeitos do Exercício Físico no Estresse Oxidativo no Músculo Esquelético: Mecanismos de Adaptação e Lesão

O músculo esquelético é um dos principais tecidos recrutados durante o movimento e representa importante fonte de produção de EROs. Nesse contexto, torna-se essencial compreender como o estresse oxidativo se manifesta nesse tecido em resposta ao exercício, bem como os mecanismos adaptativos ou lesivos envolvidos.

Exercícios físicos regulares promovem adaptações no músculo esquelético que contribuem para neutralizar o estresse oxidativo e baixas concentrações regulam a sinalização celular e a força muscular, mas exercícios intensos ou excessivos podem causar danos estruturais e funcionais nas miofibrilas, desencadeando inflamação e aumento de EROs, acarretando em danos celulares que contribuem para a fadiga (Duranti, 2023). Sendo assim, entender os efeitos moleculares e bioquímicos do exercício é essencial para desenvolver protocolos de treinamento seguros e eficazes.

Os músculos esqueléticos produzem continuamente pequenas quantidades de EROs), como: superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila, mesmo em condições de repouso (Reid, 2016). Durante exercício físico intenso os níveis de EROs aumentam rapidamente, principalmente no citosol, sendo controlada por antioxidantes endógenos presentes no músculo, os quais destacam-se as enzimas como a SOD, que converte ânions superóxido em peróxido de hidrogênio, CAT que degrada o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (Powers et al, 2022). Além dessas, o principal sistema antioxidante muscular é o ciclo glutathiona/glutathiona peroxidase, que utiliza o ciclo do tiol para neutralizar diversas espécies oxidantes. Mas, apesar de haver inúmeras defesas que modifiquem ou neutralizem as EROs, elas podem superar a capacidade antioxidante do tecido, resultando em estresse oxidativo e consequente redução da força contrátil muscular (Powers e Jackson, 2010). A partir dessa abordagem, é importante entender as diferentes vias intracelulares responsáveis pela geração dessas espécies reativas no músculo esquelético durante o exercício.

As mitocôndrias possuem papéis fundamentais na manutenção da homeostase metabólica em diversos tecidos, agindo para a bioenergética celular. No músculo esquelético, são responsáveis pela produção de grandes quantidades de ATP, especialmente durante a contração muscular.

Durante o exercício físico intenso, observa-se não apenas um aumento na demanda energética, mas também uma expansão no volume mitocondrial, refletindo adaptações morfológicas e funcionais ao esforço (Amar et al., 2024). Além disso, as mitocôndrias constituem uma das principais fontes de espécies reativas de oxigênio (EROs) na célula, principalmente por meio do vazamento de elétrons nos complexos I e III da cadeia transportadora de elétrons durante a respiração mitocondrial (Joseph, Adihetty, Leeuwenburgh, 2015). Nesse processo, a fosforilação oxidativa envolve a redução completa do O_2 molecular em água (H_2O) por meio da transferência de quatro elétrons, sendo que uma pequena fração do O_2 pode sofrer redução parcial por um único elétron, formando o $O_2^{\bullet-}$ (Kasai et al., 2020). Embora as mitocôndrias sejam organelas importantes na geração de EROs, outras estruturas também contribuem para a produção dessas espécies no músculo esquelético, especialmente durante o exercício.

Além das mitocôndrias, enzimas como NADPH oxidase (NOX) e a xantina oxidase (XO) também são fontes de EROs no músculo esquelético (Bouvieri et al, 2021). Durante a contração muscular a despolarização da membrana plasmática ativa a NOX2, além do metabolismo energético elevado intensificar a glicólise e promover o acúmulo de NADH, que pode ser utilizado pelas NOX para gerar EROs, especialmente em condições de baixo pH (Bouvieri et al, 2021). Além disso, a XO também contribui para a geração de $O_2^{\bullet-}$, tanto em resposta ao estresse mecânico quanto via metabolismo de purinas derivado da hidrólise intensa de ATP (Bouvieri et al, 2021). Nesse sentido, esses mecanismos refletem a associação entre a atividade contrátil, o metabolismo energético e a produção de EROs durante o exercício físico intenso, sendo os níveis e os efeitos desenvolvidos de acordo com a intensidade do exercício e o estado redox da fibra muscular, o que influencia nos processos metabólicos agudos e crônicos. Além disso, as vias predominantes podem variar de acordo com o tipo, a intensidade e a duração da atividade física, como observado em exercícios de endurance, de resistência, de alta intensidade de curta duração ou de baixa intensidade prolongada (Cheng et al., 2016).

Assim, considerando a complexa regulação da produção de EROs, podemos destacar que o tipo de fibra muscular e o tipo de exercício físico também influenciam na concentração das espécies reativas durante o exercício.

No organismo humano há três tipos de fibras: Tipo I (lenta e oxidativa); tipo IIa (mista ou rápida oxidativa) e tipo IIx (rápida e glicolítica). E cada fibra tem fontes específicas de EROs, em um estudo de revisão realizado por Qaisar et al (2016) as fibras musculares de contração rápida produzem até três vezes mais H_2O_2 do que as de contração lenta, devido à menor capacidade antioxidante, já as fibras lentas eliminam H_2O_2 de forma mais eficiente e apresentam maior atividade das enzimas antioxidantes SOD, GPX e CAT (Figura 2). Essas diferenças estão associadas à maior expressão do PGC-1 α/β , que regula tanto a biogênese mitocondrial quanto a expressão dessas enzimas. Além do tipo de fibra, o tipo de exercício e sua intensidade também influenciam nos níveis de EROs no músculo.

Exercícios aeróbios intensos aumentam a produção de EROs e ERN, podendo causar estresse oxidativo e danos celulares, principalmente por meio da geração de $O_2^{\bullet-}$ nas mitocôndrias, aumentando de 1 a 3 vezes. Por outro lado, a atividade contrátil altera o estado redox, reduzindo a razão NADH/NAD⁺ e diminuindo a liberação de EROs mitocondrial (He et al, 2016) (**Figura 2**). O exercício anaeróbico, como sprints e contrações musculares intensas, gera EROs principalmente por vias não mitocondriais, como NADPH oxidase (NOX) e xantina oxidase (XO), estimuladas pela degradação do ATP e ativação simpática (Kano et al, 2024) (**Figura 2**). Com isso, podemos destacar que a geração de EROs durante o exercício físico depende de diversos fatores, como o tipo de fibra muscular e a intensidade do esforço. Todavia, cabe destacar que em determinadas condições, as espécies reativas não atuam apenas como agentes lesivos, mas também como sinais moleculares que desencadeiam adaptações celulares, chamada de hormese (Powers et al 2024).

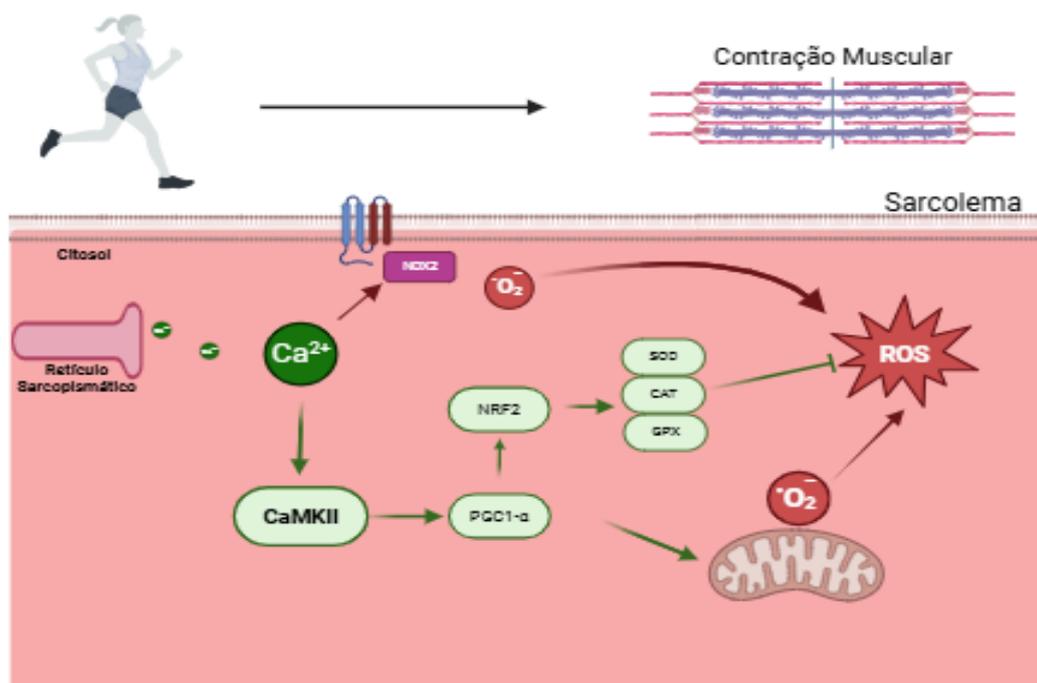


Figura 2: Mecanismos de produção de EROs durante o exercício. Quando a atividade física é moderada, o exercício estimula vias específicas para a produção antioxidante, neutralizando parte das EROs. Fonte: o Autor (BioRender)

A resposta adaptativa ocorre por meio de circuitos redox, compostos por quatro elementos fundamentais: um sinal de estresse, um sensor redox, a ativação de uma via de resposta e, por fim, um resultado funcional que contribui para a melhoria da função muscular (Musci, Hamilton & Linden, 2019). Desta forma, considerando que o estresse oxidativo e os mecanismos redox são influenciados por flutuações diurnas, estudos em roedores sugerem que a eficácia das adaptações ao exercício pode variar de acordo com o horário do dia (Jana et al., 2020). Isso se deve à interação entre os estímulos induzidos pelo exercício e os ritmos circadianos, que modulam tanto a produção de espécies reativas quanto a sensibilidade dos sensores redox (Li et al., 2025). Assim, a sincronização do exercício com os ritmos biológicos pode representar uma estratégia relevante para otimizar os efeitos do treinamento físico em modelos experimentais.

1.2.3 Impacto do Ciclo Claro-Escuro e Protocolos de Treinamento no Metabolismo e Desempenho Físico de Roedores

Os ritmos circadianos estão presentes em quase todos os organismos vivos, gerados por relógios biológicos endógenos, que oscilam mesmo sem estímulos

externos, e regulam várias funções fisiológicas, incluindo processos metabólicos, hormonais e comportamentais (Johnston et al, 2016). Mesmo em ambientes controlados, sem indícios temporais externos, variáveis como temperatura corporal, níveis hormonais, glicemia, pressão arterial e estado de alerta mantêm flutuações circadianas (Johnston et al, 2016). Nos mamíferos, o principal local regulador circadiano é o núcleo supraquiasmático (NSQ), localizado no hipotálamo. Ainda, relógios periféricos são encontrados em quase todos os tecidos, como fígado, pâncreas, tecido adiposo e músculo esquelético, controlando funções locais como controle glicêmico, secreção de insulina e metabolismo de lipídios e glicose (Johnston et al, 2016). Para que os ritmos circadianos funcionem de maneira adequada, os relógios centrais e periféricos devem estar sincronizados entre si e com o ambiente externo, por meio de sinalizadores temporais, sendo a luz o principal deles (Johnston et al, 2016). Essa sincronização entre os ritmos internos e o ambiente externo permite que os processos metabólicos ocorram nos momentos corretos do dia, otimizando a homeostase energética e a adaptação fisiológica, bem como as respostas a estímulos como o exercício físico.

O mecanismo do relógio molecular baseia-se em ciclos de feedback transcricional e transducional, nos quais proteínas específicas regulam sua própria expressão e participam da modulação de diversas vias metabólicas (Adamovich et al., 2021). Esse sistema molecular influencia diretamente os processos fisiológicos fundamentais. Durante o exercício físico, que induz modificações significativas na homeostase metabólica, demanda energética e sinalização celular, o relógio circadiano exerce controle na coordenação dessas respostas. Portanto, compreender a oscilação do metabolismo ao longo do dia e sua relação com o exercício é importante para avaliar os mecanismos associados ao desempenho físico (Cheng, Lu e Qian, 2022).

O relógio circadiano coordena e mantém a ritmicidade de 24 horas em processos fisiológicos, como os ciclos sono/vigília e jejum/alimentação (Duglan e Lamia, 2019). A interrupção desse ritmo está associada a alterações no sono e no metabolismo (Amador et al. 2018). O tempo desses relógios circadianos são definidos por sinais neuroendócrinos do relógio mestre e por *zeitgebers* (estímulos ambientais responsáveis por sincronizar o ritmo circadiano endógeno) locais como alimentação, atividade motora, temperatura, hormônios e etc. (Duglan e Lamia, 2019).

Dessa forma, o gene *Nr1d1* é responsável por regular mecanismos associados aos ritmos circadianos, bem como, em processos fisiológicos como autofagia, imunidade, inflamação, metabolismo e envelhecimento nos tecidos (Zhang-Sun et al. 2023). O *Nr1d1* codifica a proteína REV-ERB α que atua no relógio biológico e o metabolismo energético. Esse é um receptor nuclear atuando como repressor transcrricional de genes, como *Circadian Locomotor Output Cycles Kaput* (CLOCK) e *Brain and Muscle ARNT-like protein 1* (BMAL1), controlando o ritmo biológico das funções metabólicas e fisiológicas (Mayeuf-Louchart e Duez, 2015). Por meio de mecanismo autorregulatório, CLOCK e BMAL1 formam um complexo ativando genes como *Period* (PER) e *Cryptochrome* (CRY) (Figura 3). O acúmulo desses no citoplasma ao longo do tempo forma complexos que retornam ao núcleo, reprimindo a atividade de CLOCK e BMAL1 (Mayeuf-Louchart, Staels e Duez, 2015). A REV-ERB α é expressa em diversos tecidos, como o adiposo, ME, cérebro, rins e fígado (Vaissière et al. 2015) (Figura 3).

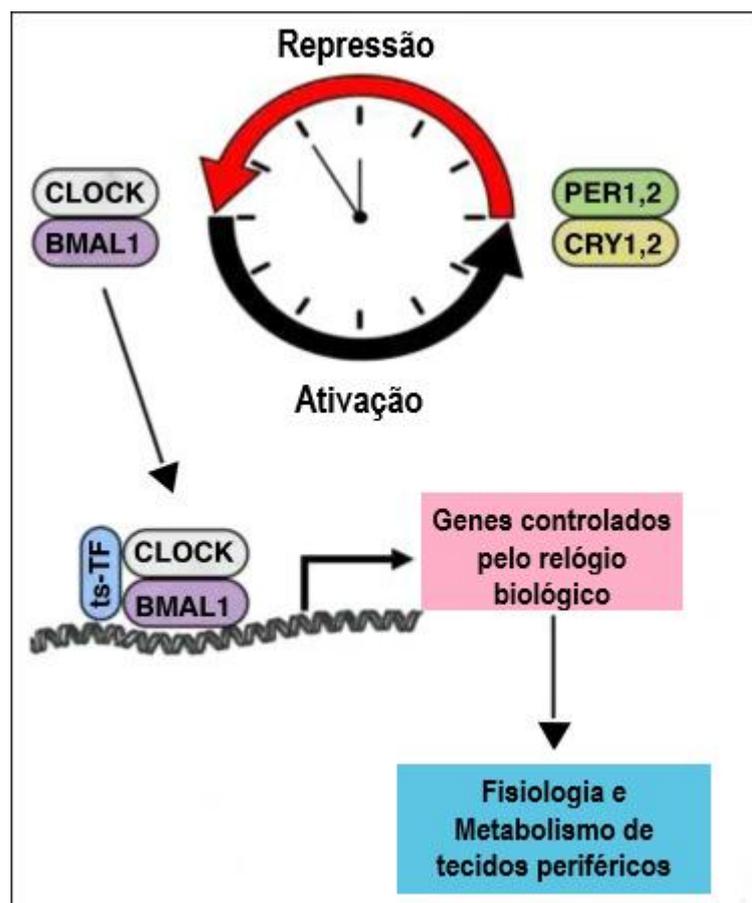


Figura 3: Desenho esquemático do relógio molecular: atuação na coordenação da expressão gênica de forma rítmica ao longo de 24 horas, principalmente por meio da interação entre os fatores de transcrição BMAL1 e CLOCK, que promovem a transcrição de genes como *Period* e *Cryptochrome*. Adaptado por Wolf e Esser (2019).

Em um estudo com camundongos foi verificado que o horário em que o exercício físico é realizado tem um impacto significativo na ativação de vias metabólicas específicas, influenciando a utilização de substratos energéticos, a regulação do relógio circadiano e, conseqüentemente, os benefícios metabólicos sistêmicos do exercício (Sato et al, 2019). Nesse estudo especificamente, o exercício na fase ativa (noturno) promove um perfil metabólico distinto, com maior ativação da via glicolítica, aumento de angiogênese, uso alternativo de fontes energéticas, e uma redução mais acentuada dos estoques de carboidrato (Sato et al, 2019.) Entretanto, outro estudo com camundongos mostrou que o exercício físico melhora a memória por meio da neurogênese e da plasticidade sináptica, e esses efeitos têm variação de acordo com o horário do exercício (Hwang et al, 2016). Assim, estes animais parecem apresentar padrões de atividade predominantemente noturnos, o que significa que seu desempenho físico e o metabolismo variam ao longo do ciclo claro-escuro.

Além disso, o exercício físico não apenas sofre influência dos ritmos circadianos, mas também atua como um importante sincronizador desses ritmos. Tahara, Aoyama e Shibata (2016) mostraram através de um estudo de revisão que a prática de exercício pode alterar a fase dos ritmos biológicos por meio da modulação da expressão gênica de componentes do relógio molecular, ou seja, o momento em que o exercício é realizado também influencia a amplitude das respostas circadianas e a sincronização dos relógios periféricos, como os presentes no músculo esquelético.

Segundo essa lógica, um estudo com camundongos demonstrou que o exercício físico realizado em momentos distintos do ciclo claro/escuro, especificamente 5 horas (por volta das 11h) e 11 horas (cerca de 17h) após o início da fase clara, modula diretamente a expressão dos componentes do relógio circadiano no músculo esquelético, essas alterações foram atribuídas às contrações musculares, que atuam como estímulos capazes de reajustar a fase do relógio periférico muscular (Kemler, Wolff e Esser, 2020). Outro estudo mostrou que o desempenho físico varia ao longo do dia, atingindo seu pico na fase ativa tardia e as funções mitocondriais no músculo esquelético, especialmente a produção de energia, mudam dependendo do horário do dia, especificamente, fase inicial da luz e a fase escura/ativa (Khatri et al, 2025). Diante desses estudos, percebemos algumas discrepâncias quando se relaciona exercício e ritmo circadiano em roedores, evidenciando que ambos os ciclos (claro e escuro) podem alterar o metabolismo circadiano e melhorar o desempenho.

Além disso, considerando que o exercício promove aumentos transitórios na produção de EROs, a interação entre o ritmo circadiano e o estresse oxidativo torna-se especialmente relevante. Como demonstrado a importância do ritmo circadiano no metabolismo em estado de repouso e exercício físico, ainda não está claro a modulação das proteínas reguladoras do ritmo circadiano no estresse oxidativo. Assim, um estudo de revisão evidenciou que ritmos circadianos regulam as atividades antioxidantes em diversos organismos, com ênfase nas enzimas como glutathione peroxidase que segue o ritmo da melatonina, que atua prevenindo a formação de radicais do que eliminando-os diretamente, e sua queda sob estresse oxidativo pode comprometer ritmos fisiológicos (Hardeland, Coto-Montes e Poeggeler, 2003). Ainda neste mesmo estudo, camundongos mutantes com disfunções no relógio biológico apresentaram maior dano oxidativo e menor integridade tecidual (Hardeland, Coto-Montes e Poeggeler, 2003), indicando que as proteínas do ritmo circadiano influenciam no equilíbrio redox.

Um estudo mais recente evidenciou que animais submetidos a retirada da glândula pineal, apresentaram desregulação do ritmo circadiano das moléculas envolvidas na defesa antioxidante, como a atividade da enzima SOD, os níveis de GSH, e aumentou a peroxidação lipídica. Todavia, quando os animais pinealectomizados foram submetidos ao exercício aeróbio, foi observado atenuação parcial dos efeitos do estresse oxidativo em momentos específicos do dia (Tchekalarova et al, 2020). O que indica que o exercício pode proteger contra o estresse oxidativo, mesmo na ausência de melatonina, reforçando seu papel em condições normais quanto em contextos de distúrbio do ritmo circadiano.

Dessa forma, o exercício físico torna-se um potente modulador da interação entre o relógio molecular e a biologia redox, exercendo influência direta sobre as defesas antioxidantes e os mecanismos de reparo do DNA (McClean & Davison, 2022). No entanto, apesar das evidências que apontam para a interdependência entre ritmos circadianos, sistema redox e exercício físico, os mecanismos específicos pelos quais o exercício regula o ritmo circadiano, especialmente em tecidos periféricos como no músculo esquelético, ainda não estão completamente elucidados. Essa lacuna reforça a necessidade de mais estudos que aprofundem a compreensão dessa complexa interação, com intuito de otimizar estratégias de intervenção.

1.2.4 Ciclo Circadiano, Hormônios e Exercício Físico em Ratos Wistar

Em ratos Wistar, o ciclo circadiano é coordenado principalmente pelo núcleo supraquiasmático (NSQ), localizado no hipotálamo, atuando como o principal regulador dos ciclos biológicos, induzindo funções endócrinas, comportamentais e metabólicas (Lancaster & Creaser, 2017; Hastings et al., 2018 Shiba et al., 2024). Além dos impulsos luminosos, fatores não luminosos, como o exercício físico, também exercem papel relevante na modulação desse ciclo. Por exemplo, a atividade voluntária (roda de corrida) durante a fase escura promove alterações na expressão do marcador neuronal Δ FosB no NSQ, revelando o impacto do exercício sobre o funcionamento do relógio central (Jha et al., 2021; Shiba et al., 2024).

Nesse contexto, a sincronização entre exercício físico e alimentação em horários específicos, sobretudo durante a fase escura, no chamado treinamento cronobiológico, favorece a manutenção do ciclo circadiano nos tecidos periféricos, como por exemplo o músculo esquelético. Por outro lado, o exercício realizado em horários inadequados da fase ativa pode reduzir a amplitude dos ciclos circadianos periféricos, comprometendo a homeostase temporal (Shiba et al., 2024).

Além disso, o desalinhamento dos ciclos, como o provocado por exposição contínua à luz, tem implicações negativas sobre a saúde. Em ratos Wistar adolescentes, essa condição compromete a expressão de genes relógio cardíacos, como *Bmal1* e *Per2*, e afeta a sinalização via da melatonina e receptores adrenérgicos, sobretudo em momentos críticos do dia (Wang et al., 2022).

1.2.4.1 Regulação da Melatonina pelo Exercício

Hormônio essencial para a sincronização dos ciclos circadianos e defesa antioxidante, a melatonina, também é modulada pelo exercício físico. Evidências demonstram que sessões aeróbicas regulares proporcionam o aumento dos níveis noturnos de melatonina em ratos Wistar, promovendo a expressão adequada de genes clock no NSQ, ou seja, atuando em um circuito de feedback molecular (Agez et al., 2007; Nikolaev et al., 2021). Além do mais, treinamento aeróbio eleva a atividade da enzima Arilalquilamina N-acetiltransferase na glândula pineal, intensificando a síntese de melatonina e reduzindo os danos oxidativos cerebrais (Silva Junior, 2015).

Adicionalmente, Exercícios físicos, em modelos experimentais, demonstram prevenir a supressão da melatonina. Por exemplo, em ratos espontaneamente hipertensos, com oito semanas de treinamento aeróbico regular atenuaram a redução dos níveis de melatonina, notada em condições patológicas, mantendo ou até mesmo elevando sua concentração noturna comparada com animais sedentários (Wang et al., 2018).

1.2.4.2 Efeitos sobre Hormônios do Estresse e Regulação de Hormônios Anabólicos

Observando o ponto de vista neuroendócrino, a prática regular de exercício físico influencia a regulação do eixo hipotálamo hipófise adrenal em ratos Wistar, diminuindo os níveis basais de corticosterona, e dessa forma atenuando a resposta hormonal ao estresse crônico. Por exemplo, num estudo com ratos submetidos a 4 semanas de treino aeróbico por natação mostraram menor concentração sérica de corticosterona em situações de estresse leve comparados aos sedentários (Safari et al., 2020). Além disso, o exercício voluntário em roda promove adaptação do eixo, promovendo respostas hormonais controladas e mais rápidas frente a estressores agudos, o que permite inferir adaptações neuroendócrinas positivas (Greenwood et al., 2010).

De maneira complementar, protocolos de exercício físico também promovem alterações na expressão de receptores de glicocorticoides no hipocampo, o que pode contribuir para maior resiliência ao estresse. Um estudo demonstrou que o exercício físico leve, realizado abaixo do limiar de lactato, induz a neurogênese no hipocampo, sendo esse efeito mediado por receptores mineralocorticoides (MR) e glicocorticoides (GR), cuja inibição bloqueia esse benefício (Okamoto et al., 2015).

Ademais, a prática de exercício voluntário em roedores mostrou-se eficaz para prevenir a redução da neurogênese causada por exposição crônica à corticosterona, reforçando a ação adaptativa dos receptores de glicocorticoides nessa região cerebral (Nowacka Chmielewska et al., 2022). Reforçando esses dados, o trabalho de Jung et al. (2022) observou que o treinamento resistido atenua os efeitos comportamentais associados ao estresse, em paralelo ao aumento da expressão de GR no hipocampo, indicando um papel neuroprotetor mediado por vias endócrinas suscetíveis ao exercício.

Por sua vez, exercício físico aeróbio moderado otimiza a sensibilidade hepática ao hormônio do crescimento (GH), favorecendo a síntese de proteínas, pois como presente na literatura, exercícios físicos em adultos acima de 40 anos elevam os níveis de hGH e IGF 1, hormônios diretamente associados à regulação anabólica hepática (Zouhal et al., 2022). Além disso, protocolos de exercícios aeróbicos induzem aumentos nos níveis de testosterona livre, promovendo a renovação tecidual. Em idosos sedentários, treinamento físico moderado seguido de HIIT elevou significativamente a testosterona livre (Hayes et al., 2017). Em indivíduos com sobrepeso ou obesidade, o exercício aeróbico por 12 semanas aumentou os níveis de testosterona total, livre e biodisponível (Kumagai et al., 2018), enquanto que outro estudo sugere tanto treinamento aeróbico quanto HIIT resultam em pequenos, mas significativos, aumentos da testosterona em níveis de repouso (Frampton et al., 2021).

1.4.2.3 Impacto em Hormônios Metabólicos e Influência sobre Neurotransmissores e Hormônios Centrais

A homeostase energética é fortemente influenciada pelo exercício, influenciando diretamente hormônios como insulina, leptina e adiponectina. Em modelos experimentais de obesidade, o exercício aeróbico voluntário promoveu melhora da sensibilidade à insulina e redução dos níveis circulantes de leptina, mesmo sem a perda de massa corporal (Bradley et al., 2008). Já em humanos, evidências demonstram que o exercício físico, independentemente da intensidade, favorece a modulação das adipocinas assim como melhora a sensibilidade à insulina, com a redução da leptina e aumento da adiponectina (Heiston et al., 2020). Cabe ressaltar que, um estudo mostra que o exercício aeróbico estimula efeitos semelhantes em populações com pré-diabetes e diabetes, contribuindo para a regulação da homeostase metabólica (Bečić et al., 2018).

Complementarmente, a adiponectina, hormônio com propriedades anti-inflamatórias, apresenta elevação significativa após programas regulares de exercício físico, contribuindo para a melhora do metabolismo lipídico (Yu et al., 2017; Zhang et al., 2023). Também foi evidenciado que, em modelos experimentais, protocolos de treinamento combinado, exercício aeróbico intervalado com treinamento resistido, demonstraram eficácia na reversão de disfunções endócrinas causadas por dietas hipercalóricas, com elevando as concentrações de adiponectina e melhorando do perfil lipídico (Coll Risco et al., 2015).

Além dos efeitos periféricos, o exercício físico também modula importantes mediadores neuroquímicos. Por exemplo, o treinamento em esteira eleva os níveis de BDNF no hipocampo de ratos submetidos ao estresse, restaurando vias de sinalização essenciais como PI3K/Akt/CREB e promovendo plasticidade sináptica (Fang et al., 2013). Em modelos de inflamação induzida por lipopolissacarídeos, onde foram submetidos a 8 semanas de exercício em esteira, aumentaram significativamente a expressão de BDNF no hipocampo, reduzindo sintomas depressivos e melhorando memória (Moosavi Sohroforouzani et al., 2022). Assim como, em um modelo com animias jovens sensibilizados com ovalbumina, o treinamento em esteira reduziu déficits de memória, como também restaurou a plasticidade sináptica hipocampal via aumento de BDNF (Mokhtari Zaer et al., 2020).

De maneira semelhante, os exercícios aeróbios moderados elevam os níveis de serotonina no córtex pré-frontal, diminuindo comportamentos semelhantes à depressão (Morikawa et al., 2021). Evidências sugerem que o exercício físico pode modular a atividade orexinérgica, uma vez que a inibição dos receptores de orexina altera a termorregulação pós-esforço (Martin et al., 2019). Como as orexinas regulam o ciclo sono-vigília e o balanço energético em interação com a serotonina, sua ativação pelo exercício pode favorecer o equilíbrio interno, sincronia das funções fisiológicas (Mavanji & Sirianni, 2022).

Diante de tais evidências, a de se considerar que tanto os relógios centrais quanto os periféricos são altamente sensíveis a fatores como o horário e a intensidade do exercício, aos padrões alimentares e as condições ambientais de luz, reforçando a importância de estratégias cronobiológicas na promoção da homeostase fisiológica.

2 OBJETIVOS

2.1 – Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do exercício aeróbio realizado em diferentes fases do ciclo claro-escuro sobre a composição corporal, desempenho físico e parâmetros de estresse oxidativo e resposta antioxidante em roedores.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Verificar os efeitos do treinamento aeróbio realizado durante o período claro ou escuro sobre o peso corporal, índice de massa corporal (IMC) e gordura visceral e massa muscular de diferentes músculos esqueléticos.
- b) Avaliar o impacto do horário do treinamento aeróbio sobre o desempenho físico dos animais em diferentes fases do treinamento (inicial, intermediária e final).
- c) Determinar se o treinamento aeróbio em diferentes momentos do ciclo claro-escuro induz respostas adaptativas específicas aos tecidos musculares de diferentes características metabólicas (oxidativas x glicolíticas).
- d) Investigar a influência do momento do treinamento aeróbio sobre a capacidade antioxidante, quantidade de proteínas totais e marcadores de estresse oxidativo (MDA) e sistemas redox (SH) em músculos esqueléticos e coração.

3 METODOLOGIA

3.1 Animais

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar, adultos (90 dias), peso entre 250-350g, provenientes do Biotério Setorial do Núcleo de Pesquisa em Sinalização Intracelular (NUPESIN), alojados aleatoriamente e alocados em condições apropriadas, mantidos sob temperatura controlada (22 ± 3 °C) e ciclo claro-escuro de 12 horas (com luzes acesas das 6h às 18h) 300lux da luz, com umidade relativa do ar em torno de 65%, com livre acesso livre à alimentação específica para roedores (Labina ®) e água *ad libitum*, divididos aleatoriamente em 10 grupos, n=8 por grupo.

Todos os experimentos estão de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Sergipe (CEUA/UFS) na reunião de 29/03/2022 CEUA N 6569100222.

3.2 Delineamento Experimental

Os animais foram divididos em 10 grupos, conforme demonstrado na **Tabela 2**. A distribuição foi feita aleatoriamente em: Grupo Controle Diurno: não realizou nenhum tipo de intervenção e realizado a eutanásia durante o dia; Grupo Controle Noturno: não realizou nenhum tipo de intervenção e realizado a eutanásia durante a noite; Grupo Treinamento Aeróbio Diurno 1h: animais turno diurno que realizaram treinamento sendo eutanasiados 1h após a última sessão de treinamento; Grupo Treinamento Aeróbio Diurno 24h: animais turno diurno que realizaram treinamento sendo eutanasiados 24h após a última sessão de treinamento; Grupo Treinamento Aeróbio Diurno 48h: animais turno diurno que realizaram treinamento sendo eutanasiados 48h após a última sessão de treinamento; Grupo Treinamento Aeróbio Diurno 72h: animais turno diurno que realizaram treinamento sendo eutanasiados 72h após a última sessão de treinamento. E repetimos os grupos alterando apenas o ciclo, sendo a noite.

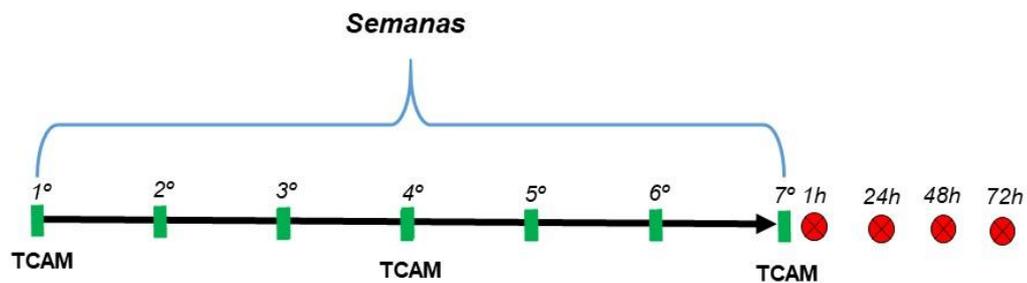
Tabela 2: Delineamento dos grupos experimentais.

Grupo	Turno	Intervenção	Tempo de eutanásia após última sessão
Controle Diurno	Diurno	Nenhuma	–
Controle Noturno	Noturno	Nenhuma	–
G1h/G24h/G48h/G72h	Diurno	Treinamento aeróbio	1h, 24h, 48h, 72h
G1h/G24h/G48h/G72h	Noturno	Treinamento aeróbio	1h, 24h, 48h, 72h

Fonte: o autor

Dessa forma, foi realizado um protocolo de treinamento durante 7 semanas, sendo realizado um teste de exaustão para avaliação do desempenho dos animais em diferentes ciclos (**Figura 4**).

Figura 4: Desenho experimental: linha do tempo de execução dos procedimentos realizados.



Legendas:

- TCAM – Teste de capacidade máxima aeróbia
- – Eutanásia

3.3 Protocolo de aplicação do ciclo claro – escuro

A realização do primeiro momento de experimento ocorreu no ciclo claro de 12 horas, onde as luzes foram acesas das 06h00 às 18h00, os protocolos ocorreram entre as 08:00 da manhã até as 12:00 horas. Para o ciclo escuro experimentos os animais foram adaptados ao novo ciclo por um período de 25 dias, onde luzes infravermelhas foram instaladas para realização das intervenções, assim como os períodos de manutenção do biotério foram realizadas no período noturno, visto que esse tipo de iluminação é utilizada por não ser perceptível à linhagem de roedores, a sala na qual esses animais foram alojados permaneceu escura das 18h00 às 06h00, os protocolos ocorreram entre as 20:00 da noite até as 00:00 horas.

3.4 Protocolo de adaptação e teste de capacidade aeróbica máxima e de treinamento

Para a execução do treinamento foi utilizada uma esteira ergométrica para roedores, equipada com oito pistas individuais separadas, confeccionadas em acrílico modelo ESTR4MVCT - AVS projetos, São Paulo, Brasil. A adaptação consistiu num tempo máximo de 10 minutos com velocidade de 10 metros por minuto sem inclinação e com eletroestimulação de 2,5Ma por duas semanas, onde somente os ratos ativos foram submetidos a um teste de capacidade aeróbica máxima (TCAM) para determinar as capacidades individuais de treinamento, sendo realizado na fase inicial, durante e na fase final do experimento (**Figura 4**). Já o TCAM consistiu em uma avaliação subjetiva da capacidade máxima do animal em realizar um esforço. Neste protocolo, os animais iniciam o teste com uma velocidade de 3 m/min e a cada 3 min foi acrescentado 3 m/min até que o animal visivelmente não conseguisse mais suportar a intensidade do estímulo. Assim, foi considerado como exaustão dos ratos quando eles não conseguiram mais andar ou correr de forma coordenada por mais de 3 vezes consecutivas em menos de 1 min, então foi anotado o Índice de condicionamento: mensurado pela velocidade e o número de estágios completos (10 estágios) (**Quadro 1**).

A intervenção foi realizada três vezes por semana, durante sete semanas, onde o treinamento progressivo de alta intensidade seguiu as faixas de 75%, 85% e 95% da capacidade máxima obtidas nos dois testes (**Figura 5**) e o último teste sendo utilizado como parâmetro verificador de desempenho e o tempo foi ajustado regressivamente ao passo que houve o incremento da intensidade seguindo a seguinte ordem: cinco minutos de aquecimento a uma velocidade entre 8 a 10 metros por minuto, sendo 30 minutos a 75%, 25 minutos a 85% e 20 minutos a 90% do TCAM (**Figura 6**).

Quadro 1 – Protocolo de Adaptação e Capacidade aeróbica máxima

PROTOCOLO DE ADAPTAÇÃO				
SEMANA	TEMPO (min)	VELOCIDADE (m/min)	INCLINAÇÃO (%)	ELETROESTIMULAÇÃO (mA)
2	10	10	0	2,5

PROTOCOLO CAPACIDADE AERÓBICA MÁXIMA				
ESTÁGIO	TEMPO (min)	VELOCIDADE (m/min)	INCLINAÇÃO (%)	ELETROESTIMULAÇÃO (mA)
1	3	6	0	2,5
2	3	9	0	2,5
3	3	12	0	2,5
4	3	15	0	2,5
5	3	18	0	2,5
6	3	21	0	2,5
7	3	24	0	2,5
8	3	27	0	2,5
9	3	30	0	2,5
10	3	33	0	2,5

*Considerar exaustão dos ratos quando eles não conseguirem mais andar ou correr de forma coordenada mesmo sob estímulos elétricos por mais de 3x consecutivos em menos de 1 min.

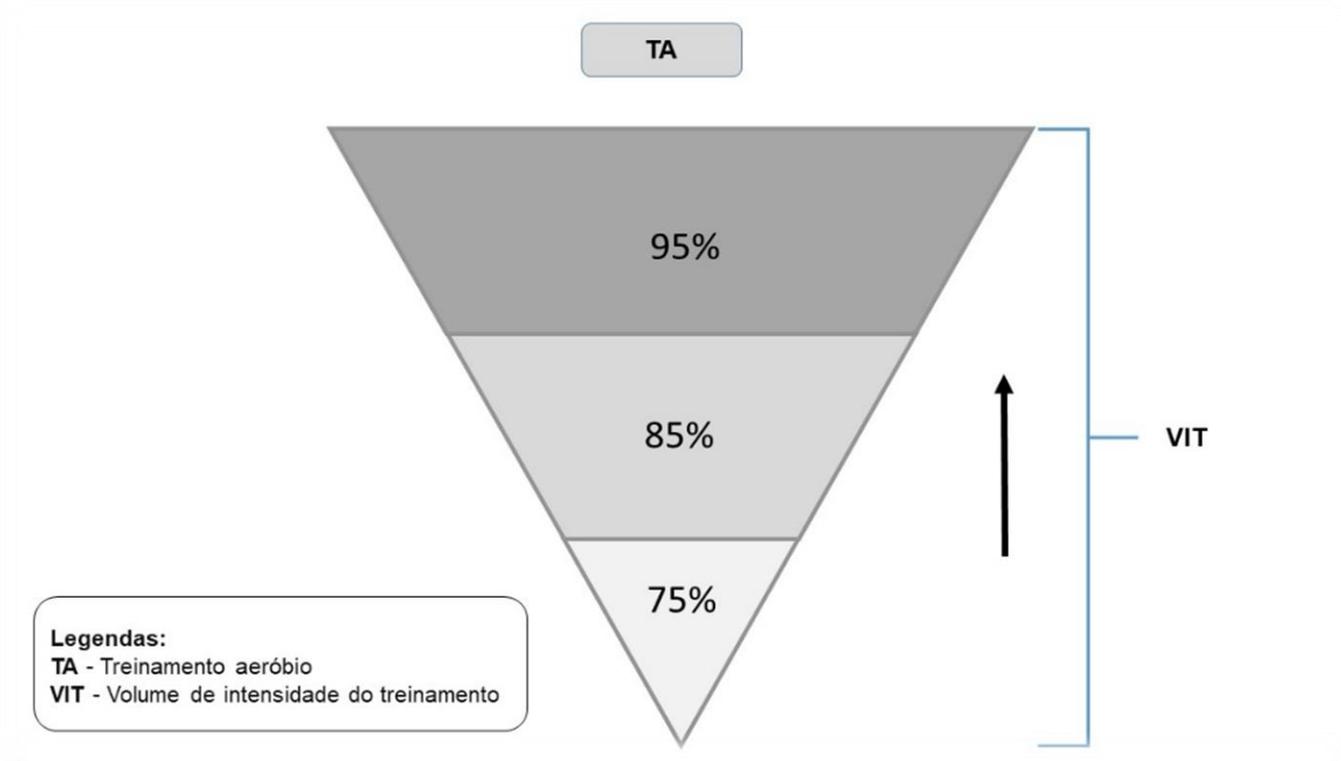


Figura 5: Protocolo de aplicação da intensidade treinamento aeróbio

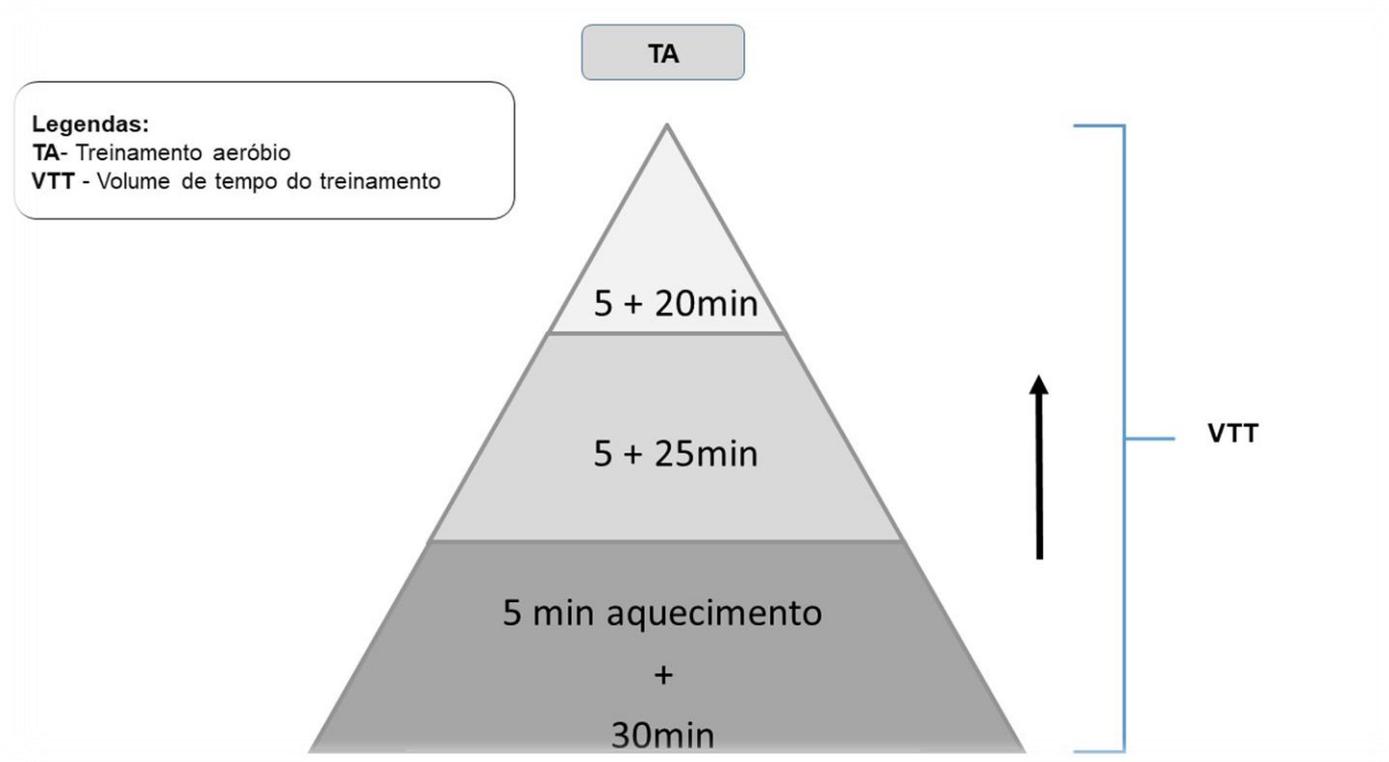


Figura 6: Aplicação do volume de tempo de treinamento aeróbio

3.5 Preparo do material biológico

Em turno diurno, noturno e em momentos diferentes, após 1h, 24h, 48h, 72h da última sessão de treinamento os animais foram anestesiados com cetamina/xilazina (75mg/kg + 10mg/kg i.p) e o sangue (± 5 mL), após ter sido confirmado o aprofundamento da anestesia verificada pela ausência de reflexos, os animais foram submetidos a punção cardíaca, sendo então eutanasiados por dessangramento. O sangue, após a coleta foi imediatamente centrifugado a 4000 x g por 15 min a $\pm 4^{\circ}\text{C}$ e o sobrenadante armazenado a -80°C simultaneamente. Os tecidos gordura retroperitoneal, coração, quadríceps, gastrocnêmio, soléu, onde esses quatro últimos foram removidos e em seguida, lavados 3 vezes com solução de cloreto de potássio (KCl) 1,15%, e posteriormente pesados. Em seguida foram homogeneizados onde cada grama de tecido foi misturada com 5 mL de KCl + 10 μL de fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF -100 mmol. L $^{-1}$) + 15 μL de solução Triton a 10% e centrifugada a 3000 x g por 10 min a $\pm -80^{\circ}\text{C}$ para análises posteriores dos marcadores redox.

3.6 Índice de Massa Corpórea

Esse método foi adaptado do estudo de Liu et al (2022), sendo o comprimento nasoanal (CNA) obtido ao final do experimento, medindo-se, com auxílio de fita métrica, a distância da ponta do focinho até a base da cauda do animal. Com isso também foi estimado o índice de massa corporal (IMC):

$$IMC = \frac{\text{Peso corporal final (g)}}{\text{Comprimento nasoanal (cm}^2\text{)}}$$

3.7 Quantificação de proteínas - Bradford

3.7.1 Preparação de curvas de proteínas individuais

A concentração total de proteínas nos tecidos musculares foi determinada segundo o método colorimétrico descrito por Bradford (1976), utilizando o reagente comercial Bradford (Bio-Rad®). A solução de reagente de Bradford foi preparada de acordo com as instruções do fabricante.

As proteínas padrão (albumina de soro bovino) foram preparadas nas seguintes concentrações: 0/ 0,25/ 0,5/ 1,0/ 1,25/ 1,5µL/ml usando água ultrapura. Para o procedimento padrão, 4µL de cada um deles foram adicionados a 200µL de reagente de Bradford. Após incubação durante 5 minutos à temperatura ambiente, foram efetuadas medições de absorvância utilizando um espectrofotômetro a 595nm. O reagente de Bradford foi utilizado como branco. Foram preparadas curvas-padrão para cada proteína-padrão e utilizadas para a quantificação de proteínas.

3.7.2 Determinação espectrofotométrica da quantidade de proteína total dos tecidos

Amostras dos tecidos musculares gastrocnêmio e quadríceps foram diluídas na proporção de 1/10 (amostra: tampão) para a análise. Enquanto que o tecido muscular sóleo foi preparado na proporção de 1/2. Então, 5µL de cada diluição foram adicionados a 250µL de reagente de Bradford e subsequente agitação em vórtex. Após 5 minutos à temperatura ambiente, as absorvâncias foram medidas a 595nm tal como indicado acima.

3.8 Análise da atividade redox

3.8.1 Análise da capacidade antioxidante FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

A análise FRAP foi determinada pelo método empregado por Oyaizu (1986), com algumas adaptações para microplaca. Em ambiente escuro foram retiradas alíquotas de 9 µL de homogenato de tecido muscular, onde acrescentaram-se 27 µL de água destilada e 270 µL do reagente FRAP (Solução de tampão acetato 0,3 M, TPTZ e cloreto férrico). Em seguida a microplaca foi incubada a 37°C durante 30 minutos. Logo após, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595nm.

3.8.2 Determinação do MDA (TBARS)

A oxidação de lipídios foi determinada pela mensuração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Alíquotas de 200µL das amostras (gastrocnêmio) foram adicionadas a uma mistura de 400µL formada por partes iguais de ácido tricloroacético (TCA) 15%, HCl 0,25 N e TBA 0,375%, mais 2,5 mM de butilato de hidroxitolueno (BHT) e 40µL de dodecil sulfato de sódio (SDS) 8,1%, sendo aquecida por 30 min a 95°C em estufa. O pH da mistura foi ajustado para 0,9 com HCl concentrado. BHT foi usado para prevenir a peroxidação lipídica durante o aquecimento. Após resfriamento à temperatura ambiente e adição de 4 mL de butanol, o material centrifugado a 800 xg por 15 min a ± 4 °C e a absorbância do sobrenadante foi medida em 532 nm. O coeficiente de extinção molar utilizado será $1,54 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e o resultado de TBARS expresso em nmol Eq MDA/mL para as amostras de plasma e tecidos (dos Santos et al, 2022).

3.8.3 Sulfidrilas totais (tióis)

A quantificação do nível antioxidante dos tecidos foi mesurada através da determinação dos grupos sulfidrilas seguindo protocolo de dos Santos et al (2022). Alíquotas de 50 µL de amostras (gastrocnêmio) foram misturados em 1 mL de tampão tris-EDTA, pH 8,2. Em seguida, realizada a primeira leitura (A) no espectrofotômetro em 412 nm. Após a leitura, as amostras foram transferidas para tubos de ensaio e misturas a 20 µL de DTNB 10 mM diluído em metanol (4 mg/mL), ficando em repouso no escuro. Ao final de 15 min, a segunda leitura de absorbância (A2) foi realizada. A concentração de SH foi calculada conforme equação: $(A2-A1) - B \times 1,57 \text{ mM} \times 1000$ sendo o resultado expresso em $\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$ tecido.

3.9 Análise Estatística

Por meio do software *G * Power 3* foi calculado o tamanho da amostra e seu efeito, por conseguinte, foi realizada a estatística descritiva sendo utilizadas as medidas de tendência central, média (\bar{X}) \pm Desvio Padrão (DP). Para verificação da normalidade das variáveis foi utilizado o teste de Shapiro Wilk. Para a avaliação do desempenho entre os grupos o teste ANOVA (Two Way), com Post Hoc de Bonferroni. O tratamento estatístico foi realizado por meio do programa estatístico GraphPad Prism versão 10.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, E.U.A). O nível de significância adotado de $p < 0,05$. Para verificar o tamanho do efeito foi utilizado o teste *f² de Cohen*.

4 RESULTADOS

4.1 Efeito do treinamento aeróbio durante a fase clara e escura na composição corporal de ratos Wistar

Antes de investigarmos os parâmetros metabólicos, verificamos a composição corporal dos animais após treinamento aeróbio. Observou-se redução significativa do peso corporal dos animais que realizaram o treinamento aeróbio a noite ($393,87 \pm 31,19\text{g}$) quando comparado ao grupo sedentário ($462,33 \pm 44,67\text{g}$) sendo $p=0,0013$, não havendo diferenças significativas nos demais grupos e ciclo do dia (**Figura 7A**). Com relação ao índice de Lee não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos (Con) e (Exe), todavia houve diferenças significativas com relação a fase do ciclo.

Animais exercitados durante o dia ($15,64 \pm 1,62$) reduziram o IMC quando comparados aos animais que exercitaram a noite ($17,37 \pm 0,58$), sendo $p=0,0046$, da mesma forma observamos nos animais controles (Con) diurnos ($16,70 \pm 0,78$) obtiveram redução no IMC quando comparados ao noturno ($17,92 \pm 1,09$), sendo $p=0,0441$, o que podemos inferir que a composição corporal dos animais foi modulada pelo exercício físico e pelo ciclo claro-escuro (**Figura 7B**). Interessantemente, observamos que o exercício noturno promoveu redução significativa no peso corporal, enquanto o IMC foi influenciado primariamente pelo horário do dia, independentemente da intervenção.

Além disso, verificamos o peso absoluto da gordura retroperitoneal e não encontramos diferenças significativas nos ciclos claro e escuro em que foram realizados (Con Dia e Noite; Exe Dia e Noite). Todavia, percebemos que houve redução da gordura nos animais exercitados durante o dia ($2,62 \pm 0,89\text{g}$), $p < 0,0001$, e a noite ($2,78 \pm 0,32\text{g}$), $p < 0,0001$, quando comparados aos seus controles respectivamente ($6,94 \pm 1,08\text{g}$), ($7,82 \pm 1,41\text{g}$) (**Figura 7C**). Esses dados indicam que o exercício aeróbio por si só é eficaz na redução da gordura, independentemente da fase do ciclo.

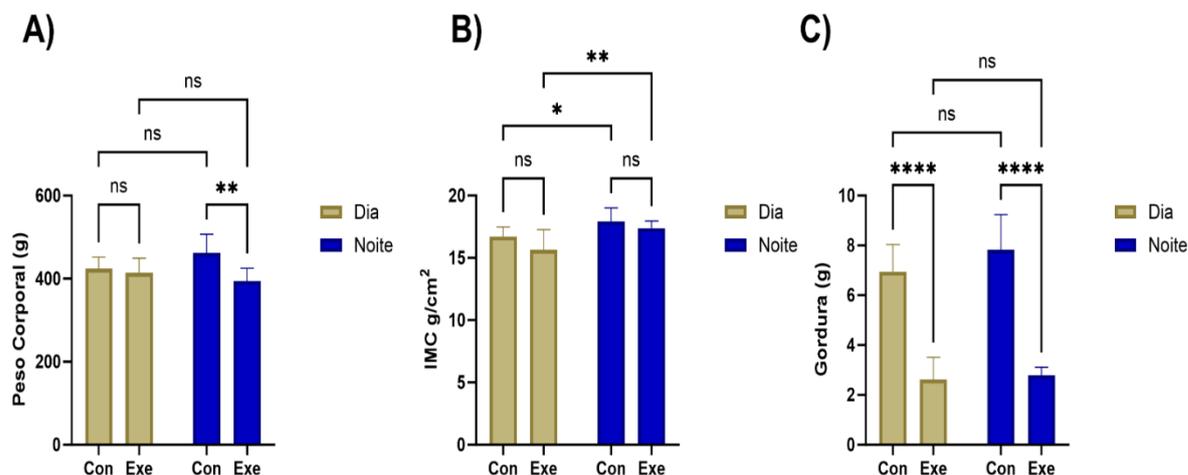


Figura 7: Análise da composição corporal de animais sedentários e treinados em diferentes momentos (dia e noite). A) Peso corporal; B) Índice de Massa corpórea (IMC); C) Peso da gordura retroperitoneal. Análise estatística feita com Anova Two Way com pos hoc de Bonferroni, dados apresentados em médias e desvio padrão, sendo considerado significativo $p < 0,05$. (* $p < 0,05$); (** $p < 0,01$); (**** $p < 0,0001$).

Quando avaliamos o peso de diferentes músculos, evidenciamos que o gastrocnêmio aumentou nos animais exercitados durante a fase do Dia ($2,53 \pm 0,32g$) quando comparado ao controle ($2,23 \pm 0,23g$), $p = 0,0107$, não havendo diferenças entre o grupo exercitado e controle noturno ou entre as fases, $p > 0,05$ (**Figura 8B**). O peso do sóleo não mostrou diferenças significativas entre as fases, mas houve aumento nos grupos exercitados Dia ($0,272 \pm 0,03g$) e Noite ($0,242 \pm 0,03g$) quando comparado aos seus respectivos controles ($0,190 \pm 0,02g$), $p < 0,0001$, ($0,199 \pm 0,02g$), $p = 0,0068$ (**Figura 8C**).

Não foram encontradas diferenças significativas no peso do músculo quadríceps, $p > 0,05$ (**Figura 8A**). Assim, sugere-se que a realização do exercício fora da fase ativa dos roedores pode provocar uma adaptação trófica específica no músculo de predominância glicolítica (gastrocnêmio). Por outro lado, o músculo sóleo respondeu positivamente ao treinamento em ambos os momentos do dia, provavelmente devido à sua natureza oxidativa e maior recrutamento durante o exercício aeróbio.

Já o quadríceps não apresentou diferenças entre os grupos, sugerindo que esse protocolo não foi suficiente para induzir adaptações significativas nesse músculo, possivelmente devido à menor exigência funcional durante a corrida em esteira.

O peso relativo dos músculos quadríceps, gastrocnêmio e sóleo não apresentaram diferenças significativas entre os momentos e os ciclos ($p > 0,05$).

(Figura 8 D, E e F).

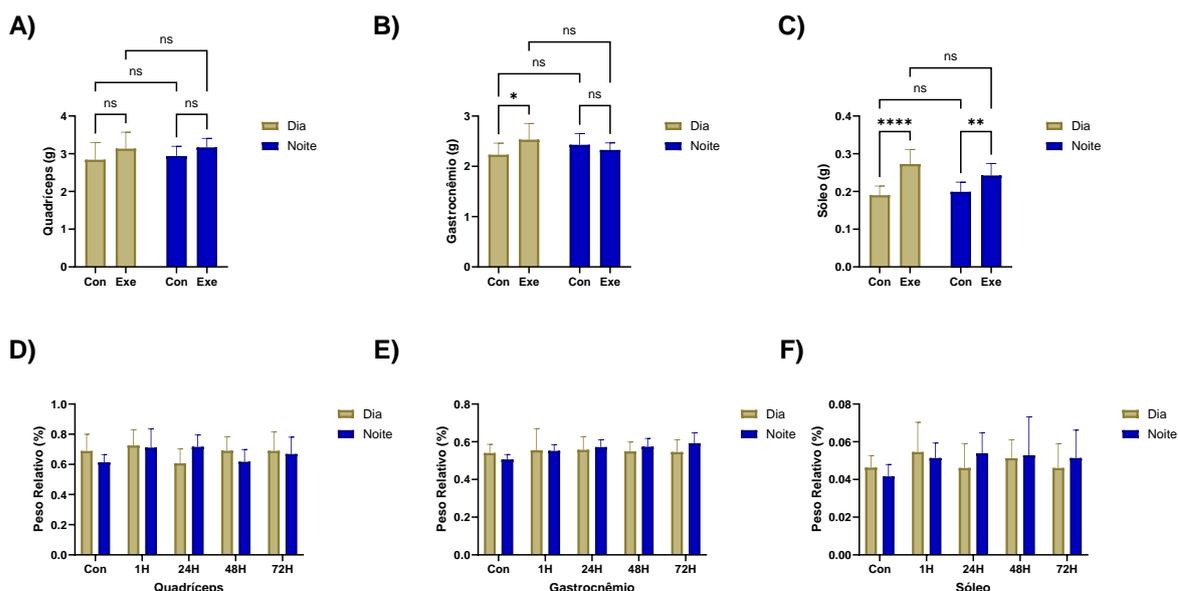


Figura 8: Análise do peso absoluto e relativo dos tecidos musculares após treinamento aeróbio nos ciclos claro e escuro. A) Peso absoluto do Quadríceps; B) Peso absoluto do Gastrocnêmio; C) Peso absoluto do sóleo; D) Peso relativo do quadríceps; E) Peso relativo do gastrocnêmio; F) Peso Relativo do Sóleo. Análise estatística feita com Anova Two Way com pos hoc de Bonferroni, dados apresentados em médias e desvio padrão, sendo considerado significativo $p < 0,05$. (* $p < 0.05$); (** $p < 0.01$); (**** $p < 0.0001$).

4.2 Desempenho físico no teste de capacidade aeróbia máxima varia nas fases clara e escura em que o exercício é realizado

Foram realizados três TCAM para avaliação do desempenho dos animais. O primeiro foi antes do início do treinamento (I), teste intermediário após quatro semanas de treinamento (II) e o teste final após as 7 semanas de treinamento (III). O gráfico da Figura 9 apresenta no eixo x os níveis dos estágios do TCAM, e no eixo y a quantidade de animais que executaram os testes.

Assim, percebemos que quando comparamos os dois períodos do dia: período claro (Dia) e período escuro (Noite), Noite I obteve desempenho claramente superior, ou seja, menor número de abandono, quando comparado ao DIA I. No período do Dia, nos três estágios foram evidenciados desempenho visivelmente inferior, mostrando que mais animais interrompem antes do estágio 8, tendo queda acentuada no número de animais a partir do estágio 6. Noite II e Noite III mostraram melhor desempenho que os testes diurnos. O que podemos evidenciar que no período Noite os animais apresentam menor capacidade de desistência durante o teste, inferindo maior desempenho durante a Noite quando comparado ao Dia.

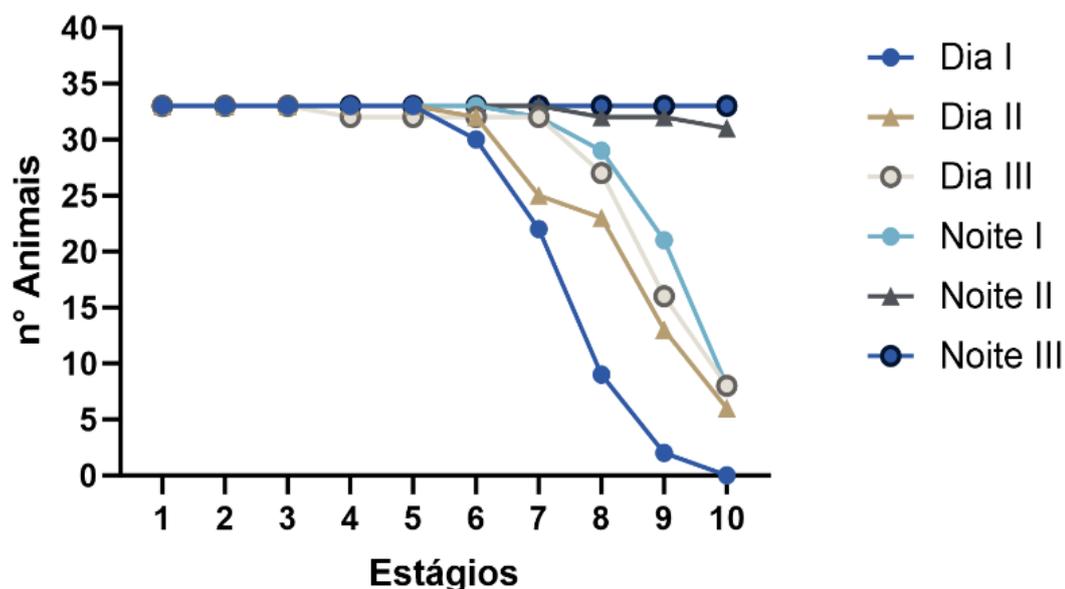


Figura 9: Gráfico do TCAM dos animais treinados em 3 momentos, nos períodos Dia (ciclo claro) e Noite (ciclo-escuro). Eixo X representa os níveis dos estágios do TCAM e eixo y representa a quantidade de animais durante os testes. Análise do TCAM em três tempos: pré-exercício (I); durante o exercício (II); pós-exercício (III).

4.3 Resposta redox ao exercício e adaptação dos ciclos claro e escuro no músculo esquelético

Após a avaliação do desempenho dos animais, realizamos análise dos níveis de capacidade antioxidante por meio do ensaio FRAP em diferentes tecidos dos animais (coração, quadríceps, gastrocnêmio e sóleo) e em diferentes momentos pós-exercício (1h, 24h, 48h, 72h) durante o ciclo claro (Dia) e ciclo escuro (Noite).

Evidenciamos que no tecido muscular cardíaco não foi encontrada diferenças estatísticas entre os grupos e os tempos, $p > 0,05$ (**Figura 10**), demonstrando que o treinamento aeróbio não promoveu alteração significativa da capacidade antioxidante nesse tecido, independentemente do ciclo.

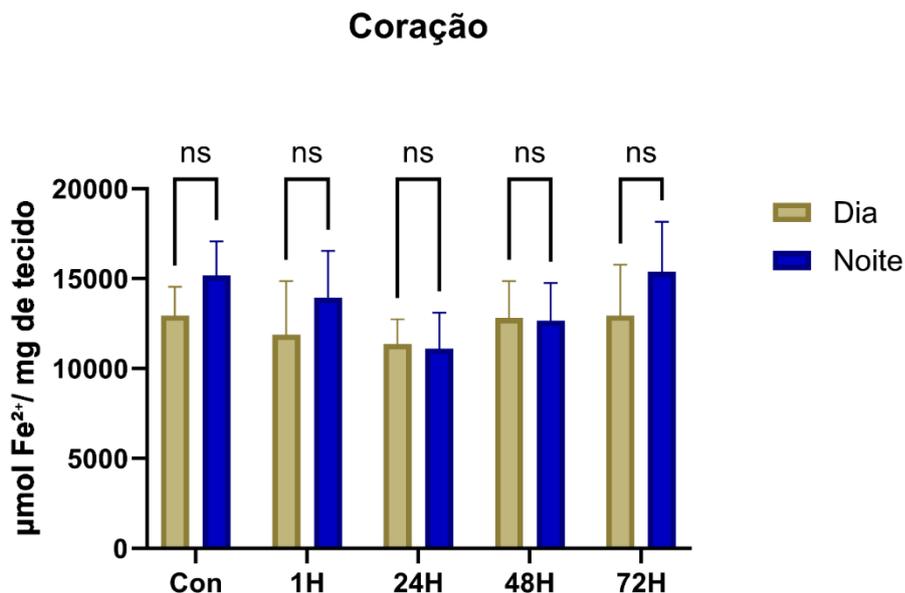


Figura 10: Análise das concentrações de FRAP em diferentes momentos durante o ciclo-claro (Dia) e ciclo-escuro (Noite) após 7 semanas de treinamento aeróbio. Gráfico representa o tecido do coração nos grupos Controle, 1h, 24h, 48h e 72h após 7 semanas de treinamento aeróbio. Análise estatística feita com Anova Two Way com pos hoc de Bonferroni, dados apresentados em médias e desvio padrão, sendo considerado significativo $p < 0,05$.

No músculo gastrocnêmico foram encontradas diferenças significativas entre os ciclos e tempos após o treinamento. Após 24 horas de treinamento o grupo Dia ($7384,57 \pm 950,65 \mu\text{mol Fe}^{2+}$) obteve aumento na capacidade antioxidante quando comparado com o grupo Noite ($5711,86 \pm 217,8865 \mu\text{mol Fe}^{2+}$), $p = 0,0051$ (**Figura 11B**). Além disso, depois de 48 horas o grupo Noite ($6756,34 \pm 1274,99 \mu\text{mol Fe}^{2+}$) apresentou valores significativamente maiores de FRAP do que os animais do grupo Dia ($5250,21 \pm 513,75 \mu\text{mol Fe}^{2+}$), $p = 0,0059$ indicando maior capacidade antioxidante durante o ciclo-escuro após 48 horas do exercício aeróbio (**Figura 11B**).

O músculo sóleo apresentou diferenças significativas entre ciclos apenas 48 horas após o exercício, no grupo Noite ($18714,65 \pm 3329,07 \mu\text{mol Fe}^{2+}$) as concentrações de FRAP foram maiores quando comparadas ao grupo Dia ($14705,29 \pm 2473,25 \mu\text{mol Fe}^{2+}$), $p = 0,0048$ melhor ao exercício noturno com aumento

de defesa antioxidante tardio, sugerindo que esse tecido pode ter ritmo de adaptação diferente do que os demais tecidos (**Figura 11C**).

Não foram encontradas diferenças significativas no músculo quadríceps, $p > 0,05$ (**Figura 11A**).

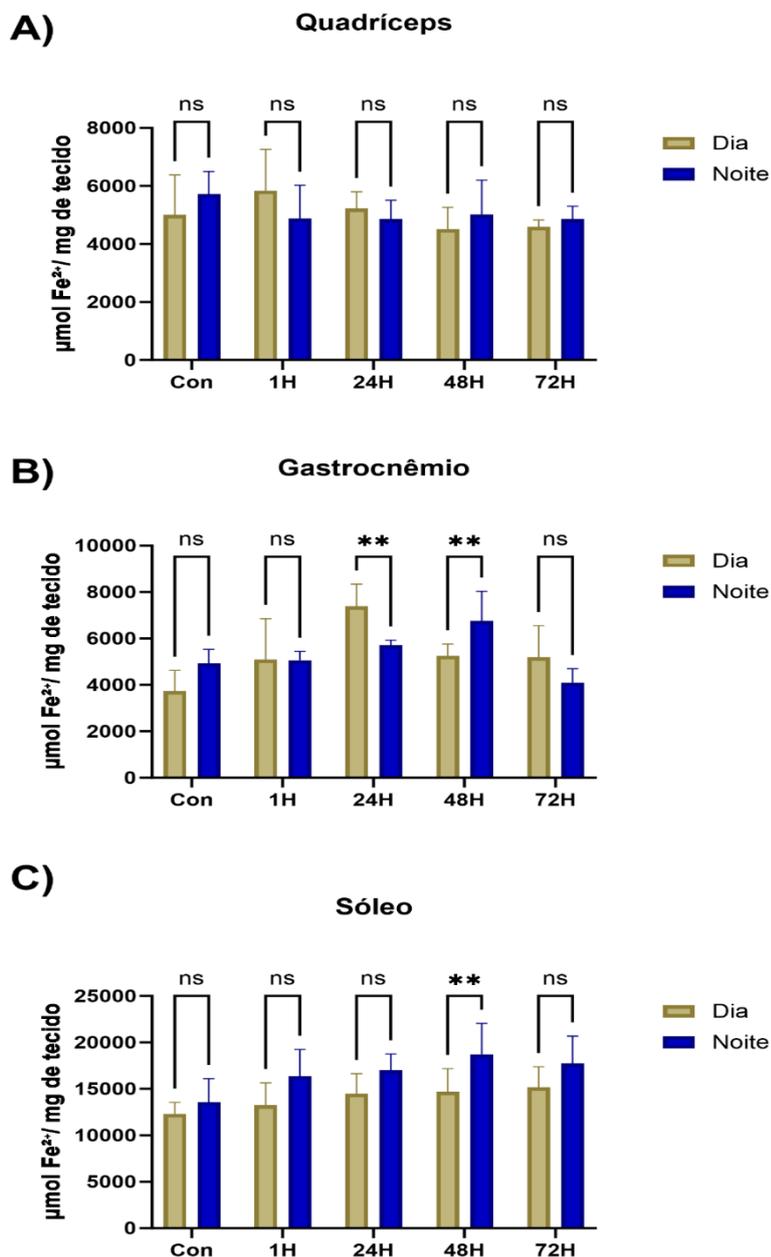


Figura 11: Análise das concentrações de FRAP em diferentes tecidos e momentos durante o ciclo-claro (Dia) e ciclo-escuro (Noite) após 7 semanas de treinamento aeróbio. A) Gráfico representa o tecido do quadríceps nos grupos Controle, 1h, 24h, 48h e 72h após 7 semanas de treinamento aeróbio; B) gráfico representa o gastrocnêmio nos grupos Controle, 1h, 24h, 48h e 72h após 7 semanas de treinamento aeróbio; C) gráfico representa o sóleo nos grupos Controle, 1h, 24h, 48h e 72h após 7 semanas de treinamento aeróbio. Análise estatística feita com Anova Two Way com pos hoc de Bonferroni, dados apresentados em médias e desvio padrão, sendo considerado significativo $p < 0,05$. (** $p < 0,01$).

Além da avaliação das concentrações de FRAP, utilizamos a análise de Bradford para avaliar a quantidade de proteínas totais nos músculos do coração, quadríceps, gastrocnêmio e sóleo em diferentes momentos do ciclo claro-escuro (Dia vs. Noite) e em diversos tempos pós-exercício (1h, 24h, 48h, 72h). Com isso identificamos que no tecido cardíaco houve diferença significativa apenas em 72h pós-exercício, com o grupo Dia apresentando maior concentração proteica ($4,06 \pm 0,90$ Mmol/mL) que o grupo Noite ($2,32 \pm 0,36$ Mmol/mL), $p < 0,0001$ (**Figura 12**).

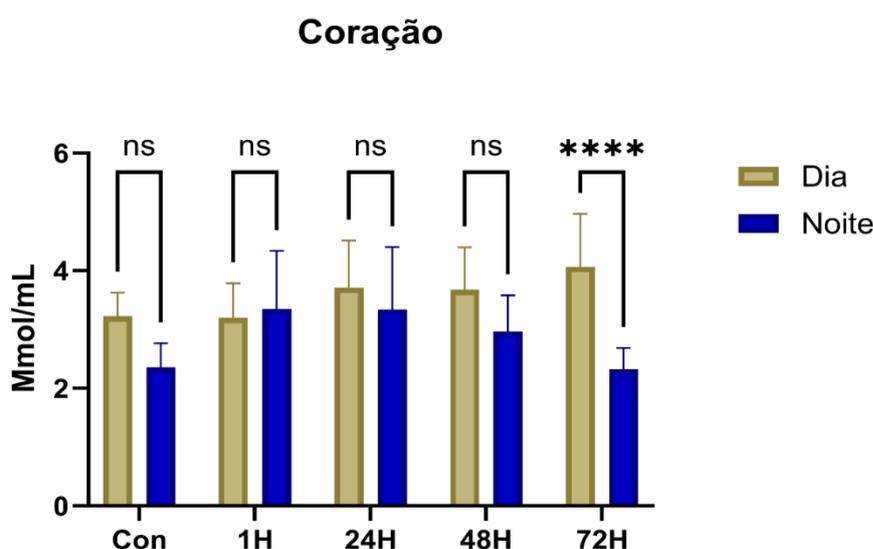


Figura 12: Análise das concentrações de proteínas totais no tecido cardíaco em momentos diferentes durante o ciclo-claro (Dia) e ciclo-escuro (Noite) após 7 semanas de treinamento aeróbio. Gráfico representa o tecido do coração nos grupos Controle, 1h, 24h, 48h e 72h após 7 semanas de treinamento aeróbio. Análise estatística feita com Anova Two Way com pos hoc de Bonferroni, dados apresentados em médias e desvio padrão, sendo considerado significativo $p < 0,05$. (**** $p < 0,0001$).

No músculo quadríceps houve aumento nas concentrações de proteínas totais 48 h ($15,22 \pm 0,97$ Mmol/mL) e 72 h ($14,29 \pm 0,99$ Mmol/mL) pós-exercício no grupo Dia quando comparado com o grupo noturno ($10,62 \pm 1,60$ Mmol/mL) $p = 0,0001$, ($10,92 \pm 2,004$ Mmol/mL), $p = 0,0069$ respectivamente, mostrando que o exercício diurno favoreceu maior quantidade proteica no quadríceps nessas janelas de recuperação (**Figura 13A**).

No músculo gastrocnêmio também houve aumento significativo nas proteínas totais nos tempos 48h ($11,37 \pm 1,17$ Mmol/mL) e 72h ($12,84 \pm 1,51$ Mmol/mL) também com grupo diurno quando comparado ao noturno ($5,20 \pm 1,18$ Mmol/mL), $p < 0,0001$, ($10,27 \pm 2,87$ Mmol/mL) $p = 0,0307$ respectivamente, evidenciando padrão de resposta

dependente do tempo, sugerindo maior síntese proteica ou menor degradação após exercício aeróbio no período diurno (**Figura 13B**). Não houveram diferenças significativas entre os tempos e ciclos claro e escuro no músculo sóleo de ratos após exercício aeróbio $p > 0,05$ (**Figura 13C**).

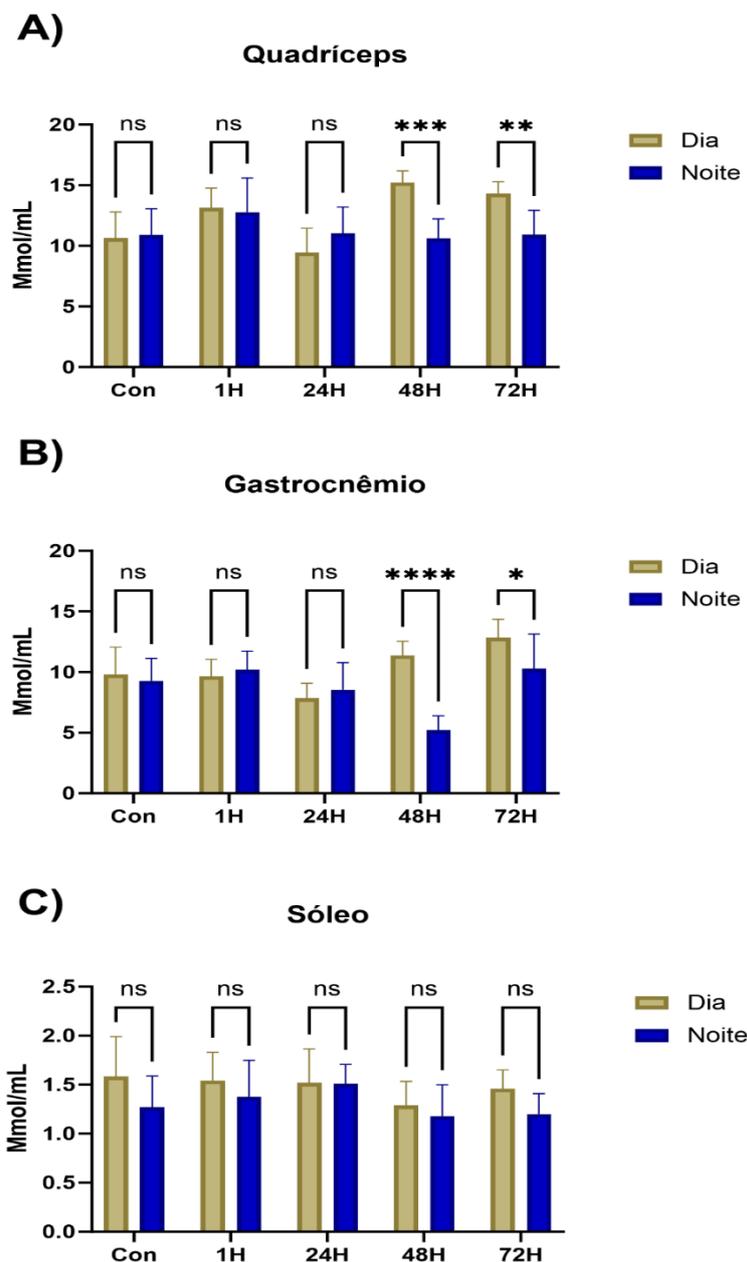


Figura 13: Análise das concentrações de proteínas totais em diferentes tecidos e momentos durante o ciclo-claro (Dia) e ciclo-escuro (Noite) após 7 semanas de treinamento aeróbio. A) Gráfico representa o quadríceps nos grupos Controle, 1h, 24h, 48h e 72h após 7 semanas de treinamento aeróbio; B) gráfico representa o gastrocnêmio nos grupos Controle, 1h, 24h, 48h e 72h após 7 semanas de treinamento aeróbio; C) gráfico representa o sóleo nos grupos Controle, 1h, 24h, 48h e 72h após 7 semanas de treinamento aeróbio. Análise estatística feita com Anova Two Way com pos hoc de Bonferroni, dados apresentados em médias e desvio padrão, sendo considerado significativo $p < 0,05$. (* $p < 0,05$); (** $p < 0,01$); (***) $p < 0,001$); (**** $p < 0,0001$).

Assim, como os resultados de FRAP e Bradford mostraram alterações significativas no gastrocnêmio, além de que nos protocolos de exercício aeróbico, esse é um músculo altamente recrutado. Realizamos ainda, as análises de MDA e SH para avaliar resposta oxidativa localizada em diferentes tempos após o exercício (1h, 24h, 48h, 72h) realizado durante o dia e noite.

Dessa forma, evidenciamos aumento significativo das concentrações de MDA após 48h ($144,34 \pm 12,40$ nmol/g) e 72h ($162,44 \pm 10,85$ nmol/g) do treinamento no grupo Dia quando comparado ao grupo Noite ($120,95 \pm 9,18$ nmol/g) $p = 0,0040$, ($140,96 \pm 12,45$ nmol/g) $p = 0,0121$ respectivamente, indicando que o exercício realizado durante o dia induziu maior estresse oxidativo nesse músculo (**Figura 14A**).

Na análise de SH, evidenciamos diferença significativa apenas nas 72h entre os momentos do dia, com grupo Dia apresentando maior concentração de SH ($360,31 \pm 135,11$ nmol/g), quando comparado com o grupo Noturno ($250,20 \pm 109,83$ nmol/g) $p = 0,0466$, o que pode indicar que o aumento tardio de grupos SH no mesmo grupo (72h) pode refletir uma resposta adaptativa antioxidante compensatória no músculo gastrocnêmio (**Figura 14B**).

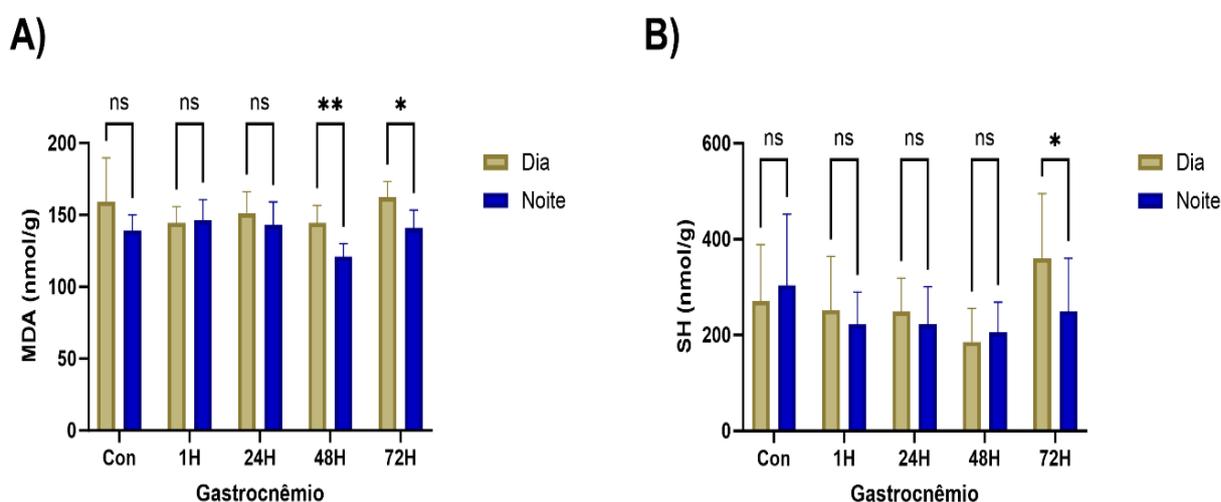


Figura 14: Análise das concentrações de marcadores de estresse oxidativo no músculo gastrocnêmio em diferentes momentos durante o ciclo-claro (Dia) e ciclo-escuro (Noite) após 7 semanas de treinamento aeróbico. A) gráfico representa os níveis de MDA grupos Controle, 1h, 24h, 48h e 72h após 7 semanas de treinamento aeróbico; B) gráfico representa os níveis de SH nos grupos Controle, 1h, 24h, 48h e 72h após 7 semanas de treinamento aeróbico. Análise estatística feita com Anova Two Way com pos hoc de Bonferroni, dados apresentados em médias e desvio padrão, sendo considerado significativo $p < 0,05$. (* $p < 0,05$); (** $p < 0,01$).

5 DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que o exercício aeróbio, embora benéfico em diferentes horários, gerou respostas adaptativas específicas ao ritmo circadiano de ratos *Wistar*. O treinamento aeróbio durante a noite, melhorou o desempenho físico, reduziu o estresse oxidativo e promoveu adaptações musculares mais eficientes, especialmente no músculo sóleo e gastrocnêmio.

Em contrapartida, o treinamento aeróbio realizado durante o dia, parece desenvolver maior estresse metabólico e oxidativo, resultando em respostas compensatórias tardias, como possível maior síntese de proteínas e aumento da atividade antioxidante, especificamente no gastrocnêmico. Nossos achados reforçam a relevância do ritmo circadiano na modulação das respostas fisiológicas ao exercício físico. Embora o treinamento tenha promovido benefícios em ambos os períodos do ciclo claro-escuro, evidenciamos que o exercício realizado durante a fase ativa dos ratos (noite) foi mais eficiente em melhorar o desempenho físico, leia-se performance, reduzir o estresse oxidativo, induzindo a adaptações musculares.

Estas evidências reforçam a importância do ritmo circadiano como um modulador na resposta ao exercício físico, especialmente em tecidos metabolicamente ativos como o músculo esquelético. Embora o exercício aeróbio seja amplamente reconhecido por seus efeitos benéficos sobre o metabolismo e a saúde geral, tanto em indivíduos saudáveis quanto em populações clínicas (Ansari et al., 2023; Kirwan, Sacks & Nieuwoudt, 2017; Haganes et al., 2023), nossos resultados sugerem que o horário da prática pode otimizar ou limitar os efeitos adaptativos desejados.

Adicionalmente, observamos que o exercício aeróbio praticado a noite por roedores promoveu redução significativa do peso corporal, enquanto o IMC foi modulado pelo período noturno. Já a gordura visceral reduziu após o exercício em ambos os períodos, reforçando que apenas o exercício aeróbio, estimula de maneira eficaz a redução de tecido adiposo, mesmo quando realizado durante a fase de descanso do animal (ciclo-claro). Tecidos periféricos como gordura e músculo estão interligados pelo relógio circadiano (Chen et al, 2025). Estudo aponta que o ritmo circadiano desempenha papel importante na modulação do exercício e no metabolismo corporal (Cheng, Lu e Qian, 2021).

A lipólise induzida pelo exercício, o aumento do turnover de ácidos graxos são mecanismos centrais que atuam continuamente ao longo das 24 horas, o que pode explicar a eficácia do exercício nesse parâmetro (Kutsenko et al, 2025; Sato et al, 2019). Assim, o benefício do exercício aeróbio sobre a gordura visceral é independente do ciclo claro-escuro, o que reforça sua importância como ferramenta terapêutica.

Além disso, nosso estudo sugere também que há uma resposta muscular dependente do tipo de fibra e do momento do exercício, com o sóleo sendo mais responsivo e o gastrocnêmio reagindo ao estresse fora da fase ativa. A literatura evidencia que o tipo de fibra muscular e o momento do exercício interagem fortemente para determinar a magnitude e a qualidade da resposta adaptativa (Qaisar, Bhaskaran e Remmen, 2016). Enquanto fibras lentas, como o músculo sóleo mostram maior aporte antioxidante (Figura 11C) e melhor adaptação ao exercício na fase noturna, fibras rápidas, como o gastrocnêmio são mais suscetíveis ao estresse oxidativo em exercícios diurnos, exigindo respostas compensatórias mais intensas (Figura 14 A e B) (Qaisar, Bhaskaran e Remmen, 2016). Estudos também demonstram que tanto o exercício quanto a alimentação com restrição de tempo podem restaurar a expressão dos genes do relógio circadiano nos músculos esqueléticos, inclusive sob desafios metabólicos como dietas hiperlipídicas (Raza et al, 2024; Martin, Viggars, Esser, 2023).

Com a adaptação metabólica muscular, também evidenciamos que nos testes de capacidade aeróbia máxima os animais tiveram melhor desempenho à noite, quando comparado ao turno diurno. Isso indica que os animais estão biologicamente mais preparados para atividades físicas durante a fase ativa (noturna), refletindo a cronobiologia natural dos roedores.

Assim como demonstrado no estudo de Sato et al (2019), a fase escura corresponde a fase ativa do animal, quando o metabolismo está naturalmente mais elevado, favorecendo a fisiologia hormonal e o metabolismo enzimático propício ao ótimo desempenho e adaptação, sendo assim, o horário do exercício físico exerce influência direta sobre o desempenho físico, sendo que o treinamento aeróbico realizado durante à noite promoveu melhor desempenho em testes de exaustão (Figura 9)

Nesta perspectiva, após o treinamento aeróbico intenso, alterações metabólicas são identificadas, principalmente com relação ao estresse oxidativo no músculo esquelético.

O FRAP é usado na avaliação da capacidade antioxidante total medindo a habilidade de antioxidantes presentes de reduzir íons férricos (Fe^{3+}) a íons ferrosos (Fe^{2+}) (Hosseinzadeh et al, 2007). Nessa perspectiva, o sóleo nos animais que realizaram treinamento aeróbio noturno obtiveram maior capacidade antioxidante, mostrando resposta tardia sugerindo uma adaptação mais eficiente ao exercício. Em um estudo de Polotow et al (2014) mostrou que o FRAP reduziu no sóleo de animais treinados até a exaustão sacrificados imediatamente após o treinamento. Em outro estudo de Ulbricht et al (2019) evidenciou aumento da atividade antioxidante após treinamento em esteira em ratos. Esses conjuntos de dados fornecem evidências robustas de que o treinamento aeróbio pode modular a atividade antioxidante no músculo sóleo. Nosso dado de forma isolada, mostra que essa modulação da atividade antioxidante é desencadeada de forma tardia, na fase ativa dos animais.

Em contraste, percebemos que o músculo gastrocnêmico apresentou um aumento no FRAP no grupo Dia após 24h, e também no grupo Noite após 48h, tendo possível diferença temporal na resposta adaptativa entre os períodos, evidenciando que a capacidade antioxidante é modulada pelo ciclo circadiano nesse músculo. Em estudo desenvolvido por Gu et al (2024) evidenciaram que os níveis de atividade antioxidante foram aumentados no gastrocnêmio de animais após treinamento aeróbio, após alterações no ritmo circadiano, independente do momento da eutanásia. Por sua vez, Groussard et al (2019) evidenciaram aumento na capacidade antioxidante do músculo gastrocnêmio após 10 semanas de treinamento aeróbio moderado, com eutanásia dos animais após 24 horas, entretanto, não foi relatado o momento em que eles foram treinados. Esse conjunto de dados sugere que a capacidade antioxidante do gastrocnêmio pode ser modulada pelo momento do dia, tendo seus efeitos alterados dependentes do exercício e fase do ciclo circadiano.

Nesta perspectiva, o gastrocnêmio é fortemente envolvido na propulsão durante a corrida, funcionando como um dos principais motores. Logo, durante a locomoção em esteira, os ratos utilizam principalmente movimentos de flexão e extensão do tornozelo e joelho (Alexander et al, 2021).

Estudos de eletromiografia (EMG) e análise histológica após protocolos de exercício mostram maior ativação e hipertrofia no gastrocnêmio comparado ao sóleo e ao quadríceps em ratos submetidos a corrida em esteira (Gorassini et al, 2002; Alexander et al, 2021).

Portanto, utilizamos esse músculo para avaliação específica de marcadores de estresse oxidativo, como MDA e SH. Assim, o treinamento aeróbio durante o Dia induziu maior estresse oxidativo nos ratos, como evidenciado pelos altos níveis de MDA, reduzindo as concentrações durante a noite. O aumento após 72 horas do exercício do SH sugere mecanismo de compensação antioxidante, o que pode indicar que a recuperação muscular foi mais tardia quando o treinamento é feito fora da fase ativa. Estudo identificou que após exercício aeróbio o gastrocnêmio obteve maior resposta antioxidante (Liu et al, 2020).

Entretanto, cabe salientar que o horário do treino, no caso o dia modula a resposta antioxidante de forma tardia, influenciado pelo ritmo circadiano e pelas adaptações ao horário habitual de exercício, como já demonstrado anteriormente por (Sato et al, 2019; Kim et al, 2022). Nessa perspectiva, o treinamento aeróbio realizado durante a noite pode levar a adaptações benéficas no sistema antioxidante em determinados grupos musculares. Assim como para o pesquisador da área, fica demonstrado que no período de treinamento supracitado, há melhor rendimento da amostra para a aplicabilidade do modelo de treinamento.

6 CONCLUSÃO

Nossos dados demonstraram a influência do ritmo circadiano sobre o metabolismo do treinamento físico. O treinamento praticado durante a fase ativa dos ratos (período noturno) foi mais eficaz em promover melhora do desempenho físico, redução do estresse oxidativo e aumento da capacidade antioxidante, principalmente no músculo sóleo. Em contrapartida, o treinamento realizado no período diurno nos ratos, maior nível de estresse oxidativo, principalmente no gastrocnêmio, seguido por compensação antioxidante tardia, o que pode estar associada à ativação de vias adaptativas de recuperação muscular.

Além disso, os mecanismos lipolíticos induzidos pelo treinamento aeróbio não dependem do ritmo circadiano. Esses conjuntos de resultados reforçam que o ritmo biológico muscular tem impacto no músculo esquelético, especificamente no metabolismo redox. Sendo o momento do dia, aspecto imprescindível para execução de protocolos de treinamento, especialmente em modelos experimentais. Sob essa perspectiva, este estudo sugere a investigação de outros componentes importantes relacionadas ao ritmo circadiano e ao metabolismo redox, especialmente nos músculos envolvidos na corrida em esteira, que podem demonstrar maior sensibilidade às variações do momento do dia e ao exercício aeróbico assim como investigar esses mesmos componentes num modelo anaeróbio.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamovich, Y., Dandavate, V., Ezagouri, S., Manella, G., Zwihaft, Z., Sobel, J., ... & Asher, G. (2021). Clock proteins and training modify exercise capacity in a daytime-dependent manner. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(35), e2101115118.
- Agez, L., Laurent, V., Pévet, P., Masson-Pévet, M., & Gauer, F. (2007). Melatonin affects nuclear orphan receptors mRNA in the rat suprachiasmatic nuclei. *Neuroscience*, 144(2), 522–530. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.09.030>
- Alexander, P., Vsevolod, L., Natalia, M., & Pavel, M. (2021). Effect of hindlimb unloading on recruitment of gastrocnemius medialis muscle during treadmill locomotion in rats. *Experimental Brain Research*, 239(9), 2793-2801.
- Amador, A., Campbell, S., Kazantzis, M., Lan, G., Burris, T. P., & Solt, L. A. (2018). Distinct roles for REV-ERB α and REV-ERB β in oxidative capacity and mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *PLoS One*, 13(5), e0196787.
- Ansari, M., Hardcastle, S., Myers, S., & Williams, A. D. (2023). The health and functional benefits of eccentric versus concentric exercise training: a systematic review and meta-analysis. *Journal of sports science & medicine*, 22(2), 288.
- Aoi, W., Naito, Y., & Yoshikawa, T. (2011). Dietary exercise as a novel strategy for the prevention and treatment of metabolic syndrome: effects on skeletal muscle function. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2011(1), 676208.
- Aon, M. A., Cortassa, S., Juhaszova, M., González-Reyes, J. A., Calvo-Rubio, M., Villalba, J. M., ... & Sollott, S. J. (2021). Mitochondrial health is enhanced in rats with higher vs. lower intrinsic exercise capacity and extended lifespan. *npj Aging and Mechanisms of Disease*, 7(1), 1.
- Araujo, G. G. D., Papoti, M., Manchado-Gobatto, F. D. B., Mello, M. A. R. D., & Gobatto, C. A. (2010). Padronização de um protocolo experimental de treinamento periodizado em natação utilizando ratos Wistar. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 16, 51-56.
- Barnard, A. R., & Nolan, P. M. (2008). When clocks go bad: Neurobehavioural consequences of disrupted circadian timing. *PLoS Genetics*, 4(5), e1000040.
- Bečić, T., Studenik, C., & Hoffmann, G. (2018). Exercise increases adiponectin and reduces leptin levels in prediabetic and diabetic individuals: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Medical Sciences*, 6(4), 97. <https://doi.org/10.3390/medsci6040097>

- Bidkar, J. S., Ghanwat, D. D., Bhujbal, M. D., & Dama, G. Y. (2012). Anti-hyperlipidemic activity of Cucumis melo fruit peel extracts in high cholesterol diet induced hyperlipidemia in rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 9(1).
- Bloomer, R. J., & Fisher-Wellman, K. H. (2008). Blood oxidative stress biomarkers: influence of sex, exercise training status, and dietary intake. *Gender medicine*, 5(3), 218-228.
- Bouviere, J., Fortunato, R. S., Dupuy, C., Werneck-de-Castro, J. P., Carvalho, D. P., & Louzada, R. A. (2021). Exercise-stimulated ROS sensitive signaling pathways in skeletal muscle. *Antioxidants (Basel)* 10: 537.
- Bradford, M. M. (1985). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 677–685.
- Bradley, R. L., Jeon, J. Y., Liu, F. F., & Maratos Flier, E. (2008). Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism*, 295(3), E586–E594. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00309.2007>
- Brown, M. B., Neves, E., Long, G., Graber, J., Gladish, B., Wiseman, A., et al. (2017). High-intensity interval training, but not continuous training, reverses right ventricular hypertrophy and dysfunction in a rat model of pulmonary hypertension. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 312(2), R197–R210.
- Calle, M. C., & Fernandez, M. L. (2010). Effects of resistance training on the inflammatory response. *Nutrition research and practice*, 4(4), 259-269.
- Camargo, E. D., & AÑEZ, C. R. R. (2020). Diretrizes da OMS para atividade física e comportamento sedentário: num piscar de olhos. Genebra: Organização Mundial da Saúde.
- Cassidy, S., Thoma, C., Hallsworth, K., Parikh, J., Hollingsworth, K. G., Taylor, R., ... & Trenell, M. I. (2016). High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia*, 59, 56-66.
- Castelhano-Carlos, M., & Baumans, V. (2009). The impact of light, noise, cage cleaning and in-house transport on welfare and stress of laboratory rats. *Laboratory Animals*, 43(4), 311–327.
- Chen, J., Xiang, J., Zhou, M., Huang, R., Zhang, J., Cui, Y., ... & Li, M. D. (2025). Dietary timing enhances exercise by modulating fat-muscle crosstalk via adipocyte AMPK α 2 signaling. *Cell Metabolism*.

Chen, M. M., Li, Y., Deng, S. L., Zhao, Y., Lian, Z. X., & Yu, K. (2022). Mitochondrial function and reactive oxygen/nitrogen species in skeletal muscle. *Frontiers in cell and developmental biology*, 10, 826981.

Cheng, A. J., Yamada, T., Rassier, D. E., Andersson, D. C., Westerblad, H., & Lanner, J. T. (2016). Reactive oxygen/nitrogen species and contractile function in skeletal muscle during fatigue and recovery. *The Journal of physiology*, 594(18), 5149-5160.

Cheng, Q., Lu, C., & Qian, R. (2022). The circadian clock regulates metabolic responses to physical exercise. *Chronobiology international*, 39(7), 907-917.

Cohen, J (1992). *Statistics a power primer*. *Psychology Bulletin*. 112(1), 155-59.

Coll-Risco, I., Aparicio, V. A., Nebot, E., Camiletti-Moirón, D., Martínez, R., Kapravelou, G., ... Aranda, P. (2015). Effects of interval aerobic training combined with strength exercise on body composition, glycaemic and lipid profile and aerobic capacity of obese rats. *Journal of Sports Sciences*, 34(15), 1452–1460. <https://doi.org/10.1080/02640414.2015.1119296>

Cortés-Espinar, A. J., Ibarz-Blanch, N., Soliz-Rueda, J. R., Calvo, E., Bravo, F. I., Mulero, M., & Ávila-Román, J. (2023). Abrupt Photoperiod Changes Differentially Modulate Hepatic Antioxidant Response in Healthy and Obese Rats: Effects of Grape Seed Proanthocyanidin Extract (GSPE). *International Journal of Molecular Sciences*, 24(23), 17057.

Cruzat, V. F., Rogero, M. M., Borges, M. C., & Tirapegui, J. (2007). Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 13, 336-342.

Delwing-de Lima, D., Ulbricht, A. S. S. F., Werlang-Coelho, C., Delwing-Dal Magro, D., Joaquim, V. H. A., Salamaia, E. M., ... & Desordi, L. (2018). Effects of two aerobic exercise training protocols on parameters of oxidative stress in the blood and liver of obese rats. *The journal of physiological sciences*, 68, 699-706.

dos Santos, J. D. M., dos Santos, J. L., Vieira-Souza, L. M., de Oliveira, J. U., Sena Junior, A. S., DE LIMA, C., ... & de Araujo, S. S. (2022). Effects of HIIT associated with *coutoubea spicata* supplementation on tissue and oxidative damage biomarkers in Wistar rats. *Int J Morphol*, 1(2), 2.

Duglan, D., & Lamia, K. A. (2019). Clocking in, working out: circadian regulation of exercise physiology. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 30(6), 347-356.

Duranti, G. (2023). Oxidative stress and skeletal muscle function. *International journal of molecular sciences*, 24(12), 10227.

Ezagouri, S., Zwithaft, Z., Sobel, J., Baillieul, S., Doutreleau, S., Ladeuix, B., ... & Asher, G. (2019). Physiological and molecular dissection of daily variance in exercise capacity. *Cell metabolism*, 30(1), 78-91.

Fang, Z. H., Lee, C. H., Seo, M. K., Cho, H., Lee, J. G., Lee, B. J., Park, S. W., & Kim, Y. H. (2013). Effect of treadmill exercise on the BDNF-mediated pathway in the hippocampus of stressed rats. *Neuroscience Research*, 76(4), 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2013.04.005>

Faul, Franz, et al. "G* Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences." *Behavior research methods* 39.2 (2007): 175-191.

Finsterer, J. (2012). Biomarkers of peripheral muscle fatigue during exercise. *BMC musculoskeletal disorders*, 13, 1-13.

Flecknell, P. (2009). *Laboratory animal anaesthesia*. Academic press.

Frampton, J., Cobbold, B., Nozdrin, M., Oo, H. T. H., Wilson, H., Murphy, K. G., Frost, G., & Chambers, E. S. (2021). The effect of a single bout of continuous aerobic exercise on glucose, insulin and glucagon concentrations compared to resting conditions in healthy adults: a systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Sports Medicine*, 51(9), 1949–1966. <https://doi.org/10.1007/s40279-021-01473-2>

Franklin BA. Evolution of the ACSM Guidelines: historical perspectives, new insights, and practical implications. *ACSM's Health & Fitness Journal*. 2021 Mar 1;25(2):26-32.

Garcia, B. C., Camargo Filho, J. C. S., Vanderlei, L. C. M., Pastre, C. M., Camargo, R. C. T., Souza, T. A. D., ... & Oliveira, A. C. D. (2010). Efeitos da dieta suplementada com ômega-3 no músculo sóleo de ratos submetidos à natação: análise histológica e morfométrica. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 16, 363-367.

García-Giménez, J. L., Cánovas-Cervera, I., & Pallardó, F. V. (2024). Oxidative stress and metabolism meet epigenetic modulation in physical exercise. *Free Radical Biology and medicine*, 213, 123-137.

Garrigos, D., Martínez-Morga, M., Toval, A., Kutsenko, Y., Barreda, A., Do Couto, B. R., Navarro-Mateu, F., & Ferran, J. L. (2021). A handful of details to ensure the experimental reproducibility on the FORCED running wheel in rodents: A systematic review. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 638261.

Ghezzi, P. (2020). Environmental risk factors and their footprints in vivo—a proposal for the classification of oxidative stress biomarkers. *Redox biology*, 34, 101442.

Gomes, E. C., Silva, A. N., & Oliveira, M. R. D. (2012). Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012(1), 756132.

González-Alonso, J., Crandall, C. G., & Johnson, J. M. (2008). The cardiovascular challenge of exercising in the heat. *The Journal of Physiology*, 586(1), 45–53.

Gorassini, M., Eken, T., Bennett, D. J., Kiehn, O., & Hultborn, H. (2000). Activity of hindlimb motor units during locomotion in the conscious rat. *Journal of neurophysiology*, 83(4), 2002-2011.

Greenwood, B. N., Fleshner, M., & Day, H. E. (2010). Chronic voluntary wheel running facilitates corticosterone response habituation to repeated audiogenic stress exposure in male rats. *Stress*, 11(5), 425–437. <https://doi.org/10.1080/10253890801887453>

Groussard, C., Maillard, F., Vazeille, E., Barnich, N., Sirvent, P., Otero, Y. F., ... & Boisseau, N. (2019). Tissue-specific oxidative stress modulation by exercise: a comparison between MICT and HIIT in an obese rat model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019: 1965364.

Gu, Y., Seong, D. H., Liu, W., Wang, Z., Jeong, Y. W., Kim, J. C., ... & Kim, S. H. (2024). Exercise improves muscle mitochondrial dysfunction-associated lipid profile under circadian rhythm disturbance. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology: Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*, 28(6), 515-526.

Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.

Haganes, K. L., Silva, C. P., Eyjolfsdottir, S. K., Steen, S., Grindberg, M., Lydersen, S., ... & Moholdt, T. (2022). Time-restricted eating and exercise training improve HbA1c and body composition in women with overweight/obesity: A randomized controlled trial. *Cell Metabolism*, 34(10), 1457-1471.

Hardeland, R., Coto-Montes, A., & Poeggeler, B. (2003). Circadian rhythms, oxidative stress, and antioxidative defense mechanisms. *Chronobiology international*, 20(6), 921-962.

Hassan, H. A., Ahmed, H. S., & Hassan, D. F. (2024). Free radicals and oxidative stress: Mechanisms and therapeutic targets. *Human Antibodies*, 32(4), 151-167.

Hassan, W., Noreen, H., Rehman, S., Gul, S., Amjad Kamal, M., Paul Kamdem, J., ... & BT da Rocha, J. (2017). Oxidative stress and antioxidant potential of one hundred medicinal plants. *Current topics in medicinal chemistry*, 17(12), 1336-1370.

Hastings, M. H., Maywood, E. S., & Brancaccio, M. (2018). Generation of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(8), 453–469. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0026-z>

Hawkins, P., & Golledge, H. D. (2018). The 9 to 5 rodent—Time for change? Scientific and animal welfare implications of circadian and light effects on laboratory mice and rats. *Journal of Neuroscience Methods*, 300, 20–25.

Hayes, L. D., Herbert, P., Sculthorpe, N. F., & Grace, F. M. (2017). Exercise training improves free testosterone in lifelong sedentary aging men. *Endocrine Connections*, 6(5), 306–310. <https://doi.org/10.1530/EC-17-0082>

He, F., Li, J., Liu, Z., Chuang, C. C., Yang, W., & Zuo, L. (2016). Redox mechanism of reactive oxygen species in exercise. *Frontiers in physiology*, 7, 486.

Hornberger Jr, T. A., & Farrar, R. P. (2004). Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Canadian journal of applied physiology*, 29(1), 16-31.

Hosseinzadeh, H., Moghim, F. F., & Mansouri, S. M. T. (2007). Effect of *Nigella sativa* seed extracts on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. *Pharmacologyonline*, 2, 326-335.

Hwang, D. S., Kwak, H. B., Ko, I. G., Kim, S. E., Jin, J. J., Ji, E. S., ... & Kwon, O. Y. (2016). Treadmill exercise improves memory function depending on circadian rhythm changes in mice. *International Neuropsychology Journal*, 20(Suppl 2), S141.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística da Produção Agrícola Municipal: lavouras temporárias e permanentes. Rio de Janeiro. 2016 v. 43, p.1-62, (2016).

Jakubczyk, K., Dec, K., Kałduńska, J., Kawczuga, D., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Reactive oxygen species-sources, functions, oxidative damage. *Polski Merkuriusz Lekarski: Organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 48(284), 124-127.

Jana, T., Tzveta, S., Zlatina, N., Natasha, I., Dimitrinka, A., Milena, A., & Katerina, G. (2020). Effect of endurance training on diurnal rhythms of superoxide dismutase activity, glutathione and lipid peroxidation in plasma of pinealectomized rats. *Neuroscience Letters*, 716, 134637.

Jha, P. K., Challet, E., & Kalsbeek, A. (2021). Circadian rhythms in glucose and lipid metabolism in nocturnal and diurnal mammals. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 514, 110915. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110915>

Ji, L. L., & Yeo, D. (2021). Oxidative stress: an evolving definition. *Faculty Reviews*, 10, 13.

Johnston, J. D., Ordovás, J. M., Scheer, F. A., & Turek, F. W. (2016). Circadian rhythms, metabolism, and chrononutrition in rodents and humans. *Advances in nutrition*, 7(2), 399-406.

Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. *Archives of toxicology*, 97(10), 2499-2574.

Joseph, A. M., Adhietty, P. J., & Leeuwenburgh, C. (2016). Beneficial effects of exercise on age-related mitochondrial dysfunction and oxidative stress in skeletal muscle. *The Journal of physiology*, 594(18), 5105-5123.

Jung, J. T. K., Marques, L. S., Zborowski, V. A., Silva, G. L., Nogueira, C. W., & Zeni, G. (2022). Resistance training modulates hippocampal neuroinflammation and

protects anxiety depression like dyad induced by an emotional single prolonged stress model. *Molecular Neurobiology*, 60, 264–276. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-03069-x>

Kano, R., Kusano, T., Takeda, R., Shirakawa, H., Poole, D. C., Kano, Y., & Hoshino, D. (2024). Eccentric contraction increases hydrogen peroxide levels and alters gene expression through Nox2 in skeletal muscle of male mice. *Journal of Applied Physiology*, 137(3), 778-788.

Kasai, S., Shimizu, S., Tatara, Y., Mimura, J., & Itoh, K. (2020). Regulation of Nrf2 by mitochondrial reactive oxygen species in physiology and pathology. *Biomolecules*, 10(2), 320.

Keating, S. E., Hackett, D. A., Parker, H. M., O'Connor, H. T., Gerofi, J. A., Sainsbury, A., ... & Johnson, N. A. (2015). Effect of aerobic exercise training dose on liver fat and visceral adiposity. *Journal of hepatology*, 63(1), 174-182.

Kemler, D., Wolff, C. A., & Esser, K. A. (2020). Time-of-day dependent effects of contractile activity on the phase of the skeletal muscle clock. *The Journal of physiology*, 598(17), 3631-3644.

Khatri, S., Das, S., Singh, A., Ahmad, S., Kashiv, M., Laxman, S., & Kolthur-Seetharam, U. (2025). Diurnal variation in skeletal muscle mitochondrial function dictates time-of-day-dependent exercise capacity. *The FASEB Journal*, 39(3), e70365.

Kim, H. K., Radak, Z., Takahashi, M., Inami, T., & Shibata, S. (2023). Chrono-exercise: Time-of-day-dependent physiological responses to exercise. *Sports Medicine and Health Science*, 5(1), 50-58.

Kirwan, J. P., Sacks, J., & Nieuwoudt, S. (2017). The essential role of exercise in the management of type 2 diabetes. *Cleveland Clinic journal of medicine*, 84(7 Suppl 1), S15.

Koves, T. R., Ussher, J. R., Noland, R. C., Slentz, D., Mosedale, M., Ilkayeva, O., ... & Muoio, D. M. (2008). Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance. *Cell metabolism*, 7(1), 45-56.

Kramer, H. F., & Goodyear, L. J. (2007). Exercise, MAPK, and NF-κB signaling in skeletal muscle. *Journal of applied physiology*, 103(1), 388-395.

Kumagai, H., Yoshikawa, T., Zempo Miyaki, A., Myoenzono, K., Tsujimoto, T., Tanaka, K., & Maeda, S. (2018). Vigorous physical activity is associated with regular aerobic exercise induced increased serum testosterone levels in overweight/obese men. *Hormone and Metabolic Research*, 50(1), 73–79. <https://doi.org/10.1055/s-0043-117497>

Kutsenko, Y., Iñiguez, L. P., Barreda, A., Pardo-Marín, L., Toval, A., Garrigos, D., ... & Ferran, J. L. (2025). Timing of exercise differentially impacts adipose tissue gain in male adolescent rats. *Molecular Metabolism*, 93, 102100.

Kuwahara, H., Horie, T., Ishikawa, S., Tsuda, C., Kawakami, S., Noda, Y., ... & Shimizu, T. (2010). Oxidative stress in skeletal muscle causes severe disturbance of exercise activity without muscle atrophy. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(9), 1252-1262.

Lancaster, K. A., & Creaser, C. S. (2017). Circadian rhythm modulation by the suprachiasmatic nucleus: implications for metabolism. *Frontiers in Endocrinology*, 8, 93. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00093>

Lapenna, D., Ciofani, G., Pierdomenico, S. D., Giamberardino, M. A., & Cuccurullo, F. (2001). Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(3), 331-335.

Lazzer, S., Rejc, E., & Del Torto, A. (2018). Benefits of aerobic exercise training with recommendations for healthy aging. *Annales Kinesiologiae*, 8(2), 111-124.

Lee, H., & Song, W. (2018). Exercise and mitochondrial remodeling in skeletal muscle in type 2 diabetes. *Journal of obesity & metabolic syndrome*, 27(3), 150.

Li, Y. S., Fujihara, H., Fujisawa, K., & Kawai, K. (2024). Effect of circadian rhythm disruption induced by time-restricted feeding and exercise on oxidative stress and immune in mice. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 76(1), 35.

Li, Y., Cai, M., Cao, L., Qin, X., Zheng, T., Xu, X., ... & He, G. (2014). Endurance exercise accelerates myocardial tissue oxygenation recovery and reduces ischemia reperfusion injury in mice. *PLoS One*, 9(12), e114205.

Lin, J., Zhang, X., Sun, Y., Xu, H., Li, N., Wang, Y., ... & Zhao, R. (2024). Exercise ameliorates muscular excessive mitochondrial fission, insulin resistance and inflammation in diabetic rats via irisin/AMPK activation. *Scientific Reports*, 14(1), 10658.

Liu, D., Zhang, Y., Wu, Q., Han, R., Cheng, D., Wu, L., ... & Jia, W. (2024). Exercise-induced improvement of glycemic fluctuation and its relationship with fat and muscle distribution in type 2 diabetes. *Journal of Diabetes*, 16(4), e13549.

Liu, Y. Q., Zhang, J., Gao, L. N., & Wang, H. T. (2020). Effects of aerobic exercise on Nrf2-SOD pathway in the gastrocnemius of rats with high-glucose and high-fat diet. *Zhongguo Ying Yong Sheng li xue za zhi= Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi= Chinese Journal of Applied Physiology*, 36(5), 481-485.

Liu, J., Hua, J., Chen, S., Zhao, L., Wang, Q., & Zhou, A. (2022). The potential mechanisms of bergamot-derived dietary fiber alleviating high-fat diet-induced hyperlipidemia and obesity in rats. *Food & Function*, 13(15), 8228-8242.

Madesh, M., & Balasubramanian, K. A. (1998). Microtiter plate assay for superoxide dismutase using MTT reduction by superoxide. *Indian journal of biochemistry & biophysics*, 35(3), 184-188.

Manchado-Gobatto, F. B., Mota, C. S., Ribeiro, C., Araujo, G. G., Araújo, M. B., Contarteze, R. V., ... & de Mello, M. A. R. (2008). Effects of light-dark cycle on critical velocity and anaerobic capacity determination in running Wistar rats.

Manchado-Gobatto, F. B., Mota, C. S., Ribeiro, C., Araujo, G. G., Araújo, M. B., Contarteze, R. V., ... & de Mello, M. A. R. (2008). Effects of light-dark cycle on critical velocity and anaerobic capacity determination in running Wistar rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, S397-S398.

Marongiu, E., & Crisafulli, A. (2014). Cardioprotection acquired through exercise: the role of ischemic preconditioning. *Current cardiology reviews*, 10(4), 336-348.

Marrocco, I., Altieri, F., & Peluso, I. (2017). Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017(1), 6501046.

Martemucci, G., Portincasa, P., Centonze, V., Mariano, M., Khalil, M., & D'Alessandro, A. G. (2023). Prevention of oxidative stress and diseases by antioxidant supplementation. *Medicinal Chemistry*, 19(6), 509-537.

Martin, R. A., Viggars, M. R., & Esser, K. A. (2023). Metabolism and exercise: the skeletal muscle clock takes centre stage. *Nature Reviews Endocrinology*, 19(5), 272-284.

Martin, T., Dauvilliers, Y., Koumar, O.-C., Bouet, V., Freret, T., Besnard, S., et al. (2019). Dual orexin receptor antagonist induces changes in core body temperature in rats after exercise. *Scientific Reports*, 9, Article 18432. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54826-3>

Mavanji, V., & Sirianni, A. (2022). Orexin, serotonin, and energy balance. *WIREs Systems Biology and Medicine*, 14(4), e1536. <https://doi.org/10.1002/wsbm.1536>

Mayeuf-Louchart, A., Staels, B., & Duez, H. (2015). Skeletal muscle functions around the clock. *Diabetes, obesity and metabolism*, 17, 39-46.

McClellan, C., & Davison, G. W. (2022). Circadian clocks, redox homeostasis, and exercise: time to connect the dots?. *Antioxidants*, 11(2), 256.

Mokhtari Zaer, A., Saadat, S., Marefati, N., Hosseini, M., & Boskabady, M. H. (2020). Treadmill exercise restores memory and hippocampal synaptic plasticity impairments in ovalbumin sensitized juvenile rats: Involvement of brain derived neurotrophic factor (BDNF). *Neurochemical International*, 135, 104691. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2020.104691>

Montero, D., Diaz-Cañestro, C., & Lundby, C. (2015). Endurance Training and $\dot{V}O_2\text{max}$: Role of Maximal Cardiac Output and Oxygen Extraction. *Medicine and science in sports and exercise*, 47(10), 2024-2033.

Moore, R. Y., & Eichler, V. B. (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, 42(1), 201–206. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(72\)90054-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(72)90054-6)

Moosavi Sohroforouzani, A., Shakerian, S., Ghanbarzadeh, M., & Alaei, H. (2022). Effect of forced treadmill exercise on hippocampal BDNF expression, depression symptoms and memory in LPS-treated rats. *Behavioural Brain Research*, 418, 113645. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113645>

Morikawa, R., Kubota, N., Amemiya, S., Nishijima, T., & Kita, I. (2021). Interaction between intensity and duration of acute exercise on neuronal activity associated with depression-related behavior in rats. *The Journal of Physiological Sciences*, 71, Article 1. <https://doi.org/10.1186/s12576-020-00788-5>

Musci, R. V., Hamilton, K. L., & Linden, M. A. (2019). Exercise-induced mitohormesis for the maintenance of skeletal muscle and healthspan extension. *Sports*, 7(7), 170.

Nelson, D. P., & Kiesow, L. A. (1972). Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). *Analytical biochemistry*, 49(2), 474-478.

Nikolaev, E. V., Siddiqui, A., & Hoover, D. B. (2021). Melatonin regulates the periodic oscillation of clock genes through adenylate cyclase and cAMP signaling mechanisms. *Aging, Circadian Disruption and Neurodegeneration*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2021.10.015>

Nowacka Chmielewska, M., Grabowska, K., Grabowski, M., Meybohm, P., Burek, M., & Małeck, A. (2022). Running from stress: Neurobiological mechanisms of exercise induced stress resilience. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 13348. <https://doi.org/10.3390/ijms232113348>

Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry*, 95, 351–358.

Okamoto, M., Yamamura, Y., Liu, Y. F., Lee, M. C., Matsui, T., Shima, T., ... & Soya, H. (2015). Hormetic effects by exercise on hippocampal neurogenesis with glucocorticoid signaling. *Brain Plasticity*, 1(1), 149–158. <https://doi.org/10.3233/BPL-150012>

Ostman, C., Smart, N. A., Morcos, D., Duller, A., Ridley, W., & Jewiss, D. (2017). The effect of exercise training on clinical outcomes in patients with the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Cardiovascular diabetology*, 16, 1-11.

- Pagan, L. U., Damatto, R. L., Cezar, M. D., Lima, A. R., Bonomo, C., Campos, D. H., ... & Okoshi, K. (2015). Long-term low intensity physical exercise attenuates heart failure development in aging spontaneously hypertensive rats. *Cellular physiology and biochemistry*, 36(1), 61-74.
- Paglia, D. E., & Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 70(1), 158-169.
- Palacios Le Blé, G., Pedrero Chamizo, R., Palacios Gil Antuñano, N., Maroto Sanchez, B., Aznar, S., & González Gross, M. M. (2015). Biomarkers of physical activity and exercise. *Nutricion hospitalaria*, 31(Supl. 3), 237-244.
- Pedersen, B. K., & Febbraio, M. A. (2008). Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiological reviews*, 88(4), 1379-1406.
- Pellizzon, M. A., & Ricci, M. R. (2020). Choice of laboratory rodent diet may confound data interpretation and reproducibility. *Current Developments in Nutrition*, 4(4), nzaa031.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.
- Polotow, T. G., Vardaris, C. V., Mihaliuc, A. R., Gonçalves, M. S., Pereira, B., Ganini, D., & Barros, M. P. (2014). Astaxanthin supplementation delays physical exhaustion and prevents redox imbalances in plasma and soleus muscles of Wistar rats. *Nutrients*, 6(12), 5819-5838.
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological reviews*, 88(4), 1243-1276.
- Powers, S. K., Goldstein, E., Schrage, M., & Ji, L. L. (2022). Exercise training and skeletal muscle antioxidant enzymes: An update. *Antioxidants*, 12(1), 39.
- Powers, S. K., Radak, Z., Ji, L. L., & Jackson, M. (2024). Reactive oxygen species promote endurance exercise-induced adaptations in skeletal muscles. *Journal of sport and health science*.
- Qaisar, R., Bhaskaran, S., & Van Remmen, H. (2016). Muscle fiber type diversification during exercise and regeneration. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 56-67.
- Raizel, R., Leite, J. S. M., Hypólito, T. M., Coqueiro, A. Y., Newsholme, P., Cruzat, V. F., & Tirapegui, J. (2016). Determination of the anti-inflammatory and cytoprotective effects of L-glutamine and L-alanine, or dipeptide, supplementation in rats submitted to resistance exercise. *British journal of nutrition*, 116(3), 470-479.

- Raza, G. S., Kaya, Y., Stenbäck, V., Sharma, R., Sodum, N., Mutt, S. J., ... & Mäkelä, K. A. (2024). Effect of Aerobic Exercise and Time-Restricted Feeding on Metabolic Markers and Circadian Rhythm in Mice Fed with the High-Fat Diet. *Molecular Nutrition & Food Research*, 68(5), 2300465.
- Reid, M. B. (2016). Redox interventions to increase exercise performance. *The journal of physiology*, 594(18), 5125-5133.
- Rolim, P. M., Fidelis, G. P., Padilha, C. E. A., Santos, E. S., Rocha, H. A. O., & Macedo, G. R. (2018). Phenolic profile and antioxidant activity from peels and seeds of melon (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus*) and their antiproliferative effect in cancer cells. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 51, e6069.
- Rossoni, L. V., Oliveira, R. A., Caffaro, R. R., Miana, M., Sanz-Rosa, D., Koike, M. K., ... & Cachoeiro, V. (2011). Cardiac benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. *Journal of hypertension*, 29(12), 2349-2358.
- Sadiq, I. Z. (2023). Free radicals and oxidative stress: Signaling mechanisms, redox basis for human diseases, and cell cycle regulation. *Current molecular medicine*, 23(1), 13-35.
- Safari, M. A., Koushkie Jahromi, M., Rezaei, R., Aligholi, H., & Brand, S. (2020). The effect of swimming on anxiety like behaviors and corticosterone in stressed and unstressed rats. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(18), 6675. <https://doi.org/10.3390/ijerph17186675>
- Sancho, S. D. O., da Silva, A. R. A., Dantas, A. N. D. S., Magalhães, T. A., Lopes, G. S., Rodrigues, S., ... & Silva, M. G. D. V. (2015). Characterization of the industrial residues of seven fruits and prospection of their potential application as food supplements. *Journal of Chemistry*, 2015(1), 264284.
- Santos, J. L. D., Araújo, S. S. D., Silva, A. M. D. O. E., Lima, C. A., Vieira Souza, L. M., Costa, R. A., ... & Marçal, A. C. (2020). Ethanolic extract and ethyl acetate fraction of *Coutoubea spicata* attenuate hyperglycemia, oxidative stress, and muscle damage in alloxan-induced diabetic rats subjected to resistance exercise training program. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 45(4), 401-410.
- Sato, S., Basse, A. L., Schönke, M., Chen, S., Samad, M., Altıntaş, A., ... & Sassone-Corsi, P. (2019). Time of exercise specifies the impact on muscle metabolic pathways and systemic energy homeostasis. *Cell metabolism*, 30(1), 92-110.
- Scheer, F. A., Hilton, M. F., Mantzoros, C. S., & Shea, S. A. (2009). Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(11), 4453–4458.
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., ... & Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 552535.

Shiba, A., de Goede, P., et al. (2024). Synergy between time-restricted feeding and time-restricted running is necessary to shift the muscle clock in male Wistar rats. *Neurobiology of Sleep and Circadian Rhythms*, 17, 100106. <https://doi.org/10.1016/j.nbscr.2024.100106>

Shiba, A., Hardonk, M. H., Foppen, E., Kool, T., la Fleur, S. E., Lucassen, P. J., Yi, C.-X., Stenvers, D. J., Mul, J. D., & Kalsbeek, A. (2024). Voluntary running and estrous cycle modulate Δ FOSB in the suprachiasmatic nucleus of the Wistar rat. *Journal of Circadian Rhythms*, 21(1), 10. <https://doi.org/10.5334/jcr.257>

Shortreed, S. M., Peeters, A., & Forbes, A. B. (2013). Estimating the effect of long-term physical activity on cardiovascular disease and mortality: evidence from the Framingham Heart Study. *Heart*, 99(9), 649-654.

Sies, H. (2020). Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants*, 9(9), 852.

Silva Junior, J. S. D. (2015). Os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a síntese de melatonina pineal em ratos (Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.).

Smith, A. D., & Zigmond, M. J. (2003). Can the brain be protected through exercise? Lessons from an animal model of parkinsonism. *Experimental Neurology*, 184(1), 31–39.

Smith, L. L. (2000). Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress?. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 32(2), 317.

Tahara, Y., Aoyama, S., & Shibata, S. (2017). The mammalian circadian clock and its entrainment by stress and exercise. *The Journal of Physiological Sciences*, 67(1), 1-10.

Tahara, Y., & Shibata, S. (2018). Entrainment of the mouse circadian clock: Effects of stress, exercise, and nutrition. *Free Radical Biology and Medicine*, 119, 129-138.

Tan, J. T., Price, K. J., Fanshaw, S. R., Bilu, C., Pham, Q. T., Pham, A., ... & Bursill, C. A. (2024). Exercise reduces glucose intolerance, cardiac inflammation and adipose tissue dysfunction in psammomys obesus exposed to short photoperiod and high energy diet. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(14), 7756.

Teixeira, A. E. (2018). Dieta de cafeteria desde a lactação promove síndrome metabólica e alteração na ação da risperidona sobre a ansiedade, locomoção, memória e interação social de ratos Wistar. Thyfault, J. P., & Bergouignan, A. (2020). Exercise and metabolic health: beyond skeletal muscle. *Diabetologia*, 63(8), 1464-1474.

Tidball, J. G. (2005). Inflammatory processes in muscle injury and repair. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 288(2), R345-R353.

Toledo, F. G., & Goodpaster, B. H. (2013). The role of weight loss and exercise in correcting skeletal muscle mitochondrial abnormalities in obesity, diabetes and aging. *Molecular and cellular endocrinology*, 379(1-2), 30-34.

Toval, A., Baños, R., De la Cruz, E., Morales-Delgado, N., Pallares, J. G., Ayad, A., et al. (2017). Habituation training improves locomotor performance in a forced running wheel system in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11, 42.

Toval, A., Vicente-Conesa, F., Martínez-Ortega, P., Kutsenko, Y., Morales-Delgado, N., Garrigos, D., et al. (2020). Hypothalamic Crh/Avp, plasmatic glucose and lactate remain unchanged during habituation to forced exercise. *Frontiers in Physiology*, 11, 410.

Toyokuni, S. (2016). Oxidative stress as an iceberg in carcinogenesis and cancer biology. *Archives of biochemistry and biophysics*, 595, 46-49.

Ulbricht, A. S. S. F., Lima, D. D. D., Werlang-Coelho, C., Magro, D. D. D., Donat, B., Vieira, M. R., ... & Pereira, E. M. (2019). Effects of aerobic exercise training on oxidative stress in the skeletal muscles of obese rats. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 25, 404-408.

Vaissière, A., Berger, S., Harrus, D., Dacquet, C., Le Maire, A., Boutin, J. A., ... & Royer, C. A. (2015). Molecular mechanisms of transcriptional control by rev-erb α : an energetic foundation for reconciling structure and binding with biological function. *Protein Science*, 24(7), 1129-1146.

Valentinuzzi, V. S., Menna-Barreto, L., & Xavier, G. F. (2004). Effect of circadian phase on performance of rats in the Morris water maze task. *Journal of Biological Rhythms*, 19(4), 312–324.

Verra, D. M., Sajdak, B. S., Merriman, D. K., & Hicks, D. (2020). Diurnal rodents as pertinent animal models of human retinal physiology and pathology. *Progress in Retinal and Eye Research*, 74, 100776.

Wang Y, Hou Y, Song S, Zuo Y, Yu Y, Chi Y, Zhang T. Harm of circadian misalignment to the hearts of the adolescent wistar rats. *J Transl Med*. 2022 Aug 6;20(1):352. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03546-w>

Wang, R., Tian, H., Guo, D., Tian, Q., Yao, T., & Kong, X. (2019). Impacts of exercise intervention on various diseases in rats. *Journal of Sport and Health Science*, 9(3), 211–227.

Wang, Y., Ji, L., Xiong, Y., & Sun, X. (2018). Aerobic exercise enhanced endothelium-dependent vasorelaxation in mesenteric arteries in spontaneously hypertensive rats: the role of melatonin. *Hypertension Research*, 41(6), 417–424. <https://doi.org/10.1038/s41440-018-0066-9>

- Wewege, M. A., Thom, J. M., Rye, K. A., & Parmenter, B. J. (2018). Aerobic, resistance or combined training: A systematic review and meta-analysis of exercise to reduce cardiovascular risk in adults with metabolic syndrome. *Atherosclerosis*, 274, 162-171.
- Wolff, C. A., & Esser, K. A. (2019). Exercise timing and circadian rhythms. *Current opinion in physiology*, 10, 64-69.
- Xu, Y. Q., Zhang, D., Jin, T., Cai, D. J., Wu, Q., Lu, Y., ... & Klaassen, C. D. (2012). Diurnal variation of hepatic antioxidant gene expression in mice.
- Yarizadeh, H., Eftekhari, R., Anjom-Shoae, J., Speakman, J. R., & Djafarian, K. (2021). The effect of aerobic and resistance training and combined exercise modalities on subcutaneous abdominal fat: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Advances in Nutrition*, 12(1), 179-196.
- Zhang, Y., Wu, Y., Fei, X., Li, Y., Li, Y., & Yan, X. (2023). Effects of aerobic exercise on serum adiponectin concentrations in children and adolescents with obesity: A systematic review and meta-analysis. *Life*, 13(8), 1772. <https://doi.org/10.3390/life1308177>
- Zhang-Sun, Z. Y., Xu, X. Z., Escames, G., Lei, W. R., Zhao, L., Zhou, Y. Z., ... & Yang, Y. (2023). Targeting NR1D1 in organ injury: challenges and prospects. *Military Medical Research*, 10(1), 62.
- Zhou, Y., Zhang, X., Baker, J. S., Davison, G. W., & Yan, X. (2024). Redox signaling and skeletal muscle adaptation during aerobic exercise. *Iscience*.
- Zouhal, H., Jayavel, A., Parasuraman, K., Hayes, L. D., Tourny, C., Rhibi, F., Laher, I., Abderrahman, A. B., & Hackney, A. C. (2022). Effects of exercise training on anabolic and catabolic hormones with advanced age: a systematic review. *Sports Medicine*, 52(6), 1353–1368. <https://doi.org/10.1007/s40279-021-01612-9>

ANEXO



Universidade
Federal de
Sergipe

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "TREINAMENTO ANAERÓBIO E AERÓBIO ASSOCIADO AO MOMENTO DO DIA E A SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO HIDROETANÓLICO DE CASCAS DE CUCUMIS MELO L. LENIFICAM BIOMARCADORES DE LESÃO MUSCULAR E STATUS REDOX", protocolada sob o CEUA nº 6569100222 (ID 000494), sob a responsabilidade de **Felipe José Aidar Martins e equipe; José Uilien de Oliveira; Anderson Carlos Marçal; Jymmys Lopes dos Santos; Tanise Pires Mendonça; Luana Santos Costa; Lorrany da Rosa santos; Lucio Marques Viera Souza** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Sergipe (CEUA/UFS) na reunião de 29/03/2022.

We certify that the proposal "ANAEROBIC AND AEROBIC TRAINING ASSOCIATED WITH TIME OF DAY AND SUPPLEMENTATION WITH HYDROETHANOLIC EXTRACT OF CUCUMIS MELO L. PEELS LENIFY BIOMARKERS OF MUSCLE DAMAGE AND REDOX STATUS", utilizing 450 Heterogenics rats (450 males), protocol number CEUA 6569100222 (ID 000494), under the responsibility of **Felipe José Aidar Martins and team; José Uilien de Oliveira; Anderson Carlos Marçal; Jymmys Lopes dos Santos; Tanise Pires Mendonça; Luana Santos Costa; Lorrany da Rosa santos; Lucio Marques Viera Souza** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Sergipe (CEUA/UFS) in the meeting of 03/29/2022.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **02/2022** a **02/2025** Área: **Fisiologia**

Origem:	Biotério de criação e experimentação animal do NUPESIN		
Espécie:	Ratos heterogênicos	sexo: Machos	idade: 80 a 90 dias N: 150
Linhagem:	Rattus norvegicus/Wistar		Peso: 250 a 300 g
Origem:	Biotério de criação e experimentação animal do NUPESIN		
Espécie:	Ratos heterogênicos	sexo: Machos	idade: 90 a 90 dias N: 150
Linhagem:	Rattus norvegicus/Wistar		Peso: 250 a 300 g
Origem:	Biotério de criação e experimentação animal do NUPESIN		
Espécie:	Ratos heterogênicos	sexo: Machos	idade: 90 a 90 dias N: 150
Linhagem:	Rattus norvegicus/Wistar		Peso: 250 a 300 g

Local do experimento: Núcleo de Pesquisa em Sinalização Intracelular - NUPESIM

São Cristóvão, 30 de março de 2022

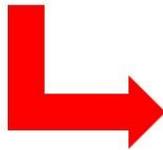
Prof. Dr. Josemar Sena Batista
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. Anderson Carlos Marçal
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Sergipe

APÊNDICE



Efeitos do exercício aeróbio em diferentes momentos no ciclo claro-escuro sobre a composição corporal, desempenho físico e parâmetros de estresse oxidativo em ratos Wistar



O treinamento aeróbio é uma ferramenta poderosa contra o estresse oxidativo, ajudando a equilibrar a produção de radicais livres.

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre produção de radicais livres e defesa antioxidante. Ele influencia no envelhecimento e em várias doenças.



O exercício vai além da performance física: ele modula processos fisiológicos importantes no organismo!



É uma estratégia eficaz para melhorar a saúde metabólica, promover adaptações musculares e reduzir fatores de risco para doenças crônicas.

Objetivo do estudo

Avaliar os efeitos do exercício aeróbio realizado em diferentes fases do ciclo claro-escuro sobre a composição corporal, desempenho físico e parâmetros de estresse oxidativo e resposta antioxidante em roedores.



Mas... o horário em que você treina pode mudar a resposta do seu corpo. Isso tem a ver com o ciclo claro-escuro (manhã e noite).



O ciclo claro-escuro é um dos principais reguladores biológicos dos animais, e precisa ser considerado em pesquisas científicas para garantir resultados confiáveis.

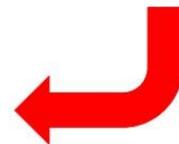


O ciclo claro-escuro guia o corpo — até a forma como ele responde ao exercício.

Na ciência e no treino, respeitar o ciclo claro-escuro faz diferença.

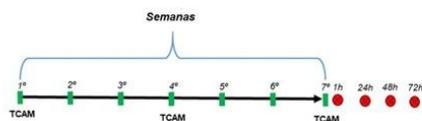
Exercitar-se em momentos distintos do ciclo claro-escuro gera respostas únicas no corpo.

O relógio biológico conversa com o treino: ciclo claro-escuro + exercício = adaptações específicas



Métodos

Ratos wistar foram selecionados;
Realizaram exercício de esteira durante 3 dias na semana;
Grupos realizaram exercício durante a noite e durante o dia;
A intervenção foi realizada durante sete semanas.



Resultados

Animais exercitados à noite apresentaram maior resistência e desempenho nos testes.

O treino diurno resultou em menor capacidade física.

Gastrocnêmio: melhora antioxidante no dia (24h) e na noite (48h).

Sóleo: defesa antioxidante aumentada 48h após treino noturno.

A redução da gordura visceral ocorreu

Resultados

Quadríceps e gastrocnêmio: mais síntese proteica no treino diurno (48h e 72h).

Sóleo: sem diferenças.

Treino diurno → maior estresse oxidativo (48h e 72h).

Treino noturno → menor acúmulo de danos oxidativos.

Dia → resposta antioxidante tardia e compensatória.

Conclusão:

O ritmo circadiano influencia diretamente as adaptações musculares e redox, tornando o horário do treino fator essencial em protocolos experimentais.