

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS UFSCAR/UNESP

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO COMBINADO E DA SUPLEMENTAÇÃO COM
PROBIÓTICO NA RIGIDEZ ARTERIAL EM RATOS TRATADOS COM
DEXAMETASONA.**

ALUNO: Vinicius Ferreira de Paula

ORIENTADORA: Prof^a Assoc. Sandra Lia do Amaral Cardoso

Departamento de Educação Física – Faculdade de Ciências UNESP - Bauru

BAURU
AGOSTO – 2023

VINICIUS FERREIRA DE PAULA

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO COMBINADO E DA SUPLEMENTAÇÃO COM
PROBIÓTICO NA RIGIDEZ ARTERIAL EM RATOS TRATADOS COM
DEXAMETASONA.**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos e Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” de Araraquara como requisito para a obtenção do título de **Doutor em Ciências Fisiológicas**.

ORIENTADORA: Prof^a Assoc. Sandra Lia do Amaral Cardoso

**BAURU - SP
AGOSTO – 2023**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado do candidato Vinicius Ferreira de Paula, realizada em 26/06/2023.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Sandra Lia do Amaral Cardoso (UNESP)

Prof. Dr. Anderson Saranz Zago (UNESP)

Prof. Dr. Emmanuel Gomes Ciolac (UNESP)

Prof. Dr. Thiago José Dionísio (USP)

Prof. Dr. Gerson Jhonatan Rodrigues (UFSCar)



Documento assinado digitalmente

SANDRA LIA DO AMARAL CARDOSO

Data: 07/07/2023 16:03:29-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Paulo (*in memorian*) e Neiva, que dedicaram suas vidas para me educar, trilhar o caminho da honestidade e da humildade, sempre perseverar e, principalmente, realizar os sonhos. Vocês não mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa da minha vida. A minha avó Geny (*in memorian*), minha eterna gratidão pelos seus ensinamentos de vida em conduzi-la, sobretudo, com amor e fé em Deus. E ao meu segundo pai, Romeu que me conduziu com amor incondicional, em trilhar pelo caminho do amor e compaixão, contribuindo para que este sonho se tornasse realidade.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES, #1702104) - Código de Financiamento 001. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e, o suporte financeiro pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, #2017/00509-1).

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciências Fisiológicas e do Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas - associação ampla UFSCAR/ UNESP. Gostaria de deixar meus sinceros agradecimentos ao Departamento de Educação Física da Unesp/Bauru, aos meus colegas Bruno Viscele e Sérgio Arcangelo, por salvarem meus experimentos quando buscavam diesel para reabastecer o gerador e assim voltar a energia. Agradecer também a Aline Tanaka e Hino, por ajudarem com suprimentos e suporte nos documentos burocráticos.

Aos meus companheiros e amigos de laboratório Naiara Herrera, Danyelle Miotto, Francine Duchatsch, Lidieli Tardelli, Anderson Macedo, André Krug este último acabou sendo muito importante, por me auxiliar e conduzir de forma amigável minha iniciação científica no laboratório. Aos alunos de iniciação científica, Laís e Alison. Todos contribuíram para a conclusão desta tese.

A minha orientadora Sandra, a qual com o tempo aprendi a admirar, respeitar e espelhar-me tanto como orientadora. Muito obrigado pela atenção, paciência, perseverança em me orientar, sobretudo, por acreditar em mim!

A minha família de amigos que sem eles jamais seria possível tudo isso. Sem dúvida é o suporte para tudo.

A minha esposa Larissa Massi, por me apoiar e ajudar com carinho e compaixão, sendo de extrema importância nos momentos difíceis, sendo compreensiva e amorosa. É pouco o que escrevo pra agradecer, precisaria de uma tese inteira pra lhe agradecer. Te amo!

A minha sogra Vera, por me dar suporte nestes momentos tão especial na minha vida.

Aos meus irmãos, Paulo Junior e Rafael, pelo suporte na ausência de nosso pai. Aos meus avós que já estão junto a Deus, mas sempre presentes em minha vida, aos meus pais, Paulo Roberto e Neiva Elir F. de Paula, a Minha Avó Geni D'Ávila de Paula. Esta conquista não é só minha, mas deles também. Para mostrar que o sonho é possível realizar e que Deus é maravilhoso!

Mãe, a sra. que sempre me ensinou que a nossa família não desiste nunca, e que perseverar é a palavra cravada em nossa alma.

Ao meu psicólogo-pai, por me ensinar a conduzir a minha vida com amor, compaixão, coragem e sabedoria. Esta conquista é sua também, sem você nada disso seria possível ser realizado com tanto afinho e amor.

Obrigados a todos que durante este período de alguma forma fizeram parte desta conquista.

“Sempre acreditei que os resultados vêm com o trabalho. Não faço as coisas pela metade, pois daí só poderei esperar resultados pela metade.” (Michael Jordan).

Resumo

A rigidez arterial é reconhecida como marcador preditivo de futuras doenças cardiovasculares e pode ser analisada pela velocidade da onda de pulso (VOP). Por outro lado, o treinamento físico combinado (TF_C) vem se destacando como estratégia não farmacológica promissora na prevenção da rigidez arterial induzida por dexametasona (DEX). Além disso, sabe-se também que a DEX causa disbiose intestinal, portanto, o objetivo deste estudo foi investigar qual o impacto da inflamação oriunda da disbiose intestinal na rigidez arterial e como o TC e o probiótico podem previr a rigidez arterial induzida por DEX. Hipótese deste trabalho é que as alterações da microbiota intestinal estão envolvidas na rigidez arterial induzida por dexametasona e que o treinamento físico combinado, associado ou não à suplementação com probiótico, atenua a rigidez arterial induzida pelo tratamento crônico com Dexametasona por atenuar a formação de colágeno na artéria aorta. Foram usados 143 Ratos Wistar (200-250g) divididos em 8 grupos: sedentário controle (SC, n=18), sedentário probiótico (SP, n=19), sedentário DEX (SD, n=22), sedentário DEX probiótico (SPD, n=20), treinado controle (TC, n=10), treinado probiótico (TP, n=14), treinado DEX (TD, n=15) e treinado probiótico DEX (TPD, n=13). Os ratos foram suplementados com probiótico (Yakult®, 2ml/65g via *gavagem*) ou água e submetidos ao TF_C (esteira e escada em dias alternados, 60% da capacidade física máxima) durante 74 dias ou mantidos sedentários. Durante os últimos 14 dias, os ratos foram tratados com DEX (50µg/kg por dia, s.c.) ou salina concomitante às demais intervenções. Foi avaliada a velocidade de onda de pulso (VOP), pressão arterial (PA), análise espectral e quantificação densitométrica de proteínas de matriz extracelular na aorta, bem como biomarcadores plasmáticos inflamatórios. Os resultados são apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) e as amostras que apresentaram diferenças significativas foram analisadas pelo post-hoc de Tukey, com ($p < 0,05$). A DEX causou aumento da VOP (+68%) e a LF (+126%) para SD vs SC, a suplementação e/ou o TF combinado preveniram esse aumento (-39%, -33%, -38% e -44%, -88%, -64%), para SPD, TD e TPD vs SD para VOP e LF, respectivamente. A DEX aumentou a expressão das proteínas COL-3 (+59%), TGF-β1 (+59%), TGFR2B (+103%), p-SMAD2/3/SMAD2/3(+41%) e ambos probiótico e TF_C preveniram o aumento. Quanto à quantificação das proteínas do cólon distal, a DEX causou diminuição de claudina-1 (-53%) e aumento de ocludina (+161%), e a suplementação e/ou o TF combinado preveniram essa resposta claudina-1 (SP = +84% e TPD +16% vs SC e SD, respectivamente). Por fim, os biomarcadores inflamatórios, não apresentaram diferença significativa. O presente estudo sugere que exista um papel importante da microbiota intestinal no aumento da rigidez arterial induzida pela DEX pela prevenção do aumento do simpático e não pela inflamação. E o TF_C demonstrou ser tão eficaz quanto a suplementação com probiótico na atenuação do aumento da VOP.

Palavras chave: treinamento físico combinado, velocidade de onda de pulso, glicocorticoides, disbiose intestinal.

Abstract

Arterial stiffness is recognized as a predictive marker of future cardiovascular diseases and can be assessed by pulse wave velocity (PWV). On the other hand, combined training (CT) has emerged as a promising non-pharmacological strategy in preventing dexamethasone (DEX)-induced arterial stiffness. Moreover, DEX is known to cause intestinal dysbiosis. Therefore, the aim of this study was to investigate the impact of inflammation resulting from intestinal dysbiosis on arterial stiffness and how CT and probiotic supplementation can prevent DEX-induced arterial stiffness. The hypothesis of this work is that alterations in the intestinal microbiota are involved in DEX-induced arterial stiffness and that CT, with or without probiotic supplementation, attenuates arterial stiffness induced by chronic DEX treatment by reducing collagen formation in the aorta. 143 Wistar rats (200-250g) were divided into 8 groups: sedentary control (SC, n=18), sedentary probiotic (SP, n=19), sedentary DEX (SD, n=22), sedentary DEX probiotic (SPD, n=20), trained control (TC, n=10), trained probiotic (TP, n=14), trained DEX (TD, n=15), and trained probiotic DEX (TPD, n=13). The rats were supplemented with probiotic (Yakult®, 2ml/65g via gavage) or water and subjected to CT (treadmill and ladder, on alternate days, at 60% of maximum physical capacity) for 74 days or remained sedentary. During the last 14 days, the rats were treated with DEX (50µg/kg per day, s.c.) or saline concomitant with the other interventions. PWV, blood pressure (BP), spectral analysis, densitometric quantification of extracellular matrix proteins in the aorta, as well as plasma inflammatory biomarkers, were evaluated. The results are presented as mean ± standard error of the mean (SEM). Analysis of variance (ANOVA) was used, and samples showing significant differences were analyzed by Tukey's post hoc test, with (p< 0.05) considered significant. DEX caused an increase in PWV (+68%) and LF (+126%) for SD vs SC, while supplementation and/or CT prevented this increase (-39%, -33%, -38% and -44%, -88%, -64%) for SPD, TD, and TPD vs SD for PWV and LF, respectively. DEX increased the expression of COL-3 (+59%), TGF-β1 (+59%), TGFR2B (+103%), p-SMAD2/3/SMAD2/3 (+41%), and both probiotic and CT prevented the increase. Regarding quantification of proteins in the distal colon, DEX caused a decrease in claudin-1 (-53%) and an increase in occludin (+161%), and supplementation and/or CT prevented this response for claudin-1 (SP = +84% and TPD +16% vs SC and SD, respectively). Finally, no significant differences were observed in inflammatory biomarkers. The present study suggests that the intestinal microbiota plays an important role in the increased arterial stiffness induced by DEX through prevention of sympathetic activity rather than inflammation. Furthermore, CT was shown to be as effective as probiotic supplementation in attenuating the increase in PWV.

Keywords: combined training, pulse wave velocity, glucocorticoids, intestinal dysbiosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Protocolo experimental de 75 dias, sendo que durante os 60 dias foi realizado a suplementação com probiótico (2 ml) ou água concomitantemente com treinamento físico/sedentarismo (preto) e durante os últimos 14 dias, adicionalmente, o tratamento com dexametasona (DEX) ou salina (vermelho). Eutanásia ocorreu no 15º dia. Verificação da ingestão alimentar foi realizada nos 3 dias que antecedem o início do tratamento e ao longo dos 14 dias de dexametasona. A análise de velocidade de onda de pulso (VOP) foram realizadas no início, ao final de 60 dias e no 13º dia de tratamento após a cauterização da carótida (canulação). A pressão arterial (PA) direta foi realizada após 24h da canulação; O teste de carregamento máximo na escada (TCM) e o teste de esforço máximo na esteira (TEM) foram realizados inicialmente, no final de 60 dias e no 11º e 12º dia de DEX, respectivamente28

Figura 2. Comparação do peso corporal (PC, em gramas) sob efeito da suplementação e/ou tratamento com dexametasona (DEX) durante todo o protocolo experimental em todos os grupos: Sedentário Controle (SC, n=16), Sedentário suplementado com Probiótico (SP, n=16), Sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=18), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=17), Treinado Controle (TC, n= 6 - 14), Treinado Probiótico (TP, n= 6 - 13), Treinado tratado com Dexametasona (TD, n=6 - 14) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=6 - 14). As Figuras A, B e C correspondem à comparação do PC dos grupos sedentários e As figuras D, E e F correspondem à comparação do PC entre os grupos treinados. Sendo PC inicial (A, D), PC após 60 dias de suplementação com o probiótico *L. casei* (B,E) e PC no final do protocolo (C,F) para sedentários e treinados. Significância: + vs grupo controle; † vs grupo probiótico, $p < 0.05$38.

Figura 3. Comparação do peso corporal (PC, g) entre os animais sedentários e treinados: Sedentário tratado com dexametasona (SD, n=14), treinado tratado com Dexametasona (TD, n=12), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=13) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=11).....39

Figura 4. Resultado dos testes de carregamento máximo na escada (TCM, em gramas). as Figuras A, B e C correspondem aos resultados de TCM dos grupos sedentários e as figuras D, E e F correspondem à comparação os resultados de TCM entre os grupos treinados. Sendo TCM inicial (A e D), TCM após 60 dias de suplementação com o probiótico *L. casei* (B e E) e TCM no final do protocolo (C e F) para sedentários e treinados. Sedentário Controle (SC, n=16), Sedentário suplementado com Probiótico (SP, n=16), Sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=18), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=17), Treinado Controle (TC, n=6 - 14), Treinado Probiótico (TP, n=5 - 13), Treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4 - 14) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=5 - 14). Significância: + vs grupo controle; † vs grupo probiótico, $p < 0.05$44

Figura 5. Resultados de teste de carregamento máximo na escada (TCM, em gramas) em relação ao efeito do treinamento para os grupos: Sedentário tratado com dexametasona (SD, n=14), treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=13) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=5). Indicações estatísticas: ** em relação ao grupo dexametasona, $p < 0,01$; †††† em relação ao grupo probiótico, $p < 0,001$45

Figura 6. Resultado dos testes de esforço máximo (TEM, em segundos) nos animais sedentários e treinados: Figuras A, B e C corresponde aos resultados de TEM dos grupos sedentários e as figuras D, E e F correspondem à comparação os resultados de TEM entre os grupos treinados. Sendo TEM inicial (A e D), TEM após 60 dias de suplementação com o probiótico *L. casei* (B e E) e TCM no final do protocolo (C e F) para sedentários e treinados. Sedentário Controle (SC, n=16), Sedentário suplementado com Probiótico (SP, n=16), Sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=18), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=17), Treinado Controle (TC, n=4 - 14), Treinado Probiótico (TP, n=5 - 13), Treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4 - 14) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=4 - 14).46

Figura 7. Resultados de teste de esforço máximo na esteira (TEM, em segundos) entre animais sedentários e treinados: Sedentário tratado com dexametasona (SD, n=14), treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=13) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=4). Significância: ** em relação ao grupo dexametasona, $p < 0,01$ 46

Figura 8. Perfil do consumo de ração durante o período de tratamento com DEX (A, gramas) e análise da área sob a curva (AUC) durante o tratamento com DEX para todos os grupos (B): Sedentário Controle (SC, n=13), Sedentário Probiótico (SP, n=14), Sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=17) e Sedentário Prob + Dex (SPD, n=14). Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona, $p < 0.05$49

Figura 9. Perfil do consumo de ração nos animais treinados (A, gramas). Análise da área sob a curva (AUC, B) durante o tratamento com DEX para todos os grupos treinados: Treinado Controle (TC, n=13), Treinado Probiótico (TP, n=14), treinado tratado com Dexametasona (TD, n=17) e Treinado Prob + Dex (TPD, n=14). Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona e † vs grupo probiótico, $p < 0.05$50

Figura 10. Resultado da análise da velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) nos animais sedentários e treinados: Figuras A, B e C corresponde aos resultados de VOP dos grupos sedentários e as figuras D, E e F correspondem à comparação os resultados de VOP entre os grupos treinados. Sendo VOP inicial (A e D), VOP após 60 dias de suplementação com o probiótico *L. casei* (B e E) e VOP no final do protocolo (C e F) para sedentários e treinados. Sedentário Controle (SC, n=16), Sedentário suplementado com Probiótico (SP, n=16), Sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=18), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=17), Treinado Controle (TC, n=14), Treinado Probiótico (TP, n=13), Treinado tratado com Dexametasona (TD, n=14) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=14). Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona, $p < 0.05$51

Figura 11. Análise do efeito do treinamento na velocidade da onda de pulso (VOP, em m/s): Sedentário tratado com dexametasona (SD, n=14), treinado tratado com Dexametasona (TD, n=12), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=13) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=11 Significância: **** em relação ao grupo dexametasona, $p < 0,0001$52

Figura 12. Valores de pressão arterial sistólica (PAS, mmHg, painel A), pressão arterial diastólica (PAD, mmHg, painel B), pressão arterial média (PAM, mmHg, painel C), frequência cardíaca acordado (FC, bpm, painel D), frequência cardíaca anestesiado (FC, bpm, painel E) e a correlação de Spearman entre a PAS e velocidade da onda de pulso

(VOP, painel F) em todos os animais sedentários: Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); Sedentário Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11); Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona e † vs grupo probiótico, $p < 0.05$. Para a correlação de spearman * $p < 0,05$53

Figura 13. Valores de atividades simpáticas (LF, Painel A), parassimpáticas (HF, Painel B), balanço autonômico para o coração LF/HF (LF/HF, Painel C) e simpática para os vasos (LF ABS, Painel D) nos grupos sedentários: Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); Sedentário Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11). Significância + vs grupo SC; * vs grupo SD e † vs grupo SP. Para a correlação de Spearman ** $p < 0,01$ 54

Figura 14. Valores de pressão arterial sistólica (PAS, mmHg, painel A), pressão arterial diastólica (PAD, mmHg, painel B), pressão arterial média (PAM, mmHg, painel C), frequência cardíaca acordado (FC, bpm, painel D), frequência cardíaca anestesiado (FC, bpm, painel E) em todos os animais sedentários: Treinado Controle (TC, n=8 - 10), Treinado Probiótico (TP, n=8 - 10), Treinado tratado com Dexametasona (TD, n= 8 - 14) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=8 - 10). Significância: + vs grupo controle, $p < 0.05$. 55

Figura 15. Valores de atividades simpáticas (LF, Painel A), parassimpáticas (HF, Painel B), balanço autonômico para o coração LF/HF (LF/HF, Painel C) e simpática para os vasos (LF ABS, Painel D) nos grupos treinados: Treinado Controle (TC, n= 8 - 10); Treinado Probiótico (TP, n=9 - 10); Treinado Dexametasona (TD, n=7 - 11); Treinado Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 6 - 11).....56

Figura 16. Análise do efeito do treinamento na atividade nervosa simpática para os vasos (LF abs mmHg²) para os grupos tratados com DEX ou associados com probiótico: Sedentário tratado com dexametasona (SD, n= 9), treinado tratado com Dexametasona (TD, n=12), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=10) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=10). Significância: * em relação ao grupo dexametasona, $p < 0,05$56

Figura 17. Análise de densitométrica quantitativa da produção de colágeno tipo 3 (COL3) na aorta torácica para os grupos sedentários (A) e treinados (B): Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11); Treinados Controle (TC, n= 8 - 10); Treinados Probiótico (TP, n=9 - 10); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, n=7 - 9); Treinados Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 8 - 11). No painel C são apresentados os efeitos do treinamento entre os grupos DEX e P+DEX. Os valores foram normalizados pelo GAPDH e são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas COL-3 e do GAPDH. Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona, $p < 0.05$ 57

Figura 18 Análise de densitometria quantitativa da expressão de fator transformador de crescimento $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) na aorta torácica para os animais dos grupos dos sedentários (painel A) e treinados (painel B): Sedentário Controle (SC, n= 5 - 6); Sedentário Probiótico (SP, n= 5 - 6); sedentário tratado com Dexametasona (SD, n= 5 - 6); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 5 - 6); Treinado Controle (TC, n= 3); Treinados Probiótico (TP, n= 3); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, n= 3) e Treinados

Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 3). Os valores foram normalizados pelo GAPDH e são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas (TGF- β 1) e GAPDH. Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona, $p < 0.05$ 58

Figura 19. Análise de densitometria quantitativa da expressão de receptor 2 do fator transformador beta 1 (TGFB β 2) na aorta torácica dos animais sedentários (painel A) e treinados (painel B): Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11). Treinados Controle (TC, n= 8 - 10); Treinados Probiótico (TP, n=9 - 10); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, n=7 - 9); Treinados Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 5 - 11). O painel C apresenta os resultados dos efeitos do treinamento nos animais tratados com DEX suplementados ou não com probiótico. Os valores foram normalizados pelo GAPDH e são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas TGFB β 2 e GAPDH. Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona, $p < 0.05$ 59

Figura 20. Análise de densitometria quantitativa da expressão de *Mothers against decapentaplegic homolog 2 and Mothers against decapentaplegic homolog 3* (SMAD 2-3). A razão entre fosforizada e total na aorta torácica está apresentada para os animais dos grupos dos sedentários (painel A) e treinados (Painel B): Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11); Treinados Controle (TC, n= 8 - 10); Treinados Probiótico (TP, n=9 - 10); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, n=7 - 9); Treinados Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 6 - 11). O painel C apresenta os efeitos do treinamento nos grupos tratados com DEX e suplementados ou não com probiótico. Os valores foram normalizados pelo GAPDH são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas (p- SMAD 2-3 e SMAD 2-3). Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona, $p < 0.05$59

Figura 21 As correlações entre os valores de VOP (m/s) e a densitometria proteica de colágeno 3 (%Ctrl) e LF abs mmHg² são apresentadas nos painéis A e B. No painel A, observa-se a correlação com a proteína COL 3 ($r = -0,431$); no painel B, a correlação com LF abs mmHg² ($r = 0,0479$). A significância das correlações é indicada por **, o que representa $p < 0,01$ e indicada por *** o que representa $p < 0,001$60

Figura 22. Análise de densitometria quantitativa da expressão de Claudina - 1 no cólon distal dos animais sedentários (painel A) e treinados (painel B): Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11). Treinados Controle (TC, n= 8 - 10); Treinados Probiótico (TP, n=9 - 10); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, n=7 - 9); Treinados Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 8 - 11). O painel C apresenta os resultados dos efeitos do treinamento nos animais tratados com DEX suplementados ou não com probiótico. Os valores foram normalizados pelo GAPDH e são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas Claudina - 1 e GAPDH. Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona e † vs grupo probiótico, $p < 0.05$ 61

Figura 23. Análise de densitometria quantitativa da expressão de Ocludina no cólon distal dos animais sedentários (painel A) e treinados (painel B): Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11). Treinados Controle (TC, n= 8 - 10); Treinados Probiótico (TP, n=9 - 10); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, n=7 - 9); Treinados Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 8 - 11). O painel C apresenta os resultados dos efeitos do treinamento nos animais tratados com DEX suplementados ou não com probiótico. Os valores foram normalizados pelo GAPDH e são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas Ocludina e GAPDH. Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona e † vs grupo probiótico, $p < 0.05$ 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Os grupos de animais que receberam suplementação com probiótico e/ou tratamento com dexametasona ao longo do protocolo experimental.....	27
Tabela 2. Análises do peso de diferentes tecidos sob influência da suplementação com <i>L. casei</i> e tratamento com dexametasona nos animais sedentários	41
Tabela 3. Análises do peso de diferentes tecidos sob influência da suplementação com <i>L. casei</i> e tratamento com dexametasona nos animais treinados	43
Tabela 4. Valores de delta do peso corporal e das capacidades físicas de todos os animais e de todos grupos	47
Tabela 5. Efeitos da administração de DEX nos animais sedentários suplementados ou não com probiótico nos níveis séricos de biomarcadores de inflamação.....	63
Tabela 6. Efeitos da administração de DEX nos animais treinado suplementados ou não com probiótico nos níveis séricos de biomarcadores de inflamação	64
Tabela 7. Correlações entre citocinas ou biomarcadores inflamatórios com parâmetros hemodinâmicos e níveis de COL3.....	65

Sumário

1. INTRODUÇÃO	8
1.1. Sistema Cardiovascular.....	8
1.2. Rigidez Arterial.....	10
1.3. Dexametasona e Rigidez Arterial	13
1.4. Microbiota Intestinal, Dexametasona e Rigidez Arterial.....	15
1.5. O papel da microbiota na função de barreira intestinal e inflamação sistêmica.....	19
1.6. Treinamento físico, Microbiota intestinal e rigidez arterial	20
2. HIPÓTESE	25
3. OBJETIVO GERAL.....	26
3.1. Objetivos específicos:.....	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1. Grupos experimentais.....	27
4.2. Tratamento com probiótico e dexametasona.	29
4.2.1. Probiótico	29
4.2.2. Dexametasona	29
4.3. Teste de esforço máximo na esteira (TEM)	29
4.4. Teste de carregamento máximo na escada (TCM)	30
4.5. Treinamento físico combinado (TF _C).....	30
4.6. Protocolo de treinamento físico aeróbio (TFA).....	31
4.7. Protocolo de treinamento resistido (TFR)	31
4.8. Análises da velocidade da onda de pulso (VOP)	32
4.9. Determinação da pressão arterial direta	32
4.9.1. Confecção De Cânulas.....	32
4.9.2. Registro De Pressão Arterial (PA) E Frequência Cardíaca (FC).....	33
4.9.3. Análise espectral	33
4.10. Obtenção das amostras de sangue	34
4.11. Retirada de tecidos	34
4.12. Protocolo de dosagem de proteínas.....	34
4.13. Análise de biomarcadores inflamatórios MILLIPLEX-ELISA®.....	35
4.14. Procedimentos de análise da produção proteica dos tecidos.....	36
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
6. RESULTADOS.....	37
6.1. Peso corporal e dos diferentes tecidos.....	37
6.2. Avaliações das capacidades físicas dos animais	43
6.3. Ingestão alimentar	48

6.4.	Velocidade da onda de pulso.....	50
6.5.	Parâmetros hemodinâmicos.....	52
6.6.	Densitometria da aorta.	57
6.7.	Densitometria quantitativa da expressão proteica do colón distal.....	60
6.8.	Biomarcadores inflamatórios.....	62
7.	CONCLUSÃO.	80
8.	REFERÊNCIAS:	81

1. INTRODUÇÃO

1.1. Sistema Cardiovascular.

De acordo com os dados epidemiológicos da 8ª Diretriz Brasileira de Hipertensão, estima-se que cerca de 30% da população adulta brasileira seja hipertensa. Cerca de 27,3% da população brasileira morrem de doenças Cardiovasculares (BARROSO et al., 2020). Neste sentido, faz-se necessário a busca por estratégias farmacológicas e não farmacológicas no tratamento de patologias cardiovasculares.

O sistema cardiovascular é composto pelo coração, por artérias, arteríolas, capilares, vênulas e veias, compondo assim a circulação sistêmica e a circulação pulmonar vascular, respectivamente. É responsável pela distribuição sanguínea, transportando o sangue para os tecidos, levando oxigênio, nutrientes, fatores de coagulação, hormônios e células de defesa. Por conseguinte, também é responsável pela remoção de dióxido de carbono e produtos finais do metabolismo, sendo recolhidos e conduzidos pelas veias e vênulas até os locais de excreção (AIRES, 2011; HAMRELL, 2018). Para que isso aconteça, os vasos possuem a capacidade de contrair/relaxar (vasoconstrição/vasodilatação) em resposta a sinais locais, hormonais ou neurais, além de exibirem a capacidade de permanecer contraídos por longos períodos em baixos níveis de consumo de energia, o que o torna importante para manter as funções cardiovasculares basais, através da manutenção do tônus vascular e, conseqüentemente, da pressão arterial (BERNE & LEVY, 1992).

Os vasos sanguíneos são estruturalmente compostos por três camadas básicas: a camada interna ou íntima consiste de uma única camada de células endoteliais sobre uma lâmina basal ou lâmina elástica interna que separa a íntima da média. O endotélio, tem a capacidade de liberar ou inibir substâncias relacionadas a inflamações locais, coagulação sanguínea, agregação de plaquetas e outras situações pertinentes ao sistema vascular; Túnica média, que é uma camada intermediária e que está presente em boa parte das artérias (principalmente as de maior calibre). Possui importante função na manutenção da arquitetura da parede vascular, em resposta à deformação causada pela onda de pulso determinada pela sístole cardíaca devido aos componentes do tecido conjuntivo que é composto por fibrilas de elastina, que são flexíveis, e fibrilas de colágeno, que são rígidas e componentes da matriz extracelular tais como: proteoglicanos e glicoproteínas estruturais (LEE et al., 2019). Essa estrutura permite que a matriz extracelular suporte grandes forças ou distensões, sendo responsável pela curva de comprimento-tensão

passiva observada em tecidos relaxados. Além disso, essa matriz também tem um papel na limitação do volume do órgão. Por fim, ao redor da camada média, encontra-se a camada adventícia, constituída de tecido conectivo frouxo com fibroblastos, colágeno, elastina e substância fundamental (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1999). Portanto, a adventícia, que é encontrada apenas nas artérias maiores do organismo e também pode ser chamada de túnica externa, justamente por ser a camada mais exterior, pode ser encontrado tecido predominantemente conjuntivo, além de alguns filetes nervosos e também vasculares, que servem para inervar e irrigar essas artérias (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1999). A aorta, em especial, é uma artéria de condutância e designa maior complacência (distensibilidade) devido a sua capacidade elástica, para suportar grandes pressões exercidas a sua parede a cada ejeção sanguínea realizada pelo coração. Desta forma, a integridade das camadas da artéria aorta é de suma importância para distribuição sanguínea adequada aos tecidos. Já as arteriais adjacentes, como as artérias carótida, femoral e renal, são comumente chamadas de vasos de resistência que encaminham e distribuem o fluxo sanguíneo para diferentes tecidos. Além disso, a carótida também possui importante função no controle momento a momento da pressão arterial (PA). Portanto, quaisquer mudanças na estrutura destes vasos, conseqüentemente acarretará alterações funcionais do coração, sobretudo, reduzindo ou aumentando a PA (BERNE & LEVY, 1992; AIRES, 2011).

Dois componentes desempenham um papel crucial: as proteínas da matriz extracelular, que suportam a carga mecânica, e as células musculares lisas vasculares, responsáveis por regular a contração de actina-miosina e mediar a mecanotransdução na homeostase entre as células e a matriz extracelular. Para o funcionamento adequado do sistema vascular, é essencial manter as proteínas da matriz extracelular. As células vasculares têm a capacidade de sintetizar e secretar proteínas, como colágeno, elastina e proteoglicanos, que compõem essa matriz (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1999; SEHGEL et al., 2015). Hormônios, fatores de crescimento e cargas mecânicas são considerados fatores cruciais no equilíbrio da produção dessas proteínas na matriz, pois podem influenciar a elasticidade ou rigidez dos vasos. Portanto, um desequilíbrio na produção dessas proteínas na matriz pode resultar em maior rigidez e, conseqüentemente, comprometer a saúde cardiovascular (BERNE & LEVY, 1992; LEE et al., 2019).

Nos últimos anos tem sido demonstrado que a Hipertensão Arterial (HA) vem sendo considerada a doença cardiovascular de maior risco remanescente de vida em ambos os gêneros, diversas idades e etnias, podendo estar muitas vezes associada ao aumento da rigidez arterial (LAKATTA et al., 2013).

1.2. Rigidez Arterial

A rigidez arterial é um complexo fenômeno caracterizado pela diminuição acentuada da distensibilidade das artérias e seu aumento vem sendo considerado parte do processo natural de envelhecimento (PIZZI et al., 2006; ZHANG et al., 2014). A determinação da rigidez arterial geralmente é feita pela medição da velocidade da onda de pulso em um segmento arterial (VOP), como a aorta. Com o envelhecimento vascular, ocorre um aumento da VOP, que por sua vez, diminuir a perfusão dos órgãos alvos. Consequentemente, a rigidez da aorta está ligada ao aumento da carga após a contração do ventrículo esquerdo e à diminuição da pressão média de perfusão coronariana (LEUNG et al., 2006), que ocorre principalmente durante o período de relaxamento cardíaco, a diástole. Essas alterações resultam em aumento da massa muscular do ventrículo esquerdo (YUCEL et al., 2015), piorando o suprimento sanguíneo para o músculo cardíaco e aumentando a pressão nas paredes vasculares (TOWNSEND et al., 2015). Essa condição, por sua vez, fortalece a associação com futuros eventos e doenças cardiovasculares (CHOW et al., 2015; TOWNSEND et al., 2015; HIGGINS et al., 2023).

No entanto, tem sido demonstrado que, embora o envelhecimento provoque um aumento da rigidez arterial (AVOLIO et al., 1983; LAKATTA et al., 2013; MIKAEL et al., 2017), fatores extrínsecos tais como o estresse, ingestão de alimentos hipercalóricos ou ricos em sal, aumento de espécies reativas de oxigênio, dentre outros e diversas patologias como doenças inflamatórias, disbiose intestinal, aterosclerose, doença renal crônica, diabetes, síndrome metabólica e hipertensão arterial contribuem para o aumento da rigidez arterial (MENI et al., 2018; YONG et al., 2018 e 2019; STONER et al., 2020; INSERRA et al., 2021; MANDIGERS et al., 2022; HIGGINS et al., 2023). Devido a esta extensa lista de fatores que predispõe à redução da complacência vascular, a medida de rigidez arterial vem sendo clinicamente considerada como um importante preditor de risco cardiovascular (LAKATTA et al., 2013; TOWNSEND et al., 2015; ECOBICI et al., 2017). Blacher et al. (1999) já haviam sugerido neste estudo que a medida de rigidez da artéria aorta poderia ser um preditor de mortalidade, pois indivíduos em estágio final de doença renal, que apresentaram maior índice de mortalidade, apresentaram a VOP maior que $>12,0$ m/s. Em concordância, vários estudiosos que os sucederam sugeriram que a VOP seria um importante preditor de eventos e doenças cardiovasculares (SCHILLACI et al., 2012; LUFT et al., 2012; ERSHOVA et al., 2016;; THOMAS et al., 2022). No estudo de Baltimore, entre os 306 indivíduos inicialmente normotensos, 34% desenvolveram hipertensão ao longo de um acompanhamento médio de 4,3 anos. Foi observado que a VOP foi um preditor independente de hipertensão, com um aumento de 10% na incidência de hipertensão para cada acréscimo de 1m/s na VOP (NAJJAR et al., 2008).

Esta rigidez arterial pode ser causada primariamente por fibrose excessiva ou elasticidade reduzida, com aumento associado da deposição de colágeno, aumento da fragmentação e/ou degeneração da fibra de elastina, necrose medial laminar, calcificação e reticulação de moléculas de colágeno por produtos finais de glicação avançada (BRASSELET et al., 2005; HARVEY et al., 2016) nas camadas íntima, média e adventícia do vaso. O colágeno e a elastina são especialmente importantes para manter o bom funcionamento dos vasos e estão localizados na matriz extracelular (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1999). As fibrilas de elastina, possuem a capacidade de flexibilidade, enquanto que as fibrilas de colágeno, possuem a capacidade de rigidez, sendo assim, podem determinar a rigidez arterial.

No entanto, alterações no endotélio do vaso também podem contribuir para comprometer a distensibilidade dos vasos. Neste caso, um desbalanço entre substâncias vasodilatadoras e vasoconstritoras derivadas do endotélio, pode comprometer o relaxamento e/ou contração dos vasos (CARVALHO et al., 2001). Neste sentido, para analisar a rigidez arterial é preciso avaliar as diversas vias de sinalização que podem influenciar na estrutura e funcionalidade vascular. Dentre elas podemos citar os fatores neurais, hormonais e locais. Muitos fatores vasoativos ativam as vias pro-fibróticas, como o sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), endotelina-1 (ET-1), espécies reativas de oxigênio (EROs) e sistema nervoso simpático (SNS). Neste sentido, Dab et al. (2012), ao investigarem o papel do SNS e do SRAA na síntese das proteínas colágeno I, III e elastina na aorta de ratos normotensos, demonstraram que a infusão de noradrenalina estimulou a síntese de COL3 via receptor β e de Elastina via receptores α_1 e α_2 (após bloqueios destes receptores). Além disso, demonstraram que a infusão de Angiotensina II (Ang II) aumentou a síntese de COL 3 e reduziu a síntese de elastina, ambos os efeitos via receptor AT1. Recentemente de Paula et al. (2023) demonstraram que o uso crônico de Dexametasona promoveu aumento da rigidez arterial, além de demonstrarem correlação positiva com o aumento da produção da proteína Colágeno 3 (COL 3) na artéria aorta de ratos tratados (DE PAULA et al., 2023), porém os mecanismos envolvidos na síntese de colágeno 3 não foram investigados.

O SRAA além de promover produção de colágeno, quando ANG II se liga ao receptor AT1 (DAB et al., 2012), também é capaz de induzir, por meio da Ang II, a ativação da p38 e proteínas-quinase ativadas por mitógenos (MAPK), promovendo progressiva fibrose em vasos de idosos e cardiopatas (WEIGERT et al., 2002; LI et al., 2011; HSIEH et al., 2012; CARVER et al., 2015). Outro hormônio envolvido na fibrose vascular é aldosterona que, apesar de desempenhar papel importante no controle de filtrados no glomérulo renais, principalmente na regulação do balanço eletrolítico, também tem sido implicada no aumento da rigidez arterial (SAVOIA et al., 2008; KRUG et al., 2010;

HARVEY et al., 2016). Savoia et al. (2008) demonstraram que ratos submetidos à infusão de aldosterona apresentaram aumento da PA média, bem como aumento da área transversal da camada média da aorta, a qual estava associada com o aumento do colágeno tipo I, determinando assim aumento da rigidez arterial. Posteriormente esta resposta foi confirmada após o tratamento com antagonista do receptor de mineralocorticoide (Eplerenona), o qual preveniu o aumento da rigidez arterial, pela redução da síntese de colágeno, bem como na atenuação da razão parede/luz e atenuação da PA (KRUG et al., 2010). Além desses sistemas neurais e hormonais, existem outros fatores envolvidos na manutenção da matriz extracelular (MEC) dos vasos. O próprio organismo é capaz de produzir e degradar proteínas no organismo e este processo ocorre continuamente, permitindo que os tecidos cresçam, se desenvolvam e/ou remodelem. As proteínas que são responsáveis por este balanço entre produção/degradação e ressintetização são denominadas de proteinases. Na matriz extracelular as proteinases são denominadas como metaloproteinases de matriz (MMPs). Essas enzimas são responsáveis pela degradação proteolítica e são sintetizadas e secretadas na MEC, assim como o colágeno e a elastina por uma variedade de células do tecido conjuntivo (fibroblastos, condrócitos, monócitos, neutrófilos e macrófagos). As MMPs são divididas em collagenases (degradam colágeno I, II, III e X), gelatinases (degradam laminina, fibronectina e elastina), estromelisinases (degradam proteoglicanos, fibronectina), matrilisinas (degradam especificamente o colágeno tipo IV e proteoglicanos) e metaloelastases de macrófagos (degradam a elastina, laminina e especificamente o colágeno tipo IV). A atividade da MMP pode ser especificamente inibida por inibidores teciduais de metaloproteinases denominados TIMPs (Ross & Pawlina, 2016).

Contudo, observa-se ações diferentes desse grupo de metaloproteinases nos diversos tecidos conjuntivos lisos (NEWBY et al., 2005; RAFFETTO and KHALIL, 2008). Como exemplo a metaloproteinase de matriz 2 (MMP2), que atua no acúmulo de proteínas relacionadas a fibrose na MEC do tecido conjuntivo vascular ao clivar a porção o N-terminal do colágeno promovendo acúmulo de colágeno I, II e III na MEC vascular, pode também desempenhar a função degradadora de elastina nos rins de animais diabéticos, como demonstrado por Takamiya et al. (2013). Estes autores mostraram que animais diabéticos apresentaram níveis elevados de MMP2, aumento de colágeno do tipo 4, bem como creatinina e albuminúria no córtex renal e no túbulo intersticial, quando comparados aos animais não diabéticos. Além disso, é sabido também que a MMP2 pode inibir a contração da musculatura lisa vascular induzida por fenilefrina (CHEW et al., 2004) e promover redução de elastina vascular (DAB et al., 2012), além de determinar a ativação do fator de crescimento transformador- β (TGF- β), uma citocina capaz de promover a síntese de colágeno vascular (WANG et al., 2006; HARVEY et al., 2016). Além disso, a

ativação do TGF- β também pode inibir a produção de collagenases (MMP8 e MMP13) e consequentemente, contribuir ainda mais para o aumento da rigidez arterial (HARVEY et al., 2016). Sendo assim, a família das MMPs apresenta uma complexidade em suas funções na manutenção da MEC nos mais variados tecidos conjuntivos lisos em diversas patologias cardiovasculares. Tornando-se, portanto, essencial a compreensão das suas ações nas artérias para alvos terapêuticos.

Outra forma de síntese e regulação de colágeno é por complexas interações entre fatores de crescimento, hormônios e citocinas. Dentre os fatores de crescimento, os mais observados são o TGF- β e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) que, uma vez estimulados, ativam a síntese do colágeno por fibroblastos (Ross & Pawlina, 2016). Alguns pesquisadores têm demonstrado que o TGF- β e seu efector de sinalização, os denominados mensageiros intracelulares (SMADs), podem aumentar ou inibir a síntese de proteínas fibrosas da MEC, como fibronectina, colágeno e fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF).

Além destes fatores citados, a literatura também traz o aumento da formação de placas de ateroma contribuindo para riscos e eventos de doenças cardiovasculares (PANOVA-NOEVA et al., 2017). Panova-Noeva et al. (2017) mostraram associação entre o volume médio de placas de ateroma e a VOP, com risco remanescente de vida em ambos os sexos com e sem fatores de riscos extrínsecos cardiovasculares.

A técnica de velocidade de onda de pulso (VOP) vem sendo considerada a mais indicada para a avaliação da rigidez arterial por ser não invasiva, de fácil execução e grande reprodutibilidade (BOUTOUYRIE et al., 2008; HOUCKEN et al., 2012; CHARAKIDA et al., 2009; LACOLLEY et al., 2017; LOBOZ-RUDNICKA et al., 2018; VLACHOPOULOS et al., 2019; AGBAJE et al., 2022) e vem sendo utilizada nas pesquisas experimentais (FABRICIO et al., 2020; MIOTTO et al, 2021; TARDELLI et al, 2021, TARDELLI et al, 2022; DE PAULA et al., 2023) com o intuito de estudar os possíveis mecanismos envolvidos.

1.3. Dexametasona e Rigidez Arterial

Os corticosteroides são exemplos de hormônios esteroides com a estrutura química semelhante ou derivada do colesterol e possuem três subtipos que são: glicocorticoides (cortisol), mineralocorticoides (aldosterona) e 17-cetosteróides (androgênios) (AIRES, 2011). O cortisol (corticosterona nos roedores) é produzido na zona fasciculada do córtex adrenal (GUYTON & HALL, 2006). Por ser lipofílico, ultrapassa facilmente a membrana celular entrando para o meio citoplasmático, onde se liga ao seu receptor específico e, desta forma, atinge o núcleo celular, interagindo com o DNA e regulando a ativação e/ou supressão de diferentes genes (GUYTON & HALL,

2006). Tem sido demonstrado que alguns mediadores da inflamação como as citocinas, as enzimas ativadas durante o processo inflamatório (COX-1 e COX-2) e as moléculas de adesão (que recrutam células inflamatórias como neutrófilos, eosinófilos e linfócitos T da circulação, para os locais da inflamação) podem ser moduladas por glicocorticoides (BOUMPAS et al., 1993; BARNES et al., 1998; ANDERSON et al., 1999). Além disso, os glicocorticoides (GC) desempenham importante efeito sobre o metabolismo glicêmico, ou seja, aumentam a taxa de gliconeogênese pelo fígado, reduzem as reservas de proteínas pela via de degradação e aumentam a mobilização de ácidos graxos das células adiposas, o que contribui para uma maior biodisponibilidade de substratos para a produção de adenosina trifosfato (ATP) (ANTI et al., 2008; AIRES, 2011).

Pesquisadores observaram que a ativação dos receptores de glicocorticoides pode ativar diretamente mediadores anti-inflamatórios como TGF- β e interleucina – 10 (IL-10), inibir a proliferação de linfócitos T e B e promover um perfil tolerante de macrófagos, aumentando sua função anti-inflamatória (DESMET & BOSSCHER et al., 2017). Tendo em vista essas importantes ações e funções do cortisol no organismo, o uso clínico de medicamentos sintéticos vem contribuindo para o tratamento de diversas doenças, tais como artrite, psoríase, esclerose múltipla, asma, alergias, doenças vasculares, transplante de órgãos, distúrbios gastrointestinais (BOUMPAS et al., 1993 ANTI et al., 2008; DE BOSSCHER et al., 2010) e mais recentemente a COVID-19 (HORBY et al., 2021). No entanto, a literatura vêm demonstrando que seu uso crônico pode determinar efeitos colaterais importantes como a atrofia muscular (MACEDO et al., 2014 e 2016; KRUG et al., 2016), aumento de triglicerídeos na circulação sanguínea (VIVAN et al., 2017; WU et al., 2018), resistência periférica à insulina (BAREL et al., 2010, DIONÍSIO et al., 2014), desbalanço autonômico para o coração e para os vasos (TARDELLI et al., 2021 e 2022), alterações no barorreflexo e rarefação da microcirculação na musculatura esquelética (SIUDA et al., 2014; HERRERA et al., 2016 e 2017, CONSTANTINO et al., 2017). Além destes efeitos deletérios, o tratamento crônico com DEX promove alta hemorragia digestiva (NARUM et al., 2014) e ulcera péptica (WU et al., 2018).

Trabalhos do nosso laboratório demonstraram que o tratamento crônico com DEX determina aumento significativo de pressão arterial (HERRERA et al., 2016, HERRERA et al., 2017, CONSTANTINO et al., 2017; TARDELLI et al., 2021 e 2022) desbalanço autonômico para o coração (HERRERA et al., 2016; DUCHATSCH et al., 2018) e aumento do drive simpático para os vasos (TARDELLI et al., 2022). Longenecker et al. (1984) já haviam demonstrado uma diminuição da síntese e proliferação de proteínas fibrilares, após a incubação de 0,1 μ M de DEX por 24h em células musculares da aorta

de bovinos. Por outro lado, Leitman et al. (1984) demonstraram aumento das proteínas colágeno tipo I e tipo III, caracterizadas fibrilares, na aorta de bovinos (*in vitro*) após o tratamento com DEX. Recentemente, nosso grupo demonstrou que o tratamento crônico com DEX determinou aumento da VOP de ratos Wistar, e este aumento foi correlacionado com maior deposição de colágeno e maior produção de colágeno do tipo 3 (Col3) na artéria aorta (TARDELLI et al, 2021; De PAULA et al., 2023), no entanto, os mecanismos envolvidos no aumento de colágeno e VOP induzidos pela DEX ainda não são totalmente esclarecidos.

1.4. Microbiota Intestinal, Dexametasona e Rigidez Arterial

A microbiota intestinal consiste em um complexo de espécies de microrganismos que habitam o trato digestivo, um grupo de bactérias que vivem no intestino dos animais e seres humanos e que produzem várias moléculas sinalizadoras de natureza hormonal que são liberadas na corrente sanguínea (FORMES & REINHARDT, 2019). A partir do nosso nascimento as microbiotas intestinais representam um dos ecossistemas mais densamente colonizados. Esse processo de colonização é fortemente influenciado pela genética, nutrição e fatores ambientais (ECKBURG et al., 2005) e desempenha um papel importante nas funções metabólicas e imunológicas (BACKHED et al., 2005), na digestão dos macronutrientes (MARTENS et al., 2008), impede a colonização por patógenos (UBEDA et al., 2010) e promove a imunidade intestinal (HÖRMANN et al., 2014). Calcula-se que existam cerca de mil espécies, distribuídas em mais de 50 diferentes filos conhecidos como Bacteroidetes (Gram-negativos) e Firmicutes (Gram-positivos). A maioria das bactérias está localizada no cólon, cerca de 90% pertencendo a Bacteroidetes e Firmicutes, o restante sendo composta por Actinobacterias e Proteobacterias (BACKHED et al., 2005, MORAES et al., 2014). No entanto, dentre a colônia de bactérias na microbiota intestinal, parte é não patogênica, que promove saúde e uma pequena parte é composta por bactérias potencialmente patogênicas (MORAES et al., 2014).

Entre as condições médicas mais comuns observadas nos cuidados primários estão os distúrbios funcionais do intestino. A prevalência está na faixa de 5 a 25% e é responsável por 36% de todas as visitas a gastroenterologistas (CHANG et al., 2004). A disbiose do ecossistema microbiano intestinal pode ser causada por diversos fatores, como dieta, aumento do estresse, níveis de mediadores inflamatórios (ISAAC et al., 2017)

e uso de antibióticos (VIVAN et al., 2017), entretanto, os efeitos dos glicocorticoides na microbiota ainda não estão totalmente esclarecidos.

A disbiose é um desequilíbrio da flora bacteriana intestinal que reduz a capacidade de absorção dos nutrientes e causa carência de vitaminas. Este desequilíbrio é causado pela diminuição do número de bactérias boas do intestino e aumento das bactérias capazes de causar doença (LOPETUSO et al., 2016; SANTISTEBAN et al., 2017).

Embora muitos estudiosos apresentem cada vez mais interesse pelos os efeitos da microbiota intestinal, existem importantes lacunas no conhecimento sobre como esse ecossistema pode afetar a saúde, uma vez que a diminuição da biodiversidade microbiana pode acarretar no desencadeamento, manutenção e exacerbação da inflamação intestinal, como relatado por Lopetuso et al. (2016). Estes autores demonstraram que respostas imunológicas inadequadas da mucosa apresentam envolvimento com a ruptura da barreira epitelial que separa os microrganismos dos tecidos subjacentes e que a tolerância desregulada à microbiota intestinal contribui, supostamente, para o desenvolvimento e a instauração da doença inflamatória intestinal. Sendo assim, qualquer alteração desse cenário microbiano pode promover um desequilíbrio na flora intestinal, resultando em uma mudança na permeabilidade do intestino e permitindo assim, a permeabilidade de bactérias do conteúdo luminal do intestino para as camadas internas intestinais e para o sangue (LOPETUSO et al., 2016). Desta forma, a microbiota intestinal desempenha um papel crucial não apenas local, mas também sistêmico, desencadeando eventos e doenças cardiovasculares e cerebrovasculares, tais como aterosclerose (KARLSSON et al., 2012), trombose (JÄCKEL et al., 2017; FORMES & REINHARDT, 2019), diabetes (ALLIN et al., 2018), obesidade (TURNBAUGH et al., 2006), câncer (SCHULZ et al., 2014), asma alérgica (BISGAARD et al., 2011) e hipertensão (SANTISTEBAN et al., 2017; ASCHER & REINHARDT, 2018).

Estudiosos têm demonstrado que o desequilíbrio da microbiota intestinal pode promover o aumento da adesão de neutrófilos e monócitos, o que determina inflamação e disfunção vascular, processos estes que comprometem a distensibilidade dos vasos e promovem hipertensão arterial (KARBACH et al., 2016).

O fator Von Willibrand (FVW) é considerado um dos mediadores centrais no início da inflamação vascular e está envolvido com a disbiose intestinal. O FVW é uma glicoproteína produzida pelas células endoteliais e megacariócitos (trombócitos) e está presente no plasma e nas plaquetas. É armazenado nos grânulos alfa dos megacariócitos e das plaquetas, e nos corpos de Weibel-Palade das células endoteliais de onde é

secretado. O FVW tem duas funções principais: liga-se ao colágeno presente no endotélio e nas plaquetas, promovendo assim fibrose vascular na injúria vascular ou liga-se e transporta o fator VIII (FVIII), protegendo-o da degradação proteolítica no plasma (SANDLER et al., 1998).

Já é sabido que a inflamação e o sistema nervoso simpático determinam importante papel no desenvolvimento da Hipertensão, no entanto, pouco ainda se sabe sobre o papel da microbiota intestinal Santisteban et al. (2017) demonstraram que animais hipertensos apresentam aumento significativo da permeabilidade de bactérias patogênicas e isto foi associado com o aumento da atividade nervosa simpática e da expressão de marcadores inflamatórios, bem como redução de proteínas denominadas de proteínas de junção firmes (*Tight junction – TJs*) ou junção de barreira das células epiteliais do intestino. Além disso, estes autores (SANTISTEBAN et al., 2017) observaram um o aumento dos níveis de tirosina hidroxilase no intestino delgado de animais hipertensos, em comparação com animais normotensos, mostrando assim que o sistema nervoso central atua na motilidade do trato gastrointestinal e que sensores intestinais informam o sistema nervoso central sobre o estado do trato gastrointestinal por meio de receptores de padrão e por neuro-hormônios

Essa interação entre o sistema nervoso central e intestino é conhecido como eixo microbiota intestinal – cerebral (KONTUREK et al., 2011). De acordo com Konturek et al. (2011), o estresse crônico causa desregulação das gram-bactérias microbianas intestinais e das funções digestivas, supostamente por alterações nos níveis de neurotransmissores, os quais afetam direta ou indiretamente a microbiota intestinal, aumentando a virulência de bactérias (FARHARDI et al., 2007; WALLON et al., 2008; KONTUREK et al., 2011).

Neste sentido, o uso de alguns probióticos pode inibir a hipersensibilidade e a permeabilidade intestinal causada pelo estresse (KONTUREK et al., 2011) e favorecer assim o equilíbrio da microbiota intestinal, podendo até contribuir para menores taxas de hospitalização e cirurgia e melhorar a qualidade de vida (FULLER et al., 1989; YAMAMOTO et al., 1993; HATA et al., 1996; SEPPO et al., 2003; MIZUSHIMA et al., 2004; COPPOLA; GIL-TURNES, 2004;). Saad et al. (2006) destacam ainda a importância da suplementação não só dos probióticos (derivados dos leites fermentados cultivados com *Lactobacillus* vivos), mas também de prebióticos (derivados de grãos fermentados) e simbióticos (produtos encapsulados com substratos de plantas), contribuindo de forma preventiva e terapêutica a saúde. Diante de seu importante

desempenho na regulação da microbiota intestinal, os probióticos destacam-se também no tratamento de doenças cardiovasculares, porém, não existem trabalhos que investiguem seus efeitos na estrutura celular da musculatura lisa vascular, apenas na funcionalidade dos vasos (SZULINSKA et al., 2018).

Já tem sido demonstrado que o uso crônico de DEX pode inibir as enzimas ciclooxigenases 1 e 2 (COX1 e COX2) (NARUM et al., 2014), responsáveis pela proteção gastrointestinal e cardiovascular (BARNES et al., 1998; PEREIRA et al 2007). Ambas inibidas, por sua vez, promovem hemorragia gastrointestinal e aumento de fatores pró-trombóticos (BOUMPAS et al., 1993; BARNES et al., 1998), que provoca inibição da secreção de muco e quebra a barreira epitelial do intestino (NARUM et al., 2014). Isto pode consequentemente, contribuir para uma grande facilitação às infecções por fungos, bactérias, vírus e parasitas, o que gera infecções graves (CARSON et al., 1991; PEREIRA et al., 2007; NARUM et al., 2014; YOSHIKAWA et al., 2017; WU et al., 2018). No entanto, os resultados apresentados são incongruentes sobre o uso crônico de DEX e seus efeitos na microbiota intestinal. Vivan et al. (2017) e Wu et al (2018) demonstraram a interferência negativa direta na quantidade de bactérias, ou seja, diminuição tanto das bactérias gram-negativas quanto das gram-positivas devido ao uso crônico com DEX nas dosagens de 1,0 mg/kg por 5 dias e 50 µg por 7 semanas, respectivamente. Além desses efeitos, WU et al. (2018) observaram que a DEX aumentou a glicemia e o triglicerídeo sanguíneo, diminuiu a massa do baço, do fígado, do citocromo C, além de determinar aumento de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), interleucinas 1 β (IL-1 β) e receptor toll-like 2 (TLR2), esse último, por sua vez, é responsável pelo reconhecimento de substâncias estranhas na superfície celular, ativando a liberação de fatores inflamatórios. Por outro lado, Yoshikawa et al. (2017) e Yap et al., (2018) não observaram diferença significativa no aumento da permeabilidade de bactérias em células endoteliais da microbiota intestinal de bovinos *in vitro*, incubadas com DEX.

Como mostrado anteriormente, não é de hoje que o uso de probióticos vêm sendo utilizado para melhorar o equilíbrio da microbiota intestinal e promoção de saúde (YAMAMOTO et al., 1993; HATA et al., 1996; SEPPO et al., 2003; MIZUSHIMA et al., 2004) e, devido à preocupação em entender os mecanismos que determinam as alterações na microbiota e qual o real efeito destas alterações no controle de vários sistemas do nosso organismo, seus estudos estão aumentando exponencialmente (LONTUREK et al., 2011; PETRIZ et al., 2013; YOSHIKAWA et al., 2017;

SANTISTEBAN et al., 2017; YAN et al., 2017; KATSI et al., 2019; MUNIR et al., 2023; VIRWANI et al., 2023; TORRES-SÁNCHEZ et al., 2023). No entanto, ainda não está totalmente esclarecido o papel da suplementação com probióticos e, consequentemente, da microbiota intestinal na rigidez arterial induzida pela DEX. Seppo et al. (2003) demonstraram redução significativa da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) de indivíduos hipertensos suplementados com probiótico *Lactobacillus helveticus*, quando comparados com indivíduos que não foram suplementados. Concordando com estes resultados, Mizushima et al. (2004) demonstraram redução significativa da PAS e PAD de indivíduos hipertensos ao final do tratamento com soro do leite que continham *Lactobacillus Helveticus* e Cerevisial. Além disso, estes autores (MIZUSHIMA et al., 2004) observaram redução significativa dos níveis plasmáticos da angiotensina II ao final do protocolo, sugerindo que o uso do probiótico pode reduzir a PA pela inibição do SRAA. No entanto, estes autores só analisaram PA e não investigaram seus mecanismos.

1.5. O papel da microbiota na função de barreira intestinal e inflamação sistêmica.

É importante destacar a influência da microbiota intestinal na inflamação sistêmica. Além da produção de metabólitos tóxicos, as bactérias gram-negativas possuem lipopolissacarídeos (LPS) em sua parede celular, que são endotoxinas pró-inflamatórias (VON HAEHLING & ANKER, 2005). Para evitar a translocação bacteriana para a corrente sanguínea, existe uma arquitetura celular no espaço paracelular do epitélio intestinal (FARQUHAR & PALADE, 1963). Essa arquitetura inclui três zonas: 1) junções tipo *gap*, localizadas na base, que permitem a comunicação entre células e a passagem de íons e moléculas pequenas (NIELSEN et al., 2012); 2) zônulas de adesão, formadas por desmossomos que ancoram as células umas às outras, mantendo a integridade do epitélio intestinal; e 3) zônulas de oclusão (*tight junctions*), que atuam como barreira selante, impedindo a passagem de macromoléculas. Essas zônulas de oclusão são responsáveis pela função de barreira do epitélio intestinal (BISCHOFF et al., 2014).

As zônulas de oclusão consistem em complexos proteicos compostos por quatro proteínas principais: claudinas, ZO's (zônulas de oclusão), ocludinas e JAM's (moléculas de adesão de junção). As claudinas são proteínas transmembrana presentes nas células epiteliais que se ligam às claudinas das células vizinhas. Elas desempenham um papel crucial na vedação do espaço paracelular, impedindo a passagem de patógenos e

macromoléculas para a corrente sanguínea (GÜNZEL & YU, 2013). Por outro lado, as ZO's são proteínas citoplasmáticas às quais estão ancoradas as claudinas, ocludinas e JAM's, ligando-se ao complexo de actina do citoesqueleto celular. Ocludinas e JAM's também são proteínas transmembrana que desempenham um papel regulador na passagem de íons e pequenas moléculas (GROSCHWITZ & HOGAN, 2009).

Quando a função da barreira epitelial intestinal está comprometida, ocorre a translocação bacteriana para a corrente sanguínea. Nesse contexto, lipopolissacarídeos (LPS) de bactérias gram-negativas encontram-se com proteínas ligantes de LPS (LPS Binding Protein; LBP), ativando uma cascata inflamatória (ANKER et al., 1997). Isso leva ao aumento da produção de citocinas, tais como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e as interleucinas-1 (IL-1) e -6 (IL-6) (GENTH-ZOTZ et al., 2002).

Essa inflamação sistêmica exacerbada induzida pela microbiota é uma hipótese mecanicista que é discutida com base em evidências em pacientes com insuficiência cardíaca (SANDEK et al., 2007; PASINI et al., 2016), sepse (DOIG et al., 1998), cirrose (CIRERA et al., 2001) e outras condições que apresentam comprometimento da função de barreira do epitélio.

1.6. Treinamento físico, Microbiota intestinal e rigidez arterial.

O treinamento físico aeróbio (TFA) (BAREL et al., 2010; JORDÃO et al., 2011; PETRIZ et al., 2013; GLIEMANN et al., 2015; KHON et al., 2018; HASEGAWA et al., 2018; GUERS et al., 2019; MIOTTO et al., 2021b; GIOSCIA-RYAN et al., 2021; LOPES et al., 2021), ou treinamento físico resistido (TFR) (MACEDO et al., 2014; SHIMOJO et al., 2015; KRUG et al., 2016; PALMA et al., 2016; BOENO et al., 2020; LINO et al., 2020) ou combinado (SON et al., 2017; BRELLENTIN et al., 2019; DIAS et al., 2020; LOPES et al., 2021; SAZ-LARA et al., 2021; XIN et al., 2022; LI et al., 2022; THOMAS et al., 2022; TARDELLI et al., 2022) são estratégias não farmacológicas eficazes no tratamento de doenças cardiovasculares (SCHROEDER et al., 2019; LOPES et al., 2021; SAZ-LARA et al., 2021; XIN et al., 2022; LI et al., 2022; THOMAS et al., 2022). Seus efeitos sobre a VOP também vêm sendo analisados, apesar de ainda apresentarem resultados conflitantes, dependendo do tipo de exercício e da intensidade. Enquanto alguns autores têm demonstrado redução de VOP em hipertensos após TFA (HASEGAWA et al., 2018; KHON et al., 2018; GUERS et al., 2019; MYNARD et al., 2019), o TFR pode promover aumento na VOP (COLLIER et al., 2011; OKAMOTO et al., 2015; SMITH et al., 2015;

PALMIERE et al., 2018), nenhum efeito (CORTEZ-COOPE et al., 2008; ROBINSON et al., 2018; CRAIGHEAND et al., 2021) ou diminuição (FIGUEROA et al., 2013; WONG et al., 2015; DIAS-SANTOS et al., 2021).

Dentre os mecanismos induzidos pelo TFA, que contribuem para promover redução da rigidez dos vasos, pode-se citar a melhora do estresse oxidativo e redução de fatores fibróticos vasculares, como redução do receptor de angiotensina II (AT1) e TGF- β I no envelhecimento (FLEENOR et al., 2010; GU et al., 2014) redução dos níveis séricos do fator vasoconstritor endotelina-1 (OTSUKI et al., 2006), aumento de fator vasodilatador eNOS/NO (HASEGAWA et al., 2018), redução da atividade simpática periférica (JEONG et al., 2023) e na menor deposição de colágeno e aumento de elastina na túnica média das artérias na hipertensão (ELEUTERIO-SILVA et al., 2013; ROQUE et al., 2013; KHON et al., 2018; MIOTTO et al., 2023).

Em relação ao TFR, tem sido demonstrado que pode haver aumento da rigidez arterial devido a um aumento significativo da atividade nervosa simpática, como observado em mulheres obesas e na menopausa (SMITH et al., 2015) ou aumento da densidade de colágeno na artéria aorta, como observado em roedores (SOUZA et al., 2017). E diminuição da rigidez arterial devido uma melhora do fluxo sanguíneo nos vasos causado por liberação de fatores endoteliais (LEONE et al., 2009; LIAO et al., 2010; RIBEIRO et al., 2017; TURRI-SILVA et al., 2021). No entanto, esses trabalhos não avaliam mudanças na estrutura dos vasos causados pelo TFR, desta forma, mais trabalhos precisam esclarecer esses mecanismos envolvidos na rigidez arterial.

As respostas na microbiota intestinal causadas pelo TF podem ser influenciadas pela intensidade e tipo do exercício (AYA et al., 2021). A corrida voluntária em uma roda por um período de 6 semanas demonstrou reduzir os sintomas, enquanto a corrida forçada exacerbou a inflamação intestinal e os resultados clínicos em um modelo de colite em camundongos (ALLEN et al., 2015). Este estudo preliminar em animais demonstrou que a atividade física pode modificar a composição da microbiota e afetar a função metabólica, com possíveis consequências positivas ou negativas no desempenho. Luo et al. (2014) demonstraram que o TFA moderado pode atenuar os efeitos da disfunção da barreira intestinal induzida pelo estresse, uma vez que houve melhora na permeabilidade intestinale na preservação da mucosa, o que colaborou para menores taxas de migração bacteriana, além de supra regulação da expressão gênica de antimicrobiana no tecido do intestino delgado. Em concordância, Campbell et al. (2016) demonstraram que o TFA moderado foi capaz de reduzir biomarcadores inflamatórios e manter a microbiota intestinal íntegra, atribuindo este efeito benéfico ao aumento das bactérias Bacteroidetes nos animais treinados, bem como diminuição da COX-2, a qual induz inflamação e

que estava inversamente aumentada apenas nos animais sedentários e induzidos a dieta hiper lipídica.

Além destes efeitos benéficos cardiovasculares e na microbiota intestinal, o TF aeróbico à moderada intensidade pode estar envolvido no equilíbrio da microbiota pela melhora das respostas imunológicas. Neste sentido, Cook et al. (2016) relataram que o TF aeróbico aumentou citocinas anti-inflamatórias e diminuiu as inflamatórias, bem como diminuiu os níveis de TNF- α em camundongos suscetíveis à disbiose. Ainda neste estudo, os autores observaram aumento de bactérias lactobacillus, firmicutes e diminuição dos bacteroidetes, ou seja, o TFA foi capaz de promover melhora intestinal equilibrando a microbiota intestinal. Em concordância, Allen et al., (2018) demonstraram que o TF aeróbico por 6 semanas de moderada à alta intensidade, até 60 min de duração, foi capaz de modular a microbiota intestinal de homens e mulheres jovens, obesos e magros.

Já com relação ao TF resistido, recentemente, Jang et al. (2019) observaram que atletas que fizeram o treinamento de musculação, suplementados com macronutrientes, apresentavam menores quantidades de bactérias, quando comparados a corredores e sedentários. Além disso, os atletas de musculação tinham maior porcentagem de energia obtida por proteínas, sugerindo que os tipos de nutrientes derivados do soro do leite podem influenciar particularmente na biodiversidade microbiana do intestino de atletas em diferentes modalidades de exercício físico. No entanto, pouco se sabe sobre a combinação destes dois tipos de exercícios na microbiota intestinal.

São poucos os trabalhos que demonstram os efeitos do probióticos na VOP. Jauhiainen et al. (2010) analisaram os efeitos do tratamento de 4 e 12 semanas com baixas e altas doses de probiótico (lactobacillus Helveticus) em indivíduos hipertensos ou com síndrome metabólica, de 25 a 55 anos de idade e relataram que o tratamento foi capaz de reduzir VOP e pressão arterial. Recentemente, uma meta-análise (SZULINSKA et al., 2018) mostrou que doses baixas e altas de probiótico com multiespécies de bactérias, contribuiu para a melhora do perfil cardiometabólico, redução de citocinas inflamatório, redução da PA sistólica e VOP em mulheres ativas em período pós-menopausa (SZULINSKA et al., 2018). Embora a redução significativa das variáveis hemodinâmicas e citocinas inflamatórias tenha sido observada com o uso do probiótico nesse último estudo (SZULINSKA et al., 2018), os mecanismos específicos e o envolvimento de proteínas estruturais vasculares pelos quais ele atua ainda não estão completamente esclarecidos. Estudos direcionados para investigar esses mecanismos são necessários para uma compreensão mais profunda dos efeitos benéficos do probiótico na redução da rigidez arterial e melhoria da saúde cardiovascular. Compreender esses

mecanismos pode abrir novas perspectivas terapêuticas e estratégias preventivas para doenças cardiovasculares relacionadas à rigidez arterial.

Recentemente, o treinamento físico combinado (TF_C), que contempla sessões de TFA e TFR de moderada intensidade, tem sido considerado uma ferramenta eficaz no controle de fatores de risco de doenças cardiovasculares e recomendado pelas Sociedades de Hipertensão (WHELTON et al., 2018; WILLIAMS et al., 2018; SHARMAN et al., 2019; Unger et al., 2020; BARROSO et al., 2021). Segundo Cortez-Cooper et al. (2007) o TF_C de moderada a alta intensidade em indivíduos normotensos de 40 a 80 anos não determinou diferença significativa na complacência arterial, nem da VOP. Em contrapartida, outros autores observaram que o TF_C, realizado no mesmo dia ou em dias alternados, foi capaz de reduzir a PA sistólica e VOP em mulheres obesas normotensas e hipertensas (YANG et al., 2011; FIGUEROA et al., 2014; SON et al., 2017). Em concordância, TF_C além de diminuir significativamente a VOP, foi capaz de reduzir frequência cardíaca e a espessura da parede femoral (intima-média) em indivíduos diabéticos (FRANCOIS et al., 2017).

Embora existam dados limitados sobre TF_C, há sugestões de controle que podem contribuir para melhorar da função e da estrutura do vaso. Esses controles incluem aumento de NO_x plasmático (um indicador da produção de óxido nítrico) em pessoas idosas (OTSUKI et al., 2020), diminuição da endotelina-1 e aumento dos níveis de nitrito/nitrato em meninas obesas e pré-hipertensas (SON et al., 2017) e ratos hipertensos (DIAS et al., 2020) e melhorias nos níveis sanguíneos de marcadores inflamatórios, controle do estresse oxidativo e atenuação de complicações neuroimunes e cardiovasculares em ratos espontaneamente hipertensos que foram induzidos a essas condições por meio de um consumo excessivo de frutose (DIAS et al., 2020), a melhora da atividade vagal para os vasos (SONGCHARERN et al., 2022; TARDELLI et al., 2022). Um outro possível mecanismo adicional que pode contribuir para a melhora da rigidez arterial no programa de TF_C é a melhora da função vasodilatadora dependente do endotélio (SON et al., 2017), melhora da redução do estresse oxidativo e da inflamação (SON et al., 2017; RUANGTHAI & PHOEMSAPTHAWEE, 2019; DIAS et al., 2020; PARK et al., 2020; KRESNAJATI et al., 2022). Além desses benefícios, recentemente, nosso grupo demonstrou que o TF_C foi eficaz em atenuar o aumento de VOP e PA induzidos por DEX e este efeito foi associado com a menor densidade de COL-3 na artéria aorta. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos do TF_C, associado ou não a suplementação com probiótico nos mecanismos responsáveis pelo aumento de VOP,

COL 3 e PA induzida pela DEX. Portanto, é extremamente importante a busca pelo esclarecimento de quais mecanismos estão sendo modulados pelo uso de probiótico associados ou não com o TF_C na atenuação do aumento da rigidez arterial induzida pela DEX.

2. HIPÓTESE

Alterações da microbiota intestinal estão envolvidas na rigidez arterial induzida por dexametasona;

O treinamento físico combinado, associado ou não à suplementação com probiótico, atenua a rigidez arterial induzida pelo tratamento crônico com Dexametasona por atenuar a formação de colágeno na artéria aorta.

3. OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos da suplementação de probiótico associado ou não com treinamento físico combinado nos mecanismos envolvidos no aumento da rigidez arterial e de pressão arterial em ratos tratados com DEX.

3.1. Objetivos específicos:

- 3.1.1.** Avaliar os efeitos da suplementação prévia com probiótico, associada ou não com o TFC, nas variáveis hemodinâmicas (VOP, PAS, PAD, PAM e FC) e no balanço autonômico para o coração e drive simpático para os vasos nos animais tratados com DEX.
- 3.1.2.** Avaliar os efeitos da suplementação prévia com probiótico, associada ou não com o TFC nas quantidades plasmáticas de biomarcadores inflamatórios e anti-inflamatórios nos animais tratados com DEX.
- 3.1.3.** Avaliar os efeitos da suplementação prévia com probiótico, associada ou não com o TFC na produção de proteínas envolvidas na cascata de síntese de COL 3, tais como TGF- β 1, receptor 2 de TGF- β 1 (TGFR2), SMAD2/3 (total e fosforilada) e COL 3 na artéria aorta de ratos tratados com DEX

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos conduzidos para esta pesquisa estavam de acordo com as normas ditadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências da Unesp, Campus de Bauru (Protocolo #272/2020 Vol. 1). Foram utilizados 134 ratos Wistar, provenientes do Biotério Central de Botucatu, Unesp (200-250g). Foram mantidos em gaiolas coletivas no biotério de manutenção da Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp, Campus de Bauru, com ciclo claro escuro de 12:12 horas e temperatura controlada (22° C), sendo fornecidas ração e água *ad libitum*. Os ratos foram pesados semanalmente durante o protocolo de treinamento e diariamente durante o tratamento com DEX.

4.1. Grupos experimentais

A tabela 1 ilustra os diferentes grupos de animais e seus respectivos tratamentos.

Tabela 2. Os grupos de animais que receberam suplementação com probiótico e/ou tratamento com dexametasona ao longo do protocolo experimental.

Grupos	Tratado /Suplementado	Dose/ via	Nº	PC
SC	Salina + Água	50 µg/kg peso corporal s.c. + 2mL H ₂ O oral	19	371,62 ± 16
SP	Salina + <i>L. casei</i>	50 µg/kg peso corporal s.c. + 10 ⁹ UFC/g/2mL oral	22	375,43 ± 14
SD	DEX + Água	50 µg/kg peso corporal s.c. + 2mL H ₂ O oral	21	354, 83 ± 16
SPD	<i>L. casei</i> + DEX	50 µg/kg peso corporal s.c. + 10 ⁹ UFC/g/2mL oral	22	361, 40 ± 17
TC	Salina + Água	50 µg/kg peso corporal s.c. + 2mL H ₂ O oral	15	357, 66 ± 20
TP	Salina + <i>L. casei</i>	50 µg/kg peso corporal s.c. + 10 ⁹ UFC/g/2mL oral	14	385,76 ± 21
TD	DEX + Água	50 µg/kg peso corporal s.c. + 2mL H ₂ O oral	15	369, 16 ± 19
TPD	<i>L. casei</i> + DEX	50 µg/kg peso corporal s.c. + 10 ⁹ UFC/g/2mL oral	15	386,76 ± 21

Sedentário controle (SC); Sedentário probiótico (SP); Sedentário dexametasona (SD); Sedentário probiótico + dexametasona (SPD); Treinado controle (TC); Treinado probiótico (TP); Treinado dexametasona (TD); Treinado probiótico + dexametasona (TPD); *Lactocaseibacillus casei* Shirota (*L. casei*); Dexametasona (DEX); Peso corporal (PC).

Protocolo Experimental

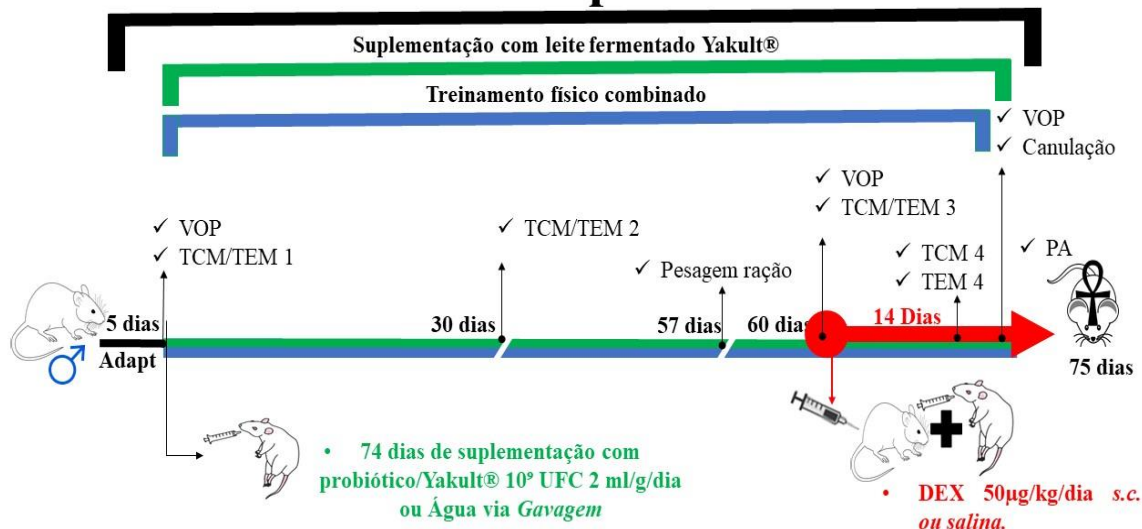


Figura 2. Protocolo experimental de 75 dias, sendo que durante os 60 dias foi realizado a suplementação com probiótico (2 ml) ou água concomitantemente com treinamento físico/sedentarismo (preto) e durante os últimos 14 dias, adicionalmente, o tratamento com dexametasona (DEX) ou salina (vermelho). Eutanásia ocorreu no 15º dia. Verificação da ingestão alimentar foi realizada nos 3 dias que antecedem o início do tratamento e ao longo dos 14 dias de dexametasona. A análise de velocidade de onda de pulso (VOP) foram realizadas no início, ao final de 60 dias e no 13º dia de tratamento após a cateterização da carótida (canulação). A pressão arterial (PA) direta foi realizada após 24h da canulação; O teste de carregamento máximo na escada (TCM) e o teste de esforço máximo na esteira (TEM) foram realizados inicialmente, no final de 60 dias e no 11º e 12º dia de DEX, respectivamente.

A Figura 1 ilustra a linha do tempo do protocolo experimental que foi realizado durante 74 dias do protocolo experimental. Após adaptação na esteira e escada os ratos foram submetidos aos testes de capacidade física máxima na esteira e ao teste de carregamento máximo na escada. Em seguida foi realizada a medida da VOP. Foram então separados em 8 grupos, com peso, capacidade física e VOP semelhantes, como demonstrado na tabela 1. TF_C . Após a separação dos grupos, deu-se início o tratamento com probiótico, o qual foi realizado durante os 74 dias de protocolo experimental. Para tanto os animais foram pesados semanalmente e receberam a dosagem de 10^9 unidade formadora de colônia por grama (UFC/g), em 2 ml/dia (*gavagem*). Ao mesmo tempo, os animais dos grupos treinados iniciaram seu TF_C . Os testes de capacidade física foram repetidos ao final da 4ª e 8ª semana para garantia e manutenção da intensidade do TF_C , bem como no final do protocolo para avaliar os efeitos do treinamento. As análises de VOP também foram realizadas na 8ª semana, antecedendo o tratamento com DEX e no final do protocolo experimental, para analisar os efeitos do treinamento e da DEX na rigidez arterial. O tratamento com a DEX foi realizado nos últimos 14 dias, concomitantemente com o treinamento e tratamento com probiótico. Ao final do protocolo os animais foram anestesiados para análises de PA e FC.

4.2. Tratamento com probiótico e dexametasona.

4.2.1. Probiótico

Como pode ser observado na Figura 1, o tratamento foi realizado com o probiótico *Lactocaseibacillus casei* (L. casei) shirota presente no leite fermentado Yakult®, o qual possui, de acordo com a embalagem, 65ml de probiótico com 10^{11} UFC/g de casei shirota. Diariamente os animais receberam 2ml via intragástrica (*gavagem*) durante os 74 dias do protocolo experimental, o que corresponde a uma dose aproximada de 10^9 UFC/g. Esta dose foi escolhida devido a sua eficácia em melhorar disbiose intestinal (LIEW e al., 2019)

4.2.2. Dexametasona

Foi utilizado o fármaco Decadron injetável (fosfato dissódico de dexametasona – 4 mg/ml, ampola de 2,5 ml) do laboratório farmacêutico Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A (Guarulhos, SP, Brasil) e foi administrada a dose de 50 µg/kg de peso corporal (PC) por dia, de forma subcutânea (s.c.), durante os últimos 14 dias, sempre no período da manhã (até às 9h da manhã) para cada animal (Figura 1). A dose escolhida foi baseada em resultados previamente publicados pelo nosso grupo (HERRERA et al., 2016) que mostraram que esta dose era capaz de induzir HA nos animais.

4.3. Teste de esforço máximo na esteira (TEM)

Os animais foram submetidos a um período de 5 dias de adaptação à esteira, modificada para ratos, que possui 10 raia suspensas de ferro (Inbramed, Millennium). Após a adaptação, todos os ratos realizaram o teste de esforço máximo (TEM-1), utilizando um protocolo previamente publicado que preconiza aumentos de 0,3 km/h a cada 3 minutos até a exaustão, ou seja, o momento em que os animais não conseguiam mais correr sozinhos (BAREL et al., 2010). Posteriormente, os ratos foram reavaliados na 4ª e 8ª semanas (TEM-2 e TEM-3, respectivamente) para reajuste das velocidades e manutenção da intensidade proposta até o final do protocolo e após os 14 dias de tratamento farmacológico (TEM-4), para avaliação da capacidade física no final do protocolo, como ilustrado na Figura 1. Os animais sedentários foram readaptados durante os 5 dias que antecederiam os testes e realizaram os testes máximos nos mesmos períodos que os treinados.

4.4. Teste de carregamento máximo na escada (TCM)

Os animais foram adaptados ao ato de escalar em uma escada validada para uso com animais (HORNBERGER e FARRAR, 2004) por 5 dias. Ao atingirem o topo da escada (caixa com 20 x 20 x 20 cm), foi esperado um intervalo de 2 minutos de descanso para realizarem a próxima subida. Todos os ratos completaram 3 subidas consecutivas durante o período de adaptação como previamente publicado (Macedo et al., 2014). Após a última sessão de adaptação, foi iniciado o teste de carregando máximo, com carga inicial de 75% do PC dos animais acoplado na cauda para o ato da escalada (MACEDO et al., 2014). Após o descanso por 2 minutos, as subidas se repetiram sucessivamente, com incremento de 30 gramas a cada tentativa. Foi considerada a carga máxima dos ratos quando os mesmos não efetuavam a escalada completa, mesmo após três estímulos manuais em sua cauda. O teste de carregamento máximo foi realizado no início (TCM-1), na 4ª semana (TCM-2), para ajuste das cargas e manutenção da intensidade, na 8ª semana de treinamento, imediatamente antes do tratamento farmacológico (TCM-3) e ao final dos 14 dias de tratamento com DEX (TCM-4), como ilustrado na Figura 1. A única diferença nestes momentos foram os incrementos de carga entre as subidas: 30g (TCM-1), 50g (TCM-2) e 100g (TCM-3 e TCM-4). Os animais sedentários foram readaptados nos 5 dias que antecederiam os testes e realizaram os TCM nos mesmos momentos que os treinados.

4.5. Treinamento físico combinado (TFc)

O TF_c, ou seja, a realização do TFA e TFR em dias alternados foi executado como previamente descrito (DIAS et al., 2021; TARDELLI et al., 2022; DE PAULA et al., 2023) até o final do protocolo experimental.

Brevemente, o TF_c, envolve treinamento aeróbico e resistido e foi conduzido por um período de 74 dias usando esteira em nível plano e escada vertical, como mencionado anteriormente (DIAS et al., 2021; TARDELLI et al., 2022; DE PAULA et al., 2023). As sessões de treinamento aeróbico ocorreram na esteira, com intensidade de 60% da capacidade física máxima, com duração de 1 hora por dia, intercaladas com as sessões de treinamento resistido (TARDELLI et al., 2022; DE PAULA et al., 2023). Da mesma forma, as sessões de treinamento resistido foram realizadas na escada, com intensidade moderada de 60% da carga máxima voluntária de contração, envolvendo 15 subidas por sessão e

intervalo de 1 minuto entre as subidas, intercaladas com as sessões de treinamento aeróbico (TARDELLI et al., 2022; DE PAULA et al., 2023).

4.6. Protocolo de treinamento físico aeróbio (TFA)

Após o TEM-1 os ratos iniciaram o TFA em esteira ergométrica, durante uma hora por dia, por 60 minutos, em dias alternados com o TFR, pelo período de 74 dias. Na primeira semana os animais realizaram o protocolo experimental com velocidade correspondendo a 50% do TCM-1, progredindo, a partir da 2ª semana de treinamento, para 60% do TEM-1, como previamente publicado. (HERRERA et al., 2016). Durante os 14 dias de tratamento farmacológico, foi repetido o treino da 7ª e 8ª semanas, sendo a carga de treinamento calculada a partir do TEM-3. Ao final do período de tratamento foi realizado o TEM-4, para a avaliação do efeito do treinamento combinado na capacidade de esforço máximo na esteira dos animais.

4.7. Protocolo de treinamento resistido (TFR)

Após o TCM-1, o TFR foi realizado alternando com treinamento físico aeróbio (TFA), num total de 74 dias. Este protocolo, adaptado de Macedo et al. (2014) foi realizado da seguinte forma: Os animais iniciaram a escalada com o peso corporal (aquecimento) e, após a pausa de 1 minuto no cume da escada, foi fixado um peso na cauda do animal correspondente a 40% do TCM-1. Durante as primeiras 2 semanas iniciais a intensidade foi aumentada progressivamente de 40 a 60% do TCM-1, possibilitando que os animais pudessem iniciar a terceira e quarta semanas treinando a 60% da carga máxima. Os ratos iniciaram o treinamento realizando nove subidas que, posteriormente, aumentou gradativamente para 20 subidas. A partir da quinta semana, a intensidade do carregamento foi mantida a 60% da carga máxima, determinada pelo TCM-3. Da 5ª a 8ª semana, os ratos realizaram em torno de 14 e 20 subidas. Durante os 14 dias de tratamento farmacológico, repetiu-se o formato de treino da 7ª e 8ª semanas, sendo a carga de treinamento calculada a partir do TCM-3. Ao final do período de tratamento foi realizado o TCM-4, para que fosse avaliado o o efeito do treinamento combinado na capacidade de carregamento máximo dos animais.

4.8. Análises da velocidade da onda de pulso (VOP)

Como ilustrado na Figura 1, as análises da velocidade de onda de pulso (VOP) foram realizadas no início, ao final da oitava semana e no final do protocolo experimental. Para tanto, os animais foram pesados e anestesiados com cloridrato de xilasina (ANASEDAN®, 10 mg/kg), e cloridrato de quetamina (DOPALEN®, 50 mg/Kg), VETBRANDS do Brasil e foram posicionados em decúbito ventral sobre o berço aquecedor (45°C, Bonther®, RibeForam Preto, SP) por 5 minutos, com um dos sensores posicionado no membro torácico e o outro no membro pélvico dos animais (FABRÍCIO et al., 2020; DE PAULA et al., 2023). Após a colocação dos sensores, o aparelho foi calibrado, de acordo com a medida da distância (em centímetros) entre os dois sensores. A medida do tempo de trânsito (TT, s) foi realizada pelo software popmètre® 1.0 (AxelifeSAS, France, TousDroits reserves®, Axelife SAS 2013) e a VOP foi calculada a partir da seguinte fórmula: $VOP (m/s) = \frac{D (m \% 100)}{TT (m \% 1000)}$

Foram coletadas 10 medidas por rato e a média foi considerada o valor de cada animal.

4.9. Determinação da pressão arterial direta

4.9.1. Confeção De Cânulas

As cânulas utilizadas foram confeccionadas com tubos de polietileno PE-50 (Scientific Commodities Inc. Lake Havazu, AZ, Estados Unidos) e posteriormente soldadas a tubos de polietileno PE-10 (Scientific Commodities Inc. Lake Havazu, Az, Estados Unidos) como já publicado previamente (AMARAL et al., 2000). Os ratos foram anestesiados com cloridrato de xilasina (ANASEDAN®, 10 mg/kg) e cloridrato de quetamina (DOPALEN®, 50 mg/kg). Após localizar e limpar a artéria femoral, foi feita uma pequena incisão para que consiga introduzir a parte mais fina da cânula, a qual foi preenchida com solução fisiológica heparinizada, como previamente publicado (HERRERA et al., 2016). A outra extremidade da cânula foi exteriorizada na região dorsal do animal. Foi esperado um período de 24 horas para a recuperação dos animais.

4.9.2. Registro De Pressão Arterial (PA) E Frequência Cardíaca (FC)

Após a recuperação (de 24 horas) do procedimento cirúrgico, a PA foi registrada continuamente nos ratos acordados e com livre movimentação, em repouso. A cânula da artéria femoral foi conectada ao sistema de registro (transdutor + pré-amplificador, ADInstruments®, Colorado Springs, CO, Estados Unidos) que é conectado ao computador, utilizando um software LabChartPro v 7.0, pelo qual é obtida a PA pulsátil e média. Foi realizado registro contínuo da PA pulsátil, a 2000Hz por pelo menos 30 minutos para posterior análise espectral do sinal de PA. A FC também foi computada diretamente pelo software a partir dos pulsos de PA, como previamente publicado (HERRERA et al., 2016). Os valores de PA sistólica (PAS), PA diastólica (PAD) e PA média (PAM) foram calculados a partir dos valores de PA pulsátil.

4.9.3. Análise espectral

O software LabChartPro v7.0, da ADInstruments, NSW, Austrália, será utilizado para processar os registros de pressão arterial (PA) e intervalo de pulso dos animais. O software detectará pontos de inflexão ciclo a ciclo no sinal de PA pulsátil, permitindo a determinação batimento a batimento dos valores da pressão arterial sistólica (PAS). A variabilidade da frequência cardíaca (FC) e da PAS serão analisadas no domínio da frequência por meio do software CardioSeries V2.7, desenvolvido por Daniel Penteado Martins Dias da Universidade de São Paulo (USP).

A análise da variabilidade da FC será realizada por meio da decomposição do sistograma, utilizando a Transformada Rápida de Fourier. A variabilidade da PAS será analisada a partir do tacograma de registro da PAS. A partir desses dados, serão determinadas as potências das bandas de baixa frequência (LF, 0,20-0,75 Hz) e das bandas de alta frequência (HF, 0,75-3,0 Hz). A banda de baixa frequência corresponde à atividade nervosa simpática e parassimpática, enquanto a banda de alta frequência corresponde à atividade nervosa parassimpática. O balanço simpático-vagal será analisado pela razão LF/HF.

4.10. Obtenção das amostras de sangue

Ao final do protocolo experimental, sob anestesia intracardíaca profunda (cloridrato de cetamina 160 mg/kg e cloridrato de xilasina 20 mg/kg) os ratos foram decapitados e o sangue do tronco foi coletado em tubos plásticos contendo heparina de lítio (Vacutainer® - BD). As amostras de sangue foram centrifugadas ($2.268 \times g$ por 5 min a 4°C), em seguida o soro sanguíneo foi coletado e armazenado a -80°C , para análise de biomarcadores inflamatórios.

4.11. Retirada de tecidos

Após eutanásia, a artéria aorta e o cólon distal foram retirados, devidamente limpos e imediatamente submersos em nitrogênio líquido para o imediato congelamento e armazenamento em freezer -80°C para futuras análises de produção proteica (Fang et al., 2019). As glândulas adrenais foram removidas, limpas e pesadas para confirmar a eficácia da DEX. Glândulas adrenais, aorta torácica, peso do cólon ascendente e descendente foram normalizados pelo comprimento do osso da tíbia (cm).

4.12. Protocolo de dosagem de proteínas

A aorta congelada foi homogeneizada com a utilização do gral e macerado com o pestilho, sempre submersos em nitrogênio líquido (DE PAULA et al., 2023) e para o cólon distal foi realizada a homogeneização com a utilização o homogeneizador polytron (IKA T18, Staufen, Germany) (MACEDO et al., 2014). A aorta macerada foi depositada em tubos com solução tampão RIPA (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA) que continha: 0,5 de Tris Base, pH 7,4, 1,5M de NaCl, 2,5% de ácido deoxicolo, 10% de NP-40, 10mM de EDTA. Neste tampão foi adicionado um coquetel de inibidores de proteases (0,1%, PIC, Sigma Aldrich, USA). Em seguida, os tubos foram centrifugados a 4°C com ciclo de $16.800 \times rpg$ por 20 minutos. As amostras centrifugadas foram armazenadas no freezer a -20°C até o momento da utilização. As amostras do colón foram homogeneizadas na mesma solução RIPA com os dois inibidores de proteases previamente descritos. Posteriormente, as amostras foram analisadas e os valores de absorbância foram avaliados pelo leitor de placas (BMG labtech, Spectro Star Nano, ARABLAB 2012, Ortenberg, Germany). Após a obtenção do valor de absorbância foram feitos os cálculos da concentração de proteínas em cada amostra, usando a curva padrão

obtida com uso de proteína padrão (Protein Assay Standart II, cat.#500-0007, Bio Rad). Após a dosagem da concentração de proteínas, as amostras foram estocadas a -20° C e utilizadas para os experimentos de Western Blotting.

4.13. Análise de biomarcadores inflamatórios MILLIPLEX-ELISA¹®

As amostras do plasma previamente coletadas foram utilizadas para análise de citocinas e biomarcadores inflamatórios, utilizando os seguintes Kits: (RECYTMAG-65K (Cat. #RECYTMAG-65K, Millipore, SIGMA) para as interleucinas (IL)-4, IL1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, Interferon (IFN)- γ , Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), Fator de Necrose Tumoral (TNF)- α e (RV1MAG-26K- Multi-espécies imunologia Cat. No. TGFBMAG – 64K – 01, Milipore, SIGMA) para TGF- β 1 respectivamente, conforme indicação do fabricante.

Sucintamente, foram selecionadas placas com 96 poços, a qual passaram por lavagem com solução tampão de lavagem (200 μ m) e agitadas durante 10 minutos à 25°C, logo após foram secas com papel absorvente. Após o término da secagem, foram adicionados à placa 25 μ L de cada ponto da curva padrão das amostras de plasma, previamente preparada. Em seguida, foram adicionados 50 μ L das amostras de plasma sanguíneo em cada poço, além de 25 μ L da mistura das esferas magnéticas conjugadas aos anticorpos primários. A placa permaneceu em agitação por 24h a 4°C.

Após essas 24h, foram retirados os líquidos dos poços e a placa foi lavada por 2x com solução tampão sob agitação durante 30 s, com auxílio de um ímã de placa (60s). Logo após, 25 μ L de anticorpos de detecção foram adicionados aos poços e incubados, sob agitação, por 1 hora a 20-25°C. Em seguida, a Estreptavidina-Ficoerytrina foi incubada na placa sob agitação por 30 minutos a 20-25°C. Após outra lavagem com solução tampão, 150 μ L das amostras foram colocadas no fluído de injeção no equipamento as esferas foram ressuspensas em um agitador durante 5 min. Em seguida a placa foi analisada no equipamento MagPix para a detecção de quantidades de citocinas e componentes alvos em pg / mL.

¹ Esta técnica foi realizada em parceria com o Laboratório de Farmacologia sob responsabilidade do prof Titular Carlos Ferreira dos Santos, na Faculdade de Odontologia da USP, Bauru.

4.14. Procedimentos de análise da produção proteica dos tecidos

As amostras da aorta e do colón foram separadas eletroforéticamente por tamanho pelo sistema de gel de poliacrilamida (AMARAL et al., 2001), utilizando a técnica de Western Blot. Basicamente, foi utilizado um gel com duas camadas, em diferentes concentrações: 5% na camada superior e 8% na camada inferior. As amostras das artérias (30µg) foram colocadas no gel e, posteriormente, dentro de uma cuba com solução tampão de corrida (190 mM de glicina, 25 mM de Tris, 0,1% de SDS, pH 8,3). O processo de corrida e separação das proteínas por tamanho ocorreu aproximadamente por 120 minutos a uma voltagem de 200V. O marcador de peso molecular (Precision Plus Protein Standards blue, cat.#161-0373 - Bio-Rad) foi simultaneamente utilizado durante o procedimento. As proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose com aplicação de corrente de 120V, por 1 hora e meia em tampão específico (190 mM de glicina, 25 mM de Tris, 20% de metanol, pH 8,3). A equivalência da quantidade de proteína que foi colocada em cada coluna foi conferida por meio da coloração com *Ponceau*. As membranas foram lavadas em solução de Tris 1M, NaCl 5M, Tween 20 (TBS-T) dissolvidos em água destilada e foram bloqueadas em solução de 5% de albumina sérica bovina (BSA) por 20 minutos, utilizando o sistema SNAP I.D. (Merck- Millipore, Darmstadt, Alemanha), como previamente publicado (HERRERA et al., 2016). Após o bloqueio, as membranas foram lavadas 1 vez por 2 minutos em TBS-T e incubadas por 10 minutos em seu respectivo anticorpo primário, com diluição apropriada para proteínas em 1% de soro bovino de albumina (BSA): Anti-colágeno 3 (Mouse monoclonal anti-Collagen 3 antibody, St Johns Laboratory #STJ97025, 1:800), anticorpo anti-Smad2/3 (*Mothers against decapentaplegic homolog 2 and Mothers against decapentaplegic homolog 3*, SMAD2/3, Anti-Smad2/3 antibody 1-80, antibody, St Johns Laboratory #STJ995697, 1:500), p-SMAD2/3 (anti-phospho-smad2/3-thr 1-80, antibody, St Johns Laboratory #STJ90522, 1:500), anti-receptor 2 do fator transformador beta 1 (Anti-TGFBR2, antibody 23-180, St Johns Laboratory #STJ26170, 1:1000) e anti-fator transformador beta 1 TGF-β1 (TGF-β1, polyclonal anti-TGF beta antibody, Abcam #ab66043, 1:500) foram utilizados para o tecido da artéria aorta. Já as proteínas Claudina-1 (Claudin 1 Antibody, Rabbit Polyclonal, Proteintech #13050-1-AP, 1:1000) e a ocludina (Occludin Antibody, Rabbit Polyclonal, Proteintech #13409-1-AP, 1:1000) foram utilizados no tecido colón distal. Após nova lavagem de 3 vezes, as membranas foram incubadas com o anticorpo secundário (IgG anti-mouse e anti-rabbit, 1:1.000 para colágeno 3, TGF- βI, TGFR2β1, Claudina, Occludina e SMAD 2/3 total e fosforilada,

respectivamente). Como normalizador interno foi utilizado o GAPGH (Glyceraldehyde – 3 – Phosphate Dehydrogenase (GAPDH FL - 335, Santa Cruz #sc-25778, 1:800). Posteriormente, os anticorpos. foram detectados por reação química com a utilização de quimiluminescência aumentada (Immobilon®Crescendo, Western HRP Substrate, Cat.No. #WBLUR0500, Merck-Millipore – Made in USA). As diferenças de quantificação de densitometria proteica entre os grupos foram obtidas pela análise feita pelo software computacional (LI-COR®, Model: 3600, LI-COR, Inc 4647 superior ST. Lincoln, NE 68504 U.S.A., Made in U.S.A). Os resultados de cada proteína foram normalizados pela quantidade de GAPDH e apresentados como % do grupo controle.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Os valores são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) ou mediana, desvios interquartílicos e valores máximos e mínimos com coeficiente de intervalo (CI). Para as amostras com distribuição normal foram utilizados testes paramétricos, análise de variância (ANOVA) de dois caminhos ou teste *t- Student*, conforme grupos. Para as amostras com a distribuição não normal, ajustes foram feitos pelo próprio software Sigma Stat (4ª versão) para utilização de testes não - paramétricos (Tukey). O software GraphPad Prism (versão 8) foi usado para todos os gráficos.

Foram utilizados testes de correlação de Pearson (para os dados paramétricos) e correlação de Spearman (para os dados não paramétricos) entre os parâmetros funcionais e de densitometria proteica usando o software GraphPad Prism (versão 8). As amostras que apresentaram diferenças significativas foram analisadas pelo *post-hoc* de Tukey com $p < 0,05$.

6. RESULTADOS:

6.1. Peso corporal e dos diferentes tecidos.

O peso corporal foi mensurado semanalmente, por 8 semanas (período pré-tratamento com DEX) e diariamente nos 14 dias subsequentes finais (período de tratamento com DEX) nos animais sedentários e treinados. Como ilustrado na Figura 2A, pode se observar que, no início do protocolo experimental todos os animais sedentários apresentavam PC semelhantes (270 ± 10 ; 270 ± 7 ; 271 ± 8 e 275 ± 7 g; para SC, SP, SD e SPD, respectivamente, Fig 2A) e apresentaram um aumento similar durante a suplementação com probiótico, pois o PC final também foi semelhante (388 ± 13 ; 388 ± 11 ; 389 ± 10 e 391 ± 11 g, para SC, SP, SD e SPD, respectivamente, Fig 2B), ou seja, a suplementação com probiótico não promoveu ganho adicional no PC dos animais. No

entanto, na Figura 2C, é possível notar diferença significativa no PC final dos animais tratados com DEX. A análise mostrou efeito do tratamento com DEX ($p < 0,002$), não efeito da suplementação com probiótico ($p = 0,738$) e sem interações entre a suplementação x tratamento ($p = 0,832$), como mostra a Figura 2C. As comparações *post hoc* demonstraram que os grupos SD e SPD apresentaram PC significativamente menor (-12% e -10%, para SD e SPD, com $p < 0,018$ e $p < 0,042$) em comparação com os grupos controle e probiótico, SC e SP (Fig. 2C).

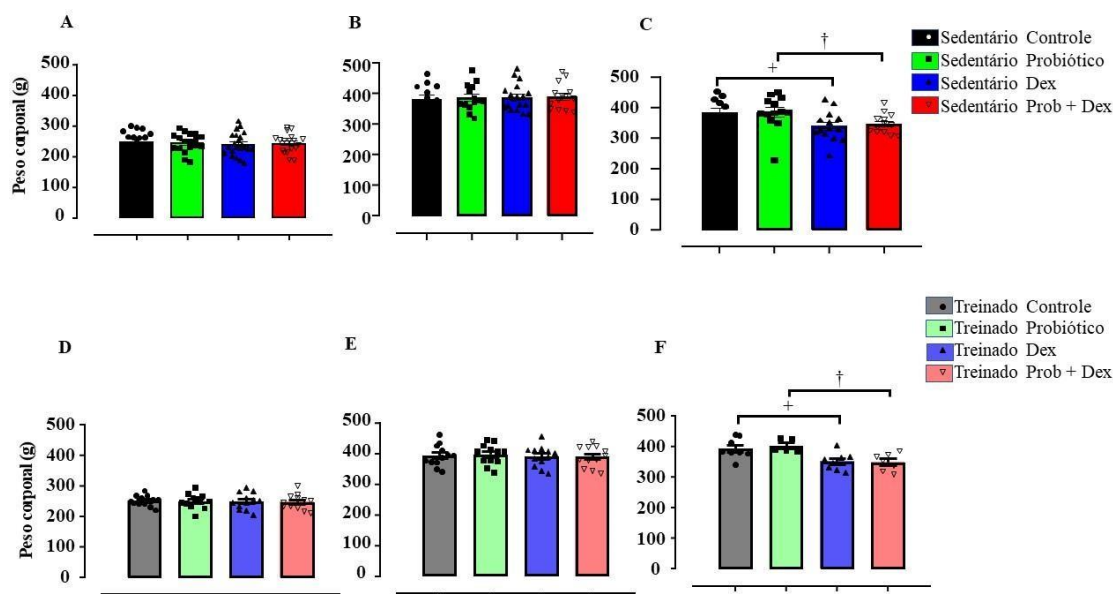


Figura 2. Comparação do peso corporal (PC, em gramas) sob efeito da suplementação e/ou tratamento com dexametasona (DEX) durante todo o protocolo experimental em todos os grupos: Sedentário Controle (SC, n=16), Sedentário suplementado com Probiótico (SP, n=16), Sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=18), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=17), Treinado Controle (TC, n= 6 - 14), Treinado Probiótico (TP, n= 6 - 13), Treinado tratado com Dexametasona (TD, n=6 - 14) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=6 - 14). As Figuras A, B e C correspondem à comparação do PC dos grupos sedentários e As figuras D, E e F correspondem à comparação do PC entre os grupos treinados. Sendo PC inicial (A, D), PC após 60 dias de suplementação com o probiótico *L. casei* (B,E) e PC no final do protocolo (C,F) para sedentários e treinados. Significância: + vs grupo controle; † vs grupo probiótico, $p < 0.05$.

A Figura 2D, mostram que todos os animais treinados também tinham PC semelhantes tanto no início do protocolo experimental (252 ± 6 ; 250 ± 6 ; 250 ± 8 e 248 ± 7 g; para TC, TP, TD e TPD, respectivamente, Fig 2 D) como no final de 8 semanas (395 ± 10 ; 399 ± 9 ; 392 ± 10 e 392 ± 10 g, para TC, TP, TD e TPD, respectivamente, Fig 2E), ou seja, a suplementação com probiótico concomitante ao TF combinado também não promoveu ganhos adicionais no PC dos animais. No entanto, ao final do tratamento com DEX (Figura 2F), assim como nos sedentários, também foi observado efeito do

tratamento com DEX ($p < 0,001$), mas não efeito da suplementação com probiótico ($p = 0,97$), sem interações entre a suplementação x tratamento ($p = 0,55$). A comparação *post hoc* demonstrou que os grupos TD e TPD apresentaram PC significativamente menor (-14% e -15%, para TD e TPD, respectivamente, $p < 0,05$) em comparação com os grupos controle e probiótico, TC e TP (Fig. 2F).

Pode-se observar na Figura 3 o efeito do treinamento associado ou não com a suplementação e/ou com o tratamento com DEX. O treinamento não foi capaz de promover alteração significativa no PC dos animais em ambas as intervenções.

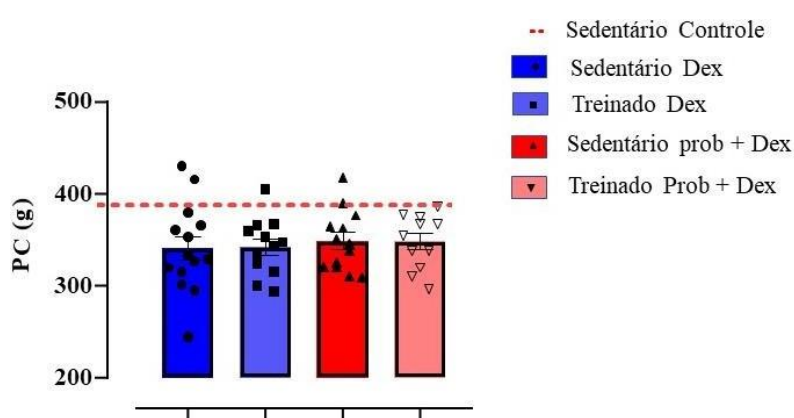


Figura 3. Comparação do peso corporal (PC, g) entre os animais sedentários e treinados: Sedentário tratado com dexametasona (SD, $n=14$), treinado tratado com Dexametasona (TD, $n=12$), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, $n=13$) e Treinado Pro + DEX (TPD, $n=11$).

Pode-se observar nas tabelas 2 e 3 os valores de massa dos diferentes tecidos coletados, tanto absoluto como normalizado pelo tamanho da tíbia (mg/cm). A análise estatística foi aplicada apenas nos pesos relativos utilizando o comprimento da tíbia como normalizador e são apresentados em média $\pm$ erro padrão da média (EPM) para os resultados paramétricos e para os resultados não paramétricos são apresentados como mediana com 95% coeficiente de intervalo.

Nota-se na tabela 2 que a análise da massa do baço mostrou efeito do tratamento com DEX ($p < 0,035$), mas não da suplementação com probiótico ($p = 0,607$) sem interações significativas ($p = 0,429$). Comparações *post hoc* demonstraram que DEX reduziu o peso da massa do baço significativamente (-16 %, SD vs SC, $p = 0,020$) e a suplementação com *L. casei* foi capaz de atenuar essa redução, uma vez que o grupo SPD apresentou peso do baço semelhante ao grupo SP ($p = 0,100$).

A análise da massa do cólon proximal mostrou efeito do tratamento com DEX ($p < 0,021$), mas não da suplementação com probiótico ($p = 0,269$) sem interações significativas ($p = 0,554$). Comparações *post hoc* demonstraram que DEX reduziu o peso da massa do cólon distal, a qual mostrou efeito do tratamento ($p < 0,005$), mas não da suplementação com probiótico ($p = 0,342$) sem interações significativas ($p = 0,744$). Comparações *post hoc* demonstraram que DEX reduziu a massa do cólon distal (-20% , SD vs SC, $p = 0,025$) e a suplementação com probióticos foi capaz de atenuar essa redução, uma vez que o grupo SPD apresentou massa do cólon distal semelhante ao grupo SP ($p = 0,076$, dados fornecidos). A análise da massa da glândula adrenal confirmou a eficácia da DEX, uma vez que os grupos SD e SPD tiveram menor valor (-49% e -37% , para SD e SPD, respectivamente, $p < 0,001$) em comparação com os grupos controle e probiótico, SC e SP. Os valores de massa da aorta, artérias femorais, cólon proximal, coração, VE e fígado não estavam diferentes entre os grupos.

Em relação à análise das massas musculares houve efeito do tratamento com DEX ($p < 0,004$), mas não da suplementação com probiótico ($p = 0,624$), sem interações significativas ($p = 0,900$) para TA e mostrou efeito do tratamento com DEX ($p < 0,003$), mas não da suplementação com probiótico ($p = 0,764$), sem interações significativas ($p = 0,951$) para FHL. As comparações *post hoc* demonstraram que DEX reduziu o peso da massa do TA significativamente dos animais sedentários SD e SPD (-20% e -21% , para SD e SPD com valor de $p < 0,029$ e $p < 0,027$, respectivamente) quando comparados aos animais controle, SC e SP e do FHL somente no SD (-22% , $p < 0,046$) quando comparados aos animais controle, SC.

Tabela 2. Análises do peso de diferentes tecidos sob influência da suplementação com *L. casei* e tratamento com dexametasona nos animais sedentários.

	Grupos			
	SC	SP	SD	SPD
Tíbia (cm)	4,1 ± 0,1	4,2 ± 0,1	4,0 ± 0,04	4,1 ± 0,04
Aorta (g)	0,05 ± 0,005	0,05 ± 0,004	0,05 ± 0,006	0,05 ± 0,005
Aorta/tíbia (mg/cm)	12,26 ± 1	13,98 ± 1	10,05 ± 2	12,80 ± 1
Femoral (g)	0,004 ± 0,001	0,006 ± 0,001	0,006 ± 0,001	0,006 ± 0,001
Femoral/tíbia (mg/cm)	1,1 ± 1	1,5 ± 1	1,4 ± 1	1,5 ± 1
Baço (g)	0,92 ± 0,08	0,89 ± 0,08	0,67 ± 0,08	0,77 ± 0,07
Baço/tíbia (mg/cm)	242 ± 23	235 ± 21	175 ± 17+	192 ± 15
Fígado (g)	13,327 ± 0,5	13,753 ± 0,2	12,768 ± 0,4	12,458 ± 0,6
Fígado/tíbia (mg/cm)	3291 ± 150	3402 ± 67	3156 ± 96	3092 ± 139
Cólon proximal (g)	0,70 ± 0,05	0,71 ± 0,03	0,58 ± 0,06	0,63 ± 0,04
Cólon proximal/tíbia (mg/cm)	168 ± 10	174 ± 8	136 ± 12+	154 ± 8
Cólon transversal (g)	0,46 ± 0,04	0,45 ± 0,02	0,42 ± 0,06	0,39 ± 0,02
Cólon transversal/tíbia (mg/cm)	108 ± 10	112 ± 4	104 ± 5	93 ± 6
Cólon distal (g)	0,48 ± 0,03	0,50 ± 0,03	0,38 ± 0,02	0,42 ± 0,04
Cólon distal/tíbia (mg/cm)	117 ± 9	125 ± 9	93 ± 4+	103 ± 9
Coração (g)	1,08 ± 0,05	1,10 ± 0,02	1,10 ± 0,09	1,07 ± 0,05
Coração/Tíbia (mg/cm)	130,34 ± 10,28	134,82 ± 5,62	122,86 ± 22,3	130,03 ± 13
VE (g)	0,64 ± 0,07	0,73 ± 0,02	0,72 ± 0,04	0,70 ± 0,03
VE/Tíbia (mg/cm)	86,01 ± 16,65	90,77 ± 4,23	83,11 ± 10,52	85,14 ± 7,82
TA (g)	0,66 ± 0,02	0,68 ± 0,04	0,52 ± 0,05	0,53 ± 0,05
TA/Tíbia (mg/cm)	167,57 ± 11,58	170,28 ± 11,04	130,2 ± 11,58+	134,33 ± 10,98†
SOL (g)	0,17 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,17 ± 0,006	0,15 ± 0,01
SOL/Tíbia (mg/cm)	42,33 ± 3,34	48,16 ± 2,7	42,32 ± 1,47	39,17 ± 2,7
FHL (g)	0,5 ± 0,02	0,57 ± 0,03	0,42 ± 0,04	0,47 ± 0,03
FHL/Tíbia (mg/cm)	124,43 ± 6,64	141,32 ± 7,99	97,44 ± 11,46*	118,77 ± 8,17
Adrenais (g)	0,05 ± 0,003	0,05 ± 0,002	0,02 ± 0,003	0,03 ± 0,003
Adrenais/tíbia (mg/cm)	6,6 ± 0,3	6,7 ± 0,3	3,2 ± 0,3+++	4,2 ± 0,3***†††

Ventrículo esquerdo (VE); tibial anterior (TA); sóleo (SOL); flexor longo do hálux (FHL) e o comprimento do osso tíbia foi utilizado para normalizar o peso dos tecidos (mg/cm) dos animais sedentários: Controle (SC, n= 10 - 14); Sedentário Probiótico (SP, n=10 - 17); Sedentário Dexametasona (SD, n=10 - 18); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 10 - 14). Os resultados dos tecidos aorta, cólon transversal, coração e VE normalizados pela tíbia são apresentados em medianas com 95% coeficiente de intervalo. Significância: *p<0,05, ***p<0,001, †††p<0,001 para + vs grupo SC; * vs grupo SD e † vs grupo SP.

A Tabela 3 ilustra os resultados nos animais treinados. Pode-se observar que a análise da massa do baço mostrou efeito do tratamento ($p < 0,001$), mas não da suplementação com probiótico ($p = 0,06$) sem interações significativas ($p = 0,196$). Comparações *post hoc* demonstraram que DEX não reduziu o peso da massa do baço significativamente nos animais treinados e tratados (- 16 %, TD vs TC, $p = 0,09$) e a

suplementação com *L. casei* foi capaz de atenuar essa redução, uma vez que o grupo TPD apresentou peso do baço semelhante ao grupo TP ($p = 0,66$). Além disso, a comparação *post hoc* demonstrou que o *L. casei* aumentou o peso do baço significativamente nos animais treinados e suplementados (+ 22 %, TP vs TC, $p > 0,02$)

Com relação a massa do fígado, pode se observar na tabela 3 que a análise mostrou efeito do tratamento ($p < 0,006$), mas não da suplementação com probiótico ($p = 0,844$) sem interações significativas ($p = 0,858$). Comparações *post hoc* demonstraram que a suplementação com *L. casei* + DEX reduziu o peso da massa do fígado (- 9%, TPD vs TP, $p = 0,038$, tabela 3) sem efeito significativo da DEX ($P = 0,060$).

A análise do peso do cólon transversal não mostrou efeito do tratamento com DEX ($p < 0,130$), mas mostrou efeito da suplementação com *L. casei* ($p = 0,011$) sem interações significativas ($p = 0,054$). Comparações *post hoc* demonstraram que a DEX aumentou o peso do cólon transversal (+43%, TD vs TC, $p = 0,014$) e a suplementação com *L. casei* foi capaz de atenuar esse aumento, uma vez que o grupo TPD apresentou massa do cólon transversal semelhante ao grupo TP ($p = 0,001$, tabela 4). O mesmo pode ser observado com relação a análise da massa do cólon distal, que mostrou efeito do tratamento com DEX ($p < 0,013$), mas não da suplementação com *L. casei* ($p = 0,616$) sem interações significativas ($p = 0,270$). Comparações *post hoc* demonstraram que DEX reduziu a massa do cólon distal (- 17%, TD vs TC, $p = 0,030$, tabela 3) e *L. casei* + DEX reduziu o peso da massa do cólon distal (- 21%, TPD vs TP, $p = 0,010$, tabela 3). A análise do peso da glândula adrenal confirmou a eficácia da DEX, uma vez que os grupos TD e TPD tiveram menor valor (- 31% e - 33%, para TD e TPD, respectivamente, $p < 0,001$) em comparação com os grupos controle e *L. casei*, TC e TP. Tanto a massa da aorta quanto as femorais não apresentaram diferenças significativas.

Em relação à análise das massas musculares não houve efeito do tratamento com DEX ($p < 0,416$), mas sim da suplementação com probiótico ($p = 0,020$), sem interações para SOL e mostrou efeito do tratamento com DEX ($p < 0,044$), mas não da suplementação com probiótico ($p = 0,451$), sem interações para FHL. As comparações *post hoc* demonstraram que DEX reduziu o peso da massa do FHL significativamente dos animais sedentários TD (- 23%, $p < 0,044$) quando comparados aos animais controle, TC. Já em relação ao peso da massa do SOL as comparações *post hoc* demonstraram que a suplementação com *L. casei* aumentou somente no TP (+34%, $p < 0,046$) quando

comparados aos animais controle, TC. Os valores de massa da aorta, artérias femorais, TA, VE, coração e cólon proximal não estavam diferentes entre os grupos.

Tabela 3. Análises do peso de diferentes tecidos sob influência da suplementação com *L. casei* e tratamento com dexametasona nos animais treinados.

	Grupos			
	TC	TP	TD	TPD
Tíbia (cm)	4,1 ± 0,1	4,2 ± 0,1	4,0 ± 0,04	4,1 ± 0,04
Aorta torácica (g)	0,052 ± 0,004	0,050 ± 0,002	0,052 ± 0,003	0,050 ± 0,003
Aorta torácica (mg/cm)	12,9 ± 1,9	11,9 ± 0,9	13,1 ± 1,6	12,4 ± 1,7
Femoral (g)	0,005 ± 0,0005	0,005 ± 0,0002	0,004 ± 0,0004	0,004 ± 0,0004
Femoral (mg/cm)	1,1 ± 1	1,2 ± 1	1,1 ± 1	1,0 ± 1
Baço (g)	1,0 ± 0,08	1,23 ± 0,10	0,84 ± 0,04	0,88 ± 0,05
Baço (mg/cm)	246 ± 18	300 ± 27*	205 ± 10	216 ± 12+++
Fígado (g)	13,707 ± 0,54	13,805 ± 0,34	12,653 ± 0,31	12,374 ± 0,32
Fígado (mg/cm)	3370 ± 143	3369 ± 87	3095 ± 82	3056 ± 78+
Cólon proximal (g)	0,68 ± 0,04	0,61 ± 0,06	0,60 ± 0,06	0,58 ± 0,07
Cólon proximal (mg/cm)	166 ± 10	148 ± 14	147 ± 14	142 ± 16
Cólon transversal (g)	0,42 ± 0,02	0,41 ± 0,03	0,60 ± 0,06	0,39 ± 0,04
Cólon transversal (mg/cm)	103 ± 6	122 ± 23	147 ± 14+	95 ± 9***
Cólon distal (g)	0,50 ± 0,03	0,51 ± 0,02	0,42 ± 0,03	0,39 ± 0,03
Cólon distal (mg/cm)	123 ± 8	124 ± 5	102 ± 7+	98 ± 7†
Coração (g)	1,095 ± 0,05	1,127 ± 0,08	1,067 ± 0,03	1,016 ± 0,03
Coração/Tíbia (mg/cm)	134,5 ± 5	137,2 ± 6	130,4 ± 3	125,5 ± 4
VE (g)	0,729 ± 0,024	0,734 ± 0,049	0,703 ± 0,02	0,676 ± 0,021
VE/Tíbia (mg/cm)	89,509 ± 3	89,331 ± 7	85,893 ± 2	83,461 ± 3
TA (g)	0,4913	0,5771 ± 0,062	0,5811 ± 0,03	0,4643 ± 0,04
TA/Tíbia (mg/cm)	120,8 ± 16	140,5 ± 15	142,02 ± 8	114,12 ± 11
SOL (g)	0,1174 ± 0,008	0,1588 ± 0,022	0,1313 ± 0,01	0,1401 ± 0,01
SOL/Tíbia (mg/cm)	28,785 ± 2	38,706 ± 5+	32,061 ± 2	34,535 ± 3+
FHL (g)	0,5248 ± 0,465	0,4848 ± 0,055	0,4079 ± 0,04	0,4562 ± 0,04
FHL/Tíbia (mg/cm)	128,8 ± 11	117,973 ± 13	99,606 ± 9+	112,450 ± 9
Glândulas adrenais (g)	0,06 ± 0,004	0,06 ± 0,004	0,04 ± 0,003	0,04 ± 0,002
Glândulas adrenais (mg/cm)	7,1 ± 0,2	6,8 ± 0,3	4,9 ± 0,3+++	4,6 ± 0,2†††

Ventrículo esquerdo (VE); tibial anterior (TA); sóleo (SOL); flexor longo do hálux (FHL). O comprimento do osso tíbia foi utilizado para normalizar o peso dos tecidos (mg/cm) nos grupos treinados: Treinado Controle (TC, n=6 -14); Treinado Probiótico (TP, n=5 - 12); Treinado Dexametasona (TD, n=8 - 14); Treinado Probiótico + Dexametasona (TPD, n=7 - 14). Os resultados dos tecidos aorta, cólon transversal, coração e VE normalizados pela tíbia são apresentados em medianas com 95% coeficiente de intervalo. Significância: *p<0,05, ***p<0,001 para + vs grupo TC; * vs grupo TD e † vs grupo TP.

6.2. Avaliações das capacidades físicas dos animais.

Nota-se na Figura 4A e D, que todos os animais iniciaram o protocolo experimental com valores similares de carregamento máximo de peso (A, 371, 62 ± 16 g, 375, 43 ± 14 g, 354, 83 ± 16 e 361, 40 ± 17, para SC, SP, SD, SPD, respectivamente e D, 357, 66 ± 20, 385, 76 ± 21, 369, 16 ± 19 e 386, 76 ± 21, para TC, TP, TD e TPD, respectivamente). Após 60 dias os animais sedentários não apresentaram diferença significativa da capacidade física de carregamento de peso Figura 4B. Após tratamento com DEX, como mostra a Figura 4C, é possível notar que os animais do grupo SD

apresentaram maior carga carregada no TCM-4 ($p < 0,001$) quando comparado ao grupo SC e, SPD apresentaram maior carga carregada no TCM-4 ($p < 0,024$).

Pode-se observar na Figura 4E que os animais treinados não apresentaram diferença significativa entre eles ($P = 0,940$), sem efeito da suplementação ($P = 0,310$) e sem interação suplementação x tratamento ($P = 0,608$). O mesmo pode ser observado na Figura 4F. Os animais treinados não apresentaram diferença significativa entre eles ($P = 0,997$), sem efeito da suplementação ($P = 0,376$) e sem interação suplementação x tratamento ($P = 0,465$).

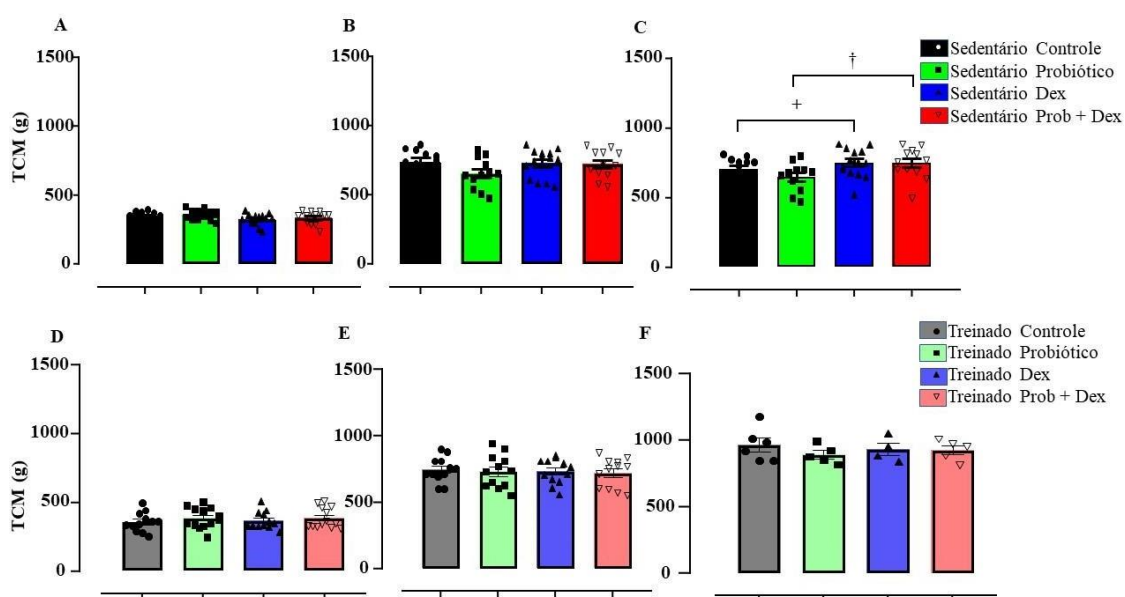


Figura 4. Resultado dos testes de carregamento máximo na escada (TCM, em gramas). as Figuras A, B e C correspondem aos resultados de TCM dos grupos sedentários e as figuras D, E e F correspondem à comparação os resultados de TCM entre os grupos treinados. Sendo TCM inicial (A e D), TCM após 60 dias de suplementação com o probiótico *L. casei* (B e E) e TCM no final do protocolo (C e F) para sedentários e treinados. Sedentário Controle (SC, n=16), Sedentário suplementado com Probiótico (SP, n=16), Sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=18), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=17), Treinado Controle (TC, n=6 - 14), Treinado Probiótico (TP, n=5 - 13), Treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4 - 14) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=5 - 14). Significância: + vs grupo controle; † vs grupo probiótico, $p < 0.05$.

A Figura 5, ilustra o efeito do treinamento combinado nos animais tratados com DEX ou associado com probiótico. As múltiplas comparações demonstraram que o TFc melhorou a capacidade física na escada dos animais TD e TPD em relação aos seus respectivos controles, SD e SPD (TD vs SD $p < 0,001$ e TPD vs SPD, $p < 0,0001$, respectivamente), como mostra a Figura 5.

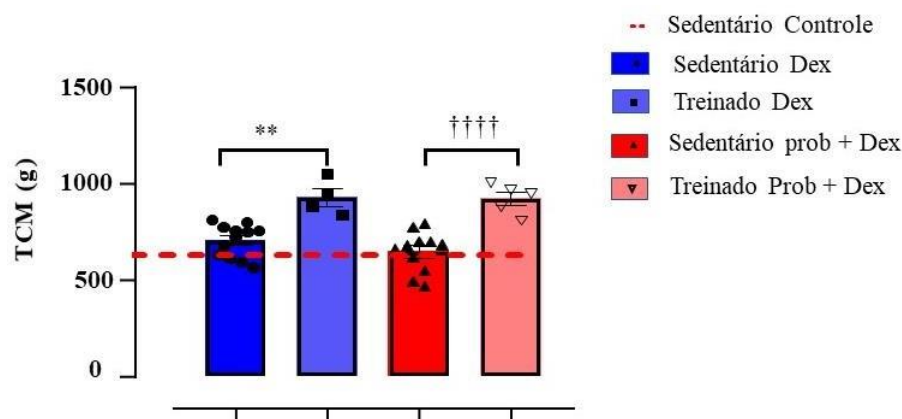


Figura 5. Resultados de teste de carregamento máximo na escada (TCM, em gramas) em relação ao efeito do treinamento para os grupos: Sedentário tratado com dexametasona (SD, n=14), treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=13) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=5). Indicações estatísticas: ** em relação ao grupo dexametasona, $p < 0,01$; †††† em relação ao grupo probiótico, $p < 0,001$.

A Figura 6, ilustra os resultados dos testes de esforço máximo na esteira mostrados em segundos, realizados durante o período de TF combinado. Nota-se que todos os animais iniciaram o protocolo experimental com valores similares (649 ± 32 s, 653 ± 54 s, 637 ± 24 e 651 ± 35 s, para SC, SP, SD, SPD, respectivamente e 728 ± 50 s, 677 ± 50 s, 679 ± 27 e 713 ± 62 s, para TC, TP, TD e TPD, respectivamente). A Figura 6 mostra que nem a suplementação com probiótico, nem a DEX alterou significativamente a capacidade física na esteira dos animais sedentários.

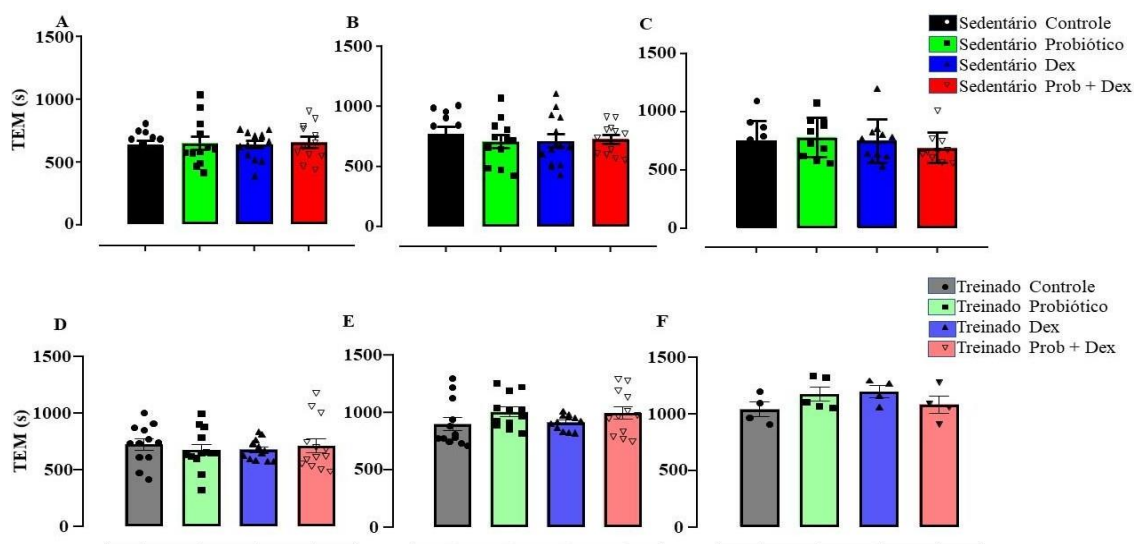


Figura 6. Resultado dos testes de esforço máximo (TEM, em segundos) nos animais sedentários e treinados: Figuras A, B e C corresponde aos resultados de TEM dos grupos sedentários e as figuras D, E e F correspondem à comparação os resultados de TEM entre os grupos treinados. Sendo TEM inicial (A e D), TEM após 60 dias de suplementação com o probiótico *L. casei* (B e E) e TCM no final do protocolo (C e F) para sedentários e treinados. Sedentário Controle (SC, n=16), Sedentário suplementado com Probiótico (SP, n=16), Sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=18), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=17), Treinado Controle (TC, n=4 - 14), Treinado Probiótico (TP, n=5 - 13), Treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4 - 14) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=4 - 14).

A Figura 7, ilustra o efeito do treinamento nos animais tratados com DEX, associados ou não com a suplementação com probiótico. As múltiplas comparações demonstraram que o TFc melhorou a capacidade física na esteira dos animais TD em relação SD ($p < 0,001$), mas não melhorou do TPD em relação ao SPD ($P = 0,154$) como mostra a figura 7.

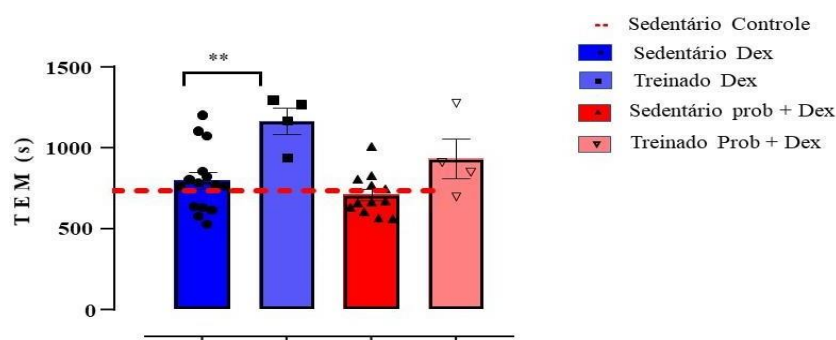


Figura 7. Resultados de teste de esforço máximo na esteira (TEM, em segundos) entre animais sedentários e treinados: Sedentário tratado com dexametasona (SD, n=14), treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=13) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=4). Significância: ** em relação ao grupo dexametasona, $p < 0,01$

A tabela 4 ilustra os valores de delta do PC e das capacidades físicas de todos os animais de todos os grupos. Nota-se que todos os animais, tanto sedentários como treinados ganharam PC de forma similar durante as primeiras 8 semanas do protocolo

experimental. Por outro lado, o *post hoc* mostrou diferença significativa nos níveis de tratamento com DEX ($p = 0,001$), mas não da suplementação com probiótico ($p = 0,533$) e não foi encontrado interação entre suplementação x tratamento ($p = 0,297$). A múltipla comparação mostrou que os animais sedentários e tratados com DEX apresentaram redução de PC quando comparado aos respectivos controles ($p < 0,001$ para SD vs SC) e a suplementação com probiótico *L. casei* não foi capaz de atenuar essa resposta nos animais SPD quando comparado ao SP ($p < 0,007$, Tab 4). Da mesma forma, em relação aos animais treinados, o *post hoc* mostrou diferença significativa de delta de PC nos níveis de tratamento com DEX ($p = 0,001$), mas não da suplementação ($p = 0,846$) e não foi encontrado interação entre suplementação x tratamento ($p = 0,990$). A múltipla comparação mostrou que o TFc não foi capaz de atenuar a redução do PC dos animais treinados e tratados com DEX quando comparado ao controle ($p < 0,001$, para TD vs TC). Da mesma forma, a associação entre TFc e a suplementação com *L. casei* não foi capaz de atenuar a redução do PC induzida pelo tratamento com DEX ($p < 0,001$, para TPD vs TP).

Tabela 4. Valores de delta do peso corporal e das capacidades físicas de todos os animais e de todos grupos.

	Grupos	PC	TEM (s)	TCM (g)
Período de suplementação	Sedentários	+115,78 ± 6	+66,37 ± 27	+327,2 ± 20
	Treinados	+107,04 ± 7	+403,81 ⁺⁺	+518,6 ± 22 ⁺⁺
Período de Tratamento	SC	+1,83 ± 17	-6,91 ± 52	+345,61 ± 44
	SP	-1,92 ± 16	+89,16 ± 52	+307,92 ± 44
	SD	-52,00 ± 16 ⁺⁺⁺	+76,93 ± 47	+345,83 ± 38
	SPD	-37,23 ± 17 ^{††}	+2,00 ± 52	+309,80 ± 41
	TC	+1,16 ± 6	+102,25 ± 31	+600,00 ± 40
	TP	+2,45 ± 6	+37,80 ± 28	+543,60 ± 44
	TD	-49,58 ± 6 ^{***}	+52,50 ± 31	+580,00 ± 49
	TPD	-48,45 ± 6 ^{†††}	+25,25 ± 31	+574,60 ± 44

Os valores são apresentados em delta e foram registrados durante dois períodos distintos: o período de suplementação com o probiótico *L. casei* de 60 dias e o período de tratamento com dexametasona de 14 dias. Os parâmetros avaliados incluíram o peso corporal (PC, em gramas), a capacidade máxima na esteira (TEM, em segundos) e a capacidade máxima de carga voluntária na escada (TCM, em gramas) em todos os grupos de estudo. Esses grupos foram divididos da seguinte forma: grupo sedentário controle (SC, n=6-8); Sedentário suplementado com Probiótico (SP, n=6 - 16), Sedentário tratado com Dexametasona (SD, n= 6 - 18), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 17), Treinado Controle (TC, n=4 - 14), Treinado Probiótico (TP, n=5 - 13), Treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4 - 14) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=4 - 14). Significância + vs grupo SC; * vs grupo SD e † vs grupo SP.

Com relação aos resultados de TEM ou TCM pode-se observar na Tabela 4 que os animais treinados apresentaram resultados maiores que os sedentários nas primeiras 8 semanas, sugerindo que a suplementação com probiótico não atrapalhou este resultado.

6.3. Ingestão alimentar.

Para verificar a influência da microbiota intestinal na ingestão alimentar sob influência do tratamento com DEX, os animais receberam a suplementação com *L. casei* ao longo de 74 dias. A diferença entre o alimento fornecido e o que restou na gaiola, foi medida com 3 dias de antecedência e diariamente durante o tratamento com DEX, concomitantemente com a suplementação com *L. casei*. A Figura 8 A ilustra o perfil de ingestão alimentar durante 12 dias de tratamento com DEX em todos os grupos sedentários. A ingestão de alimentos nos últimos 2 dias de tratamento com DEX não foi medida, pois foram realizados nos dias subsequentes a análise de VOP final e a canulação, fatores que podem interferir na ingestão alimentar dos animais. Para comparar todos os grupos, foi realizada a quantificação da área debaixo da curva (*AUC*), que é apresentada na Figura 8B. A análise da *AUC* da ingestão alimentar mostrou efeito do tratamento com DEX ($p < 0,001$), mas não da suplementação com *L. casei* ($p = 0,338$), sem interação. A análise *post hoc* mostrou que o tratamento com DEX diminuiu a ingestão alimentar, como mostrado na Figura 8B, uma vez que o grupo SD apresentou menor *AUC* em comparação com o grupo SC ($p < 0,001$). Por outro lado, a suplementação com *L. casei* foi capaz de atenuar essa redução, uma vez que o SPD apresentou *AUC* semelhante em relação ao grupo SP ($P = 0,169$) e maior *AUC* em relação ao ao grupo SD ($p < 0,004$, Fig. 8B).

A Figura 8B também mostra que a suplementação com *L. casei* *per se* não causou aumento da ingestão de alimentos dos ratos nos animais SP em relação ao grupo SC ($P = 0,975$).

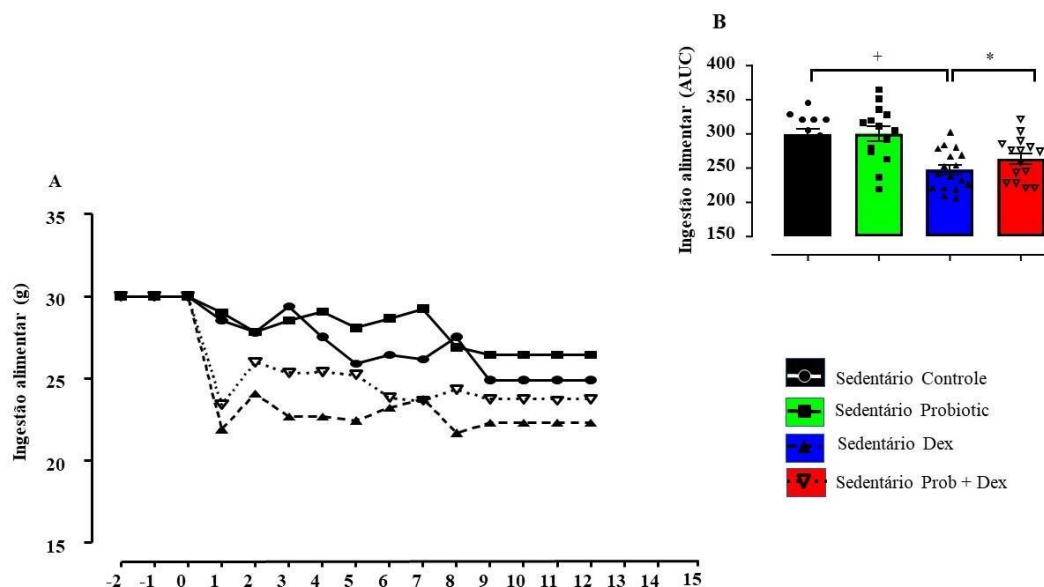


Figura 8. Perfil do consumo de ração durante o período de tratamento com DEX (A, gramas) e análise da área sob a curva (AUC) durante o tratamento com DEX para todos os grupos (B): Sedentário Controle (SC, $n=13$), Sedentário Probiótico (SP, $n=14$), Sedentário tratado com Dexametasona (SD, $n=17$) e Sedentário Prob + Dex (SPD, $n=14$). Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona, $p < 0.05$.

Assim como nos animais sedentários, o mesmo procedimento foi realizado nos animais treinados com o intuito de compreender o efeito do TF combinado na ingestão alimentar dos animais tratados ou não com DEX. A Figura 9A ilustra o perfil de ingestão alimentar durante 12 dias de tratamento com DEX em todos os grupos treinados. A ingestão de alimentos nos últimos 2 dias de tratamento com DEX não foi medida. A análise da AUC da ingestão alimentar (Fig. 9B) mostrou efeito do tratamento com DEX ($p < 0,001$), mas não da suplementação com *L. casei* ($p = 0,050$), sem interação ($p = 0,361$). A análise *post hoc* mostrou que o tratamento com DEX diminuiu a quantidade de alimentos ingeridos, como mostrado na Figura 9B, uma vez que o grupo TD apresentou menor AUC em comparação com o grupo TC ($p < 0,001$). A suplementação com *L. casei* não atenuou essa redução, uma vez que o TPD também apresentou menor AUC em relação ao grupo TP ($p < 0,001$) e menor AUC comparado ao TD ($p < 0,044$).

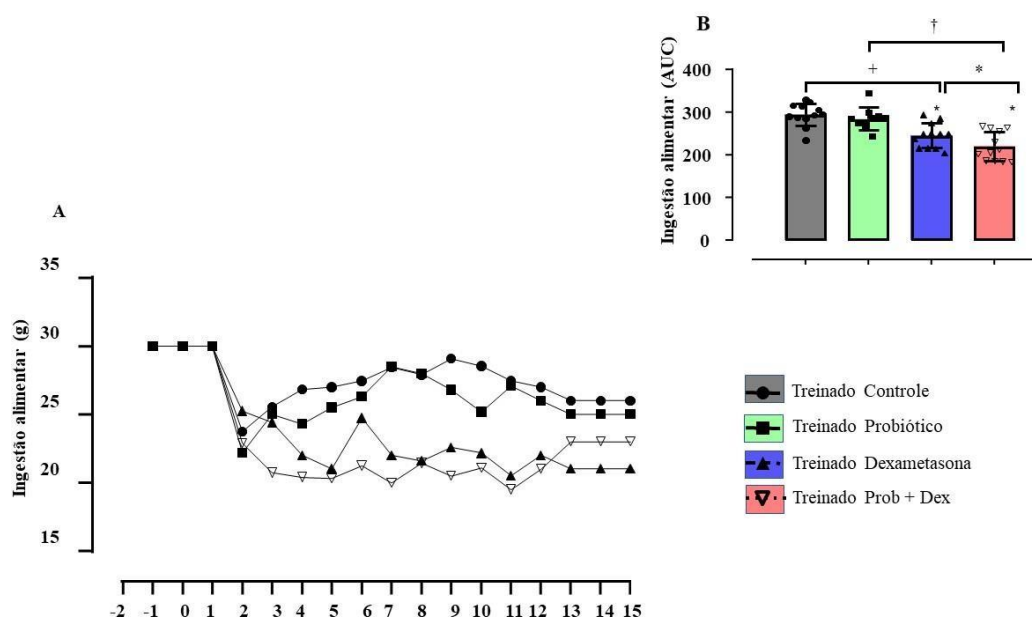


Figura 9. Perfil do consumo de ração nos animais treinados (A, gramas). Análise da área sob a curva (AUC, B) durante o tratamento com DEX para todos os grupos treinados: Treinado Controle (TC, n=13), Treinado Probiótico (TP, n=14), treinado tratado com Dexametasona (TD, n=17) e Treinado Prob + Dex (TPD, n=14). Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona e † vs grupo probiótico, $p < 0.05$.

6.4. Velocidade da onda de pulso.

Pode-se observar na Figura 10A que todos os ratos sedentários apresentaram valores semelhantes de VOP no início do protocolo ($5,4 \pm 0,3$ m/s, $5,2 \pm 0,2$ m/s, $5,2 \pm 0,2$ m/s e $5,5 \pm 0,3$ m/s, para SC, SP, SD e SPD, respectivamente). Da mesma forma, a VOP-2, realizada antes do início do tratamento com DEX, não apresentou alterações significativas induzidas pela suplementação com probiótico *L. casei*, como ilustrado na figura 10B ($4,9 \pm 0,3$ m/s, $4,9 \pm 0,2$ m/s, $5,1 \pm 0,2$ m/s e $4,8 \pm 0,2$ m/s para SC, SP, SD e SPD, respectivamente). Por outro lado, a análise da VOP-3 (Fig, 10C), realizada após tratamento com DEX, indicou efeito do tratamento com DEX ($p < 0,001$), efeito da suplementação probiótica ($P=0,001$) e suplementação probiótica x interação tratamento ($p=0,001$). Todas as comparações revelaram que o VOP foi maior em ratos tratados com DEX (+60%, para SD vs SC, $p<0,001$) e a suplementação com probiótico preveniu esse aumento, pois o grupo SPD apresentou valores de VOP menores que o grupo SD (-35%, para SPD vs SD, $p<0,001$), e são apresentados os valores em mediana com 95% coeficiente de intervalo (5,1 com a mínima 3,7 e máxima de 6,5 m/s, 4,6 com a mínima 4,0 e máxima de 5,8 m/s, 7,8 com a mínima 6,31 e máxima de 10,00 m/s e 5,0 com a mínima 3,7 e máxima de 7,6 m/s, para SC, SP, SD e SPD, respectivamente) como observado na Figura 10C.

Os animais treinados, ilustrados na Figura 10 na parte inferior, também apresentaram valores semelhantes de VOP no início do protocolo ($4,9 \pm 0,2$ m/s, $4,9 \pm 0,1$ m/s, $4,9 \pm 0,2$ m/s e $4,9 \pm 0,2$ m/s, para TC, TP, TD e TPD, respectivamente, figura 10D). No entanto, a VOP-2 (Figura 10E), realizada antes do início do tratamento com DEX, apresentou alterações significativas. A análise estatística não indicou efeito do tratamento ($p < 0,627$), apenas efeito da suplementação probiótica ($P=0,003$) e sem interação com suplementação probiótica x tratamento ($p = 0,942$). As comparações *post hoc* revelaram que o VOP foi menor em ratos suplementados com *L. casei* (- 8 % e -9, para TP vs TC e TPD vs TD, respectivamente), como mostra a Figura 10E. Já a análise da VOP-3, ilustrada na figura 10F, não indicou efeito do tratamento ($p = 0,050$), nem efeito da suplementação com probiótico *L. casei* ($P=0,415$) nem interação entre suplementação probiótica x tratamento ($p=0,890$), portanto, a suplementação com probiótico *L. casei* associada ao exercício físico foi capaz de prevenir o aumento da VOP observado anteriormente nos animais sedentários tratados com DEX.

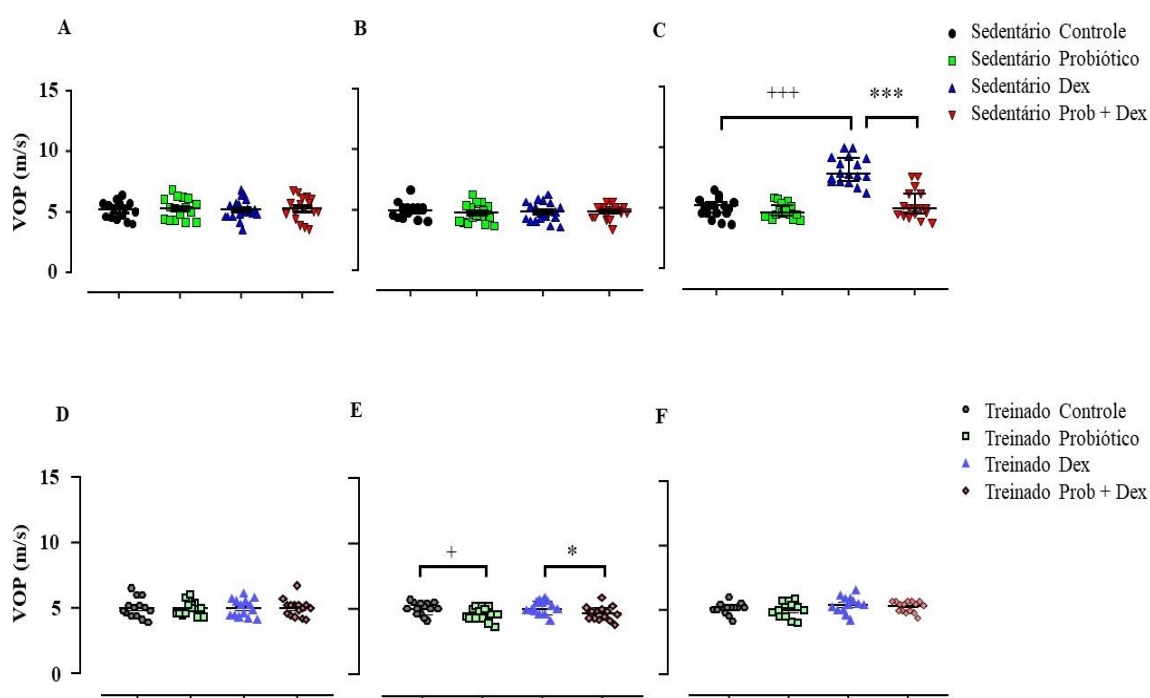


Figura 10. Resultado da análise da velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) nos animais sedentários e treinados: Figuras A, B e C corresponde aos resultados de VOP dos grupos sedentários e as figuras D, E e F correspondem à comparação os resultados de VOP entre os grupos treinados. Sendo VOP inicial (A e D), VOP após 60 dias de suplementação com o probiótico *L. casei* (B e E) e VOP no final do protocolo (C e F) para sedentários e treinados. A VOP final dos sedentários no painel C são apresentados em mediana com 95% coeficiente de intervalo. Sedentário Controle (SC, n=16), Sedentário suplementado com Probiótico (SP, n=16), Sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=18), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=17), Treinado Controle (TC, n=14), Treinado Probiótico (TP, n=13), Treinado tratado com Dexametasona (TD, n=14) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=14). Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona, $p < 0.05$.

A Figura 11, ilustra o efeito do treinamento na análise de VOP final nos animais tratados com DEX ou associado com a suplementação de probiótico. As múltiplas comparações demonstraram que o TFC atenuou o aumento da VOP nos animais TD. (TD

vs SD $p < 0,0001$). Não houve efeito do TF_C nos animais suplementados com probiótico e tratados com DEX, como pode ser observado na Figura 11.

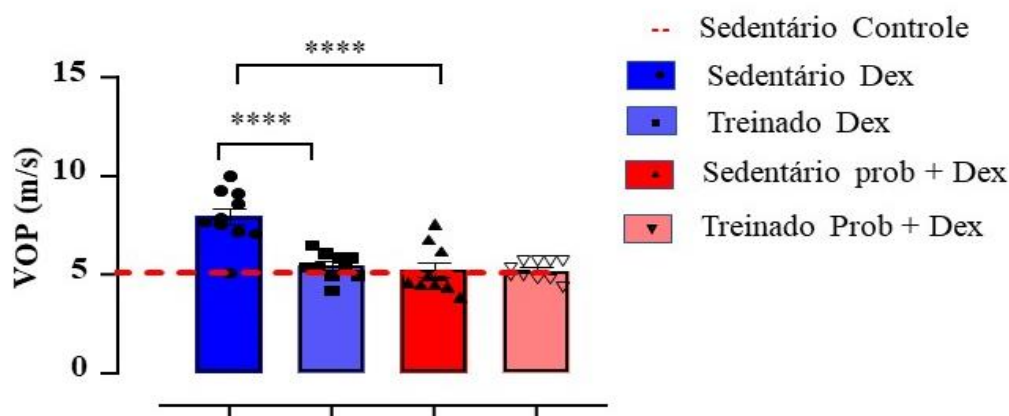


Figura 11. Análise do efeito do treinamento na velocidade da onda de pulso (VOP, em m/s): Sedentário tratado com dexametasona (SD, $n=14$), treinado tratado com Dexametasona (TD, $n=12$), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, $n=13$) e Treinado Pro + DEX (TPD, $n=11$). Significância: **** em relação ao grupo dexametasona, $p < 0,0001$.

6.5. Parâmetros hemodinâmicos.

Conforme ilustrado na Figura 12 Os ratos tratados com DEX apresentaram aumento de PAS (145 ± 5 vs. 107 ± 2 mmHg, Fig. 11 A), PAD (123 ± 6 vs. 88 ± 6 mmHg, Fig. 11 B) e PAM (129 ± 6 vs. 94 ± 6 mmHg, Fig. 11 C) quando comparados com ratos controle. A análise da pressão arterial indicou efeito do tratamento ($p = 0,001$) para PAS, PAD e PAM e para suplementação com *L. casei* (somente PAS, $p = 0,01$), mas não para PAD e PAM ($p = 0,391$ e $p = 0,157$ para PAD e PAM, respectivamente) e com interações significativas para PAS ($p = 0,017$), PAD ($p = 0,041$) e PAM ($p = 0,027$). Todas as comparações revelaram que a PA direta foi maior nos ratos tratados com DEX (+38% PAS; +40% PAD e +38% PAM, para SD vs SC, $p < 0,001$) conforme Figura 12, B e C, porém a suplementação com *L. casei* atenuou os aumentos de PAS e PAM (-19%, e PAM -16%) para SPD vs SD, $p < 0,001$). Além disso, a Figura 12D, mostra a análise de FC com os ratos acordados (D) e anestesiados (E) dos animais sedentários. A análise da FC acordada apresentou efeito do tratamento com DEX ($p < 0,039$), não indicou efeito da suplementação com probiótico *L. casei* ($P = 0,582$) e não mostrou interação entre suplementação x tratamento ($P = 0,413$). As múltiplas comparações revelam que o tratamento com DEX promoveu aumento significativo da FC quando comparados ao grupo SC ($p < 0,042$), como mostra a figura 12D. Por outro lado, a suplementação com probiótico preveniu esta resposta nos animais SPD quando comparados ao grupo SD. Além disso, a análise da FC baseada na técnica de mensuração da VOP (animais

anestesiados) mostrou efeito do tratamento com DEX ($P = 0,001$), efeito da suplementação com probiótico *L. casei* ($P = 0,009$) e sem interação entre suplementação x tratamento ($P = 0,851$). Desta forma, os grupos SD e SPD apresentaram maior FC quando comparados aos respectivos controles, SC e SP ($p < 0,015$ e $p < 0,040$, para SD vs SC e SPD vs SP, respectivamente). No entanto, a suplementação com probiótico foi capaz de atenuar esta resposta. O *post hoc* revela que a suplementação com probiótico *L. casei* atenuou o aumento de FC induzido por DEX no grupo SPD quando comparado ao SD ($p < 0,020$), como mostra a figura 12E.

A Figura 12F indica uma correlação positiva entre PAS e VOP ($r = 0,594$, $p = 0,0001$).

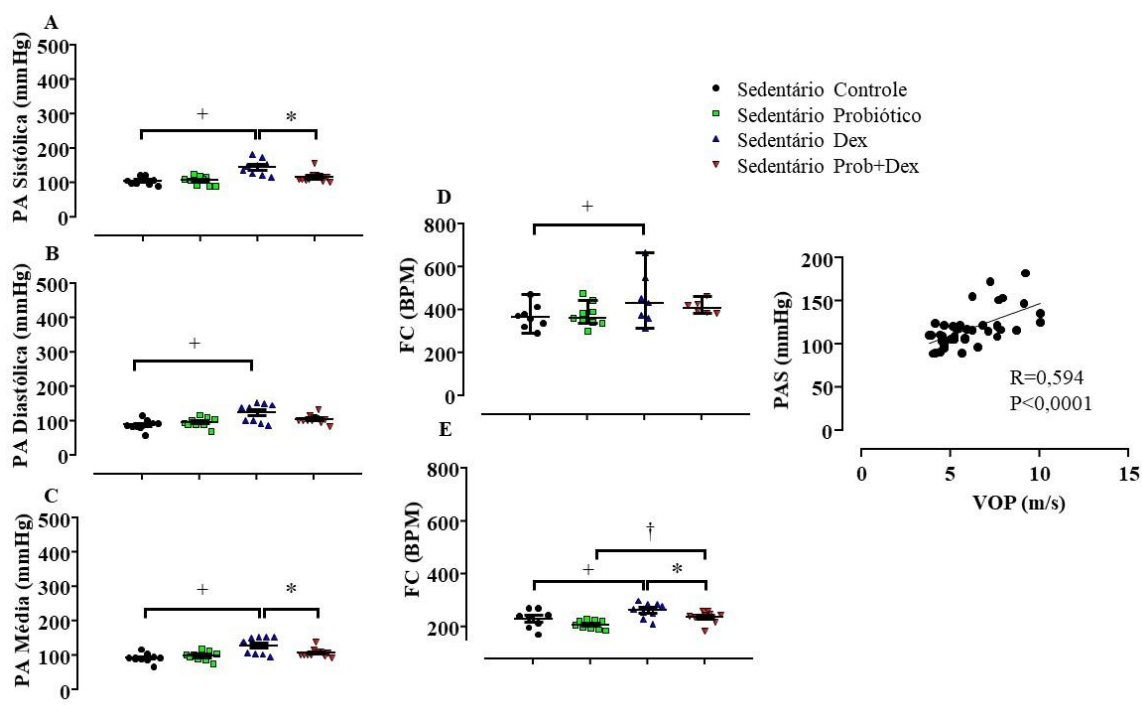


Figura 12. Valores de pressão arterial sistólica (PAS, mmHg, painel A), pressão arterial diastólica (PAD, mmHg, painel B), pressão arterial média (PAM, mmHg, painel C), frequência cardíaca acordado (FC, bpm, painel D), frequência cardíaca anestesiado (FC, bpm, painel E) e a correlação de Spearman entre a PAS e velocidade da onda de pulso (VOP, painel F) em todos os animais sedentários: Sedentário Controle (SC, $n = 8 - 10$); Sedentário Probiótico (SP, $n = 9 - 10$); Sedentário Dexametasona (SD, $n = 7 - 9$); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, $n = 6 - 11$); A FC, bpm, anestesiados no painel E são apresentados em mediana com 95% coeficiente de intervalo; Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasonae † vs grupo probiótico, $p < 0,05$. Para a correlação de spearman * $p < 0,05$.

A Figura 13 mostra os resultados da análise espectral nos animais sedentários em mediana com 95% coeficiente de intervalo. A atividade nervosa simpática (*Low Frequency*, LF – painel A), parassimpática (*High Frequency*, HF – painel B), balanço autonômico LF/HF (painel C) apresentaram-se alteradas após o tratamento com DEX.

Os ratos SD apresentaram maiores valores de LF (54 ± 5 vs. 24 ± 5 n.u., para SD vs. SC, respectivamente, painel A), razão de LF/HF ($5,9 \pm 1,6$, vs. $0,3 \pm 0,8$, para SD vs. SC, respectivamente, painel C), e menores valores de HF (46 ± 5 vs. 76 ± 5 n.u., para SD vs. SC, respectivamente, painel B). Já os ratos SPD apresentaram maiores valores de LF (34 ± 6 vs. 20 ± 4 n.u., para SPD vs. SP, respectivamente, painel A) e maiores valores de HF (66 ± 6 vs. 80 ± 4 n.u., para SPD vs. SP, respectivamente, painel B). Por outro lado, a suplementação com *L. casei* foi capaz de atenuar o aumento de LF (-36%, $p < 0,025$), HF (+42%, $p < 0,025$) e LF/HF (-83%, $p < 0,001$) em relação ao grupo SD. Além disso, a análise do drive simpático para os vasos indicou efeito do tratamento com DEX ($p = 0,006$), suplementação probiótica ($p = 0,004$) e interações significativas ($p = 0,018$). Comparações *post hoc* mostram que a atividade simpática para os vasos foi aumentada em SD (206% LF abs mmHg^2 , $p < 0,001$), quando comparado com o grupo SC, conforme mostrado na Figura 13 D. Por outro lado, a suplementação com *L. casei* também foi capaz de atenuar o aumento da atividade simpática para os vasos no grupo SPD em relação ao grupo SD (-78% LF abs mmHg^2 , $p < 0,001$).

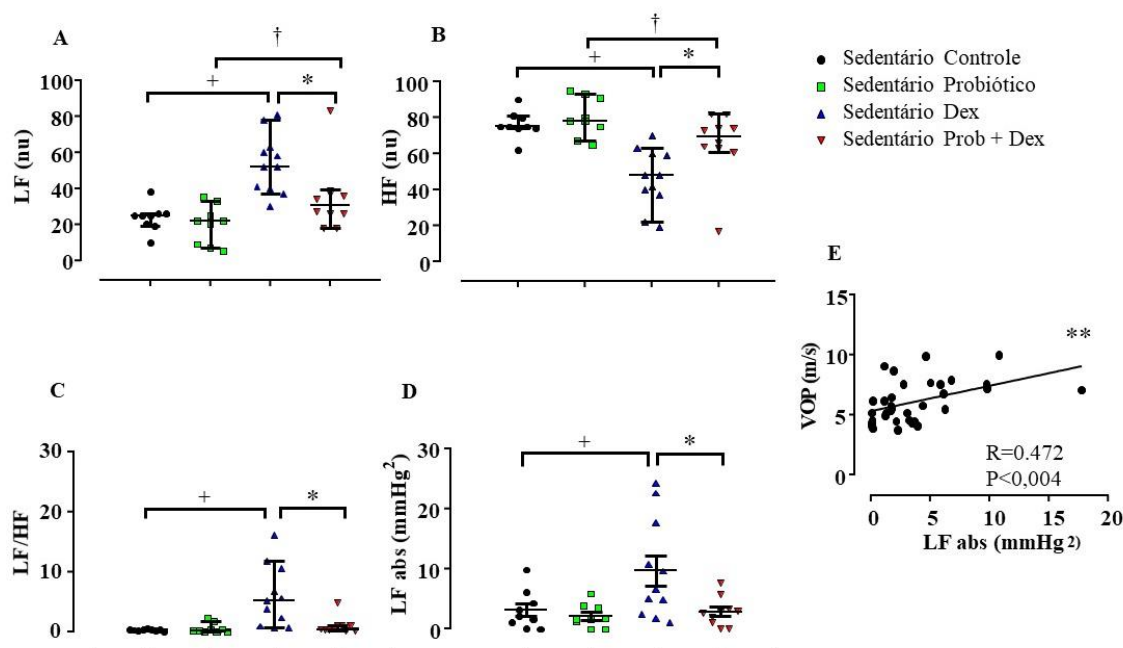


Figura 13. Os valores de atividades simpáticas (LF, Painel A), parassimpáticas (HF, Painel B), balanço autonômico para o coração LF/HF (LF/HF, Painel C) e simpática para os vasos (LF ABS, Painel D) são apresentados em mediana em 95% coeficiente de intervalo nos grupos sedentários: Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); Sedentário Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11). Significância + vs grupo SC; * vs grupo SD e † vs grupo SP. Para a correlação de Spearman ** $p < 0,01$.

A Figura 13 E, ilustra os resultados da correlação de todos os animais sedentários entre VOP e variabilidade LF abs mmHg^2 . A análise de correlação de Spearman indicaram que a VOP se correlacionou positivamente com a variabilidade LF abs mmHg^2 .

($r = 0,472$, $p = 0,005$, Figura 12 E).

Conforme mostrado na Figura 14, o tratamento com DEX induziu aumento somente da PAS nos animais treinados, mas não da FC. A análise da pressão arterial indicou efeito do tratamento apenas para PAS ($p = 0,010$, Fig. 14A), sem efeito do tratamento para PAD e PAM ($p = 0,217$ e $p = 0,105$, FIG. 14B e C, respectivamente), sem efeito na suplementação com *L. casei* ($p = 0,777$, $p = 0,605$ e $p = 0,693$ para PAS, PAD e PAM, respectivamente) e sem interações significativas ($p = 0,626$; $p = 0,716$ e $p = 0,674$, para PAS, PAD e PAM, respectivamente). Comparação *post hoc* revelou que a PAS foi maior nos ratos treinados e tratados com DEX (+12% vs TC, $p < 0,031$).

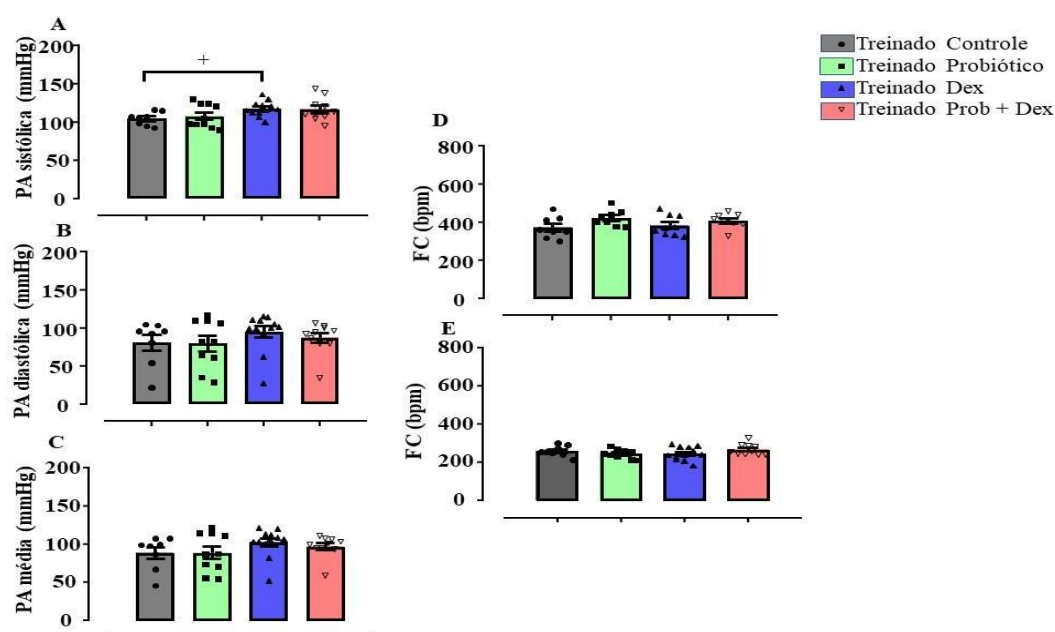


Figura 14. Valores de pressão arterial sistólica (PAS, mmHg, painel A), pressão arterial diastólica (PAD, mmHg, painel B), pressão arterial média (PAM, mmHg, painel C), frequência cardíaca acordado (FC, bpm, painel D), frequência cardíaca anestesiado (FC, bpm, painel E) em todos os animais sedentários: Treinado Controle (TC, $n = 8 - 10$), Treinado Probiótico (TP, $n = 8 - 10$), Treinado tratado com Dexametasona (TD, $n = 8 - 14$) e Treinado Pro + DEX (TPD, $n = 8 - 10$). Significância: + vs grupo controle, $p < 0.05$.

Conforme mostrado na Figura 15, entre os animais treinados não houve diferença estatística nos parâmetros da análise espectral.

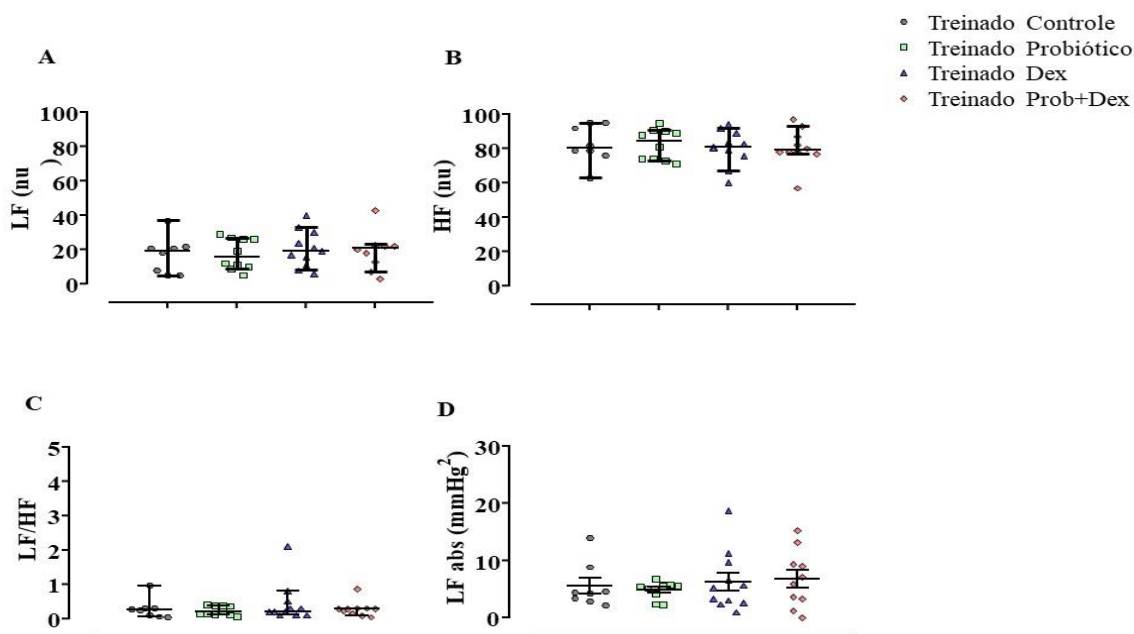


Figura 15. Os valores de atividades simpática (LF, Painel A), parassimpática (HF, Painel B), balanço autonômico para o coração LF/HF (LF/HF, Painel C) e simpática para os vasos (LF ABS, Painel D) são apresentados em mediana com 95% CI, nos grupos treinados: Treinado Controle (TC, n= 8 - 10); Treinado Probiótico (TP, n=9 - 10); Treinado Dexametasona (TD, n=7 - 11); Treinado Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 6 - 11).

A Figura 16, ilustra o efeito do treinamento associado ou não com a suplementação e/ou com o tratamento com DEX na análise de LF abs mmHg². As múltiplas comparações demonstraram que o TFC preveniu a exacerbada atividade simpática para os vasos dos animais TD e TPD em relação ao grupo SD (TD vs SD $p < 0,0001$ e TPD vs SD, $p < 0,0001$, respectivamente).

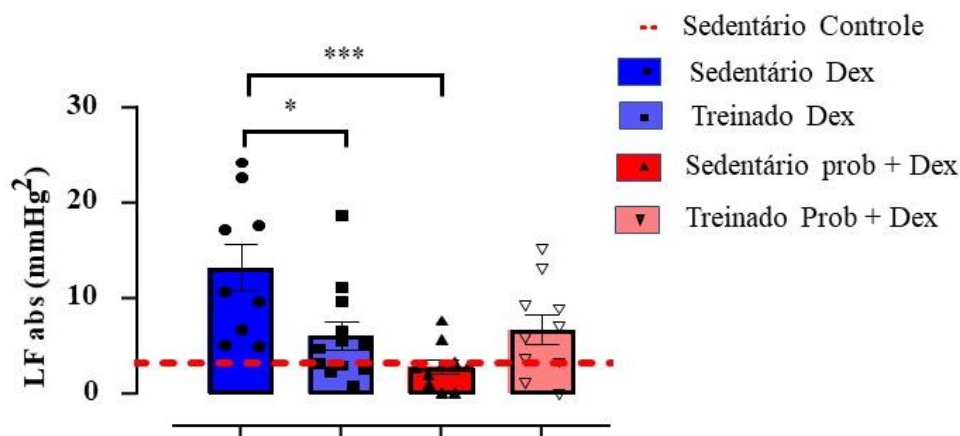


Figura 16. Análise do efeito do treinamento na atividade nervosa simpática para os vasos (LF abs mmHg²) para os grupos tratados com DEX ou associados com probiótico: Sedentário tratado com dexametasona (SD, n= 9), treinado tratado com Dexametasona (TD, n=12), Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n=10) e Treinado Pro + DEX (TPD, n=10). Significância: * em relação ao grupo dexametasona, $p < 0,05$.

6.6. Densitometria da aorta.

Pode-se observar na Figura 17 que os animais sedentários tratados com DEX apresentaram maior produção de COL-3 na artéria aorta, quando comparados aos animais controles (SD +59% vs SC, $p < 0,001$, Fig. 17A). Por outro lado, a suplementação com probiótico *L. casei* preveniu completamente o aumento induzido por DEX nos animais SPD, quando comparados ao SD (-34%, para SPD vs SD $p < 0,001$, Fig. 19 A). Não houve diferença entre os grupos SP e SPD, como observado na Figura 17A. Entre os animais treinados (Fig 17B), pode-se observar que o grupo TPD apresentou menor produção de colágeno quando comparado ao TD (- 34 %, $p < 0,007$ 19 B). Na figura 17C está ilustrado o efeito do treinamento. Pode-se observar que TFc atenuou o aumento de COL-3 na aorta dos animais TD em relação ao grupo SD. Nos animais tratados com probiótico o TFc não determinou alteração adicional. (TD vs SD $p < 0,0001$ e TPD vs SD, $p < 0,0001$, respectivamente), mostrando, portanto, efeito preventivo do TFc na rigidez arterial sem efeito adicional do probiótico.

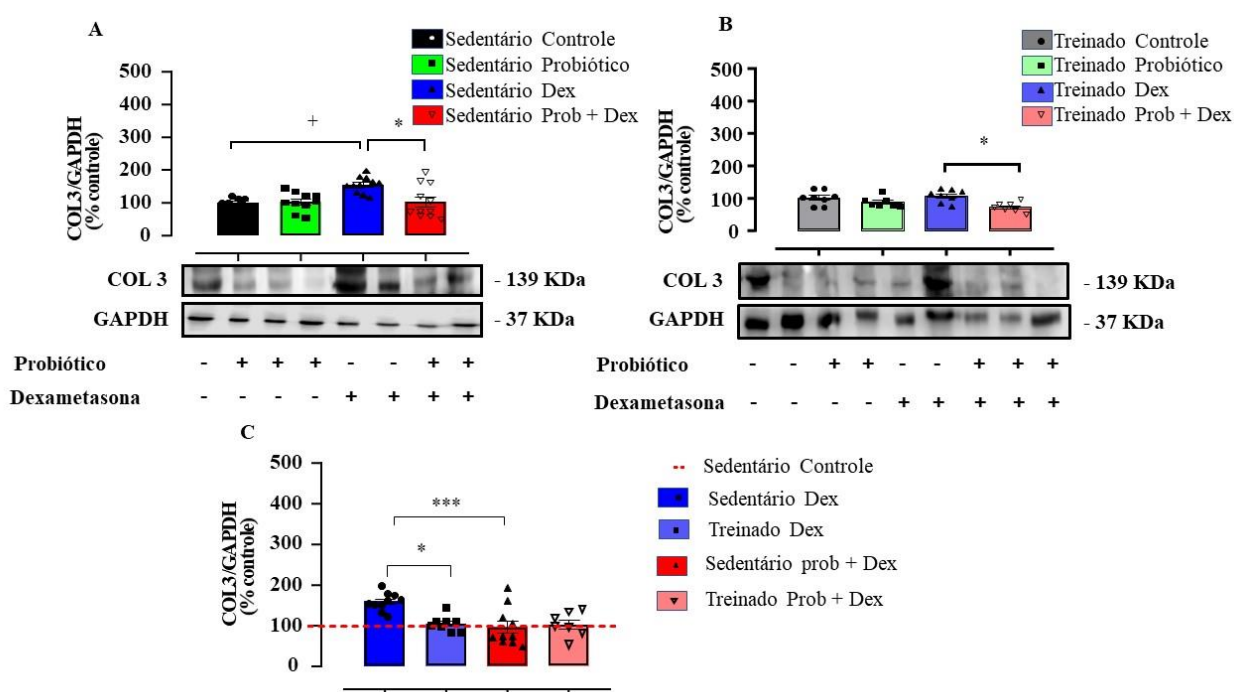


Figura 17. Análise de densitométrica quantitativa da produção de colágeno tipo 3 (COL3) na aorta torácica para os grupos sedentários (A) e treinados (B): Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11); Treinados Controle (TC, n= 8 - 10); Treinados Probiótico (TP, n=9 - 10); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, n=7 - 9); Treinados Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 8 - 11). No painel C são apresentados os efeitos do treinamento entre os grupos DEX e P+DEX. Os valores foram normalizados pelo GAPDH e são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas COL-3 e do GAPDH. Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona, $p < 0.05$.

As figuras 18, 19 e 20 ilustram as análises das proteínas envolvidas na formação de COL-3. Comparações *post hoc* revelaram que o tratamento com DEX aumentou TGF- β 1 (SD +59%, $p < 0,027$, Fig. 18A), TGFBR2 (SD +103%, $p < 0,001$, Fig. 19A), p-SMAD/SMAD 2/3 (SD+41%, $p < 0,003$, Fig. 20A) nos animais sedentários. Por outro lado, a suplementação com probiótico *L. casei* preveniu completamente o aumento induzido por DEX de TGF- β 1 aórtico, (-43%, $p < 0,016$, Fig. 18A) TGFBR2 (-47%, $p < 0,002$, Fig. 19A) p-SMAD/SMAD 2/3 (-38%, $p < 0,001$, Fig. 20A) A) nos animais SPD quando comparados ao SD.

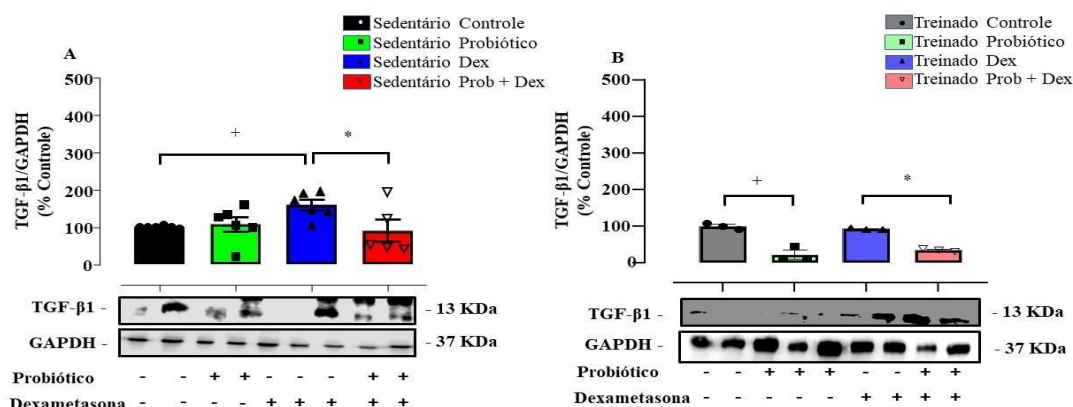


Figura 18 Análise de densitometria quantitativa da expressão de fator transformador de crescimento β 1 (TGF- β 1) na aorta torácica para os animais dos grupos dos sedentários (painel A) e treinados (painel B): Sedentário Controle (SC, $n = 5 - 6$); Sedentário Probiótico (SP, $n = 5 - 6$); sedentário tratado com Dexametasona (SD, $n = 5 - 6$); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, $n = 5 - 6$); Treinado Controle (TC, $n = 3$); Treinados Probiótico (TP, $n = 3$); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, $n = 3$) e Treinados Probiótico + Dexametasona (TPD, $n = 3$). Os valores foram normalizados pelo GAPDH e são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas (TGF- β 1) e GAPDH. Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona, $p < 0.05$.

Dentre os grupos treinados (Figura 18B), os animais que foram suplementados com probiótico apresentaram menor produção de TGF- β 1, independente do tratamento com DEX (- 78% e - 65 %, para TP e TPD, respectivamente, ambos $p < 0,001$) comparado ao TC e TD, respectivamente, como mostra a Figura 18 B. Por outro lado, somente o grupo TPD, que foi suplementado com probiótico *L. casei* e tratados com DEX, apresentou menor produção de TGFBR2 (TPD - 24 % vs TD, $p < 0,003$, Fig. 18B). Nem o probiótico, nem a DEX determinou alteração na produção de p-SMAD/SMAD 2/3 entre os grupos treinados, como observado na Figura 20B. Quando foi analisado o efeito do treinamento combinado nos grupos tratados com DEX, suplementados ou não com probiótico, pode-se observar que o TFC atenuou o aumento de TGFBR2 (Fig. 19C) e p-SMAD 2-3/SMAD 2-3 (Fig. 20C) nos grupos tratados com DEX. No entanto, o TFC não determinou alteração adicional nos animais já suplementados com Probiótico (Figuras 19C e 20C).

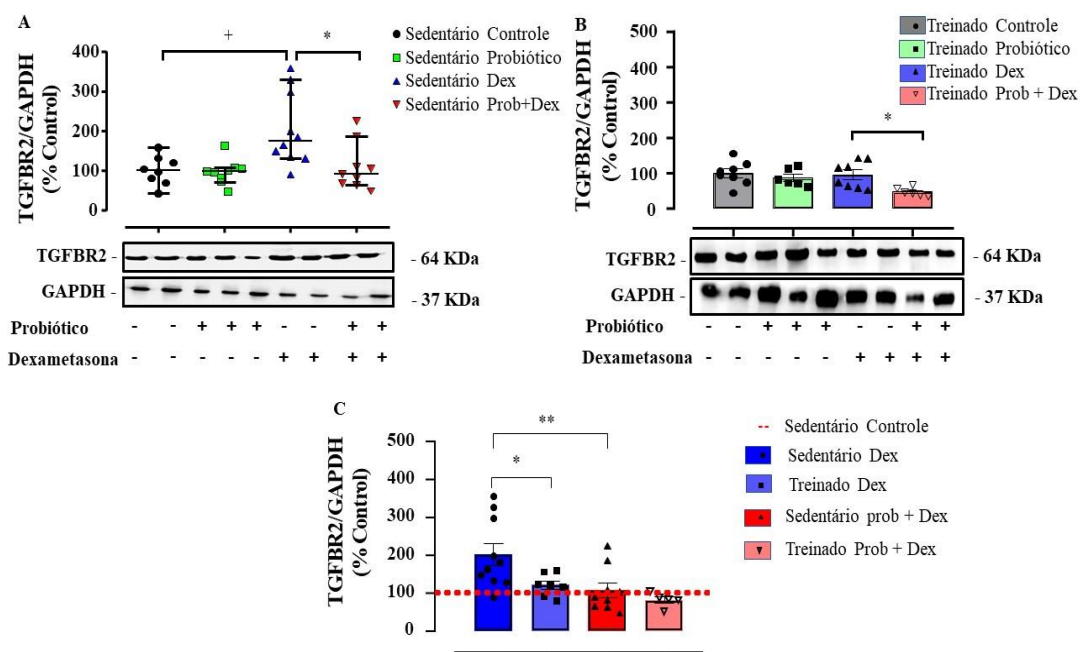


Figura 19. Análise de densitometria quantitativa da expressão de receptor 2 do fator transformador beta 1 (TGFBR2) na aorta torácica dos animais sedentários (painel A) e treinados (painel B): Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11). Treinados Controle (TC, n= 8 - 10); Treinados Probiótico (TP, n=9 - 10); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, n=7 - 9); Treinados Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 5 - 11). O painel A são apresentados em medianas em 95% CI. O painel C apresenta os resultados dos efeitos do treinamento nos animais tratados com DEX suplementados ou não com probiótico. Os valores foram normalizados pelo GAPDH e são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas TGFBR2 e GAPDH. Significância: + vs grupo controle; *vs grupo dexametasona, $p < 0.05$.

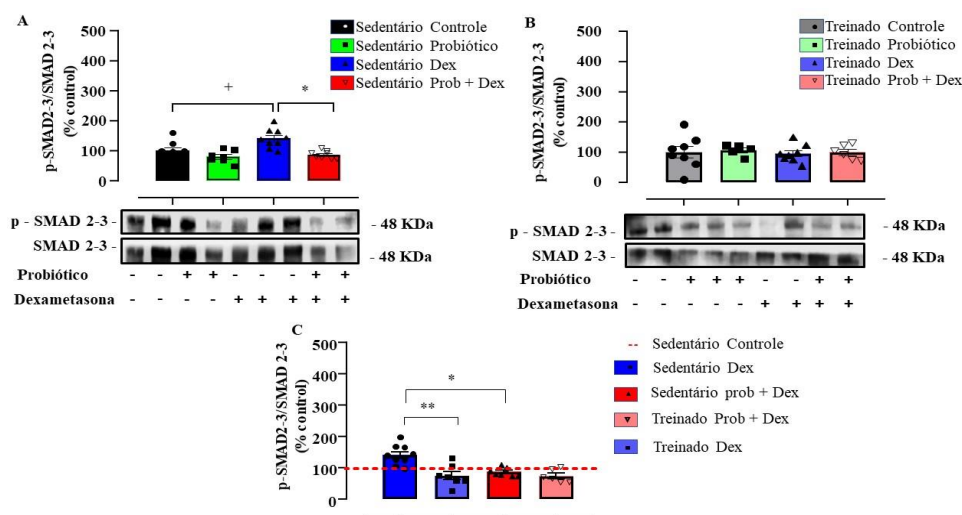


Figura 20. Análise de densitometria quantitativa da expressão de *Mothers against decapentaplegic homolog 2 and Mothers against decapentaplegic homolog 3* (SMAD 2-3). A razão entre fosforizada e total na aorta torácica está apresentada para os animais dos grupos dos sedentários (painel A) e treinados (Painel B): Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11); Treinados Controle (TC, n= 8 - 10); Treinados Probiótico (TP, n=9 - 10); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, n=7 - 9); Treinados Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 6 - 11). O painel C apresenta os efeitos do treinamento nos grupos tratados com DEX e suplementados ou não com probiótico. Os valores foram normalizados pelo GAPDH são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas (p- SMAD 2-3 e SMAD 2-3). Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona, $p < 0.05$.

Os resultados de correlação de Spearman entre COL3 e VOP indicaram que COL-3 foi positivamente correlacionado com VOP ($r = 0,431$, $p=0,0003$, Figura 21A). E os resultados da correlação de Pearson entre COL3 e LF abs (mmHg^2) indicaram que COL-3 foi positivamente correlacionado com LF abs (mmHg^2) ($r = 0,479$, $p=0,0055$, Figura 21B).

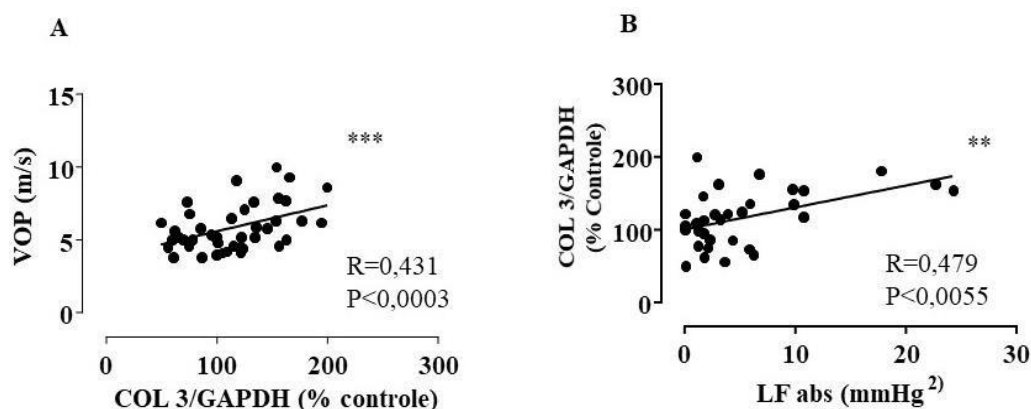


Figura 21 As correlações entre os valores de VOP (m/s) e a densitometria proteica de colágeno 3 (%Ctrl) e LF abs mmHg^2 são apresentadas nos painéis A e B. No painel A, observa-se a correlação com a proteína COL 3 ($r = -0,431$); no painel B, a correlação com LF abs mmHg^2 ($r = 0,0479$). A significância das correlações é indicada por **, o que representa $p<0,01$ e indicada por *** o que representa $p<0,001$.

6.7. Densitometria quantitativa da expressão proteica do colón distal.

As análises de densitometria quantitativa dos níveis de claudina-1 e ocludina no cólon distal dos animais sedentários e treinados estão ilustradas nas figuras 22 e 23.

A análise dos níveis de claudina-1 do cólon distal nos sedentários (Fig. 21A) indicou efeito do tratamento com DEX ($p<0,044$), efeito da suplementação probiótica ($P=0,017$) e nenhuma interação entre suplementação probiótica e tratamento ($p=0,054$). Todas as comparações pareadas revelaram que o grupo tratado com DEX apresentou menor produção de claudina-1 (SD, -53 %, painel A) em comparação com ratos do grupo SC ($p < 0,003$) e a suplementação probiótica impediu completamente essa redução de claudina-1 induzido por DEX no cólon distal dos ratos tratados, uma vez que o grupo SPD apresentou valores maiores que SD e similares ao SP, como mostrado na Figura 22A.

A análise dos níveis de claudina-1 do cólon distal nos animais treinados (Fig. 22B) não apresentou efeito do tratamento ($p < 0,412$), nem da suplementação probiótica ($P = 0,606$) tampouco efeito da interação suplementação probiótica x tratamento ($p = 0,521$) nos animais treinados. Por outro lado, a Figura 22C mostra que os grupos treinados e tratados com DEX, independente se foram suplementados ou não com probiótico apresentaram maiores valores de Claudina - 1 no cólon distal.

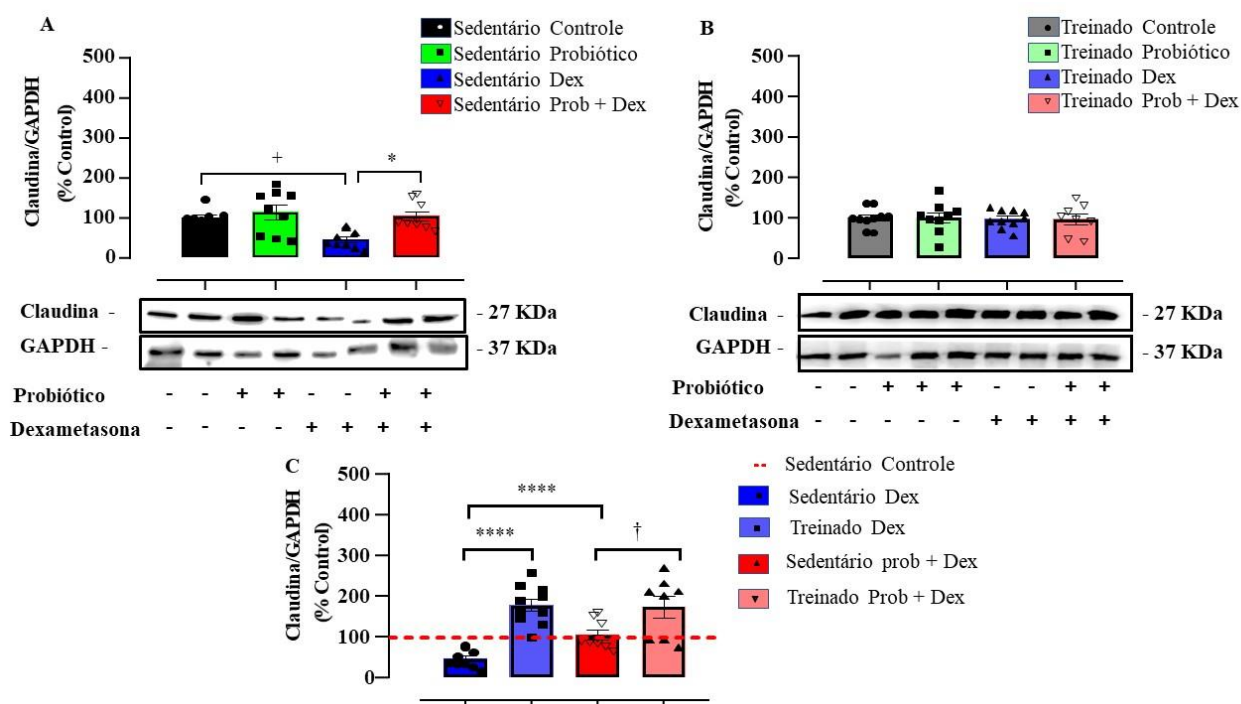


Figura 22. Análise de densitometria quantitativa da expressão de Claudina - 1 no cólon distal dos animais sedentários (painel A) e treinados (painel B): Sedentário Controle (SC, $n = 8 - 10$); Sedentário Probiótico (SP, $n = 9 - 10$); sedentário tratado com Dexametasona (SD, $n = 7 - 9$); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, $n = 6 - 11$). Treinados Controle (TC, $n = 8 - 10$); Treinados Probiótico (TP, $n = 9 - 10$); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, $n = 7 - 9$); Treinados Probiótico + Dexametasona (TPD, $n = 8 - 11$). O painel C apresenta os resultados dos efeitos do treinamento nos animais tratados com DEX suplementados ou não com probiótico. Os valores foram normalizados pelo GAPDH e são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas Claudina - 1 e GAPDH. Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona e † vs grupo probiótico, $p < 0.05$.

Por outro lado, a análise de proteína ocludina no cólon distal dos grupos sedentários (Fig. 23 A) indicou efeito do tratamento ($p < 0,001$), mas não efeito da suplementação probiótica ($P = 0,129$) e não interação entre suplementação probiótica x tratamento ($p = 0,056$). Conforme mostrado na Figura 23A, os grupos suplementados com Probiótico ou tratados com DEX apresentaram maiores de produção de proteína de ocludina. A suplementação com probiótico não determinou qualquer alteração no grupo tratado com DEX.

As comparações pareadas nos grupos treinados revelaram que não houve efeito significativo do tratamento ($P = 0,191$), nem efeito da suplementação probiótica ($P = 0,588$) e não indicou interação entre suplementação com probiótico *L. casei* x tratamento ($P = 0,271$). O paine C da Figura 23 ilustra que ambos os grupos treinados apresentaram menores valores de produção de Ocludina.

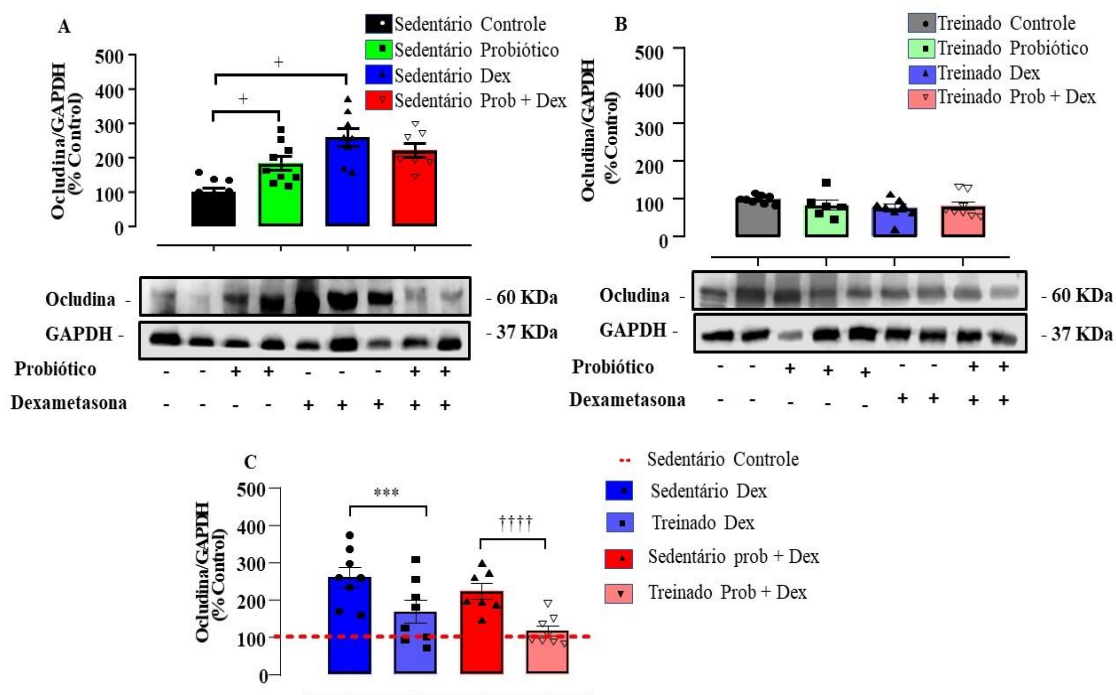


Figura 23. Análise de densitometria quantitativa da expressão de Ocludina no cólon distal dos animais sedentários (painel A) e treinados (painel B): Sedentário Controle (SC, n= 8 - 10); Sedentário Probiótico (SP, n=9 - 10); sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7 - 9); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n= 6 - 11). Treinados Controle (TC, n= 8 - 10); Treinados Probiótico (TP, n=9 - 10); Treinados e tratados com Dexametasona (TD, n=7 - 9); Treinados Probiótico + Dexametasona (TPD, n= 8 - 11). O painel C apresenta os resultados dos efeitos do treinamento nos animais tratados com DEX suplementados ou não com probiótico. Os valores foram normalizados pelo GAPDH e são expressos como porcentagem do controle (%Ctrl). Nos painéis A e B são apresentados os géis representativos de cada grupo para as proteínas Ocludina e GAPDH. Significância: + vs grupo controle; * vs grupo dexametasona e † vs grupo probiótico, $p < 0.05$.

6.8. Biomarcadores inflamatórios.

Conforme mostrado nas tabelas 5 e 6, nem suplementação com o probiótico *L. casei*, nem o tratamento com DEX, isolados ou combinados, alteraram significativamente os níveis séricos dos principais marcadores inflamatórios envolvidos na inflamação intestinal nos animais sedentários (Tabela 5) ou treinados (Tabela 6).

Tabela 5. Efeitos da administração de DEX nos animais sedentários suplementados ou não com probiótico nos níveis séricos de biomarcadores de inflamação.

Biomarcadores	Grupos			
	SC	SP	SD	SPD
IL – 1 α (pg/ml)	45,97 $\pm$ 9	117,95 $\pm$ 52	38,33 $\pm$ 12	27,42 $\pm$ 7
IL – 1 β (pg/ml)	52,88 $\pm$ 10	41,50 $\pm$ 12	72,54 $\pm$ 24	40,74 $\pm$ 7
IL – 4 (pg/ml)	57,29 $\pm$ 7	99,13 $\pm$ 32	59,08 $\pm$ 1	53,02 $\pm$ 4
IL – 6 (pg/ml)	1527 $\pm$ 22	6425 $\pm$ 3216	1501 $\pm$ 25	1465 $\pm$ 45
IL – 10 (pg/ml)	118,29 $\pm$ 23	110,29 $\pm$ 12	163,95 $\pm$ 64	86,94 $\pm$ 11
IL – 12P70 (pg/ml)	101,43 $\pm$ 10	96,69 $\pm$ 6	106,55 $\pm$ 2	97,98 $\pm$ 7
IFN- γ (pg/ml)	260,8 $\pm$ 151	618,1 $\pm$ 328	94,0 $\pm$ 11	373,42 $\pm$ 172
TNF- α (pg/ml)	1,40 $\pm$ 0,3	1,49 $\pm$ 0,1	1,39 $\pm$ 0,1	1,40 $\pm$ 0,2
TGF- β 1 (pg/ml)	139,4 $\pm$ 73	39,2 $\pm$ 10	110,79 $\pm$ 48	126,7 $\pm$ 83

Valores níveis séricos de interleucinas-1 α (IL-1 α), interleucinas-1 β (IL-1 β), interleucinas-4 (IL-4), interleucinas-6 (IL-6), interleucinas-10 (IL-10), interleucinas -12P70 (IL-12P70), interferon- γ (IFN- γ), fator nuclear tumoral- α (TNF- α) e fator transformador de crescimento- β 1 (TGF- β 1) ao final do protocolo experimental em todos os grupos: Controle (C , n= 5 - 6); Probiótico (P, n= 5 - 6); Tratados com dexametasona (D, n= 5 - 6); Probiótico e tratado com dexametasona (PD, n= 5 - 6). Os valores são mostrados com média $\pm$ EPM.

Tabela 6. Efeitos da administração de DEX nos animais treinados suplementados ou não com probiótico nos níveis séricos de biomarcadores de inflamação.

Biomarcadores	Grupos			
	TC	TP	TD	TPD
IL – 1 α (pg/ml)	41,42 $\pm$ 17	68,42 $\pm$ 31	33,36 $\pm$ 10	40,25 $\pm$ 13
IL – 1 β (pg/ml)	55,83 $\pm$ 13	44,97 $\pm$ 8	92,78 $\pm$ 32	47,70 $\pm$ 15
IL – 4 (pg/ml)	52,60 $\pm$ 5	55,32 $\pm$ 5	62,38 $\pm$ 9	55,62 $\pm$ 6
IL – 6 (pg/ml)	1943,83 $\pm$ 436	1550,80 $\pm$ 97	1695,66 $\pm$ 104	1579,83 $\pm$ 52
IL – 10 (pg/ml)	118,29 $\pm$ 22,93	110,29 $\pm$ 11,77	163,95 $\pm$ 63,93	86,94 $\pm$ 11,46
IL – 12P70 (pg/ml)	97,17 $\pm$ 9	93,28 $\pm$ 4	107,73 $\pm$ 13	101,42 $\pm$ 10
IFN- γ (pg/ml)	321,13 $\pm$ 193	144,19 $\pm$ 37	158,62 $\pm$ 25	399,21 $\pm$ 261
TNF- α (pg/ml)	1,31 $\pm$ 0,2	1,83 $\pm$ 0,6	1,66 $\pm$ 0,2	2,76 $\pm$ 1,1
TGF- β 1 (pg/ml)	124,51 $\pm$ 67	60,42 $\pm$ 36	180,88 $\pm$ 102	46,36 $\pm$ 23

Valores níveis séricos de interleucinas-1 α (IL-1 α), interleucinas-1 β (IL-1 β), interleucinas-4 (IL-4), interleucinas-6 (IL-6), interleucinas-10 (IL-10), interleucinas -12P70 (IL-12P70), interferon- γ (IFN- γ), fator nuclear tumoral- α (TNF- α) e fator transformador de crescimento- β 1 (TGF- β 1) ao final do protocolo experimental em todos os grupos: Controle (C , n= 5 - 6); Probiótico (P, n= 5 - 6); Tratados com dexametasona (D, n= 5 - 6); Probiótico e tratado com dexametasona (PD, n= 5 - 6). Os valores são mostrados com média $\pm$ EPM.

Os resultados da correlação entre biomarcadores inflamatórios com parâmetros hemodinâmicos podem ser observados na Tabela 7 Houve uma correlação positiva entre IL-4 e IL-12P70 com PAM (Spearman, $r = 0,425$ e $r = 0,411$, com $p > 0,004$ e $p > 0,006$, para IL-4 e IL-12P70, respectivamente) e PAD (Spearman, $r = 0,416$ e $r = 0,424$, com $p > 0,004$ e $p > 0,004$, para IL-4 e IL-12P70, respectivamente) e entre a IL - 1 β com COL 3 (Pearson, $r = 0,304$, $p=0,044$, tabela 7). Por outro lado, pode ser observado ainda na Tabela 9, uma correlação negativa entre IL-1 α e da IL-6 com relação a frequência cardíaca FC-VOP (Pearson, $r = - 0,325$ e $r = - 0,360$, $p < 0,03$ e $p < 0,01$, para IL-1 α e IL-6, respectivamente).

Tabela 7. Correlações entre citocinas ou biomarcadores inflamatórios com parâmetros hemodinâmicos e níveis de COL3.

	VOP	PAS	PAM	PAD	FC (VOP)	LF (mmHg ²)	abs COL3
IL – 1α (pg/ml)	r = -0,202	r = -0,270	r = 0,246	r = 0,186	r = -0,325*	r = 0,077	r = 0,119
IL – 1β (pg/ml)	r = -0,021	r = 0,173	r = 0,075	r = 0,064	r = 0,162	r = -0,253	r = 0,304*
IL – 4 (pg/ml)	r = -0,037	r = 0,179	r = 0,425**	r = 0,416**	r = -0,272	r = 0,026	r = -0,173
IL – 6 (pg/ml)	r = -0,298	r = -0,283	r = 0,011	r = 0,108	r = -0,360*	r = -0,168	r = -0,189
IL – 10 (pg/ml)	r = -0,105	r = 0,026	r = 0,086	r = -0,145	r = 0,105	r = -0,049	r = 0,105
IL – 12P70 (pg/ml)	r = 0,055	r = 0,139	r = 0,411**	r = 0,424**	r = 0,096	r = 0,068	r = -0,075
IFN-γ (pg/ml)	r = -0,223	r = -0,098	r = 0,021	r = 0,060	r = -0,045	r = 0,229	r = -0,078
TNF-α (pg/ml)	r = -0,004	r = 0,165	r = 0,227	r = 0,087	r = 0,076	r = 0,040	r = 0,276
TGF-β1 (pg/ml)	r = 0,097	r = 0,058	r = 0,039	r = 0,078	r = -0,121	r = -0,025	r = 0,135
VEGF (pg/ml)	r = 0,0002	r = -0,035	r = 0,141	r = 0,073	r = 0,002	r = 0,088	r = -0,257

Níveis plasmáticos de interleucinas-1 α (IL-1 α), -1 β (IL-1 β), -4 (IL-4), -6 (IL-6), -10 (IL-10), -12P70 (IL-12P70), interferon- γ (IFN- γ), fator nuclear tumoral- α (TNF- α), fator de crescimento de novos vasos (VEGF) e fator transformador de crescimento- β 1 (TGF- β 1) ao final do protocolo experimental em todos os grupos: Sedentário Controle (SC, n = 5 - 6); Sedentário Probiótico (SP, n = 5 - 6); Sedentário Dexametasona (SD, n = 5 - 6); Sedentário Probiótico + Dexametasona (SPD, n = 5 - 6); Treinado Controle (TC, n = 5 - 6); Treinado Probiótico (TP, n = 5 - 6); Treinado Dexametasona (TD, n = 5 - 6) e Treinado Probiótico + Dexametasona (TPD, n = 5 - 6). Os valores são média $\pm$ Erro padrão da média. Para análises com distribuição normais a correlação aplicada foi de Pearson e para anormais a correlação foi de Spearman com significância: *p<0,05, **p<0,01.

7. DISCUSSÃO.

Os principais resultados do presente estudo revelam que a microbiota está envolvida na rigidez arterial induzida pela DEX, uma vez que a suplementação com probiótico atenua esta resposta. Além disso, os principais resultados sugerem que o treinamento combinado, associado ou não com suplementação com probiótico, atenua a via de sinalização do COL 3 aórtico, que pode contribuir para atenuar o aumento da rigidez arterial induzida pela DEX.

Já está bem estabelecido que, embora a dexametasona seja mundialmente utilizada no tratamento de condições inflamatórias, alérgicas, asma, imunossupressão e no tratamento da COVID-19 (CHEN et al., 2016; GUAN et al., 2020; HORBY et al. 2020), quando utilizada cronicamente apresenta diversos efeitos deletérios à saúde, tais como atrofia muscular, redução do peso corporal (MACEDO et al., 2014; KRUG et al., 2016; SHIN et al., 2017; FAPPI et al., 2019), diabetes (BAREL et al., 2010; DIONISIO et al., 2014), hipertensão (MONDO et al., 2006; HERRERA et al., 2016 e 2017; DUBEY et al., 2017), disbiose intestinal (WU et al., 2018) e recentemente, rigidez arterial (TARDELLI et al, 2021; TARDELLI et l, 2022; DE PAULA et al., 2023).

Recentes avanços na ciência destacam o papel da microbiota intestinal em diversas doenças cardiovasculares (MASENGA et al., 2022) e o uso de bactérias probióticas vem crescendo como um importante aliado no tratamento dessas doenças (KLIPPEL et al., 2016; BRASIL et al., 2018; CHAKAROUN et al., 2023). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os probióticos são microrganismos vivos que conferem benefício à saúde do hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas (FAO, 2006). Neste sentido, o presente estudo avaliou o envolvimento da microbiota intestinal no aumento da rigidez arterial induzido por DEX, bem como os efeitos preventivos do treinamento combinado.

Para auxiliar na compreensão dos resultados do presente estudo, dividimos a discussão em 2 partes: na primeira discutiremos os efeitos da DEX e a papel da microbiota intestinal na rigidez arterial. Na segunda parte discutiremos os efeitos preventivos do treinamento combinado, associado ou não com a suplementação com probióticos, na rigidez arterial dos ratos tratados com DEX.

O presente estudo não avaliou a quantidade ou qualidade das bactérias presentes na microbiota intestinal dos ratos sob os efeitos da DEX, o que, sem dúvida, deixaria o estudo mais robusto. Contudo, existem trabalhos anteriores na literatura que mostram que o tratamento com DEX pode promover úlcera péptica (NARUM et al., 2014), lesão na mucosa intestinal acompanhada de aumento de citocinas e receptores pró-inflamatórios no cólon (SOUZA et al., 2007; KIM et al., 2015; WU et al., 2018; LI et al., 2018) e desequilíbrio das bactérias intestinais, também conhecido como disbiose intestinal (WU et al., 2018), tanto em humanos como em animais. Além disso, o probiótico utilizado no presente estudo pode reverter o desequilíbrio de bactérias intestinais (LIEW et al., 2019), o que dá suporte ao seu uso para avaliar o papel da microbiota nas respostas observadas.

O presente estudo confirmou respostas previamente demonstradas que a DEX reduz PC, no entanto, a suplementação com probiótico *Lactobacillus casei* não foi capaz de mitigar esta redução. Da mesma forma, a suplementação não induziu ganho de PC, nos animais sedentários, o que está de acordo com estudos prévios (MILLON et al., 2012). A meta-análise realizada por Million e colaboradores (2012) concorda com os resultados do presente estudo ao relatar que a utilização a cepa *Lactobacillus casei* não foi capaz de promover alteração significativa no PC. Um mecanismo relacionado à queda de PC é uma possível alteração na secreção de leptina ou grelina, uma vez que DEX pode causar desequilíbrio na produção desses hormônios (TULIPANO et al., 2005; JAHNG et al., 2008). Assim como a DEX, a microbiota também pode influenciar a secreção de leptina e grelina, bem como de outros neuropeptídeos anorexígenos e orexígenos. Resumidamente, ambas enviam sinais oriundos da região gastrointestinal até o sistema nervoso central, mais precisamente no hipotálamo que, por sua vez, responde inibindo ou estimulando o apetite, respectivamente (NAKAZATO et al., 2001). No entanto, os efeitos de probióticos na produção e liberação destes hormônios ainda são inconsistentes. Por exemplo, a administração aguda de *L. brevis* induz a ativação da grelina a curto prazo, o que aumenta o consumo alimentar (SAITO et al., 2019). Por outro lado, Queipo-Ortuño et al. (2013) demonstraram uma correlação positiva entre a quantidade do gênero *Lactobacillus* nas fezes de ratos e os níveis plasmáticos de leptina, bem como uma correlação negativa com os níveis de grelina. Além disso, Hathout e colaboradores (2011) mostraram que ratos suplementados com o probiótico *L. casei* apresentaram consumo de ração inalterada.

Os resultados do presente estudo demonstram diminuição da ingestão alimentar logo nos primeiros dias de tratamento com DEX, reposta que confirma os achados anteriores do nosso grupo e de outros autores (MACEDO et al., 2014 e KRUG et al., 2016; SOTO-PIÑA et al., 2016; FAPPI et al., 2019). A análise de área sob a curva (AUC) da ingestão alimentar mostrou que o tratamento com DEX reduziu significativamente a ingestão alimentar dos animais e que a suplementação com *L. casei* atenuou esse efeito. A suplementação *per se* não alterou a ingestão alimentar dos ratos. Neste sentido, sugere-se que a microbiota possa estar envolvida nas alterações de ingestão alimentar, sem, no entanto, alterar o PC nos ratos tratados com DEX. Demonstramos anteriormente que a redução de ingestão alimentar pode ser um fator desencadeante de atrofia muscular em ratos tratados com DEX e os mecanismos envolvem um desbalanço entre as proteínas atroficas e hipertróficas (MACEDO et al., 2014; MACEDO et al., 2016; KRUG et al., 2016). Os resultados do presente estudo confirmam que o uso crônico de DEX determinou redução da massa muscular esquelética, especificamente nos músculos TA e FHL (glicolíticos), com exceção do sóleo (oxidativo). A suplementação com probiótico *L. casei* não preveniu a redução da massa do FHL e TA no grupo tratado com DEX. Os resultados de FHL sugerem uma ligeira atenuação da redução da massa nos animais SPD, uma vez que este grupo apresentou valores semelhantes ao SP, no entanto, mais estudos são necessários para compreender os efeitos do *L. casei* nas proteínas catabólicas/anabólicas no músculo esquelético. Assim, os resultados acima sugerem então que a redução de PC, induzida pela DEX, esteja relacionada à redução da ingestão alimentar e atrofia muscular. No entanto, esta resposta parece não estar relacionada às alterações da microbiota intestinal, uma vez que os ratos SPD não apresentaram atenuação de atrofia muscular nem de redução de PC.

Os resultados do presente estudo indicaram que o tratamento apenas com DEX resultou em uma redução significativa da massa do cólon proximal e do distal em comparação ao grupo controle, o que está de acordo com estudos prévios (READ et al., 1992), no entanto a suplementação com *L. casei* não foi capaz de mitigar esses efeitos. Importante destacar que, apesar da massa do cólon estar menor nos animais tratados com DEX em relação aos seus controles, resultados de nosso laboratório ainda não publicados sugerem que esta dose de DEX não altera significativamente o tamanho das criptas nem a capacidade de produção de muco do cólon.

Para comprovar a eficácia do tratamento com a DEX, a massa de alguns tecidos foi avaliada. As glândulas adrenais, como esperado, estavam atrofiadas, em conformidade com os resultados previamente publicados pelo nosso grupo (KRUG et al., 2016; DUCHATSCH et al., 2018). Da mesma forma, a DEX reduziu a massa do baço, que é considerado um órgão auxiliar do sistema imunológico, portanto, a redução da massa deste órgão poderia indicar efeito imunossupressor da DEX. Por outro lado, a massa do fígado não foi alterada nesta dosagem de DEX. A suplementação prévia com probiótico atenuou a redução das glândulas adrenais, sem qualquer efeito no baço e fígado. O possível papel do probiótico na massa das glândulas adrenais precisa ser investigado, no entanto não foi o foco deste estudo.

Os resultados do presente estudo demonstraram que a DEX não alterou a capacidade física dos ratos esteira, como demonstrado anteriormente por nosso grupo (BAREL et al., 2010, DE PAULA et al, 2023), no entanto foi interessante notar que os animais tratados com DEX, suplementados ou não com probiótico, aumentaram sua capacidade de carregamento de carga na escada. Somente a suplementação com probiótico *L. casei* não causou nenhuma alteração na capacidade física dos animais, diferente dos resultados apresentados por Martinen et al. (2020) em sua revisão. Esse resultado de melhora no desempenho físico no teste de escada com a suplementação de probióticos associado à DEX ou somente com a DEX pode ser decorrente de um possível efeito ergogênico da DEX na força muscular (LI et al., 2018). Uma possível explicação para essa resposta ergogênica encontrada nos animais sedentários tratados com DEX é que a DEX não interfere na resposta de contração muscular, preservando assim a ação da insulina na captação intracelular de glicose (RUZZIN et al., 2005). Os mecanismos envolvidos nas respostas de performance após suplementação com probióticos ou mesmo com a DEX precisam ser melhor estudados.

A rigidez arterial é uma alteração da capacidade funcional e estrutural dos vasos (LACOLLEY et al., 2017; MARTINEZ-LEMUS et al., 2017) que está associada a doenças cardiovasculares (JAUHIAINEN et al., 2010; SANTISTEBAN et al., 2017) e tem sido considerada um importante preditor de eventos cardiovasculares futuros (ECOBICI & VOICULESCU, 2017). A busca constante por prevenção e controle do aumento da rigidez arterial se baseia no fato que o aumento de 1 m/seg de VOP está relacionado um aumento de 15% de mortalidade por todas as doenças cardiovasculares (VLACHOPOULOS et al., 2019). Utilizamos no presente estudo um dispositivo não invasivo, padronizado pelo nosso grupo para avaliar a VOP em pequenos animais, o que, por sua vez, nos permitiu a análise dos mecanismos envolvidos no controle da VOP

(FABRICIO et al., 2020; MIOTTO et al., 2021; TARDELLI et al., 2021; DE PAULA et al., 2023).

Os resultados do presente estudo revelaram que o tratamento crônico com DEX induziu o aumento da VOP e que este aumento estava acompanhado de aumento dos níveis de COL-3 na aorta, confirmando resultados recentemente publicados (TARDELLI et al., 2022; DE PAULA et al., 2023). Dentre os mecanismos envolvidos no aumento da rigidez arterial induzidos por DEX pode-se citar aumento da atividade nervosa simpática para os vasos (TARDELLI et al., 2022), aumento de fibrose nas artérias aorta, femoral e carótida (CANSU et al., 2016; TARDELLI et al., 2021; TARDELLI et al., 2022) e aumento da produção de colágeno tipo 3 na aorta torácica de ratos (DE PAULA et al., 2023). Além disso, Abd El-Hakam et al. (2022) demonstraram que a DEX aumenta os níveis séricos da proteína endotelina-1 (ET-1), a qual tem sido associada à progressão da hipertrofia vascular (KIRKBY et al., 2008) e disfunção endotelial (SHER et al., 2020), que podem também contribuir para o aumento da rigidez arterial. Além disso, um estudo realizado por Tsai et al. (2022) mostrou que pacientes com aldosteronismo primário, que possuem secreção autônoma de cortisol, exibem maior rigidez arterial, a qual também está associada à fibrose vascular, medida nas artérias do tecido adiposo. O presente estudo revelou que a suplementação prévia com L. casei bloqueou completamente o aumento de VOP induzido por DEX, sugerindo um papel da microbiota intestinal na manutenção da VOP.

Para entender os impactos causados pelo tratamento com DEX e suplemento probiótico na rigidez arterial, foram investigadas as principais vias de sinalização da produção de colágeno presentes na rigidez arterial. A produção de colágeno na aorta pode ser estimulada por diferentes fatores, como estresse oxidativo (LINO et al., 2018), alterações no sistema renina-angiotensina e maior atividade nervosa simpática (DAB et al., 2012; ZHOU et al., 2014), assim como processos inflamatórios envolvendo citocinas (FLEENOR et al., 2010; WANG et al., 2006; WANG et al., 2012). Em estudos anteriores conduzidos pelo nosso grupo e por Macedo et al. (2020), foi observado um aumento no drive simpático para os vasos após tratamento com DEX (HERRERA et al., 2016; TARDELLI et al., 2021), o que vai de encontro com os achados do presente estudo. Esse aumento do fluxo simpático pode levar à síntese de colágeno na parede vascular via receptor beta (DAB et al., 2012; ZHOU et al., 2014). Evidências fornecidas por Dab et

al. (2012) mostram que o bloqueio dos receptores beta adrenérgicos inibe o aumento de COL3 induzido por noradrenalina em células musculares lisas vasculares. Em concordância, Adameova et al. (2009) mostraram que o excesso de glicocorticoides pode inibir a captação extraneural de noradrenalina (NE), resultando em um aumento das catecolaminas plasmáticas. Além disso, o aumento dos níveis de colágeno na aorta pode estar relacionado ao fator transformador de crescimento beta (TGF- β), que também pode estar aumentado em ratos tratados com dexametasona (ABD EL-HAKAM et al., 2022). Estudos também revelaram que o TGF- β , um fator pró-fibrótico, contribui para o aumento do colágeno através da via TGF- β 1/Smad (HE et al., 2020). Os resultados do presente estudo mostraram que não somente a produção de TGF- β estava aumentada na aorta dos animais tratados com DEX, mas de toda a cascata na formação de colágeno iniciada por esta proteína, ou seja, a DEX aumentou a produção de TGF- β 1, TGFBR2, p-SMAD 2-3/SMAD 2-3 e COL3. Os resultados demonstraram também que a suplementação probiótica bloqueou o aumento para TGF- β 1, TGFBR2, p-SMAD/SMAD 2/3 e COL3 nos grupos SPD, em comparação com os SD. Os animais previamente tratados com probiótico no presente estudo não apresentaram aumento da atividade nervosa simpática para os vasos induzida pela DEX, quando comparado ao grupo SD, sugerindo que os probióticos possam ter contribuído para um melhor equilíbrio do sistema nervoso autônomo, assim como observado por (TANIDA et al., 2016). Alguns estudos em camundongos indicam que o nervo vago pode ser um canal de comunicação direta entre os micróbios intestinais e o sistema nervoso central (EISENSTEIN et al., 2009). Além disso, Bravo et al (2011) identificaram que a bactéria probiótica *Lactobacillus rhamnosus* influencia o comportamento emocional e a expressão do receptor do ácido gama aminobutírico (GABA) no centro nervoso, por meio do nervo vago. Estes autores (BRAVO et al., 2011) também relataram que o *Lactobacillus rhamnosus* reduzia os níveis de corticosterona induzida pelo estresse e que os animais vagotomizados não apresentavam efeito neuroquímico e comportamental, mostrando assim que do nervo vago é um importante via de comunicação constitutiva regulatória entre as bactérias expostas ao intestino e ao cérebro, mitigando assim os efeitos ansiolíticos. Além do GABA, participam dessa comunicação os hormônios intestinais, como o neuropeptídeo Y, a dopamina, a noradrenalina (EISENHOFER et al., 1997; RHEE et al., 2009; LYTE et al., 2011) e as moléculas da microbiota intestinal, como os ácidos graxos de cadeia curta e o triptofano (STILLING et al., 2014). Sendo a noradrenalina envolvida na cascata de formação de COL-3 via TGF- β 1/ TGFBR2/ p-SMAD/SMAD, pode-se sugerir que a

suplementação com probiótico *L. casei* esteja modulando a atividade nervosa simpática (TANIDA et al., 2016). Com base nessas informações, assumimos que a suplementação prévia com probiótico poderia atenuar a rigidez arterial via redução de COL-3 que pode ser decorrente direta de redução da atividade nervosa simpática, ou pela menor liberação de noradrenalina ou pela menor atuação do TGF- β 1.

Segundo a literatura, tanto a rigidez arterial pode preceder a hipertensão, como a hipertensão também pode alterar a estrutura dos vasos (AGBAJE, 2022). O modelo experimental do presente estudo não permite saber qual alteração veio primeiro, mas que existe uma correlação entre VOP e PAS e ambas podem ser moduladas pelo sistema nervoso autônomo. O presente estudo demonstrou que o grupo suplementado com probióticos apresentou menores valores PAS, PAD e PAM após tratamento com a DEX, em comparação com os ratos não suplementados, sugerindo que a via do sistema nervoso autônomo da microbiota intestinal é um importante mecanismo para mitigar o aumento da VOP e PA induzidos pelo tratamento com DEX.

Sobre a microbiota intestinal, no entanto, pouco se sabe sobre seu papel na rigidez arterial induzida por DEX. Recentemente, Meni e colaboradores (2020), observaram associação entre redução da abundância de bactérias intestinais, aumento plasmático da proteína C-reativa, que é um marcador inflamatório cardiovascular com aumento de VOP em indivíduos com aterosclerose, mas não investigaram o bloqueio dessa via pela suplementação de bactérias probióticas na modulação desses fatores. Neste sentido, sabendo que o tratamento com DEX pode induzir uma disbiose intestinal e inflamação e, por sua vez a inflamação pode contribuir para o aumento da rigidez arterial, um outro mecanismo que poderia estar envolvido no aumento VOP induzido pela DEX seria a inflamação. Em concordância, Wu e colaboradores (2018) demonstraram que o tratamento com DEX na água de beber induziu desequilíbrio nas bactérias intestinais, aumento do número de células epiteliais inflamadas do colón e aumento da expressão gênica de TNF- α , Toll like receptor-2, antimicrobianos, IL-6 e IL-1 β . No entanto, estes autores não avaliaram a VOP. O presente estudo mostrou que embora os níveis de citocinas pró-inflamatórias não estavam significativamente aumentadas no plasma após tratamento com DEX, foi observada uma correlação positiva fraca entre IL-1 β e COL3 ($r = 0,304$). A IL-1 β , por sua vez, induz a ativação tanto das vias canônicas quanto das não canônicas do NF- κ B, promovendo assim aumento da permeabilidade intestinal. Tem sido

demonstrado que a IL-1 β aumenta a produção de colágeno nas células musculares lisas vasculares (AMENTO et al., 1991), o que pode explicar outra possível via colaborando para o aumento do COL3 aórtico no presente estudo.

A capacidade de controlar e equilibrar a invasão de conteúdo prejudicial do lúmen intestinal para o organismo interno é chamada de função de barreira intestinal (KALLIOMAKI et al., 2003; LUTGENDORFF et al., 2009). Essa barreira pode ser dividida em três partes, a saber: 1) as bactérias do lúmen, 2) as células epiteliais e 3) o tecido linfoide associado ao intestino (GALT), que trabalham em conjunto para evitar a passagem de patógenos potenciais do lúmen para o meio interno (KALLIOMAKI et al., 2003). No presente estudo, embora não tenhamos observado produção exacerbada de citocinas inflamatórias induzidas por DEX, conforme mostrado por Wu et al. (2018) e Abd El-Hakam et al. (2020), demonstramos que a produção da proteína claudina-1, uma proteína importante na função barreira, mas não a ocludina, estava reduzida no cólon dos ratos tratados com DEX, sugerindo que a DEX possa prejudicar a função barreira do cólon dos animais. Por outro lado, a suplementação prévia com *L. casei* impediu a redução da principal proteína de junção firme induzida por tratamento crônico com DEX. Os resultados do presente estudo são únicos em demonstrar a bactéria probiótica *L. casei* foi capaz de bloquear a redução da proteína claudina-1. De acordo, Zong e colaboradores (2019) observaram redução in vitro de claudina-1 e ocludina após tratamento com cortisol em células intestinais. Por outro lado, no presente estudo, observamos aumento exacerbado na densitometria quantitativa para ocludina em ratos tratados com DEX e *L. casei*, mostrando assim uma resposta compensatória para grupo SD vs SC e SP vs SC que pode ser mediada pela retroalimentação. Por exemplo, as células epiteliais da mucosa intestinal também são capazes de produzir glicocorticoides localmente. Quando lipopolissacarídeos e citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral-alfa estão presentes, há um aumento na síntese epitelial de glicocorticoides, que podem atuar como um mecanismo de feedback para reduzir a inflamação aguda que danifica a mucosa. Como mencionado anteriormente, o cortisol em níveis elevados promove inflamação das células epiteliais e aumento de TNF- α (WU et al., 2018). Portanto, pode-se sugerir assim que as células epiteliais estimuladas por essas citocinas promovam uma maior ativação do mecanismo de feedback para reduzir a inflamação aguda que danifica a mucosa. Por outro lado, segundo o trabalho de CHASIOTIS e colaboradores (2010) observou, as células epiteliais de brânquias de trutas in vitro após tratamento com cortisol estimulou o

aumento da produção de ocludina (CHASIOTIS, WOOD & KELLY, 2010) sugerindo assim, que as células epiteliais podem frear a permeabilidade intestinal pelo mecanismo de feedback após estímulo do cortisol nessas células. No entanto, estas respostas precisam ser melhor investigadas, principalmente pelos efeitos contraditórios dos experimentos *in vivo* e *in vitro*.

Portanto, os resultados apresentados nesta primeira parte sugerem que a DEX promove aumento de rigidez arterial determinado pela maior produção de COL-3 na artéria aorta e que este aumento pode estar associado com o aumento da atividade nervosa simpática, que pode contribuir via direta, pela ação da noradrenalina em seus receptores beta na aorta ou via estimulando a cascata de sinalização do TGF- β 1 (TGF- β 1/TGFBR2/p-SMAD/SMAD/COL-3), que é um importante marcador de fibrose. A microbiota intestinal parece ter um papel relevante no aumento de rigidez arterial induzida pela DEX, uma vez que a suplementação prévia com probiótico atenuou todas as vias de formação do COL-3. O colágeno tipo 1 não foi objeto de investigação no presente estudo, uma vez que já foi previamente evidenciado que a administração de DEX não promove alterações nesta proteína na parede da aorta em ratos wistar (DE PAULA et al., 2023).

Nesta segunda parte será abordado o efeito preventivo do treinamento combinado, associado ou não com a suplementação com probióticos, na rigidez arterial dos ratos tratados com DEX.

Antes de mais nada é importante destacar que o TF_C foi eficaz em determinar melhora da capacidade física dos animais, a qual foi avaliada pelos testes máximos na esteira e na escada. Da mesma forma que o observado nos sedentários, nem a suplementação com probiótico nem a DEX alterou a capacidade física na esteira entre os treinados, no entanto, a resposta “ergogênica” no teste de carregamento de peso, observada nos ratos sedentários tratados com DEX, associada ou não com os probióticos não foi vista entre os treinados no presente estudo. Várias evidências têm associado a composição da microbiota intestinal com a capacidade física em atletas ou fisicamente ativos, no entanto os resultados são ainda inconclusivos, principalmente devido à diversidade de bactérias intestinais (DE OLIVEIRA & BURINI, 2009; SHING et al., 2014; CLARK et al., 2016; CARBUHN et al., 2018; MARTTINEN et al., 2020). Recentemente, Marttinen et al. (2020) demonstraram em sua revisão que a composição da microbiota intestinal pode afetar a fisiologia do hospedeiro e consequentemente sua

performance nos exercícios. Em sua revisão estes autores concluem que os probióticos podem ser considerados como ergogênicos indiretos, uma vez que podem melhorar as adaptações aos treinamentos, facilitar as respostas no período de recuperação, melhorar o humor e as respostas mentais durante e após o exercício. Da mesma forma, Shing et al. (2014) mostraram que corredores que fizeram uso de probióticos melhoraram o tempo de fadiga na esteira, provavelmente porque os probióticos melhoram a integridade gastrointestinal, a translocação de endotoxinas e modula o sistema imune, contribuindo assim para gerar um efeito adicional na performance ao exercício. Por outro lado, Carbuhn et al. (2018) demonstraram que a suplementação com probióticos determinou melhoras cognitivas em nadadoras jovens, mas não determinou melhora da performance. Neste sentido, os efeitos dos probióticos na capacidade física ainda precisam ser melhor investigados, principalmente porque os efeitos podem ser dependentes do tipo de bactérias, do tipo e intensidade do treinamento e da condição física do hospedeiro (ALLEN et al., 2018; MARTTINEN et al., 2020; HUANG et al., 2018; HUANG et al., 2019; SCHEIMAN et al., 2019).

Não obstante, o treinamento físico pode favorecer bactérias que estão envolvidas na performance de corredores. Em um estudo realizado em camundongos, foi demonstrado que o tratamento com uma linhagem de *Veillonella* sp., isolada de um corredor de maratona, aumentou o tempo de corrida em esteira em 13% (HUANG et al., 2018). Isso sugere que durante o exercício de alta intensidade, o lactato produzido pelos músculos esqueléticos entra no intestino através da circulação. Essa situação proporciona uma vantagem seletiva para as espécies de bactérias residentes no cólon que utilizam lactato como fonte de energia, resultando na produção de metabólitos como o propionato. O propionato desempenha um papel importante na regulação do metabolismo energético e tem um efeito ergogênico no hospedeiro que se exercita (HUANG et al., 2019; SCHEIMAN et al., 2019).

O presente estudo demonstrou que entre os animais treinados a redução de PC foi semelhante a que aconteceu nos animais sedentários, ou seja, a DEX determinou redução do PC e a suplementação com probiótico não evitou esta redução. Pode-se observar então que o TF_C interferiu na resposta de PC nem entre os tratados com DEX nem entre aquele que foram suplementados com probiótico antes do tratamento com DEX. Estes resultados confirmam os achados anteriores de nosso grupo em animais normotensos e hipertensos. (TARDELLI et al., 2022; DE PAULA et al., 2023).

Com relação a ingestão alimentar, o TF, associado ou não à suplementação com probiótico, não foi capaz de mitigar a baixa ingestão alimentar induzida por DEX, concordando com estudos prévios em que mostram que o TF aeróbio (SOTO-PIÑA et al.,

2016), ou o resistido (MACEDO et al., 2014; KRUG et al., 2016) por si só não atenuam essa resposta. Os fatores que regulam o apetite durante o exercício podem ser categorizados em três grupos: longo prazo, que inclui hormônios como leptina e insulina; intermediário, que envolve sinais pós-absortivos associados à apresentação de macronutrientes (por exemplo, glicose e carboidratos não esterificados) e sinais de saciedade de curto prazo gerados no trato gastrointestinal em resposta à ingestão de alimentos (HOLZER et al., 2014). Algumas evidências têm mostrado que sessões agudas de exercício podem modular a produção e liberação de leptina e grelina, como por exemplo as apresentadas na revisão de Halliday et al. (2021), no entanto a influência do TF e de probióticos na ingestão alimentar ainda precisam ser melhor investigadas (HALLIDAY et al., 2021).

Já havíamos demonstrado anteriormente que a atrofia muscular estava envolvida na redução de PC nos animais tratados com DEX e os resultados do presente estudo mostraram que TF combinado não foi capaz de atenuar a redução da massa muscular esquelética induzida pela DEX, concordando com os resultados previamente demonstrados (HERRERA et al., 2016; KRUG et al., 2016). Portanto, a redução de PC observada também nos animais treinados após tratamento com DEX parece envolver a atrofia muscular e é independente de qualquer alteração na microbiota.

O presente estudo mostrou que nem a suplementação prévia com probiótico *L. casei*, nem o tratamento com a DEX, nem a combinação de probiótico e DEX determinaram alterações significativas nas massas do cólon e fígado dos animais treinados, e o TF_C não atenuou a redução das glândulas adrenais. A massa do baço estava aumentada nos animais suplementados com probiótico e treinados, no entanto, os animais tratados com DEX e suplementados ainda apresentaram valores menores que os controles treinados.

O treinamento físico é uma estratégia não-farmacológica eficaz no tratamento e controle das doenças cardiovasculares (PEDRALLI et al., 2020; BELLICHA et al., 2021; LU et al., 2021) e, dentre os diferentes tipos de treinamentos físicos, o TF_C, em dias alternados, vem sendo sugerido como uma importante ferramenta por contemplar as magnitudes específicas promovidas por cada tipo de treinamento (BARROSO et al., 2020). No presente estudo o TF combinado por 74 dias à 60% da capacidade física foi capaz de prevenir completamente o aumento de VOP induzido por DEX nos animais. Além disso, o presente estudo demonstrou que a associação do TF combinado com a suplementação com *L. casei* determinou menor VOP no período de 8 semanas de treinamento, quando comparado ao grupo controle. Estes resultados podem sugerir que

ambas as intervenções são estratégias não farmacológicas eficientes para reduzir VOP e prevenir futuros eventos cardiovasculares, mesmo na presença de tratamento com DEX. Como esperado, o TF combinado foi eficaz em prevenir também o aumento da PAS, PAD e PAM induzidas pela DEX grupo treinado controle, concordando com estudos anteriores (TARDELLI et al., 2022; DE PAULA et al., 2023). Além disso, o presente estudo também demonstrou correlação positiva entre a VOP e a PAS ($r = 0,428$), bem como entre VOP e variabilidade LF abs mmHg² ($r = 0,287$) e entre LF abs mmHg² e COL3 ($r = 0,465$).

Diversas meta-análises têm destacado a importância clínica de diferentes tipos de treinamento físico na redução da VOP (LOPES et al., 2021; SAZ-LARA et al., 2021; XIN et al., 2022; LI et al., 2022; THOMAS et al., 2022). No entanto, a maioria desses estudos foi realizada em seres humanos e em diferentes condições, como envelhecimento (LI et al., 2022), obesidade, mulheres na pós-menopausa (XIN et al., 2022), hipertensão e diabetes (LOPES et al., 2021), o que dificulta a compreensão dos mecanismos envolvidos. Embora todas essas meta-análises demonstrem de forma consistente que o exercício aeróbico, assim como exercícios isométricos, de alongamento e de mente-corpo reduzem significativamente a VOP, ainda há poucos estudos investigando os efeitos do Treinamento combinado (LOPES et al., 2021; SAZ-LARA et al., 2021), mesmo o TFc sendo aquele mais indicado para melhorias cardiovasculares em comparação com o treinamento aeróbico ou resistido realizado separadamente (SCHROEDER et al., 2019). Recentemente, Schroeder e colaboradores (2019) compararam os efeitos do treinamento aeróbico, treinamento de resistência e uma combinação de ambos (treinamento aeróbico e de resistência) em vários fatores de risco cardiovascular, incluindo pressão arterial periférica e central, aptidão cardiorrespiratória, força muscular, composição corporal, glicemia e lipídios no sangue. Concluiu-se que, entre indivíduos com risco aumentado de doenças cardiovasculares, um programa de 8 semanas de treinamento combinado proporcionou benefícios cardiovasculares mais abrangentes em comparação com o treinamento aeróbico ou de resistência realizado pelo mesmo período. Embora haja dados limitados disponíveis sobre Treinamento combinado, existem alguns mecanismos sugeridos que podem contribuir para melhorar a funcionalidade e a estrutura dos vasos sanguíneos. Esses mecanismos incluem aumento dos níveis plasmáticos de NOx (marcador de produção de óxido nítrico) nos idosos (OTSUKI et al., 2020), diminuição do endotelina-1 e aumento dos níveis de nitrito/nitrato em meninas obesas e pré-hipertensas (SON et al., 2017), e redução do perfil lipídico em mulheres mais velhas na pós-menopausa (PEKAS et al., 2020). No entanto, ainda há a necessidade de uma investigação mais aprofundada dos mecanismos envolvidos na redução do COL-3 induzido pela DEX por meio do treinamento combinado.

Para compreender melhor sobre a síntese de colágeno na aorta, o próximo parágrafo explicará a via de sinalização do colágeno e os possíveis mecanismos pelo qual DEX atua na sua produção e que o treinamento combinado possa estar atenuando.

Após o TGF- β 1 se ligar ao receptor 2 e recrutar o receptor 1, formando assim o complexo de receptores na superfície da membrana celular, estimula a produção de fibronectina, colágeno, inibidor do ativador do plasminogênio-1 e fator de crescimento de tecido conectivo principalmente por meio das proteínas citoplasmáticas conhecidas como SMADs, que por sua vez, se deslocam para o núcleo da célula e desempenham o papel de fatores de transcrição, podendo promover tanto a síntese de proteínas da matriz extracelular como a inibição (FAN et al., 2000; RUIZ-ORTEGA et al., 2007; HARVEY et al., 2016). A literatura mostra que o TGF- β 1 é expresso em células endoteliais, células musculares lisas vasculares, miofibroblastos e células do sistema imune. Sua ativação pode ser via lesão tecidual (MCCAFFREY et al., 1995), fatores hipertensivos como a angiotensina 2 (RUIZ-ORTEGA et al., 2007), inflamação (LIAO et al., 2022), disfunção mecânica causada por fluxo abrupto do sangue nas células endoteliais (KOUZBARI et al., 2019), bem como o sistema nervoso autonômico influenciando no sistema imune e ambos impactando no aumento de colágeno (KUMAR et al., 2019, HONKE et al., 2022). Visto isso, o presente estudo demonstrou que a suplementação com *L. casei* associado ou não ao TFC, foram capazes de atenuar o aumento da rigidez arterial pela atividade nervosa simpática para os vasos e pela via de sinalização da produção de colágeno. Dando sustentação a esses resultados sobre o efeito do treinamento combinado, pesquisadores mostraram que ele previne a rigidez arterial através da maior ação parassimpática em pré-hipertensos (SONGCHAREM et al., 2022), atenuação do drive simpático para os vasos em jovens obesos (PHOEMSAPTHAWEE et al., 2019), em ratos hipertensos (SHIMOJO et al., 2018; TARDELLI et al., 2022), redução de marcadores inflamatórios e adrenalina circulante em obesos (PARK et al., 2020), atenuação dos níveis de TGF- β 1 em indivíduos com disfunção motora (KUMAR et al., 2019), bem como menor presença de COL-3 na aorta (DE PAULA et al., 2023), atribuindo a prevenção do aumento da rigidez arterial a esses mecanismos encontrados exacerbados nos animais sedentários tratados com DEX.

Não obstante, o treinamento combinado pode atuar na atenuação da produção de colágeno 3 por outros mecanismos além dos investigados nesse presente estudo. A exemplo temos Dias e colaboradores (2020), que embora não investigaram a produção de colágeno na aorta, entretanto, demonstraram em seu estudo a atenuação do estresse

oxidativo em ratos hipertensos que participaram do TFc em relação aos animais controle. Em consonância com esses autores, Ruangthai e Phoemsapthawee (2019) e outros pesquisadores mostraram que o TFc por 8 semanas de moderada intensidade também foi capaz de reduzir o estresse oxidativo em idosos e hipertensos (SHIMOJO et al., 2018), outro mecanismo em que a DEX promove desequilíbrio (IUCHI et al., 2003; HERRERA et al., 2017) e que estão envolvidos no aumento de colágeno nos vasos (FLEENOR et al., 2010).

Sobre os efeitos da suplementação com probiótico associado ao treinamento combinado, o presente estudo é único em demonstrar o efeito adicional da suplementação com probiótico na prevenção da rigidez arterial pela via de síntese de colágeno. Apesar dessa escassa investigação com a associação do probiótico *L. casei* ao treinamento combinado, o presente estudo sugere que a suplementação com probiótico possa contribuir na atenuação da produção de colágeno através da atenuação do drive simpático para os vasos, uma vez que o probiótico *L. casei* é capaz de atenuar essa resposta (TANIDA et al., 2016) e o TFc aumenta a atividade nervosa parassimpática (SONGCHAREM et al., 2022) e isso pode favorecer a uma resposta mais vasodilatadora. Além disso, o TFc promove maior teor de nitrito/nitrato no sangue (RUANGTHAI & PHOEMSAPTHAWEE, 2019), o que pode atenuar a ativação de TGF- β induzida por DEX, que por sua vez diminui a deposição de colágeno através da via TGF- β 1/Smad (HE et al., 2020), e poderia melhorar a disfunção endotelial (PEDRALLI et al., 2020) e promover vasodilatação direta, sugerindo efeito adicional, colaborando assim para contribuir para a atenuação da expressão de colágeno 3 na aorta dos animais TPD quando comparados ao TD.

O presente estudo demonstrou que o TF combinado foi capaz de atenuar a redução da claudina – 1, sem alterar a ocludina nos animais TD vs SD e TPD vs SPD, mostrando ser seguro na prevenção da desestruturação da barreira intestinal induzida por DEX com efeitos mais proeminentes na barreira intestinal nos animais treinados quando comparados aos respectivos sedentários. Esses resultados estão de acordo com a literatura, uma vez que treinamento físico de leve a moderada intensidade não impacta negativamente nas proteínas da barreira intestinal (ZUHL et al., 2014), aos contrários de exercício prolongados (ROWELL et al., 1971) ou de maior intensidade (VAN WIJK et al., 2011).

7. CONCLUSÃO.

Os resultados deste estudo confirmam a hipótese de que a microbiota intestinal tem um papel importante no aumento de rigidez arterial induzido pelo tratamento com dexametasona e que a prévia suplementação com probiótico atenua a atividade nervosa simpática que, por sua vez, pode contribuir direta ou indiretamente na formação de COL-3 na aorta dos animais tratados com DEX. Além disso os achados ressaltam a relevância da integridade da microbiota intestinal e do Treinamento combinado na prevenção do enrijecimento arterial induzido pelo tratamento com a DEX. Vale ressaltar que este estudo demonstra, pela primeira vez, a relevância clínica dessas duas intervenções não farmacológicas nas alterações vasculares induzidas pelo tratamento com dexametasona em animais saudáveis.

8. REFERÊNCIAS:

1. ABD EL-HAKAM, F. E. Z., ABO LABAN, G., BADR EL-DIN, S., ABD EL-HAMID, H., FAROUK, M. H. Apitherapy combination improvement of blood pressure, cardiovascular protection, and antioxidant and anti-inflammatory responses in dexamethasone model hypertensive rats. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 20765, 2022.
2. ADAMEOVA, A; ABDELLATIF, Y; DHALLA, N S. Role of the excessive amounts of circulating catecholamines and glucocorticoids in stress-induced heart disease. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 87, n. 7, p. 493-514, 2009.
3. AGBAJE, A. O. Arterial stiffness precedes hypertension and metabolic risks in youth: a review. **Journal of Hypertension**, v. 40, n. 10, p. 1887-1896, 2022.
4. AIRES, M. M. **Fisiologia. LC m, editor, São Paulo**: Guanabara Koogan; 2011.
5. AOYAGI, Y., AMAMOTO, R., PARK, S., HONDA, Y., SHIMAMOTO, K., KUSHIRO, A., SHEPHARD, R. J. Independent and interactive effects of habitually ingesting fermented milk products containing *Lactobacillus casei* strain Shirota and of engaging in moderate habitual daily physical activity on the intestinal health of older people. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1477, 2019.
6. AL-ASSAL, K.; MARTINEZ, A.C.; TORRINHAS, R.S.; CARDINELLI, C.; WAITZBERG, D. Gut microbiota and obesity. Clin. **Nutrition Experiment.**, n. 20, p. 60–64. 2018.
7. ALIVON, M., PHUONG, T. V. D., VIGNON, V., BOZEC, E., KHETTAB, H., HANON, O., MOHAMMEDI, K. A novel device for measuring arterial stiffness using finger-toe pulse wave velocity: Validation study of the pOpmètre®. **Archives Of Cardiovascular Diseases**, v. 108 n. 4, p. 227-234, 2015.
8. ALLEN, J. M., MILLER, M. E. B., PENCE, B. D., WHITLOCK, K., NEHRA, V., GASKINS, H. R., WOODS, J. A. Voluntary and forced exercise differentially alters the gut microbiome in C57BL/6J mice. **Journal of applied physiology**. 2015.
9. ALLEN, JM, MAILING, LJ, NIEMIRO, GM, MOORE, R., COOK, MD, WHITE, BA, WOODS, JA. Exercise alters gut microbiota composition and function in lean and obese humans. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 50, n. 4, p. 747-57, 2018.
10. ALLIN, K. H., TREMAROLI, V., CAESAR, R., JENSEN, B. A., DAMGAARD, M. T., BAHL, M. I., LINNEBERG, A. Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes. **Diabetologia**, v. 61, p. 810-820, 2018.
11. AMARAL SL, MICHELINI LC. Validation of transit-time flowmetry for chronic measurements of regional blood flow in resting and exercising rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 30. n. 7, p. 897-908, 1997.
12. AMARAL, S. L., ZORN, T. M., MICHELINI, L. C. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats. **Journal of hypertension**, v. 18 n. 11, p. 1563-1572, 2000.
13. AMENTO, E. P., EHSANI, N., PALMER, H., LIBBY, P. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. **Arteriosclerosis and thrombosis: a journal of vascular biology**, v. 11, n. 5, p. 1223-1230, 1991.

14. ANDERSON, B. H., WATSON, D. L., COLDITZ, I. G. The effect of dexamethasone on some immunological parameters in cattle. **Veterinary research communications**, v. 23 n. 7, p. 399-413, 1999.
15. ANKER, S. D.; EGERER, K. R.; VOLK, H. D.; KOX, W. J.; POOLE-WILSON, P. A.; COATS, A. J. Elevated soluble CD14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure. **American Journal of Cardiology**, v. 79, n. 10, p. 1426-30. 1997.
16. ANTI S. M. A.; GIORGI R. D. N.; CHAHADE W. H. Antiinflamatórios hormonais: glicocorticóides. **Einstein**, v. 6, n. Supl1, p. S159-S65, 2008.
17. ARORA, T., SINGH, S. E SHARMA, R. K. Probiotics: Interaction with gut microbiome and antiobesity potential. **Nutrition**, v. 29, p. 591–596, 2013.
18. AVOLIO, A. P. et al. Effects of aging on changing arterial compliance and Artery Stiffness The Multiethnic Study of Atherosclerosis. **Stroke**, v. 45. p. 48-53, 1983.
19. ALVIM, R. D. O., SANTOS, P. C. J. L., MUSSO, M. M., DE SÁ CUNHA, R., KRIEGER, J. E., Mill, J. G., PEREIRA, A. C. Impact of diabetes mellitus on arterial stiffness in a representative sample of an urban Brazilian population. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 5, n.1, p. 45-50, 2013. ANTI S. M. A.; GIORGI R. D. N.; CHAHADE W. H. Antiinflamatórios hormonais: glicocorticóides. **Einstein**, v. 6, n. Supl1, p. S159-S65, 2008.
20. ASANO, Y., HIRAMOTO, T., NISHINO, R., AIBA, Y., KIMURA, T., YOSHIHARA, K., SUDO, N. Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 303 n. 11, p. G1288-G1295. 2012.
21. ASCHER, S., REINHARDT, C. The gut microbiota: an emerging risk factor for cardiovascular and cerebrovascular disease. **European journal of immunology**, v. 48 n. 4, p. 564-575, 2018.
22. AYA V, FLÓREZ A, PEREZ L, RAMÍREZ JD. Association between physical activity and changes in intestinal microbiota composition: A systematic review. **PLoS One**, v. 16, n. 2, p. e0247039, 2021.
23. BARROSO, W. K. S., RODRIGUES, C. I. S., BORTOLOTO, L. A., MOTA-GOMES, M. A., BRANDAO, A. A., FEITOSA, A. D. D. M., NADRUZ, W. Brazilian guidelines of hypertension–2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, p. 516-658, 2021.
24. BAREL M; PEREZ O. A.; GIOZZET V. A.; RAFACHO A.; BOSQUEIRO J. R.; DO AMARAL S. L. Exercise training prevents hyperinsulinemia, muscular glycogen loss and muscle atrophy induced by dexamethasone treatment. **Eur J of Appl Physiol**, v. 108, n. 5, p. 999-1007, 2010.
25. BARNES, P. J. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. **Clinical Science**, v. 94. n. 6, p. 557-572, 1998.
26. BÄCKHED, F., LEY, R. E., SONNENBURG, J. L., PETERSON, D. A., & GORDON, J. I. Host-bacterial mutualism in the human intestine. **Science**, v. 307. n. 5717, p. 1915-1920, 2005.
27. BECK, B. Neuropeptide Y in normal eating and in genetic and dietary-induced obesity. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 361, p. 1159-1185, 2006.
28. BELLICHA, A., VAN BAAK, MA, BATTISTA, F., BEAULIEU, K., BLUNDELL, JE, BUSETTO, L., OPPERT, JM. Effect of exercise training on weight loss, body composition changes, and weight maintenance in adults with overweight or obesity: An overview of 12 systematic reviews and 149 studies. **Obesity Reviews**, v. 22, p. e13256, 2021.
29. BERNE, R. M.; LEVY, M. N. **Cardiovascular Physiology 6th Edition**. 1992.
30. BISGAARD, H., LI, N., BONNELYKKE, K., CHAWES, B. L. K., SKOV, T., PALUDAN-MÜLLER, G., KROGFELT, K. A. Reduced diversity of the intestinal microbiota during infancy

is associated with increased risk of allergic disease at school age. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 128. n. 3, p. 646-652, 2011.

31. BLACHER, J., GUERIN, A. P., PANNIER, B., MARCHAIS, S. J., SAFAR, M. E., LONDON, G. M. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. **Circulation**, v. 99 n.18, p. 2434-2439, 1999.
32. BLUNDELL, JE, STUBBS, RJ, HUGHES, DA, WHYBROW, S., KING, NA. Cross talk between physical activity and appetite control: does physical activity stimulate appetite?. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, n. 3, p. 651-661, 2003.
33. BOENO, F. P., RAMIS, T. R., MUNHOZ, S. V., FARINHA, J. B., MORITZ, C. E., LEAL-MENEZES, R., REISCHAK-OLIVEIRA, A. Effect of aerobic and resistance exercise training on inflammation, endothelial function and ambulatory blood pressure in middle-aged hypertensive patients. **Journal of Hypertension**, v. 38, n. 12, p. 2501-2509, 2020.
34. BOUTOUYRIE P. New techniques for assessing arterial stiffness. **Diabetes Metab**, v. 34, p. 21-26, 2008.
35. BOUMPAS, D. T., CHROUSOS, G. P., WILDER, R. L., CUPPS, T. R., & BALOW, J. E. Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: basic and clinical correlates. **Annals of internal medicine**, v. 119 n. 12, p. 1198-1208, 1993.
36. BISCHOFF, S. C.; BARBARA, G.; BUURMAN, W.; OCKHUIZEN, T.; SCHULZKE, J.; SERINO, M.; TILG, H.; WATSON, A.; WELLS, J. M. Intestinal permeability – A new target for disease prevention and therapy. **BMC Gastroenterology**, v. 14, n. 189. 2014.
37. BRASSELET, C., DURAND, E., ADDAD, F., ZEN, A. A. H., SMEETS, M. B., LAURENT-MAQUIN, D., GARNOTEL, R. Collagen and elastin cross-linking: a mechanism of constrictive remodeling after arterial injury. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, n. 289. v. 5, p. H2228-H2233, 2005.
38. BRAVO, J. A., FORSYTHE, P., CHEW, M. V., ESCARAVAGE, E., SAVIGNAC, H. M., DINAN, T. G., CRYAN, J. F. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 38, p. 16050-16055. 2011.
39. BRASIL, G. A., DE ALMEIDA SILVA-CUTINI, M., MORAES, F. D. S. A., PEREIRA, T. D. M. C., VASQUEZ, E. C., LENZ, D., DE ANDRADE, T. U. The benefits of soluble non-bacterial fraction of kefir on blood pressure and cardiac hypertrophy in hypertensive rats are mediated by an increase in baroreflex sensitivity and decrease in angiotensin-converting enzyme activity. **Nutrition**, v. 51, p. 66-72, 2018.
40. BRELLENTHIN, A. G., LANNINGHAM-FOSTER, L. M., KOHUT, M. L., LI, Y., CHURCH, T. S., BLAIR, S. N., LEE, D. C. Comparison of the cardiovascular benefits of resistance, aerobic, and combined exercise (CardioRACE): rationale, design, and methods. **American heart journal**, v. 217, p. 101-111, 2019.
41. BUREŠ, J., KOHOUTOVÁ, D., KVĚTINA, J., RADOCHOVÁ, V., PAVLÍK, M., TICHÝ, A., PEJCHAL, J. The effect of Lactobacillus Casei on experimental porcine inflammatory bowel disease induced by sodium sulfate and dextran. **ACTA MEDICA**, v. 64, n. 2, p. 85-90, 2021.
42. BURGI, K., CAVALLERI, M. T., ALVES, A. S., BRITTO, L. R., ANTUNES, V. R., & MICHELINI, L. C. Tyrosine hydroxylase immunoreactivity as indicator of sympathetic activity: simultaneous evaluation in different tissues of hypertensive rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 300. n. 2, p. R264-R271, 2010.
43. BURGI, K., CAVALLERI, M. T., ALVES, A. S., BRITTO, L. R., ANTUNES, V. R., MICHELINI, L. C. Tyrosine hydroxylase immunoreactivity as indicator of sympathetic activity:

- simultaneous evaluation in different tissues of hypertensive rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 300, n. 2, p. R264-R271, 2011.
44. BULL, F. C., AL-ANSARI, S. S., BIDDLE, S., BORODULIN, K., BUMAN, M. P., CARDON, G., WILLUMSEN, J. F. World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. **British journal of sports medicine**, v. 54, n. 24, p. 1451-1462, 2020.
 45. CAMPBELL, S. C., WISNIEWSKI, P. J., NOJI, M., MCGUINNESS, L. R., HÄGGBLUM, M. M., LIGHTFOOT, S. A., KERKHOF, L. J. The effect of diet and exercise on intestinal integrity and microbial diversity in mice. **PloS one**, v. 11, n. 3, p. e0150502, 2016.
 46. CARVER, K. A., SMITH, T. L., GALLAGHER, P. E., TALLANT, E. A. Angiotensin-(1-7) prevents angiotensin II-induced fibrosis in cremaster microvessels. **Microcirculation**, v. 22, n. 1, p. 19-27, 2015.
 47. CARBUHN, A. F., REYNOLDS, S. M., CAMPBELL, C. W., BRADFORD, L. A., DECKERT, J. A., KREUTZER, A., FRY, A. C Effects of probiotic (*Bifidobacterium longum* 35624) supplementation on exercise performance, immune modulation, and cognitive outlook in Division I female swimmers. **Sports**, v. 6, n. 4, p. 116, 2018.
 48. CARVALHO, M. H. C., NIGRO, D., LEMOS, V. S., TOSTES, R. D. C. A., & FORTES, Z. B. Hipertensão arterial: o endotélio e suas múltiplas funções. **Rev Bras Hipertens**, 8(1), 76-88, 2001.
 49. CARABOTTI, M., SCIROCCO, A., MASELLI, M. A., & SEVERI, C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. **Annals of gastroenterology: quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology**, v. 28, n. 2, p. 203. 2015.
 50. CANSU, G. B., SARI, R., YILMAZ, N., ÖZDEM, S., CUBUK, M. Markers of subclinical cardiovascular disease in nonfunctional adrenal incidentaloma patients without traditional cardiovascular risk factors. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 125, n. 01, p. 57-63, 2017.
 51. CERDÓ, T., GARCÍA-SANTOS, JA, G. BERMÚDEZ, M., CAMPOY, C. The role of probiotics and prebiotics in the prevention and treatment of obesity. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 635, 2019.
 52. CID-DÍAZ, T., SANTOS-ZAS, I., GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, J., GURRIARÁN-RODRÍGUEZ, U., MOSTEIRO, CS, CASABIELL, X., CAMIÑA, JP. Obestatin controls the ubiquitin–proteasome and autophagy–lysosome systems in glucocorticoid-induced muscle cell atrophy. **Journal of cachexia, sarcopenia and muscle**, v. 8, n. 6, p. 974-990, 2017.
 53. CHA, S., KWON, B. S., HONG, N., PARK, J. S., BYUN, S. K., CHOI, S. C., KIM, Y. S. Ischemic colitis associated with Rhabdomyolysis and heat stroke after an intense exercise in youngadult. **The Korean Journal of Gastroenterology**, v. 74, n. 2, p. 115-118, 2019.
 54. CHARAKIDA M.; LOUKOGEORGAKIS S. P.; OKORIE M. I.; MASI, S., HALCOX J. P.; DEANFIELD, J. E.; & KLEIN N. J. Increased arterial stiffness in HIV-infected children: risk factors and antiretroviral therapy. **Antivir Ther**, v. 14, n. 8, p. 1075-9, 2009.
 55. CHAKAROUN, R. M.; OLSSON, L. M.; BÄCKHED, F. The potential of tailoring the gut microbiome to prevent and treat cardiometabolic disease. **Nature Reviews Cardiology**, v. 20, n. 4, p. 217-235, 2023.
 56. CHANG, L. Epidemiology and quality of life in functional gastrointestinal disorders. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 20, p. 31-39, 2004.
 57. CHASIOTIS, H.; WOOD, C. M.; KELLY, S. P. Cortisol reduces paracellular permeability and increases occludin abundance in cultured trout gill epithelia. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 323, p. 232-238. 2010.

58. CHEW, D. K. W., CONTE, M. S., KHALIL, R. A. Matrix metalloproteinase-specific inhibition of Ca²⁺ entry mechanisms of vascular contraction. **Journal of vascular surgery**, v. 40, n. 5, p. 1001-1010, 2004.
59. CHEN, Y.; WEI, L.; CHIU, Y.; HSU, Y.; TSAI, T.; WANG, M.; HUANG, C. *Lactobacillus plantarum* TWK10 supplementation improves exercise performance and increases muscle mass in mice. **Nutrients**, v. 8, n. 205, 2016.
60. CHOW, B.; RABKIN, S. W. The relationship between arterial stiffness and heart failure with preserved ejection fraction: a systemic meta-analysis. **Heart failure reviews**, v. 20, p. 291-303, 2015.
61. CHUNG, E., OJIAKU, C. A., CAO, G., PARIKH, V., DEENEY, B., XU, S., KOZIOL-WHITE, C. Dexamethasone rescues TGF- β 1-mediated β 2-adrenergic receptor dysfunction and attenuates phosphodiesterase 4D expression in human airway smooth muscle cells. **Respiratory Research**, v. 21, p. 1-9, 2020.
62. CHRIST-CRAIN, M., KOLA, B., LOLLI, F., FEKETE, C., SEBOEK, D., WITTMANN, G., KORBONITS, M. AMP-activated protein kinase mediates glucocorticoid-induced metabolic changes: a novel mechanism in Cushing's syndrome. **The FASEB Journal**, v. 22, n. 6, p. 1672-1683, 2008.
63. CIRERA, I.; BAUER, T. M.; NAVASA, M.; VILA, J.; GRANDE, L.; TAURÁ, P.; FUSTER, J.; GARCÍA-VALDECASAS, J. C.; LACY, A.; SUÁREZ, M. J.; RIMOLA, A.; RODÉS, J. Bacterial translocation of enteric organisms in patients with cirrhosis. **Journal of Hepatology**, v. 34, n. 1, p. 32-7, 2001.
64. CLARK, A; MACH, N. Exercise-induced stress behavior, gut-microbiota-brain axis and diet: a systematic review for athletes. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 43, 2016.
65. CONSTANTINO, P. B., DIONÍSIO, T. J., DUCHATSCH, F., HERRERA, N. A., DUARTE, J. O., SANTOS, C. F., AMARAL, S. L. Exercise attenuates dexamethasone-induced hypertension through an improvement of baroreflex activity independently of the renin-angiotensin system. **Steroids**, v. 128, p. 147-154, 2017.
66. COOK MD, MARTIN SA, WILLIAMS C, WHITLOCK K, WALLIG MA, PENCE BD, WOODS JA. Forced treadmill exercise training exacerbates inflammation and causes mortality while voluntary wheel training is protective in a mouse model of colitis. **Brain, Behav Immun**, 2013.
67. COOK, M. D., ALLEN, J. M., PENCE, B. D., WALLIG, M. A., GASKINS, H. R., WHITE, B. A., & WOODS, J. A. Exercise and gut immune function: evidence of alterations in colon immune cell homeostasis and microbiome characteristics with exercise training. **Immunology and cell biology**, v. 94 n. 2, p. 158-163, 2016.
68. COLLIER, S. R., FRECHETTE, V., SANDBERG, K., SCHAFER, P., JI, H., SMULYAN, H., FERNHALL, B. Sex differences in resting hemodynamics and arterial stiffness following 4 weeks of resistance versus aerobic exercise training in individuals with pre-hypertension to stage 1 hypertension. **Biology of sex differences**, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2011.
69. COLLINS, S. M.; SURETTE, M.; BERCIK, P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 11, p. 735-742, 2012.
70. CORTEZ-COOPER, M. Y., ANTON, M. M., DEVAN, A. E., NEIDRE, D. B., COOK, J. N., TANAKA, H. The effects of strength training on central arterial compliance in middle-aged and older adults. **European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation**, v. 15 n. 2, p. 149-155, 2008.
71. CORRÊA, L. D. M. A., SANTOS, T. S. N. P., MOURA, T. H. P., & NEGRÃO, C. E. Alterações autonômicas na insuficiência cardíaca: benefícios do exercício físico. **Rev SOCERJ**, v. 21 n. 2, p. 106-111, 2008.

72. COPPOLA, M. M., GIL-TURNES, C. Probiotics and immune response. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.
73. COX, A. J., PYNE, D. B., SAUNDERS, P. U., FRICKER, P. A. Oral administration of the probiotic *Lactobacillus fermentum* VRI-003 and mucosal immunity in endurance athletes. **British Journal of Sports Medicine**, v. 44, n. 4, p. 222-226, 2010.
74. CRAIGHEAD, D. H., HEINBOCKEL, T. C., FREEBERG, K. A., ROSSMAN, M. J., JACKMAN, R. A., JANKOWSKI, L. R., SEALS, D. R. Time-efficient inspiratory muscle strength training lowers blood pressure and improves endothelial function, NO bioavailability, and oxidative stress in midlife/older adults with above-normal blood pressure. **Journal of the American Heart Association**, v. 10, n. 13, p. e020980, 2021.
75. CRONIN, O., BARTON, W., SKUSE, P., PENNEY, N. C., GARCIA-PEREZ, I., MURPHY, E. F., SHANAHAN, F. A prospective metagenomic and metabolomic analysis of the impact of exercise and/or whey protein supplementation on the gut microbiome of sedentary adults. **MSystems**, v. 3, n. 3, p. e00044-18, 2018.
76. CUEVAS-SIERRA, A., RAMOS-LOPEZ, O., RIEZU-BOJ, J. I., MILAGRO, F. I., & MARTINEZ, J. A. Diet, gut microbiota, and obesity: links with host genetics and epigenetics and potential applications. **Advances in nutrition**, v. 10, n. suppl_1, p. S17-S30, 2019.
77. DAB, H., KACEM, K., HACHANI, R., DHAOUADI, N., HODROJ, W., SAKLY, M. BRICCA, G. Physiological regulation of extracellular matrix collagen and elastin in the arterial wall of rats by noradrenergic tone and angiotensin II. **Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System**, v. 13 n. 1, p. 19-28, 2012.
78. DAINESE, R., SERRA, J., AZPIROZ, F., & MALAGELADA, JR. Effects of physical activity on intestinal gas transit and evacuation in healthy subjects. **The American journal of medicine**, v. 116, n. 8, p. 536-539, 2004.
79. DE MORAIS, M. B., DA SILVA G. A. P. Environmental enteric dysfunction and growth. **Jornal de pediatria**, 2019
80. DE BOSSCHER, K., VANDEN BERGHE, W., HAEGEMAN, G. The interplay between the glucocorticoid receptor and nuclear factor- κ B or activator protein-1: molecular mechanisms for gene repression. **Endocrine reviews**, v. 24, n. 4, p. 488-522, 2003.
81. DE BOSSCHER, K., HAEGEMAN, G., ELEWAUT, D. Targeting inflammation using selective glucocorticoid receptor modulators. **Current opinion in pharmacology**, v. 10, n. 4, p. 497-504, 2010.
82. DE BOSSCHER, K. Selective glucocorticoid receptor modulators. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 120, n. 2-3, p. 96-104, 2010.
83. DE OLIVEIRA, E. P., BURINI, R. C., & JEUKENDRUP, A. (2014). Gastrointestinal complaints during exercise: prevalence, etiology, and nutritional recommendations. **Sports Medicine**, v. 44 n. 1, p. 79-85. 2014.
84. DE OLIVEIRA, E. P; BURINI, R. C. The impact of physical exercise on the gastrointestinal tract. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 12, n. 5, p. 533-538, 2009.
85. DE PAULA, V. F., TARDELLI, L. P., & AMARAL, S. L. Dexamethasone-Induced Arterial Stiffening Is Attenuated by Training due to a Better Balance Between Aortic Collagen and Elastin Levels. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, p. 1-11. 2023.
86. DE SOUZA, M. M., DE AGUILAR-NASCIMENTO, J. E., GOMES-DA-SILVA, M. H., & JUNIOR, R. C. Effects of budesonide and probiotics enemas on the colonic mucosa of rats with experimental colitis1. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 22, n. 1, 2007.

87. DESMET, S. J., & DE BOSSCHER, K. Glucocorticoid receptors: finding the middle ground. **The Journal of clinical investigation**, v. 127. n. 4, p. 1136-1145, 2017.
88. DIONISIO, T.J.; LOUZADA, J.C.; VISCELLI, B.A.; DIONISIO, E.J.; MARTUSCELLI, A.M.; BAREL, M.; PEREZ, O.A.; BOSQUEIRO, J.R.; BROZOSKI, D.T.; SANTOS, C.F.; AMARAL, S.L. Aerobic training prevents dexamethasone-induced peripheral insulin resistance. **Horm Metab Res.** v.7, p.484-489, 2014.
89. DIAS, D. D. S., BERNARDES, N., STOYELL-CONTI, F. F., DOS SANTOS, C. P., DE ARAUJO, A. A., LLESUY, S., DE ANGELIS, K. Impact of combined exercise training on the development of cardiometabolic and neuroimmune complications induced by fructose consumption in hypertensive rats. **PloS one**, v. 15, n. 6, p. e0233785, 2020.
90. DIAS-SANTOS, E. G., FARAH, B. Q., GERMANO-SOARES, A. H., DE ALMEIDA CORREIA, M., SOUZA, A. A., HORA, J. E. J., Andrade-Lima, A. Effects of exercise mode on arterial stiffness in symptomatic peripheral artery disease patients: a randomized crossover clinical trial. **Annals of Vascular Surgery**, v. 74, p. 382-388, 2021.
91. DUBEY, H., SINGH, A., PATOLE, A. M., TENPE, C. R. Antihypertensive effect of allicin in dexamethasone-induced hypertensive rats. **Integrative medicine research**, v. 6, n. 1, p. 60-65, 2017.
92. DOUILLET, C. D., VELARDE, V., CHRISTOPHER, J. T., MAYFIELD, R. K., TROJANOWSKA, M. E., & JAFFA, A. A. Mechanisms by which bradykinin promotes fibrosis in vascular smooth muscle cells: role of TGF- β and MAPK. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 279 n. 6, p. H2829-H2837, 2000.
93. DOUGLAS, J. A., KING, J. A., CLAYTON, D. J., JACKSON, A. P., SARGEANT, J. A., THACKRAY, A. E., STENSEL, D. J. Acute effects of exercise on appetite, ad libitum energy intake and appetite-regulatory hormones in lean and overweight/obese men and women. **International journal of obesity**, v. 41 n. 12, p. 1737-1744. 2017.
94. DOU, X., QIAO, L., CHANG, J., YAN, S., SONG, X., CHEN, Y., XU, C. Lactobacillus casei ATCC 393 and its metabolites alleviate dextran sulphate sodium-induced ulcerative colitis in mice through the NLRP3-(Caspase-1)/IL-1 β pathway. **Food & Function**, v. 12, n. 23, p. 12022-12035, 2021.
95. DOIG, C. J.; SUTHERLAND, L. R.; SANDHAM, J. D.; FICK, G. H.; VERHOEF, M.; MEDDINGS, J. B. Increased intestinal permeability is associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in critically ill ICU patients. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 158, n. 2, p. 444-51. 1998.
96. DUCA, F. A.; LAM, T. K. T. Gut microbiota, nutrient sensing and energy balance. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 16, n. S1, p. 68-76, 2014.
97. DUCHATSCH, F., CONSTANTINNO P. B, HERRERA N, A., FABRICIO M, F., TARDELI L, P., MARTUSCELLI A, M., AMARAL S, L. Short-term exposure to Dexamethasone promotes autonomic imbalance to the heart before hypertension. **Journal of the American Society of Hypertension**, 2018.
98. DUCHATSCH, F., TARDELLI, L. P., HERRERA, N. A., RUIZ, T. F., VICENTINI, C. A., OKOSHI, K., AMARAL, S. L. Dexamethasone and training-induced cardiac remodeling improve cardiac function and arterial pressure in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics**, v. 26, n. 2, p. 189-199, 2021.
99. ECKBURG, P. B., BIK, E. M., BERNSTEIN, C. N., PURDOM, E., DETHLEFSEN, L., SARGENT, M., RELMAN, D. A. Diversity of the human intestinal microbial flora. **Science**, v. 308. n. 5728, p. 1635-1638, 2005.

100. ECOBICI, M., & VOICULESCU, M. Importance of arterial stiffness in predicting cardiovascular events. **Romanian Journal of Internal Medicine**, v. 55. n. 1, p. 8-13, 2017.
101. EISENSTEIN, M. Microbiome: bacterial broadband. **Nature**, v. 533, n. 7603, p. S104-S106, 2016.
102. EISENHOFER, G., ÂNEMAN, A., FRIBERG, P., HOOPER, D., FÂNDRIKS, L., LONROTH, H., MEZEY, E. Substantial production of dopamine in the human gastrointestinal tract. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 82 n. 11, p. 3864-3871. 1997.
103. ELEUTÉRIO-SILVA A. M., FONSECA J. S. L., VELLOSO, E. P., DA SILVA GUEDES, G., SAMPAIO, W. O., FERREIRA DA SILVA, W., ROBSON, S. Short-term cardiovascular physical programme ameliorates arterial stiffness and decreases oxidative stress in women with metabolic syndrome. **Journal of rehabilitation medicine**, v. 45 n. 6, p. 572-579, 2013.
104. ERSHOVA A. I.; MESHKOV A. N.; ROZHKOVA T. A.; KALININA M. V.; DEEV A. D.; ROGOZA A. N.; BOYTISOV, S. A. Carotid and aortic stiffness in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. **PLoS One**, v. 11, n. 7, p. e0158964, 2016.
105. FABRICIO, M. F.; JORDÃO, M. T.; MIOTTO, D. S.; RUIZ, T. F.; VICENTINI, C. A.; LACCHINI, S.; SANTOS, C. F.; MICHELINI, L. C.; AMARAL, S. L. Standardization of a new non-invasive device for assessment of arterial stiffness in rats: Correlation with age-related arteries' structure. **MethodsX**, v. 7, p. 100901, 2020.
106. FAITH, J. J.; GURUGE, J. L.; CHARBONNEAU, M.; SUBRAMANIAN, S.; SEEDORF, H.; GOODMAN, A. L.; CLEMENTE, J. C.; KNIGHT, R.; HEATH, A. C.; LEIBEL, R. L.; ROSENBAUM, M.; GORDON, J. I. The long-term stability of the human gut microbiota. **Science**, v. 341, n. 6141. 2013.
107. FALCINELLI, S.; RODILES, A.; HATEF, A.; PICCHIETTI, S.; COSSIGNANI, L.; MERRIFIELD, D. L.; UNNIAPPAN, S.; CARNEVALI, O. Influence of probiotics administration on gut microbiota core: a review of the effects on appetite control, glucose, and lipid metabolism. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. nov/dec, n. 52 suppl. 1, p. S50-S56. 2018.
108. FAN, W. H., PECH, M., KARNOVSKY, M. J. Connective tissue growth factor (CTGF) stimulates vascular smooth muscle cell growth and migration in vitro. **European journal of cell biology**, v. 79, n. 12, p. 915-923, 2000.
109. FARHADI A, FIELDS JZ, KESHAVARZIAN A. Mucosal mast cells are pivotal elements in inflammatory bowel disease that connect the dots: stress, intestinal hyperpermeability and inflammation. **World J Gastroenterol**, v. 13, p. 3027-3030, 2007.
110. FARQUHAR, M. G.; PALADE, G. E. Junctional complexes in various epithelia. **The Journal of Cell Biology**, v. 17, n. 2, p. 375-412. 1963.
111. FAPPI, A.; NEVES, J. C.; SANCHES, L. N.; SILVA, P. V.; SIKUSAWA, G. Y.; BRANDÃO, T. P.; CHADI, G.; ZANOTELI, E. Skeletal muscle response to deflazacort, dexamethasone and methylprednisolone. **Cells**, v. 8, n. 5. 2019.
112. FARESS, A. Funding: None. Ethical approval: Not needed. **World**, v. 8, n. 4, p. 302-304, 2017.
111. FASANO, A. Leaky gut and autoimmune diseases. **Clinical reviews in allergy & immunology**, v. 42. n. 1, p. 71-78, 2012.
112. FEITOSA, L. A. D. S., CARVALHO, J. D. S., DANTAS, C. O., DE SOUZA, D. S., DE VASCONCELOS, C. M. L., MIGUEL-DOS-SANTOS, R., BARRETO, A. S. Resistance training improves cardiac function and cardiovascular autonomic control in doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Cardiovascular Toxicology**, v. 21, p. 365-374, 2021.

- 113.FERREIRA-JUNIOR, N. C., RUGGERI, A., SILVA JR, S. D., ZAMPIERI, T. T., CERONI, A., MICHELINI, L. C. Exercise training increases GAD65 expression, restores the depressed GABAA receptor function within the PVN and reduces sympathetic modulation in hypertension. **Physiological reports**, v. 7, n. 13, p. e14107, 2019.
- 114.FIGUEROA, A., VICIL, F., SANCHEZ-GONZALEZ, M. A., WONG, A., ORMSBEE, M. J., HOOSHMAND, S., DAGGY, B. Effects of diet and/or low-intensity resistance exercise training on arterial stiffness, adiposity, and lean mass in obese postmenopausal women. **American Journal Of Hypertension**, v. 26 n. 3, p.416-423, 2013.
- 115.FIGUEROA A.; WONG A.; KINSEY A.; KALFON R.; EDDY W.; ORMSBEE M. J. Effects of milk proteins and combined exercise training on aortic hemodynamics and arterial stiffness in young obese women with high blood pressure. **Am J Hypertens**, v. 27, n. 3, p. 338-344, 2014.
- 116.FLEENOR, B. S., MARSHALL, K. D., DURRANT, J. R., LESNIEWSKI, L. A., & SEALS, D. R. Arterial stiffening with ageing is associated with transforming growth factor- β 1-related changes in adventitial collagen: reversal by aerobic exercise. **Journal Physiology**, v. 580. n. 20 p. 3971-3982, 2010.
- 117.FORMES, H., & REINHARDT, C. The gut microbiota—a modulator of endothelial cell function and a contributing environmental factor to arterial thrombosis. **Expert review of hematology**, (just-accepted, 2019.
- 118.Food and Agriculture Organization (FAO). *Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation*. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina, 1-4 outubro 2001.
- 119.FOSTER, J. A.; RINAMAN, L.; CRYAN, J. F. Neurobiology of Stress Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. *Neurobiol. Stress*, v. 7, p. 124-136, 2017.
- 120.FRANCOIS, M. E., DURRER, C., PISTAWKA, K. J., HALPERIN, F. A., CHANG, C., LITTLE, J. P. Combined interval training and post-exercise nutrition in type 2 diabetes: a randomized control trial. **Frontiers In Physiology**, v. 8, p. 528, 2017.
- 121.FULLER, Ray. Probiotics in man and animals. **The Journal of applied bacteriology**, v. 66. n. 5, p. 365-378, 1989.
- 122.GENTH-ZOTZ, S.; VON HAEHLING, S.; BOLGER, A. P.; KALRA, P. R.; WENSEL, R.; COATS, A. J.; ANKER, S. D. Pathophysiologic quantities of endotoxin-induced tumor necrosis factor-alpha release in whole blood from patients with chronic heart failure. **American Journal of Cardiology**, v. 90, n. 11, p. 1226-30. 2002.
- 123.GLEESON, MAREE, MCDONALD, WA, PYNE, DB, CRIPPS, AW, FRANCIS, JL, FRICKER, PA E CLANCY, RL. Salivary IgA levels and infection risk in elite swimmers. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 31, n. 1, p. 67-73, 1999.
- 124.GLEESON, M; BISHOP, N. C. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: modification of immune responses to exercise by carbohydrate, glutamine and anti-oxidant supplements. **Immunology and cell biology**, v. 78, n. 5, p. 554-561, 2000.
- 125.GLEESON, M. Immune function in sport and exercise. **Journal of applied physiology**, v. 103, n. 2, p. 693-699, 2007.
- 126.GLEESON, M., BISHOP, NC, OLIVEIRA, M., & TAULER, P. Daily probiotic's (Lactobacillus casei Shirota) reduction of infection incidence in athletes. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 21, n. 1, p. 55-64, 2011.
- 127.GIANNANDREA, M., PARKS, W. C., Diverse functions of matrix metalloproteinases during fibrosis. **Disease models & mechanisms**, v. 7, n. 2, p. 193-203, 2014.

128. GLIEMANN, L., BUESS, R., NYBERG, M., HOPPELER, H., ODRIOSOLA, A., THANING, P., MORTENSEN, S. P. (2015). Capillary growth, ultrastructure remodelling and exercise training in skeletal muscle of essential hypertensive patients. **Acta physiologica**, v. 214, n. 2, p. 210-220.
129. GILL, S. K., ALLERTON, D. M., ANSLEY-ROBSON, P., HEMMINGS, K., COX, M., COSTA, R. J. Does short-term high dose probiotic supplementation containing lactobacillus casei attenuate exertional-heat stress induced endotoxaemia and cytokinaemia?. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 26, n. 3, p. 268-275, 2016.
130. GILL, S. K., TEIXEIRA, A. M., ROSADO, F., COX, M., COSTA, R. J. S. High-dose probiotic supplementation containing Lactobacillus casei for 7 days does not enhance salivary antimicrobial protein responses to exertional heat stress compared with placebo. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 26, n. 2, p. 150-160, 2016.
131. GIOSCIA-RYAN, R. A., CLAYTON, Z. S., FLEENOR, B. S., ENG, J. S., JOHNSON, L. C., ROSSMAN, M. J., SEALS, D. R. Late-life voluntary wheel running reverses age-related aortic stiffness in mice: a translational model for studying mechanisms of exercise-mediated arterial de-stiffening. **Geroscience**, v. 43, p. 423-432, 2021.
132. GOURCEROL, G.; ST-PIERRE, DH; TACHE, Y. Lack of obestatin effects on food intake: should obestatin be renamed ghrelin-associated peptide (GAP)?. **Regulatory peptides**, v. 141, n.1-3, p. 1-7, 2007.
133. GROSCHWITZ, K. R.; HOGAN, S. P. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 124, n. 1, p. 3-20. 2009.
134. GU Q.; WANG B.; ZHANG X. F.; MA Y. P.; LIU J. D.; WANG X. Z. Chronic aerobic exercise training attenuates aortic stiffening and endothelial dysfunction through preserving aortic mitochondrial function in aged rats. **ExpGerontol**, v. 56, pag. 37-44, 2014.
135. GU, F., WU, Y., LIU, Y., DOU, M., JIANG, Y., & LIANG, H. Lactobacillus casei improves depression-like behavior in chronic unpredictable mild stress-induced rats by the BDNF-TrkB signal pathway and the intestinal microbiota. **Food & function**, v. 11, n. 7, p. 6148-6157, 2020.
136. GUAN, M., MA, H., FAN, X., CHEN, X., MIAO, M., WU, H. Dexamethasone alleviate allergic airway inflammation in mice by inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome. **International Immunopharmacology**, v. 78, p. 106017, 2020.
137. GÜNZEL, D.; YU, A. S. Claudins and the modulation of tight junction permeability. **Physiological Reviews**, v. 93, n. 2, p. 525-69. 2013.
138. GUO BS, CHEUNG KK, YEUNG SS, ZHANG BT AND YEUNG EW. Electrical stimulation influences satellite cell proliferation and apoptosis in unloading-induced muscle atrophy in mice. **PloS one**. 2012.
139. GUERS, J. J., FARQUHAR, W. B., EDWARDS, D. G., LENNON, S. L. Voluntary wheel running attenuates salt-induced vascular stiffness independent of blood pressure. **American Journal of Hypertension**, v. 32, n. 12, p. 1162-1169, 2019.
140. GUYTON, A. C., HALL, J. E., & GUYTON, A. C. **Tratado de fisiologia médica**. Elsevier Brasil, 2006.
141. HATA, Y., YAMAMOTO, M., OHNI, M., NAKAJIMA, K., NAKAMURA, Y., TAKANO, T. A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. **The American journal of clinical nutrition**, v. 64. n. 5, p. 767-771, 1996.

142. HALLIDAY, T. M., WHITE, M. H., HILD, A. K., CONROY, M. B., MELANSON, E. L., CORNIER, M. A. Appetite and Energy Intake Regulation in Response to Acute Exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 53, n. 10, p. 2173-2181, 2021.
143. HAMRELL, B. B. **Cardiovascular Physiology A Text and E-Resource for Active Learning**. 9 ed. Editor Taylor & Francis Group, LLC CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group, Section II Cardiovascular System, pag 59-145, 2018.
144. HASHIMOTO, T.; PERLOT, T.; REHMAN, A.; TRICHEREAU, J.; ISHIGURO, H.; PAOLINO, M.; SIGL, V.; HANADA, T.; HANADA, R.; LIPINSKI, S.; WILD, B.; CAMARGO, S. M.; SINGER, D.; RICHTER, A.; KUBA, K.; FUKAMIZU, A.; SCHREIBER, S.; CLEVERS, H.; VERREY, F.; POSENSTIEL, P.; PENNINGER, J. M. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. **Nature**, v. 487, n. 7408, p. 477-81. 2012.
145. HARVEY, A., MONTEZANO, A. C., LOPES, R. A., RIOS, F., TOUYZ, R. M. Vascular fibrosis in aging and hypertension: molecular mechanisms and clinical implications. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 32 n. 5, p. 659-668, 2016.
146. HASSOUNA, R.; ZIZZARI, P.; TOLLE, V. The ghrelin/obestatin balance in the physiological and pathological control of growth hormone secretion, body composition and food intake. **Journal of neuroendocrinology**, v. 22, n. 7, p. 793-804, 2010.
147. HASEGAWA, N., FUJIE, S., HORII, N., MIYAMOTO-MIKAMI, E. R. I., TSUJI, K., UCHIDA, M., IEMITSU, M. Effects of Different Exercise Modes on Arterial Stiffness and Nitric Oxide Synthesis. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 50, n. 6, p. 1177-1185, 2018.
148. HATHOUT, A. S.; MOHAMED, S. R.; EL-NEKEETY, A. A.; HASSAN, N. S.; ALY, S. E.; ABDEL-WAHHAB, M. A. Ability of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus reuteri* to protect against oxidative stress in rats fed aflatoxins-contaminated diet. **Toxicon: Official Journal of The International Society on Toxinology**, v. 58, n. 2, p. 179-86. 2011.
149. HE, F., CHU, J. F., CHEN, H. W., LIN, W., LIN, S., CHEN, Y. Q., CHEN, K. J. Prevents Blood Pressure Elevation and Ameliorates Vascular Structural Remodeling via Modulating TGF- β 1/Smad Pathway in Spontaneously Hypertensive Rats. **Chinese journal of integrative medicine**, v. 26, p. 180-187, 2020.
150. HEER, M. F. A. H. O. K., REPOND, F., HANY, A., SULSER, H., KEHL, O., JÄGER, K. Acute ischaemic colitis in a female long-distance runner. **Gut**, v. 28, n. 7, p. 896-899, 1987.
151. HERRERA N. A.; JESUS I.; SHINOHARA A. L.; DIONÍSIO T. J.; SANTOS C. F.; AMARAL S. L. Exercise training attenuates dexamethasone-induced hypertension by improving autonomic balance to the heart, sympathetic vascular modulation and skeletal muscle microcirculation. **J Hypertens**, v. 34, n. 10, p. 1967-1976, 2016.
152. HERRERA, N. A., JESUS, I., DIONÍSIO, E. J., DIONÍSIO, T. J., SANTOS, C. F., AMARAL, S. L. Exercise Training Prevents Dexamethasone-induced Rarefaction. **Journal Of Cardiovascular Pharmacology**, v. 70 n.3, p. 194-201, 2017.
153. HERRERA, N. A.; DUCHATSCH, F.; KAHLKE, A.; AMARAL, S. L.; VASQUEZ-VIVAR, J. In vivo vascular rarefaction and hypertension induced by dexamethasone are related to phosphatase PTP1B activation not endothelial metabolic changes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 152, p. 689-696, 2020.
154. HILL, E. E., ZACK, E., BATTAGLINI, C., VIRU, M., VIRU, A., HACKNEY, A. C. Exercise and circulating cortisol levels: the intensity threshold effect. **Journal of endocrinological investigation**, n. 31, p. 587-591. 2008.
155. HILL, C., GUARNER, F., REID, G., GIBSON, GR, MERENSTEIN, DJ, POT, B., SANDERS, ME. A The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement

- on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506-514, 2014.
156. HIGGINS, S., COWLEY, E. S., PATERSON, C., HANSON, E. D., DAVE, G. J., MEYER, M. L., STONER, L. Protocol for a study on sitting with interruption and whole-body cardiovascular health (SWITCH) in middle-aged adults. **Contemporary Clinical Trials**, v. 125, p. 107048, 2023.
 157. HOLLAND, A. M., HYATT, H. W., SMUDER, A. J., SOLLANEK, K. J., MORTON, A. B., ROBERTS, M. D., KAVAZIS, A. N. Influence of endurance exercise training on antioxidant enzymes, tight junction proteins, and inflammatory markers in the rat ileum. **BMC research notes**, v. 8, p. 1-9, 2015.
 158. HORI, T., KIYOSHIMA, J., SHIDA, K., & YASUI, H. Augmentation of cellular immunity and reduction of influenza virus titer in aged mice fed Lactobacillus casei strain Shirota. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 9, n. 1, p. 105-108, 2002.
 159. HOLZER, P., & FARZI, A. Neuropeptides and the microbiota-gut-brain axis. **Microbial endocrinology: the microbiota-gut-brain axis in health and disease**, p. 195-219. 2014.
 160. HONKE, N., WIEST, C. J., & PONGRATZ, G. β 2-Adrenergic Receptor Expression and Intracellular Signaling in B Cells Are Highly Dynamic during Collagen-Induced Arthritis. **Biomedicines**, v. 10, n. 8, p. 1950, 2022.
 161. HORBY, P., LIM, W. S., EMBERSON, J., MAFHAM, M., BELL, J., LINSELL, L., RECOVERY COLLABORATIVE GROUP. Effect of dexamethasone in hospitalized patients with COVID-19: preliminary report. 2020.
 162. HÖRMANN, N., BRANDÃO, I., JÄCKEL, S., ENS, N., LILLICH, M., WALTER, U., REINHARDT, C. Gut microbial colonization orchestrates TLR2 expression, signaling and epithelial proliferation in the small intestinal mucosa. **PloS one**, v. 9, n. 11, p. e113080, 2014.
 163. HSIEH, C. C., & PAPACONSTANTINOU, J. The effect of aging on p38 signaling pathway activity in the mouse liver and in response to ROS generated by 3-nitropropionic acid. **Mechanisms of ageing and development**, v. 123, n. 11, p. 1423-1435, 2002.
 164. HILL, JO, MELBY, C., JOHNSON, SL, & PETERS, JC. Physical activity and energy needs. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 5, pág. 1059S-1066S, 1995.
 165. HILL, E. E., ZACK, E., BATTAGLINI, C., VIRU, M., VIRU, A., HACKNEY, A. C. Exercise and circulating cortisol levels: the intensity threshold effect. **Journal of endocrinological investigation**, v. 31, p. 587-591, 2008.
 166. HOUCKEN W.; TEEUW W. J.; BIZZARRO S.; ALVAREZ RODRIGUEZ E.; MULDER T. A.; VAN DEN BORN B. J.; LOOS B. G. Arterial stiffness in periodontitis patients and controls. **J Hum Hypertens**, v. 30, n. 1, p. 24-29, 2016.
 167. HUANG, E. Y.; INOUE, T.; LEONE, V. A.; DALAL, S.; TOUW, K.; WANG, Y.; MUSCH, M. W.; THERIAULT, B.; HIGUCHI, K.; DONOVAN, S.; GILBERT, J.; CHANG, E. G. Using corticosteroids to reshape the gut microbiome: implications for inflammatory bowel diseases. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 21, n. 5, p. 963-72. 2015.
 168. HUANG, WC, HSU, YJ, LI, H., KAN, NW, CHEN, YM, LIN, JS, HUANG, CC. Effect of Lactobacillus plantarum TWK10 on improving endurance performance in humans. **Chin. J. Physiol**, v. 61, n. 3, p. 163-170, 2018.
 169. HUANG, WC, CHEN, YH, CHUANG, HL, CHIU, CC E HUANG, CC. Investigation of the effects of microbiota on exercise physiological adaption, performance, and energy utilization using a gnotobiotic animal model. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 1906, 2019.
 170. IANIRO, G.; TILG, H.; GASBARRINI, A. Antibiotics as deep modulators of gut microbiota: Between good and evil. **Gut**, v. 65, n. 11, p. 1906-1915. 2016.
 182. INSERRA, F., FORCADA, P., CASTELLARO, A., CASTELLARO, C. Chronic kidney disease and arterial stiffness: a two-way path. **Frontiers in Medicine**, v. 8, p. 765924, 2021.

171. ISAAC, S., SCHER, J. U., DJUKOVIC, A., JIMÉNEZ, N., LITTMAN, D. R., ABRAMSON, S. B., UBEDA, C. Short-and long-term effects of oral vancomycin on the human intestinal microbiota. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72. n.1, p. 128-136, 2016.
172. IUCHI, T. AKAIKE M., MITSUI T., OHSHIMA Y., SHINTANI Y., AZUMA H., MATSUMOTO T. Glucocorticoid excess induces superoxide production in vascular endothelial cells and elicits vascular endothelial dysfunction. **Circulation Research**, v. 92, p. 81-87, 2003.
173. JACOB, M. P., BADIÉ-COMMANDER, C., FONTAINE, V., BENAZZOUG, Y., FELDMAN, L., MICHEL, J. B. Extracellular matrix remodeling in the vascular wall. **Pathologie Biologie**, v. 49 n. 4, p. 326-332, 2001.
174. JÄCKEL, S., KIOUPTSI, K., LILLICH, M., HENDRIKX, T., KHANDAGALE, A., KOLLAR, B., EBNER, K. Gut microbiota regulate hepatic von Willebrand factor synthesis and arterial thrombus formation via Toll-like receptor-2. **Blood**, v. 130. n. 4, p. 542-553, 2017.
175. JANG, L. G., CHOI, G., KIM, S. W., KIM, B. Y., LEE, S., PARK, H. The combination of sport and sport-specific diet is associated with characteristics of gut microbiota: an observational study. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 16. n. 1, p. 21, 2019.
176. JAHNG, J. W.; KIM, N. Y.; RYU, V.; YOO, S. B.; KIM, B.; KANG, D.; LEE, J. Dexamethasone reduces food intake, weight gain and the hypothalamic 5-HT concentration and increases plasma leptin in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 26, n. 581, p. 64-70. 2008.
177. JAUHIAINEN, T., RÖNNBACK, M., VAPAATALO, H., WUOLLE, K., KAUTIAINEN, H., GROOP, P. H., KORPELA, R. Long-term intervention with *Lactobacillus helveticus* fermented milk reduces augmentation index in hypertensive subjects. **European journal of clinical nutrition**, v. 64. n. 4, p. 424, 2010.
178. JANG, L. G., CHOI, G., KIM, S. W., KIM, B. Y., LEE, S., PARK, H. The combination of sport and sport-specific diet is associated with characteristics of gut microbiota: an observational study. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 16. n. 1, p. 21, 2019.
179. JESUS, I.; HERRERA, N. A.; ANDREO, J. C.; SANTOS, C. F.; AMARAL, S. L. Training counteracts DEX-induced microvascular rarefaction by improving the balance between apoptotic and angiogenic proteins. **Steroids**, v. 156, n. 108573. 2020.
180. JORDÃO, M.T et al. Exercise training restores hypertension-induced changes in the elastic tissue of the thoracic aorta. **Journal of vascular Research**, 48(6):513-24, 2011.
181. JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica. 4ª edição. Rio de Janeiro**, 1999.
182. KALLIOMÄKI, M., ISOLAURI, E. Role of intestinal flora in the development of allergy. **Current opinion in allergy and clinical immunology**, v. 3, n. 1, p. 15-20, 2003.
183. KARBACH, S. H., SCHÖNFELDER, T., BRANDÃO, I., WILMS, E., HÖRMANN, N., JÄCKEL, S., BRANDT, M. Gut microbiota promote angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction. **Journal of the American Heart Association**, v. 5. n. 9, p. e003698, 2016.
184. KATSI, V., DIDAGELOS, M., SKEVOFILAX, S., ARMENIS, I., KARTALIS, A., VLACHOPOULOS, C., TOUSOULIS, D. GUT Microbiome-GUT dysbiosis-arterial hypertension: New horizons. **Current hypertension reviews**, v. 15, n. 1, p. 40-46, 2019.
185. KASHTANOVA, D. A., TKACHEVA, O. N., DOUDINSKAYA, E. N., STRAZHESKO, I. D., KOTOVSKAYA, Y. V., POPENKO, A. S., ALEXEEV, D. G. Gut microbiota in patients with different metabolic statuses: Moscow study. **Microorganisms**, v. 6, n. 4, p. 98, 2018.

- 186.KARLSSON, F. H., FÅK, F., NOOKAEW, I., TREMAROLI, V., FAGERBERG, B., PETRANOVIC, D., NIELSEN, J. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. **Nature communications**, v. 3, p. 1245, 2012.
- 187.KIM, S. Y., & LEE, J. Exercise Training suppresses vascular fibrosis in aging obesity induced rats. **Journal of exercise nutrition & biochemistry**, v. 18. n. 2, p. 175, 2014.
- 188.KIM, J. Y., PARK, J. B., KIM, D. S., KIM, K. S., JEONG, J. W., PARK, J. C., CHUNG, N. Gender difference in arterial stiffness in a multicenter cross-sectional study: the Korean Arterial Aging Study (KAAS). **Pulse**, v. 2, n. 1-4, p. 11-17, 2015.
- 189.KIRKBY, N. S., HADOKE, P. W. F., BAGNALL, A. J., WEBB, D. J. The endothelin system as a therapeutic target in cardiovascular disease: great expectations or bleak house?. **British journal of pharmacology**, v. 153, n. 6, p. 1105-1119, 2008.
- 190.KORKMAZ, H.; SAHIN, F.; IPEKCI, S. H.; TEMEL, T.; KEBAPCILAR, L. Increased pulse wave velocity and relationship with inflammation, insulin, and insulin resistance in inflammatory bowel disease. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 26, n. 7, p. 725-32. 2014.
- 191.KLIPPEL, B. F., DUEMKE, L. B., LEAL, M. A., FRIQUES, A. G., DANTAS, E. M., DALVI, R. F., VASQUEZ, E. C. Effects of kefir on the cardiac autonomic tones and baroreflex sensitivity in spontaneously hypertensive rats. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 211, 2016.
- 192.KONTUREK, P. C., BRZOZOWSKI, T., & KONTUREK, S. J. Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options. **J Physiol Pharmacol**, v. 62, n. 6, p. 591-9, 2011.
- 193.KOHN, J. C., BORDELEAU, F., MILLER, J., WATKINS, H. C., MODI, S., MA, J., REINHART-KING, C. A. Beneficial Effects of Exercise on Subendothelial Matrix Stiffness are Short-Lived. **Journal of biomechanical engineering**, v. 140 n. 7, p. 074501, 2018.
- 194.KOUZBARI, K., HOSSAN, M. R., ARRIZABALAGA, J. H., VARSHNEY, R., SIMMONS, A. D., GOSTYNSKA, S., AHAMED, J. Oscillatory shear potentiates latent TGF- β 1 activation more than steady shear as demonstrated by a novel force generator. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 6065, 2019.
- 195.KRESNAJATI, S., LIN, Y. Y., MÜNDEL, T., BERNARD, J. R., LIN, H. F., LIAO, Y. H. Changes in Arterial Stiffness in Response to Various Types of Exercise Modalities: A Narrative Review on Physiological and Endothelial Senescence Perspectives. **Cells**, v. 11, n. 22, p. 3544, 2022.
- 196.KRUG, A. W., ALLENHÖFER, L., MONTICONE, R., SPINETTI, G., GEKLE, M., WANG, M., & LAKATTA, E. G. Elevated mineralocorticoid receptor activity in aged rat vascular smooth muscle cells promotes a proinflammatory phenotype via extracellular signal-regulated kinase 1/2 mitogen-activated protein kinase and epidermal growth factor receptor-dependent pathways. **Hypertension**, v. 55. n. 6, p. 1476-1483, 2010.
- 197.KRUG A. L.; MACEDO A. G.; ZAGO A. S.; RUSH J. W.; SANTOS C. F.; AMARAL S. L. High-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy. **Muscle & Nerve**, v. 53, n. 5, p. 779-788, 2016.
- 198.KUMAR, P., STIERNBORG, M., FOGDELL-HAHN, A., MÅNSSON, K., FURMARK, T., BERGLIND, D., LAVEBRATT, C. Physical exercise is associated with a reduction in plasma levels of fractalkine, TGF- β 1, eotaxin-1 and IL-6 in younger adults with mobility disability. **Plos one**, v. 17, n. 2, p. e0263173, 2022.
- 199.LACOLLEY, P., LI, Z., CHALLANDE, P., REGNAULT, V. SRF/myocardin: a novel molecular axis regulating vascular smooth muscle cell stiffening in hypertension. **Cardiovascular Research**, v. 113, n. 2, p. 120-122, 2017.

- 200.LACOLLEY, P., REGNAULT, V., SEGERS, P., LAURENT, S. Vascular smooth muscle cells and arterial stiffening: relevance in development, aging, and disease. **Physiological reviews**, 2017.
- 201.LAMBERT, G. P. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. **Journal of animal science**, v. 87, n. suppl_14, p. E101-E108, 2009.
- 202.LAMPRECHT, M., BOGNER, S., SCHIPPINGER, G., STEINBAUER, K., FANKHAUSER, F., HALLSTROEM, S., GREILBERGER, J. F. Probiotic supplementation affects markers of intestinal barrier, oxidation, and inflammation in trained men; a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 9. n. 1, 45, 2012.
- 203.LAMBERT, J. E., MYSLICKI, J. P., BOMHOF, M. R., BELKE, D. D., SHEARER, J., REIMER, R. A. Exercise training modifies gut microbiota in normal and diabetic mice. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 40, N. 7, P. 749-752, 2015.
- 204.LAKATTA E. G. The reality of aging viewed from the arterial wall. **Artery Research**. v. 7 n. 2, p. 73-80, 2013.
- 205.LAUFFER, A.; VANUYTSEL, T.; VANORMELINGEN, C.; VANHEEL, H.; RASOEL, S. S.; TÓTH, J.; TACK, J.; FORNARI, F.; FARRÉ, R. Subacute stress and chronic stress interact to decrease intestinal barrier function in rats. **Stress**, v. 19, p. 225-34. 2016.
- 206.LAURENT, S.; BRUNO, R. M. Gut microbiome composition, a third player in the inflammation-arterial stiffness relationship. **European Heart Journal**, v. 39, n. 25, p. 2398-2400. 2018.
- 207.LARA FERNANDES J, SERRANO CV, JR., TOLEDO F, HUNZIKER MF, ZAMPERINI A, TEO FH, OLIVEIRA RT, BLOTTA MH, RONDON MU, NEGRAO CE. Acute and chronic effects of exercise on inflammatory markers and B-type natriuretic peptide in patients with coronary artery disease. **Clinical Research in Cardiology**, v. 100, p. 77-84, 2011.
- 208.LEE, M.; HSU, Y.; HO, H.; HSIEH, S.; KUO, Y.; SUNG, H.; HUANG, C. *Lactobacillus salivarius* subspecies *salicinius* SA-03 is a new probiotic capable of enhancing exercise performance and decreasing fatigue. **Microorganisms**, v. 8, n. 545. 2020.
- 209.LEONE, A. M., VALGIMIGLI, M., GIANNICO, M. B., ZACCONE, V., PERFETTI, M., D'AMARIO, D., CREA, F. From bone marrow to the arterial wall: the ongoing tale of endothelial progenitor cells. **European heart journal**, v. 30, n. 8, p. 890-899, 2009.
- 210.LEITMAN, D. C.; BENSON, S. C.; JOHNSON, Lorin K. Glucocorticoids stimulate collagen and noncollagen protein synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. **The Journal Of Cell Biology**, v.98 n.2 p. 541-549, 1984.
- 211.LEHMANN, M., FOSTER, C., DICKHUTH, HH, GASTMANN, U. Hipótese do desequilíbrio autonômico e síndrome do overtraining. *Medicina e ciência em esportes e exercícios*, v. 30, n. 7, p. 1140-1145. 1998.
- 212.LEUNG, P., S. **The gastrointestinal system: gastrointestinal, nutritional and hepatobiliary physiology**. Springer Science & Business, 2014.
- 213.LEUNG, M. C., MEREDITH, I. T., CAMERON, J. D. Aortic stiffness affects the coronary blood flow response to percutaneous coronary intervention. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 290, n. 2, p. H624-H630, 2006.
- 214.LI, Z., LI, J., BU, X., LIU, X., TANKERSLEY, C. G., WANG, C., HUANG, K. Age-induced augmentation of p38 MAPK phosphorylation in mouse lung. *Experimental gerontology*, v. 46. n. 8, p. 694-702, 2011.
- 215.LI, J., JIA, H., CAI, X., ZHONG, H., FENG, Q., SUNAGAWA, S., WANG, J. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. **Nature biotechnology**, v. 32, n. 8, p. 834-841. 2014.
- 216.LI, L., LIANG, X., XU, T., XU, F., DONG, W. Rapid detection of six glucocorticoids added

- illegally to dietary supplements by combining TLC with spot-concentrated Raman scattering. **Molecules**, v. 23, n. 7, p. 1504, 2018.
217. LI, J., LIU, X., WU, Y., JI, W., TIAN, Q., LI, S. Aerobic exercise improves intestinal mucosal barrier dysfunction through TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway in diabetic rats. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 634, p. 75-82, 2022.
 218. LIAO, Y. F., CHEN, L. L., ZENG, T. S., LI, Y. M., YU, F., HU, L. J., YUE, L. Number of circulating endothelial progenitor cells as a marker of vascular endothelial function for type 2 diabetes. **Vascular medicine**, v. 15, n. 4, p. 279-285, 2010.
 219. LIAO, L., SONG, D., SHI, B., CHEN, M., WU, L., XU, J., DONG, F. Inhibition of CCR8 attenuates Ang II-induced vascular smooth muscle cell injury by suppressing the MAPK/NF- κ B pathway. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 25, n. 9, 2022.
 220. LIBERMAN, A. C., BUDZIŃSKI, M. L., SOKN, C., GOBBINI, R. P., STEININGER, A., ARZT, E. Regulatory and mechanistic actions of glucocorticoids on T and inflammatory cells. **Frontiers in endocrinology**, v. 9, p. 235, 2018.
 221. LIEW, W. P. P., MOHD-REDZWAN, S., THAN, L. T. L. Gut microbiota profiling of aflatoxin b1-induced rats treated with lactobacillus casei shirota. **Toxins**, v. 11, n. 1, p. 49, 2019.
 222. LIN, T. W., CHEN, S. J., HUANG, T. Y., CHANG, C. Y., CHUANG, J. I., WU, F. S., JEN, C. J. Different types of exercise induce differential effects on neuronal adaptations and memory performance. **Neurobiology of learning and memory**, v. 97 n. 1, p. 140-147. 2012.
 223. LINO, A. D. D. S., VIANNA, D., OISHI, J. C., SOUZA, M. V. C., RUFFONI, L. D., MARIN, C. T., SHIGUEMOTO, G. E. Resistance training and caloric restriction prevent systolic blood pressure rise by improving the nitric oxide effect on smooth muscle and morphological changes in the aorta of ovariectomized rats. **Plos one**, v. 13, n. 8, p. e0201843, 2018.
 224. LILJA, I., DIMBERG, J., SJÖDAHL, R., TAGESSON, C., & GUSTAFSON-SVÄRD, C. Effects of endotoxin and dexamethasone on group I and II phospholipase A2 in rat ileum and stomach. **Gut**, v. 35, n. 1, p. 40-45, 1994.
 225. ŁOBOZ-RUDNICKA, M., JAROCH, J., KRUSZYŃSKA, E., BOCIĄGA, Z., RZYZKOWSKA, B., DUDEK, K., ŁOBOZ-GRUDZIEN, K. Gender-related differences in the progression of carotid stiffness with age and in the influence of risk factors on carotid stiffness. **Clinical Interventions in Aging**, p. 1183-1191, 2018.
 226. LONGENECKER, J. P.; KILTY, L. A.; JOHNSON, L. K. Glucocorticoid inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation: influence of homologous extracellular matrix and serum mitogens. **The Journal of cell biology**, v. 98 n. 2. pag 534-540, 1984.
 227. LONDON, G. M., & DRÜEKE, T. B. (1997). Atherosclerosis and arteriosclerosis in chronic renal failure. **Kidney international**, v. 51 n. 6, p. 1678-1695, 1997.
 228. LOPES, S., AFREIXO, V., TEIXEIRA, M., GARCIA, C., LEITAO, C., GOUVEIA, M., RIBEIRO, F. Exercise training reduces arterial stiffness in adults with hypertension: a systematic review and meta-analysis. **Journal of hypertension**, v. 39, n. 2, p. 214-222, 2021.
 229. LOPETUSO, L. R., PETITO, V., ZAMBRANO, D., ORLANDO, D., DAL LAGO, A., SERRICCHIO, L., ... & SCALDAFERRI, F. Gut microbiota: a key modulator of intestinal healing in inflammatory bowel disease. **Digestive Diseases**, v. 34 n. 3, p. 202-209, 2016.
 230. LUO B, XIANG D, NIEMAN DC, CHEN P. The effects of moderate exercise on chronic stress-induced intestinal barrier dysfunction and antimicrobial defense. **Brain, Behav Immun** v. 39 p. 99-106, 2014.

231. LU, L., MAO, L., FENG, Y., AINSWORTH, BE, LIU, Y., & CHEN, N. Effects of different exercise training modes on muscle strength and physical performance in older people with sarcopenia: a systematic review and meta-analysis. **BMC geriatrics**, v. 21, n. 1, p. 1-30, 2021.
232. LUFT F. C. Molecular mechanisms of arterial stiffness: new insights. **Jam Soc Hypertens**, v. 6, n. 6, p. 436-438, 2012.
233. LUTGENDORFF, F., NIJMEIJER, R. M., SANDSTRÖM, P. A., TRULSSON, L. M., MAGNUSSON, K. E., TIMMERMAN, H. M., SÖDERHOLM, J. D. Probiotics prevent intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis in rats via induction of ileal mucosal glutathione biosynthesis. **PloS one**, v. 4, n. 2, p. e4512, 2009.
234. LYTE, M.; VULCHANOVA, L.; BROWN, D. R. Stress at the intestinal surface: catecholamines and mucosa–bacteria interactions. **Cell and tissue research**, v. 343, p. 23-32, 2011.
235. MACEDO A. G.; KRUG A. L. O.; HERRERA N. A.; ZAGO A. S.; RUSH J. W. E.; AMARAL S. L. Low-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced atrophy in the flexor hallucis longus muscle. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 143, p. 357-364, 2014.
236. MACEDO, A. G.; KRUG, A. L.; SOUZA, L. M.; MARTUSCELLI, A. M.; CONSTANTINO, P. B.; ZAGO, A. S.; RUSH, J. W.; SANTOS, C. F.; AMARAL, S. L. Time-course changes of catabolic proteins following muscle atrophy induced by dexamethasone. **Steroids**, v. 107, p. 30-6. 2016.
237. MACEDO, F. N.; SOUZA, D. S.; ARAÚJO, J. E.; DANTAS, C. O.; MIGUEL-DOS-SANTOS, R.; SILVA-FILHA, E.; RABELO, T. K.; SANTOS, R. V.; ZHANG, R.; BARRETO, A. S.; VASCONCELOS, C. M.; LAUTON-SANTOS, S.; SANTOS, M. R.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; SANTANA-FILHO, V. J.; MESQUITA, T. R. NOX-dependent reactive oxygen species production underlies arrhythmias susceptibility in dexamethasone-treated rats. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 152, p. 1-7. 2020.
238. MANCIA, G., FAGARD, R., NARKIEWICZ, K., REDÁN, J., ZANCHETTI, A., BÖHM, M., ... & GALDERISI, M. Practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC): ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension. **Journal Of Hypertension**, v. 31 n. 10, p. 1925-1938, 2013.
239. MANDIGERS, T. J., BISSACCO, D., DOMANIN, M., D'ALESSIO, I., TOLVA, V. S., PIFFARETTI, G., TRIMARCHI, S. Cardiac and aortic modifications after endovascular repair for blunt thoracic aortic injury: a systematic review. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 64, n. 2-3, p. 176-187, 2022.
240. MADDEN KM, LOCKHART C, CUFF D, POTTER TF, MENEILLY GS. Short-term aerobic exercise reduces arterial stiffness in older adults with type 2 diabetes, hypertension, and hypercholesterolemia. **Diabetes Care**, v. 32, n. 8, p. 1531-1535, 2009.
241. MALACHIAS M. V. B.; SOUZA W. K. S. B.; PLAVNIK F. L.; RODRIGUES C. I. S.; BRANDÃO A. A.; NEVES M. F. T.; ET AL. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 3 Supl3, p. 1-83, 2016.
242. MALM, C. Susceptibility to infections in elite athletes: the S-curve. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 16, n. 1, p. 4-6, 2006.
243. MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, E., RODRÍGUEZ, C., GALÁN, M., MIANA, M., JURADO-LÓPEZ, R., BARTOLOMÉ, M. V., CACHOFEIRO, V. The lysyl oxidase inhibitor (β -aminopropionitrile) reduces leptin profibrotic effects and ameliorates cardiovascular remodeling in diet-induced obesity in rats. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 92, p. 96-104, 2016.
244. MARTINEZ-LEMUS, L. A., AROOR, A. R., RAMIREZ-PEREZ, F. I., JIA, G., HABIBI, J., DEMARCO, V. G., SOWERS, J. R. ET AL. Amiloride improves endothelial function and reduces vascular stiffness in female mice fed a western diet. **Frontiers in physiology**, v. 8, p. 456, 2017.
245. MARTENS EC, CHIANG HC, GORDON JI. Mucosal glycan foraging enhances fitness and transmission of a saccharolytic human gut bacterial symbiont. **Cell Host Microbe**. v. 4. p. 447–457, 2008.

246. MARTTINEN, M., ALA-JAAKKOLA, R., LAITILA, A., LEHTINEN, M.J. Gut microbiota, probiotics and physical performance in athletes and physically active individuals. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 2936, 2020.
247. MARTINS, A. S., CRESCENZI, A., STERN, J. E., BORDIN, S., & MICHELINI, L. C. Hypertension and exercise training differentially affect oxytocin and oxytocin receptor expression in the brain. **Hypertension**, v. 46, n. 4, p. 1004-1009, 2005.
248. MASENGA, S. K., HAMOOYA, B., HANGOMA, J., HAYUMBU, V., ERTUGLU, L. A., ISHIMWE, J., KIRABO, A. Recent advances in modulation of cardiovascular diseases by the gut microbiota. **Journal of Human Hypertension**, p. 1-8, 2022.
249. MASSON, G. S., NAIR, A. R., SILVA SOARES, P. P., MICHELINI, L. C., & FRANCIS, J. Aerobic training normalizes autonomic dysfunction, HMGB1 content, microglia activation and inflammation in hypothalamic paraventricular nucleus of SHR. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 309, n. 7, p. H1115-H1122, 2015.
250. MCCAFFREY, T. A., CONSIGLI, S., DU, B., FALCONE, D. J., SANBORN, T. A., SPOKOJNY, A. M., BUSH, H. L. Decreased type II/type I TGF-beta receptor ratio in cells derived from human atherosclerotic lesions. Conversion from an antiproliferative to profibrotic response to TGF-beta1. **The Journal of clinical investigation**, v. 96, n. 6, p. 2667-2675, 1995.
251. MENNI, C.; LIN, C.; CECELJA, M.; MANGINO, M.; MATEY-HERNANDEZ, M. L.; KEEHN, L.; MOHNEY, R. P.; STEVES, C. J.; SPECTOR, T. D.; KUO, C.; CHOWIENCZYK, P.; VALDES, A. M. Gut microbial diversity is associated with lower arterial stiffness in women. **European Heart Journal**, v. 39, p. 2390-97, 2018.
252. MIKAEL, L. D. R., PAIVA, A. M. G. D., GOMES, M. M., SOUSA, A. L. L., JARDIM, P. C. B. V., VITORINO, P. V. D. O., BARROSO, W. K. S. Vascular aging and arterial stiffness. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 109, n. 3, p. 253-258, 2017.
253. MIZUSHIMA, S., OHSHIGE, K., WATANABE, J., KIMURA, M., KADOWAKI, T., NAKAMURA, Y., UESHIMA, H. Randomized controlled trial of sour milk on blood pressure in borderline hypertensive men. **American journal of hypertension**, v. 17, n. 8, p. 701-706, 2014.
254. MILLION, M.; ANGELAKIS, E.; PAUL, M.; ARMOUGOM, F.; LEIBOVICI, L.; RAOULT, D. Comparative meta-analysis of the effect of *Lactobacillus* species on weight gain in humans and animals. **Microbial Pathogenesis**, v. 53, p. 100-8, 2012.
255. MITCHELL, G. F.; PARISE, H.; BENJAMIN, E. J.; LARSON, M. G.; KEYES, M. J.; VITA, J. B.; VASAN, R. S.; LEVY, D. Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: The Framingham Heart Study. **Hypertension**, v. 43, n. 6, p. 1239-45, 2004.
256. MIOTTO, D. S., DUCHATSCH, F., MACEDO, A. G., RUIZ, T. F., VICENTINI, C. A., AMARAL, S. L. Perindopril reduces arterial pressure and does not inhibit exercise-induced angiogenesis in spontaneously hypertensive rats. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 77, n. 4, p. 519-528, 2021.
257. MIOTTO, D. S., DUCHATSCH, F., DIONIZIO, A., BUZALAF, M. A. R., AMARAL, S. L. Physical Training vs. Perindopril Treatment on Arterial Stiffening of Spontaneously Hypertensive Rats: A Proteomic Analysis and Possible Mechanisms. **Biomedicines**, v. 11, n. 5, p. 1381, 2023.
258. MORAES, A. C. F. D., SILVA, I. T. D., ALMEIDA-PITITTO, B. D., & FERREIRA, S. R. G. Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, p. 58, n. 4, p. 317-327, 2014.
259. MONDO, C. K., YANG, W. S., ZHANG, N., HUANG, T. G. Anti-oxidant effects of atorvastatin in dexamethasone-induced hypertension in the rat. **Clinical and experimental pharmacology and physiology**, v. 33, n. 11, p. 1029-1034, 2006.
260. MÜHL, H., GEIGER, T., PIGNAT, W., MÄRKI, F., VAN DEN BOSCH, H., CERLETTI, N., PFEILSCHIFTER, J. Transforming growth factors type-β and dexamethasone attenuate group II phospholipase A2 gene expression by interleukin-1 and forskolin in rat mesangial cells. **FEBS**

letters, v. 301, n. 2, p. 190-194, 1992.

261. MUNIR, S. S., SERT KUNIYOSHI, F. H., SINGH, P., & COVASSIN, N. Is the Gut Microbiome Implicated in the Excess Risk of Hypertension Associated with Obstructive Sleep Apnea? A Contemporary Review. **Antioxidants**, v. 12, n. 4, p. 866, 2023.
262. NAJJAR, S. S., SCUTERI, A., SHETTY, V., WRIGHT, J. G., MULLER, D. C., FLEG, J. L., LAKATTA, E. G. . Pulse wave velocity is an independent predictor of the longitudinal increase in systolic blood pressure and of incident hypertension in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 51, n. 14, p. 1377-1383, 2008.
263. NAKAZATO, M., MURAKAMI, N., DATE, Y., KOJIMA, M., MATSUO, H., KANGAWA, K., MATSUKURA, S. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. **Nature**, v. 409, n. 6817, p. 194-198, 2001.
264. NARUM, S., WESTERGREN, T., & KLEMP, M. Corticosteroids and risk of gastrointestinal bleeding: a systematic review and meta-analysis. **BMJ open**, v. 4, n. 5, p. e004587, 2014.
265. NEWBY, A. C. Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. **Physiological reviews**, v. 85 n. 1, p. 1-31, 2005.
266. NIELSEN, M. S.; AXELSEN, L. N.; SORGEN, P. L.; VERMA, V.; DELMAR, M.; HOLSTEIN-RATHLOU, N. Gap junctions. **Comprehensive Physiology**, v. 2, n. 3, p. 1981-2035. 2012.
267. NIEMAN, D. C., GILLITT, N. D., KNAB, A. M., SHANELY, R. A., PAPPAN, K. L., JIN, F., & LILA, M. A. Influence of a polyphenol-enriched protein powder on exercise-induced inflammation and oxidative stress in athletes: a randomized trial using a metabolomics approach. **Plos one**, v. 8, n. 8, p. e72215, 2013.
268. NIEMAN, DC, & NEHLSSEN-CANNARELLA, SL, SANDRA L. The effects of acute and chronic exercise on immunoglobulins. **Sports Medicine**, v. 11, p. 183-201, 1991.
269. NURUL ADILAH, Z., LIEW, W. P. P., MOHD REDZWAN, S., AMIN, I. Effect of high protein diet and probiotic lactobacillus casei shirota supplementation in aflatoxin B1-induced rats. **BioMed research international**, p. 9568351, 2018.
270. OANA, F., TAKEDA, H., HAYAKAWA, K., MATSUZAWA, A., AKAHANE, S., ISAJI, M., AKAHANE, M. Physiological difference between obese (fa/fa) Zucker rats and lean Zucker rats concerning adiponectin. **Metabolism**, v. 54, n. 8, p. 995-1001, 2005.
271. OGOH, S.; AINSLIE, P. N. Cerebral blood flow during exercise: mechanisms of regulation. **Journal of applied physiology**, v. 107, n. 5, p. 1370-1380, 2009.
272. OKAMOTO, T., SAKAMAKI, M. S., MIN, S. K., YOSHIDA, S., WATANABE, Y., OGASAWARA, R. Repeated cessation and resumption of resistance training attenuates increases in arterial stiffness. **International Journal of Sports Medicine**, v. 36, n. 06, p. 440-445, 2015.
273. ORG, E.; MEHRABIAN, M.; PARKS, B. W.; SHIPKOVA, P.; LIU, X.; DRAKE, T. A.; LUSIS, C. J. Sex differences and hormonal effects on gut microbiota composition in mice. **Gut Microbes**, v. 7, n. 4, p. 313-322. 2016.
274. OTT, S. J., EL MOKHTARI, N. E., MUSFELDT, M., HELLMIG, S., FREITAG, S., REHMAN, D., HAMPE, J. Detection of diverse bacterial signatures in atherosclerotic lesions of patients with coronary heart disease. **Circulation**, v. 113. n. 7, p. 929-937, 2006.
275. OTSUKA, T., NISHII, A., AMEMIYA, S., KUBOTA, N., NISHIJIMA, T., KITA, I. Effects of acute treadmill running at different intensities on activities of serotonin and corticotropin-releasing factor neurons, and anxiety-and depressive-like behaviors in rats. **Behavioural brain research**, v. 298, p. 44-51, 2016.
276. OTSUKI, T., NAMATAME, H., YOSHIKAWA, T., & ZEMPO-MIYAKI, A.L. Combined aerobic and low-intensity resistance exercise training increases basal nitric oxide production and decreases arterial stiffness in healthy older adults. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 66, n. 1, p. 62-66, 2020.

277. PALMIERE, S., WADE, M., DEBLOIS, J. P., LEFFERTS, W. K., HEFFERNAN, K. S. Aortic stiffness, central pulse pressure and cognitive function following acute resistance exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 118, p. 2203-2211, 2018.
278. PARK, W., JUNG, W. S., HONG, K., KIM, Y. Y., KIM, S. W., PARK, H. Y. Effects of moderate combined resistance-and aerobic-exercise for 12 weeks on body composition, cardiometabolic risk factors, blood pressure, arterial stiffness, and physical functions, among obese older men: a pilot study. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 19, p. 7233, 2020.
279. PANOVA-NOEVA, M., ARNOLD, N., HERMANN, M. I., PROCHASKA, J. H., SCHULZ, A., SPRONK, H. M., ZELLER, T. Mean Platelet Volume and Arterial Stiffness–Clinical Relationship and Common Genetic Variability. **Scientific reports**, v. 7, p. 40229, 2017.
280. PASINI, E.; AQUILANI, R.; TESTA, C.; BAIARDI, P.; ANGIOLETTI, S.; BOSCHI, F.; VERRI, M.; DIOGUARDI, F. Pathogenic gut flora in patients with chronic heart failure. **Journal of The American College of Cardiology: Heart Fail**, v. 4, n. 3, p. 220-7. 2016.
281. PAWLINA, WOJCIECH, AND MICHAEL H. ROSS. **Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology**. Lippincott Williams & Wilkins, 2016.
282. PEDRALLI, M. L., MARSCHNER, R. A., KOLLET, D. P., NETO, S. G., EIBEL, B., TANAKA, H., LEHNEN, A. M. Different exercise training modalities produce similar endothelial function improvements in individuals with prehypertension or hypertension: A randomized clinical trial. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 7628, 2020.
283. PEKAS, E. J., SHIN, J., SON, W. M., HEADID III, R. J., PARK, S. Y. Habitual combined exercise protects against age-associated decline in vascular function and lipid profiles in elderly postmenopausal women. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 11, p. 3893, 2020.
284. PEREIRA, C. U., DE CARVALHO, A. F., DE CARVALHO, M. F., & DO NASCIMENTO, T. F. Tratamento conservador da síndrome do túnel do carpo: revisão da literatura. *Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia*: **Brazilian Neurosurgery**, v. 24, n. 01, p. 26-30, 2005.
285. PERILHAO, M. S., NETO, W. K., DA SILVA, A. A., LS ALVES, L., ANTONIO, E. L., MEDEIROS, A., BOCALINI, D. S. Linear periodization of strength training in blocks attenuates hypertension and diastolic dysfunction with normalization of myocardial collagen content in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 38, n. 1, p. 73-81, 2020.
286. PETRIZ, B. A., CASTRO, A. P., ALMEIDA, J. A., GOMES, C. P., FERNANDES, G. R., KRUGER, R. H., ... & FRANCO, O. L. Exercise induction of gut microbiota modifications in obese, non-obese and hypertensive rats. **BMC genomics**, v. 15, n. 1, p. 511, 2014.
287. PETERS, HPF, DE VRIES, WR, VANBERGE-HENEGOUWEN, GP E AKKERMANS, LMA. Potential benefits and hazards of physical activity and exercise on the gastrointestinal tract. **Gut**, v. 48, n. 3, p. 435-439, 2001.
288. PHOEMSAPTHAWEE, J., PRASERTSRI, P., LEELAYUWAT, N. Heart rate variability responses to a combined exercise training program: correlation with adiposity and cardiorespiratory fitness changes in obese young men. **Journal of exercise rehabilitation**, v. 15, n. 1, p. 114, 2019.
289. PINHEIRO, CHDJ, SOUSA FILHO, WMD, OLIVEIRA NETO, JD, MARINHO, MDJF, MOTTA NETO, R., SMITH, MMRL, SILVA, CABDO. Exercise prevents cardiometabolic alterations induced by chronic use of glucocorticoids. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 93, p. 400-408, 2009.

290. PIZZI, O., BRANDÃO, A. A., MAGALHÃES, M. E. C., POZZAN, R., & BRANDÃO, A. P. Velocidade de onda de pulso-o método e suas implicações prognósticas na hipertensão arterial. **Rev Bras Hipertens**, v. 13 n. 1, p. 59-62, 2006.
291. QAMAR, M. I.; READ, A. E. Effects of exercise on mesenteric blood flow in man. **Gut**, v. 28, n. 5, p. 583-587, 1987.
292. QUEIPO-ORTUÑO, M. I.; SEOANE, L. M.; MURRI, M.; PARDO, M.; GOMEZ-ZUMAQUERO, J. M.; CARDONA, F.; CASANUEVA, F.; TINAHONES, F. J. Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels. **PloS One**, v. 8, n. 5. 2013.
293. RAFFETTO, Joseph D.; KHALIL, Raouf A. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease. **Biochemical pharmacology**, v. 75. n. 2 p. 346-359, 2008.
294. READ, L. C.; TOMAS, F. M.; HOWARTH, G. S.; MARTIN, A. A.; EDSON, K. J.; GILLESPIE, C. M.; OWENS, P. C.; BALLARD, F. J. Insulin-like growth factor-I and its N-terminal modified analogues induce marked gut growth in dexamethasone-treated rats. **The Journal of Endocrinology**, v. 133, n. 3, p. 421-31. 1992.
295. RHEE, Sang H.; POTHOUKAKIS, Charalabos; MAYER, Emeran A. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 6, n. 5, p. 306-314, 2009.
296. RIBEIRO, F., RIBEIRO, I. P., GONÇALVES, A. C., ALVES, A. J., MELO, E., FERNANDES, R., OLIVEIRA, J. Effects of resistance exercise on endothelial progenitor cell mobilization in women. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2017.
297. ROBINSON, A. T., MAZZUCO, A., SABBAHI, A. S., BORGHI-SILVA, A., PHILLIPS, S. A. The effect of 1 week of a multi-ingredient dietary preworkout supplement on resting and postacute resistance exercise vascular function. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 28, n. 6, p. 611-618, 2018.
298. ROMAN, M. J.; DEVEREUX, R. B.; SCHWARTZ, J. E.; LOCKSHIN, M. D.; PAGET, S. A.; DAVIS, A.; CROW, M. K.; SAMMARITANO, L.; LEVINE, D. M.; SHANKAR, B.; MOELLER, E.; SALMON, J. E. Arterial stiffness in chronic inflammatory diseases. **Hypertension**, v. 46, n. 1, p. 194-9. 2005.
299. ROQUE, F. R., BRIONES, A. M., GARCÍA-REDONDO, A. B., GALÁN, M., MARTÍNEZ-REVELLES, S., AVENDAÑO, M. S., SALAICES, M. Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. **British journal of pharmacology**, v. 168. n. 3, p. 686-703, 2013.
300. ROSA, D. D.; DIAS, M. M. S. Grzeskowiak, L. M., Reis, S. A., Conceicao, L. L., Peluzio, M. Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. **Nutr Res Rev**, v. 30, n. 1, p. 82-96, 2017.
301. ROSADO-DAWID, N. Z., TORRES-LEÓN, J. M., PORTALES-NÚÑEZ, M. E., RAMOS-MECA, M. A., GARCÍA-MAYOR, M. Á., DE-LA-TORRE-GUTIÉRREZ, S. Ischemic colitis due to vigorous physical exercise. **Revista Española de Enfermedades Digestivas**, v. 105, n. 1, p. 48-50, 2013.
302. ROSE, E. C.; ODLE, J.; BLIKSLAGER, A. T.; ZIEGLER, A. L. Probiotics, prebiotics and epithelial tight junctions: a promising approach to modulate intestinal barrier function. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 6729. 2021.

303. ROWELL, L. B., DETRY, J. R., PROFANT, G. R., WYSS, C. R. A. I. G. Splanchnic vasoconstriction in hyperthermic man--role of falling blood pressure. **Journal of applied physiology**, v. 31, n. 6, p. 864-869, 1971.
304. RUIZ-ORTEGA, M., RODRÍGUEZ-VITA, J., SANCHEZ-LOPEZ, E., CARVAJAL, G., & EGIDO, J. TGF- β signaling in vascular fibrosis. **Cardiovascular research**, v. 74, n 2, p. 196-206, 2007.
305. RUIZ-ORTEGA, M., GONZÁLEZ, S., SERÓN, D., CONDOM, E., BUSTOS, C., LARGO, R., EGIDO, J. ACE inhibition reduces proteinuria, glomerular lesions and extracellular matrix production in a normotensive rat model of immune complex nephritis. **Kidney international**, v. 48. n. 6, p. 1778-1791, 1995.
306. RUANGTHAI, R., PHOEMSAPTHAWEE, J. Combined exercise training improves blood pressure and antioxidant capacity in elderly individuals with hypertension. **Journal of Exercise Science & Fitness**, v. 17, n. 2, p. 67-76, 2019.
307. RUZZIN, J., JENSEN, J. Contraction activates glucose uptake and glycogen synthase normally in muscles from dexamethasone-treated rats. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 289, n. 2, p. E241-E250, 2005.
308. SADLER, J. Evan. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. 1998. 303. SABBADINI, E. The submandibular gland: a key organ in the neuro-immuno-regulatory network?. **Neuroimmunomodulation**, v. 2, n. 4, p. 184-202, 1995.
304. SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42 n. 1, p. 1-16, 2006.
305. SAITO, H.; NAKAKITA, Y.; SEGAWA, S.; TSUCHIYA, Y. Oral administration of heat-killed *Lactobacillus brevis* SBC8803 elevates the ratio of acyl/des-acyl ghrelin in blood and increases short-term food intake. **Beneficial Microbes**, v. 10, n. 6, p. 671-677. 2019.
306. SANDEK, A.; BAUDITZ, J.; SWIDSINSKI, A.; BUHNER, S.; WEBER-EIBEL, J.; VON HAEHLING, S.; SCHROEDL, W.; KARHAUSEN, T.; DOEHNER, W.; RAUCHHAUS, M.; POOLE-WILSON, P.; VOLK, H.; LOCHS, H.; ANKER, S. D. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. **Journal of The American College of Cardiology**, v. 50, n. 16, p. 1561-9. 2007.
307. SANCHES I. C.; CONTI F. F.; BERNARDES N.; BRITO J. D. E O.; GALDINI E. G.; CAVAGLIERI C. R.; IRIGOYEN M. C.; DE ANGELIS K. Impact of combined exercise training on cardiovascular autonomic control and mortality in diabetic ovariectomized rats. **J Appl Physiol**, v. 119, n. 6, p. 656-662, 2015.
308. SANTISTEBAN, M. M., QI, Y., ZUBCEVIC, J., KIM, S., YANG, T., SHENOY, V., SIMMONS, C. S. Hypertension-linked pathophysiological alterations in the gut. **Circulation research**, v. 120. n. 2, p. 312-323, 2017.
309. SARI-SARRAF, V.; REILLY, T.; DORAN, DA. Salivary IgA response to intermittent and continuous exercise. **International journal of sports medicine**, v. 27, n. 11, p. 849-855, 2006.
310. SAVOIA, C., TOUYZ, R. M., AMIRI, F., & SCHIFFRIN, E. L. Selective mineralocorticoid receptor blocker eplerenone reduces resistance artery stiffness in hypertensive patients. **Hypertension**, v. 51 n. 2, p. 432-439, 2008.
311. SAZ-LARA, A., CAVERO-REDONDO, I., ÁLVAREZ-BUENO, C., NOTARIO-PACHECO, B., REINA-GUTIÉRREZ, S., SEQUÍ-DOMÍNGUEZ, I., MARTÍNEZ-VIZCAÍNO, V. What type of physical exercise should be recommended for improving arterial stiffness on adult population? A network meta-analysis. **European Journal of Cardiovascular Nursing**, v. 20, n. 7, p. 696-716, 2021.
312. SEHGEL, N. L., VATNER, S. F., MEININGER, G. A. "Smooth muscle cell stiffness syndrome"—revisiting the structural basis of arterial stiffness. **Frontiers in physiology**, v. 6, p. 335, 2015.

313. SEPPÖ, L., JAUHIAINEN, T., POUSSA, T., & KORPELA, R. (2003). A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure-lowering effect in hypertensive subjects. **The American journal of clinical nutrition**, v. 77, n. 2, p. 326-330, 2003.
314. SEGAR, J. L., ROGHAIR, R. D., SEGAR, E. M., BAILEY, M. C., SCHOLZ, T. D., LAMB, F. S. Early gestation dexamethasone alters baroreflex and vascular responses in newborn lambs before hypertension. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 291, n. 2, p. R481-R488, 2006.
315. SEVERINO, C. BRIZZI P, SOLINAS A, SECCHI G, MAIOLI M, TONOLO G. Low-dose dexamethasone in the rat: a model to study insulin resistance. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 283, p. E367-E373, 2002.
316. SCHEIMAN, J., LUBER, J. M., CHAVKIN, T. A., MACDONALD, T., TUNG, A., PHAM, L. D., KOSTIC, A. D. Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. **Nature medicine**, v. 25, n. 7, p. 1104-1109, 2019.
317. SCHROEDER, E. C., FRANKE, W. D., SHARP, R. L., LEE, D. C. Comparative effectiveness of aerobic, resistance, and combined training on cardiovascular disease risk factors: A randomized controlled trial. **PloS one**, v. 14, n. 1, p. e0210292, 2019.
318. SCHILLACI, G., BILO, G., PUCCI, G., LAURENT, S., MACQUIN-MAVIER, I., BOUTOUYRIE, P., FAINI, A. Relationship between short-term blood pressure variability and large-artery stiffness in human hypertension: findings from 2 large databases. **Hypertension**, HYPERTENSION p.112, 2012.
319. SCHULZ, M. D., ATAY, Ç., HERINGER, J., ROMRIG, F. K., SCHWITALLA, S., AYDIN, B., SALINAS-RIESTER, G. (2014). High-fat-diet-mediated dysbiosis promotes intestinal carcinogenesis independently of obesity. **Nature**, v. 514, n. 7523, p. 508, 2014.
320. SCRIMA, M., CAMPIGLIA, P., ESPOSITO, C., GOMEZ-MONTERREY, I., NOVELLINO, E., D'URSI, AM. Conformational characteristics of bestatin: a strategy to sell the biological role of bestatin?. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 363, n. 3, pág. 500-505, 2007.
321. SHAW I.; SHAW B. S.; KRASILSHCHIKOV O. Comparison of aerobic and combined aerobic and resistance training on low-density lipoprotein cholesterol concentrations in men. **Cardiovasc J Afr**, v. 20, n. 5, p. 290-295, 2009.
322. SHARMAN, J. E., SMART, N. A., COOMBES, J. S., STOWASSER, M. Exercise and sport science australia position stand update on exercise and hypertension. **Journal of human hypertension**, v. 33, n. 12, p. 837-843, 2019.
323. SHER, L. D., GEDDIE, H., OLIVIER, L., CAIRNS, M., TRUTER, N., BESELAAR, L., ESSOP, M. F. Chronic stress and endothelial dysfunction: mechanisms, experimental challenges, and the way ahead. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 319, n. 2, p. H488-H506, 2020.
324. SHIMOJO, G. L., SILVA DIAS, D. D., MALFITANO, C., SANCHES, I. C., LLESUY, S., ULLOA, L., DE ANGELIS, K. Combined aerobic and resistance exercise training improve hypertension associated with menopause. **Frontiers in physiology**, v. 9, p. 1471, 2018.
325. SHIN, H. E., KWAK, S. E., DI ZHANG, D., LEE, J., YOON, K. J., CHO, H. S., SONG, W. Effects of treadmill exercise on the regulation of tight junction proteins in aged mice. **Experimental Gerontology**, v. 141, p. 111077, 2020.
326. SHING, C. M., PEAKE, J. M., LIM, C. L., BRISKEY, D., WALSH, N. P., FORTES, M. B., VITETTA, L. Effects of probiotics supplementation on gastrointestinal permeability,

- inflammation and exercise performance in the heat. **European journal of applied physiology**, v. 114, p. 93-103, 2014.
327. SHULL, S., MEISLER, N., ABSHER, M., PHAN, S., & CUTRONEO, K. R. (1995). Glucocorticoid-induced down regulation of transforming growth factor- β 1 in adult rat lung fibroblasts. **Lung**, v. 173 n. 2, 71-78, 1995.
 328. SIUDA, D., TOBIAS, S., RUS, A., XIA, N., FÖRSTERMANN, U., LI, H. Dexamethasone upregulates Nox1 expression in vascular smooth muscle cells. **Pharmacology**, v. 94 n. 1-2, p. 13-20, 2014.
 329. SMITH, M. M., BUFFINGTON, C. T., HAMLIN, R. L., & DEVOR, S. T. Relationship between muscle sympathetic nerve activity and aortic wave reflection characteristics in aerobic-and resistance-trained subjects. **European journal of applied physiology**, v. 115 n. 12, pag 2609-2619, 2015.
 330. SMITH, E. A; MACFARLANE, G. T. Dissimilatory amino acid metabolism in human colonic bacteria. **Anaerobe**, v. 3, n. 5, p. 327-337, 1997.
 331. SON, W. M., SUNG, K. D., CHO, J. M., & PARK, S. Y. Combined exercise reduces arterial stiffness, blood pressure, and blood markers for cardiovascular risk in postmenopausal women with hypertension. **Menopause**, v.24n.3, 262-268, 2017.
 332. SONGCHARERN, N., RUANGTHAI, R., TUMNARK, P., PHOEMSAPTHAWEE, J. Improved arterial stiffness after combined aerobic and resistance training: correlation with heart rate variability change in prehypertensive offspring of hypertensive parents. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 18, n. 6, p. 395-405, 2022.
 333. SONGCHARERN, N., RUANGTHAI, R., TUMNARK, P., & PHOEMSAPTHAWEE, J. Improved arterial stiffness after combined aerobic and resistance training: correlation with heart rate variability change in prehypertensive offspring of hypertensive parents. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 18, n. 6, p. 395-405, 2022.
 334. SOTO-PIÑA, A. E.; FRANKLIN, C.; RANI, C. S.; FERNANDEZ, E.; CARDOSO-PEÑA, E.; BENÍTEZ-ARCINIEGA, A. D.; GOTTLIEB, H.; HINOJOSA-LABORDE, C.; STRONG, R. Dexamethasone causes hypertension in rats even under chemical blockade of peripheral sympathetic nerves. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, v. 1305. 2019.
 335. SOUZA, R. R., DE FRANÇA, E., MADUREIRA, D., PONTES, C. C., SANTANA, J. O. CAPERUTO, E. C. Resistance training improves aortic structure in Wistar rats. **Brazilian journal of physical therapy**, v. 21 n.4, p. 244-250, 2017.
 336. STILLING, R. M.; DINAN, T. G.; CRYAN, J. F. Microbial genes, brain & behaviour—epigenetic regulation of the gut–brain axis. **Genes, Brain and Behavior**, v. 13, n. 1, p. 69-86, 2014.
 337. STONER, L., STONE, K., ZIEFF, G., BLACKWELL, J., DIANA, J., CREDEUR, D. P., FRYER, S. Endothelium function dependence of acute changes in pulse wave velocity and flow-mediated slowing. **Vascular Medicine**, v. 25, n. 5, p. 419-426, 2020.
 338. SZULIŃSKA, M., ŁONIEWSKI, I., SKRYPIK, K., SOBIESKA, M., KORYBALSKA, K., SULIBURSKA, J., & BOGDAŃSKI. Multispecies probiotic supplementation favorably affects vascular function and reduces arterial stiffness in obese postmenopausal women—A 12-week placebo-controlled and randomized clinical study. **Nutrients**, v. 10, n. 11, p. 1672, 2018.
 339. SUN, A., WANG, Y., LIU, J., YU, X., SUN, Y., YANG, F., LU, F. Exogenous H₂S modulates mitochondrial fusion–fission to inhibit vascular smooth muscle cell proliferation in a hyperglycemic state. **Cell & bioscience**, v.6 n.1, pag 36, 2016.
 340. SU, Q., & WEINDL, G. Glucocorticoids and Toll-like receptor 2 cooperatively induce acute-phase serum amyloid A. **Pharmacological research**, v. 128, p. 145-152, 2018.
 341. TAKAMIYA, Y., FUKAMI, K., YAMAGISHI, S. I., KAIDA, Y., NAKAYAMA, Y., OBARA, N., NISHINO, Y. Experimental diabetic nephropathy is accelerated in matrix metalloproteinase-2 knockout mice. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 28, n. 1, p. 55-62, 2013.

342. TANIDA, M.; YAMANO, T.; MAEDA, K.; OKUMURA, N.; FUKUSHIMA, Y.; NAGAI, K. Effects on intraduodenal injection of *Lactobacillus johnsoni* La1 on renal sympathetic nerve activity and blood pressure in urethane-anesthetized rats. **Neuroscience Letters**, v. 389, p. 109-14. 2005.
343. TARDELLI, L. P.; DUCHATSCH, F.; HERRERA, N. A.; VICENTINI, C. A.; OKOSHI, K.; AMARAL, S. L. Differential effects of dexamethasone on arterial stiffness, myocardial remodeling and blood pressure between normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Journal of Applied Toxicology**, online ahead of print. 2021.
344. TARDELLI, L. P., DUCHATSCH, F., HERRERA, N. A., RUIZ, T. F. R., PAGAN, L. U., VICENTINI, C. A., AMARAL, S. L. Benefits of combined exercise training on arterial stiffness and blood pressure in spontaneously hypertensive rats treated or not with dexamethasone. **Frontiers in Physiology**, v. 13, p. 916179, 2022.
345. THOMAS, E., FICARRA, S., NAKAMURA, M., PAOLI, A., BELLAFFIORE, M., PALMA, A., BIANCO, A. Effects of different long-term exercise modalities on tissue stiffness. **Sports Medicine-Open**, v. 8, n. 1, p. 71, 2022.
346. TING-WEI LEE., YU-HSUN KAO., YI-JEN CHEN., TZE-FAN CHAO., TING-I LEE. Therapeutic potential of vitamin D in AGE/RAGE-related cardiovascular diseases. **Cellular and Molecular Life Sciences**. 2019.
347. TOODE, K.; VIRU, A.; ELLER, A. Lipolytic actions of hormones on adipocytes in exercise-trained organisms. **The Japanese Journal of Physiology** , v. 43, n. 2, pág. 253-258, 1993.
348. TORRES-SÁNCHEZ, A., RUIZ-RODRÍGUEZ, A., ORTIZ, P., AGUILERA, M. Key Stratification of Microbiota Taxa and Metabolites in the Host Metabolic Health–Disease Balance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 5, p. 4519, 2023.
309. TOWNSEND, R. R., WILKINSON, I. B., SCHIFFRIN, E. L., AVOLIO, A. P., CHIRINOS, J. A., COCKCROFT, J. R., WEBER, T. Recommendations for improving and standardizing vascular research on arterial stiffness: a scientific statement from the American Heart Association. **Hypertension**, v. 66, n. 3, p. 698-722, 2015.
349. TSAI, C. H., LIAO, C. W., WU, X. M., CHEN, Z. W., PAN, C. T., CHANG, Y. Y., LIN, Y. H. Autonomous cortisol secretion is associated with worse arterial stiffness and vascular fibrosis in primary aldosteronism: a cross-sectional study with follow-up data. **European Journal of Endocrinology**, v. 187, n. 1, p. 197-208, 2022.
350. TULIPANO, G., ROSSI, E., CULLER, M. D., TAYLOR, J. E., BONADONNA, S., LOCATELLI, V., GIUSTINA, A. The somatostatin subtype-2 receptor antagonist, BIM-23627, improves the catabolic effects induced by long-term glucocorticoid treatment in the rat. **Regulatory peptides**, v. 125, n. 1-3, p. 85-92, 2005.
351. TURNBAUGH, P. J., LEY, R. E., MAHOWALD, M. A., MAGRINI, V., MARDIS, E. R., GORDON, J. I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**, v. 444 n. 7122, 1027, 2006.
352. TURRI-SILVA, N., VALE-LIRA, A., VERBOVEN, K., QUAGLIOTI DURIGAN, J. L., HANSEN, D., CIPRIANO JR, G. High-intensity interval training versus progressive high-intensity circuit resistance training on endothelial function and cardiorespiratory fitness in heart failure: A preliminary randomized controlled trial. **PloS one**, v. 16, n. 10, p. e0257607, 2021.
353. UBEDA, C., TAUR, Y., JENQ, R. R., EQUINDA, M. J., SON, T., SAMSTEIN, M., PAMER, E. G. Vancomycin-resistant Enterococcus domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans. **The Journal of clinical investigation**, v. 120 n. 12, p. 4332-4341, 2010.
354. UNGER, T., BORGHI, C., CHARCHAR, F., KHAN, N. A., POULTER, N. R., PRABHAKARAN, D., SCHUTTE, A. E. 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines. **Hypertension**, v. 75, n. 6, p. 1334-1357, 2020.

355. URHAUSEN, A.; GABRIEL, H.; KINDERMANN, W. Blood hormones as markers of training stress and overtraining. **Sports medicine**, v. 20, p. 251-276, 1995.
356. VALASSI, E.; SCACCHI, M.; CAVAGNINI, F. Neuroendocrine control of food intake. **Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases**, v. 18, n. 2, p. 158-168, 2008.
357. VALENTINO, TR, VECCHETTI JR, IJ, MOBLEY, CB, DUNGAN, CM, GOLDEN, L., GOH, J., MCCARTHY, JJ (2021). Gut microbiome dysbiosis impairs mouse skeletal muscle adaptation to exercise. **The Journal of Physiology**, v. 599, n. 21, p. 4845-4863, 2021.
358. VAISBERG, M., PAIXÃO, V., ALMEIDA, E. B., SANTOS, J. M., FOSTER, R., ROSSI, M., BACHI, A. L. Daily intake of fermented milk containing lactobacillus casei shirota (lcs) modulates systemic and upper airways immune/inflammatory responses in marathon runners. **Nutrients**, v. 11, n. 7, p. 1678, 2019.
359. VAN NIEUWENHOVEN, M A.; BROUNS, F; BRUMMER, R M. Gastrointestinal profile of symptomatic athletes at rest and during physical exercise. **European journal of applied physiology**, v. 91, p. 429-434, 2004.
360. VAN WIJCK, K., LENAERTS, K., GROOTJANS, J., WIJNANDS, K. A., POEZE, M., VAN LOON, L. J., BUURMAN, W. A. Physiology and pathophysiology of splanchnic hypoperfusion and intestinal injury during exercise: strategies for evaluation and prevention. **American journal of physiology-gastrointestinal and liver physiology**, 2012.
361. VAN VULPEN, J. K., VELTHUIS, M. J., STEINS BISSCHOP, C. N., TRAVIER, N., VAN DEN BUIJS, B. J., BACKX, F. J., MAY, A. M. Effects of an exercise program in colon cancer patients undergoing chemotherapy. **Med Sci Sports Exerc**, v. 48, n. 5, p. 767-75, 2016.
362. VLACHOPOULOS, C., TERENCE-PRINTZIOS, D., LAURENT, S., NILSSON, P. M., PROTOGEROU, A. D., Aznaouridis, K., Tousoulis, D., Charalambos et al. Association of estimated pulse wave velocity with survival: a secondary analysis of SPRINT. **JAMA network open**, v. 2, n. 10, p. e1912831-e1912831, 2019.
363. VAN, L., GIROTTI, C., FRACASSO, M., PITALUGA, A. N., WAGNER, G., BATTISTON, F. G. Influence of the fish oil in the gut microbiota of wistar rats (*Rattus norvegicus*) treated with dexamethasone and amoxicillin. **Microbial pathogenesis**, v. 113, p. 45-50, 2017.
364. IRWANI, P. D., QIAN, G., HSU, M. S., PIJARNVANIT, T. K., CHEUNG, C. N. M., CHOW, Y. H., LAU, K. K. Sex Differences in Association Between Gut Microbiome and Essential Hypertension Based on Ambulatory Blood Pressure Monitoring. **Hypertension**, v. 80, n. 6, p. 1331-1342, 2023.
365. VON HAEHLING, S.; ANKER, S. D. Future prospects of anticytokine therapy in chronic heart failure. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 14, n.2, p. 163-76. 2005.
366. IN, C., YE, M., ZHANG, Q., HE, H. Effect of Exercise on Vascular Function and Blood Lipids in Postmenopausal Women: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 19, p. 12074, 2022.
367. YAN, Q., GU, Y., LI, X., YANG, W., JIA, L., CHEN, C., MA, Y. Alterations of the gut microbiome in hypertension. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 7, p. 381, 2017.
368. YANG, S. J., HONG, H. C., CHOI, H. Y., YOO, H. J., CHO, G. J., HWANG, T. G., CHOI, K. M. Effects of a three-month combined exercise programme on fibroblast growth factor 21 and fetuin-A levels and arterial stiffness in obese women. **Clinical endocrinology**, v. 75 n. 4, p. 464-469, 2011.
369. YANG, W., JIAO, H., XUE, Y., WANG, L., ZHANG, Y., WANG, B., ... & LIU, C. A Meta-Analysis of the Influence on Inflammatory Factors in Type 2 Diabetes among Middle-Aged and

- Elderly Patients by Various Exercise Modalities. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 3, p. 1783, 2023.
370. YAMAMOTO, N., AKINO, A., TAKANO, T. Antihypertensive effects of different kinds of fermented milk in spontaneously hypertensive rats. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 58 n. 4, p. 776-778, 1994.
371. YAP, S. K., ZAKARIA, Z., OTHMAN, S. S., OMAR, A. R. In vitro treatment of lipopolysaccharide increases invasion of *Pasteurella multocida* serotype B: 2 into bovine aortic endothelial cells. **Journal of veterinary science**, v. 19 n. 2, p. 207-215, 2018.
372. YOKOYAMA H.; EMOTO M.; FUJIWARA S.; MOTOYAMA K.; MORIOKA T.; KOYAMA H.; SHOJI T.; INABA M.; NISHIZAWA Y. Short-term aerobic exercise improves arterial stiffness in type 2 diabetes. **Diabetes ResClinPract**, v. 65, n. 2, p. 85-93, 2004.
373. YONG, W. C., SANGUANKEO, A., & UPALA, S. Association between sarcoidosis, pulse wave velocity, and other measures of subclinical atherosclerosis: a systematic review and meta-analysis. **Clinical rheumatology**, v. 37, p. 2825-2832, 2018.
374. YONG, W. C., SANGUANKEO, A., & UPALA, S. Association between primary Sjogren's syndrome, arterial stiffness, and subclinical atherosclerosis: A systematic review and meta-analysis. **Clinical rheumatology**, v. 38, p. 447-455, 2019.
375. YOSHIKAWA, K., KURIHARA, C., FURUHASHI, H., TAKAJO, T., MARUTA, K., YASUTAKE, Y., WATANABE, C. Psychological stress exacerbates NSAID-induced small bowel injury by inducing changes in intestinal microbiota and permeability via glucocorticoid receptor signaling. **Journal of gastroenterology**, v. 52 n. 1, p. 61-71, 2017.
376. YUCEL, C., DEMIR, S., DEMIR, M., TUFENK, M., NAS, K., MOLNAR, F., ACARTURK, E. Left ventricular hypertrophy and arterial stiffness in essential hypertension. **BRATISLAVA MEDICAL JOURNAL-BRATISLAVSKE LEKARSKE LISTY**, v. 116, n. 12, 2015.
377. WALLON, C., YANG, P. C., KEITA, Å. V., ERICSON, A. C., MCKAY, D. M., SHERMAN, P. M., SÖDERHOLM, J. D. Corticotropin-releasing hormone (CRH) regulates macromolecular permeability via mast cells in normal human colonic biopsies in vitro. **Gut**, v. 57 n.1, p. 50-58, 2008.
378. WANG, M., TAKAGI, G., ASAI, K., RESUELLO, R. G., NATIVIDAD, F. F., VATNER, D. E., LAKATTA, E. G. Aging increases aortic MMP-2 activity and angiotensin II in nonhuman primates. **Hypertension**, v. 41 n. 6, p. 1308-1316, 2003.
379. WANG, M., ZHAO, D., SPINETTI, G., ZHANG, J., JIANG, L. Q., PINTUS, G., LAKATTA, E. G. Matrix metalloproteinase 2 activation of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and TGF- β 1-type II receptor signaling within the aged arterial wall. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 26, n. 7, p. 1503-1509, 2006.
380. WANG, M., ZHANG, J., TELLJOHANN, R., JIANG, L., WU, J., MONTICONE, R. E., LAKATTA, E. G. Chronic matrix metalloproteinase inhibition retards age-associated arterial proinflammation and increase in blood pressure. **Hypertension**, v. 60, n. 2, p. 459-466, 2012.
381. WANG, W., LIU, F., XU, C., LIU, Z., MA, J., GU, L., HOU, J. Lactobacillus plantarum 69-2 combinado com galacto-oligosacarídeos alivia o envelhecimento induzido por d-galactose regulando a via de sinalização AMPK/SIRT1 e a microbiota intestinal em camundongos. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 9, p. 2745-2757, 2021.
382. WEIGERT, C., BRODBECK, K., KLOPFER, K., HÄRING, H., & SCHLEICHER, E. Angiotensin II induces human TGF- β 1 promoter activation: similarity to hyperglycaemia. **Diabetologia**, v. 45 n. 6, p. 890-898, 2002.

383. WEST, NP, PYNE, DB, CRIPPS, AW, HOPKINS, WG, ESKESEN, DC, JAIRATH, A, FRICKER, PA. Lactobacillus fermentum (PCC®) supplementation and gastrointestinal and respiratory-tract illness symptoms: a randomised control trial in athletes. **Nutrition journal**, v. 10, p. 1-11, 2011.
384. WEST, NP, HORN, PL, PYNE, DB, GEBSKI, VJ, LAHTINEN, SJ, FRICKER, PA E CRIPPS, AW. Probiotic supplementation for respiratory and gastrointestinal illness symptoms in healthy physically active individuals. **Clinical Nutrition**, v. 33, n. 4, p. 581-587, 2014.
385. WHELTON, P. K., CAREY, R. M., ARONOW, W. S., CASEY, D. E., COLLINS, K. J., DENNISON HIMMELFARB, C., ... & WRIGHT, J. T. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 71, n. 19, p. e127-e248, 2018.
386. WICKERT, L., CHATAIN, N., KRUSCHINSKY, K., & GRESSNER, A. M. Glucocorticoids activate TGF- β induced PAI-1 and CTGF expression in rat hepatocytes. **Comparative Hepatology**, v. 6 n.1, p. 5, 2007.
387. WONG, A., ALVAREZ-ALVARADO, S., JAIME, S. J., KINSEY, A. W., SPICER, M. T., MADZIMA, T. A., FIGUEROA, A. Combined whole-body vibration training and L-citrulline supplementation improves pressure wave reflection in obese postmenopausal women. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 41 n.3, p. 292-297, 2015
388. WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Cardiovascular diseases (cvds). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>, 2009.
389. WU, T., YANG, L., JIANG, J., NI, Y., ZHU, J., ZHENG, X., FU, Z. Chronic glucocorticoid treatment induced circadian clock disorder leads to lipid metabolism and gut microbiota alterations in rats. **Life sciences**, v. 192, p. 173-182, 2018.
390. XU C., ZARINS C. K., PANNARAJ P. S., BASSIOUNY H. S., GLAGOV S. Hypercholesterolemia superimposed by experimental hypertension induces differential distribution of collagen and elastin. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 20, n. 12, p. 2566-2572, 2000.
391. ZHANG, Y., AGNOLETTI, D., XU, Y., WANG, J. G., BLACHER, J., & SAFAR, M. E. Carotid–femoral pulse wave velocity in the elderly. **Journal Of Hypertension**, v. 32 n.8, p. 1572-1576, 2014.
392. ZHANG, J., ZHAO, X., VATNER, D. E., MCNULTY, T., BISHOP, S., SUN, Z., VATNER, S. F. Extracellular matrix disarray as a mechanism for greater abdominal versus thoracic aortic stiffness with aging in primates. **Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology**, p.115, 2015.
393. ZHANG, L., ZHOU, J., JING, Z., XIAO, Y., SUN, Y., WU, Y., & SUN, H. Glucocorticoids Regulate the Vascular Remodeling of Aortic Dissection Via the p38 MAPK-HSP27 Pathway Mediated by Soluble TNF-RII. **E Bio Medicine**, V. 27, p. 247-257, 2018.
394. ZHOU, H., WANG, S., ZHAO, C., HE, H. Effect of exercise on vascular function in hypertension patients: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 9, 2022.
395. ZIEMAN, S. J., MELENOVSKY, V., CLATTENBURG, L., CORRETTI, M. C., CAPRIOTTI, A., GERSTENBLITH, G., KASS, D. A. Advanced glycation endproduct crosslink breaker (alagebrium) improves endothelial function in patients with isolated systolic hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 25 n. 3, p. 577-583, 2007.

396. ZONG, Y., ZHU, S., ZHANG, S., ZHENG, G., WILEY, J. W., & HONG, S. Chronic stress and intestinal permeability: Lubiprostone regulates glucocorticoid receptor-mediated changes in colonepithelial tight junction proteins, barrier function, and visceral pain in the rodent and human. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 31, n. 2, p. e13477, 2019.
397. ZUHL, M., SCHNEIDER, S., LANPHERE, K., CONN, C., DOKLADNY, K., MOSELEY, P. Exercise regulation of intestinal tight junction proteins. **British journal of sports medicine**, v. 48, n. 12, p. 980-986. 2014.

ANEXO 1

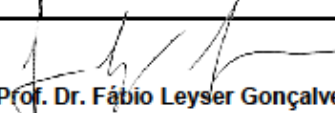


UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Bauru

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos do treinamento físico combinado na rigidez arterial de ratos tratados com dexametasona: o papel da microbiota intestinal", registrada com o nº 272/2020 Vol. 1, sob a responsabilidade da Profª Assoc. SANDRA LIA DO AMARAL CARDOSO - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" - UNESP - FACULDADE DE CIÊNCIAS, CAMPUS DE BAURU, em reunião de 26/03/2020.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	De 01/01/2021 a 31/12/2024
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico/Wistar
Nº de animais	100
Peso/Idade	250g/45 dias
Sexo	Macho
Origem	Biotério Central de Botucatu, UNESP


Prof. Dr. Fábio Leyser Gonçalves
Vice-Coordenador da CEUA