

**MARGARETE JARDINETTI DE OLIVEIRA**

**EFEITOS DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE EM  
PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE RATOS ADULTOS ESPONTANEAMENTE  
HIPERTENSOS**

**MARGARETE JARDINETTI DE OLIVEIRA**

**EFEITOS DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE EM  
PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE RATOS ADULTOS ESPONTANEAMENTE  
HIPERTENSOS**

Tese apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor – Área de concentração: Fisiopatologia e Saúde Animal.

Orientador:  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Inês Cristina Giometti

636.089  
O48e      Oliveira, Margarete Jardimetti de.  
             Efeitos do treinamento intervalado de alta intensidade  
             em parâmetros reprodutivos de ratos adultos  
             espontaneamente hipertensos / Margarete Jardimetti de  
             Oliveira. – Presidente Prudente, 2020.  
             74 f.: il.

             Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Saúde Animal)  
             - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente  
             Prudente, SP, 2020.  
             Bibliografia.  
             Orientador: Inês Cristina Giometti.

             1. Exercício. 2. Hif1 $\alpha$ . 3. Hipertensão. 4. RT-qPCR. 5.  
             Testículo. 6. Vegfa. I. Título.

Catálogo na Fonte: Karla Barbosa – CRB 8/37050

**MARGARETE JARDINETTI DE OLIVEIRA**

**EFEITOS DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE EM  
PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE RATOS ADULTOS ESPONTANEAMENTE  
HIPERTENSOS**

Tese apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor - Área de Concentração: Fisiopatologia e Saúde Animal.

Presidente Prudente, 30 de setembro de 2020.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ines Cristina Giometti  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Alves Favareto  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Francis Lopes Pacagnelli  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Miskulin Cardoso  
Universidade Estadual Paulista – Unesp  
Presidente Prudente – SP

---

Prof. Dr. Robson Chacon Castoldi  
Universidade Estadual Paulista – Unesp  
Presidente Prudente – SP

## **DEDICATÓRIA**

Este trabalho é dedicado a todas as pessoas que de forma direta ou indireta, contribuíram para tornar este sonho possível. Com carinho e admiração a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ines Cristina Giometti que me proporcionou todas as condições para o meu aprimoramento. Em especial dedico ao meu filho Artur e a meu esposo Weber, pelo apoio, compreensão e amor.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha Orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ines Cristina Giometti, pela dedicação, competência, paciência e compreensão.

As professoras: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Ana Paula Alves Favareto, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Francis Lopes Pacagnelli, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Ana Paula Miskulin por compartilharem seus conhecimentos com profunda generosidade, incentivo e exemplo de competência.

Aos Colegas: Aline, Lauren, Kátia, Evelin, pela amizade e cooperação.

A Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, por disponibilizar a estrutura e recursos necessários para a realização desse trabalho.

A meu filho Artur, que pela sua presença em minha vida tive a oportunidade de saber o que é o amor incondicional.

A meu esposo que é meu parceiro de vida, pelo amor, pela compreensão, por me apoiar e compartilhar os momentos difíceis e alegres.

Aos meus pais, pela minha educação e por serem exemplos de honestidade e determinação.

A Deus por me sustentar nas horas mais difíceis que passei ao longo do meu trajeto acadêmico e profissional.

Agradeço a FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro (Processo nº 2018/22682-0) e ao CNPq pela bolsa de PIBIC-EM.

**“Nossa maior fraqueza está em desistir.  
O caminho mais certo de vencer é tentar mais uma vez”.**  
**Thomas Edison**

**Música: Tente outra vez.**

Veja!  
Não diga que a canção  
Está perdida  
Tenha fé em Deus  
Tenha fé na vida  
Tente outra vez!

Beba! (Beba!)  
Pois a água viva  
Ainda tá na fonte  
(Tente outra vez!)  
Você tem dois pés  
Para cruzar a ponte  
Nada acabou!  
Não! Não! Não!

Tente!  
Levante sua mão sedenta  
E recomece a andar  
Não pense  
Que a cabeça aguenta  
Se você parar  
Não! Não! Não!  
Não! Não! Não!  
Há uma voz que canta  
Uma voz que dança  
Uma voz que gira  
(Gira!)  
Bailando no ar

Queira! (Queira!)  
Basta ser sincero  
E desejar profundo  
Você será capaz  
De sacudir o mundo  
Vai!  
Tente outra vez!

Tente! (Tente!)  
E não diga  
Que a vitória está perdida  
Se é de batalhas  
Que se vive a vida  
Tente outra vez!

**(Raul Seixas)**

## RESUMO

A hipertensão é uma das causas da baixa fertilidade nos homens, pois reduz a produção de testosterona e espermatogênese. Os exercícios físicos são indicados por diminuir a pressão arterial e melhorar a saúde geral do indivíduo. A tese consta de uma revisão sobre os efeitos do treinamento intervalado de alta intensidade em parâmetros reprodutivos de ratos adultos espontaneamente hipertensos e de um artigo sobre um trabalho experimental realizado através de treinamento intervalado de alta intensidade que modula efeitos da hipertensão sobre parâmetros espermáticos em ratos adultos espontaneamente hipertensos. O objetivo do presente estudo foi avaliar parâmetros reprodutivos, de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) submetidos ao treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT). Foram utilizados 24 ratos divididos em três grupos: WKY (grupo controle ratos Wistar-Kyoto, normotenso sedentário, n=5); SHR (grupo de ratos SHR, n=9); e SHR-HIIT (grupo de ratos SHR submetidos ao HIIT, n=10). O HIIT foi realizado em esteira por 5 dias na semana durante 8 semanas, por 50 minutos aproximadamente, baseado na velocidade de exaustão máxima, com intervalos de descanso. O protocolo de treinamento consistia em 5 minutos de aquecimento a 60% da velocidade máxima de exaustão, e após o aquecimento, o treinamento foi de 4 minutos a 100% da velocidade máxima atingida no teste de exaustão, seguido de 3 minutos a 60% da velocidade máxima de exaustão, que se repetiu por 5 vezes na primeira semana, seis vezes na segunda e terceira semanas e da quarta a oitava semana repetiu por sete vezes cada sessão, sendo ajustada a velocidade máxima de exaustão antes de iniciar a quinta semana e nas duas últimas semanas do treinamento. Após a eutanásia, os órgãos reprodutivos e os espermatozoides foram colhidos. Todos os dados foram testados pela ANOVA seguida de Tukey, exceto os dados das células testiculares que foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn ( $P < 0,05$ ). O grupo SHR apresentou menor porcentagem de espermatozoides móveis com trajetória progressiva ( $P < 0,05$ ) e maior número de espermatozoides imóveis, que demais grupos, WKY e SHR-HIIT. Não houve diferença significativa entre os grupos na morfologia espermática nem no diâmetro de epitélio seminífero. O grupo SHR-HIIT apresentou maior número de células germinativas e de Sertoli. Os SHR tiveram menor expressão gênica de fatores angiogênicos *Vegf*, *Flt-1*, *Kdr* e fator indutor de hipóxia (*Hif-1 $\alpha$* ). Concluímos que o HIIT por dois meses restaura a motilidade espermática de ratos hipertensos e o número de células germinativas e de Sertoli e que a hipertensão diminui a expressão gênica relativa de fatores angiogênicos.

**Palavras-chave:** Exercício. *Hif1 $\alpha$* . Hipertensão. RT-qPCR. Testículo. *Vegfa*.

## ABSTRACT

Hypertension is one of the causes of low fertility in men, as it reduces the production of testosterone and spermatogenesis. Physical exercises are indicated for lowering blood pressure and improving the individual's general health. The thesis consists of a review on the effects of high-intensity interval training on reproductive parameters of spontaneously hypertensive adult rats and an article on an experimental work carried out through high-intensity interval training that modulates the effects of hypertension on sperm parameters in adult rats spontaneously hypertensive. The aim of the present study was to evaluate reproductive parameters of spontaneously hypertensive rats (SHR) submitted to high-intensity interval training (HIIT). 24 rats were used, divided into three groups: WKY (control group Wistar-Kyoto rats, sedentary normotensive, n = 5); SHR (SHR rat group, n = 9); and SHR HIIT (group of SHR rats submitted to HIIT, n = 10). HIIT was performed on a treadmill for 5 days a week for 8 weeks, for approximately 50 minutes, based on maximum exhaustion speed, with rest intervals. The training protocol consisted of 5 minutes of warm-up at 60% of the maximum speed of exhaustion, and after warm-up, the training was 4 minutes at 100% of the maximum speed achieved in the exhaustion test, followed by 3 minutes at 60% of the maximum exhaustion speed, which was repeated 5 times in the first week, six times in the second and third weeks and from the fourth to the eighth week repeated each session seven times, with the maximum exhaustion speed being adjusted before starting the fifth week and in the last two weeks of training. After euthanasia, the reproductive organs and sperm were harvested. All data were tested by ANOVA followed by Tukey, except for data from testicular cells that were subjected to the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn ( $P < 0.05$ ). The SHR group had a lower percentage of mobile sperm with a progressive trajectory ( $P < 0.05$ ) and a higher number of immobile sperm than other groups, WKY and SHR-HIIT. There was no significant difference between groups in sperm morphology or in the diameter of seminiferous epithelium. The SHR-HIIT group had a higher number of germ cells and Sertoli cells. SHR had less gene expression of angiogenic factors Vegf, Flt-1, Kdr and hypoxia-inducing factor (Hif-1 $\alpha$ ). We concluded that HIIT for two months restores the sperm motility of hypertensive rats and the number of germ cells and Sertoli cells and that hypertension decreases the relative gene expression of angiogenic factors.

**Keywords:** Exercise. Hif1 $\alpha$ . Hypertension. RT-qPCR. Testicle. Vegfa.

## LISTA DE SIGLAS

ANOVA	– Análise de Variância
CEUA	– Comissão de Ética de Uso de Animais
cDNA	– DNA complementar
CPYP17A1	– Enzima 17 $\alpha$ -hidroxilase
COBEA	– Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DCV	– Doença Cardiovascular
DNA	– Ácido Desoxirribonucleico
DNase	– Enzima Desoxirribonuclease
FIK – 1/ KDR	– Receptor tipo 2 do Fator de Crescimento Endotelial Vascular; <i>Fetal liver kinase</i> or <i>kinase Insert Domain-containing</i>
FIT – 1	– Receptor tipo 1 do Fator de Crescimento Endotelial Vascular; <i>fms-like tyrosine kinase</i>
<i>GAPDDH</i>	– Gene de Referência: Enzima gliceraldeído3-fosfato desidrogenase
HICT	– Treinamento Contínuo de Alta Intensidade
HIF	– Fator Indutor de Hipóxia
HIF – 1 $\alpha$	– Fator Indutor de Hipóxia – Subunidade 1alfa
HIIT	– Treinamento de Alta Intensidade Intervalado
<i>HPRT 1</i>	– Gene de Referência: Enzima hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase
HRE	– Elemento Responsivo a Hipóxia
HAS	– Hipertensão Arterial Sistêmica
HSD	– Enzima 3 $\beta$ – Hidroxiesteroide Desidrogenase
WKY	– Grupo de Ratos Wistar-Kyoto
LL	– Limiar de Lactato
MICT	– Treinamento Contínuo de Alta Intensidade
PA	– Pressão Arterial
PAS	– Pressão Arterial Sistólica
PBS	– Tampão Fosfato-Salino
qPCR	– Cadeia de Polimerase Quantitativa (em tempo real)

ROS	– Espécies Reativas de Oxigênio
RNA	– Ácido Ribonucleico
<i>RPS18</i>	– Gene de Referência: Proteína Ribossomal Codificada pelo Gene 18
RT	– Reação de Transcrição Reversa
RT-PCR	– Reação da Transcrição Reversa seguida de PCR
SHR	– Ratos Espontaneamente Hipertensos
SHR – HIIT	– Grupo de Ratos Espontaneamente Hipertensos – Treinamento de Alta Intensidade Intervalado
SHRSP	– Ratos com predisposição ao Acidente Vascular Encefálico
StAR	– Proteína Estereoidogênica Regulatória Aguda
VEGF	– Fator de Crescimento Endotelial Vascular
VEGFA	– Fator de Crescimento Endotelial Vascular – Tipo A
VO <sub>2</sub>	– Volume de Oxigênio
VO <sub>2max</sub>	– Volume de Oxigênio Máximo
17β-HSD	– Enzima 17β – Hidroxiesteroide Desidrogenase

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>1</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1</b>	<b>Hipertensão.....</b>	<b>13</b>
<b>1.2</b>	<b>Vascularização do testículo.....</b>	<b>16</b>
<b>1.3</b>	<b>Hipertensão e reprodução.....</b>	<b>18</b>
<b>1.4</b>	<b>Treinamento físico.....</b>	<b>21</b>
<b>1.5</b>	<b>Treinamento físico e reprodução.....</b>	<b>24</b>
<b>2</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>27</b>
	<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>3</b>	<b>ARTIGO.....</b>	<b>37</b>
	<b>ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA.....</b>	<b>68</b>
	<b>ANEXO B - NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIENTÍFICA JOURNAL OF HYPERTENSION.....</b>	<b>69</b>

## CAPÍTULO 1

### 1. REVISÃO DE LITERATURA

#### 1.1 Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS)

A pressão arterial (PA) é definida como o produto do débito cardíaco, que é o volume de sangue bombeado por minuto, e a resistência vascular sistêmica, determinada pelo volume intravascular e por fatores neuronais e humorais. A pressão arterial é registrada pelo pulso de pressão na raiz da aorta, durante a sístole ventricular, a pressão no pico de cada pulso é denominada pressão arterial sistólica e o ponto mais baixo de cada pulso é registrada a pressão arterial diastólica, no período do relaxamento cardíaco (GAROFALIDOU; MUNROE, 2020).

O aumento da PA, caracterizada como hipertensão arterial sistêmica (HAS), pode ser causada por vários fatores inter-relacionados, que contribuem para o desenvolvimento de PA elevada nas artérias sistêmicas. Isso inclui não apenas fatores de risco não modificáveis, como idade, sexo e origem étnica, mas também vários fatores de risco modificáveis (OPARIL *et al.*, 2018).

Os fatores de risco modificáveis mais comuns, na HAS são: dietas com sódio excessivo e ingestão diminuída de potássio, além da obesidade, sedentarismo, tabagismo, aumento da ingestão de álcool e o estresse fisiológico. No entanto, a hipertensão é uma doença complexa, o que significa que sua patogênese é finalmente determinada por uma interação entre alterações genéticas, fatores ambientais e de estilo de vida (DIAS *et al.*, 2018; GAROFALIDOU; MUNROE, 2020).

O débito cardíaco normal associado ao aumento da resistência vascular periférica pode ser considerado importante característica da hipertensão, demonstrando que a PA alta está associada a danos à microcirculação (KSHIRSAGAR *et al.*, 2006). Os danos da microvasculatura reduz o fluxo sanguíneo e resulta na rarefação capilar, essas são evidências claras de distúrbios do processo angiogênico e aumento da destruição dos vasos na HAS (FERNANDES *et al.*, 2012).

A HAS dificulta o crescimento dos vasos pós-isquêmicos, provavelmente mediados por uma redução nos níveis de proteína dos principais fatores de

crescimento pró-angiogênico, como fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e fator de crescimento de hepatócitos em animais hipertensos (EMANUELI *et al.*, 2001; NAKANO *et al.*, 1997).

Relaciona-se a HAS como uma das principais causas de morbimortalidade a associação com doença cardiovascular, acidente vascular cerebral, insuficiência renal e doença vascular periférica (BLOCH, 2016). A HAS é um importante desafio à saúde global, sua alta prevalência e seu impacto nos danos cerebrais, cardiovasculares e renais, é ainda o principal fator de risco evitável para morte prematura e incapacidade em todo o mundo. Aproximadamente 75% das pessoas com hipertensão (1,04 bilhão) vivem em países de baixa e média renda (WYSS *et al.*, 2020).

Devido ao envelhecimento populacional, aos hábitos de vida e aos elevados índices de sobrepeso, a HAS é uma doença crônica. Porém, uma redução de peso corporal de 5 a 10% já provoca reduções significativas na PA (ROSA; PLAVNIK; TAVARES, 2006; MACHADO; CAR, 2007 ).

Elliott, (2007) afirmou em seus estudos que na população mundial até 2025 a HAS deverá aumentar em 60% a prevalência, afetando 1,56 bilhões de pessoas. Bloch, (2016) estimou a prevalência de HAS em 31% de toda a população adulta, se fazendo presente em um a cada três adultos jovens, o que aumentaria para 60% a população acima de 60 anos, e três em cada quatro pessoas com mais de 70 anos.

Independente da causa primária da HAS existe alterações estruturais, tanto na macrocirculação quanto na microcirculação, desenvolvendo um círculo vicioso que auxilia na manutenção da PA elevada e prepara as condições, para danos aos órgãos-alvo (ELLIOTT, 2007).

A HAS causada pelo envelhecimento arterial resulta em enrijecimento acelerado das túnicas das artérias, que contém fibras elásticas e colágenas, o que causa pulsatilidade da pressão aórtica central, relacionada em parte ao aumento da pressão sistólica por ondas de pressão refletidas (RIZZONI *et al.*, 2003).

Vasos grandes desempenham funções importantes no corpo humano e em indivíduos mais velhos, com o enrijecimento progredindo após a meia idade, leva ao aumento na PAS, encontrados na maioria dos seres humanos com o envelhecimento. A elevação da PAS e o aumento da pulsatilidade penetram mais profundamente na vasculatura distal, levando a lesão microcirculatória, remodelação e disfunção endotelial associada. O resultado é dano ao órgão alvo no coração, cérebro e rim (SCHIFFRIN, 2020).

Considera-se que a alta transmissão resultante de energia pulsátil para o coração, rim e cérebro, com alta demanda de fluxo sanguíneo e, portanto, resistência vascular relativamente baixa, promova lesão microvascular e, em sequência, lesão tecidual nesses órgãos. A partir dessa condição, a redução da pulsatilidade central da PA parece ser um importante objetivo terapêutico (FEIHL; LIAUDET; WAEBER, 2009).

Até o momento, existem poucos meios de influenciar diretamente a rigidez arterial, embora abordagens baseadas na inibição da reticulação de fibras de colágeno ou na formação de produtos finais de glicação avançada estejam sendo consideradas (FEIHL; LIAUDET; WAEBER, 2009).

Vários experimentos são realizados em animais que possuem o funcionamento semelhante aos seres humanos para o entendimento da fisiopatologia da HAS. Porém, é importante considerar as diferenças na anatomia, fisiologia, desenvolvimento e fenômenos biológicos, quando são analisados os resultados de qualquer pesquisa em ratos em que a idade é um fator crucial (ANDREOLLO *et al.*, 2012).

Dentre os modelos experimentais utilizados para a compreensão da fisiopatologia da HAS, os ratos espontaneamente hipertensos (SHR), do inglês “spontaneously hypertensive rat”, tem sido o mais utilizado, pois essa linhagem foi se originou do cruzamento de ratos Wistar-Kyoto, entre irmãos e desenvolveram espontaneamente a hipertensão. Esses animais são semelhantes aos seres humanos, do ponto de vista de resposta cardiovascular à hipertensão, pois desenvolvem gradualmente hipertrofia ventricular esquerda, em resposta à elevação da PA e ao aumento da resistência vascular periférica (GOMES *et al.*, 2019).

Okamoto e Aoki (1963) introduziram esse modelo experimental de hipertensão, os SHR, sem que nenhum recurso fisiológico, farmacológico ou cirúrgico fosse necessário.

Os SHR foram desenvolvidos por uma reprodução genética meticulosa, entre irmãos e irmãs, que uniformemente resultou em animais naturalmente portadores de doença hipertensiva, em 100% dos descendentes. Desde então, o SHR é reconhecido como um modelo adequado de hipertensão experimental e pode servir como modelo de estudos clínicos da hipertensão essencial humana (OKAMOTO; AOKI, 1963).

Os SHR apresentam alterações de pressão a partir de 150 dias de idade (5ª semana de vida), já apresentando um nível de pressão considerado como hipertensão

espontânea entre a 7<sup>a</sup> e a 15<sup>a</sup> semanas, atingindo um platô entre a 20<sup>a</sup> e 28<sup>a</sup> semanas, não havendo influência sexual nesse desenvolvimento (AKAGASHI *et al.*, 1996).

Entretanto, fatores ambientais, tais como, ingestão exagerada de sódio, estresse, alterações sociais e alterações do ciclo claro/escuro, afetam o desenvolvimento da hipertensão no SHR. A hipertensão do SHR adulto está associada a um aumento da resistência periférica total e um débito cardíaco normal ou diminuído (POTTS; MCKEOWN; SHOUKAS, 1998).

Com o desenvolvimento da HAS, o SHR desenvolve uma progressiva hipertrofia cardíaca. O débito cardíaco, permanece em níveis normais com o progresso da hipertensão, até que nos estágios finais a função cardíaca começa a ser comprometida, devido o aumento da pós-carga do ventrículo esquerdo. Alterações vasculares que surgem nos SHRs são hiperplasias e deposição de fibrina nas artérias, arteríolas e capilares glomerulares (NAG; ROBERTSON; DINSDALE, 1980).

## 1.2 Vascularização do testículo

A HAS pode afetar a irrigação testicular, pois a microcirculação no testículo de mamíferos tem papel importante o que garante que as funções testiculares primárias, como espermatogênese, controle hormonal e parácrino ocorram. As células de Sertoli e Leydig secretam fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e seus receptores, no tecido testicular (EKERBICER *et al.*, 2018).

A oxigenação inadequada em nível celular pode regular a produção de VEGF. O VEGF pode resultar em angiogênese inadequada se não for controlado. Portanto, manter os níveis de VEGF dentro da faixa apropriada é importante em tecidos onde a microcirculação é particularmente crucial, como na retina e testículos (SENE; CHIN-YEE; APTE, 2015).

A vasculogênese é a formação de novos vasos no desenvolvimento embrionário e o subsequente desenvolvimento e crescimento vascular requer maturação vascular e angiogênese, sendo essa última a formação de novos capilares a partir dos capilares já existentes (PRIOR *et al.*, 2003).

Em indivíduos adultos, a angiogênese ocorre durante alguns processos patológicos, como tumor, e em condições fisiológicas, como durante o exercício e em órgãos reprodutivos (PRIOR *et al.*, 2003).

A queda da concentração de oxigênio no plasma é uma influência importante para estimular as células endoteliais a liberarem fator de indução a hipóxia<sup>1</sup> (HIF1) que induz a expressão do VEGF, que é um potente estimulador de mitose para as células endoteliais e tem seus níveis aumentados durante o exercício físico (PRIOR *et al.*, 2003).

Para que o VEGF estimule a mitose e suas outras funções é necessário receptores para o mesmo. Os receptores do VEGF são dois, o flt-1 e o flk-1/KDR, o primeiro é um sítio de ligação importante para a vasculogênese, mediada por VEGF durante o desenvolvimento, já o segundo, flk-1/KDR é importante no tecido adulto, pois quando ativado pelo VEGF ativa a proliferação e migração de células endoteliais favorecendo a angiogênese (PRIOR *et al.*, 2003). Esses dois receptores são da família de receptores de tirosina quinase encontrados exclusivamente em células endoteliais (PRIOR *et al.*, 2003).

As mudanças no fluxo sanguíneo e na microcirculação tem função importante na patofisiologia testicular. O fluxo sanguíneo da microvasculatura testicular pode ser regulado localmente e demonstram variações rítmicas regulares, que medeiam a transferência de fluídos entre o plasma sanguíneo e o fluido intersticial (DAMBER *et al.*, 1986; COLLIN *et al.*, 1993; COLLIN; ZUPP; SETCHELL, 2000).

O hormônio testosterona é um dos fatores que controlam as variações do fluxo sanguíneo testicular, que por sua vez, afeta a dinâmica dos fluídos e a função testicular (COLLIN; ZUPP; SETCHELL, 2000).

Pequenos grupos de células de Leydig estão intimamente associados aos vasos sanguíneos testiculares que interconectam grupos de células de Leydig aos túbulos seminíferos adjacentes e tem um papel no transporte e distribuição de hormônios, nutrientes, oxigênio e outros fatores de tecido intersticial aos túbulos seminíferos (ERGÜN *et al.*, 1997).

A estrutura dos vasos testiculares depende da função das células de Leydig, pois são andrógeno-dependentes (COLLIN; BERGH, 1996; COLLIN; ZUPP; SETCHELL, 2000) e o sistema VEGF são produzidos pelas células de Leydig para a modulação da permeabilidade das células endoteliais dos capilares (COLLIN; BERGH, 1996; ERGÜN *et al.*, 1997). O VEGF-A se liga aos seus receptores (FLT-1 e KDR) para atuar na vascularização testicular (COLLIN; BERGH, 1996; ERGÜN *et al.*, 1997).

A hipóxia testicular leva ao aumento do HIF-1 que se liga ao elemento responsivo a hipóxia (HRE) no promotor do gene VEGF, aumentando-o para que ocorra angiogênese testicular em ratos com varicocele (GOREN *et al.*, 2016).

### 1.3 Hipertensão Arterial Sistêmica e Reprodução

Atualmente a paternidade tem ocorrido mais tardiamente, num período de vida em que os problemas de doenças crônicas podem estar presentes. Nos EUA, foi observada uma diminuição de 15% na taxa de natalidade para pais entre 25 e 29 anos de 2000 a 2013, enquanto um aumento de 18% foi observado para pais entre 35 e 39 anos no mesmo período (GUO *et al.*, 2017).

A paternidade tardia, doenças crônicas e medicamentos contribuem para a diminuição da reprodução masculina, e cada um deles é associado de maneira independente à baixa qualidade do sêmen (AUBUCHON; DROBNIS, 2018).

O declínio reprodutivo em homens com idade mais avançada pode resultar de uma combinação de alterações morfológicas e moleculares nos órgãos reprodutivos, geralmente devido a doenças relacionadas à idade como a HAS ou a fatores ambientais adversos, como poluição sonora e atmosférica (HAJIZADEH MALEKI; TARTIBIAN, 2020).

A alta prevalência de HAS despertou o interesse dos pesquisadores em explorar a relação entre doença hipertensiva e fertilidade masculina. Estudos sugerem uma associação entre hipertensão e a má qualidade do sêmen, assim como, os vários medicamentos anti-hipertensivos também tem sido associado a parâmetros prejudiciais do sêmen, dificultando discernir se existe associação com a hipertensão ou seu tratamento (GUO *et al.*, 2017; ZITZMANN, 2013).

Vários medicamentos causam disfunção endócrina, espermatogênese desordenada e comprometimento do funcionamento sexual (AUBUCHON; DROBNIS, 2018).

Estudos como de Azu (2015), Fogari *et al.* (2002a), Phillips *et al.* (1993), Svartberg *et al.* (2004) e Muciaccia *et al.* (2012), apontam a redução do fluxo sanguíneo para os testículos em decorrência da HAS e podem desempenhar um papel importante na patogênese da infertilidade masculina. Como o testículo é dependente de oxigênio, funciona em um estado de quase anóxia, e é provável que,

tal diminuição no fluxo sanguíneo tenha efeitos profundos na morfologia do tecido, que acabaria predisposta a alteração da espermatogênese, com consequente comprometimento da capacidade reprodutiva (AZU, 2015). Assim, a HAS provocou a diminuição da testosterona sérica total (FOGARI *et al.*, 2002a), da testosterona livre (PHILLIPS *et al.*, 1993), da globulina ligada ao hormônio sexual (SVARTBERG *et al.*, 2004) e morfologia anormal dos espermatozoides e fragmentação de DNA (MUCIACCIA *et al.*, 2012).

Panara *et al.* (2019) encontraram em seus estudos, que aproximadamente um em cada seis casais é infértil, e a infertilidade por fator masculino pode ser encontrada em aproximadamente um terço desses casais.

A função reprodutiva masculina saudável depende de contribuições de três processos fisiológicos principais: parâmetros normais do sêmen, função erétil e ejaculação. A interrupção de qualquer um desses três processos pode resultar em disfunção reprodutiva masculina (PANARA *et al.*, 2019).

Diversos fatores como envelhecimento, estresse psicológico, nutrição, exercício físico, cafeína, alta temperatura escrotal, água quente, o uso do telefone celular podem estar envolvidos no desenvolvimento da infertilidade, gerando um interesse crescente neste campo de estudo (ILACQUA *et al.*, 2018; PANARA *et al.*, 2019).

A disfunção erétil já foi considerada uma condição psicológica, mas sabe-se agora que compartilha fatores de risco com doença cardiovascular, como a HAS (ANDERSSON, 2003). Evidências revelam que existe uma ligação potencial entre a disfunção erétil e o subsequente desenvolvimento de doença arterial coronária (GANDAGLIA *et al.*, 2014; BASU; SHARMA, 2016).

Estudos em SHR demonstraram alterações na morfologia e na espermatogênese. As alterações espermatogênicas causadas por isquemia têm sido relatadas, por meio da oclusão ou ligação das artérias espermáticas, mas esse modelo reproduz uma isquemia aguda (STERN *et al.*, 1990). Assim, utilizou-se de SHR nas investigações histológicas das alterações testiculares espontâneas (AKAGASHI; KUMAMOTO; ITO, 1994).

Akagashi *et al.*, (1997) realizaram um estudo com o objetivo de elucidar a influência das alterações vasculares hipertensivas sobre o dano espermatogênico e utilizaram os SHR com predisposição ao acidente vascular encefálico (SHRSP), que atingem PAS mais elevadas com menos idade. Assim, compararam os ratos

hipertensos com ratos normotensos, com análise através de técnicas bioquímicas e histológicas para inferir a influência das alterações vasculares hipertensivas sobre a espermatogênese.

O resultado do estudo Akagashi *et al.*, (1997), sobre as artérias intratesticulares de animais hipertensos foi o aumento da espessura da túnica íntima, necrose fibroide e hialinização, resposta essa não observada nas artérias intratesticulares dos ratos controles.

Além disso, houve alterações na espermatogênese dos SHRSP e nem todas as células germinativas foram observadas nos túbulos seminíferos, com ausência de espermátides alongadas, alguns túbulos seminíferos continham apenas espermatogônias, um número menor de células de Sertoli e desigualdade nos túbulos seminíferos, alguns atróficos, um contraste com ratos não hipertensos que mantiveram a espermatogênese completa durante todo o experimento (AKAGASHI *et al.*, 1996, 1997).

Embora existam diferenças entre os seres humanos e ratos hipertensos, os mecanismos de danos à espermatogênese induzida por alterações vasculares devem ser semelhantes. Devido à diminuição da transferrina no testículo dos animais SHRSP, acredita-se que o dano espermatogênico induzido por alterações vasculares hipertensivas pode ser devido a uma deterioração da função das células de Sertoli (AKAGASHI *et al.*, 1996; NABIKA; CUI; MASUDA, 2004).

Akagashi *et al.*, (1996) observaram que o nível sérico de testosterona não diminuiu em SHRSP mesmo quando se desenvolveram alterações vasculares hipertensivas e danos espermatogênicos, porém como os SHRSP têm uma hipertensão mais grave, os SHR podem apresentar diferenças nas alterações reprodutivas. Uma desvantagem dos SHRSP em relação aos SHR é que sofrem acidente vascular e morrem cedo, não permitindo a análise de animais com mais idade.

Em outro experimento, com animais SHR, foi verificada a diminuição da concentração espermática, integridade do DNA e aumento da porcentagem de espermatozoides com mitocôndrias disfuncionais, atividade intracelular do ânion superóxido e morfologia anormal (COLLI *et al.*, 2019). Eisenberg *et al.* (2015) e Colli *et al.* (2019) realizaram estudos revelando uma relação entre o sêmen de baixa qualidade e outros problemas de saúde, destacando a hipertensão.

Num amplo estudo, Eisenberg *et al.* (2015) analisaram mais de 9.000 homens entre 30 e 50 anos para identificar possíveis fatores associados a sua infertilidade. Esses pesquisadores ao concluírem as pesquisas sinalizaram que a má qualidade dos espermatozoides pode estar relacionada não só com a doença em si, mas talvez aos medicamentos empregados no seu tratamento.

Alguns medicamentos anti-hipertensivos podem influenciar na reprodução, atenolol diminui os níveis de testosterona sérica total, enquanto lisinopril diminui os níveis de testosterona livre, mas não da testosterona total e valsartan não altera os níveis de testosterona em humanos (KOSHIDA; TAKEDA; MIYAMORI, 1998; FOGARI *et al.*, 2002b).

Por isso, homens e mulheres com hipertensão devem consultar seus cardiologistas quando estão planejando ter filhos e, caso tenham alguma dificuldade, também devem procurar um especialista em fertilidade, para que os médicos possam trabalhar em equipe (EISENBERG *et al.*, 2015).

#### **1.4 Treinamento físico**

O exercício físico é qualquer atividade que mantém ou aumenta a aptidão física em geral, e tem o objetivo de alcançar a saúde e também a recreação. A razão da prática de exercícios inclui o reforço da musculatura e do sistema cardiovascular, o aperfeiçoamento das habilidades atléticas, a perda de peso e/ou a manutenção de alguma parte do corpo. O exercício físico pode afetar positivamente vários fatores de risco cardiovascular, incluindo peso corporal, pressão arterial, sensibilidade à insulina, metabolismo de lipídios e glicose, função cardíaca, função endotelial e composição de gordura corporal. Com a prevalência cada vez maior de obesidade e outros tipos de doenças metabólicas, bem como de estilo de vida sedentário, o exercício regular tem sido indicado para beneficiar a saúde cardiovascular e reduzir a mortalidade geral por doenças (WU *et al.*, 2019).

A redução transitória da PA, após uma sessão de exercício resistido foi um dos principais achados de uma metanálise, em indivíduos saudáveis e hipertensos adultos, mais pronunciada em indivíduos hipertensos.(CASONATTO *et al.*, 2016). A hipotensão pós-exercício (HPE) é uma redução sustentada da PA após uma única sessão de exercício. Essa redução transitória pode durar até 24 horas após a

conclusão de uma sessão de exercício. No entanto, a HPE tem sido predominantemente estudada após exercícios aeróbicos de resistência, onde foram encontradas reduções de PA entre 2 e 12 mmHg (CASONATTO *et al.*, 2016). Comprovadamente, os exercícios físicos previnem a progressão de doenças cardiovasculares (LEE *et al.*, 2010, 2012; ROQUE *et al.*, 2013).

Olsen *et al.*, (2015) demonstraram que o exercício físico aeróbio e a diminuição de pelo menos 5% de peso corporal aumentam o fluxo de reserva coronário em pacientes com sobrepeso e doença arterial coronária. Os exercícios físicos aeróbios são efetivos na redução da morbidade e da mortalidade cardiovascular (PAFFENBARGER *et al.*, 1993; BLAIR *et al.*, 1995).

O exercício aeróbio ou anaeróbio intermitente de intensidade maior que 70% do consumo máximo de oxigênio têm reduzido significativamente a PA, em homens e mulheres que fizeram parte de um estudo realizado em consultório médico e ambulatório de indivíduos hipertensos (BOUTCHER; BOUTCHER, 2016).

As adaptações agudas e crônicas da vascularização arterial frente ao exercício, através de “cisalhamento”, é uma hipótese que compreende que durante o exercício dinâmico, o fluxo de sangue arterial regional é aumentado, em razão da necessidade do tecido que está em atividade e isso leva a um aumento agudo das forças de cisalhamento intraluminal, do sangue contra as paredes do vaso (HUONKER; HALLE; KEUL, 1996).

A tensão de cisalhamento é definida como uma força hidrodinâmica aplicada por um fluxo sanguíneo na parede vascular e determinada por vários fatores como diâmetro do vaso, pulsatilidade do fluxo, viscosidade do sangue e taxa de fluxo. Está amplamente estabelecido que o estresse de cisalhamento ativa padrões específicos de expressão gênica no endotélio (endotelina, fatores de crescimento, reguladores de fibrinólise) e as adaptações estruturais crônicas da parede vascular, como a redistribuição do citoesqueleto e alterações da forma celular (GRAY; STROKA, 2017).

Alguns estudos têm evidenciado que Treinamento de alta intensidade intervalado (HIIT), também podem ser indicados para cardiopatas (TJØNNA *et al.*, 2008; CIOLAC *et al.*, 2011), com doença arterial coronariana e insuficiência cardíaca, em indivíduos que acabaram de se recuperar de um infarto do miocárdio e quando simplesmente prescrito para melhorar a função vascular (MESEGUER ZAFRA *et al.*, 2018). O HIIT é uma estratégia alternativa ou adjuvante ao Treinamento contínuo de alta intensidade (MICT) e demonstrou resultar em melhorias semelhantes ou maiores

no pico de VO<sub>2</sub> em comparação com o MICT. Especificamente, o HIIT foi considerado tão eficaz, se não superior ao MICT no que diz respeito à melhoria dos resultados clínicos para pacientes mais velhos com DCV, incluindo qualidade de vida, resposta da frequência cardíaca ao exercício e função miocárdica. O HIIT envolve sessões repetidas de exercícios de intensidade relativamente mais alta intercalados com períodos de recuperação de intensidade mais baixa (DUN *et al.*, 2019). Esses exercícios se caracterizam por períodos curtos de exercício, com intensidade igual ou superior ao limiar anaeróbio, separados por períodos de recuperação (BILLAT, 2001; GIBALA; JONES, 2013).

O HIIT pode ser bem variado, com alternância de períodos de exercícios de alta intensidade (85% - 95% da frequência cardíaca máxima), com exercício de baixa intensidade ou descanso (MEYER *et al.*, 2013), por 1-4 minutos com intervalos (50% - 60% da frequência cardíaca máxima) (HASKELL *et al.*, 2007).

Essa modalidade de treinamento é melhor para ganhos de condicionamento aeróbio que os exercícios de resistência com baixa intensidade ou alto volume (NAIMO *et al.*, 2014; DE ARAUJO *et al.*, 2015), melhora o sistema nervoso autônomo cardíaco, controle lipêmico, tanto em indivíduos hipertensos como normotensos com histórico familiar da doença (TJØNNA *et al.*, 2008; CIOLAC *et al.*, 2010, 2011).

Devido à sua característica de alta intensidade, o HIIT pode gerar fadiga excessiva quando praticado por tempo prolongado, e em vez de melhorar pode demonstrar efeitos adversos, como estresse fisiológico e sintomas de supertreinamento ou “*overtraining*”, por isso que os protocolos de HIIT são por tempo curto (BILLAT *et al.*, 1999).

O HIIT resulta no aumento do pico de captação de oxigênio (VO<sub>2</sub>), quando comparado ao treinamento contínuo de intensidade moderada para pacientes com alto risco de desenvolvimento de doença cardiovascular e pacientes com doença cardiovascular evidente (DUN *et al.*, 2019).

A presença de doença cardiovascular aumenta a fragilidade com a idade avançada e essa modalidade de exercício mostrou efeitos benéficos na melhoria dos resultados cardiovasculares em homens com idade avançada. O HIIT pode ser prescrito usando uma combinação de medidas objetivas e subjetivas da intensidade do exercício, com resultados semelhantes para pacientes idosos com doenças cardiovasculares em ambientes de reabilitação cardíaca (DUN *et al.*, 2019).

Meseguer Zafra *et al.* (2018) indicaram em seus estudos com homens adultos, com sobrepeso e obesidade, quando submetidos ao HIIT promoveram melhorias no volume de oxigênio máximo (VO<sub>2</sub>máx), do que as do treinamento contínuo de resistência a intensidade moderada.

O treinamento de aproximadamente 3 corridas / semana, aumentando em dificuldade por um período de 17 semanas antes da corrida da Maratona de Londres nos anos de 2016 e 2017 e aqueles que desejavam seguir planos de treinamento alternativos, de maior intensidade ou mais longos, não foram desencorajados a fazê-lo e a conclusão dessa maratona, resultaram em reduções benéficas na PA e no reforço intrínseco da aorta, em participantes saudáveis. Essas alterações são equivalentes a aproximadamente uma redução de 4 anos na idade vascular. Maior benefício foi observado em corredores de maratona mais velhos e lentos, com PA basal mais alta (BHUVA *et al.*, 2020).

### **1.5 Treinamento físico e reprodução**

O treinamento físico é conhecido por melhorar a saúde cardiovascular e também beneficiar as funções sexuais e espermatogênicas. A inatividade física e o comportamento sedentário representam dois fatores de risco independentes para infertilidade (FOUCAUT *et al.*, 2019).

Em relação ao sistema reprodutivo, exercício moderado previne o sobrepeso que é uma causa de infertilidade e regula os níveis hormonais (BARAZANI *et al.*, 2014), além disso, melhora os parâmetros espermáticos em homens ativos fisicamente quando comparado a homens sedentários (BARAZANI *et al.*, 2014; SHARMA *et al.*, 2013). Porém, os efeitos benéficos dos exercícios dependem da intensidade e da frequência dos mesmos (O'KEEFE *et al.*, 2012).

Exercício de resistência frequentemente diminui os níveis de testosterona séricos (POTTS; MCKEOWN; SHOUKAS, 1998) e reduz a qualidade espermática, com diminuição na concentração e motilidade dos espermatozoides e aumento nos defeitos morfológicos (SAFARINEJAD; AZMA; KOLAH, 2008; WISE *et al.*, 2011; GOMES; FREITAS; FARDILHA, 2015).

Em ratos saudáveis, a natação intensa diminuiu enzimas esteroideogênicas, 3 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase (HSD), 17 $\beta$ -HSD e proteína esteroideogênica

regulatória aguda (StAR), os níveis plasmáticos de testosterona, hormônio luteinizante, hormônio folículo-estimulante e prolactina, diminuiu a massa testicular, a contagem espermática do epidídimo e a espermatogênese e aumentou a corticosterona sérica e o estresse oxidativo (JANA *et al.*, 2008, 2014).

Por outro lado, a enzima esteroideogênica que catalisa a transformação de pregnenolona e progesterona em desidroepiandrosterona e androstenediona, respectivamente, chamada 17 $\alpha$ -hidroxilase (CPYP17A1) aumenta em camundongos submetidos ao exercício físico (BARONE *et al.*, 2013).

Os espermatozoides e as espermatogônias usam glicose e frutose como fonte de energia e neste contexto, a enzima sorbitol desidrogenase e a glicose-6-fostato desidrogenase são essenciais. A sorbitol desidrogenase converte sorbitol em frutose e está associada com o desenvolvimento do epitélio germinativo, enquanto a glicose-6-fostato desidrogenase diminui o estresse oxidativo testicular, porém o exercício crônico diminui a atividade dessas enzimas, afetando a espermatogênese (JANA *et al.*, 2014).

Treinamentos com exercícios agudos e intensos levam a um aumento da testosterona, enquanto exercícios não intensos e crônicos diminuem os níveis de testosterona devido à inibição do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (GOMES; FREITAS; FARDILHA, 2015). Todos esses contraditórios resultados confirmam a ambiguidade do efeito do exercício físico na fisiologia reprodutiva masculina (GOMES; FREITAS; FARDILHA, 2015).

Quando os marcadores seminais da inflamação, o estresse oxidativo, qualidade do sêmen e integridade do DNA espermático foram avaliados em homens inférteis submetidos a três modalidades de treinamento, por 24 semanas, sendo eles: treinamento contínuo de intensidade moderada (MICT), treinamento contínuo de alta intensidade (HICT) e HIIT, foi observada melhora dos parâmetros em todas as modalidades, com maior evidência para o HIIT (HAJIZADEH MALEKI; TARTIBIAN; CHEHRAZI, 2017).

Em estudo de coorte prospectivo, com homens inférteis e sedentários, submetidos a 24 semanas de HIIT, foi observado o aumento de antioxidantes seminais e supressão da produção de citocinas e oxidantes pró-inflamatórios, essas adaptações foram associadas à melhoria da qualidade do sêmen, integridade do DNA espermático e taxa de gravidez (HAJIZADEH MALEKI; TARTIBIAN; CHEHRAZI, 2017).

O tipo e a duração do treinamento físico podem influenciar positiva e negativamente a secreção de hormônios relacionados ao eixo hipotálamo-hipófise-gonadal no sexo masculino (SGRÒ, 2019).

Os programas de exercício físico agudo induz o aumento na secreção de testosterona, já o de exercício físico crônico de alta carga e duração reduz a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-gônada. A diferente resposta dos hormônios sexuais masculinos ao exercício físico e treinamento influencia as funções sexuais e espermatogênicas que podem ser melhoradas, mantidas ou prejudicadas (SGRÒ, 2019).

Yan *et al.* (2019) e Panara *et al.* (2019) relataram a escassez de revisão sistemática com metanálise para avaliar os efeitos do exercício sobre os resultados reprodutivos em pacientes do sexo masculino com infertilidade. Porém, uma revisão sistemática com metanálise evidenciou que o exercício físico recreacional parece ser benéfico para homens com problemas de infertilidade. No entanto, o exercício físico de elite, ou seja, praticados por atletas pode ter um efeito prejudicial na qualidade do sêmen (IBAÑEZ-PEREZ *et al.*, 2019).

Vários são os achados na literatura pesquisada sobre os efeitos do exercício ou treinamento físico sobre a HAS e reprodução, mas os efeitos do HIIT em parâmetros reprodutivos de indivíduos hipertensos ainda merecem mais estudos para uma completa compreensão a relação desses fatores (SGRÒ, 2019).

## 2. REFERÊNCIAS

- ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear population from microtome sections. **The Anatomical Record**, v. 94, n. 2, p. 239–247, 1946.
- AKAGASHI, K. *et al.* Hypertensive changes in intratesticular arteries impair spermatogenesis of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. **Journal of Andrology**, v. 17, n. 4, p. 367–74, 1996. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8889699>.
- AKAGASHI, K. *et al.* Manidipine improves spermatogenesis in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. **Journal of Andrology**, v. 18, n. 2, p. 210–216, 1997.
- AKAGASHI, K.; KUMAMOTO, Y.; ITO, N. Effects of intratesticular hypertensive vascular changes on spermatogenesis in spontaneously hypertensive rat (SHR). **Sapporo Med J**, v. 63, n. 5/6, p. 209–219, 1994.
- ANDERSSON, K. E. Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. **The Journal of Urology**, v. 170, n. 2, p. S6–S14, 2003. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022534705633137>.
- ANDREOLLO, N. A. *et al.* Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação? **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 25, n. 1, p. 49–51, 2012.
- AUBUCHON, M.; DROBNIS, E. Z. Adverse effects of drugs on male reproduction. In: **Bioenvironmental Issues Affecting Men's Reproductive and Sexual Health**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 221–241.
- AZU, O. O. Testicular morphology in spontaneously hypertensive rat model: oxidant status and stereological implications. **Andrologia**, v. 47, n. 2, p. 123–137, 2015.
- BARAZANI, Y. *et al.* Lifestyle, environment, and male reproductive health. **Urologic Clinics of North America**, v. 41, n. 1, p. 55–66, 2014. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0094014313000943>.
- BARONE, R. *et al.* Endurance exercise and conjugated linoleic acid (CLA) supplementation up-regulate CYP17A1 and stimulate testosterone biosynthesis. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. e79686, 2013. Disponível em: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0079686>.
- BASU, J.; SHARMA, S. Erectile dysfunction heralds onset of cardiovascular disease. **The Practitioner**, v. 260, n. 1794, p. 21–3, 3, 2016. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27552797>.
- BELANGER, M. P. *et al.* Effect of hypertension on reproductive organ weights in various strains of rats. **Contemporary Topics in Laboratory Animal Science**, v. 42, p. 39–41, 2003.
- BHUVA, A. N. *et al.* Training for a first-time marathon reverses age-related aortic stiffening. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 75, n. 1, p. 60–71, 2020.

BILLAT, L. V. Interval training for performance: a scientific and empirical practice. **Sports Medicine**, v. 31, n. 2, p. 75–90, 2001. Disponível em: <http://link.springer.com/10.2165/00007256-200131020-00001>.

BILLAT, V. L. *et al.* Interval training at VO<sub>2</sub>max: effects on aerobic performance and overtraining markers. **Medicine And Science In Sports And Exercise**, v. 31, n. 1, p. 156–63, 1999. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9927024>.

BLAIR, S. N. *et al.* Changes in physical fitness and all-cause mortality. a prospective study of healthy and unhealthy men. **JAMA**, v. 273, n. 14, p. 1093–8, 1995. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7707596>.

BLOCH, M. J. Worldwide prevalence of hypertension exceeds 1.3 billion. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 10, n. 10, p. 753–754, 2016.

BOUTCHER, Y. N.; BOUTCHER, S. H. Exercise intensity and hypertension: what's new? **Journal of Human Hypertension**, p. 1–8, 2016. Disponível em: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/jhh.2016.62>.

CAIRES, K. C.; DE AVILA, J.; MCLEAN, D. J. Vascular endothelial growth factor regulates germ cell survival during establishment of spermatogenesis in the bovine testis. **Reproduction**, 2009.

CASONATTO, J. *et al.* The blood pressure-lowering effect of a single bout of resistance exercise: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **European Journal of Preventive Cardiology**, v. 23, n. 16, p. 1700–1714, 2016.

CIOLAC, E. G. *et al.* Effects of high-intensity aerobic interval training vs. moderate exercise on hemodynamic, metabolic and neuro-humoral abnormalities of young normotensive women at high familial risk for hypertension. **Hypertension research : official Journal of the Japanese Society of Hypertension**, v. 33, p. 836–843, 2010.

CIOLAC, E. G. *et al.* Heart rate response to exercise and cardiorespiratory fitness of young women at high familial risk for hypertension: effects of interval vs continuous training. **European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology**, v. 18, n. 6, p. 824–830, 2011.

COLLI, L. G. *et al.* Systemic arterial hypertension leads to decreased semen quality and alterations in the testicular microcirculation in rats. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 11047, 2019. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/s41598-019-47157-w>.

COLLIN, O. *et al.* Control of testicular vasomotion by testosterone and tubular factors in rats. **Journal Of Reproduction And Fertility**, v. 97, n. 1, p. 115–21, 1993. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8464001>.

COLLIN, O.; BERGH, A. Leydig cells secrete factors which increase vascular permeability and endothelial cell proliferation. **International Journal Of Andrology**, v. 19, n. 4, p. 221–8, 1996. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8940660>.

COLLIN, O.; ZUPP, J. L.; SETCHELL, B. P. Testicular vasomotion in different mammals. **Asian Journal Of Andrology**, v. 2, n. 4, p. 297–300, 2000. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11202420>.

CREASY, D. *et al.* Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse male reproductive system. **Toxicologic Pathology**, v. 40, n. 6\_suppl, p. 40S-121S, 2012.

DAMBER, J.-E. *et al.* Testicular microcirculation in the rat studied by videophotometric capillaroscopy, fluorescence microscopy and laser Doppler flowmetry. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 126, n. 3, p. 371–376, 1986. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1748-1716.1986.tb07829.x>.

ARAUJO, G. G. de *et al.* Interval versus continuous training with identical workload: physiological and aerobic capacity adaptations. **Physiological Research**, v. 64, n. 2, p. 209–19, 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25317688>.

FRANCA, L. R. de *et al.* Morphometry of rat germ cells during spermatogenesis. **The Anatomical Record**, v. 241, n. 2, p. 181–204, fev. 1995.

DIAS, T. R. *et al.* Nutritional factors and male reproduction. *In*: SKINNER, M. **Encyclopedia of reproduction**. Washington: Elsevier, 2018. p. 458–464.

DIDION, S. P. Cellular and oxidative mechanisms associated with interleukin-6 signaling in the vasculature. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, 2017.

DUN, Y. *et al.* High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. **Clinics in Geriatric Medicine**, v. 35, n. 4, p. 469–487, 2019.

EISENBERG, M. L. *et al.* Relationship between semen production and medical comorbidity. **Fertility and Sterility**, v. 103, n. 1, p. 66–71, 2015. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028214022687>.

EKERBICER, N. *et al.* Statins reduce testicular and ocular VEGF: a potential compromise to microcirculation. **Microvascular Research**, v. 119, p. 60–63, 2018.

ELLIOTT, W. J. Systemic hypertension. **Current Problems in Cardiology**, v. 32, n. 4, p. 201–259, 2007.

EMANUELI, C. *et al.* Rescue of impaired angiogenesis in spontaneously hypertensive rats by intramuscular human tissue kallikrein gene transfer. **Hypertension**, v. 38, n. 1, p. 136–141, 2001.

ERGÜN, S. *et al.* Microcirculation and the vascular control of the testis. **Advances in experimental medicine and biology**, v. 424, p. 163–80, 1997. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9361788>.

FEIHL, F.; LIAUDET, L.; WAEBER, B. The macrocirculation and microcirculation of hypertension. **Current Hypertension Reports**, v. 11, n. 3, p. 182–189, 2009.

FERNANDES, T. *et al.* Exercise training restores the endothelial progenitor cells number and function in hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 30, n. 11, p. 2133–2143, 2012.

FIGUEIREDO, A. F. A. *et al.* Sertoli cells are capable of proliferation into adulthood in the transition region between the seminiferous tubules and the rete testis in Wistar rats. **Cell Cycle**, v. 15, n. 18, p. 2486–2496, 2016.

FILLER, R. Methods for evaluation of rat epididymal sperm morphology. In: **Male Reproductive Toxicology**. [s.l.]: Elsevier, 1993. p. 334–343.

FOGARI, R. *et al.* Sexual activity and plasma testosterone levels in hypertensive males. **American journal of hypertension**, v. 15, n. 3, p. 217–21, 2002a. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11939610>.

FOGARI, R. *et al.* Effect of antihypertensive treatment with valsartan or atenolol on sexual activity and plasma testosterone in hypertensive men. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 58, n. 3, p. 177–180, 2002b. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00228-002-0456-3>.

FOUCAUT, A. M. *et al.* Sedentary behavior, physical inactivity and body composition in relation to idiopathic infertility among men and women. **PLOS ONE**, v. 14, n. 4, p. e0210770, abr. 2019.

FRANÇA, L. R.; GODINHO, C. L. Testis Morphometry, seminiferous epithelium cycle length, and daily sperm production in domestic cats (*Felis catus*). **Biology of Reproduction**, v. 68, n. 5, p. 1554–1561, maio 2003.

GANDAGLIA, G. *et al.* A systematic review of the association between erectile dysfunction and cardiovascular disease. **European Urology**, v. 65, n. 5, p. 968–978, 2014. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0302283813008518>.

GAROFALIDOU, T.; MUNROE, P. B. Molecular pathophysiology of systemic hypertension. In: **Clinical Molecular Medicine**. [s.l.]: Elsevier, 2020. p. 169–187.

GIBALA, M. J.; JONES, A. M. Physiological adaptations to high-intensity interval training. **Nestle Nutr Inst Workshop Ser**, v. 76, p. 51-60, 2013.

GOMES, L. H. L. S. *et al.* Thermoregulation in hypertensive rats during exercise: effects of physical training. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 112, n. 5, 2019.

GOMES, M.; FREITAS, M. J.; FARDILHA, M. Physical activity, exercise, and mammalian testis function: emerging preclinical protein biomarker and integrative biology insights. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, v. 19, n. 9, p. 499–511, 2015. Disponível em: <http://online.liebertpub.com/doi/10.1089/omi.2015.0065>.

GOREN, M. R. *et al.* Effects of experimental left varicocele repair on hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and vascular endothelial growth factor expressions and angiogenesis in rat testis. **Andrologia**, v. 49, n. 2, 2016. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/and.12614>.

GRAY, K. M.; STROKA, K. M. Vascular endothelial cell mechanosensing: new insights gained from biomimetic microfluidic models. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 71, p. 106–117, nov. 2017.

GUO, D. *et al.* Hypertension and male fertility. **The World Journal Of Men's Health**, v. 35, n. 2, p. 59–64, ago. 2017.

GUZIK, T. J.; TOUYZ, R. M. Oxidative stress, inflammation, and vascular aging in hypertension. **Hypertension**, v. 70, n. 4, p. 660–667, out. 2017. Disponível em: <http://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSION.AHA.117.07802>.

HACKNEY, A. C. Effects of endurance exercise on the reproductive system of men: the “exercise-hypogonadal male condition”. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 31, n. 10, p. 932–938, 2008. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF03346444>.

HAJIZADEH MALEKI, B.; TARTIBIAN, B. High-intensity interval training modulates male factor infertility through anti-inflammatory and antioxidative mechanisms in infertile men: A randomized controlled trial. **Cytokine**, v. 125, n. 6, p. 154861, jan. 2020.

HAJIZADEH MALEKI, B.; TARTIBIAN, B.; CHEHRAZI, M. The effects of three different exercise modalities on markers of male reproduction in healthy subjects: a randomized controlled trial. **Reproduction**, v. 153, n. 2, p. 157–174, fev. 2017.

HANDY, D. E.; LOSCALZO, J. Responses to reductive stress in the cardiovascular system. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 109, p. 114-124, 2017.

HARAM, P. M. *et al.* Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. **Cardiovascular Research**, v. 81, n. 4, p. 723–732, 2008. Disponível em: <http://cardiovascres.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/cvr/cvn332>.

HASKELL, W. L. *et al.* Physical activity and public health. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 39, n. 8, p. 1423–1434, ago. 2007. Disponível em: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00005768-200708000-00027>.

HUONKER, M.; HALLE, M.; KEUL, J. Structural and functional adaptations of the cardiovascular system by training. **International Journal of Sports Medicine**, v. 17, n. S 3, p. S164–S172, 9 nov. 1996. Disponível em: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2007-972919>.

IBAÑEZ-PEREZ, J. *et al.* An update on the implication of physical activity on semen quality: a systematic review and meta-analysis. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 299, n. 4, p. 901–921, abr. 2019.

ILACQUA, A. *et al.* Lifestyle and fertility: the influence of stress and quality of life on male fertility. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 16, n. 1, p. 115, dez. 2018.

JANA, K. *et al.* Protective effect of sodium selenite and zinc sulfate on intensive swimming-induced testicular gamatogenic and steroidogenic disorders in mature male rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 33, n. 5, p. 903–914, out. 2008. Disponível em: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/H08-065>.

JANA, K. *et al.* Alpha-lipoic acid and N -acetylcysteine protects intensive swimming exercise-mediated germ-cell depletion, pro-oxidant generation, and alteration of steroidogenesis in rat testis. **Molecular Reproduction and Development**, v. 81, n.

9, p. 833–850, set. 2014. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/mrd.22354>.

JOHNSEN, S. G. Testicular biopsy score count – a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. **Hormone Research in Pediatrics**, v. 1, n. 1, p. 2–25, 1970.

KASMAN, A. M. *et al.* Male infertility and future cardiometabolic health: does the association vary by sociodemographic factors? **Urology**, v. 133, p. 121–128, 2019.

KOSHIDA, H.; TAKEDA, R.; MIYAMORI, I. Lisinopril decreases plasma free testosterone in male hypertensive patients and increases sex hormone binding globulin in female hypertensive patients. **Hypertension Research : Oficial Journal Of The Japanese Society of Hypertension**, v. 21, n. 4, p. 279–82, dez. 1998. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9877521>.

KSHIRSAGAR, A. V. *et al.* Blood pressure usually considered normal is associated with an elevated risk of cardiovascular disease. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n. 2, p. 133–141, fev. 2006.

L., P. No Title. **Physiology & Behavior**, v. 51, p. 99–104, 1991.

LEBLOND, C. P.; CLERMONT, Y. Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the ?periodic acid-fuchsin sulfuric acid? technique. **American Journal of Anatomy**, v. 90, n. 2, p. 167–215, mar. 1952.

LEE, D. *et al.* Mortality trends in the general population: the importance of cardiorespiratory fitness. **Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 24, n. 4 Suppl, p. 27–35, 2010.

LEE, I. M. *et al.* Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: An analysis of burden of disease and life expectancy. **The Lancet**, v. 380, n. 9838, p. 219–229, 2012.

LEITOLIS, A. *et al.* High-salt intake reduces apomorphine-induced penile erection and increases neurally mediated contractile responses of the cavernosal smooth muscle in rats. **American Journal of Hypertension**, v. 32, n. 12, p. 1206–1213, 15 nov. 2019. Disponível em: <https://academic.oup.com/ajh/article/32/12/1206/5581396>.

LU, N. *et al.* Loss of vascular endothelial growth factor a (vegfa) isoforms in the testes of male mice causes subfertility, reduces sperm numbers, and alters expression of genes that regulate undifferentiated spermatogonia. **Endocrinology**, v. 154, n. 12, p. 4790–4802, dez. 2013. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/en.2013-1363>.

LYSIAK, J. J. *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  is constitutively expressed in murine Leydig cells and regulates 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 promoter activity. **Journal of Andrology**, v. 30, n. 2, 2009.

MESEGUER ZAFRA, M. *et al.* Influencia de un programa de ejercicio físico terapéutico sobre el consumo máximo de oxígeno en adultos con factores de riesgo cardiovascular. **Clínica E Investigación En Arteriosclerosis**, v. 30, n. 3, p. 95–101, maio 2018.

MEYER, P. *et al.* High-intensity aerobic interval exercise in chronic heart failure.

**Current Heart Failure Reports**, v. 10, n. 2, p. 130–138, 10 jun. 2013. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11897-013-0130-3>.

GRISWOLD, M. D. Interactions between germ cells and sertoli cells in the testis. **BIOLOGY OF REPRODUCTION**, v. 52, n. 2, p. 211–216, 1995.

MILLS, K. T. *et al.* Global Disparities of Hypertension Prevalence and Control. **Circulation**, v. 134, n. 6, p. 441–450, ago. 2016.

MILLS, K. T.; STEFANESCU, A.; HE, J. The global epidemiology of hypertension. **Nature Reviews Nephrology**, v. 16, n. 4, p. 223–237, abr. 2020.

MOREIRA, J. B. N. *et al.* High- versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. **Journal Of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 114, n. 8, p. 1029–41, abr. 2013.

MUCIACCIA, B. *et al.* Higher clusterin immunolabeling and sperm DNA damage levels in hypertensive men compared with controls. **Human Reproduction**, v. 27, n. 8, p. 2267–2276, 1 ago. 2012. Disponível em: <http://humrep.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/humrep/des173>.

NABIKA, T.; CUI, Z.; MASUDA, J. The stroke-prone spontaneously hypertensive rat: how good is it as a model for cerebrovascular diseases? **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 24, n. 5, p. 639–646, out. 2004.

NAG, S.; ROBERTSON, D. M.; DINSDALE, H. B. Morphological changes in spontaneously hypertensive rats. **Acta Neuropathologica**, v. 52, n. 1, p. 27–34, 1980. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF00687225>.

NAIMO, M. *et al.* High-intensity interval training has positive effects on performance in ice hockey players. **International Journal of Sports Medicine**, v. 36, n. 01, p. 61–66, 20 out. 2014. Disponível em: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0034-1382054>.

NAKANO, N. *et al.* Role of angiotensin ii in the regulation of a novel vascular modulator, hepatocyte growth factor (HGF), in experimental hypertensive rats. **Hypertension**, v. 30, n. 6, p. 1448–1454, dez. 1997.

O'KEEFE, J. H. *et al.* Potential adverse cardiovascular effects from excessive endurance exercise. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 87, n. 6, p. 587–595, jun. 2012. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619612004739>.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Japanese Circulation Journal**, v. 27, p. 282–93, mar. 1963. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13939773>.

OKOSHI, K. *et al.* Improved systolic ventricular function with normal myocardial mechanics in compensated cardiac hypertrophy. **Japanese Heart Journal**, v. 45, n. 4, p. 647–656, 2004.

OLSEN, R. H. *et al.* A randomised trial comparing the effect of exercise training and weight loss on microvascular function in coronary artery disease. **International Journal of Cardiology**, v. 185, p. 229–235, abr. 2015. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167527315003575>.

OPARIL, S. *et al.* Hypertension. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 18014, jun. 2018.

PAFFENBARGER, R. S. *et al.* The association of changes in physical-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. **New England Journal of Medicine**, v. 328, n. 8, p. 538–545, 25 fev. 1993. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199302253280804>.

PANARA, K. *et al.* Adverse effects of common sports and recreational activities on male reproduction. **European Urology Focus**, v. 5, n. 6, p. 1146–1151, nov. 2019.

PFÄFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic Acids Research**, v. 29, n. 9, p. e45, 2001. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11328886>.

PHILLIPS, G. B. *et al.* Sex hormones and hemostatic risk factors for coronary heart disease in men with hypertension. **Journal Of Hypertension**, v. 11, n. 7, p. 699–702, jul. 1993. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8228187>.

POTTER, S. J.; DEFALCO, T. Role of the testis interstitial compartment in spermatogonial stem cell function. **Reproduction**, v. 153, n. 4, p. 151–162, abr. 2017. Disponível em: <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/153/4/R151.xml>.

POTTS, J. T.; MCKEOWN, K. P.; SHOUKAS, A. A. Reduction in arterial compliance alters carotid baroreflex control of cardiac output in a model of hypertension. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 274, n. 4, p. H1121–H1131, abr. 1998.

PRIOR, B. M. *et al.* Exercise-induced vascular remodeling. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 31, n. 1, p. 26–33, jan. 2003. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12562167>.

REDDY, N. *et al.* Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) transcript and protein in the testis of several vertebrates, including endangered species. **Theriogenology**, v. 77, n. 3, p. 608–614, fev. 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0093691X11004560>.

REY, S.; SEMENZA, G. L. Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodelling. **Cardiovascular Research**, v. 86, n. 2, p. 236–242, 2010.

RIZZONI, D. *et al.* Relationships between coronary flow vasodilator capacity and small artery remodelling in hypertensive patients. **Journal of Hypertension**, v. 21, n. 3, p. 625–631, mar. 2003.

ROQUE, F. R. *et al.* Exercise training and cardiometabolic diseases: focus on the vascular system. **Current Hypertension Reports**, v. 15, n. 3, p. 204–214, jun., 2013. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11906-013-0336-5>.

ROSA, E. C.; PLAVNIK, F. L.; TAVARES, A. Hipertensão arterial sistêmica. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 63, n. 1/2, p. 5–17, 2006.

ROSSONI, L. V. *et al.* Cardiac benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 29, n. 12, p. 2349–2358, dez., 2011.

Disponível em: <http://journals.lww.com/00004872-201112000-00011>.

SAFARINEJAD, M. R.; AZMA, K.; KOLAH, A. A. The effects of intensive, long-term treadmill running on reproductive hormones, hypothalamus-pituitary-testis axis, and semen quality: a randomized controlled study. **Journal of Endocrinology**, v. 200, n. 3, p. 259–271, dez., 2008. Disponível em: <http://joe.endocrinology-journals.org/cgi/doi/10.1677/JOE-08-0477>.

SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. **Mikroskopie**, v. 26, n. 1, p. 57–60, jun., 1970.

SCHIFFRIN, E. L. How structure, mechanics, and function of the vasculature contribute to blood pressure elevation in hypertension. **The Canadian Journal of Cardiology**, v. 36, n. 5, p. 648–658, 2020.

SCHMIDT, J. A.; AVILA, J. M. de; MCLEAN, D. J. Analysis of gene expression in bovine testis tissue prior to ectopic testis tissue xenografting and during the grafting period 1. **Biology of Reproduction**, v. 76, n. 6, p. 1071–1080, 2007.

SCHMIDT, J. A.; DE AVILA, J. M.; MCLEAN, D. J. Effect of vascular endothelial growth factor and testis tissue culture on spermatogenesis in bovine ectopic testis tissue xenografts. **Biology of Reproduction**, v. 75, n. 2, p. 167–175, 2006.

SEED, J. *et al.* Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: a consensus report. ILSI Risk Science Institute Expert Working Group on Sperm Evaluation. **Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)**, v. 10, n. 3, p. 237–44, 1996. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8738562>.

SENE, A.; CHIN-YEE, D.; APTE, R. S. Seeing through VEGF: innate and adaptive immunity in pathological angiogenesis in the eye. **Trends in Molecular Medicine**, v. 21, n. 1, p. 43–51, jan. 2015.

SGRÒ, P. Exercise, training, and the hypothalamic–pituitary–gonadal axis in men. **Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research**, v. 9, p. 86–89, dez. 2019.

SHARMA, R. *et al.* Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 11, n. 1, p. 66, 2013. Disponível em: <http://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7827-11-66>.

STERN, J. A. *et al.* Long-term outcome following testicular ischemia in the rat. **Journal of Andrology**, v. 11, n. 4, p. 390–5, 1990. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2211344>.

SVARTBERG, J. *et al.* Association of endogenous testosterone with blood pressure and left ventricular mass in men. The Tromsø Study. **European Journal of Endocrinology**, v. 150, n. 1, p. 65–71, jan., 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14713281>.

TARULLI, G. A.; STANTON, P. G.; MEACHEM, S. J. Is the adult sertoli cell terminally differentiated?1. **Biology of Reproduction**, v. 87, n. 1, p. 1–11, 2012.

TJONNA, A. E. *et al.* Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. **Circulation**, v. 118, n. 4, p. 346–354, 22 jul. 2008. Disponível em:

<http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.772822>.

TJØNNA, A. E. *et al.* Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. **Circulation**, v. 118, n. 4, p. 346–354, 2008.

TOLOUEI AZAR, J. *et al.* The effect of different types of exercise training on diet-induced obesity in rats, cross-talk between cell cycle proteins and apoptosis in testis. **Gene**, v. 754, p. 144850, set., 2020.

UNGER, T. *et al.* 2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. **Hypertension**, v. 75, n. 6, p. 1334–1357, jun., 2020.

WISE, L. A. *et al.* Physical activity and semen quality among men attending an infertility clinic. **Fertility and Sterility**, v. 95, n. 3, p. 1025–1030, mar., 2011. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028210027767>.

WU, N. N. *et al.* Physical exercise and selective autophagy: benefit and risk on cardiovascular health. **Cells**, v. 8, n. 11, p. 1436, nov., 2019.

WYSS, F. *et al.* Position statement of the Interamerican Society of Cardiology (IASC) on the current guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of arterial hypertension 2017–2020. **International Journal of Cardiology Hypertension**, v. 6, set., 2020.

YAN, X. *et al.* Effects of physical exercises on semen quality and reproductive outcomes in male infertility: A protocol for systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Medicine (United States)**, v. 98, n. 41, 2019.

ZHANG-JAMES, Y.; MIDDLETON, F. A.; FARAONE, S. V. Genetic architecture of Wistar-Kyoto rat and spontaneously hypertensive rat substrains from different sources. **Physiological Genomics**, v. 45, n. 13, p. 528-538, 2013.

**CAPÍTULO 2****ARTIGO NAS NORMAS DO JOURNAL OF HYPERTENSION (QUALIS A2)**

do abstract: 180

Número de palavras do texto: 3758

Número de figuras: 3

Número de tabelas: 3

**TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE MODULA EFEITOS  
DA HIPERTENSÃO SOBRE PARÂMETROS ESPERMÁTICOS EM RATOS  
ADULTOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

**Cabeçalho: HIIT MELHORA A MOTILIDADE ESPERMÁTICA DE SHR**

M J de Oliveira<sup>1</sup>; E H P Pereira<sup>1</sup>; L C S M Schaffer<sup>1</sup>; K C M T Vieira<sup>1</sup>; C Castilho<sup>1</sup>; A O Santos<sup>1</sup>;  
F L A Souza<sup>1</sup>; F L Pacagnelli<sup>1</sup>; A P A Favareto<sup>1</sup>; L O Mendes<sup>1</sup>; G R Teixeira<sup>2</sup>; I C Giometti<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista, Rodovia Raposo Tavares, Km 572, Bairro Limoeiro, Presidente Prudente (SP), Brasil.

<sup>2</sup> Unesp - Universidade Estadual Paulista, Rua Roberto Simonsen, 305 - Centro Educacional - P. Prudente/SP - CEP 19060-900).

\* Ines Cristina Giometti, UNOESTE, Km 572, Bairro Limoeiro, Presidente Prudente (SP), CEP: 19067-175, Fone: +55-18-3229-2000, e-mail: [inesgiometti@yahoo.com.br](mailto:inesgiometti@yahoo.com.br)

**Declaração:**

Os autores declaram que não tem nenhum conflito de interesse.

**Palavras-chave:** exercício físico; hipertensão arterial; testículo; reprodução.

## CONHECIMENTO

Sabe-se que as atividades aeróbicas melhoram a hipertensão com efeitos benéficos para o aparelho reprodutivo. Alguns estudos apontam o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) como promissor para indivíduos hipertensos, porém ainda não se tem conhecimento como atuaria sobre o sistema reprodutivo de indivíduos hipertensos. O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do HIIT sobre os parâmetros reprodutivos em ratos espontaneamente hipertensos (SHR).

## MÉTODOS

Foram 3 grupos de 24 ratos machos: WKY (Wistar-Kyoto, n=5); SHR (n=9); e SHR-HIIT (SHR submetidos ao HIIT, n=10). O HIIT foi realizado em esteira, 5 dias/semana, por 8 semanas. Foi avaliada a morfologia e motilidade dos espermatozoides, a morfologia testicular e a expressão gênica dos fatores angiogênicos *Vegf*, *Flt-1*, *Kdr* e o fator indutor de hipóxia (*HIF-1 $\alpha$* ).

## RESULTADOS

O HIIT restaurou a funcionalidade espermática, sem alterar a expressão gênica. O grupo SHR-HIIT apresentou porcentagem ( $73,00 \pm 1,11$ ) de espermatozoides móveis com trajetória progressiva semelhante ao grupo WKY ( $73,10 \pm 1,88$ ), enquanto o grupo SHR apresentou menor porcentagem ( $67,22 \pm 1,49$ ) que os demais grupos ( $P < 0,05$ ). Os SHR tiveram menor expressão gênica de *Vegf* e *Flt-1* e de fator indutor de hipóxia (*HIF-1 $\alpha$* ).

## CONCLUSÃO

Conclui-se que o HIIT por dois meses previne a diminuição na motilidade espermática de ratos hipertensos e no número de células germinativas e de Sertoli. A hipertensão reduz a expressão gênica dos fatores angiogênicos nos testículos, e o HIIT não preveniu essa alteração.

## INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é a principal causa de doença cardiovascular e morte prematura em todo o mundo [1], mais prevalente em países com poucos recursos, de baixa e média renda [2].

O aumento global da prevalência da HAS está relacionado ao envelhecimento da população, ao aumento da exposição a fatores de risco para o estilo de vida, incluindo dietas não saudáveis, falta de exercício físico e o estresse do cotidiano [3,4]. Essa alta prevalência fez com que os pesquisadores começassem a explorar a relação entre doença hipertensiva e fertilidade masculina, pois a literatura sugere que em hipertensos há baixa qualidade do sêmen, com morfologia anormal dos espermatozoides e fragmentação do DNA [5,6,7].

Sugere-se que a infertilidade masculina serviria como marcador da saúde futura, uma vez que parâmetros ruins de sêmen e um diagnóstico de infertilidade masculina estão associados a um risco aumentado de hipogonadismo, doença cardiometabólica, câncer e até mortalidade [8]. A paternidade tem ocorrido mais tardiamente, num período de vida em que as doenças crônicas começam a se desenvolver, como a HAS, que podem afetar a fertilidade [9].

O exercício físico oferece respostas favoráveis ao sistema cardiovascular, com melhoria para os demais sistemas corporais, como para o sistema reprodutor [10]. Os efeitos benéficos dos exercícios para a reprodução dependem da intensidade e da frequência dos mesmos [11].

O treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), pode ser indicado para cardiopatas, pois melhoram o controle do sistema nervoso autônomo cardíaco e controle lipêmico, tanto em indivíduos hipertensos como normotensos com histórico familiar de hipertensão [12,13,14]. O HIIT caracteriza-se por períodos curtos de exercício, com intensidade igual ou superior ao limiar anaeróbio, separados por períodos de recuperação [15,16].

Foram encontrados efeitos contraditórios do HIIT na reprodução, mas a prática do mesmo por indivíduos hipertensos e seus efeitos sobre a qualidade do sêmen, não foi identificado na literatura pesquisada. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), em ratos espontaneamente hipertensos sobre a espermatogênese, morfologia e motilidade dos espermatozoides, bem como, a expressão gênica de fatores angiogênicos (*Vegf*, *Flt-1*, *KDR*) e fator indutor de hipóxia (*HIF-1 $\alpha$* ).

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Animais experimentais**

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar-Kyoto sem hipertensão e ratos espontaneamente hipertensos (SHR), com 12 meses de idade no início do experimento e a média de peso dos animais era de  $351,33 \pm 61$  g. Os ratos foram divididos em 3 grupos: WKY (grupo Controle, Wistar-Kyoto, n=5); SHR (SHR que não realizaram HIIT, n=9); e SHR-HIIT (SHR que realizaram o HIIT com n=10). Os animais foram alocados em caixas plásticas com dimensão 41x34x16cm, contendo de 3-5 animais em cada caixa, com temperatura de 21° a 23° C e umidade relativa do ar de 50% a 60%, com ciclos invertido de luminosidade de 12 h claro-escuro e receberam ração comercial (Supralab®, Alisul R, Brasil) e água *ad libitum*.

Todos os protocolos experimentais que foram utilizados estavam em conformidade com os princípios de cuidados com animais de laboratório formulado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e de acordo com o *Guide for the Carean Use of Laboratory Animals* publicado pelo *National Research Council*. Todos os procedimentos utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA), número de protocolo 4418.

### **Treinamento HIIT**

Após o período de adaptação de uma semana, em ciclo invertido por cinco dias consecutivos, na esteira adaptada para roedores (modelo TK 1, IMBRAMED), o protocolo de treinamento foi realizado em por um período de 8 semanas, com 5 sessões por semana de aproximadamente 50 minutos por treino (Fig.1) [17,18], levando em conta a velocidade máxima de exaustão. O teste que avaliou a velocidade máxima de exaustão, iniciou a 6m/min, aumentando 3m/min até a exaustão. Os ratos foram considerados em exaustão, quando se recusavam a correr mesmo após a estimulação ou quando ficaram incapazes de coordenar os passos, adaptado de Rossoni *et al.* [19].

### **Pressão arterial sistólica (PAS)**

Para avaliar o controle pressórico foi verificada a PAS por pletismografia, com uso do método do manguito de cauda (Narco Bio-System®, modelo 709-0610, International Biomedical, Inc, EUA), antes e após o período do treinamento. Antes da aferição, os animais foram aquecidos a 37° C por 15 minutos, promovendo a dilatação da artéria caudal. Foi calculado o percentual da variação da PAS ( $\Delta$ ):  $[(\text{valor final} - \text{valor inicial}) \div \text{valor inicial}] \times 100$  [20].

### **Colheita dos órgãos**

Dois dias após o final do programa HIIT, os animais foram pesados e anestesiados com cloridrato de ketamina (50 mg/kg/ip) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg/ip) e eutanasiados por decapitação. Os órgãos reprodutivos (testículos, epidídimos e ductos deferentes) foram colhidos e pesados. Os pesos relativos dos órgãos foram obtidos com a seguinte fórmula: peso do órgão (g) / peso do animal (g) x 100. Os pesos dos testículos foram normalizados pelo comprimento do osso Tíbia do animal, determinado pelo teste de Scherle [21]. Os ductos deferentes foram colhidos logo após a morte dos animais para a colheita dos espermatozoides. Os testículos

esquerdos foram colhidos, limpos e imersos em solução fixadora de Methacarn (60% de metanol, 30% de clorofórmio e 10% de ácido aceto acético). Após 24 horas, as peças foram lavadas e a solução foi substituída por álcool 70%, onde as peças permaneceram até o processamento. Então, o material foi incluso em parafina Paraplast para a obtenção de cortes com espessura de 3  $\mu\text{m}$  e coloração com hematoxilina e eosina, para avaliação histopatológica em microscópio óptico binocular, em aumento de 200X e 400X, de acordo com o campo e as estruturas a serem analisadas. Partes dos testículos direitos dos ratos foram colhidos e imersos em TRIzol® (ThermoFisher Scientific®), congelados imediatamente em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -80°C para análise da expressão gênica por RT-qPCR.

## **Análise espermática**

### **Motilidade e morfologia espermática**

Os espermatozoides foram liberados do ducto deferente esquerdo logo após a morte dos animais com ajuda de uma seringa, no meio PBS a 34°C. Esta solução espermática foi utilizada para a análise da motilidade dos espermatozoides feita em câmara de Neubauer, por estimativa visual (100 espermatozoides por animal) em microscópio de luz (Leica DMLS) em aumento de 400X. Os espermatozoides foram classificados como: móveis com trajetória progressiva; móveis sem progressão e imóveis.

Para análise da morfologia espermática, os espermatozoides foram colhidos do ducto deferente direito com auxílio de uma agulha com seringa contendo 1,0 mL de formol salina a 10%. Em seguida, foram feitos esfregaços em lâminas histológicas e deixadas a secar ao ar livre por 90 minutos e então observadas em microscópio em aumento de 400X [22].

Foram analisados 200 espermatozoides por animal e as anormalidades morfológicas encontradas foram classificadas em duas categorias: a) anormalidades da cabeça (sem curvatura

característica, em forma de alfinete, ou isolada); e b) anormalidades da cauda (enrolada, quebrada, dobrada e isolada) [23].

### **Análise morfométrica testicular**

Para avaliação do diâmetro dos túbulos seminíferos e da espessura do epitélio germinativo foram avaliadas dez secções de túbulos seminíferos por animal no estágio IX da espermatogênese em microscópio Leica DMLB, aumento de 200X usando um analisador de imagem programa Leica Q-win software Versão 3 for Windows™.

Foram analisadas 100 secções transversais tubulares aleatórias por animal e classificadas em quatro categorias, de acordo com o tipo de célula germinativa presente, sob um microscópio de luz em aumento de 200X. A análise foi à identificação dos grupos de estágios I-VI, VII-VIII, IX-XIII e XIV do ciclo do epitélio seminífero [24].

Os núcleos de células de Sertoli (CS) e células germinativas (espermatogônia tipo A – SPG A, espermátocitos em paquíteno – SP I e espermátides redondas SP R) foram contados em 10 secções transversais de túbulos seminíferos por animal, no estágio VIII da espermatogênese, em microscópio de luz, em aumento de 400X. Os resultados foram corrigidos pelo diâmetro nuclear e espessura do corte histológico, conforme Abercrombie (1946). Também foram determinados os seguintes índices: Capacidade total de suporte das Células de Sertoli =  $SP\ R / CS$ ; Coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais (índice mitótico) =  $SP\ I / SPG\ A$ ; Índice meiótico:  $SP\ R / SP\ I$ ; Rendimento geral da espermatogênese =  $SP\ R / SPG\ A$  [25,26].

### **Análise histopatológica testicular**

Foram analisados qualitativa e quantitativamente 100 túbulos por animal, em microscópio de luz, em aumento de 400X. A análise da morfologia normal dos túbulos seminíferos, da espermatogênese e associações celulares é importante para detectar anormalidades. Observaram-se as anormalidades relacionadas à alteração do fluxo sanguíneo para o testículo,

como: atrofia dos túbulos seminíferos, necrose tubular, descamação de células germinativas, vacuolização, célula multinucleada [27].

### **Expressão gênica**

Para a análise da RT-PCR em tempo real, os testículos armazenados em TRIzol® (ThermoFisher Scientific®) no freezer a -80°C foram triturados em homogeneizador de tecidos e submetidos ao protocolo de extração do TRIzol®. A concentração do RNA total recuperado foi mensurada por espectrofotometria por NANODROP® (Thermo Scientific). Todas as amostras de RNA total foram tratadas com DNase antes de serem submetidas à transcrição reversa (RT) seguida da reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR), conforme as instruções do protocolo DNase I – Amplification Grade (Invitrogen®).

A RT foi realizada utilizando o protocolo da High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems®) seguindo protocolo do fabricante com oligonucleotídeos iniciadores randômicos.

A qPCR foi realizada para a análise quantitativa da expressão gênica relativa. Como controle interno das reações de qPCR foram utilizados 3 genes referência, a fim de normalizar os resultados obtidos para o gene-alvo. Os oligonucleotídeos iniciadores foram obtidos a partir de ensaios TaqMan® (Applied Biosystems®, Foster, USA), já padronizados conforme descrição a seguir, para os gene-alvos: fator de crescimento endotelial vascular A (*Vegfa*), GeneBank: MN\_031836.2, Produto: 69pb; receptor tirosina quinase 1 relacionado com Fms (*Flt1*), GeneBank: MN\_019306.1, Produto: 60pb; receptor 2 do domínio de inserção da quinase (*Kdr*), GeneBank: MN\_013062.1, Produto: 75pb; e o fator indutor de hipóxia 1 $\alpha$  (*Hif1 $\alpha$* ), GeneBank: MN\_0124359.1, Produto: 90pb; e para os genes de referência: proteína ribossômica S18 (*Rps18*), GeneBank: MN\_213557.1, Produto: 62pb; gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase

(*Gapddh*), GeneBank: MN\_017008.3, Produto: 175pb e hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase 1 (*Hprt1*), GeneBank: MN\_012583.2, Produto: 64pb.

As reações de PCRs foram conduzidas em duplicatas para cada amostra e a expressão gênica foi determinada pela quantificação em relação ao gene referência. O cálculo das eficiências para os genes alvo e controle foi realizado por meio da curva padrão relativa com diluições seriadas. Para quantificação relativa das amplificações foi empregado o método de Pfaffl (2001). O melhor gene referência foi escolhido utilizando o programa NormFinder® (MOMA, Dinamarca).

### **Análise estatística**

Os resultados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalização dos dados. Os dados paramétricos foram comparados usando ANOVA, com teste posterior de Tukey e os não paramétricos foram analisados através de Kruskal-Wallis, com teste posterior de Dunn. Para a análise estatística da PAS foi utilizado o teste T. Diferenças foram consideradas com  $P < 0.05$ .

## **RESULTADOS**

Os animais SHR-HIIT apresentaram menores valores de PAS ( $195,17 \pm 22,50$ ) que os animais do grupo SHR ( $228,50 \pm 26,66$ ),  $P < 0,05$ . Os pesos relativos dos órgãos reprodutivos, os pesos dos animais, os ganhos de peso e a normalização do peso do testículo pelo comprimento ósseo da tíbia estão apresentados na Tabela 1.

Os animais do grupo SHR apresentaram menor número de espermatozoides com motilidade progressiva e maior número de imóveis do que os demais grupos (Figura 2). Não houve diferença entre os grupos no número de espermatozoides com motilidade não progressiva

(Figura 2). Assim, como não houve diferença significativa na morfologia espermática entre os grupos estudados, dados apresentados na Tabela 2.

Em relação às análises morfométricas não foi observada diferença significativa entre os grupos. Os diâmetros dos túbulos seminíferos ( $\mu\text{m}$ ) foram: WKY =  $282,08 \pm 7,27$ ; SHR =  $281,36 \pm 3,42$ ; e SHR-HIIT =  $282,85 \pm 4,71$ ; e as espessuras dos epitélios germinativos ( $\mu\text{m}$ ) foram: WKY =  $80,91 \pm 2,21$ ; SHR =  $79,04 \pm 2,24$ ; e SHR-HIIT =  $79,45 \pm 1,13$ . Não houve diferença significativa entre os grupos experimentais quanto a frequência de túbulos seminíferos nos estágios de I-VI, VII-VIII, IX-XIII e XIV, dados apresentados na Tabela 3.

Observou-se um maior número de células de Sertoli e de células germinativas no SHR-HIIT ( $P < 0,0001$ ), que nos demais grupos. O grupo SHR também diferiu estatisticamente do grupo WKY, apresentando menor número de espermátócitos e espermátides arredondadas (Tabela 3).

Na análise histopatológica quantitativa não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos na porcentagem de túbulos sem alterações histopatológicas, WKY =  $96,80 \pm 1,77$ ; SHR =  $98,78 \pm 0,43$ ; e SHR-HIIT =  $98,00 \pm 0,91$ . As alterações histopatológicas qualitativas descritas encontradas no WKY foram: vacúolos em um animal, células esfoliadas nos túbulos em dois animais e túbulos atrofiados e células germinativas multinucleadas em um animal; no SHR foram: 4 animais com células esfoliadas nos túbulos e um animal com corpo gigante multinucleado; no SHR-HIIT foram: um animal com túbulos com células esfoliadas e um animal com espermátócitos multinucleados.

Qualquer um dos três genes referência testados poderia ser utilizado como normalizador da reação, pois tiveram valores abaixo de 0,5 no programa NormFinder®, porém a melhor opção foi o *Hprt1* que se mostrou mais estável, seguido pela combinação do *Hprt1* com *Rps18*. O *Hprt1* foi utilizado então como normalizador da reação da qPCR.

A expressão gênica relativa de *Vegfa*, do *Flt1* e do *Kdr* foi menor nos grupos SHR e SHR-HIIT (P=0,0091, P=0,0002 e P=0,0207 respectivamente) do que no grupo WKY. Os ratos do grupo WKY tiveram maior expressão relativa de *Hif1 $\alpha$*  que o SHR-HIIT (P=0,0060), quando comparado ao WKY, dados apresentados na Figura 3.

## DISCUSSÃO

Embora os efeitos da hipertensão sobre o sistema reprodutivo são descritos na literatura, o exercício físico tem sido uma opção, não medicamentosa, no tratamento da hipertensão e das suas consequências na reprodução masculina, já que os medicamentos para hipertensão têm efeito negativo sobre a fertilidade [28,29]. Esse trabalho destaca-se por ser inovador em avaliar os efeitos do HIIT em parâmetros reprodutivos de indivíduos hipertensos, já que tanto a idade para o início da paternidade quanto a obesidade dos indivíduos estão aumentando, fatores predisponentes de hipertensão.

Com base nos resultados apresentados pode-se observar que os animais espontaneamente hipertensos que não praticaram o HIIT tiveram mais espermatozoides imóveis e menos espermatozoides com motilidade progressiva retilínea (Figura 2). Esses dados estão de acordo com outros estudos que relatam uma perda da qualidade de espermatozoides em homens hipertensos [5,7]. É possível observar que o HIIT teve um efeito benéfico na motilidade espermática desses animais, igualando-os ao grupo controle (WKY), sem hipertensão e não submetidos ao HIIT. Já é bem conhecida a importância dos exercícios físicos na prevenção da progressão de doenças cardiovasculares [30,31,32] e alguns estudos relatam que os exercícios físicos podem ser benéficos para a fertilidade masculina [33,34]. Porém, não foram encontrados na literatura estudos que avaliassem o efeito do HIIT na reprodução de ratos SHR.

Embora a motilidade espermática no grupo SHR tenha sido menor, isso não foi devido a um aumento nos defeitos de cauda ou cabeça do espermatozoide, já que não foi observada

diferença entre os grupos na morfologia espermática ( $P>0,05$ ). Muciaccia *et al.* [7] observaram a alteração na morfologia espermática em homens hipertensos, que não foi constatada no presente estudo com ratos hipertensos, dados apresentados na Tabela 2. Como em humanos, os medicamentos usados para tratamento da hipertensão podem estar relacionados com má qualidade espermática, nessa espécie é mais difícil atribuir o dano espermático à hipertensão arterial sistêmica [5]. Como visto no presente estudo, o HIIT também não afetou a morfologia espermática e melhorou a motilidade dos espermatozoides de ratos hipertensos, resultado diferente de alguns estudos que relataram que o treinamento de resistência pode reduzir a qualidade espermática, a motilidade dos espermatozoides e aumentar os defeitos morfológicos dos mesmos [35,36,37].

Quanto ao peso relativo dos órgãos reprodutivos, observou-se que o peso relativo dos testículos e dos epidídimos foi menor no grupo WKY do que nos demais grupos SHR. O grupo SHR-HIIT apresentou o maior peso relativo do testículo que o grupo SHR (Tabela 1). O maior peso relativo dos testículos observado nos grupos SHR pode ser porque sabe-se que a hipertensão leva a uma hipertrofia testicular e os SHR tem um aumento do testículo em relação à massa corporal [38,39].

Entretanto, quando o peso do testículo foi normalizado pelo tamanho da tíbia, não houve diferença significativa entre os grupos ( $P>0,05$ ). Os animais WKY são maiores que os animais SHR, além disso, há que se notar que o peso dos animais apresentou diferença significativa entre os três grupos, sendo os animais do grupo WKY mais pesados que os SHR ( $P<0,0001$ ), que por sua vez foram mais pesados que os do SHR-HIIT ( $P<0,001$ ). A redução do peso corporal dos animais do SHR-HIIT pode ter ocorrido em razão do treinamento físico praticado de forma contínua por 8 semanas, pois o HIIT tem efeito sobre o aumento da resposta metabólica corporal, com o aumento do controle autonômico cardíaco e controle lipêmico, bem como, a redução do peso corporal [40]. Essa hipótese é sustentada pela diferença observada no

ganho de peso dos animais, os animais WKY ganharam mais peso que os animais hipertensos e, esse ganho foi maior no SHR que no SHR-HIIT (Tabela 1).

Embora tenha sido notada diferença do peso relativo dos testículos, não houve diferença entre os grupos no diâmetro de túbulo seminífero ou no número de túbulos seminíferos entre os grupos estudados, fato esse semelhante aos achados na literatura apresentados na Tabela 3 [41].

Porém, quando as células dos túbulos seminíferos foram contadas, foi observado menor número de células germinativas e de células de Sertoli nos túbulos seminíferos do WKY e SHR comparado ao grupo SHR-HIIT. A hipertensão leva a danos vasculares por meio do aumento do estresse oxidativo e da inflamação, provocando disfunção endotelial, hipertrofia vascular e fibrose [42,43,44]. As espécies reativas de oxigênio (ROS), no estresse oxidativo causam danos a vários órgãos contribuindo para os prejuízos causados pela disfunção cardiovascular [44]. Já foi demonstrado que o testículo é um órgão no qual a hipertensão exerce seus efeitos deletérios [39]. Mas observa-se no presente trabalho que o HIIT pode ser promissor na prevenção do dano espermático dos indivíduos hipertensos. Demonstrando um efeito do HIIT na inibição da redução das células testiculares germinativas, talvez devido a uma redução no estresse oxidativo e/ou inflamação.

Esse maior número de células de Sertoli encontrado no grupo SHR-HIIT pode ser tanto uma prevenção da redução ou aumento do número de células. Embora, segundo a literatura, as células de Sertoli não se dividem mais a partir da puberdade, pois se tornam maduras [45], um primeiro estudo experimental, com roedores demonstrou que a proliferação de células de Sertoli, após o período de 21 dias pós-natal, a possibilidade de que essas células tenha um tempo maior de proliferação, mesmo na vida adulta. Outro estudo não experimental, mas de revisão relatou sobre a possibilidade das células de Sertoli se proliferarem, após o período de puberdade [46,47]. Isso demonstraria mais um possível benefício do HIIT para um organismo acometido

pela hipertensão, com prováveis reflexos benéficos à espermatogênese e à produção de esteroides testiculares (Tabela 3).

Alterações histopatológicas nos túbulos seminíferos foram observadas no presente estudo, como células multinucleadas, com vacúolos, células esfoliadas nos túbulos e túbulos atrofiados. Essas alterações histopatológicas estão descritas na literatura, como células multinucleadas que podem ser o resultado da degeneração de espermatídes ou espermatócitos e alargamento das pontes intercelulares entre espermatogônias e espermatócito, no processo de divisão; túbulos seminíferos apresentando necrose, degeneração/atrofia em resposta à isquemia ou processo inflamatório; vacuolização do epitélio seminífero pode resultar de uma série de alterações degenerativas, incluindo acúmulo de fluidos, lipídios ou fosfolipídios e esfoliação, além de perda física de células germinativas [27,48].

As alterações histopatológicas são encontradas nas mais variadas patologias testiculares e são muito frequentes nos processos isquêmicos e inflamatórios [27,48]. A presença dessas alterações histopatológicas, embora sem diferença estatística entre os grupos, pode representar um processo inflamatório oxidativo e pode ser devido à idade desses animais.

Em estudo com SHR foram observadas alterações morfológicas nos túbulos testiculares, com maior número de células imaturas no lúmen testicular e necrose tubular nos SHR [39], nesse estudo, os ratos tinham idade de 9 a 11 meses, que corresponde à idade entre 20 a 30 anos do ser humano [49]. No nosso estudo, os animais eram mais velhos no momento da eutanásia (14 meses), e apesar de apresentarem alterações morfológicas, as alterações estavam presentes nos três grupos, não diferindo os hipertensos dos normotensos Wistar-Kyotos.

Uma possível diferença entre o presente estudo e do de Colli *et al.* [39], além da idade dos animais, é que o controle normotenso utilizado por Colli *et al.* eram ratos Wistar. Infelizmente, não encontramos equivalente estudo com Wistar-Kyoto, mas sabe-se também que os ratos Wistar-Kyoto são mais heterogêneos geneticamente entre os diferentes fornecedores do

que os SHR que vieram de uma linhagem de cruzamento endogâmico [50]. O SHR é um modelo de rato hipertenso desenvolvido por meticoloso melhoramento genético por reprodução entre irmãos e é reconhecido que o melhor controle de ratos normotensos para os SHR é a linhagem Wistar-Kyoto e não a linhagem Wistar (ancestral dos Wistar-Kyoto), já que os SHR são originados da linhagem Wistar-Kyoto [50].

Também foi observada menor expressão gênica relativa dos fatores angiogênicos (*Vegfa*, *Flt1* e *Kdr*) nos grupos de ratos hipertensos. O treinamento de HIIT não foi eficiente em aumentar a expressão desses genes nos animais hipertensos. Nosso estudo contraria outro estudo que demonstrou maior expressão da proteína VEGFA nos animais hipertensos [39]. A angiogênese testicular praticamente não ocorre em animais adultos, sendo restrita a situações como varicocele, de tumores, inflamações ou hipóxia testicular, porém enorme quantidade de VEGF é produzida no testículo adulto. É importante ressaltar que o presente trabalho verificou a expressão gênica e não proteica do VEGFA e, além disso, que o mesmo tem importantes funções testiculares, além da angiogênese.

A origem da proteína VEGFA no testículo adulto são as células de Sertoli e de Leydig, porém o pré-RNA do *Vegfa* é detectado nas células germinativas, mas não traduzido em sua proteína e sim em isoformas ativas [51,52]. Em testículos adultos de roedores, o LH estimula a produção de VEGF que para exercer sua função de permeabilidade vascular e proliferação celular edotelial vascular é dependente do KDR. O KDR é expresso nas espermatogônias e o FLT1 nas espermátides [53]. A abundância relativa de *Kdr* e de *Flt1* foi maior no grupo WKY que nos demais grupos.

Um estudo com microarranjo identificou o gene *Vegfa* como um candidato para funcionamento normal das células germinativas [54] e outro estudo sugere que o VEGFA deve regular a proliferação celular no testículo bovino [54]. O VEGF também tem sido implicado na homeostase da célula germinativa e tem sido apontado como importante para a fertilidade

masculina, tendo um evidente papel na proliferação ou diferenciação das células germinativas [55].

A expressão gênica do *Hif1 $\alpha$*  foi menor no SHR-HIIT que nos demais grupos. A proteína HIF1 $\alpha$  é um fator que medeia resposta adaptativa à hipóxia tecidual e é um gene constitutivamente expresso nos testículos e aumenta em resposta à isquemia testicular [56]. Em situações com baixa tensão de oxigênio essa proteína é transportada para o núcleo, forma um heterodímero com o HIF1 $\beta$  e aumenta a expressão de vários genes, dentre eles o *Vegf*. [57]. É possível que o HIIT tenha aumentado o fluxo sanguíneo testicular e a oferta de oxigênio. Sabe-se que a proteína do HIF1 $\alpha$  está presente em ratos normotensos porque o testículo trabalha em ambiente com baixa tensão de oxigênio [39].

Concluimos que o HIIT por oito semanas preveniu uma diminuição na motilidade espermática de ratos hipertensos e no número de células germinativas e de Sertoli e que a hipertensão diminuiu a expressão gênica relativa de fatores angiogênicos.

O presente trabalho contribui para um maior conhecimento sobre os efeitos da hipertensão na reprodução masculina e apresenta uma alternativa de treinamento físico para minimizar esses efeitos, apresentando uma melhora funcional, embora nenhuma melhora molecular tenha sido observada. Como limitação do estudo, observamos que o rato Kyoto-Wistar, embora seja o melhor modelo de controle normotenso para esse delineamento experimental, observa-se ainda uma diferença de tamanho e peso com os SHR. Mais estudos são necessários para verificar outros parâmetros reprodutivos que podem ser afetados pela hipertensão e responder ao HIIT.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro (Processo nº 2018/22682-0) e ao CNPq pela bolsa de PIBIC-EM.

**REFERÊNCIAS**

1. MILLS, K. T.; STEFANESCU, A.; HE, J. The global epidemiology of hypertension. **Nature Reviews Nephrology**, v. 16, n. 4, p. 223–237, abr. 2020.
2. UNGER, T. *et al.* 2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. **Hypertension**, v. 75, n. 6, p. 1334–1357, jun. 2020.
3. LEITOLIS, A. *et al.* High-Salt Intake Reduces Apomorphine-Induced Penile Erection and Increases Neurally Mediated Contractile Responses of the Cavernosal Smooth Muscle in Rats. **American Journal of Hypertension**, v. 32, n. 12, p. 1206–1213, 15 nov. 2019. Disponível em:  
<<https://academic.oup.com/ajh/article/32/12/1206/5581396>>.
4. MILLS, K. T. *et al.* Global Disparities of Hypertension Prevalence and Control. **Circulation**, v. 134, n. 6, p. 441–450, ago. 2016.
5. EISENBERG, M. L. *et al.* Relationship between semen production and medical comorbidity. **Fertility and Sterility**, v. 103, n. 1, p. 66–71, jan. 2015. Disponível em:  
<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028214022687>>.
6. GUO, D. *et al.* Hypertension and Male Fertility. **The world journal of men's health**, v. 35, n. 2, p. 59–64, ago. 2017.
7. MUCIACCIA, B. *et al.* Higher clusterin immunolabeling and sperm DNA damage levels in hypertensive men compared with controls. **Human Reproduction**, v. 27, n. 8, p. 2267–2276, 1 ago. 2012. Disponível em:  
<<http://humrep.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/humrep/des173>>.
8. KASMAN, A. M. *et al.* Male Infertility and Future Cardiometabolic Health: Does the Association Vary by Sociodemographic Factors? **Urology**, v. 133, p. 121–128, 2019.
9. AUBUCHON, M.; DROBNIS, E. Z. Adverse Effects of Drugs on Male Reproduction.

- In: **Bioenvironmental Issues Affecting Men's Reproductive and Sexual Health**.  
[s.l.] Elsevier, 2018. p. 221–241.
10. WU, N. N. *et al.* Physical Exercise and Selective Autophagy: Benefit and Risk on Cardiovascular Health. **Cells**, v. 8, n. 11, p. 1436, nov. 2019.
  11. O'KEEFE, J. H. *et al.* Potential Adverse Cardiovascular Effects From Excessive Endurance Exercise. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 87, n. 6, p. 587–595, jun. 2012.  
Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619612004739>>.
  12. CIOLAC, E. G. *et al.* Effects of high-intensity aerobic interval training vs. moderate exercise on hemodynamic, metabolic and neuro-humoral abnormalities of young normotensive women at high familial risk for hypertension. **Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension**, v. 33, n. May, p. 836–843, 2010.
  13. CIOLAC, E. G. *et al.* Heart rate response to exercise and cardiorespiratory fitness of young women at high familial risk for hypertension: effects of interval vs continuous training. **European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology**, v. 18, n. 6, p. 824–830, 2011.
  14. TJONNA, A. E. *et al.* Aerobic Interval Training Versus Continuous Moderate Exercise as a Treatment for the Metabolic Syndrome: A Pilot Study. **Circulation**, v. 118, n. 4, p. 346–354, 22 jul. 2008. Disponível em:  
<<http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.772822>>.
  15. BILLAT, L. V. Interval Training for Performance: A Scientific and Empirical Practice. **Sports Medicine**, v. 31, n. 2, p. 75–90, 2001. Disponível em:  
<<http://link.springer.com/10.2165/00007256-200131020-00001>>.

16. GIBALA, M. J.; JONES, A. M. Physiological and Performance Adaptations to High-Intensity Interval Training. In: [s.l: s.n.]p. 51–60.
17. HARAM, P. M. *et al.* Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. **Cardiovascular Research**, v. 81, n. 4, p. 723–732, 20 dez. 2008. Disponível em: <<http://cardiovascres.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/cvr/cvn332>>.
18. MOREIRA, J. B. N. *et al.* High- versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 114, n. 8, p. 1029–41, abr. 2013.
19. ROSSONI, L. V. *et al.* Cardiac benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 29, n. 12, p. 2349–2358, dez. 2011. Disponível em: <<http://journals.lww.com/00004872-201112000-00011>>.
20. OKOSHI, K. *et al.* Improved Systolic Ventricular Function With Normal Myocardial Mechanics in Compensated Cardiac Hypertrophy. **Japanese Heart Journal**, v. 45, n. 4, p. 647–656, 2004.
21. SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. **Mikroskopie**, v. 26, n. 1, p. 57–60, jun. 1970.
22. SEED, J. *et al.* Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: a consensus report. ILSI Risk Science Institute Expert Working Group on Sperm Evaluation. **Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)**, v. 10, n. 3, p. 237–44, 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8738562>>.
23. FILLER, R. Methods for Evaluation of Rat Epididymal Sperm Morphology. In: **Male Reproductive Toxicology**. [s.l.] Elsevier, 1993. p. 334–343.
24. LEBLOND, C. P.; CLERMONT, Y. Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the ?periodic acid-fuchsin sulfurous acid? technique.

- American Journal of Anatomy**, v. 90, n. 2, p. 167–215, mar. 1952.
25. ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear population from microtome sections. **The Anatomical Record**, v. 94, n. 2, p. 239–247, fev. 1946.
26. FRANÇA, L. R.; GODINHO, C. L. Testis Morphometry, Seminiferous Epithelium Cycle Length, and Daily Sperm Production in Domestic Cats (*Felis catus*). **Biology of Reproduction**, v. 68, n. 5, p. 1554–1561, maio 2003.
27. CREASY, D. *et al.* Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Male Reproductive System. **Toxicologic Pathology**, v. 40, n. 6\_suppl, p. 40S-121S, ago. 2012.
28. KOSHIDA, H.; TAKEDA, R.; MIYAMORI, I. Lisinopril decreases plasma free testosterone in male hypertensive patients and increases sex hormone binding globulin in female hypertensive patients. **Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension**, v. 21, n. 4, p. 279–82, dez. 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9877521>>.
29. FOGARI, R. *et al.* Effect of antihypertensive treatment with valsartan or atenolol on sexual activity and plasma testosterone in hypertensive men. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 58, n. 3, p. 177–180, 1 jun. 2002b. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00228-002-0456-3>>.
30. LEE, D. *et al.* Mortality trends in the general population: the importance of cardiorespiratory fitness. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 24, n. 4 Suppl, p. 27–35, 2010.
31. LEE, I. M. *et al.* Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: An analysis of burden of disease and life expectancy. **The Lancet**, v. 380, n. 9838, p. 219–229, 2012.
32. ROQUE, F. R. *et al.* Exercise Training and Cardiometabolic Diseases: Focus on the

- Vascular System. **Current Hypertension Reports**, v. 15, n. 3, p. 204–214, 22 jun. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11906-013-0336-5>>.
33. BARAZANI, Y. *et al.* Lifestyle, Environment, and Male Reproductive Health. **Urologic Clinics of North America**, v. 41, n. 1, p. 55–66, fev. 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0094014313000943>>.
34. SHARMA, R. *et al.* Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 11, n. 1, p. 66, 2013. Disponível em: <<http://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7827-11-66>>.
35. GOMES, M.; FREITAS, M. J.; FARDILHA, M. Physical Activity, Exercise, and Mammalian Testis Function: Emerging Preclinical Protein Biomarker and Integrative Biology Insights. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, v. 19, n. 9, p. 499–511, set. 2015. Disponível em: <<http://online.liebertpub.com/doi/10.1089/omi.2015.0065>>.
36. SAFARINEJAD, M. R.; AZMA, K.; KOLAH, A. A. The effects of intensive, long-term treadmill running on reproductive hormones, hypothalamus-pituitary-testis axis, and semen quality: a randomized controlled study. **Journal of Endocrinology**, v. 200, n. 3, p. 259–271, 12 dez. 2008. Disponível em: <<http://joe.endocrinology-journals.org/cgi/doi/10.1677/JOE-08-0477>>.
37. WISE, L. A. *et al.* Physical activity and semen quality among men attending an infertility clinic. **Fertility and Sterility**, v. 95, n. 3, p. 1025–1030, mar. 2011. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028210027767>>.
38. BELANGER, M. P. *et al.* Effect of Hypertension on Reproductive Organ Weights in Various Strains of Rats. **Contemporary Topics in Laboratory Animal Science**, v. 42, p. 39–41, 2003.
39. COLLI, L. G. *et al.* Systemic arterial hypertension leads to decreased semen quality and alterations in the testicular microcirculation in rats. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1,

- p. 11047, 30 dez. 2019. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-019-47157-w>>.
40. TOLOUEI AZAR, J. *et al.* The effect of different types of exercise training on diet-induced obesity in rats, cross-talk between cell cycle proteins and apoptosis in testis. **Gene**, v. 754, p. 144850, set. 2020.
41. L., P. No Title. **Physiology & Behavior**, v. 51, p. 99–104, 1991.
42. DIDION, S. P. **Cellular and oxidative mechanisms associated with interleukin-6 signaling in the vasculature** **International Journal of Molecular Sciences**, 2017.
43. GUZIK, T. J.; TOUYZ, R. M. Oxidative Stress, Inflammation, and Vascular Aging in Hypertension. **Hypertension**, v. 70, n. 4, p. 660–667, out. 2017. Disponível em: <<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.07802>>.
44. HANDY, D. E.; LOSCALZO, J. **Responses to reductive stress in the cardiovascular system** **Free Radical Biology and Medicine**, 2017.
45. MICHAEL D. GRISWOLD. Interactions between Germ Cells and Sertoli Cells in the Testis. **BIOLOGY OF REPRODUCTION**, v. 52, p. 211–216, 1995.
46. FIGUEIREDO, A. F. A. *et al.* Sertoli cells are capable of proliferation into adulthood in the transition region between the seminiferous tubules and the rete testis in Wistar rats. **Cell Cycle**, v. 15, n. 18, p. 2486–2496, 2016.
47. TARULLI, G. A.; STANTON, P. G.; MEACHEM, S. J. Is the Adult Sertoli Cell Terminally Differentiated?1. **Biology of Reproduction**, v. 87, n. 1, p. 1–11, 2012.
48. JOHNSEN, S. G. Testicular Biopsy Score Count – A Method for Registration of Spermatogenesis in Human Testes: Normal Values and Results in 335 Hypogonadal Males. **Hormone Research in Paediatrics**, v. 1, n. 1, p. 2–25, 1970.
49. ANDREOLLO, N. A. *et al.* Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação? **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 25, n. 1, p. 49–

- 51, mar. 2012.
50. ZHANG-JAMES, Y.; MIDDLETON, F. A.; FARAONE, S. V. Genetic architecture of Wistar-Kyoto rat and spontaneously hypertensive rat substrains from different sources. **Physiological Genomics**, 2013.
51. CAIRES, K. C.; DE AVILA, J.; MCLEAN, D. J. Vascular endothelial growth factor regulates germ cell survival during establishment of spermatogenesis in the bovine testis. **Reproduction**, 2009.
52. LU, N. *et al.* Loss of Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGFA) Isoforms in the Testes of Male Mice Causes Subfertility, Reduces Sperm Numbers, and Alters Expression of Genes That Regulate Undifferentiated Spermatogonia. **Endocrinology**, v. 154, n. 12, p. 4790–4802, dez. 2013. Disponível em: <<https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/en.2013-1363>>.
53. POTTER, S. J.; DEFALCO, T. Role of the testis interstitial compartment in spermatogonial stem cell function. **Reproduction**, v. 153, n. 4, p. R151–R162, abr. 2017. Disponível em: <<https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/153/4/R151.xml>>.
54. SCHMIDT, J. A.; DE AVILA, J. M.; MCLEAN, D. J. Effect of Vascular Endothelial Growth Factor and Testis Tissue Culture on Spermatogenesis in Bovine Ectopic Testis Tissue Xenografts. **Biology of Reproduction**, 2006.
55. REDDY, N. *et al.* Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) transcript and protein in the testis of several vertebrates, including endangered species. **Theriogenology**, v. 77, n. 3, p. 608–614, fev. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0093691X11004560>>.
56. LYSIAK, J. J. *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  is constitutively expressed in murine Leydig cells and regulates 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 promoter

activity. **Journal of Andrology**, 2009.

57. REY, S.; SEMENZA, G. L. **Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodelling** **Cardiovascular Research**, 2010.

Figura 1. Delineamento experimental do treinamento intervalado de alta Intensidade (HIIT), em que o grupo SHR-HIIT foi submetido.

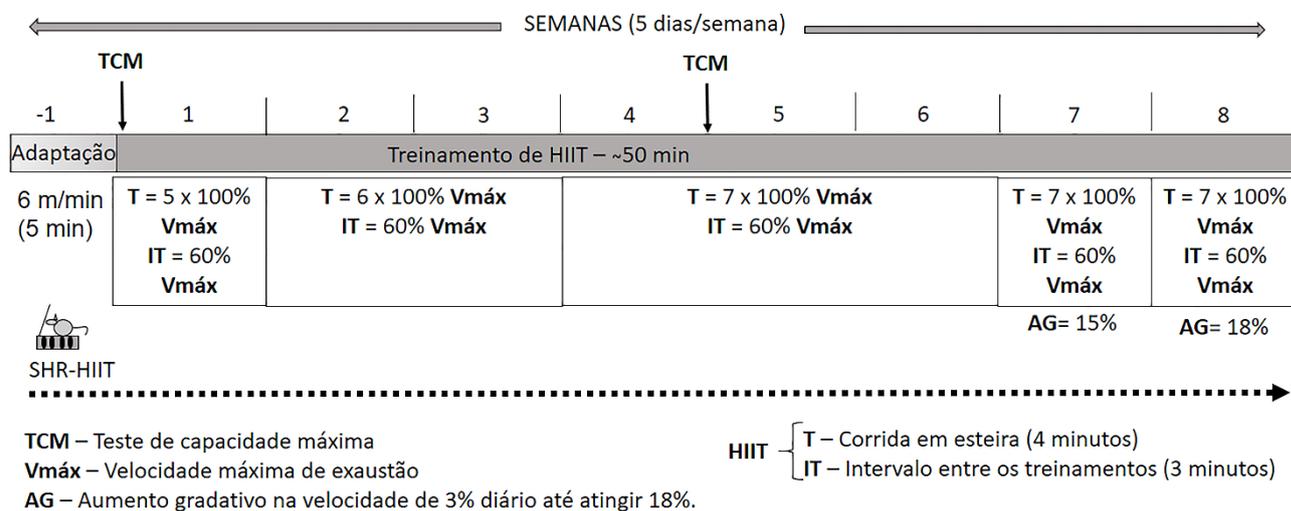


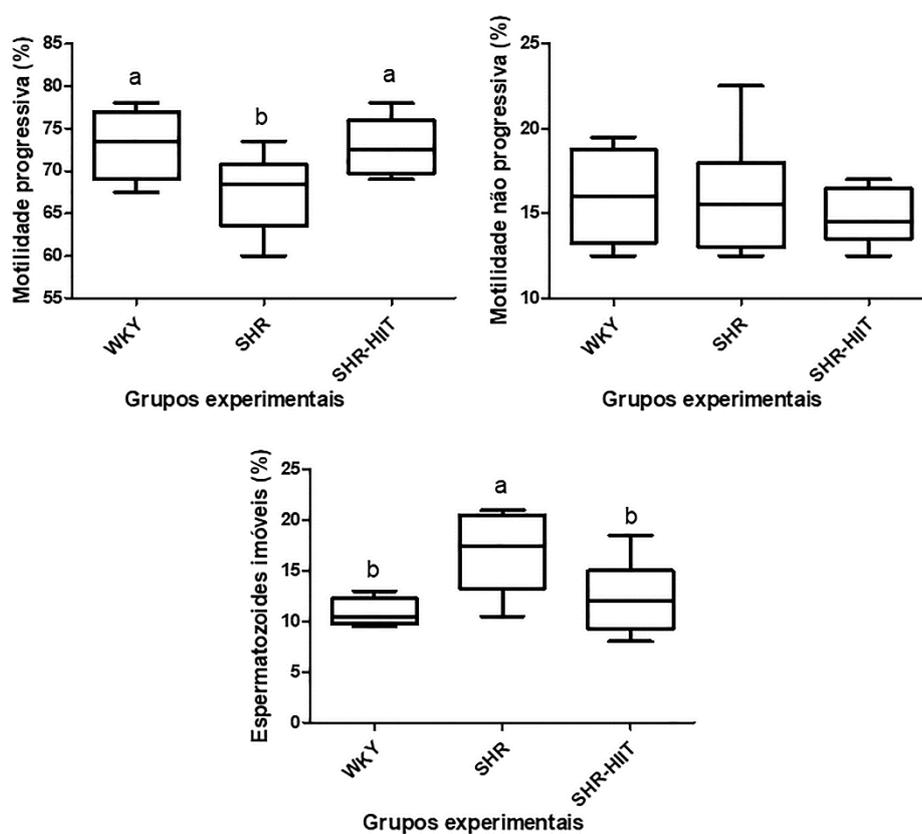
Tabela 1. Médias  $\pm$  erros padrões da média dos pesos corporais, ganhos de pesos dos animais, peso relativo dos órgãos reprodutivos e a normalização do peso do testículo com o comprimento ósseo da Tíbia, dos ratos dos seguintes grupos experimentais: WKY (controle Wistar-Kyoto, sem hipertensão, n=5); SHR (ratos espontaneamente hipertensos, n=9); e SHR-HIIT (ratos espontaneamente hipertensos submetidos ao treinamento HIIT em esteira, n=10).

	<b>WKY</b>	<b>SHR</b>	<b>SHR-HIIT</b>
Peso corporal final (g)	589,16 $\pm$ 11,93 <sup>a</sup>	414,33 $\pm$ 13,06 <sup>b</sup>	356,58 $\pm$ 9,68 <sup>c</sup>
Ganho de peso (g)	151,60 $\pm$ 15,46 <sup>a</sup>	100,56 $\pm$ 13,60 <sup>b</sup>	41,25 $\pm$ 9,20 <sup>c</sup>
Epidídimos	0,13 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,17 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,18 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
Ductos deferentes	0,027 $\pm$ 0,0015	0,029 $\pm$ 0,0010	0,041 $\pm$ 0,0104
Testículos	0,33 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,42 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	0,48 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>
Testículo(mg)/Tíbia(cm)	34,43 $\pm$ 3,682	35,15 $\pm$ 6,042	36,48 $\pm$ 4,694

ANOVA seguida do Teste de Tukey. Letras diferentes representam diferenças na mesma linha (P<0,05).  
 Peso relativo dos órgãos = peso do órgão (g) / peso do animal (g) x 100

Figura 2. Motilidade espermática em três grupos experimentais: WKY (controle ratos Wistar-Kyoto, sem hipertensão, n=5); SHR (ratos espontaneamente hipertensos, n=8); e SHR-HIIT (ratos espontaneamente hipertensos submetidos ao treinamento HIIT em esteira, n=10).

AQUI PEDIRAM PARA COLOCAR LETRAS NOS GRÁFICOS A, B e C



ANOVA seguida de Tukey. Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os grupos ( $P < 0,05$  na motilidade progressiva e  $P < 0,01$  nos espermatozoides imóveis).

Tabela 2. Número de espermatozoides que apresentaram defeitos de cabeça (formato de alfinete e sem cauda), defeitos de cauda (cauda enrolada e cauda quebrada ou sem cabeça) e sem defeito. Em três grupos experimentais: WKY (ratos Wistar-Kyoto, sem hipertensão, n=5); SHR (ratos espontaneamente hipertensos, n=8); e SHR-HIIT (ratos espontaneamente hipertensos submetidos ao treinamento HIIT em esteira, n=10).

	WKY	SHR	SHR-HIIT
Com defeito			
cabeça alfinete	12,60±1,17	14,25±1,72	12,80±1,31
sem cabeça	6,00±1,38	5,75±1,05	5,10±0,46
cauda enrolada	30,80±4,10	36,00±3,91	29,30±3,24
cauda quebrada	3,80±0,97	3,25±0,53	3,30±0,73
Normal	146,80±5,45	140,75±6,27	149,60±3,76

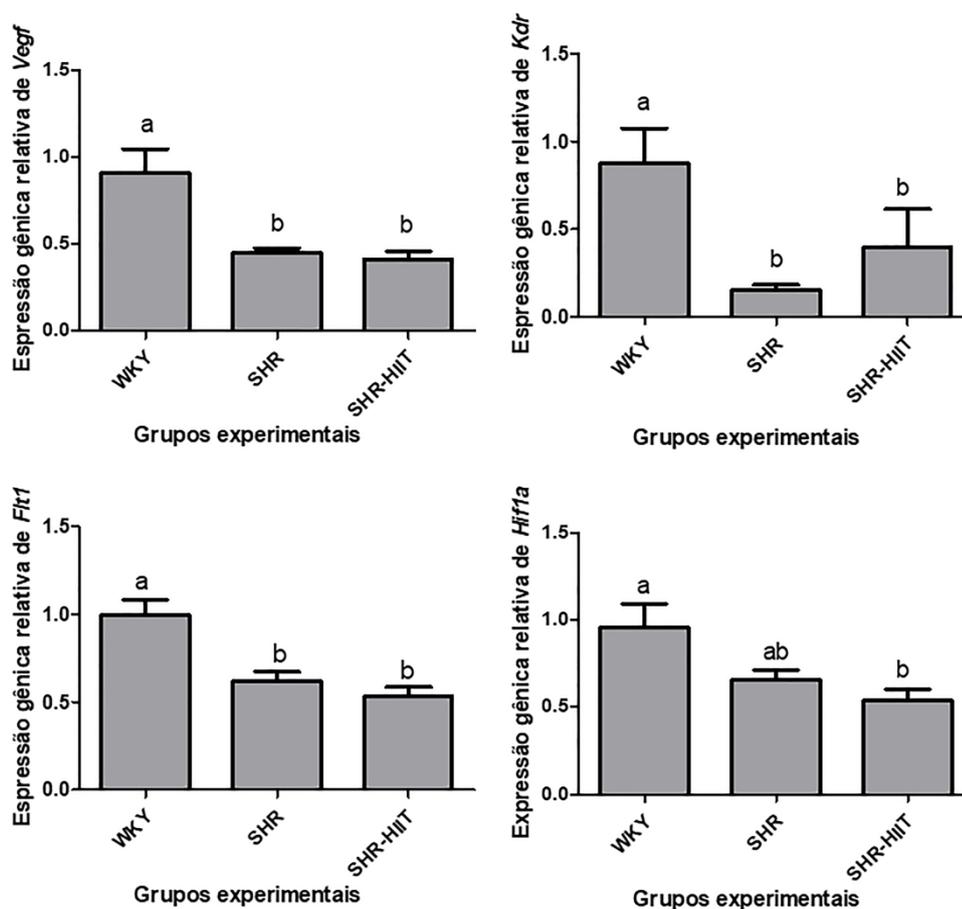
Não houve diferença entre os grupos, ANOVA (P>0,05).

Tabela 3 – Análise dos estágios do ciclo do epitélio seminífero, contagem de células de Sertoli, células germinativas e índices, em três grupos experimentais: WKY (controle ratos Wistar-Kyoto, sem hipertensão, n=5); SHR (ratos espontaneamente hipertensos, n=8); e SHR-HIIT (ratos espontaneamente hipertensos submetidos ao treinamento HIIT em esteira, n=10).

Parâmetro	WKY	SHR	SHR-HIIT
<b>Estágios da espermatogênese (%)*</b>			
Estágio I-VI	16 (15.5-21.5)	24 (17-35)	16.5 (14.75-24.75)
Estágio VII- VIII	41 (38.5-52)	39 (34-44.5)	43.5 (37-45.75)
Estágio IX-XIII	43 (26.5-46)	37 (29.5-45)	40 (36-41.25)
Estágio XIV	0	0	0 (0-0.25)
<b>Contagem celular e Índices**</b>			
Células de Sertoli	20.7 (19-21.95) <sup>a</sup>	19.2 (18.8-19.65) <sup>a</sup>	26.2 (24.98-27.88) <sup>b</sup>
Espermatogônias	42.2 (41.85-44.4) <sup>ab</sup>	40.8 (39.2-41.9) <sup>a</sup>	54.2 (50.8-57.8) <sup>b</sup>
Espermátides arredondadas	143.8 (97.25-150.1) <sup>a</sup>	121.3 (112.-125.4) <sup>a</sup>	176.3 (163.2-189.6) <sup>b</sup>
Espermatócitos	64.3 (61.4-66.4) <sup>ab</sup>	55.5 (53.35-58.25) <sup>a</sup>	78.75 (75.53-79.5) <sup>b</sup>
Rendimento espermático	3.44 (3.21-3.68) <sup>a</sup>	2.97 (2.90-3.03) <sup>b</sup>	3.21 (3.02-3.55) <sup>ab</sup>
Índice células de Sertoli	6.99 (6.44-8.30)	6.25 (5.85-6.77)	6.63 (6.16-7.30)
Índice mitótico	1.48 (1.10-1.55)	1.36 (1,32-1,38)	1.42 (1.37-1.52)
Índice meiótico	2.25 (2.17-2.49)	2.15 (2.08-2.33)	2.22 (2.14-2.42)

Valores expressos como mediana (Q1-Q3), teste de Kruskal-Wallis com posterior teste de Dunn. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa (p<0,05)

Figura 3. Expressão gênica relativa dos genes alvo (*Vegfa*, *Kdr*, *Flt1* e *Hif1 $\alpha$* ) pelo gene referência *Hprt1* no testículo de ratos dos seguintes grupos: WKY (controle ratos Wistar-Kyoto, sem hipertensão, n=5); SHR (ratos espontaneamente hipertensos, n=8); e SHR-HIIT (ratos espontaneamente hipertensos submetidos ao treinamento HIIT em esteira, n=10).



ANOVA seguida de Tukey. Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os grupos ( $P < 0,01$ ).

## ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

17/05/2020

Certificado

### UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação  
PROBIC - Programa de Bolsas de Iniciação Científica

### Parecer Final

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "EFEITO DO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE A MORFOLOGIA ESPERMÁTICA E ESPERMATOGÊNESE DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número n° 4418 e tendo como participante(s) MARGARETE JARDINETTI DE OLIVEIRA (discente), KATIA CRISTINA DE MELO TAVARES VIEIRA (discente), ALINE DE OLIVEIRA SANTOS (discente), GISLAINE DA SILVA RODRIGUES (discente), RODOLFO DAHLEM MELO (discente), PAULO HENRIQUE GUILHERME BORGES (discente), CLEONICE TREVISAN (técnico participante), CALIE CASTILHO SILVESTRE (docente), FRANCIS LOPES PACAGNELLI (docente), ANA PAULA ALVES FAVARETO (docente), INES CRISTINA GIOMETTI CEDA (orientador responsável), foi avaliado e APROVADO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Este Projeto de Pesquisa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n° 11.794, de 8 de Outubro de 2008, do Decreto n° 6.899, de 15 de Julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido APROVADO em reunião realizada em 14/03/2018.

Vigência do projeto: 07/2018 a 03/2020.

ANIMAL VIVO					
Especie/Linhagem	N° de Animais	Peso	Idade	Sexo	Origem
ratos SHR e ratos Wistar-Kyoto	25	250 gramas	4 meses	M	Unicamp

Presidente Prudente, 6 de Abril de 2018.

Prof. Dr. Luiz Rodrigues Garcia Jr.  
Coordenador Científico da CPDI

Prof. Ms. Adriana Faloni de Brito  
Coordenadora da CEUA - UNOESTE

Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação - CPDI - 18 3225-2070 - cpdi@unoeste.br  
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP - 18 3225-2079 - cep@unoeste.br  
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA - 183225-2079 - ceua@unoeste.br

valide este documento em [www.unoeste.br/sgp](http://www.unoeste.br/sgp) informando o código de segurança: 63a1f980b1a4e8339bf99b79d6351d4e

<https://www.unoeste.br/SGP/certificados/ver.asp?h=63a1f980b1a4e8339bf99b79d6351d4e>

1/1

## ANEXO B – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIENTÍFICA JOURNAL OF HYPERTENSION

# Journal of Hypertension: Open Access

ISSN: 2167-1095

Open Access  
Impact factor: 4.209

Submit Manuscript  
+44 1477412632

### Instructions for Authors



**Journal of Hypertension: Open Access**, provides the rapid publication of articles in all areas related to Hypertension, Hypertensive retinopathy, renal hypertension, Secondary hypertension, hypertension treatment, hypertensive heart disease, blood pressure, Pediatric hypertension, Angiotensin and Malignant hypertension etc. Journal of Hypertension welcomes the submission of manuscripts that meet the general criteria of significance and scientific excellence.

Submit manuscript at [www.scholarscentral.org/submissions/hypertension-open-access.html](http://www.scholarscentral.org/submissions/hypertension-open-access.html) or send as an e-mail attachment to the Editorial Office at [submissions@hilarispublisher.com](mailto:submissions@hilarispublisher.com)

### Policy Regarding the Funded Articles

Journal of Hypertension: Open Access supports authors by posting the published version of articles by NIH grant-holders and European or UK-based biomedical or life sciences grant holders to PubMed Central immediately after publication.

### Article Processing Charges

Journal of Hypertension: Open Access is a self supporting organization and does not receive funding from any institution/government. Hence, the operation of the Journal is solely financed by the handling fees received from authors and some academic/corporate sponsors. The handling fees are required to meet maintenance of the journal. Being an Open Access Journal, Journal of Hypertension: Open Access does not receive payment for subscription, as the articles are freely accessible over the internet. Authors of articles are required to pay a fair handling fee for processing their articles. However, there are no submission charges. Authors are required to make payment only after their manuscript has been accepted for publication.

Manuscript Type	Article Processing Charges
	EURO
Regular Articles	2019
Special Issue Article	2019

The basic article processing fee or manuscript handling cost is as per the price mentioned above on the other hand it may vary based on the extensive editing, colored effects, complex equations, extra elongation of no. of pages of the article, etc.

### Articles Categories

The Journal of Hypertension: Open Access is a scholarly research journals and it considers various types of articles for publication such as:

**Research Article:** A research article is a primary source. It reports the original study performed by the authors. A Results and Discussion section describes the outcomes of the data analysis. Charts and graphs illustrating the results are typically included followed by conclusion and References. The word limit for a research article should be 1500-6000. Each article should possess a section “Conflict of Interest”.

**Review Articles:** A review article is an article that summarizes the current state of understanding on a topic. A review article surveys and summarizes previously published studies, rather than reporting new facts or analysis. The preferable word count for review article should be 2500-9500. Review articles must explain:

- Recent major advances and discoveries
- Significant gaps in the research
- Current debates
- Ideas of where research might go next

**Case Reports:** Case reports are professional narratives that provide feedback on clinical practice guidelines and offer a framework for early signals of effectiveness and adverse events. They can be shared for medical, scientific, or educational purposes. It is a detailed report of the symptoms, signs, diagnosis, treatment, and follow-up of an individual patient. The word count for the case report will be 1000-2000. Case studies without proper discussion are not accepted for publication.

**Commentaries/Perspectives:** Perspective, opinion, and commentary articles are scholarly articles which express a personal opinion or a new perspective about existing research on a particular topic. The word limit for the Commentaries/perspectives should not be more than 1000-1800.

**Editorials:** Editorials are expert opinions on a specific field where the specialist is able to predict and analyze the future trends based on the current developments. Editorials are generally written by senior scientists, distinguished academicians and noble laureates that have extensive command over the field. The word limit for the editorials should not be more than 900-1200. Short Communication Short Communication is a description, viewpoints, and observations of the author referring facts, findings from other studies and writes a critical and brief analysis that would not exceed 500-1000 words.

**Letters to the Editors:** Letters to the Editors are reader’s views, opinions, comments, suggestions on various articles published in the journal. Often ‘Letters to the Editor’ elaborate, question, analyze and add value to the study. Letters to the Editors should not exceed 500-1000 words.

**Disputes:** All the disputes related to copyright violation and scientific misconduct will be thoroughly examined and if proved guilty, the Editor in Chief can reject or blacklist the author/writings.

### **Manuscript Submission**

Journal of Hypertension: Open Access follows a prescribed set of article types with a specific format for manuscript. Type the entire manuscript, including figure legends, tables, and references, in font 12, in Times New Roman, double-spaced using Microsoft Word. Leave 1-inch margins on all sides. Manuscripts should be written succinctly and should cite select references that are directly relevant. For guidance on length of each article, see section on article types below.

### **Covering Letter**

Covering Letter is declaration of the corresponding author stating that the manuscript is original in all aspects and it is not published or under consideration for publication with any other publisher. The declaration must also include a statement that the study did not violate any national or international laws on human, animal and environmental rights. All the other authors that have contributed for the study are bound to obey the declaration signed by the corresponding author.

### **Title page**

The title page must display the complete title of the study reflecting its overall objective followed by the complete list of all authors' with their full names, affiliations; an abbreviated title for the running head (not to exceed 50 characters, including spaces); name and address of corresponding author, contact telephone, fax number, and e-mail address. Where necessary, identify each author's affiliation by superscript numbers matched to the appropriate institution. The subsequent pages furnish and unfold the study. The manuscript must be clearly demarcated with the sub-headings, stated in Arabic numbers. Each and every page of the manuscript must be thoroughly numbered on top right corner of the page.

### **Abstract and Keywords**

The manuscript must begin with an abstract of not more than 500 words that captures the entire summary of the study, including its scope, methodology, findings, conclusion and limitations. At least five important terminologies reflecting the theme of the manuscript must be placed as keywords at the end of the abstract.

### **Introduction**

All the manuscripts must start with an introduction to begin with, which sets the tone and the foundation for the study. Introduction provides basic information of the study by referring similar such studies elsewhere. Introduction briefly discusses various key aspects of the study, raising valid and important questions, which may be answered subsequently as the study progresses.

### **Methods and Materials**

Methods and materials section discusses the research methods deployed to conduct the study, including the sample size and technique. It also discusses the tools used for the data collection, and interpretation.

## **Results**

The author draws various conclusions by analyzing the information extracted by analyzing the data elicited from the study. These are findings that the author/s would get at the end, may or may not coincide with the hypothesis set by the author/s at the beginning of the study.

## **Discussion and Analysis**

The collected information is analyzed statistically by applying various relevant formulas that are universally acceptable and the data is analyzed to produce observations and statements that are backed by valid evidences. This part of the manuscript generally represents tables, graphs, diagrams, charts that reinforce the values and information discussed in the manuscript as text.

## **Tables, Figures, Graphs and Diagrams**

All the tables, graphs, diagrams and images provided in the text must have captions and legends, indicating their appropriate location in the manuscript. All the tables must be presented in the numerical order in Excel format, charts and diagrams must be presented in excel/word format and the images, diagrams and pictures must be presented in jpeg format.

## **Conclusion**

Conclusions are generally drawn from the findings that are summarized at the end to draw valid findings of the study.

## **Limitations & Recommendations for Future Studies**

Authors must define and state the limitations if any within the scope of the study and must clearly state it to avoid confusions. Authors must also suggest recommendations for future studies on this area.

## **References**

This is an important part of the manuscript where author/s cites the source of the information referred in the manuscript to avoid copyright violation. The Advanced Practices in Nursing follows Chicago style of referencing. Author/s must carefully arrange the references as stated below.

**Article with single author:** Last Name, First Name. "Article Title." *Journal Short Name* in italics Volume Number (Year Published): Page Numbers. E.g. Smith, John. "Studies in Pop Rocks and Coke." *Weird Science* 12 (2009): 78-93.

**For an article written by two or more authors:** List them in order as they appear in the journal. Only the first author's name should be reversed, while the others are written in normal order. Separate author names with a comma and place 'and' between last two authors.

E.g. Smith, John, and Jane Doe. “Studies in Pop Rocks and Coke.” *Weird Science* 12 (2009): 78-93.

E.g. Smith, John, Austin Kaufmann, and Jane Doe. “Studies in Pop Rocks and Coke.” *Weird Science* 12 (2009): 78-93.

**For more than 4 authors:** E.g. Smith, John, Austin Kaufmann, Jennifer Monroe, and Jane Doe, *et al.* “Studies in Pop Rocks and Coke.” *Weird Science* 12 (2009): 78-93.

**Citation of book:** Grazer, Brian, and Charles Fishman. *A Curious Mind: The Secret to a Bigger Life*. New York: Simon & Schuster, USA, 2015.

**Citing News or magazine article:** Farhad, Manjoo. “Snap Makes a Bet on the Cultural Supremacy of the Camera.” *New York Times*, March 8, 2017.

**Book review:** Michiko, Kakutani. “Friendship Takes a Path that Diverges.” Review of *Swing Time*, by Zadie Smith, *New York Times*, November 7, 2016.

**Thesis or Dissertation:** Cynthia, Lillian Rutz. “King Lear and its Folktale Analogues.” PhD Diss., University of Chicago, (2013): 99–100.

For more details on Chicago reference style please refer to <https://libguides.murdoch.edu.au/Chicago>

## Acknowledgements

Author/s must acknowledge all the persons, institutions, organizations and the funding agencies that are resourceful in conducting the study.

## Conflict of Interest

Authors must clearly disclose commercial associations that might create a conflict of interest in connection with submitted manuscripts and must give credit to any ghostwriters involved in the writing of the manuscript. This statement should include appropriate information for EACH author, thereby representing that competing financial interests of all authors have been appropriately disclosed.

## Appendix

Authors can share all the supplementary information that they could not share in the manuscript as appendix. Appendix also carries questionnaires, guidelines, and the universal standards followed in conducting studies involving animals.

## Abbreviations

A bridged technical terms and jargons used in the study are expanded and must be placed at the end of the study for clear understanding of the readers.

## License and Copyright

The type of use is dependent on user license. The author retains the copyright and grants publishing rights to the publisher. Creative Commons License CC BY-NC-ND 4.0 allows articles to be read and shared online with certain conditions such as the original source must be cited and the research work may not be used for commercial purposes. Derivatives such as article translations and adaptations should not be distributed. Certain requirements by the funder are conformed by applying the Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0) as per the requirement.