



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO



VICTOR AUGUSTO MATHIAS DORAND

**EFEITO DO JEJUM INTERMITENTE ASSOCIADO AO TREINAMENTO
AERÓBICO SOBRE A SAÚDE E O DESEMPENHO FÍSICO DE RATOS *WISTAR***

João Pessoa

2023

VICTOR AUGUSTO MATHIAS DORAND

**EFEITO DO JEJUM INTERMITENTE ASSOCIADO AO TREINAMENTO
AERÓBICO SOBRE A SAÚDE E O DESEMPENHO FÍSICO DE RATOS *WISTAR***

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Nutrição,
como requisito obrigatório para obtenção do
grau de mestre em ciências da nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Jailane de Souza Aquino

João Pessoa

2023

VICTOR AUGUSTO MATHIAS DORAND

**EFEITO DO JEJUM INTERMITENTE ASSOCIADO AO TREINAMENTO
AERÓBICO SOBRE A SAÚDE E O DESEMPENHO FÍSICO DE RATOS *WISTAR***

Dissertação _____ em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Jailane de Souza Aquino

Presidente da banca examinadora

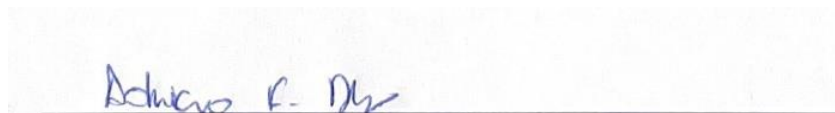
UFPB/Centro de Ciências da Saúde/ Departamento de Nutrição



Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva

Examinador(a) interno(a)

UFPB/Centro de Ciências da Saúde/ Departamento de Educação Física



Prof. Dr. Adriano Francisco Alves

Examinador(a) externo(a)

UFPB/Centro de Ciências da Saúde/ Departamento de Fisiologia e Patologia

Prof. Dra. Maria do Socorro de Franca Falcão

Suplente externo(a)

UFPB/Centro de Biotecnologia / Departamento de Biologia Celular e Molecular

Prof. Dra. Maria Elieidy Gomes de Oliveira

Suplente interno(a)

UFPB/Centro de Ciências da Saúde/ Departamento de Nutrição

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

D693e Dorand, Victor Augusto Mathias.

Efeito do jejum intermitente associado ao
treinamento aeróbico sobre a saúde e o desempenho
físico de ratos wistar / Victor Augusto Mathias Dorand.
- João Pessoa, 2023.

91 f. : il.

Orientação: Jailane de Souza Aquino.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Jejum intermitente. 2. Desempenho físico. 3.
Exercício aeróbico. 4. Resistência à insulina. 5.
Malondialdeído. I. Aquino, Jailane de Souza. II. Título.

UFPB/BC

CDU 613.24 (043)

AGRADECIMENTOS

Aqui expresso minha eterna gratidão a todos que contribuíram para a chegada deste dia, uma etapa tão importante a qual sozinho eu não conseguiria.

Primeiramente quero agradecer a Deus, pelo dom da vida e poder todos os dias levantar e dar o meu melhor nesta caminhada. Com todas as dificuldades enfrentadas, mostrou que seus planos são maiores que os meus.

A minha orientadora professora Dra. Jailane de Souza Aquino, por me aceitar e me ajudar a trilhar esse caminho desde a época de voluntário e PIBIC, mostrando como se faz ciência e que ela vale a pena, sou grato por toda oportunidade e por sua vida, que ajuda a tantos e faz a diferença nesse programa.

A minha família, Eirio Mathias, Norberta Dorand e Amanda Dorand, por me amarem incondicionalmente e estarem do meu lado em toda minha vida.

Aos professores Dr. Alexandre Sergio e Dra. Maria do Socorro que somaram em minha qualificação e estão participando diretamente e indiretamente deste trabalho e ao professor Dr. Adriano Francisco Alves pelo aceite a banca e pelas análises histológicas.

A toda equipe do Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX), os quais estiveram presentes no experimento, dando todo o suporte necessário para a pesquisa.

A professora Dra. Elieidy Gomes do Laboratório de Bromatologia e os técnicos, em especial a Guilherme Costa, que nos auxiliaram nas análises da composição corporal.

A minha namorada Rafaela Cunha Lima, por estar comigo em todos os momentos dessa jornada, me aguentou e me animou nos momentos mais difíceis do ano passado.

Aos meus amigos da universidade, Mateus Duarte, Eder Jackson, Eduardo Amorim, Lucas Alves, Camila Neves, Manoel Miranda que que sabem de toda dificuldade e em especial para Nais Lira, que esteve comigo desde o primeiro dia do experimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e Pró-Reitoria de Pesquisa (PROPESQ), pela bolsa concedida durante a realização da pesquisa.

Ao meu anjo da guarda, meu cachorro, Luke, que faleceu ano passado, mas estive comigo sendo meu melhor amigo durante todo início e me amparou quando estive só.

“Ore como se tudo dependesse de Deus e trabalhe como se tudo dependesse de si”.

Santo Inácio de Loyola

RESUMO

O jejum intermitente (JI) é caracterizado pela abstinência da ingestão de alimentos, cuja duração varia de acordo com o protocolo, sendo o protocolo de alimentação com tempo restrito um dos mais populares. Os efeitos desta intervenção ainda são controversos, com evidências na perda de gordura, mas também na piora do desempenho físico. Ademais, a maioria dos estudos com o JI focam no tratamento ou prevenção de doenças crônicas, ou seja, são escassos em indivíduos saudáveis seja associado ou não à prática de exercícios. Considerando os aspectos abordados, objetivou-se avaliar parâmetros relacionados ao desempenho físico e à saúde como: composição corporal, parâmetros metabólicos como: perfil lipídico, glicídico e hormonal, além de parâmetros inflamatório e oxidativos de ratos *Wistar* submetidos ao JI associado ou não ao treinamento aeróbico. Foram utilizados 40 ratos *Wistar* saudáveis, com ± 140 dias, que foram randomizados em quatro grupos: controles sedentários (CS) e treinado (CT); e os submetidos ao jejum sedentário (JS) e treinado (JT). Os grupos JS e JT foram submetidos ao protocolo de jejum com tempo restrito (15 h em jejum e 9 h alimentados) durante 4 semanas. Concomitantemente, os grupos treinados realizaram corrida em esteira, 5 vezes na semana, com duração de 30 min cada sessão. Foram realizados testes de performance no início e ao final do protocolo de exercícios. Ao final do experimento foram avaliados parâmetros somáticos, o consumo alimentar, a histologia muscular, além do perfil lipídico, insulina, leptina, alfa glicoproteína ácida, proteína C-reativa (PCR), marcadores de dano muscular e oxidativos. JT apresentou perda de peso corporal ($-16g \pm 6,12g$), e menores massa magra (22,49%), LDL (43%), HOMA-IR (29%) e LDH (48%), bem como maior MDA (53%) e CAT (75%) em comparação com CT o qual apresentou peso corporal ($10,63g \pm 7,76g$), massa magra ($25,78 \pm 1,51$), LDL ($18.86 \pm 1,60$), HOMA-IR ($21,79 \pm 1,97$) e LDH (5582 ± 756), MDA ($3,70 \pm 0,19$) e CAT ($14,98 \pm 2,41$). O JT também apresentou menor tolerância à glicose e à insulina quando comparado ao CT. Alfa glicoproteína ácida e creatinoquinase foram semelhantes entre os grupos, contudo os grupos treinados apresentaram menor PCR comparado ao controle. No teste de desempenho, não houve diferença entre CT e JT e ambos os grupos tiveram uma melhora significativa no teste de

desempenho realizado ao final do experimento. Houve diminuição do tamanho dos sarcômeros com áreas de perda de tecido e processos inflamatórios nos músculos sóleo e extensor longo dos dedos em JT e JS. Esses resultados demonstram que o JI associado ao exercício aeróbico apresenta resultados negativos quanto à composição corporal, morfologia muscular e marcadores oxidativos, mas sem alterar o desempenho físico no tempo de experimento.

Palavras-chave: dano muscular; desempenho; exercício; jejum com alimentação com tempo restrito; resistência à insulina; malondialdeído.

ABSTRACT

Intermittent fasting (IF) is characterized by the abstention from food intake, with the duration varying according to the protocol, with time-restricted feeding being one of the most popular protocols. The effects of this intervention are still controversial, with evidence of fat loss, but also potential deterioration in physical performance. Furthermore, most IF studies focus on the treatment or prevention of chronic diseases, meaning there is a lack of research on healthy individuals, whether or not combined with exercise. Considering these aspects, the objective was to evaluate parameters related to physical performance and health, such as body composition, metabolic parameters like lipid, glucose, and hormonal profiles, as well as inflammatory and oxidative parameters in Wistar rats subjected to IF, with or without aerobic training. A total of 40 healthy Wistar rats, approximately 140 days old, were used in the study and randomized into four groups: sedentary controls (SC) and trained (TC), and those subjected to sedentary fasting (SIF) and trained fasting (TIF). The SIF and TIF groups followed a time-restricted fasting protocol (15 hours fasting, 9 hours feeding) for 4 weeks. Simultaneously, the trained groups engaged in treadmill running 5 times a week, with each session lasting 30 minutes. Performance tests were conducted at the beginning and end of the exercise protocol. At the end of the experiment, somatic parameters, food consumption, muscular histology, as well as lipid profile, insulin, leptin, alpha-1-acid glycoprotein, C-reactive protein (CRP), markers of muscle damage, and oxidative markers were evaluated. The TIF group showed body weight loss ($-16\text{g} \pm 6.12\text{g}$) and lower lean mass (22.49%), LDL (43%), HOMA-IR (29%), and LDH (48%), as well as higher MDA (53%) and CAT (75%) compared to TC group, which had body weight ($10.63\text{g} \pm 7.76\text{g}$), lean mass (25.78 ± 1.51), LDL (18.86 ± 1.60), HOMA-IR (21.79 ± 1.97), LDH (5582 ± 756), MDA (3.70 ± 0.19), and CAT (14.98 ± 2.41). The TIF group also exhibited reduced glucose and insulin tolerance compared to CT. Alpha-1-acid glycoprotein and creatine kinase were similar among the groups, but the trained groups had lower CRP compared to controls. In the performance test, there was no difference between TC and TIF, and both groups showed significant improvement in performance at the end of the experiment. There was a decrease in sarcomere size with areas of tissue loss and

inflammatory processes in the soleus and extensor digitorum longus muscles in JT and JS. These results demonstrate that IF combined with aerobic exercise yields negative outcomes in terms of body composition, muscle morphology, and oxidative markers, while not altering physical performance within the experimental timeframe.

Keywords: muscle damage; performance; exercise; fasting with time-restricted feeding; insulin resistance; malondialdehyde.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Gaiolas coletivas equipadas com grades no assoalho.....	33
Figura 2 – Delineamento experimental.	34
Figura 3 – Esteira desenvolvida para uso humano e adaptada para ratos.	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação do desempenho dos animais no período de adaptação....36

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Protocolos de jejum intermitente	22
Quadro 2 – Protocolos de jejum intermitente em roedores	25
Quadro 2 – Classificação do desempenho dos animais no período de adaptação ..	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGP	Alfa glicoproteína
ART	Alimentação com tempo restrito
ATGL	Lipase de triglicerídeos do adipócito
CA	Consumo alimentar
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CS	Controle sedentário
CT	Controle treinado
CAT	Capacidade antioxidante total
DN	Departamento de Nutrição
DO	Dieta ofertada
GP	Ganho de peso
GT	Gordura total
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IL-6	Interleucina 6
JDA	Jejum dias alternados
JI	Jejum intermitente
JS	Jejum sedentário
JT	Jejum treinado
LANEX	Laboratório de Nutrição Experimental
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LHS	Lipase hormônio sensível
MDA	Malondialdeído
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Proteína C reativa
PF	Peso final
PI	Peso inicial
PT	Peso total
RC	Restrição calórica

RL	Rejeito limpo
TG	Triglicerídeos
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TTG	Teste de tolerância à glicose
TTI	Teste de tolerância à insulina
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1 HISTÓRICO E BENEFÍCIOS À SAÚDE DO JEJUM INTERMITENTE	20
2.2 PROTOCOLOS DE JI	22
2.3 BENEFÍCIOS E POTENCIAIS PREJUÍZOS DO JEJUM INTERMITENTE ASSOCIADO AO EXERCÍCIO FÍSICO.....	26
2.4 EFEITOS DO JEJUM INTERMITENTE E EXERCÍCIO AERÓBICO SOBRE ESTRESSE OXIDATIVO E MARCADORES DE DANO MUSCULAR	29
3 METODOLOGIA	32
3.1 TIPO DE ESTUDO	32
3.2 ANIMAIS, DIETAS E PROTOCOLO DE JEJUM INTERMITENTE	32
3.3 PROTOCOLO DE ADAPTAÇÃO E TREINAMENTO.....	35
3.4 TESTES DE DESEMPENHO	36
3.5 ACOMPANHAMENTO DA MASSA CORPORAL E CONSUMO ALIMENTAR	38
3.6 TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (TTG) E À INSULINA (TTI).....	38
3.7 EUTANÁSIA E COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO	39
3.8 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS SOMÁTICOS	39
3.9 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	40
3.9.1 Análise do perfil lipídico e níveis hormonais	40
3.9.2 Análise de malondialdeído (MDA) e capacidade antioxidante total (CAT).....	41
3.9.3 Análise de desgaste muscular	42
3.10 HISTOLOGIA DOS MÚSCULOS.....	42
3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
4 RESULTADOS.....	44
REFERÊNCIAS.....	45
APÊNDICES	57
APÊNDICE A – ARTIGO 1.....	57
ANEXO A – CERTIDÃO CEUA	92

1 INTRODUÇÃO

O conceito de jejum intermitente (JI) refere-se à ingestão calórica inexistente ou muito limitada em períodos regulares (WELTON *et al.*, 2020). Existem diferentes protocolos de JI descritos na literatura, desde jejuuns longos (2 a 21 ou mais dias), alimentação com tempo restrito (8 até 36h), jejum em dias alternados, jejum do tipo religioso como o Ramadã (jejuam do amanhecer ao anoitecer) ou até mesmo jejum com apenas 1 refeição por dia (MATTSON; LONGO; HARVIE, 2017; LI *et al.*, 2017; PARK *et al.*, 2017). Nos últimos anos, o jejum do Ramadã mostrou benefícios no sistema imunológico e contra doenças como o câncer e doenças cardiovasculares (FARIS *et al.*, 2012). No geral, os benefícios à saúde dos protocolos de jejum são demonstrados na perda de peso, reduções da pressão arterial e marcadores do risco de doenças crônicas com redução do LDL e triglicerídeos, o que fez esses protocolos ganharem popularidade no meio científico e nas práticas populares (PATTERSON; SEARS; HARVIE 2017).

O JI vem se tornando uma alternativa aos protocolos de restrição calórica para a melhora na composição corporal, na sensibilidade a insulina e em processos celulares, como resistência ao estresse, lipólise e autofagia (TINSLEY; LA BOUNTY, 2015; DE CABO; MATTSON, 2019).

Na clínica, a alimentação com tempo restrito é um protocolo de JI que se destaca, pois não causa uma alimentação descompensada nas horas sem jejum (GABEL *et al.*, 2018). Esse protocolo, juntamente com outros do JI, pode ser uma alternativa eficaz para o emagrecimento e pode melhorar a sensibilidade à insulina em indivíduos com sobrepeso ou obesidade (RYNDERS *et al.*, 2019).

Em paralelo o exercício físico é estimulado como estratégia para manutenção da saúde, sendo uma atividade com treinamento específico e intencional (DE LA ROSA *et al.*, 2020). Por sua vez, o exercício do tipo aeróbico é caracterizado pela dependência no metabolismo aeróbico para produzir energia na forma de trifosfato de adenosina (ATP) de aminoácidos, carboidratos e ácidos graxos, utilizando o oxigênio em seu metabolismo energético (ACSM, 2014). A prática do exercício aeróbico é extremamente popular e dentre suas modalidades, a corrida em esteira também é uma

forma eficaz e prática de realizar a atividade recomendada pela Organização Mundial de Saúde, tanto em intensidade e como na duração (WHO, 2020).

Os estudos com JI associando-se com exercício aeróbico em humanos com foco ao desempenho físico são controversos, demonstrando um menor desempenho do sprint durante os primeiros dias do protocolo de jejum modificado (NAHARUDIN; YUSOF, 2018a) até uma maior capacidade de sustentar exercícios de resistência aeróbica de alta intensidade em jejum (TERADA *et al.*, 2019). Por outro lado, Van Proeyen *et al.*, (2011), mostrou que o treinamento habitual em jejum de indivíduos sedentários e destreinados estimulou adaptações fisiológicas como preservação do glicogênio muscular que poderiam melhorar o desempenho em exercícios aeróbicos.

Em modelos animais o JI tem sido estudado em associação com o exercício aeróbico, com enfoque na composição corporal e perfil lipídico (MORAES *et al.*, 2017; SMYERS *et al.*, 2021a; WILSON *et al.*, 2018a), sendo observado desde a melhora do desempenho aeróbico (SMITH *et al.*, 2019) ou até mesmo uma piora no desempenho em suportar cargas no exercício resistido (CAVALCANTE *et al.*, 2021). Dessa forma, observa-se evidências de diversos benefícios do JI, tanto em modelos animais como em ensaios clínicos. Contudo, não há uma unanimidade sobre a recomendação do JI devido aos diferentes protocolos de jejum, desenhos de estudos serem muito heterogêneos e apresentarem divergências em seus resultados (CATTERSON *et al.*, 2018a).

Devido à pluralidade de resultados envolvendo o JI, especialmente o modelo de alimentação com tempo restrito e seus benefícios à saúde, além das adaptações que melhoram a eficiência da utilização do substrato energético durante o exercício em ambiente privado de alimentação, faz-se necessário um mapeamento dos efeitos deste protocolo de JI associado com o treinamento aeróbico sobre parâmetros relacionado à saúde e ao desempenho físico como: parâmetros somáticos, parâmetros lipídicos e glicídicos, parâmetros hormonais, desempenho físico, marcadores de desgaste muscular e parâmetros oxidativos, importante para elucidação de seus efeitos e embasamento científico, visando a segurança na prescrição dessas estratégias de intervenção e prática pela população.

Nesse sentido, tivemos como objetivo geral avaliar parâmetros relacionados ao desempenho físico e à saúde como: composição corporal; perfil lipídico, glicídico e

hormonal, além de parâmetros inflamatórios e oxidativos de ratos *Wistar* submetidos ao JI associado ou não ao treinamento aeróbico. malondialdeído e capacidade antioxidante total de ratos *Wistar* submetidos ao JI associado ao treinamento aeróbico. Como objetivos específicos: 1. analisar aspectos da saúde como o perfil lipídico, à tolerância à glicose e insulina, bem como a insulina e a leptina séricas; 2. determinar a composição corporal, índice de Lee e as circunferências abdominal e torácica; 3. avaliar aspectos do desempenho físico como parâmetros oxidativos como malondialdeído e capacidade antioxidante e de desgaste muscular como creatinoquinase e lactato desidrogenase; 4. analisar histologicamente os músculos sóleo e extensor longo dos dedos de ratos *Wistar*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 HISTÓRICO E BENEFÍCIOS À SAÚDE DO JEJUM INTERMITENTE

Os seres humanos atualmente apresentam o hábito de consumir alimentos mais de uma vez ao dia, diferente de tempos passados, onde nosso corpo aprendeu a se modificar devido a escassez de alimentos e privação de energia (MATTSON; LONGO; HARVIE, 2017b). As pesquisas e resultados científicos a respeito do JI, iniciaram-se com o aumento da longevidade e proteção neurológica (MARTIN; MATTSON; MAUDSLEY, 2006). Nos últimos anos, o jejum intermitente ganha espaço devido aos seus resultados dentre as estratégias para perda de peso (HE et al., 2021). A definição do JI dar-se pela redução ou abstinência total de alimentos ou bebidas dentro de um prazo determinado (PATTERSON; SEARS, 2017).

O jejum é uma prática comum em diferentes disciplinas religiosas, incluindo islamismo, cristianismo, judaísmo e hinduísmo (LESSAN; ALI, 2019). O jejum do Ramadã é o mais conhecido dentre as práticas religiosas, caracteriza-se pela abstenção de alimentos do período entre o nascer e o pôr do sol com duração de um mês (CHAOUACHI *et al.*, 2009). Durante o jejum do Ramadã, os indivíduos perdem em média 4 kg entretanto o peso é recuperado após o mês de jejum (HAJEK *et al.*, 2012), o efeito deste jejum sobre parâmetros de composição corporal são bem conhecidos, demonstrando uma diminuição na porcentagem de gordura em indivíduos com sobrepeso e obesidade e também uma melhora na saúde cardiometabólica, elevando concentrações de lipoproteína de alta densidade (HDL) e diminuindo concentrações de lipoproteína de baixa densidade (LDL), colesterol total e glicose em indivíduos saudáveis ou com síndrome metabólica (FERNANDO *et al.*, 2019). Embora o JI aumente a taxa de oxidação de gordura, não é observado que o jejum do Ramadã altere a taxa metabólica de repouso ou gasto energético (ALSUBHEEN *et al.*, 2017). Uma grande diferença do JI em protocolos não religiosos, é que os níveis de ingestão de macronutrientes, qualidade do sono e hidratação são controlados (AZIZ *et al.*, 2017).

O JI ganhou popularidade como alternativa ao modelo de restrição calórica (RC) contínua que é considerado o padrão ouro quando trata-se do emagrecimento (LONGO

et al., 2014), mostrando-se eficaz em oferecer benefícios semelhantes em relação à perda de peso e à saúde cardiometabólica (VASIM; MAJEED; DEBOER, 2022). Observando os benefícios do JI, sua abordagem aumentou nos últimos anos e se estendeu para a população em geral, não ficando restrita apenas a motivações religiosas, uma vez que observado os benefícios desta prática na saúde (HODDY *et al.*, 2020). O JI atualmente é uma estratégia utilizada por especialistas em saúde quando se busca seus benefícios no controle de peso, saúde cardiovascular e estresse oxidativo (MALINOWSKI *et al.*, 2019).

Em indivíduos saudáveis, os quais estão em estado de bem estar físico, mental, social e não apresentam doença ou enfermidade (OMS, 1946), é visto que o protocolo de JI em dias alternados foi capaz de diminuir 2,5% de seu peso inicial e 4% de massa gorda (HEILBRONN *et al.*, 2005). Em indivíduos com doenças crônicas e comorbidades, o JI foi capaz de promover melhoras no perfil lipídico, diminuindo níveis plasmáticos da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e aumentando a lipoproteína de alta densidade (HDL) em animais obesos (WILSON *et al.*, 2018a) e em mulheres obesas através da diminuição dos níveis de colesterol total sérico, triglicerídeos e LDL (VARADY *et al.*, 2015). Observa-se que o jejum, eleva os níveis de translocase de ácido graxo (CD36), indicando uma maior captação lipídios de do plasma e também um maior metabolismo mitocondrial de ácidos graxos (RODRÍGUEZ-BIES *et al.*, 2010)

Hoje sabe-se o papel endócrino do tecido adiposo na produção de adipocinas como leptina, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL)-6 e resistina promovendo efeitos parácrinos ou autócrinos (LAVALLEE *et al.*, 2022). Um estudo com camundongos demonstrou que o JI promoveu o escurecimento do tecido adiposo branco (transição para tecido adiposo marrom) promovendo melhores respostas quanto à resistência à insulina, esteatose hepática e obesidade (LI *et al.*, 2017). No metabolismo glicídico, o JI promoveu diminuição nos níveis circulantes de glicose (JAMSHED *et al.*, 2019a), melhora na sensibilidade à insulina em homens pré-diabéticos (SUTTON *et al.*, 2018) e melhora na tolerância a glicose (GOTTHARDT *et al.*, 2016). Nos modelos animais, observou-se a regeneração das células β pancreáticas em camundongos db/db, (CHENG *et al.*, 2017). Em camundongos obesos, podemos observar que o JI também promove efeitos benéficos à saúde, reduzindo o ganho de gordura corporal, melhora da homeostase da glicose, aumento

do gasto energético, melhora nas medidas murinométricas e desempenho físico (KIM *et al.*, 2019; SMITH *et al.*, 2019).

Analisando em outros aspectos da saúde, o JI melhora da função cognitiva (LI; WANG; ZUO, 2013) e preservação da função sensório-motora durante o envelhecimento (SINGH *et al.*, 2015), além de ser eficaz em diminuir déficits de memória (VASCONCELOS *et al.*, 2014). Adicionalmente, o JI foi capaz de minimizar ansiedade e depressão em ratos saudáveis. (SOARES *et al.*, 2021a).

2.2 PROTOCOLOS DE JI

O JI abrange uma ampla classe de intervenções que alternam períodos de alimentação e jejum (JAMSHED *et al.*, 2019a). Além do jejum de caráter religioso, numerosos protocolos de jejum têm sido estudados nos últimos anos, sendo os protocolos de alimentação com tempo restrito e o jejum em dias alternados os mais utilizados em modelos animais (CHOW *et al.*, 2020). O protocolo de JI por alimentação com tempo restrito é caracterizado por ≤ 12 h horas de jejum com aproximadamente 8 horas de alimentação, em média (LONGO; PANDA, 2016). No jejum de dias alternados, o indivíduo intercala dias de jejum com dias em que a alimentação *ad libitum* (TREPANOWSKI *et al.*, 2017).

Em estudos clínicos o mais utilizado foi o protocolo de 70% de restrição calórica em dias alternados, considerado um protocolo de jejum modificado do protocolo de jejum em dias alternados (MATTSON; LONGO; HARVIE, 2017a). O JI possui diversos modelos de períodos de alimentação e jejum, entre estes, os mais comuns e usuais estão listados no Quadro 1.

Quadro 1 – Protocolos de jejum intermitente em humanos.

Referência	Protocolos	Características
(PATTERSON <i>et al.</i> , 2015)	Protocolo 5/2	O indivíduo passa por 2 dias não consecutivos de restrição energética severa e os 5 dias restantes comendo normalmente.
(PATTERSON <i>et al.</i> , 2015)	Protocolo de jejum modificado	Ingestão de até 20 – 25% das necessidades calóricas diárias nos dias de jejum

(LONGO; PANDA, 2016)	Restrição calórica intermitente (RCI)	Jejum de mais de 24h duas ou três vezes por semana junto com a ingestão de alimentos <i>ad libitum</i> nos outros dias.
(LONGO; PANDA, 2016);	Alimentação com tempo restrito (ART)	A ingestão de nutrientes ocorre dentro de algumas horas (geralmente $\leq 12h$) todos os dias.
(PARK <i>et al.</i> , 2017)	Uma refeição por dia	Permite apenas uma refeição diária.
(TREPANOWSKI <i>et al.</i> , 2017)	Jejum em dias alternados (JDA)	Alternância de dias sem jejum, onde os participantes consomem alimentos <i>ad libitum</i> , seguidos de dias de jejum em que apenas 25% da ingestão alimentar normal é consumida.

Legenda: ART = alimentação com tempo restrito; JDA= jejum de dias alternados; RCI= restrição calórica intermitente.

Comparando o protocolo de ART com a ingestão *ad libitum* em relação a um controle não-ART randomizado em humanos com sobrepeso ou obesidade e com janela alimentar ≥ 14 h, foi observado menor frequência alimentar, maior perda de peso corporal, perda de massa magra e perda de gordura visceral em comparação com os dados não-ART e pré-intervenção. ART também reduziu a glicose em jejum e a concentração de triglicerídeos em relação aos valores pré-intervenção, embora isso não tenha sido significativo em comparação com o grupo não-ART. Dentro do grupo ART, maior restrição da janela alimentar foi associada a maior perda de massa gorda e gordura visceral (CHOW *et al.*, 2020). Em animais obesos, também observou-se à diminuição da gordura visceral com o protocolo ART (GOTTHARDT *et al.*, 2016). Por outro lado, Van Proeyen *et al.*, (2011), mostrou que o treinamento habitual em jejum de indivíduos sedentários e destreinados foi uma estratégia positiva para estimular adaptações fisiológicas como preservação do glicogênio muscular que poderiam melhorar o desempenho em exercícios aeróbicos.

Existem dados limitados a respeito do JI sobre o metabolismo ósseo, uma pesquisa realizada por Barnosky *et al.*, 2017, com 100 pessoas com sobrepeso e ou obesidade, foi observado que o conteúdo mineral ósseo e densidade mineral óssea do corpo não foi modificado com o JI. Nosso grupo de pesquisa, publicou recentemente que o JI do modelo de alimentação com tempo restrito associado ou não, com exercício aeróbico pode modular parâmetros relacionados ao eixo intestino-cérebro, como

melhora em parâmetros somáticos, comportamentais de ansiedade e depressão, contudo pode promover morte neuronal e atrofia de vilosidades intestinais (SOARES *et al.*, 2021a).

A maioria dos estudos envolvem o JI em animais com alguma doença, uma outra dificuldade da extrapolação desses resultados para humanos é relacionada a idade em que a intervenção é aplicada nesses animais, uma vez que estudos em humanos geralmente utilizam uma faixa média de 18 - 60 anos de idade (BRANDHORST *et al.*, 2015; CHENG *et al.*, 2017; CIGNARELLA *et al.*, 2018; PATTERSON *et al.*, 2015), enquanto diversos estudos em animais utilizam idade entre 5 a 8 semanas (LI *et al.*, 2017; PARK *et al.*, 2017; WEI *et al.*, 2018; WILSON *et al.*, 2018a), o que em equivalência para humanos seria em média de 8 a 13 anos de idade, não havendo uma mimetização correta das idades entre roedores e humanos que realizam a prática de JI. No Quadro 2 tem-se uma compilação de protocolos de JI em roedores.

Quadro 2 – Protocolos de jejum intermitente em roedores

Referência	Animal	Idade (dias)	Tipo de jejum	Tempo de jejum (horas)	Tempo do experimento (Semanas)
Belkacemi <i>et al.</i> , 2012	Ratos Wistar Machos	70	Alimentação com tempo restrito	15	4
Li <i>et al.</i> , 2017	Camundongos CD-1	56	Jejum de dias alternados	24	47
Das Neves <i>et al.</i> , 2018	Ratos Wistar Machos	84	Jejum cumulativos em dias de treino	24	8
Real-Hohn <i>et al.</i> , 2018	Ratos Wistar Machos	60	Jejum de dias alternados	24	8
Wei <i>et al.</i> , 2018	Camundongos db/db	42	30% da ingestão calórica diária do grupo controle em semanas alternadas	-	8
Wilson <i>et al.</i> , 2018	Ratos Wistar Machos e Fêmeas	56	Jejum de dias alternados	24	12
Zhang <i>et al.</i> , 2020	Camundongos C57BL/6	56	Jejum em dias alternados, alimentação com tempo restrito e restrição energética intermitente	24, 16	5
Cavalcante <i>et al.</i> , 2021	Ratos Wistar Machos	80	Alimentação com tempo restrito	16	6
Smyers <i>et al.</i> , 2021	Ratos Wistar Fêmeas	120	Jejum de dias alternados	24	14
Soares <i>et al.</i> , 2021	Ratos Wistar Machos	140	Alimentação com tempo restrito	15	4

O JI por alimentação com tempo restrito (ART) vem tornando-se uma estratégia cada vez mais popular pela sua alta adesão, uma vez que essa estratégia apresenta uma grande vantagem em não precisam restringir intencionalmente a ingestão de

energia todos os dias, como um protocolo de restrição calórica diário que envolve a diminuição em 25% das calorias diárias ingeridas (KOTARSKY *et al.*, 2021), além de esse tipo de jejum não parecer levar a um consumo excessivo compensatório nos dias sem dieta (GABEL *et al.*, 2018). Ademais, muitos praticantes de JI realizam o protocolo em combinação com a prática de exercício físico, visando a manutenção da saúde.

2.3 BENEFÍCIOS E POTENCIAIS PREJUÍZOS DO JEJUM INTERMITENTE ASSOCIADO AO EXERCÍCIO FÍSICO

A partir da década de 90, diversos estudos avaliaram aspectos de desempenho físico aliados ao JI (CHAOUACHI *et al.*, 2009). Uma atividade com seu tempo determinado e o função específica se caracteriza como exercício físico (DE LA ROSA *et al.*, 2020). Os estudos envolvendo o jejum do Ramadã e exercício aeróbico chamaram a atenção, devido aos resultados controversos observados em atletas, desde a diminuição do desempenho devido ao longo período de jejum e desidratação ou até mesmo nenhuma modificação no desempenho pelo efeito poupador de glicogênio devido a maior utilização de ácidos graxos livres (FERGUSON *et al.*, 2009).

Nas primeiras horas do jejum, a glicogenólise supre as necessidades dos tecidos corporais, e conforme o tempo de jejum progride, a gliconeogênese, assume um papel mais dominante na produção de glicose. Em jejum prolongado, os precursores gliconeogênicos, principalmente aminoácidos derivados do músculo, são esgotados; e a cetogênese, ou seja, a síntese de corpos cetônicos a partir da acetil-CoA, fornecido pela oxidação de ácidos graxos, torna-se o principal processo de fornecimento de energia no fígado (CAHILL, 2006a).

Historicamente, atletas corredores consomem várias refeições todos os dias e se abastecem de carboidratos, determinando a importância de fornecer glicose para fornecer energia aos músculos (BURKE *et al.*, 2007), por exemplo, atletas quenianos, fazem a utilização de altos teores de carboidratos na dieta (aproximadamente 75% do consumo energético diário) e estes são considerados como os melhores corredores em longa distância (ONYWERA *et al.*, 2004). Contudo, é importante destacar que existe uma diferença entre realizar exercícios em jejum e realizar protocolos de JI associados ao exercício, o que pode incorrer em diferentes resultados tanto na saúde

como no desempenho na realização de exercícios, especialmente devido aos diferentes horários da prática do jejum e da janela de alimentação (MULAS *et al.*, 2023)

O exercício aeróbico contínuo tem sido estudado em associação com o jejum por promover adaptações benéficas à saúde (NAHARUDIN; YUSOF, 2018a). Sabe-se que o jejum do Ramadã diminui a capacidade aeróbica em jovens não treinados, possivelmente pela desidratação observada nesse período, comprometendo o volume sanguíneo, glicogênio muscular e o débito cardíaco máximo (ROY; BANDYOPADHYAY, 2015).

O estresse oxidativo caracterizado pelo excesso da produção de EROS (Espécies reativas de oxigênio), pode causar danos e / ou modificação de lipídios, proteínas, RNA e DNA, levando a um estado de desequilíbrio (VALKO *et al.*, 2007). No exercício aeróbico contínuo realizado em jejum, ocorre um aumento da lipólise do tecido adiposo e a oxidação da gordura periférica por meio de concentrações plasmáticas mais altas de adrenalina e cortisol e níveis mais baixos de insulina circulante, esse aumento do uso de ácidos graxos livres como substrato energético sustenta as sessões de treinamento (MUJIK, 2010; NAHARUDIN; YUSOF, 2018; VIEIRA *et al.*, 2016), especificamente no músculo esquelético. O exercício aeróbico em estado de jejum promove a utilização de ácidos graxos e triglicerídeos intramusculares como fontes primárias de energia (DE BOCK *et al.*, 2005), a concentração de glicose no sangue diminui e o pâncreas secreta glucagon, que inicia um elaborado conjunto de respostas no fígado com o objetivo de restaurar a homeostase (GOLDSTEIN; HAGER, 2015),

Observa-se que um protocolo de JI do tipo ART, combinado com exercícios simultâneos (aeróbico e anaeróbico) reduz a massa gorda e aumenta a massa magra se comparado a adultos fisicamente inativos e com sobrepeso/obesidade (KOTARSKY *et al.*, 2021). Tal redução na porcentagem de massa gorda, pode se dar por durante o exercício de intensidade moderada, o tecido adiposo fornece grande parte da energia para trabalhar o músculo esquelético através da mobilização de triacilglicerol armazenado (HOROWITZ, 2003) além de uma restrição calórica leve de 300 kcal/dia (14,5%) observada no protocolo de jejum (KOTARSKY *et al.*, 2021). O jejum do Ramadã teve efeito em atletas de diferentes modalidades, repercutindo em menor índice de massa corporal (IMC) e no menor percentual de gordura corporal em

comparação com o período antes do Ramadã, enquanto que a massa magra e a água corporal total permaneceram inalteradas durante o Ramadã (ALLOUI *et al.*, 2019).

Uma grande preocupação quanto à realização de exercícios aeróbicos no estado de jejum é a queda no desempenho, que de fato é causada de forma aguda. Contudo, no estudo realizado por Naharudin e Yusof, (2018) foi demonstrado que quando praticado de forma crônica o organismo se adapta, demonstrando que após 10 dias o desempenho é similar ao do exercício realizado após a ingestão alimentar. Adicionalmente, o protocolo do jejum do Ramadã, promoveu melhorias no tempo até a exaustão e a velocidade máxima de corrida dos corredores de elite que percorrem longa distância (AL-NAWAISEH *et al.*, 2021)

Não foi observada a queda de desempenho em exercícios do tipo resistido (caracterizado pela realização de contrações musculares contra alguma forma de resistência, em geral pesos) em humanos efetuando protocolo de jejum do tipo ART (CÂMARA; BASTOS; VOLPE, 2012; MORO *et al.*, 2016; SMITH *et al.*, 2019), por sua vez, foi observada uma queda no desempenho de ratos Wistar submetidos a protocolos de JI de alimentação com tempo restrito, com duração de 16 h, combinado com subidas de escadas, além da redução da ingestão alimentar (CAVALCANTE *et al.*, 2021). Em contrapartida, também observou-se que o protocolo de JI do tipo ART e o protocolo de jejum em dias alternados combinado com exercício aeróbico, são protocolos eficazes para melhorar as medidas murinométricas, a homeostase da glicose e o desempenho físico, quando comparados com a alimentação *ad libitum* com alto teor de gordura de camundongos C57BL/6 saudáveis (SMITH *et al.*, 2019).

Em nível muscular, o exercício aeróbico reduz o estresse oxidativo, preserva a atividade das enzimas antioxidantes e modula a expressão de proteína como a MAPK (GOMES *et al.*, 2016). Contudo, pouco se sabe se as adaptações crônicas para exercícios intermitentes diferem entre condições de jejum e alimentação (AIRD; DAVIES; CARSON, 2018). Durante o exercício em jejum, houve maior expressão de mRNA das principais enzimas lipolíticas, como lipase de triglicerídeos do adipócito (ATGL) e lipase hormônio sensível (LHS), mas não com a alimentação (CHEN *et al.*, 2017), e tais fatores, podem justificar diminuição de marcadores bioquímicos como LDL e colesterol total, importantes para a saúde (VARADY *et al.*, 2011).

Os protocolos dos estudos são muito heterogêneos, desde a diferentes tipos de protocolos de jejum e exercício, tipo da dieta e população estudada, dificultando o consenso das intervenções. Uma vez que até o tipo de refeição antes da atividade física (baixo, moderado ou de alto índice glicêmico) é capaz de trazer resultados diferentes como: melhora da capacidade aeróbica e maior oxidação de gorduras para refeições com baixo índice glicêmico, levando essa diversidade também para os resultados (AIRD; DAVIES; CARSON, 2018), assim como acredita-se que o consumo de diferentes tipos de dietas durante a janela de alimentação pode interferir nos efeitos do JI.

Quando pensamos em efeito isolado do JI sobre parâmetros bioquímicos e corporais, diversos estudos demonstram seus benefícios (MENG *et al.*, 2020; PARK *et al.*, 2017; VASIM; MAJEED; DEBOER, 2022) assim quando isolamos o exercício aeróbico, também temos evidências de seus benefícios na saúde do indivíduo (WHO, 2020). Entretanto, estudos envolvendo a combinação dos dois protocolos ainda são escassos e os resultados mistos entre vantagens e desvantagens (CAVALCANTE *et al.*, 2021; LEVY; CHU, 2019; M. CORREIA *et al.*, 2020; WANG; YU; FU, 2020; WILSON *et al.*, 2018^a). Dessa mesma forma, os estudos envolvendo JI e exercício do tipo aeróbico são menos comuns se compararmos aos protocolos de exercício resistido, existindo também uma lacuna na literatura que descreva os efeitos do protocolo de JI do tipo ART associado ao exercício aeróbico.

2.4 EFEITOS DO JEJUM INTERMITENTE E EXERCÍCIO AERÓBICO SOBRE ESTRESSE OXIDATIVO E MARCADORES DE DANO MUSCULAR

Os efeitos benéficos dos protocolos de JI, quase sempre estão em comparação com dietas de restrição calórica (ANSON; JONES; DE CABOD, 2005), são complexos e generalizados, mas incluem a preservação ao longo do tempo das funções bioenergéticas mitocondriais e o equilíbrio redox que corresponde à diferença entre a produção e a remoção de espécies oxidativas prejudiciais (WALSH; SHI; VAN REMMEN, 2014). No mesmo sentido, a prática do exercício eleva a produção de EROs a um nível que pode induzir danos toleráveis, o que, por sua vez, regula positivamente os sistemas antioxidantes celulares, estimulando os sistemas de reparo de danos

oxidativos (GOMES *et al.*, 2017). Desta forma, uma preocupação quanto à prática do JI combinado com o exercício aeróbico, seria no seu impacto nos parâmetros metabólicos, entre esses, um possível o aumento do estresse oxidativo (POWERS *et al.*, 2020).

Em um estudo realizado por Cerqueira *et al.*, (2011) observou-se uma elevação na liberação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no músculo e tecido adiposo de machos Sprague-Dawley sedentários que fizeram JI de dias alternados, o que pode mostrar um aumento de EROs nos tecidos e ou uma diminuição na capacidade antioxidante. Em contrapartida, o JI aumentou a concentração de enzimas antioxidantes como glutathione e catalase no tecido adiposo e apenas da superóxido dismutase no músculo (CERQUEIRA *et al.*, 2011). O JI promove mudanças complexas e específicas do tecido na bioenergética mitocondrial e no estado redox, entretanto, a forma que essas mudanças se relacionam com os resultados desejáveis e deletérios em longo prazo, e como se relacionam com as respostas a ciclos de jejum repetidos, ainda não foi determinado (CHAUSSE *et al.*, 2015). No entanto, são necessárias mais pesquisas a respeito do impacto do JI e exercício sobre os marcadores de SOD, GPx e catalase.

Observa-se a redução nos níveis de malondialdeído (MDA) em ratos wistar (machos) saudáveis que se submeteram ao JI em dias alternados e exercício de natação intervalado, além de níveis mais baixos de oxidação de proteínas plasmáticas, sugerindo um sinergismo entre JI e o exercício na prevenção da peroxidação lipídica (REAL-HOHN *et al.*, 2018a). Em um estudo realizado por Rodríguez-Bies *et al.*, (2010) observou-se que o jejum em dias alternados e exercício aeróbico apresentaram um mesmo nível de dano muscular em comparação a grupos que fizeram jejum sem o treinamento e grupo que realizou o treinamento sem o protocolo de jejum em dias alternados.

Em um estudo prévio realizado por Dannecker *et al.*, (2013) , foi observado que o jejum de alimentação com tempo restrito de 8 horas não ocasionou dano muscular, uma vez que os valores de CK e LDH não se alteraram nos grupos de homens que jejuaram e realizaram das contrações excêntricas dos flexores não dominantes do cotovelo. Foi observado também que o JI de alimentação com tempo restrito de 12 horas diminui valores de PCR em homens saudáveis (AKSUNGAR; TOPKAYA; AKYILDIZ, 2007), entretanto é importante destacar a escassez de estudos envolvendo

os efeitos do JI em combinação com exercício sobre marcadores de dano muscular (HARTY *et al.*, 2019) e marcadores de inflamação aguda(MARAJ *et al.*, 2021), o que torna pertinente esta investigação.

3 METODOLOGIA

3.1 TIPO DE ESTUDO

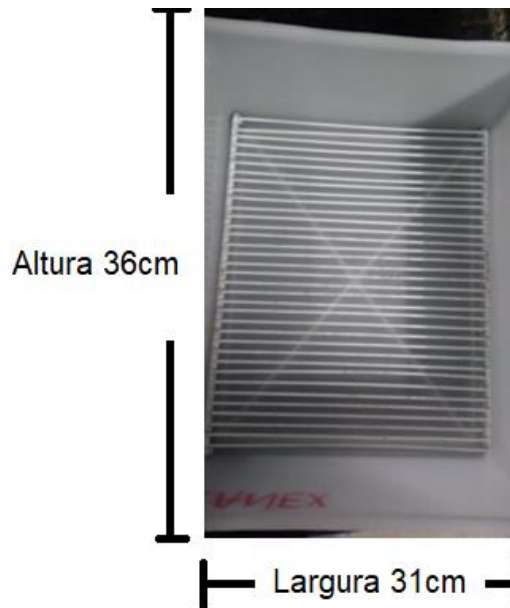
O presente estudo refere-se a uma pesquisa de caráter experimental, ensaio não-clínico, realizado a partir da submissão ou não de JI e treinamento aeróbico em modelo animal.

3.2 ANIMAIS, DIETAS E PROTOCOLO DE JEJUM INTERMITENTE

Os experimentos foram executados no Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX), no Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), mediante aprovação prévia pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), sob o protocolo 5028031219 (ANEXO A). Todos os experimentos seguiram as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e as diretrizes da Pesquisa Animal: Diretrizes de experimentos *in vivo* (ARRIVE - Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) (Percie du Sert, 2020).

Foram utilizados 40 ratos da linhagem Wistar com ± 140 dias de idade, oriundos da colônia do Biotério José Paulino (CCS/UFPE) os quais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12/12 h (início do ciclo claro: 7:00 h), temperatura ($22\pm 2^\circ\text{C}$) e umidade ($55\pm 5\%$). Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, equipadas com grades em seu assoalho (medindo 36 cm x 31 cm, 2,5 cm de profundidade, com espaço de 1 cm entre cada barra) (Figura 1). As grades foram utilizadas para evitar o consumo de maravalha e fezes pelos ratos durante o período de jejum (SOARES *et al.*, 2021). Os ratos foram distribuídos em número de 5/gaiola, onde receberam água potável e ração comercial (MUTHU; KRISHNAMOORTHY, 2011).

Figura 1 – Gaiolas coletivas equipadas com grades no assoalho.



Fonte: Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX/ UFPB).

Os ratos foram randomizados em quatro grupos, assim descritos:

- Grupo controle sedentário (CS; n = 10): ratos sedentários com acesso a ração *ad libitum*;
- Grupo controle treinado (CT; n = 10): ratos exercitados com acesso a ração *ad libitum*;
- Grupo sedentário com jejum intermitente (JS; n = 10): ratos sedentários submetidos a alimentação com tempo restrito;
- Grupo treinado com jejum intermitente (JT; n = 10): ratos exercitados submetidos a alimentação com tempo restrito.

O protocolo de JI utilizado foi o de alimentação com tempo restrito, no qual os ratos passaram 4 semanas sob restrição de ração por 15 h (17:00 h – 8:00 h) e oferta *ad libitum* de ração por 9 h (8:00 h – 17:00 h). A dieta ofertada a todos os grupos foi a ração comercial Nuvilab (Colombo, Paraná, Brasil) que fornece 311 kcal, 57% de carboidratos, 28% de proteínas e 14% de lipídios por 100 g de ração (BELKACEMI *et al.*, 2012; SOARES *et al.*, 2021). Este protocolo foi selecionado com base em estudos com humanos (JAMSHED *et al.*, 2019; DOMASZEWSKI *et al.*, 2020) e estudos com

roedores (BELKACEMI *et al.*, 2012; VAN DER MERWE *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2020), nos quais analisaram a composição corporal, parâmetros metabólicos, além de considerar que o protocolo de tempo restrito tem sido bastante usado também na prática clínica, por prevenir doenças crônicas não transmissíveis sem alterar o aporte calórico diário (DOMASZEWSKI *et al.*, 2020).

O protocolo de JI foi iniciado a partir da 1ª semana do experimento, concomitante com o treinamento aeróbico para o grupo JT. A pesquisa seguiu o delineamento experimental apresentado na Figura 2.

Figura 2 – Delineamento experimental.

 12/12h  50 – 55%  22°C±2°C AMBIENTE CONTROLADO					
GRUPO		SEMANA 0	SEMANA 1 – SEMANA 4	FIM DO EXPERIMENTO	
CS	FASE DE ADAPTAÇÃO  10 MIN DURANTE 3 DIAS	-	-	-	EUTANÁSIA  COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO
JS	FASE DE ADAPTAÇÃO  10 MIN DURANTE 3 DIAS	-	JEJUM INTERMITENTE - 15h/dia 	-	EUTANÁSIA  COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO
CT	FASE DE ADAPTAÇÃO  10 MIN DURANTE 3 DIAS	TESTE DE PERFORMANCE  AUMENTO DA VELOCIDADE A CADA 3 MIN ATÉ A EXAUSTÃO	EXERCÍCIO AERÓBICO - 30 min, 5x na semana (15m/min) 	TESTE DE PERFORMANCE  AUMENTO DA VELOCIDADE A CADA 3 MIN ATÉ A EXAUSTÃO	EUTANÁSIA  COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO
JT	FASE DE ADAPTAÇÃO  10 MIN DURANTE 3 DIAS	TESTE DE PERFORMANCE  AUMENTO DA VELOCIDADE A CADA 3 MIN ATÉ A EXAUSTÃO	JEJUM INTERMITENTE - 15h/dia EXERCÍCIO AERÓBICO - 30 min, 5x na semana (15m/min)  	TESTE DE PERFORMANCE  AUMENTO DA VELOCIDADE A CADA 3 MIN ATÉ A EXAUSTÃO	EUTANÁSIA  COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO

Fonte: autoral

3.3 PROTOCOLO DE ADAPTAÇÃO E TREINAMENTO

Na semana antecedente ao período de treinamento, os ratos foram submetidos ao período de adaptação à corrida em esteira, por 5 a 10 min durante 3 dias na semana em uma velocidade de 15 m/min em uma esteira adaptada com baias (36cm x 3cm x 2,5 cm) para ratos (*Athletic advanced 2*) (Figura 3).

Figura 3 – Esteira desenvolvida para uso humano e adaptada para ratos.



Fonte: Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX/ UFPB).

O desempenho dos ratos foi classificado de acordo com a escala de treinabilidade descrita por Lira *et al.* (2010), em que os ratos recebem nota de 1 a 5, de acordo com os parâmetros descritos na Quadro 3.

Quadro 3 – Classificação do desempenho dos animais no período de adaptação.

Nota	Qualificação
1	Recusou-se a correr
2	Corredor abaixo da média (corre e para; corre na direção errada)
3	Corredor médio
4	Corredor acima da média (corre constantemente, ocasionalmente correndo abaixo da velocidade da esteira)
5	Bom corredor (consistentemente acima da velocidade da esteira)

Fonte: Autoral.

Os animais com classificação igual ou acima de 3 foram incluídos nos grupos exercitados, os animais com nota abaixo da média foram postos nos grupos sedentários. O protocolo de exercício foi realizado durante as 4 semanas de experimento, as 07:00h ao final do ciclo escuro, devido ao hábito noturno dos roedores. O protocolo consistiu em sessões de 30 min, por 5 vezes na semana, em uma velocidade de 15 m/min, sem inclinação (PINTO *et al.*, 2018). O protocolo foi escolhido com base no tempo mínimo de atividade física semanal proposto pela OMS (2020) e em estudos com roedores que avaliaram os efeitos do exercício aeróbico em parâmetros metabólicos (CHEN *et al.*, 2018; PINTO *et al.*, 2018; MANKHONG *et al.*, 2020).

3.4 TESTES DE DESEMPENHO

Os testes para avaliação do desempenho foram realizados após o período de adaptação ao exercício e na última semana, após o último treinamento do protocolo. Os testes de performance iniciaram com os ratos correndo numa esteira sem inclinação com uma velocidade inicial de 15m/min durante 5 min. Logo após, a cada 3 min a velocidade da esteira foi aumentada em 2 m/min até a exaustão. A exaustão foi constatada quando os ratos não conseguiram manter a velocidade, mesmo depois de incitados pelos pesquisadores (CARVALHO; MASUDA; POMPEU, 2005; SOARES *et al.*, 2021).

3.5 ACOMPANHAMENTO DA MASSA CORPORAL E CONSUMO ALIMENTAR

A aferição do peso corporal e consumo alimentar foram realizadas semanalmente, sempre no mesmo dia e horário (entre 11:30 h e 12:30 h), durante todo o período de experimentação, utilizando-se balança eletrônica digital (modelo PrixIII, marca Toledo, São Bernardo do Campo, Brasil), com capacidade máxima 500 g.

O ganho de peso foi obtido pela fórmula 1:

$$\text{Fórmula 1: } GP = PF - PI$$

Onde: GP = ganho de peso; PF = peso final; PI = peso inicial.

O consumo de ração e a ingestão calórica foram avaliados semanalmente durante o experimento. O consumo calórico foi calculado considerando o consumo de ração em gramas e a soma total das calorias fornecidas pelos carboidratos, proteínas e gorduras da ração comercial (TAVARES *et al.*, 2021)

3.6 TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (TTG) E À INSULINA (TTI)

Um dia após o último treinamento, o teste de tolerância à glicose (TTG) foi realizado após um jejum de 6 h, sendo aferida a glicemia inicial (T0) por meio de incisão na cauda do rato, seguido da administração via gavagem, de uma solução de 25% de glicose (2 g de glicose/kg de peso), aferindo-se a glicemia nos tempos 15, 30, 60, 90 e 120 min. No dia posterior ao TTG, foi realizado o teste de tolerância à insulina (TTI) na condição basal (ratos alimentados) no tempo 0 e após administração intraperitoneal de insulina regular (Novolin® R, Novo Nordisk, Bagsvaerd, Dinamarca), equivalente a 0,75 UI de insulina/kg de peso do animal, diluída em solução salina 0,9% estéril, aferindo-se a glicemia nos tempos 15, 30, 60, 90 e 120 min. A glicemia foi aferida utilizando glicosímetro (marca Accu-check, modelo Performa, Jaguaré, SP, Brasil). A área sob a curva de glicose (AUC) nos testes TTG e TTI foi calculada pelo método trapezoidal, comparando-se a AUC dos grupos experimentais com a do grupo controle (ANDRIKOPOULOS *et al.*, 2008)

3.7 EUTANÁSIA E COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

A eutanásia foi realizada após 4 semanas de experimento e 72 h após a realização do último protocolo de exercício e jejum. Os ratos permaneceram em jejum por 6 h e em seguida foram eutanasiados via decapitação por guilhotina (EB271, Insights, Ribeirão Preto, Brasil), de acordo com a resolução normativa nº 13 de 2013 do CONCEA para coleta de sangue e órgãos para as análises de interesse (BRASIL, 2013). Foram coletados sangue para a realização de análises bioquímicas, carcaça para determinação de composição corporal e os músculos sóleo e extensor longo dos dedos (EDL) para análises oxidativas e histológicas.

3.8 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS SOMÁTICOS

Imediatamente antes da eutanásia os ratos foram pesados, sendo aferidos com fita inelástica: o comprimento naso-anal e as circunferências abdominal e torácica (NOVELLI *et al.*, 2007). O índice de Lee foi calculado a partir da fórmula 2 (BERNARDIS; PATTERSON, 1968)

$$\text{Fórmula 2: } \textit{Índice de Lee} = \frac{\sqrt[3]{\text{massa corporal (g)}}}{\text{Comprimento Naso-anal (mm)}}$$

Após a eutanásia, as carcaças foram evisceradas, retiradas o couro, moídas em moinho Berman, BM 23 NR (São José do Rio Preto, Brasil), e armazenadas a -20°C para a realização das análises da composição corporal dos animais pela determinação do percentual de: umidade por secagem em estufa a 105°C; cinzas por incineração em forno mufla a 550°C; proteínas pelo método de Kjeldahl, que somados correspondem à massa magra (AOAC, 2019); e lipídios por extração à frio com clorofórmio e metanol (2:1), que corresponde à massa gorda (FOLCH; LEES; SLOANE STANLEY, 1957).

3.9 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

3.9.1 Análise do perfil lipídico e níveis hormonais

As concentrações séricas de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triglicerídeos (TG) foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico utilizando kits comerciais específicos Monorreagente de Colesterol, LDL direto e Monorreagente de triglicerídeos (Bioclin®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), respectivamente. Para essas análises, 500 nm (colesterol total), 546 nm (LDL) e 500 nm (TG) foram usados como comprimento de onda. As concentrações de lipoproteína de alta densidade (HDL) foram determinados pelo método Enzymatic-Trinder, utilizando o kit comercial Enzymatic HDL Cholesterol (Bioclin®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), com absorvância em 550 nm. A lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) foi calculada através da Fórmula 3 (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972):

$$\text{Fórmula 3: } VLDL = \frac{TG}{5}$$

O índice aterogênico (IA), o índice de risco coronariano (IRC) e o índice de risco cardiovascular (IRCV), foram calculados de acordo com as fórmulas 4, 5 e 6, respectivamente (EREJUWA *et al.*, 2016):

$$\text{Fórmula 4: } AI = \frac{LDL}{HDL}$$

$$\text{Fórmula 5: } IRC = \frac{CT}{HDL}$$

$$\text{Fórmula 6: } IRCV = \frac{TG}{HDL}$$

Os hormônios insulina e leptina foram analisados em soro pelo imunoensaio eletroquimioluminescente (analisador Roche Cobas e601) e Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA (Millipore Sigma, EZHL-80SK lido espectrofotometricamente a 450 nm), respectivamente (TAVARES *et al.*, 2021). Com base nos resultados dessas análises, o modelo homeostático de resistência à insulina

(HOMA-IR) foi avaliado (MATTHEWS *et al.*, 1985), determinado pela equação 9. O índice de carga metabólica (ICM) foi calculado pela equação 10 (EMERSON *et al.*, 2016):

$$\text{Fórmula 9: Índice HOMA} = \frac{\text{Glicemia de jejum} \times 0,0555 \times \text{Insulina de jejum}}{22,5}$$

$$\text{Fórmula 10: ICM} = \text{TG} + \text{postprandial plasma glucose}$$

3.9.2 Análise de malondialdeído (MDA) e capacidade antioxidante total (CAT)

Foram avaliados parâmetros de oxidação por meio das análises de peroxidação lipídica e capacidade antioxidante total (CAT) em homogenatos dos músculos sóleo e EDL. Para o preparo do homogenato, cada órgão foi triturado e homogeneizado em 10 mL de cloreto de potássio (0,05 M) em banho de gelo. Os homogenatos foram centrifugados em centrífuga refrigerada (Sorvall, st8, Waltham, USA) (8.000 x g durante 5 min a 4°C) para obter o sobrenadante.

A peroxidação lipídica foi avaliada pela medição de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e expressa em termos de conteúdo de malondialdeído (MDA) (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979). Para isso, 250 µL do homogenato foi incubado em banho maria a 37°C por 60 min. Em seguida, a amostra foi precipitada com ácido perclórico AA 35% e centrifugada a 10.976 x g por 20 min à 4°C. O sobrenadante foi transferido para novos microtubos onde adicionou-se 400 µL de TBARS a 0,6% e incubado à 100°C por 60 min. Após resfriamento, a leitura da reação foi realizada em espectrofotômetro ultravioleta (Biospectro SP-22, Curitiba, Brasil) em um comprimento de onda de 532 nm, em temperatura ambiente (±25°C).

A CAT foi medida também nas amostras de homogenato dos músculos, avaliando a atividade sequestradora de radicais de acordo com o método DPPH (BRAND-WILLIAMS; CUEVELIER; BERSET, 1995), no qual, uma alíquota de 1,25 mg de 2,2-difenil-1- picrilhidrazilo (DPPH) foi diluída em 100 mL de etanol (álcool etílico absoluto 99,5%), mantida sobre refrigeração e protegida da luz. Foram adicionados 3,9 mL da solução a 100 µL de amostra em tubos, que em seguida foram agitados em vórtex e deixados em repouso por 30 min. Posteriormente, foram centrifugados a 5.600

x g 15 min em temperatura de 20 °C e o sobrenadante utilizado para realização da leitura da reação em espectrofotômetro ultravioleta (Bioespectro SP-22, Curitiba, Brasil) em um comprimento de onda de 515 nm e temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$).

3.9.3 Análise de desgaste muscular

As enzimas creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH), que avaliam o dano muscular, foram quantificadas no soro utilizando o kit CK-NAC Liquiform (Labtest, Minas Gerais, Brasil) e o kit comercial LDH Liquiform (Labtest, Minas Gerais, Brasil), respectivamente, seguindo as instruções do fabricante, de acordo com o modo cinético usando o método UV-IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2002) no comprimento de onda de 340 nm. A proteína C-reativa (PCR) e a alfa-glicoproteína ácida sérica (Labtest, Minas Gerais, Brasil) foram analisadas no comprimento de onda de 570 nm e 600 nm, respectivamente, de acordo com as recomendações do fabricante. Todas essas análises foram realizadas usando um analisador automático LabMax 240 Premium (Labtest, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

3.10 HISTOLOGIA DOS MÚSCULOS

Os músculos (sóleo e EDL) foram fixados em formaldeído tamponado a 10% e processados de acordo com a técnica histológica de rotina. As lâminas foram cortadas pela técnica de Hematoxilina e Eosina de Harris (H&E), montando lâmina a lâmina com resina sintética (Entellan®, Merck, Darmstadt, HE, Alemanha). para análise em objetivas crescentes e fotografadas em crescentes de 20× e 40× em microscópio óptico padrão (Motic BA 200, Santa Monica, EUA) (BONFIM *et al.*, 2021).

Para análise morfométrica foram capturadas 20 imagens aleatórias utilizando uma microcâmera e algoritmos construídos no software KS300 (White Plains/NY, EUA, 2006) processamento digital e cálculo da área em μm^2 (PRATA *et al.*, 2017). As lâminas foram reavaliadas pelo mesmo patologista para confirmação das observações das amostras, após randomização por pessoa independente, e como prova da avaliação foi considerada a concordância geral entre as duas análises.

3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados dos resultados foram submetidos ao teste de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, sendo os resultados expressos em média e desvio padrão. Os resultados do teste de desempenho foram submetidos ao teste *t* de Student ($p \leq 0,05$). Os dados de acompanhamento de peso corporal, GTT e ITT foram analisados pela Análise de Variância de Duas Vias (ANOVA) para medidas independentes com um fator para grupo (três níveis) e um fator para tempo (cinco níveis). Parâmetros bioquímicos, composição corporal e dados morfométricos dos músculos foram analisados com um único fator para o grupo via One Way ANOVA seguido do pós-teste de Tukey com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). Foi utilizado o pacote GraphPadPrism 8 ® (versão gratuita, GraphPad Software Inc. La Jolla, CA, EUA).

4 RESULTADOS

A partir dos resultados foi elaborado o artigo apresentado no apêndice A, intitulado “Intermittent fasting associated with aerobic exercise improves oxidative parameters and causes muscle damage without compromises the performance of Wistar rats” que aborda parâmetros relacionados ao desempenho físico e à saúde de ratos *Wistar* submetidos ao jejum intermitente com alimentação de tempo restrito associado ao treinamento aeróbico. Os resultados demonstram que o JI associado ao exercício aeróbico melhorou a resistência à insulina diminuindo o HOMA-IR, diminuiu valores de LDL e aumentou os marcadores de estresse oxidativo e causou danos às fibras musculares do sóleo e EDL, reduziu PCR, mas não interferiu nas concentrações de alfa-glicoproteína ácida e nem comprometeu o desempenho de ratos, mesmo com a massa muscular reduzida durante as quatro semanas do estudo.

REFERÊNCIAS

- ADLOUNI, A. et al. Beneficial effect on serum apo A1, apo B and Lp A1 levels of Ramadan fasting. **Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry**, v. 271, n. 2, p. 179–189, 23 mar. 1998.
- AGRA, R. M. et al. Nutrients restriction upregulates adiponectin in epicardial or subcutaneous adipose tissue: impact in de novo heart failure patients. **International Journal of Medical Sciences**, v. 15, n. 5, p. 417–424, 12 fev. 2018.
- AIRD, T. P.; DAVIES, R. W.; CARSON, B. P. Effects of fasted vs fed-state exercise on performance and post-exercise metabolism: A systematic review and meta-analysis. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 28, n. 5, p. 1476–1493, maio 2018.
- AKSUNGAR, F. B.; TOPKAYA, A. E.; AKYILDIZ, M. Interleukin-6, C-reactive protein and biochemical parameters during prolonged intermittent fasting. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 51, n. 1, p. 88–95, 2007.
- ALFADDA, A. A. et al. Orosomucoid Serum Concentrations and Fat Depot-Specific mRNA and Protein Expression in Humans. **Molecules and Cells**, v. 33, n. 1, p. 35–41, 31 jan. 2012.
- AL-NAWAISEH, A. M. et al. Time-Restricted Feeding and Aerobic Performance in Elite Runners: Ramadan Fasting as a Model. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, p. 718936, 21 set. 2021.
- ALLOUI, A. et al. Effects of Ramadan fasting on body composition in athletes: a systematic review. **La Tunisie Medicale**, v. 97, n. 10, p. 1087–1094, out. 2019.
- ALSUBHEEN, S. A. et al. The effects of diurnal Ramadan fasting on energy expenditure and substrate oxidation in healthy men. **The British Journal of Nutrition**, v. 118, n. 12, p. 1023–1030, dez. 2017.
- ANDRIKOPOULOS, S. et al. Evaluating the glucose tolerance test in mice. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 295, n. 6, p. E1323-1332, dez. 2008.
- ANSON, R. M.; JONES, B.; DE CABOD, R. The diet restriction paradigm: a brief review of the effects of every-other-day feeding. **Age**, v. 27, n. 1, p. 17–25, mar. 2005.
- AOUICHAT, S. et al. Time-Restricted Feeding Improves Body Weight Gain, Lipid Profiles, and Atherogenic Indices in Cafeteria-Diet-Fed Rats: Role of Browning of Inguinal White Adipose Tissue. **Nutrients**, v. 12, n. 8, p. 2185, 23 jul. 2020.
- AZIZ, A. R. et al. Poorer Intermittent Sprints Performance in Ramadan-Fasted Muslim Footballers despite Controlling for Pre-Exercise Dietary Intake, Sleep and Training Load. **Sports**, v. 5, n. 1, p. 4, 6 jan. 2017.

BAE, J. H. et al. Effects of exercise on AKT/PGC1- α /FOXO3a pathway and muscle atrophy in cisplatin-administered rat skeletal muscle. **The Korean Journal of Physiology & Pharmacology : Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology**, v. 25, n. 6, p. 585–592, 1 nov. 2021.

BECHARA, L. R. G. et al. NADPH oxidase hyperactivity induces plantaris atrophy in heart failure rats. **International Journal of Cardiology**, v. 175, n. 3, p. 499–507, 20 ago. 2014.

BELKACEMI, L. et al. Intermittent Fasting Modulation of the Diabetic Syndrome in Streptozotocin-Injected Rats. **International Journal of Endocrinology**, v. 2012, p. 1–12, 2012a.

BELKACEMI, L. et al. Intermittent fasting modulation of the diabetic syndrome in streptozotocin-injected rats. **International Journal of Endocrinology**, v. 2012, p. 962012, 2012b.

BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between “Lee index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **The Journal of Endocrinology**, v. 40, n. 4, p. 527–528, abr. 1968.

BRANDHORST, S. et al. A Periodic Diet that Mimics Fasting Promotes Multi-System Regeneration, Enhanced Cognitive Performance, and Healthspan. **Cell Metabolism**, v. 22, n. 1, p. 86–99, jul. 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1 jan. 1995.

BRISSWALTER, J. et al. Effects of Ramadan intermittent fasting on middle-distance running performance in well-trained runners. **Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine**, v. 21, n. 5, p. 422–427, set. 2011.

BRONCZEK, G. A. et al. Resistance exercise training improves glucose homeostasis by enhancing insulin secretion in C57BL/6 mice. **Scientific Reports**, v. 11, p. 8574, 21 abr. 2021.

BURKE, L. M. et al. Nutrition for distance events. **Journal of Sports Sciences**, v. 25 Suppl 1, p. S29-38, 2007.

CAHILL, G. F. Fuel metabolism in starvation. **Annual Review of Nutrition**, v. 26, p. 1–22, 2006a.

CAHILL, G. F. Fuel metabolism in starvation. **Annual Review of Nutrition**, v. 26, p. 1–22, 2006b.

CÂMARA, L. C.; BASTOS, C. C.; VOLPE, E. F. T. Exercício resistido em idosos frágeis: uma revisão da literatura. **Fisioterapia em Movimento**, v. 25, p. 435–443, jun. 2012.

- CARTER, S.; CLIFTON, P. M.; KEOGH, J. B. The effects of intermittent compared to continuous energy restriction on glycaemic control in type 2 diabetes; a pragmatic pilot trial. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 122, p. 106–112, dez. 2016.
- CARVALHO, J. F.; MASUDA, M. O.; POMPEU, F. A. M. S. Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate threshold. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology**, v. 140, n. 4, p. 409–413, abr. 2005.
- CATTERSON, J. H. et al. Short-Term, Intermittent Fasting Induces Long-Lasting Gut Health and TOR-Independent Lifespan Extension. **Current Biology**, v. 28, n. 11, p. 1714- 1724.e4, 2018a.
- CATTERSON, J. H. et al. Short-Term, Intermittent Fasting Induces Long-Lasting Gut Health and TOR-Independent Lifespan Extension. **Current Biology**, v. 28, n. 11, p. 1714- 1724.e4, 4 jun. 2018b.
- CAVALCANTE, L. P. et al. Intermittent fasting compromises the performance of eutrophic rats submitted to resistance training. **Nutrition**, v. 86, p. 111187, 1 jun. 2021.
- CERQUEIRA, F. M. et al. Long-term intermittent feeding, but not caloric restriction, leads to redox imbalance, insulin receptor nitration, and glucose intolerance. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, n. 7, p. 1454–1460, 1 out. 2011.
- CHAOUACHI, A. et al. Effects of Ramadan intermittent fasting on sports performance and training: a review. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 4, n. 4, p. 419–434, dez. 2009.
- CHAUSSE, B. et al. Intermittent Fasting Results in Tissue-Specific Changes in Bioenergetics and Redox State. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0120413, 6 mar. 2015.
- CHEN, C. (JOYCE) et al. Late-onset caloric restriction alters skeletal muscle metabolism by modulating pyruvate metabolism. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 308, n. 11, p. E942–E949, jun. 2015.
- CHEN, Y.-C. et al. Feeding influences adipose tissue responses to exercise in overweight men. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 313, n. 1, p. E84–E93, 1 jul. 2017.
- CHENG, C.-W. et al. Fasting-Mimicking Diet Promotes Ngn3-Driven β -Cell Regeneration to Reverse Diabetes. **Cell**, v. 168, n. 5, p. 775- 788.e12, fev. 2017.
- CHOW, L. S. et al. Time Restricted Eating Effects On Body Composition and Metabolic Measures in Humans who are Overweight: A Feasibility Study. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 28, n. 5, p. 860–869, maio 2020.
- CIGNARELLA, F. et al. Clinical and Translational Report Intermittent Fasting Confers Protection in CNS Autoimmunity by Altering the Gut Microbiota Clinical and Translational Report Intermittent Fasting Confers Protection in CNS Autoimmunity by Altering the Gut Microbiota. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 6, p. 1222- 1235.e6, 2018.

DANNECKER, E. A. et al. The Effect of Fasting on Indicators of Muscle Damage. **Experimental gerontology**, v. 48, n. 10, p. 1101–1106, out. 2013.

DAS NEVES, W. et al. Fasting: a major limitation for resistance exercise training effects in rodents. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n. 1, p. e5427, 2018.

DE BOCK, K. et al. Exercise in the fasted state facilitates fibre type-specific intramyocellular lipid breakdown and stimulates glycogen resynthesis in humans. **The Journal of Physiology**, v. 564, n. Pt 2, p. 649–660, 15 abr. 2005.

DE CABO, R.; MATTSON, M. P. Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 381, n. 26, p. 2541–2551, 26 dez. 2019.

DE LA ROSA, A. et al. Physical exercise in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. **Journal of Sport and Health Science**, v. 9, n. 5, p. 394–404, set. 2020.

DOMASZEWSKI, P. et al. Effect of a Six-Week Intermittent Fasting Intervention Program on the Composition of the Human Body in Women over 60 Years of Age. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 11, p. 4138, 10 jun. 2020.

EMERSON, S. R. et al. Summation of blood glucose and TAG to characterise the “metabolic load index”. **The British Journal of Nutrition**, v. 116, n. 9, p. 1553–1563, nov. 2016.

EREJUWA, O. O. et al. Nigerian Honey Ameliorates Hyperglycemia and Dyslipidemia in Alloxan-Induced Diabetic Rats. **Nutrients**, v. 8, n. 3, p. 95, 24 fev. 2016.

FARIS, M. A.-I. E. et al. Intermittent fasting during Ramadan attenuates proinflammatory cytokines and immune cells in healthy subjects. **Nutrition Research (New York, N.Y.)**, v. 32, n. 12, p. 947–955, dez. 2012.

FERGUSON, B. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription 9th Ed. 2014. **The Journal of the Canadian Chiropractic Association**, v. 58, n. 3, p. 328, set. 2014.

FERGUSON, L. M. et al. Effects of caloric restriction and overnight fasting on cycling endurance performance. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 23, n. 2, p. 560–570, mar. 2009.

FERNANDO, H. A. et al. Effect of Ramadan Fasting on Weight and Body Composition in Healthy Non-Athlete Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 478, 24 fev. 2019.

FERRARO, E. et al. Exercise-Induced Skeletal Muscle Remodeling and Metabolic Adaptation: Redox Signaling and Role of Autophagy. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 21, n. 1, p. 154–176, 1 jul. 2014.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, maio 1957.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499–502, jun. 1972.

GABEL, K. et al. Effects of 8-hour time restricted feeding on body weight and metabolic disease risk factors in obese adults: A pilot study. **Nutrition and Healthy Aging**, v. 4, n. 4, p. 345–353, [s.d.].

GNANOU, J. V. et al. Effects of Ramadan fasting on glucose homeostasis and adiponectin levels in healthy adult males. **Journal of Diabetes and Metabolic Disorders**, v. 14, p. 55, 7 jul. 2015.

GOLDSTEIN, I.; HAGER, G. L. Transcriptional and chromatin regulation during fasting – The genomic era. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 26, n. 12, p. 699–710, dez. 2015.

GOMES, M. J. et al. Beneficial Effects of Physical Exercise on Functional Capacity and Skeletal Muscle Oxidative Stress in Rats with Aortic Stenosis-Induced Heart Failure. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 8695716, 2016.

GOTTHARDT, J. D. et al. Intermittent fasting promotes fat loss with lean mass retention, increased hypothalamic norepinephrine content, and increased neuropeptide Y gene expression in diet-induced obese male mice. **Endocrinology**, v. 157, n. 2, p. 679–691, 2016.

HAJEK, P. et al. Weight change during and after Ramadan fasting. **Journal of Public Health (Oxford, England)**, v. 34, n. 3, p. 377–381, ago. 2012.

HAMMOUDA, O. et al. Concomitant Effects of Ramadan Fasting and Time-Of-Day on Apolipoprotein AI, B, Lp-a and Homocysteine Responses during Aerobic Exercise in Tunisian Soccer Players. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. e79873, 11 nov. 2013.

HARGREAVES, M.; SPRIET, L. L. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. **Nature Metabolism**, v. 2, n. 9, p. 817–828, set. 2020.

HARTY, P. S. et al. Nutritional and Supplementation Strategies to Prevent and Attenuate Exercise-Induced Muscle Damage: a Brief Review. **Sports Medicine - Open**, v. 5, p. 1, 7 jan. 2019.

HE, S. et al. Intermittent Versus Continuous Energy Restriction for Weight Loss and Metabolic Improvement: A Meta-Analysis and Systematic Review. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 29, n. 1, p. 108–115, jan. 2021.

HEILBRONN, L. K. et al. Alternate-day fasting in nonobese subjects: effects on body weight, body composition, and energy metabolism. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 69–73, jan. 2005.

- HODDY, K. K. et al. Intermittent Fasting and Metabolic Health: From Religious Fast to Time-Restricted Feeding. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 28, n. Suppl 1, p. S29–S37, jul. 2020.
- HOROWITZ, J. F. Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 14, n. 8, p. 386–392, out. 2003.
- HUANG, P. et al. Calorie restriction and endurance exercise share potent anti-inflammatory function in adipose tissues in ameliorating diet-induced obesity and insulin resistance in mice. **Nutrition & Metabolism**, v. 7, p. 59, 16 jul. 2010.
- JAMSHED, H. et al. Early Time-Restricted Feeding Improves 24-Hour Glucose Levels and Affects Markers of the Circadian Clock, Aging, and Autophagy in Humans. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1234, 30 maio 2019a.
- JAMSHED, H. et al. Early Time-Restricted Feeding Improves 24-Hour Glucose Levels and Affects Markers of the Circadian Clock, Aging, and Autophagy in Humans. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1234, 30 maio 2019b.
- JEUKENDRUP, A. E. Modulation of carbohydrate and fat utilization by diet, exercise and environment. **Biochemical Society Transactions**, v. 31, n. Pt 6, p. 1270–1273, dez. 2003.
- KIM, R. Y. et al. Assessment of the Metabolic Effects of Isocaloric 2:1 Intermittent Fasting in Mice. **Journal of Visualized Experiments: JoVE**, n. 153, 27 nov. 2019.
- KOTARSKY, C. J. et al. Time-restricted eating and concurrent exercise training reduces fat mass and increases lean mass in overweight and obese adults. **Physiological Reports**, v. 9, n. 10, p. e14868, 27 maio 2021.
- LATIMER, G. W. **Official methods of analysis of AOAC International**. 19th ed ed. Gaithersburg, Md.: AOAC International, 2012.
- LAVALLEE, C. M. et al. The Role of Intermittent Fasting in the Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Narrative Review. **Nutrients**, v. 14, n. 21, p. 4655, 3 nov. 2022.
- LESSAN, N.; ALI, T. Energy Metabolism and Intermittent Fasting: The Ramadan Perspective. **Nutrients**, v. 11, n. 5, p. 1192, 27 maio 2019.
- LEVY, E.; CHU, T. Intermittent Fasting and Its Effects on Athletic Performance: A Review. **Current Sports Medicine Reports**, v. 18, n. 7, p. 266–269, jul. 2019.
- LI, G. et al. Intermittent Fasting Promotes White Adipose Browning and Decreases Obesity by Shaping the Gut Microbiota Intermittent Fasting Promotes White Adipose Browning and Decreases Obesity by Shaping the Gut Microbiota. **Cell Metabolism**, v. 26, n. 4, p. 672- 685.e4, 2017.
- LI, L.; WANG, Z.; ZUO, Z. Chronic Intermittent Fasting Improves Cognitive Functions and Brain Structures in Mice. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, 2013.

LIANG, B.-J. et al. Intermittent fasting therapy promotes insulin sensitivity by inhibiting NLRP3 inflammasome in rat model. **Annals of Palliative Medicine**, v. 10, n. 5, p. 5299309–5295309, maio 2021.

LIRA, F. S. et al. Inflammation and adipose tissue: effects of progressive load training in rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 9, n. 1, p. 109, 4 out. 2010.

LONGO, V. D.; CORTELLINO, S. Fasting, dietary restriction, and immunosenescence. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 146, n. 5, p. 1002–1004, nov. 2020.

M. CORREIA, J. et al. Effects of Intermittent Fasting on Specific Exercise Performance Outcomes: A Systematic Review Including Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1390, 12 maio 2020.

MALINOWSKI, B. et al. Intermittent Fasting in Cardiovascular Disorders—An Overview. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 673, 20 mar. 2019.

MANKHONG, S. et al. Effects of Aerobic Exercise on Tau and Related Proteins in Rats with the Middle Cerebral Artery Occlusion. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 16, p. 5842, 14 ago. 2020.

MARAJ, M. et al. α 1-Acid Glycoprotein and Dietary Intake in End-Stage Renal Disease Patients. **Nutrients**, v. 13, n. 11, p. 3671, 20 out. 2021.

MARTIN, B.; MATTSON, M. P.; MAUDSLEY, S. Caloric restriction and intermittent fasting: Two potential diets for successful brain aging. **Ageing research reviews**, v. 5, n. 3, p. 332–353, ago. 2006.

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, jul. 1985.

MATTSON, M. P.; LONGO, V. D.; HARVIE, M. Impact of intermittent fasting on health and disease processes. **Ageing Research Reviews**, v. 39, p. 46–58, 2017a.

MATTSON, M. P.; LONGO, V. D.; HARVIE, M. Impact of intermittent fasting on health and disease processes. **Ageing research reviews**, v. 39, p. 46–58, out. 2017b.

MENG, H. et al. Effects of intermittent fasting and energy-restricted diets on lipid profile: A systematic review and meta-analysis. **Nutrition**, v. 77, p. 110801, set. 2020.

MORAES, R. C. M. DE et al. Effects of intermittent fasting and chronic swimming exercise on body composition and lipid metabolism. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 42, n. 12, p. 1341–1346, dez. 2017.

MORO, T. et al. Effects of eight weeks of time-restricted feeding (16/8) on basal metabolism, maximal strength, body composition, inflammation, and cardiovascular risk factors in resistance-trained males. **Journal of Translational Medicine**, v. 14, p. 290, 13 out. 2016.

MUJICA, I. Intense training: the key to optimal performance before and during the taper. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 20 Suppl 2, p. 24–31, out. 2010.

Mulas A, Cienfuegos S, Ezpeleta M, Lin S, Pavlou V, Varady KA. Effect of intermittent fasting on circulating inflammatory markers in obesity: A review of human trials. **Front Nutr**. 2023

MUSCELLA, A.; STEFÀNO, E.; MARSIGLIANTE, S. The effects of exercise training on lipid metabolism and coronary heart disease. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 319, n. 1, p. H76–H88, jul. 2020.

MUTHU, K.; KRISHNAMOORTHY, P. Evaluation of androgenic activity of *Mucuna pruriens* in male rats. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 66, p. 15017–15019, 2011.

NAHARUDIN, M. N. BIN; YUSOF, A. The effect of 10 days of intermittent fasting on Wingate anaerobic power and prolonged high-intensity time-to-exhaustion cycling performance. **European Journal of Sport Science**, v. 18, n. 5, p. 667–676, 2018a.

NAHARUDIN, M. N. B.; YUSOF, A. The effect of 10 days of intermittent fasting on Wingate anaerobic power and prolonged high-intensity time-to-exhaustion cycling performance. **European Journal of Sport Science**, v. 18, n. 5, p. 667–676, jun. 2018b.

NOVELLI, E. L. B. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v. 41, n. 1, p. 111–119, jan. 2007.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, jun. 1979.

OLSEN, M. K. et al. Time-restricted feeding on weekdays restricts weight gain: A study using rat models of high-fat diet-induced obesity. **Physiology & Behavior**, v. 173, p. 298–304, 1 maio 2017.

ONYWERA, V. O. et al. Food and Macronutrient Intake of Elite Kenyan Distance Runners. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 14, n. 6, p. 709–719, dez. 2004.

PARK, J. et al. Effect of alternate-day fasting on obesity and cardiometabolic risk: A systematic review and meta-analysis. **Metabolism**, v. 111, p. 154336, out. 2020.

PARK, S. et al. Intermittent fasting reduces body fat but exacerbates hepatic insulin resistance in young rats regardless of high protein and fat diets. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 40, p. 14–22, 2017.

PATTERSON, R. E. et al. Intermittent Fasting and Human Metabolic Health. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 115, n. 8, p. 1203–1212, 2015.

PATTERSON, R. E.; SEARS, D. D. Metabolic Effects of Intermittent Fasting. **Annual Review of Nutrition**, v. 37, p. 371–393, 21 ago. 2017.

PERCIE DU SERT, N. et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. **PLOS Biology**, v. 18, n. 7, p. e3000410, 14 jul. 2020.

PINTO, P. R. et al. Exercise Training Favorably Modulates Gene and Protein Expression That Regulate Arterial Cholesterol Content in CETP Transgenic Mice. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 502, 8 maio 2018.

POWERS, S. K. et al. Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe? **Journal of Sport and Health Science**, v. 9, n. 5, p. 415, set. 2020.

PRATA, L. O. et al. Original Research: ACE2 activator associated with physical exercise potentiates the reduction of pulmonary fibrosis. **Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)**, v. 242, n. 1, p. 8–21, jan. 2017.

RADAK, Z. et al. Exercise effects on physiological function during aging. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 132, p. 33–41, 20 fev. 2019.

REAL-HOHN, A. et al. The synergism of high-intensity intermittent exercise and every-other-day intermittent fasting regimen on energy metabolism adaptations includes hexokinase activity and mitochondrial efficiency. **PLoS ONE**, v. 13, n. 12, p. e0202784, 21 dez. 2018a.

REAL-HOHN, A. et al. The synergism of high-intensity intermittent exercise and every-other-day intermittent fasting regimen on energy metabolism adaptations includes hexokinase activity and mitochondrial efficiency. **PLoS ONE**, v. 13, n. 12, p. e0202784, 21 dez. 2018b.

RODRÍGUEZ-BIES, E. et al. Muscle Physiology Changes Induced by Every Other Day Feeding and Endurance Exercise in Mice: Effects on Physical Performance. **PLoS ONE**, v. 5, n. 11, p. e13900, 9 nov. 2010.

ROY, A. S.; BANDYOPADHYAY, A. Effect of Ramadan intermittent fasting on selective fitness profile parameters in young untrained Muslim men. **BMJ Open Sport — Exercise Medicine**, v. 1, n. 1, p. e000020, 30 set. 2015.

SINDELAR, D. K. et al. The role of fatty acids in mediating the effects of peripheral insulin on hepatic glucose production in the conscious dog. **Diabetes**, v. 46, n. 2, p. 187–196, fev. 1997.

SINGH, R. et al. Middle age onset short-term intermittent fasting dietary restriction prevents brain function impairments in male Wistar rats. **Biogerontology**, v. 16, n. 6, p. 775–788, 2015.

SMITH, N. J. G. et al. A Comparison of Dietary and Caloric Restriction Models on Body Composition, Physical Performance, and Metabolic Health in Young Mice. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 350, 7 fev. 2019.

SMYERS, M. E. et al. Enhanced weight and fat loss from long-term intermittent fasting in obesity-prone, low-fitness rats. **Physiology and Behavior**, v. 230, n. November 2020, p. 113280, 2021a.

SMYERS, M. E. et al. Enhanced weight and fat loss from long-term intermittent fasting in obesity-prone, low-fitness rats. **Physiology & behavior**, v. 230, p. 113280, 1 mar. 2021b.

SOARES, N. L. et al. Does intermittent fasting associated with aerobic training influence parameters related to the gut-brain axis of Wistar rats? **Journal of Affective Disorders**, v. 293, p. 176–185, 1 out. 2021a.

SOARES, N. L. et al. Does intermittent fasting associated with aerobic training influence parameters related to the gut-brain axis of Wistar rats? **Journal of Affective Disorders**, v. 293, p. 176–185, 1 out. 2021b.

STEKOVIC, S. et al. Alternate Day Fasting Improves Physiological and Molecular Markers of Aging in Healthy, Non-obese Humans. **Cell Metabolism**, v. 30, n. 3, p. 462–476.e6, 3 set. 2019.

ST-ONGE, M.-P. et al. Meal Timing and Frequency: Implications for Cardiovascular Disease Prevention. **Circulation**, v. 135, n. 9, p. e96–e121, 28 fev. 2017.

SUTTON, E. F. et al. Early Time-Restricted Feeding Improves Insulin Sensitivity, Blood Pressure, and Oxidative Stress Even Without Weight Loss in Men with Prediabetes. **Cell metabolism**, v. 27, n. 6, p. 1212–1221.e3, 5 jun. 2018.

SUZUKI, K. Cytokine Response to Exercise and Its Modulation. **Antioxidants**, v. 7, n. 1, p. 17, jan. 2018.

SUZUKI, K. et al. Characterization and Modulation of Systemic Inflammatory Response to Exhaustive Exercise in Relation to Oxidative Stress. **Antioxidants**, v. 9, n. 5, p. 401, 8 maio 2020.

TAVARES, R. L. et al. Mucuna pruriens treatment shows anti-obesity and intestinal health effects in obese rats. **Food & Function**, v. 12, n. 14, p. 6479–6489, 20 jul. 2021.

TERADA, T. et al. Overnight fasting compromises exercise intensity and volume during sprint interval training but improves high-intensity aerobic endurance. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 59, n. 3, p. 357–365, mar. 2019.

TINSLEY, G. M. et al. Time-restricted feeding in young men performing resistance training: A randomized controlled trial. **European Journal of Sport Science**, v. 17, n. 2, p. 200–207, mar. 2017.

TINSLEY, G. M.; LA BOUNTY, P. M. Effects of intermittent fasting on body composition and clinical health markers in humans. **Nutrition Reviews**, v. 73, n. 10, p. 661–674, 1 out. 2015.

VAN DER MERWE, M. et al. Time of Feeding Alters Obesity-Associated Parameters and Gut Bacterial Communities, but Not Fungal Populations, in C57BL/6 Male Mice. **Current developments in nutrition**, v. 4, p. nzz145, 3 jan. 2020.

VAN PROEYEN, K. et al. Beneficial metabolic adaptations due to endurance exercise training in the fasted state. **Journal of Applied Physiology**, v. 110, n. 1, p. 236–245, jan. 2011.

VARADY, K. A. et al. Comparison of effects of diet versus exercise weight loss regimens on LDL and HDL particle size in obese adults. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, p. 119, 18 jul. 2011.

VARADY, K. A. et al. Alternate day fasting for weight loss in normal weight and overweight subjects: a randomized controlled trial. **Nutrition Journal**, v. 12, p. 146, 12 nov. 2013.

VARADY, K. A. et al. Effects of weight loss via high fat vs. low fat alternate day fasting diets on free fatty acid profiles. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1–7, 2015.

VASCONCELOS, A. R. et al. Intermittent fasting attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and memory impairment. **Journal of Neuroinflammation**, v. 11, p. 1–14, 2014.

VASIM, I.; MAJEED, C. N.; DEBOER, M. D. Intermittent Fasting and Metabolic Health. **Nutrients**, v. 14, n. 3, p. 631, 31 jan. 2022.

VOGT, É. L. et al. Metabolic and Molecular Subacute Effects of a Single Moderate-Intensity Exercise Bout, Performed in the Fasted State, in Obese Male Rats. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 14, p. 7543, 15 jul. 2021.

WALSH, M. E.; SHI, Y.; VAN REMMEN, H. The effects of dietary restriction on oxidative stress in rodents. **Free radical biology & medicine**, v. 66, p. 88–99, jan. 2014.

WANG, Z.; YU, L.; FU, Y. [Comparison of intermittent fasting and exercise on skeletal muscle autophagy activation and fat reduction]. **Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi = Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi = Chinese Journal of Applied Physiology**, v. 36, n. 4, p. 289–295, jul. 2020.

WEI, S. et al. Intermittent administration of a fasting-mimicking diet intervenes in diabetes progression, restores β cells and reconstructs gut microbiota in mice. **Nutrition and Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 1–13, 2018.

WELTON, S. et al. Intermittent fasting and weight loss: Systematic review. **Canadian Family Physician Medecin De Famille Canadien**, v. 66, n. 2, p. 117–125, fev. 2020.

WILSON, R. A. et al. Intermittent fasting with or without exercise prevents weight gain and improves lipids in diet-induced obese mice. **Nutrients**, v. 10, n. 3, 2018a.

WILSON, R. A. et al. Intermittent Fasting with or without Exercise Prevents Weight Gain and Improves Lipids in Diet-Induced Obese Mice. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 346, 12 mar. 2018b.

ZHANG, Y. et al. Exercise ameliorates insulin resistance and improves ASK1-mediated insulin signalling in obese rats. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 25, n. 23, p. 10930–10938, dez. 2021.

ZOUHAL, H. et al. Exercise Training and Fasting: Current Insights. **Open Access Journal of Sports Medicine**, v. 11, p. 1–28, 21 jan. 2020.

APÊNDICES

APÊNDICE A – ARTIGO

PERIÓDICO: Nutrition

ÁREA: Nutrição

QUALIS: A1

ISSN: 1873-1244

FATOR DE IMPACTO: 4.893

Intermittent fasting associated with aerobic exercise improves oxidative parameters and causes muscle damage without compromises the performance of Wistar rats

Abstract

Purpose: we investigated the effects of intermittent fasting associated or not with aerobic exercise on performance, oxidative, biochemical and somatic parameters of Wistar rat. **Methods:** Forty Wistar rats were randomized in four groups: sedentary (SC) and trained (TC) controls, sedentary intermittent fasting (SIF) and trained intermittent fasting (TIF). The rats were subjected to IF for 15 h every day and aerobic exercise lasting 30 min, 5 times a week, at a speed of 15 m/min, without incline for 4 weeks. Performance test were performed at the beginning and end of the experimental protocol. Glucose and insulin tolerance tests, somatic parameters, lipidogram, leptin, insulin, malondialdehyde (MDA), antioxidant capacity (CAT), C-reactive protein (CRP), alpha glycoprotein acid (AGP), creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH) and muscle histology were analyzed. **Results:** the trained groups had similar performance and both groups had a significant improvement in performance at the end in comparison to beginning of the experiment. TIF showed lower values of body Δ weight ($-16g \pm 6.12g$), lean mass (22.49%), LDL (43%), HOMA-IR (29%), LDH (48%) and higher values of MDA (53%), CAT (75%) compared to TC. TIF showed lower glucose and

insulin tolerance when compared to TC. SIF and TIF showed a reduction in fibre area and inflammatory process in the soleus and EDL muscles. AGP and CRP were similar among groups. **Conclusion:** IF associated with aerobic exercise improve markers of oxidative stress, caused damage to muscle fibres and loss lean mass, but did not change the performance of rats.

Key words: aerobic exercise; insulin; leptin; lactate dehydrogenase; malondialdehyde; muscle fibre; time-restricted feeding.

Introduction

Intermittent fasting (IF) is a dietary strategy that includes periods of normal food and drink consumption interspersed with periods without food or drink consumption (PATTERSON; SEARS, 2017). The IF encompasses different protocols and definitions, including time-restricted feeding (8 to 36 h), long fasting of several days or weeks (2 to 21 or more days) and fasting on alternate days (24 h duration) even modified fasting with caloric restriction (MATTSON; LONGO; HARVIE, 2017b; TINSLEY et al., 2017).

There is scientific evidence of various health benefits of IF, both in animal models (WILSON et al., 2018b; ZHANG et al., 2021) and in clinical trials (CARTER; CLIFTON; KEOGH, 2016; GABEL et al., 2018). However, there is no unanimity in the IF recommendation or which protocol to choose, probably due to the study designs being very heterogeneous and presenting divergences in their results (CATTERSON et al., 2018b). In this context, the IF protocol with time-restricted feeding can be interesting because it is a strategy that is easy to adhere to and does not cause compensatory consumption during the feeding window (GABEL et al., 2018).

The main health benefits of fasting are demonstrated in weight loss, reduction of total cholesterol, triglycerides, and risk markers for metabolic diseases (PATTERSON; SEARS, 2017). Most studies that associate IF with aerobic exercise focus on body composition and lipid profile (SMYERS et al., 2021b; WILSON et al., 2018b), with IF protocols performed during religious practices (BRISSWALTER et al., 2011) and not exactly in the performance during the practice of the exercise. However, studies with IF in association with exercises are controversial as to the improvement or worsening of

performance (M. CORREIA et al., 2020), and one of the concerns is whether this association could increase oxidative stress caused by the excess production of reactive oxygen species (EROs) compromising health and physical performance (POWERS et al., 2020). Results on inflammatory parameters are mixed, ranging from low levels of C-reactive protein (CRP) in healthy men who fasted during Ramadan (AKSUNGAR; TOPKAYA; AKYILDIZ, 2007), to no changes in this parameter in overweight adults (PARK et al., 2020), but reducing CRP levels in animals (LIANG et al., 2021). Furthermore, Data on the effects of fasting associated with exercise on muscle damage are limited (Harty et al., 2019).

In this sense, due to adaptations that improve the efficiency of energy substrate utilization during exercise in a unfeeding time, it is necessary to better understand the impact of IF, associated with aerobic training, on physical performance, muscle damage markers, hormonal and oxidative parameters, important to elucidate their effects and scientific basis for benefits to the general population and safety in prescribing these intervention strategies. Considering the aspects discussed here, this study aimed to evaluate the effects of IF associated or not with aerobic exercise on performance, oxidative, biochemical, and somatic parameters of Wistar rats.

Materials and Methods

Study design and intermittent fasting protocol (IF)

Forty male Wistar rats from a colony at the Biotério José Paulino (Federal University of Pernambuco - UFPE, Pernambuco, Brazil) were used in the experiment, maintained under standardized conditions such as light/dark cycle (12/12h, light off at 7 p.m.), temperature ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) and humidity ($55\pm 5\%$). The rats were approximately 140 days old and had an average initial weight of 380.80 ± 23.04 g. They were allocated in collective cages (five rats per cage), with crates on their floors (measuring 36 cm x 31 cm, 2.5 cm deep) and 1 cm spacing between each bar) to avoid consuming shavings woods and faeces by the rats during the IF protocol (SOARES et al., 2021b). The experiments were carried out at the Experimental Nutrition Laboratory of the Federal University of Paraíba (LANEX/UFPB, Paraíba, Brazil), according to the Animal

Research: Reporting of In Vivo Experiments (ARRIVE) guidelines (PERCIE DU SERT et al., 2020). The experimental protocol was approved by the Animal Experimentation Ethics Committee of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) under number 5028031219.

The rats were divided into four groups after the adaptation period: sedentary control group (SC; N=10): sedentary rats with *ad libitum* access to food; trained control group (TC; N=10): trained rats with *ad libitum* access to food; sedentary group kept to intermittent fasting (SIF; N=10); trained group maintained intermittent fasting (TIF; N = 10). The rats received water *ad libitum* and commercial feed Nuvilab (Colombo, Paraná, Brazil) which has 57% carbohydrates, 28% proteins, 14% lipids and 311 kcal per 100 g of feed.

Time-restricted feeding was selected as an IF protocol due to the health benefits demonstrated both in clinical studies (DOMASZEWSKI et al., 2020; JAMSHED et al., 2019b) and in rodent studies (BELKACEMI et al., 2012b; SOARES et al., 2021b; ZHANG et al., 2021) , such as improved blood glucose, lipemia, improved body composition (AOUICHAT et al., 2020) plus improved aerobic exercise performance during time-restricted feeding in Ramadan (AL-NAWAISEH et al., 2021). The time-restricted feed protocol was carried out for 4 weeks concomitantly with aerobic exercise and consisted of food restriction for 15 h (5:00 p.m. – 8:00 a.m.) and *ad libitum* food supply for 9 h (8:00 a.m. – 5:00 p.m.) (BELKACEMI et al., 2012b; SOARES et al., 2021b). The study design is represented in Figure S1.

CONTROLLED ENVIRONMENT  12/12h  50 – 55%  22°C±2°C					
GROUP	WEEK 0		WEEK 1 – WEEK 4		END OF EXPERIMENT
SC	ADAPTATION PHASE  10 MIN FOR 3 DAYS	-	-		EUTHANASIA  COLLECTION OF BIOLOGICAL MATERIAL
SIF	ADAPTATION PHASE  10 MIN FOR 3 DAYS	-	INTERMITTENT FASTING - 15h/day 		EUTHANASIA  COLLECTION OF BIOLOGICAL MATERIAL
TC	ADAPTATION PHASE  10 MIN FOR 3 DAYS	PERFORMANCE TEST  INCREASE SPEED EVERY 3 MIN UNTIL EXHAUSTION	AEROBIC TRAINING - 30 min, 5x a week (15m/min) 		PERFORMANCE TEST  INCREASE SPEED EVERY 3 MIN UNTIL EXHAUSTION EUTHANASIA  COLLECTION OF BIOLOGICAL MATERIAL
TIF	ADAPTATION PHASE  10 MIN FOR 3 DAYS	PERFORMANCE TEST  INCREASE SPEED EVERY 3 MIN UNTIL EXHAUSTION	INTERMITTENT FASTING - 15h/day AEROBIC TRAINING - 30 min, 5x a week (15m/min)  		PERFORMANCE TEST  INCREASE SPEED EVERY 3 MIN UNTIL EXHAUSTION EUTHANASIA  COLLECTION OF BIOLOGICAL MATERIAL

Fig. S1. Experimental design. SC=sedentary control (n = 10); SIF=sedentary intermittent fasting (n = 10); TC=trained control (n = 10); TIF=trained intermittent fasting (n = 10).

Feed intake and caloric intake were evaluated weekly during the experiment. Caloric intake was calculated considering the feed intake in grams and the total sum of calories provided by carbohydrates, proteins and fats by commercial feed. Weight was monitored weekly and calculated by subtracting the initial weight from the final one (TAVARES et al., 2021).

Aerobic exercise protocol and performance test

In week before starting the training protocol), the rats were submitted to a period of adaptation to running on a treadmill, for 5 to 10 min, 3 days a week, at a speed of 15 m/min on a treadmill adapted with stalls (36 cm x 3 cm x 2.5 cm) for rat (Athletic advanced 2, Santa Catarina, Brazil). The performance of the rats was classified according to the trainability scale, with scores from 1 to 5, according to the parameters: 1-refused to run; 2-below average runner (runs and stops; runs in the wrong

direction); 3-medium runner; 4-above average runner (runs constantly, occasionally running below the speed of the treadmill); 5-good runner (consistently above the treadmill speed). Rats with scores equal to or above 3 were included in the exercised groups, rats with scores below the average were placed in the sedentary control group (LIRA et al., 2010).

The exercise protocol was carried out during the 4 weeks of the experiment, at the end of the dark cycle, due to the nocturnal habit of rodents. This aerobic exercise protocol was performed simultaneously with the fasting protocol for the TIF group. The protocol consisted of 30-min sessions, 5 times a week, at a speed of 15 m/min, without inclination (PINTO et al., 2018). The protocol was chosen based on the minimum weekly physical activity time proposed by the World Health Organization- WHO (2020) and on studies with rodents that evaluated the effect of aerobic exercise in metabolic parameters (CHEN et al., 2015; MANKHONG et al., 2020).

Performance test was carried out after the adaptation period and in the last week, after the last training. The performance tests started with the rats running on a treadmill without an incline with an initial speed of 15m/min for 5 min at the end of the dark cycle. Soon after, every 3 min the treadmill speed was increased by 2 m/min until exhaustion. Exhaustion was found when the animals could not maintain speed, even after being instigated by the researchers (CARVALHO; MASUDA; POMPEU, 2005; SOARES et al., 2021).

Glucose (GTT) and insulin (ITT) tolerance tests

One day after the last training protocol, glucose tolerance tests (GTT) and insulin tolerance tests (ITT) were performed, respectively. The GTT was performed after a 6-h fast, with the initial glycaemia (T0) being measured through an incision in the rat's tail, followed by the administration of a 25% glucose solution (2 g of glucose/kg of weight) via gavage, measuring blood glucose at times 15, 30, 60, 90 and 120 min. On the day after the GTT, ITT was performed with the rats in basal state, also at T0 and after intraperitoneal administration of regular insulin (Novolin® R, Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark), equivalent to 0.75 IU of insulin/kg of animal weight, diluted in sterile 0.9% saline solution, measuring blood glucose at times 15, 30, 60, 90 and 120 min.

Glycaemia was measured using a glucometer (Accu-check, model Performa, Jaguaré, Brazil)

The area under the glucose curve (AUC) in both the ITT and OGTT tests was calculated by the trapezoidal method, comparing the AUC of the experimental groups with that of the control group (ANDRIKOPOULOS et al., 2008).

Euthanasia, collection of biological materials and somatic parameters

Euthanasia was performed after 4 weeks of experiment and 72 h after the last exercise and IF protocols. The rats were fasted for 6 h and then euthanized via guillotine decapitation (EB271, Insights, Ribeirão Preto, Brazil).

Blood was collected in sterile tubes and centrifuged at 1040 x g for 15 min to obtain serum, which was kept frozen (-20°C) for biochemical analysis. After blood collection, the extensor digitorum longus (EDL) and soleus muscles were collected for histological and oxidative analyses and carcasses were obtained for body composition analyses.

Immediately before euthanasia, the rats were weighed, being measured with an inelastic tape: the naso-anal length and the abdominal and thoracic circumferences (NOVELLI et al., 2007). The Lee index was calculated from the Equation 1: (BERNARDIS; PATTERSON, 1968).

$$\text{Equation 1: } Lee\ Index = \frac{\sqrt[3]{body\ weight\ (g)}}{Naso-anal\ length\ (mm)} \times 10$$

The carcasses were eviscerated, the skin removed, ground in a Bemark mill, BM 23 NR (São José do Rio Preto, Brazil), and stored at -20°C for the analysis of the animals' body composition by determining the percentage of: humidity by oven drying at 105°C; ash from incineration in a muffle furnace at 550°C; proteins by the Kjeldahl method, which together correspond to lean mass (AOAC, 2012); and lipids by cold extraction with chloroform and methanol (2:1), which corresponds to fat mass (FOLCH; LEES; SLOANE STANLEY, 1957; LATIMER, 2012; TAVARES et al., 2021)

Biochemical parameters

Serum concentrations of total cholesterol, low-density lipoprotein (LDL) and triglycerides (TG) was determined using the colorimetric enzymatic method using specific commercial kits Cholesterol Monoreagent, LDL direct and triglycerides Monoreagent (Bioclin®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil), respectively. For these analyses, 500 nm (total cholesterol), 546 nm (LDL) and 500 nm (TG) were used as the wavelength. High-density lipoprotein levels (HDL) were determined using the Enzymatic-Trinder method, using the commercial Enzymatic HDL Cholesterol kit (Bioclin®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil), with absorbance at 550 nm. The very low-density lipoprotein (VLDL) was calculated through the equation 2 (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972):

$$\text{Equation 2: } VLDL = \frac{TG}{5}$$

Cardiovascular risk was calculated by the ratio between TG levels on HDL-c levels, with a value greater than 3.5 being considered at risk. The atherogenic index (AI), the coronary risk index (CRI) and the cardiovascular risk index (CVRI) were calculated according to the equations 3, 4 and 5 respectively (EREJUWA et al., 2016)

$$\text{Equation 3: } AI = \frac{LDL}{HDL-c}$$

$$\text{Equation 4: } CRI = \frac{TC}{HDL-c}$$

$$\text{Equation 5: } CRVI = \frac{TG}{HDL-c}$$

The coronary risk index was calculated by the ratio between cholesterol levels on HDL levels, according to the respective equations 6 and 7:

$$\text{Equation 6: } ICVR = \frac{triglycerides}{HDL-c}$$

$$\text{Equation 7: } IRC = \frac{colesterol}{HDL-c}$$

The hormones insulin and leptin were analyzed using the electrochemiluminescence immunoassay (Roche Cobas e601 analyzer) and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA (Millipore Sigma, EZHL-80SK read

spectrophotometrically at 450 nm), respectively (TAVARES et al., 2021). Based on the results of these analyses, the homeostatic model of insulin resistance (HOMA-IR) was evaluated (MATTHEWS et al., 1985), determined by the equation 7 and the metabolic load index (MLI) was calculated by equation 8 (EMERSON et al., 2016):

$$\text{Equation 7: } HOMA\ IR = \frac{\text{fasting blood glucose} \times 0,0555 \times \text{fasting insuline}}{22,5}$$

$$\text{Equation 8: } MLI = TG + \text{postprandial plasma glucose}$$

Oxidative parameters of serum and muscles

Samples of serum collected and centrifuged at euthanasia were used for the analyses oxidative parameters, were evaluated by analyzing lipid peroxidation and total antioxidant capacity (TAC) in serum, soleus and in EDL muscle homogenates. A homogenate preparation was made, where each organ was crushed and homogenized in 10 mL of potassium chloride (0.05 M) in an ice bath. The homogenates were centrifuged (8,000 x g for 5 min at 4°C) in a refrigerated centrifuge (Sorvall, st8, Waltham, USA) to obtain the supernatant.

Lipid peroxidation was assessed by measuring thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and expressed in terms of malondialdehyde content (MDA) (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979). In sequence, 250 µL of the sample was incubated in a water bath at 37 °C for 60 min. Subsequently, the sample was precipitated with 35% AA perchloric acid and centrifuged at 10,976 x g for 20 min at 4°C (Solab, Model: SL-703, São Paulo, Brazil). The supernatant was transferred to other microtubes where 400 µL of 0.6% TBARS was added and incubated at 100°C for 60 min. After incubating and cooling the microtubes, the reaction reading was performed in an ultraviolet spectrophotometer (Bioespectro SP-22, Curitiba, Brazil) at a wavelength of 532 nm, at room temperature (± 22 °C).

TAC was measured according to the 2,2 -diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). An aliquot of 1.25 mg of DPPH was diluted in 100 mL of ethanol (absolute ethyl alcohol 99.5%), kept under refrigeration and protected from light. An aliquot of 3.9 mL of the solution were added to

100 μ L of sample in tubes, which were then vortexed and left to rest for 30 min. In the final step, they were centrifuged at 5,600 $\times g$ for 15 min at a temperature of (Solab, Model: SL-703, São Paulo, Brazil) and the supernatant was used to read the reaction in an ultraviolet spectrophotometer (Bioespectro SP-22, Curitiba, Brazil) at a wavelength of 515 nm and at room temperature (± 22 °C).

Assessment of muscle damage and acute phase response biomarkers

Creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) enzymes, which assess muscle damage, were quantified in serum using kit CK-NAC Liquiform (Labtest, Minas Gerais, Brazil) and kit comercial LDH Liquiform (Labtest, Minas Gerais, Brazil), respectively, following the manufacturer's instructions, according to the kinetic mode using the UV-IFCC method (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2002) at wavelength of 340 nm. C-reactive protein (CRP) and acid alpha-glycoprotein serum (Labtest, Minas Gerais, Brazil) were analyzed at wavelength of 570 nm and 600 nm respectively, according to the manufacturer's recommendations. All these analyzes were performed using a LabMax 240 Premium automatic analyzer (Labtest, Belo Horizonte, Minas Gerais Brazil).

Histological analysis

The muscles (Soleus and EDL) were fixed in 10% buffered formaldehyde and processed according to the routine histological technique. The slides were cut using the Harris Hematoxylin and Eosin (H&E) technique, mounting the blade to the blade with synthetic resin (Entellan®, Merck, Darmstadt, HE, Germany). for analysis in crescent objectives and photographed in 20 $\times$ and 40 $\times$ crescents in a standard optical microscope (Motic BA 200, Santa Monica, USA).

For morphometric analysis 20 random images were captured using a micro camera and algorithms built in the KS300 software (White Plains/NY, US, 2006) digital processing and calculation of the area in μm^2 (PRATA et al., 2017). The slides were reassessed by the same pathologist to confirm the observations of the samples, after randomization by an independent person, and as proof of the assessment, the general agreement between the two analyzes was considered.

Statistical analysis

The data were submitted to the normality test by the Kolmogorov–Smirnov test, and results expressed as mean and standard deviation. The results of the performance test were submitted to Student's t test ($p \leq 0.05$). Body weight, GTT and ITT follow-up data was analyzed by Two Way Analysis of Variance (ANOVA) for independent measures with one factor for group (three levels) and one factor for time (five levels). Biochemical parameters, body composition and morphometric muscles data were analyzed with a single factor for the group via One Way ANOVA followed by Tukey's post-test with a significance level of 5% ($p \leq 0.05$). The GraphPadPrism 8 ® package (free version, GraphPad Software Inc. La Jolla, CA, USA) was used.

Results

Effects of intermittent fasting and aerobic exercise on weight, feed and energy intake

The feed intake (Fig. 1a) and energy (Fig. 1b) intake of SIF and TIF was lower compared to SC and TC at 1st week ($p \leq 0.05$), at week 2nd the TIF group had higher feed and energy intake compared to SIF ($p \leq 0.05$). In turn, at 3th week the trained groups (TC and TIF) consumed more feed and energy compared to SC ($p \leq 0.05$), while in the 4th week, the TC group consumed less feed and energy than the other groups ($p \leq 0.05$) (Fig 1a-b).

The delta of weight of TIF at the end of the experiment was higher compared to the other groups, showing a greater variation in the weight of this group ($p \leq 0.05$). (Fig 2c), only in week 1 the TIF group had a lower body mass compared to SC ($p \leq 0.05$). (Fig 2d). The TIF presented weight loss at the end of the experiment in relation to the

other groups that gained weight ($p \leq 0.05$) (Fig. 1c), with weight loss being observed in the TIF in relation to the SC during the 1st week of experiment ($p \leq 0.05$) (Fig 1d).

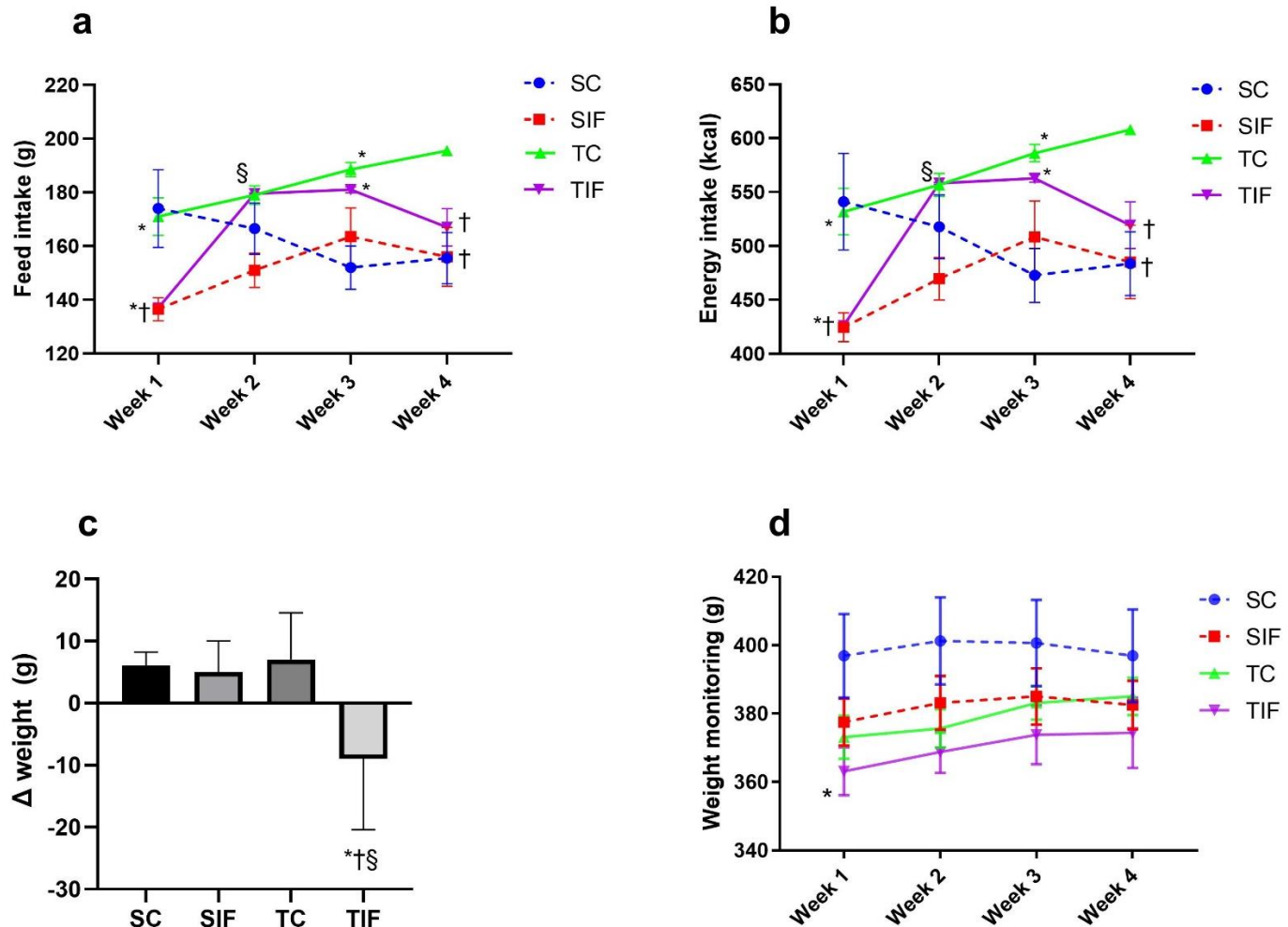


Fig. 1. Feed (a) and energy (b) intake, total weight (c), weight monitoring (d) of rats submitted or not to intermittent fasting and aerobic training. SC=sedentary control (n = 10); SIF=sedentary intermittent fasting (n = 10); TC=trained control (n = 10); TIF=trained intermittent fasting (n = 10). * = Significant difference compared to the SC group; † = Significant difference compared to the TC group; § = Significant difference compared to the SIF group (One-way ANOVA, $p \leq 0.05$, body weight; Two-way ANOVA, $p \leq 0.05$, feed intake and weight monitoring).

Somatic parameters

The lean mass of SIF was similar SC ($p > 0.05$), however, TIF had the lowest lean mass among the evaluated groups ($p \leq 0.05$), although no differences in the Lee index among groups ($p > 0.05$). The SIF, TC and TIF groups had a lower percentage of fat mass compared to SC ($p \leq 0.05$). On the other hand, both trained groups showed smaller abdominal circumference compared to SC (Table S1).

Table S1. Somatic parameters

Parameters	Groups			
	SC	SIF	TC	TIF
Lean Mass (%)	26.70±0.92	24.94±0.99	25.78±1.51	22.49±0.48*†§
Fat Mass (%)	11.24±1.61	7.46±1.74*	5.33±60*	7.81±1.73*
Abdominal circumference (cm)	16.90±0.77	16.10±0.96	15.70±0.88*	15.66±0.74*
Chest circumference (cm)	15.65±0.91	15.00±0.97	15.05±0.49	14.55±0.76*
Lee index	0.32±0.00	0.32±0.00	0.32±0.05	0.31±0.01

Somatic parameters of rats submitted or not to intermittent fasting and aerobic training. SC=sedentary control (n = 10); SIF=sedentary intermittent fasting (n = 10); TC=trained control (n = 10); TIF=trained intermittent fasting (n = 10). * = Significant difference compared to the SC group; † = Significant difference compared to the TC group; § = Significant difference compared to the SIF group (One-way ANOVA, $p \leq 0.05$).

Effects of intermittent fasting and aerobic exercise on biochemical parameters

In the GTT test, the TC and TIF groups showed higher blood glucose concentrations at time 15 and 30 min compared to SC and SIF ($p \leq 0.05$). At time 60 min SIF had lower blood glucose compared to SC and TC ($p \leq 0.05$) (Fig.S2a). TIF had the largest area under the curve compared to all other groups, including when compared to SIF, which had the smallest area under the curve in the GTT (Fig.S2b). In the ITT test, TIF group showed a greater increase in glycaemia since time 30 min until

time 120 min in ITT ($p \leq 0.05$) compared to all groups ($p \leq 0.05$) (Fig.S2c 3c), thus demonstrating a larger area under the curve also in ITT ($p \leq 0.05$) (Fig. S2d).

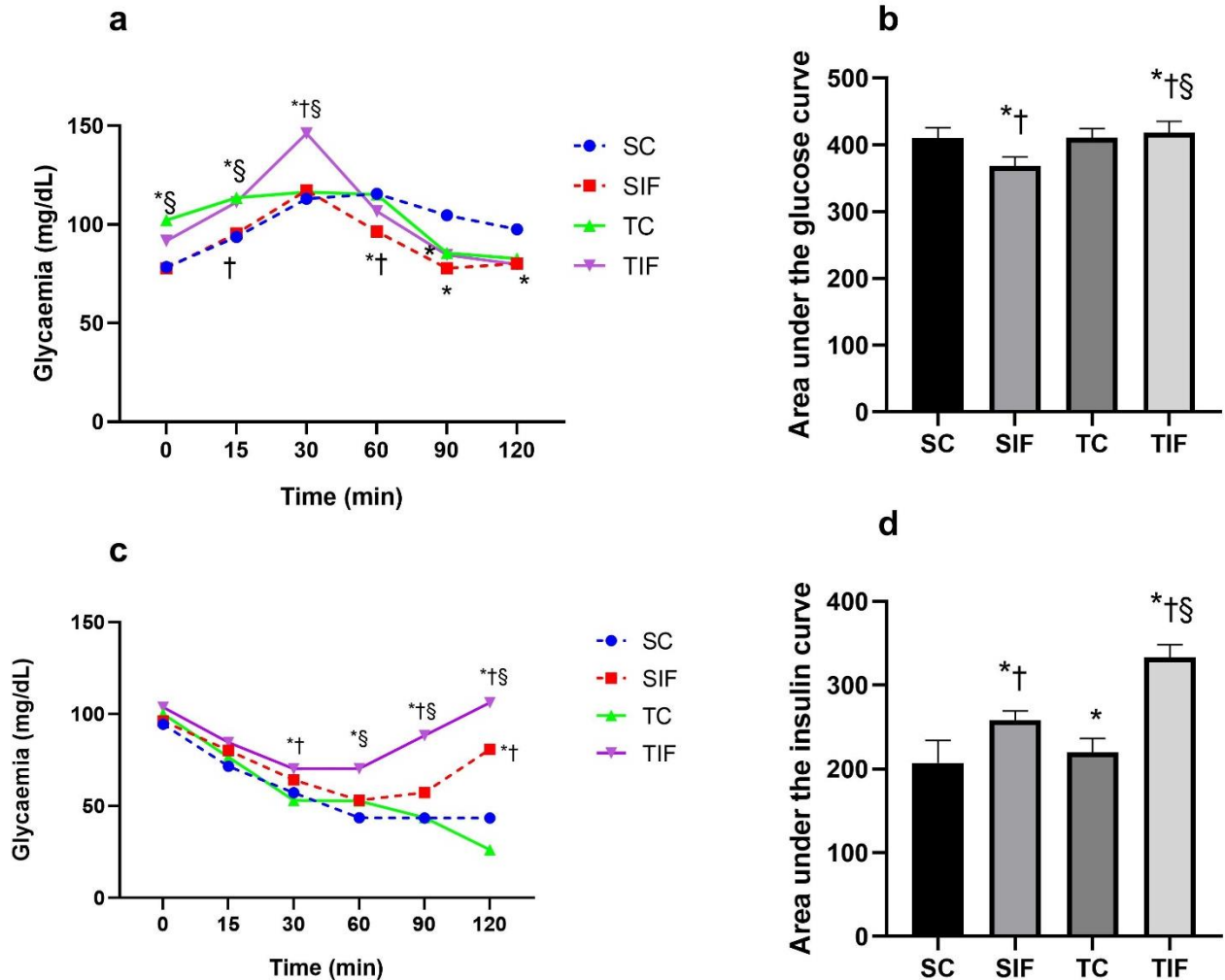


Fig.S2. Glucose tolerance test - GTT (a), area under the curve of GTT (b), insulin tolerance test - ITT (c), area under the curve of ITT (d) of rats submitted or not to intermittent fasting and aerobic training. SC=sedentary control (n = 10); SIF=sedentary intermittent fasting (n = 10); TC=trained control (n = 10); TIF=trained intermittent fasting (n = 10). * = Significant difference compared to the SC group; † = Significant difference compared to the TC group; § = Significant difference compared to the SIF group (One-way ANOVA, $p \leq 0.05$).

SIF showed higher leptin levels and lower triglycerides, VLDL and cardiovascular risk compared to SC ($p \leq 0.05$). On the other hand, TIF showed lower HOMA-IR and LDL

when compared to TC and SIF, in addition to lower concentrations of leptin, insulin and metabolic load index compared to SIF ($p \leq 0.05$). It was also observed that TIF and SIF had lower concentrations of triglycerides and VLDL than SC ($p \leq 0.05$). There was no significant difference in risk of atherogenicity and coronary risk between groups ($p > 0.05$), however, all groups had lower cardiovascular risk compared to the control group ($p \leq 0.05$) (Table S2).

Table S2. Hormones, lipid profile and cardiovascular indices.

Biochemical parameters	Groups			
	SC	SIF	TC	TIF
Leptin	8.55±1.56	12.64±1.74*†	6.88±2.10	5.46±1.46*§
Insulin	11.28±1.49	10.3±1.80	8.48±1.14*	7.27±1.52*§
Homa IR	19.85±2.03	20.88±2.71	21.79±1.97	14.77±1.24*†§
Triglycerides (mg/dL)	85.98±6.06	62.46±4.65*	70.35±4.13	56.13±2.39*
Total cholesterol (mg/dL)	96.83±2.97	105.10±2.86	114.00±4.57*	108.20±3.66
HDL (mg/dL)	73.39±1.20	72.13±4.87†	81.80±1.18*	79.55±2.83
LDL (mg/dL)	17.43±1.97	21.04±1.45	18.86±1.60	10.74±2.91†§
VLDL (mg/dL)	17.20±1.21	12.49±0.93*	14.07±0.83	11.23±0.48*
Metabolic load index	170.3±5.92	162.8±7.19†	181.2±11.91	183.3±11.00§
Atherogenicity index	0.23±0.05	0.29±0.04	0.23±0.04	0.17±0.09
Coronary risk index	1.32±0.08	1.43±0.05	1.39±0.11	1.37±0.11
Cardiovascular risk index	1.26±0.09	0.91±0.12*	0.88±0.11*	0.73±0.06*

Hormones, lipid profile and cardiovascular indices of rats submitted or not to intermittent fasting and aerobic training.

SC=sedentary control (n = 10); SIF=sedentary intermittent fasting (n = 10); TC=trained control (n = 10); TIF=trained intermittent fasting (n = 10). * = Significant difference compared to the SC group; † = Significant difference compared to the TC group; § = Significant difference compared to the SIF group (One-way ANOVA, $p \leq 0.05$). HOMA-IR= homeostasis model assessment of insulin resistance; HDL = high-density lipoprotein; LDL = low-density lipoprotein; VLDL= very low-density lipoprotein.

Performance evaluation

In performance tests both groups (TC and TIF) had similar performance ($p > 0.05$) and both groups had a significant improvement in performance at the end of the experiment, when compared to the test performed at the beginning of the experiment ($p \leq 0.05$) (Table 1).

Table 1. Physical performance.

Performance (min)	Groups	
	TC	TIF
T0	8.66±2.22	7.64±1.16
T1	13.28±2.37#	12.67±1.81&

Physical performance of rats submitted or not to intermittent fasting and aerobic training. TC=trained control (n = 10); TIF=trained intermittent fasting (n = 10). There was no significant difference ($p \leq 0.05$) between groups at different times (unpaired t test). # There was a significant difference ($p \leq 0.05$) for TC at different times; & There was a significant difference ($p \leq 0.05$) for TIF at different times (Paired T Test).

Changes in oxidative parameters

MDA concentration in the soleus muscle was similar between groups ($p > 0.05$) (Fig.2a). However, in the EDL muscle, a higher MDA in the TIF group compared to the other groups ($p \leq 0.05$), and the SIF group had a higher MDA than the control group (Fig 4b). Fasting reduced CAT in the soleus (Fig.2c) and EDL (Fig. 4d) muscles of sedentary rats (SIF) compared to the control group ($p \leq 0.05$). In turn, the association of exercise with fasting (TIF) promoted an increase in CAT in both muscles (Fig.2c and 2d) when compared to exercise isolated (TC) ($p \leq 0.05$).

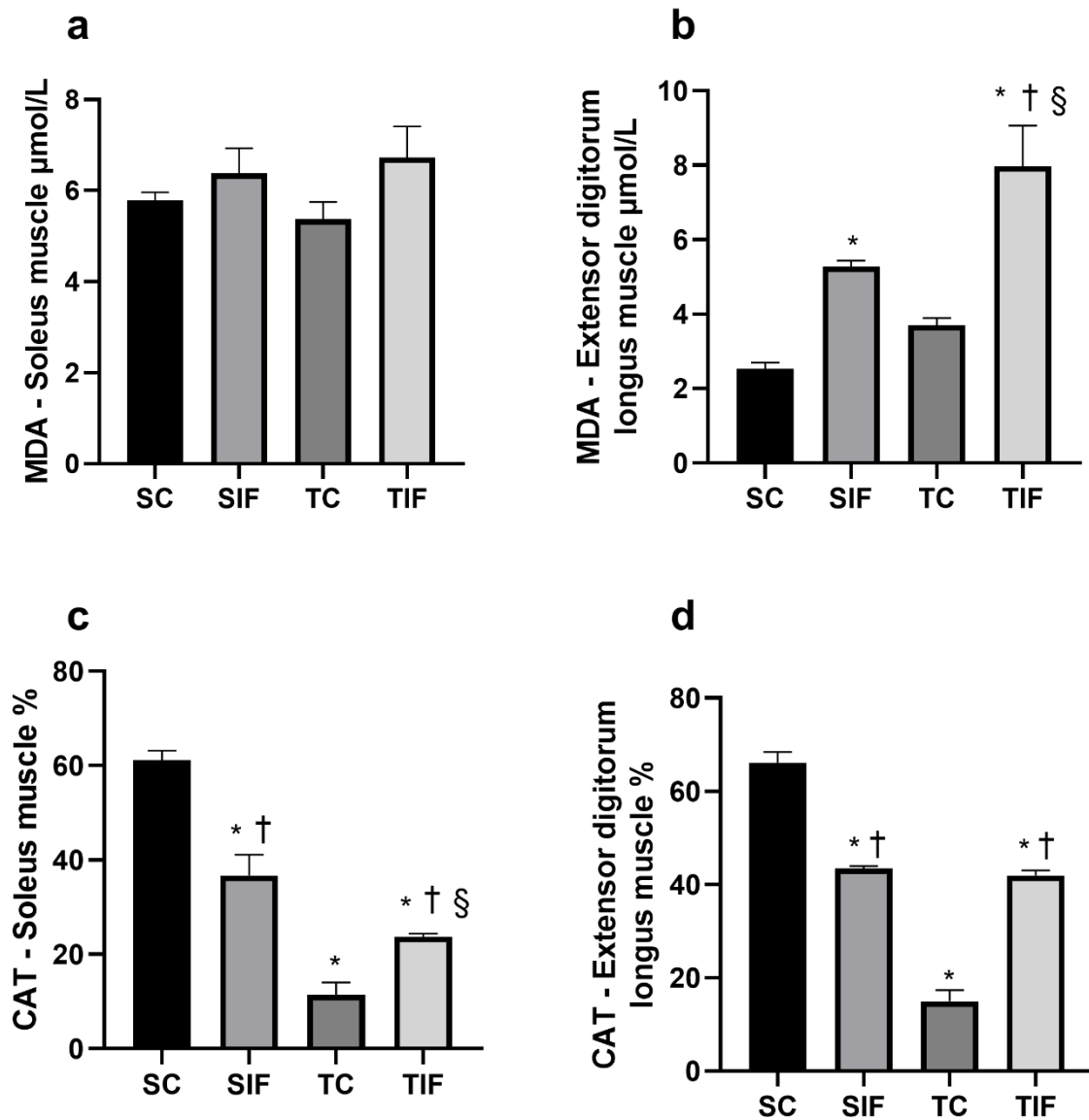


Fig.2. Malondialdehyde in soleus muscle (a), malondialdehyde in extensor digitorum longus muscle (b), total antioxidant capacity in soleus muscle (c), total antioxidant capacity in extensor digitorum longus muscle (d) of rats submitted or not to intermittent fasting and aerobic training. SC=sedentary control (n = 10); TC=trained control (n = 10); SIF=sedentary intermittent fasting (n = 10); TIF=trained intermittent fasting (n = 10). * = significant difference compared to the SC group; † = significant difference compared to the TC group; § = significant difference compared to the SIF group (One-way ANOVA, $p \leq 0.05$).

Muscle damage and acute phase response biomarkers

About the muscle damage, CK value was similar among all groups ($p>0.05$) (Fig. 3a). A higher LDH value was seen in TC group compared to other groups ($p\leq 0.05$) (Fig 3b). TC and TIF showed lower CRP compared to control ($p\leq 0.05$) (Fig 3c), however, AGP was similar among all groups $p>0.05$) (Fig. 3 d).

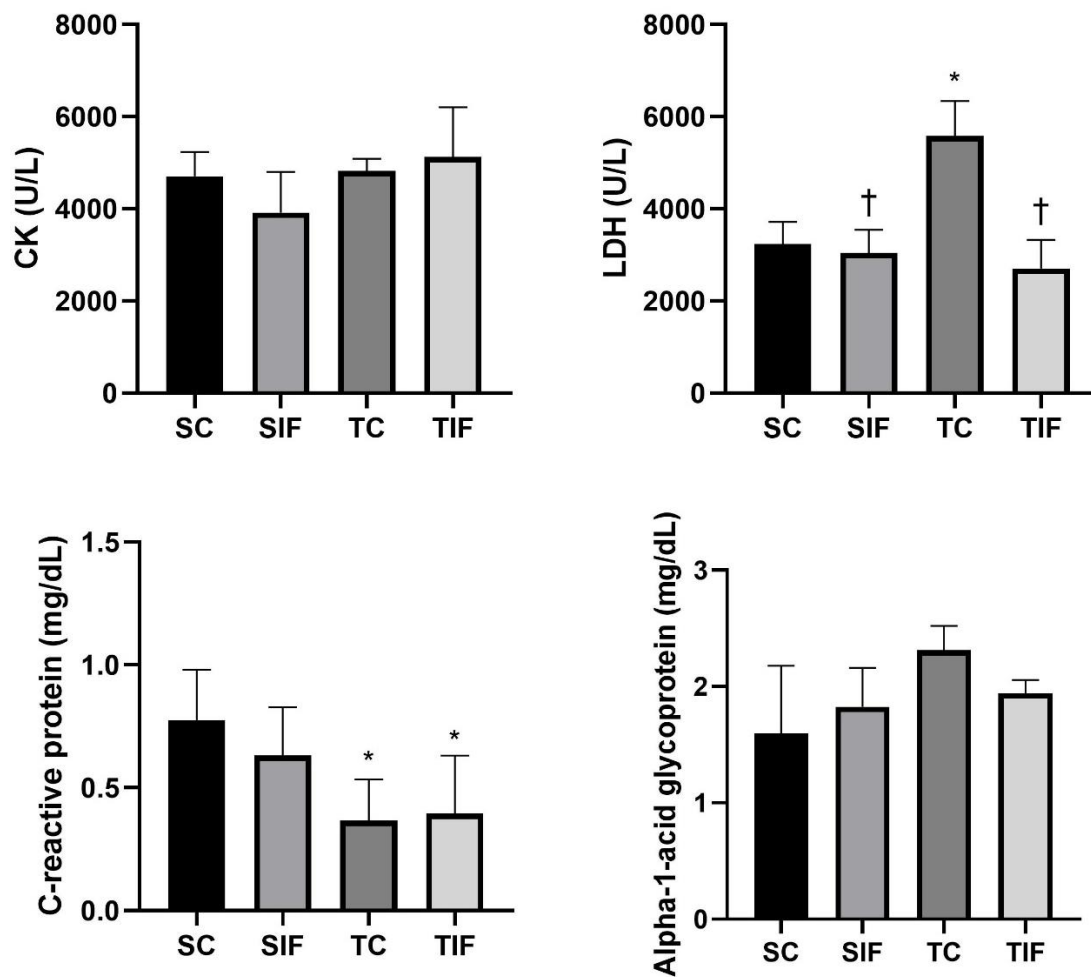


Fig. 3. Creatine kinase (a), lactate dehydrogenase (b), C-reactive protein (c) and alpha-1-acid glycoprotein (d) of rats submitted or not to intermittent fasting and aerobic training. SC=sedentary control (n = 10); TC=trained control (n = 10); SIF=sedentary intermittent fasting (n = 10); TIF=trained intermittent fasting (n = 10). * = significant difference compared to the SC group; † = significant difference compared to the TC group; (One-way ANOVA, $p \leq 0.05$).

Muscle histology

We observed muscle fibres from both muscles in the SC group with preservation of the sarcomeres and muscle fascia (Fig 4a and 4e). In the SIF group, fragmentation of the cytoplasm of these cells (clear space in the cytoplasm) is observed, referring to the loss of contractile proteins (↘) (Fig 4b and 4f). On TC, the presence of large, preserved sarcomeres with apparent hypertrophy is observed (Fig 4c and 4g). In TIF, there is an apparent decrease in the size of the sarcomeres (↘) with areas of tissue loss and inflammatory processes (*) (Fig 4d and 4h). Intermittent fasting with (TIF) or without (SIF) exercise reduced the area of muscle fibres in the soleus (Fig 4I) and EDL (Fig. 4J) muscles compared to controls ($p \leq 0.05$)

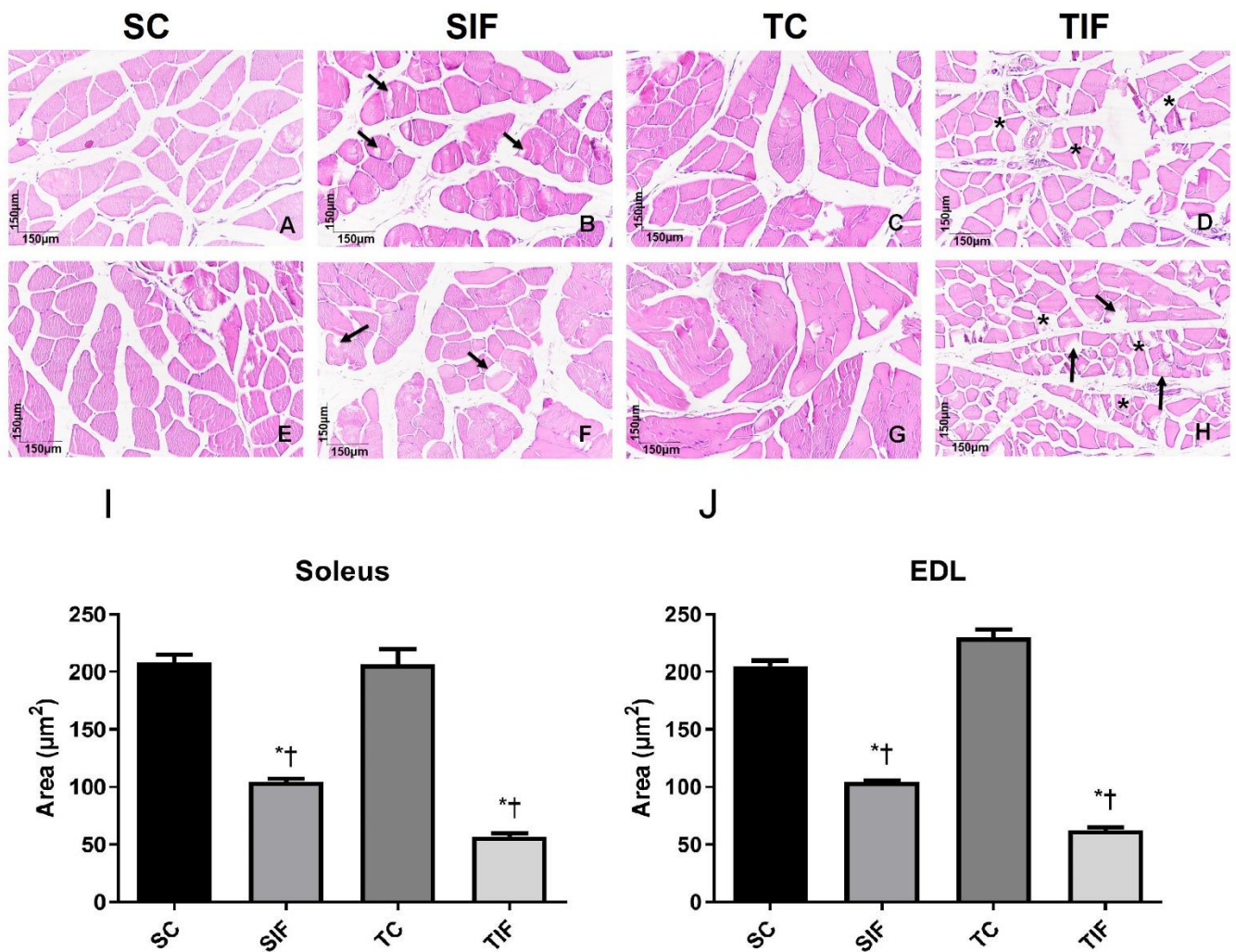


Fig. 4. Histology of the soleus (A-D) and extensor digitorum longus muscles – EDL (E-H) stained with H&E rats submitted or not to intermittent fasting and aerobic training. A= soleus group SC; B= soleus SIF group; C= soleus TC group; D= soleus of the TIF group; E=extensor digitorum longus SC group; F= long finger extensor SIF group; G=extensor digitorum longus TC group; H=Extensor digitorum longus TIF group; I= muscle fibre area of soleus muscle; J= muscle fibre area of EDL muscle * = significant difference compared to the SC group; † = significant difference compared to the TC group (One-way ANOVA, $p \leq 0.05$). Histology legend: ✂ = fragmentation of the cytoplasm/decrease sarcomeres; * = inflammatory processes on muscle histology.

Discussion

Our study demonstrated that IF in sedentary rats (SIF) increased leptin and reduced the percentage of fat mass, serum triglycerides, metabolic load and cardiovascular risk indices, in addition to decreasing the antioxidant capacity of the soleus and EDL muscles in comparison to control group. Furthermore, the IF was not able to improve lipid peroxidation or glucose and insulin tolerance in sedentary rats (SIF) and caused a loss of contractile muscle proteins when compared to the control. On the other hand, the combination of IF and aerobic exercise (TIF group) was able to reduce lean mass, HOMA-IR, LDL and increase lipid peroxidation in the EDL muscle, without affecting performance when compared to TC. However, IF regardless of whether or not associated with exercise, caused damage to the soleus and EDL muscle tissues, including a reduction in the area of muscle fibers in TIF and SIF.

TIF group showed weight loss ($-9g \pm 11.4g$) considering the four weeks of the protocol compared to the SC, SIF, and TC groups, the greatest weight loss being observed in the first week of the protocol. This result may be associated with the reduction of lean mass observed in this same group, in addition to a greater energy expenditure induced by exercise (HUANG et al., 2010), since in longer fasting periods, there is a greater use of muscle-derived amino acids such as gluconeogenic precursors (CAHILL, 2006b).

Reduced levels of glucose and circulating amino acids during fasting may contribute to the reduced activity of the protein synthesis pathway, the mTOR pathway,

which is important for hypertrophy and upregulation of autophagy (DE CABO; MATTSON, 2019), and such a mechanism may compromise the maintenance of lean body mass. In mice, the combination of intermittent fasting and high-intensity interval exercise was able to decrease weight gain even with consumption of a high-calorie, high-fat diet. Our results may also be a reflection of the physiological and biochemical changes generated from the negative energy balance after periods of fasting (WILSON et al., 2018b).

In our study, only the TIF group had lower insulin concentrations and HOMA-IR, demonstrating that exercise and intermittent fasting can reduce concentrations of free fatty acids present in the liver, containing natural glucose production, decreasing insulin resistance (SINDELAR et al., 1997; ZHANG et al., 2021). Fasting (SIF) alone or associated with aerobic exercise (TIF) was not able to promote improvements in glucose or insulin tolerance which may also be related to the fact that the rats are healthy. Previous studies showed that IF protocols produce very consistent reductions in insulin resistance in overweight and obese individuals (ST-ONGE et al., 2017), as well as aerobic exercise helps to minimize insulin resistance in humans and obese rodents (JEUKENDRUP, 2003; VOGT et al., 2021), as well as also in healthy rodents (BRONCZEK et al., 2021).

Several biochemical parameters help in the analysis of risk factors and health status, in this sense, the groups subjected to fasting (SIF and TIF) had lower TG concentrations compared to SC with a reduction of up to 34%. During fasting, triglycerides are metabolized to fatty acids and glycerol, which are later used as an energy source for many tissues such as the brain and indeed, previous studies have shown a reduction of between 14%-42% in TG in intermittent fasting protocols in alternate days (ST-ONGE et al., 2017; VARADY et al., 2013). It is important to highlight that in our study, the practice of isolated aerobic exercise was not able to reduce serum TG.

Our results demonstrated that only the combination of exercise and fasting (TIF group) was able to reduce the concentrations of the LDL without, however, increasing HDL. Despite previous studies demonstrating that fasting on alternate days tends to increase HDL and reduce LDL in healthy and obese humans (STEKOVIC et al., 2019; TINSLEY; LA BOUNTY, 2015), and the same effects in obese rodents with protocols

with time restriction and fasting on alternate days (OLSEN et al., 2017; WILSON et al., 2018b).

In turn, the TIF group showed lower 43% - 48% LDL concentrations compared to SIF and TC rats. This mechanism may be related to the decrease in apolipoprotein B (apoB), precursor of LDL and the increase in fatty acid oxidation in the liver that occurs during fasting (ADLOUNI et al., 1998; HAMMOUDA et al., 2013), associate to the effects of physical exercise on the activities of enzymes such as lipoprotein lipase (LPL) and hepatic triglyceride lipase (HTGL) related to the synthesis, transport and catabolism of lipoproteins such as LDL (MUSCELLA; STEFÀNO; MARSIGLIANTE, 2020).

Routine physical exercise is able to generate physiological adaptations necessary to ensure better physical performance (NAHARUDIN; YUSOF, 2018b), a fact observed among our trained groups (TC and TIF) when they improved performance in the test at the end of the experiment compared to the initial test. Our results are different from those found by CAVALCANTE et al., (2021), who observed a decrease in performance in resistance training in rats after a 6-week fasting and exercise protocol. We can understand such an effect due to the fact that regular physical training is an effective strategy to increase resistance to fatigue and exercise performance, and many of these reactions are mediated by changes in metabolism and muscle morphology (HARGREAVES; SPRIET, 2020).

This is the first study that associates performance with oxidative and muscle damage markers and histological analysis in muscles in face of the fasting combined with aerobic exercise. The presence of muscle injuries and inflammatory processes in SIF and TIF groups may be due to oxidative metabolism, generating a mitochondrial injury, or may even be indicative of a myopathic condition, unlike what was observed in TC, which have muscle fibres preserved in both muscles. Despite physical exercise alone being able to cause muscle injuries, modifying the structures of muscle fibres and causing an inflammatory response (FERRARO et al., 2014), we did not observe these changes in the TC group, in contrast to the TIF, in which the IF associated with aerobic exercise caused a decrease in the size of sarcomeres with areas of tissue loss and inflammatory processes and reduction in the area of the soleus and EDL muscle fibers. Previous study showed that the combination of IF with resistance exercise can also cause atrophy in the soleus muscle (DAS NEVES et al., 2018).

It is reported that prolonged physical exercise can generate an increase in reactive oxygen species (ROS), resulting in oxidative stress (RADAK et al., 2019), such processes may be related to a chronic increased secretion of pro-inflammatory cytokines (IL -1 β , TNF- α) and pro-oxidant, agents Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator (PGC-1 α) (BAE et al., 2021; SUZUKI et al., 2020)

Fasting regardless of whether or not associated with exercise (SIF and TIF groups) increased lipid peroxidation in the EDL muscle, however IF alone in sedentary rats (SIF) reduced CAT in both muscles. On the other hand, the combination of IF and exercise was able to increase CAT in both muscles, indicating synergism between these factors. Thus, it is possible that the fasting and training protocol may also affect the general redox state with a modulation in oxidative stress markers, which may generate an additive or synergistic effect (REAL-HOHN et al., 2018b). It should also be noted that the EDL muscle has its glycolytic characteristic, glycolytic muscles are more susceptible to catabolic wear than oxidative ones (BECHARA et al., 2014).

Our study corroborates the study by DANNECKER et al., (2013) which requires that fasting does not affect muscle damage, since the CK and LDH values in the groups that fasted with or without training did not change. However, this topic still needs further studies to conclude the effects of fasting and exercise on muscle damage markers (HARTY et al., 2019). Only the trained groups showed lower CPR values compared to the control group, in other studies, IF was able to decrease CRP values (AKSUNGAR; TOPKAYA; AKYILDIZ, 2007). It is also important to highlight that the concentration of AGP was similar among the groups, corroborating the findings that, in humans, AGP levels are also associated with greater BMI, body fat mass, serum leptin and fasting plasma glucose level (ALFADDA et al., 2012), and also poor nutritional status is strongly linked to high levels of AGP (AGRA et al., 2018; MARAJ et al., 2021).

As limitations of the study, we can consider the inclusion of a group with high intensity of exercise to identify whether the few alterations observed in muscle wasting (CK and LDH) and in the acute phase markers (CRP and AGP) would be related to the intensity of training. It would also be important to consider in future studies the analysis of specific signaling pathways such as inflammatory cytokine pathways such as IL-6, TNF-alpha and anti-stress responses such as Nuclear respiratory factor 1 (Nrf)-1 and

Mammalian target of rapamycin (mTOR) to evaluate the effects of fasting after performing aerobic exercise (FARIS et al., 2012; LONGO; CORTELLINO, 2020).

The results of FI combined with exercise in healthy rats shown indicate that, although there was a loss of muscle mass and an increase in lipid peroxidation in the EDL muscle, this did not compromise physical performance and did not increase the levels of acute inflammation (CRP and AAG) and nor serum muscle damage markers (CK, LDH), although inflammatory processes reduction in muscle fibre area were observed by histological analyzes in the fasted groups. Although these processes are harmful to metabolism, it is possible that the time of intervention and the metabolic arrangements are decisive in not demonstrating a decrease in performance. More studies are needed to elucidate the adaptation mechanisms of IF and aerobic exercise in healthy rodents.

Author Contributions

V.A.D.M., N.L.S., and J.S.A.: Conceptualization; Data curation; Methodology; Validation; Visualization; Writing- Original draft preparation; and Editing. V.A.D.M., N.L.S., and K.S.B.: Validation and Investigation. V.A.D.M., N.L.S., A.D´A.S.A., M.D.R., E.J.B.A.F., M.M.N., G.C.O., A.F.A., and A.S.S.: Data curation; Formal analysis. V.A.D.M., N.L.S., A.S.S. and J.S.A: Writing- Reviewing. JSA: Project administration and Supervision

Funding

This work was supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (grant number 001) for a scholarship awarded to V.A.D.M., N.L.S., M.D.R. and KS.B. by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (grant number 312620/2021-7) for a scholarship awarded to J.S.A.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest to declare.

Acknowledgements

The authors express they're thanks to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES (grant number 001) for granting the scholarship to V.A.D.M., N.L.S., M.D.R., K.S.B, to the Post Graduate Program in Nutritional Sciences and to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (grant number 312620/2021-7) for granting the scholarship to J.S.A. The authors thank Christopher Quinn for the English revision.

References

- ADLOUNI, A. et al. Beneficial effect on serum apo A1, apo B and Lp AI levels of Ramadan fasting. **Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry**, v. 271, n. 2, p. 179–189, 23 mar. 1998.
- AGRA, R. M. et al. Nutrients restriction upregulates adiponectin in epicardial or subcutaneous adipose tissue: impact in de novo heart failure patients. **International Journal of Medical Sciences**, v. 15, n. 5, p. 417–424, 12 fev. 2018.
- AIRD, T. P.; DAVIES, R. W.; CARSON, B. P. Effects of fasted vs fed-state exercise on performance and post-exercise metabolism: A systematic review and meta-analysis. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 28, n. 5, p. 1476–1493, maio 2018.
- AKSUNGAR, F. B.; TOPKAYA, A. E.; AKYILDIZ, M. Interleukin-6, C-reactive protein and biochemical parameters during prolonged intermittent fasting. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 51, n. 1, p. 88–95, 2007.
- ALFADDA, A. A. et al. Orosomucoid Serum Concentrations and Fat Depot-Specific mRNA and Protein Expression in Humans. **Molecules and Cells**, v. 33, n. 1, p. 35–41, 31 jan. 2012.
- AL-NAWASEH, A. M. et al. Time-Restricted Feeding and Aerobic Performance in Elite Runners: Ramadan Fasting as a Model. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, p. 718936, 21 set. 2021.
- ALLOUI, A. et al. Effects of Ramadan fasting on body composition in athletes: a systematic review. **La Tunisie Medicale**, v. 97, n. 10, p. 1087–1094, out. 2019.
- ALSUBHEEN, S. A. et al. The effects of diurnal Ramadan fasting on energy expenditure and substrate oxidation in healthy men. **The British Journal of Nutrition**, v. 118, n. 12, p. 1023–1030, dez. 2017.
- ANDRIKOPOULOS, S. et al. Evaluating the glucose tolerance test in mice. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 295, n. 6, p. E1323-1332, dez. 2008.

ANSON, R. M.; JONES, B.; DE CABOD, R. The diet restriction paradigm: a brief review of the effects of every-other-day feeding. **Age**, v. 27, n. 1, p. 17–25, mar. 2005.

AOUICHAT, S. et al. Time-Restricted Feeding Improves Body Weight Gain, Lipid Profiles, and Atherogenic Indices in Cafeteria-Diet-Fed Rats: Role of Browning of Inguinal White Adipose Tissue. **Nutrients**, v. 12, n. 8, p. 2185, 23 jul. 2020.

AZIZ, A. R. et al. Poorer Intermittent Sprints Performance in Ramadan-Fasted Muslim Footballers despite Controlling for Pre-Exercise Dietary Intake, Sleep and Training Load. **Sports**, v. 5, n. 1, p. 4, 6 jan. 2017.

BAE, J. H. et al. Effects of exercise on AKT/PGC1- α /FOXO3a pathway and muscle atrophy in cisplatin-administered rat skeletal muscle. **The Korean Journal of Physiology & Pharmacology : Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology**, v. 25, n. 6, p. 585–592, 1 nov. 2021.

BECHARA, L. R. G. et al. NADPH oxidase hyperactivity induces plantaris atrophy in heart failure rats. **International Journal of Cardiology**, v. 175, n. 3, p. 499–507, 20 ago. 2014.

BELKACEMI, L. et al. Intermittent Fasting Modulation of the Diabetic Syndrome in Streptozotocin-Injected Rats. **International Journal of Endocrinology**, v. 2012, p. 1–12, 2012a.

BELKACEMI, L. et al. Intermittent fasting modulation of the diabetic syndrome in streptozotocin-injected rats. **International Journal of Endocrinology**, v. 2012, p. 962012, 2012b.

BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between “Lee index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **The Journal of Endocrinology**, v. 40, n. 4, p. 527–528, abr. 1968.

BRANDHORST, S. et al. A Periodic Diet that Mimics Fasting Promotes Multi-System Regeneration, Enhanced Cognitive Performance, and Healthspan. **Cell Metabolism**, v. 22, n. 1, p. 86–99, jul. 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1 jan. 1995.

BRISSWALTER, J. et al. Effects of Ramadan intermittent fasting on middle-distance running performance in well-trained runners. **Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine**, v. 21, n. 5, p. 422–427, set. 2011.

BRONCZEK, G. A. et al. Resistance exercise training improves glucose homeostasis by enhancing insulin secretion in C57BL/6 mice. **Scientific Reports**, v. 11, p. 8574, 21 abr. 2021.

BURKE, L. M. et al. Nutrition for distance events. **Journal of Sports Sciences**, v. 25 Suppl 1, p. S29-38, 2007.

CAHILL, G. F. Fuel metabolism in starvation. **Annual Review of Nutrition**, v. 26, p. 1–22, 2006a.

CAHILL, G. F. Fuel metabolism in starvation. **Annual Review of Nutrition**, v. 26, p. 1–22, 2006b.

CÂMARA, L. C.; BASTOS, C. C.; VOLPE, E. F. T. Exercício resistido em idosos frágeis: uma revisão da literatura. **Fisioterapia em Movimento**, v. 25, p. 435–443, jun. 2012.

CARTER, S.; CLIFTON, P. M.; KEOGH, J. B. The effects of intermittent compared to continuous energy restriction on glycaemic control in type 2 diabetes; a pragmatic pilot trial. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 122, p. 106–112, dez. 2016.

CARVALHO, J. F.; MASUDA, M. O.; POMPEU, F. A. M. S. Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate threshold. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology**, v. 140, n. 4, p. 409–413, abr. 2005.

CATTERSON, J. H. et al. Short-Term, Intermittent Fasting Induces Long-Lasting Gut Health and TOR-Independent Lifespan Extension. **Current Biology**, v. 28, n. 11, p. 1714- 1724.e4, 2018a.

CATTERSON, J. H. et al. Short-Term, Intermittent Fasting Induces Long-Lasting Gut Health and TOR-Independent Lifespan Extension. **Current Biology**, v. 28, n. 11, p. 1714- 1724.e4, 4 jun. 2018b.

CAVALCANTE, L. P. et al. Intermittent fasting compromises the performance of eutrophic rats submitted to resistance training. **Nutrition**, v. 86, p. 111187, 1 jun. 2021.

CERQUEIRA, F. M. et al. Long-term intermittent feeding, but not caloric restriction, leads to redox imbalance, insulin receptor nitration, and glucose intolerance. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, n. 7, p. 1454–1460, 1 out. 2011.

CHAOUACHI, A. et al. Effects of Ramadan intermittent fasting on sports performance and training: a review. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 4, n. 4, p. 419–434, dez. 2009.

CHAUSSE, B. et al. Intermittent Fasting Results in Tissue-Specific Changes in Bioenergetics and Redox State. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0120413, 6 mar. 2015.

CHEN, C. (JOYCE) et al. Late-onset caloric restriction alters skeletal muscle metabolism by modulating pyruvate metabolism. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 308, n. 11, p. E942–E949, jun. 2015.

CHEN, Y.-C. et al. Feeding influences adipose tissue responses to exercise in overweight men. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 313, n. 1, p. E84–E93, 1 jul. 2017.

CHENG, C.-W. et al. Fasting-Mimicking Diet Promotes Ngn3-Driven β -Cell Regeneration to Reverse Diabetes. **Cell**, v. 168, n. 5, p. 775- 788.e12, fev. 2017.

CHOW, L. S. et al. Time Restricted Eating Effects On Body Composition and Metabolic Measures in Humans who are Overweight: A Feasibility Study. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 28, n. 5, p. 860–869, maio 2020.

CIGNARELLA, F. et al. Clinical and Translational Report Intermittent Fasting Confers Protection in CNS Autoimmunity by Altering the Gut Microbiota Clinical and Translational Report Intermittent Fasting Confers Protection in CNS Autoimmunity by Altering the Gut Microbiota. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 6, p. 1222- 1235.e6, 2018.

DANNECKER, E. A. et al. The Effect of Fasting on Indicators of Muscle Damage. **Experimental gerontology**, v. 48, n. 10, p. 1101–1106, out. 2013.

DAS NEVES, W. et al. Fasting: a major limitation for resistance exercise training effects in rodents. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n. 1, p. e5427, 2018.

DE BOCK, K. et al. Exercise in the fasted state facilitates fibre type-specific intramyocellular lipid breakdown and stimulates glycogen resynthesis in humans. **The Journal of Physiology**, v. 564, n. Pt 2, p. 649–660, 15 abr. 2005.

DE CABO, R.; MATTSON, M. P. Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 381, n. 26, p. 2541–2551, 26 dez. 2019.

DE LA ROSA, A. et al. Physical exercise in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. **Journal of Sport and Health Science**, v. 9, n. 5, p. 394–404, set. 2020.

DOMASZEWSKI, P. et al. Effect of a Six-Week Intermittent Fasting Intervention Program on the Composition of the Human Body in Women over 60 Years of Age. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 11, p. 4138, 10 jun. 2020.

EMERSON, S. R. et al. Summation of blood glucose and TAG to characterise the “metabolic load index”. **The British Journal of Nutrition**, v. 116, n. 9, p. 1553–1563, nov. 2016.

EREJUWA, O. O. et al. Nigerian Honey Ameliorates Hyperglycemia and Dyslipidemia in Alloxan-Induced Diabetic Rats. **Nutrients**, v. 8, n. 3, p. 95, 24 fev. 2016.

FARIS, M. A.-I. E. et al. Intermittent fasting during Ramadan attenuates proinflammatory cytokines and immune cells in healthy subjects. **Nutrition Research (New York, N.Y.)**, v. 32, n. 12, p. 947–955, dez. 2012.

FERGUSON, B. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription 9th Ed. 2014. **The Journal of the Canadian Chiropractic Association**, v. 58, n. 3, p. 328, set. 2014.

FERGUSON, L. M. et al. Effects of caloric restriction and overnight fasting on cycling endurance performance. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 23, n. 2, p. 560–570, mar. 2009.

FERNANDO, H. A. et al. Effect of Ramadan Fasting on Weight and Body Composition in Healthy Non-Athlete Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 478, 24 fev. 2019.

FERRARO, E. et al. Exercise-Induced Skeletal Muscle Remodeling and Metabolic Adaptation: Redox Signaling and Role of Autophagy. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 21, n. 1, p. 154–176, 1 jul. 2014.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, maio 1957.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499–502, jun. 1972.

GABEL, K. et al. Effects of 8-hour time restricted feeding on body weight and metabolic disease risk factors in obese adults: A pilot study. **Nutrition and Healthy Aging**, v. 4, n. 4, p. 345–353, [s.d.].

GNANOU, J. V. et al. Effects of Ramadan fasting on glucose homeostasis and adiponectin levels in healthy adult males. **Journal of Diabetes and Metabolic Disorders**, v. 14, p. 55, 7 jul. 2015.

GOLDSTEIN, I.; HAGER, G. L. Transcriptional and chromatin regulation during fasting – The genomic era. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 26, n. 12, p. 699–710, dez. 2015.

GOMES, M. J. et al. Beneficial Effects of Physical Exercise on Functional Capacity and Skeletal Muscle Oxidative Stress in Rats with Aortic Stenosis-Induced Heart Failure. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 8695716, 2016.

GOTTHARDT, J. D. et al. Intermittent fasting promotes fat loss with lean mass retention, increased hypothalamic norepinephrine content, and increased neuro peptide Y gene expression in diet-induced obese male mice. **Endocrinology**, v. 157, n. 2, p. 679–691, 2016.

HAJEK, P. et al. Weight change during and after Ramadan fasting. **Journal of Public Health (Oxford, England)**, v. 34, n. 3, p. 377–381, ago. 2012.

HAMMOUDA, O. et al. Concomitant Effects of Ramadan Fasting and Time-Of-Day on Apolipoprotein AI, B, Lp-a and Homocysteine Responses during Aerobic Exercise in Tunisian Soccer Players. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. e79873, 11 nov. 2013.

HARGREAVES, M.; SPRIET, L. L. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. **Nature Metabolism**, v. 2, n. 9, p. 817–828, set. 2020.

HARTY, P. S. et al. Nutritional and Supplementation Strategies to Prevent and Attenuate Exercise-Induced Muscle Damage: a Brief Review. **Sports Medicine - Open**, v. 5, p. 1, 7 jan. 2019.

HE, S. et al. Intermittent Versus Continuous Energy Restriction for Weight Loss and Metabolic Improvement: A Meta-Analysis and Systematic Review. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 29, n. 1, p. 108–115, jan. 2021.

HEILBRONN, L. K. et al. Alternate-day fasting in nonobese subjects: effects on body weight, body composition, and energy metabolism. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 69–73, jan. 2005.

HODDY, K. K. et al. Intermittent Fasting and Metabolic Health: From Religious Fast to Time-Restricted Feeding. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 28, n. Suppl 1, p. S29–S37, jul. 2020.

HOROWITZ, J. F. Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 14, n. 8, p. 386–392, out. 2003.

HUANG, P. et al. Calorie restriction and endurance exercise share potent anti-inflammatory function in adipose tissues in ameliorating diet-induced obesity and insulin resistance in mice. **Nutrition & Metabolism**, v. 7, p. 59, 16 jul. 2010.

JAMSHED, H. et al. Early Time-Restricted Feeding Improves 24-Hour Glucose Levels and Affects Markers of the Circadian Clock, Aging, and Autophagy in Humans. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1234, 30 maio 2019a.

JAMSHED, H. et al. Early Time-Restricted Feeding Improves 24-Hour Glucose Levels and Affects Markers of the Circadian Clock, Aging, and Autophagy in Humans. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1234, 30 maio 2019b.

JEUKENDRUP, A. E. Modulation of carbohydrate and fat utilization by diet, exercise and environment. **Biochemical Society Transactions**, v. 31, n. Pt 6, p. 1270–1273, dez. 2003.

KIM, R. Y. et al. Assessment of the Metabolic Effects of Isocaloric 2:1 Intermittent Fasting in Mice. **Journal of Visualized Experiments: JoVE**, n. 153, 27 nov. 2019.

KOTARSKY, C. J. et al. Time-restricted eating and concurrent exercise training reduces fat mass and increases lean mass in overweight and obese adults. **Physiological Reports**, v. 9, n. 10, p. e14868, 27 maio 2021.

LATIMER, G. W. **Official methods of analysis of AOAC International**. 19th ed ed. Gaithersburg, Md.: AOAC International, 2012.

LAVALLEE, C. M. et al. The Role of Intermittent Fasting in the Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Narrative Review. **Nutrients**, v. 14, n. 21, p. 4655, 3 nov. 2022.

LESSAN, N.; ALI, T. Energy Metabolism and Intermittent Fasting: The Ramadan Perspective. **Nutrients**, v. 11, n. 5, p. 1192, 27 maio 2019.

LEVY, E.; CHU, T. Intermittent Fasting and Its Effects on Athletic Performance: A Review. **Current Sports Medicine Reports**, v. 18, n. 7, p. 266–269, jul. 2019.

LI, G. et al. Intermittent Fasting Promotes White Adipose Browning and Decreases Obesity by Shaping the Gut Microbiota Intermittent Fasting Promotes White Adipose Browning and Decreases Obesity by Shaping the Gut Microbiota. **Cell Metabolism**, v. 26, n. 4, p. 672- 685.e4, 2017.

LI, L.; WANG, Z.; ZUO, Z. Chronic Intermittent Fasting Improves Cognitive Functions and Brain Structures in Mice. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, 2013.

LIANG, B.-J. et al. Intermittent fasting therapy promotes insulin sensitivity by inhibiting NLRP3 inflammasome in rat model. **Annals of Palliative Medicine**, v. 10, n. 5, p. 5299309–5295309, maio 2021.

LIRA, F. S. et al. Inflammation and adipose tissue: effects of progressive load training in rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 9, n. 1, p. 109, 4 out. 2010.

LONGO, V. D.; CORTELLINO, S. Fasting, dietary restriction, and immunosenescence. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 146, n. 5, p. 1002–1004, nov. 2020.

M. CORREIA, J. et al. Effects of Intermittent Fasting on Specific Exercise Performance Outcomes: A Systematic Review Including Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1390, 12 maio 2020.

MALINOWSKI, B. et al. Intermittent Fasting in Cardiovascular Disorders—An Overview. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 673, 20 mar. 2019.

MANKHONG, S. et al. Effects of Aerobic Exercise on Tau and Related Proteins in Rats with the Middle Cerebral Artery Occlusion. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 16, p. 5842, 14 ago. 2020.

MARAJ, M. et al. α 1-Acid Glycoprotein and Dietary Intake in End-Stage Renal Disease Patients. **Nutrients**, v. 13, n. 11, p. 3671, 20 out. 2021.

MARTIN, B.; MATTSON, M. P.; MAUDSLEY, S. Caloric restriction and intermittent fasting: Two potential diets for successful brain aging. **Ageing research reviews**, v. 5, n. 3, p. 332–353, ago. 2006.

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, jul. 1985.

MATTSON, M. P.; LONGO, V. D.; HARVIE, M. Impact of intermittent fasting on health and disease processes. **Ageing Research Reviews**, v. 39, p. 46–58, 2017a.

MATTSON, M. P.; LONGO, V. D.; HARVIE, M. Impact of intermittent fasting on health and disease processes. **Ageing research reviews**, v. 39, p. 46–58, out. 2017b.

MENG, H. et al. Effects of intermittent fasting and energy-restricted diets on lipid profile: A systematic review and meta-analysis. **Nutrition**, v. 77, p. 110801, set. 2020.

MORAES, R. C. M. DE et al. Effects of intermittent fasting and chronic swimming exercise on body composition and lipid metabolism. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 42, n. 12, p. 1341–1346, dez. 2017.

MORO, T. et al. Effects of eight weeks of time-restricted feeding (16/8) on basal metabolism, maximal strength, body composition, inflammation, and cardiovascular risk factors in resistance-trained males. **Journal of Translational Medicine**, v. 14, p. 290, 13 out. 2016.

MUJIK, I. Intense training: the key to optimal performance before and during the taper. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 20 Suppl 2, p. 24–31, out. 2010.

MUSCELLA, A.; STEFÀNO, E.; MARSIGLIANTE, S. The effects of exercise training on lipid metabolism and coronary heart disease. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 319, n. 1, p. H76–H88, jul. 2020.

MUTHU, K.; KRISHNAMOORTHY, P. Evaluation of androgenic activity of *Mucuna pruriens* in male rats. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 66, p. 15017–15019, 2011.

NAHARUDIN, M. N. BIN; YUSOF, A. The effect of 10 days of intermittent fasting on Wingate anaerobic power and prolonged high-intensity time-to-exhaustion cycling performance. **European Journal of Sport Science**, v. 18, n. 5, p. 667–676, 2018a.

NAHARUDIN, M. N. B.; YUSOF, A. The effect of 10 days of intermittent fasting on Wingate anaerobic power and prolonged high-intensity time-to-exhaustion cycling performance. **European Journal of Sport Science**, v. 18, n. 5, p. 667–676, jun. 2018b.

NOVELLI, E. L. B. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v. 41, n. 1, p. 111–119, jan. 2007.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, jun. 1979.

OLSEN, M. K. et al. Time-restricted feeding on weekdays restricts weight gain: A study using rat models of high-fat diet-induced obesity. **Physiology & Behavior**, v. 173, p. 298–304, 1 maio 2017.

ONYWERA, V. O. et al. Food and Macronutrient Intake of Elite Kenyan Distance Runners. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 14, n. 6, p. 709–719, dez. 2004.

PARK, J. et al. Effect of alternate-day fasting on obesity and cardiometabolic risk: A systematic review and meta-analysis. **Metabolism**, v. 111, p. 154336, out. 2020.

PARK, S. et al. Intermittent fasting reduces body fat but exacerbates hepatic insulin resistance in young rats regardless of high protein and fat diets. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 40, p. 14–22, 2017.

PATTERSON, R. E. et al. Intermittent Fasting and Human Metabolic Health. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 115, n. 8, p. 1203–1212, 2015.

PATTERSON, R. E.; SEARS, D. D. Metabolic Effects of Intermittent Fasting. **Annual Review of Nutrition**, v. 37, p. 371–393, 21 ago. 2017.

PERCIE DU SERT, N. et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. **PLOS Biology**, v. 18, n. 7, p. e3000410, 14 jul. 2020.

PINTO, P. R. et al. Exercise Training Favorably Modulates Gene and Protein Expression That Regulate Arterial Cholesterol Content in CETP Transgenic Mice. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 502, 8 maio 2018.

POWERS, S. K. et al. Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe? **Journal of Sport and Health Science**, v. 9, n. 5, p. 415, set. 2020.

PRATA, L. O. et al. Original Research: ACE2 activator associated with physical exercise potentiates the reduction of pulmonary fibrosis. **Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)**, v. 242, n. 1, p. 8–21, jan. 2017.

RADAK, Z. et al. Exercise effects on physiological function during aging. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 132, p. 33–41, 20 fev. 2019.

REAL-HOHN, A. et al. The synergism of high-intensity intermittent exercise and every-other-day intermittent fasting regimen on energy metabolism adaptations includes hexokinase activity and mitochondrial efficiency. **PLoS ONE**, v. 13, n. 12, p. e0202784, 21 dez. 2018a.

REAL-HOHN, A. et al. The synergism of high-intensity intermittent exercise and every-other-day intermittent fasting regimen on energy metabolism adaptations includes hexokinase activity and mitochondrial efficiency. **PLoS ONE**, v. 13, n. 12, p. e0202784, 21 dez. 2018b.

RODRÍGUEZ-BIES, E. et al. Muscle Physiology Changes Induced by Every Other Day Feeding and Endurance Exercise in Mice: Effects on Physical Performance. **PLoS ONE**, v. 5, n. 11, p. e13900, 9 nov. 2010.

ROY, A. S.; BANDYOPADHYAY, A. Effect of Ramadan intermittent fasting on selective fitness profile parameters in young untrained Muslim men. **BMJ Open Sport — Exercise Medicine**, v. 1, n. 1, p. e000020, 30 set. 2015.

SINDELAR, D. K. et al. The role of fatty acids in mediating the effects of peripheral insulin on hepatic glucose production in the conscious dog. **Diabetes**, v. 46, n. 2, p. 187–196, fev. 1997.

SINGH, R. et al. Middle age onset short-term intermittent fasting dietary restriction prevents brain function impairments in male Wistar rats. **Biogerontology**, v. 16, n. 6, p. 775–788, 2015.

SMITH, N. J. G. et al. A Comparison of Dietary and Caloric Restriction Models on Body Composition, Physical Performance, and Metabolic Health in Young Mice. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 350, 7 fev. 2019.

SMYERS, M. E. et al. Enhanced weight and fat loss from long-term intermittent fasting in obesity-prone, low-fitness rats. **Physiology and Behavior**, v. 230, n. November 2020, p. 113280, 2021a.

SMYERS, M. E. et al. Enhanced weight and fat loss from long-term intermittent fasting in obesity-prone, low-fitness rats. **Physiology & behavior**, v. 230, p. 113280, 1 mar. 2021b.

SOARES, N. L. et al. Does intermittent fasting associated with aerobic training influence parameters related to the gut-brain axis of Wistar rats? **Journal of Affective Disorders**, v. 293, p. 176–185, 1 out. 2021a.

SOARES, N. L. et al. Does intermittent fasting associated with aerobic training influence parameters related to the gut-brain axis of Wistar rats? **Journal of Affective Disorders**, v. 293, p. 176–185, 1 out. 2021b.

STEKOVIC, S. et al. Alternate Day Fasting Improves Physiological and Molecular Markers of Aging in Healthy, Non-obese Humans. **Cell Metabolism**, v. 30, n. 3, p. 462-476.e6, 3 set. 2019.

ST-ONGE, M.-P. et al. Meal Timing and Frequency: Implications for Cardiovascular Disease Prevention. **Circulation**, v. 135, n. 9, p. e96–e121, 28 fev. 2017.

SUTTON, E. F. et al. Early Time-Restricted Feeding Improves Insulin Sensitivity, Blood Pressure, and Oxidative Stress Even Without Weight Loss in Men with Prediabetes. **Cell metabolism**, v. 27, n. 6, p. 1212- 1221.e3, 5 jun. 2018.

SUZUKI, K. Cytokine Response to Exercise and Its Modulation. **Antioxidants**, v. 7, n. 1, p. 17, jan. 2018.

SUZUKI, K. et al. Characterization and Modulation of Systemic Inflammatory Response to Exhaustive Exercise in Relation to Oxidative Stress. **Antioxidants**, v. 9, n. 5, p. 401, 8 maio 2020.

TAVARES, R. L. et al. Mucuna pruriens treatment shows anti-obesity and intestinal health effects in obese rats. **Food & Function**, v. 12, n. 14, p. 6479–6489, 20 jul. 2021.

TERADA, T. et al. Overnight fasting compromises exercise intensity and volume during sprint interval training but improves high-intensity aerobic endurance. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 59, n. 3, p. 357–365, mar. 2019.

TINSLEY, G. M. et al. Time-restricted feeding in young men performing resistance training: A randomized controlled trial. **European Journal of Sport Science**, v. 17, n. 2, p. 200–207, mar. 2017.

TINSLEY, G. M.; LA BOUNTY, P. M. Effects of intermittent fasting on body composition and clinical health markers in humans. **Nutrition Reviews**, v. 73, n. 10, p. 661–674, 1 out. 2015.

VAN DER MERWE, M. et al. Time of Feeding Alters Obesity-Associated Parameters and Gut Bacterial Communities, but Not Fungal Populations, in C57BL/6 Male Mice. **Current developments in nutrition**, v. 4, p. nzz145, 3 jan. 2020.

VAN PROEYEN, K. et al. Beneficial metabolic adaptations due to endurance exercise training in the fasted state. **Journal of Applied Physiology**, v. 110, n. 1, p. 236–245, jan. 2011.

VARADY, K. A. et al. Comparison of effects of diet versus exercise weight loss regimens on LDL and HDL particle size in obese adults. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, p. 119, 18 jul. 2011.

VARADY, K. A. et al. Alternate day fasting for weight loss in normal weight and overweight subjects: a randomized controlled trial. **Nutrition Journal**, v. 12, p. 146, 12 nov. 2013.

VARADY, K. A. et al. Effects of weight loss via high fat vs. low fat alternate day fasting diets on free fatty acid profiles. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1–7, 2015.

VASCONCELOS, A. R. et al. Intermittent fasting attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and memory impairment. **Journal of Neuroinflammation**, v. 11, p. 1–14, 2014.

VASIM, I.; MAJEED, C. N.; DEBOER, M. D. Intermittent Fasting and Metabolic Health. **Nutrients**, v. 14, n. 3, p. 631, 31 jan. 2022.

VOGT, É. L. et al. Metabolic and Molecular Subacute Effects of a Single Moderate-Intensity Exercise Bout, Performed in the Fasted State, in Obese Male Rats. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 14, p. 7543, 15 jul. 2021.

WALSH, M. E.; SHI, Y.; VAN REMMEN, H. The effects of dietary restriction on oxidative stress in rodents. **Free radical biology & medicine**, v. 66, p. 88–99, jan. 2014.

WANG, Z.; YU, L.; FU, Y. [Comparison of intermittent fasting and exercise on skeletal muscle autophagy activation and fat reduction]. **Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi = Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi = Chinese Journal of Applied Physiology**, v. 36, n. 4, p. 289–295, jul. 2020.

WEI, S. et al. Intermittent administration of a fasting-mimicking diet intervenes in diabetes progression, restores β cells and reconstructs gut microbiota in mice. **Nutrition and Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 1–13, 2018.

WELTON, S. et al. Intermittent fasting and weight loss: Systematic review. **Canadian Family Physician Medecin De Famille Canadien**, v. 66, n. 2, p. 117–125, fev. 2020.

WILSON, R. A. et al. Intermittent fasting with or without exercise prevents weight gain and improves lipids in diet-induced obese mice. **Nutrients**, v. 10, n. 3, 2018a.

WILSON, R. A. et al. Intermittent Fasting with or without Exercise Prevents Weight Gain and Improves Lipids in Diet-Induced Obese Mice. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 346, 12 mar. 2018b.

ZHANG, Y. et al. Exercise ameliorates insulin resistance and improves ASK1-mediated insulin signalling in obese rats. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 25, n. 23, p. 10930–10938, dez. 2021.

ANEXO A – CERTIDÃO CEUA



Universidade
Federal da
Paraíba

Comissão de Ética no
Uso de Animais

Reitoria



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DO EIXO INTESTINO-CÉREBRO E DESEMPENHO FÍSICO DE RATOS SUBMETIDOS AO JEJUM INTERMITENTE ASSOCIADO AO TREINAMENTO AERÓBICO", protocolada sob o CEUA nº 5028031219 (ID 000961), sob a responsabilidade de **Jailane de Souza Aquino e equipe; Náís Lira Soares; Victor Augusto Mathias Dorand** - 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 da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 03/04/2020.

We certify that the proposal "VALUATION OF THE GUT-BRAIN AXIS AND PHYSICAL PERFORMANCE OF RATS SUBMITTED TO INTERMITTENT FASTING ASSOCIATED WITH AEROBIC TRAINING", utilizing 40 Heterogenics rats (40 males), protocol number CEUA 5028031219 (ID 000961), under the responsibility of **Jailane de Souza Aquino and team; Náís Lira Soares; Victor Augusto Mathias Dorand** - 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 Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 04/03/2020.

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

Vigência da Proposta: de **05/2020** a **11/2021**

Área: **Nutrição**

Origem: **Animais provenientes de doação espontânea**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **140 a 140 dias**

N: **40**

Linhagem: **Wistar**

Peso: **370 a 400 g**

Local do experimento: Laboratório de Nutrição Experimental, LANEX (Departamento de Nutrição/Centro de Ciências da Saúde - DN/CCS/UFPB) tem como responsável técnico o veterinário prof. Eulampio José da Silva Neto.

João Pessoa, 03 de abril de 2020

Profa. Dra. Jailane de Souza Aquino
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Carlos Augusto Alanis Clemente
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba