UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Pós-Graduação Senso Estrito da Faculdade de Medicina
Programa de Fisiopatologia Experimental

Nathalia Bernardes

Mecanismos associados ao desenvolvimento das complicações cardiometabólicas em SHR
submetidos à sobrecarga de frutose: papel do treinamento físico aeróbio

São Paulo
2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Pós-Graduação Senso Estrito da Faculdade de Medicina
Programa de Fisiopatologia Experimental

Nathalia Bernardes

Mecanismos associados ao desenvolvimento das complicações cardiometabólicas em SHR
submetidos à sobrecarga de frutose: papel do treinamento físico aeróbico

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo, para obtenção do
título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Fisiopatologia
Experimental

Orientador: Profa. Dra. Kátia de Angelis
Lobo D'Avila.

São Paulo
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Bernardes, Nathalia

Mecanismos associados ao desenvolvimento das complicações cardiometabólicas em SHR submetidos à sobrecarga de frutose : papel do treinamento físico aeróbio / Nathalia Bernardes. -- São Paulo, 2016.

Tese (doutorado) --Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Fisiopatologia Experimental.

Orientadora: Kátia de Angelis Lobo D'Avila.

Descritores: 1.Síndrome X metabólica 2.Barorreflexo 3.Exercício aeróbio
4.Frutose 5.Estresse oxidativo 6.Inflamação

USP/FM/DBD-097/16

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese a minha família. Aos meus pais, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade e honestidade. A família, que ilumina os caminhos com afeto e dedicação, para que eu possa os trilhar confiante e esperançosa. A família, que se doa e renuncia aos seus sonhos, para realizar os meus. A vocês, família por opção e amor, em gratidão, o que posso lhes oferecer são meu amor e orgulho eternos.

AGRADECIMENTOS

A minha família, a quem eu devo tudo! Obrigada a minha querida mãe Izabel Filipino Bernardes, ao meu amado pai Luis Roberto Bernardes, as minhas irmãs lindas Kátia Regina Bernardes e Paula Roberta Bernardes, e ao Pedro Gualda Auricchio pela alegria de viver.

Ao meu marido José Ricardo Auricchio, o meu companheiro, pelo inestimável apoio oferecido, pela sua força de vontade absurda e por tudo o que representa para mim.

À minha orientadora professora Kátia De Angelis pelo excepcional apoio, carinho e dedicação em 11 anos da minha vida, sem ela nada seria possível.

As professoras Maria Cláudia Irigoyen, Susana Francisca Llesuy e Adriane Belló-Klein, que acompanharam o meu percurso académico colaborando e inspirando com toda a graça e inteligência que transmitem.

Aos professores Vilma Lení Nista Piccolo e Edison de Jesus Manoel por todo apoio, inspiração e ensinamentos inestimáveis.

Aos amigos de Laboratório que se fizeram presentes e dispostos, expressei meu carinho e gratidão pelos momentos compartilhados diariamente, em especial aos queridos amigos Danielle da Silva Dias e Filipe Fernandes Conti, que não pouparam esforços para ajudar.

A todos os amigos, professores, técnicos, coordenadores, secretários e funcionários que direta ou indiretamente influenciaram minha vida, em especial a Janaina de Oliveira Brito pela amizade ao longo dos anos e a Iris Callado Sanches por sempre lembrar “se é Angelito, sempre dá certo no final”.

Ao apoio da Universidade de São Paulo, da Universidade Nove de Julho e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Aos ratinhos que fizeram parte da minha amostra experimental, pois eles tornaram este estudo possível.

A Deus por eu ter concluído mais uma fase da minha vida.

Muito obrigada! Não conquistamos nada sozinhos.

“A felicidade sempre está onde a colocamos”

Edison de Jesus Manoel

Sumário

SUMÁRIO

LISTAS DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	27
1.1. Consumo de Frutose Induz Disfunções Cardiometabólicas e Disautonomia	27
1.2. Mecanismos Associados às Complicações Cardiometabólicas	30
1.3. Efeitos do Treinamento Físico em Disfunções Cardiometabólicas	36
2. OBJETIVO	41
3. MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1. Amostra	43
3.2. Procedimentos	44
3.2.1. Sobrecarga de Frutose	44
3.2.2. Treinamento Físico Aeróbico e Teste de Esforço Máximo	45
3.2.3. Determinação das Concentrações Sanguíneas de Triglicerídeos	47
3.2.4. Medida da Glicose Sanguínea	48
3.2.5. Canulação e Registro de Pressão Arterial	48
3.2.6. Avaliação da Sensibilidade do Barorreflexo	50
3.2.7. Reatividade Vascular	52
3.2.8. Teste de Tolerância à Insulina	52
3.2.9. Eutanásia dos Animais	53
3.2.10. Insulina Plasmática	53
3.2.11. Mediadores Inflamatórios	54
3.2.12. Nitritos no Plasma	55
3.2.13. Marcadores de Estresse Oxidativo	55
3.2.13.1. Dosagem de Proteínas	56

3.2.13.2. Dosagem do Ânion Superóxido.....	56
3.2.13.3. Dosagem do Peróxido de Hidrogênio.....	57
3.2.13.4. Superóxido Dismutase (SOD)	57
3.2.13.5. Catalase (CAT)	58
3.2.13.6. Capacidade Antioxidante Total (TRAP)	59
3.2.13.7. Medida de Lipoperoxidação (TBARS)	60
3.2.13.8. Dosagem de Proteínas Oxidadas (Carbonilas)	60
3.3. Análise Estatística	61
4. RESULTADOS	63
4.1. CAPÍTULO I- Curso temporal das alterações induzidas pela sobrecarga de frutose em animais geneticamente predispostos à hipertensão (grupos C, H e HF).....	64
4.1.1. Peso Corporal	64
4.1.2. Triglicerídeos Sanguíneos, Glicemia e Insulina Plasmática.....	66
4.1.3. Teste de Tolerância à Insulina	69
4.1.4. Teste de Esforço Máximo.....	70
4.1.5. Pressão Arterial e Frequência Cardíaca.....	72
4.1.6. Avaliação da Sensibilidade Barorreflexa	76
4.1.7. Reatividade Vascular.....	80
4.1.8. Mediadores Inflamatórios no Tecido Adiposo Branco Retroperitoneal.....	84
4.1.9. Mediadores Inflamatórios no Baço	86
4.1.10. Nitritos Plasmáticos.....	88
4.1.11. Marcadores de Estresse Oxidativo	90
4.2. CAPÍTULO II: Curso temporal das alterações induzidas pelo treinamento físico aeróbico em animais com sobrecarga de frutose e geneticamente predispostos à hipertensão (grupos HF e HFT).....	97
4.2.1. Peso Corporal	97
4.2.2. Triglicerídeos Sanguíneos, Glicemia e Insulina Plasmática.....	99
4.2.3. Teste de Tolerância à Insulina	102
4.2.4. Teste de Esforço Máximo.....	103
4.2.5. Pressão Arterial e Frequência Cardíaca.....	105

4.2.6. Avaliação da Sensibilidade do Barorreflexo	108
4.2.7. Reatividade Vascular	111
4.2.8. Mediadores Inflamatórios no Tecido Adiposo Branco Retroperitoneal	112
4.2.9. Mediadores Inflamatórios no Baço	117
4.2.10. Nitritos Plasmáticos	120
4.2.11. Marcadores de Estresse Oxidativo	122
5. DISCUSSÃO	130
5.1. CAPÍTULO I	132
5.1.1. Perfil Metabólico e Capacidade Física	132
5.1.2. Parâmetros Cardiovasculares e Autonômicos	135
5.1.3. Parâmetros Inflamatórios	141
5.1.4. Parâmetros de Estresse Oxidativo	144
5.1.5. Sumário	147
5.2. CAPÍTULO II	151
5.2.1. Perfil Metabólico e Capacidade Física	151
5.2.2. Parâmetros Cardiovasculares e Autonômicos	154
5.2.3. Parâmetros Inflamatórios	158
5.2.4. Parâmetros de Estresse Oxidativo	162
5.2.5. Sumário	166
6. CONCLUSÃO	171
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	173
8. ANEXOS	202
8.1. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	202

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Peso corporal dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	65
Tabela 02	Triglicerídeos Sanguíneos, Glicemia e Insulina Plasmática nos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	67
Tabela 03	Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	69
Tabela 04	Tempo alcançado no teste de esforço máximo dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	71
Tabela 05	Pressão arterial e frequência cardíaca em repouso dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	74
Tabela 06	Sensibilidade barorreflexa avaliada pelas respostas bradicárdicas e taquicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	78
Tabela 07	Resposta da pressão arterial à fenilefrina nas doses de 0,5µg/ml e 8µg/ml dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	81
Tabela 08	Resposta da pressão arterial ao nitroprussiato de sódio nas doses de 2,5µg/ml e 20µg/ml dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	83
Tabela 09	Citocinas inflamatórias no baço dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias...	87
Tabela 10	Nitritos plasmáticos dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e	

	hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	89
Tabela 11	Concentração de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	91
Tabela 12	Perfil antioxidante dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	93
Tabela 13	Lipoperoxidação e oxidação de proteína no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	95
Tabela 14	Peso corporal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	98
Tabela 15	Triglicerídeos Sanguíneos, Glicemia e Insulina Plasmática dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	100
Tabela 16	Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	102
Tabela 17	Tempo alcançado nos testes de esforço dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	104
Tabela 18	Pressão arterial e frequência cardíaca em repouso dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	106
Tabela 19	Respostas bradicárdicas e taquicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	109
Tabela 20	Resposta da pressão arterial à fenilefrina nas doses de 0,5µg/ml e 8µg/ml dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	111

Tabela 21	Resposta da pressão arterial à fenilefrina nas doses de 0,5µg/ml e 8µg/ml dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	112
Tabela 22	Citocinas inflamatórias no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	114
Tabela 23	Citocinas inflamatórias no baço dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	118
Tabela 24	Nitritos plasmáticos dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	121
Tabela 25	Concentração de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio no plasma dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	123
Tabela 26	Perfil antioxidante plasmático dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	125
Tabela 27	Lipoperoxidação e oxidação de proteínas no plasma dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	127

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Sequência Experimental.....	44
Figura 02	Tratamento de D-frutose na água de beber.....	45
Figura 03	Teste de esforço máximo em esteira ergométrica adaptada.....	46
Figura 04	Treinamento físico aeróbio em esteira ergométrica adaptada.....	47
Figura 05	Aparelho utilizado para determinação de triglicerídeos.....	47
Figura 06	Aparelho utilizado para determinação da glicemia.....	48
Figura 07	Cânulas exteriorizadas no dorso do animal.....	50
Figura 08	Ilustração da conexão entre a cânula e o transdutor eletromagnético e do sistema de registro de pressão arterial.....	50
Figura 09	Registro da pressão arterial e frequência cardíaca antes e após a administração de drogas vasoativas.....	51
Figura 10	Injeção de insulina para teste de tolerância à insulina.....	53
Figura 11	Peso corporal dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	65
Figura 12	Triglicerídeos sanguíneos dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	68
Figura 13	Insulina plasmática dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	68
Figura 14	Teste de tolerância à insulina dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias...	70
Figura 15	Tempo alcançado no teste de esforço máximo dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	71

Figura 16	Frequência cardíaca em repouso dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias...	76
Figura 17	Pressão arterial média em repouso dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	75
Figura 18	Respostas bradicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	79
Figura 19	Respostas taquicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	80
Figura 20	Resposta pressórica à fenilefrina na dose de 8µg/ml dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	82
Figura 21	Resposta depressora ao nitroprussiato de sódio na dose de 20µg/ml dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo. § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo.....	84
Figura 22	Fator de necrose tumoral alfa no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	85
Figura 23	Interleucina-6 no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	86
Figura 24	Interleucina-1 beta no baço dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	88
Figura 25	Nitritos plasmáticos no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias...	89
Figura 26	Peróxido de hidrogênio plasmático dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30	

	e 60 dias.	92
Figura 27	Atividade da superóxido dismutase no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	94
Figura 28	Lipoperoxidação no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	96
Figura 29	Oxidação de proteínas no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.	96
Figura 30	Peso corporal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	98
Figura 31	Glicemia dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	101
Figura 32	Insulina plasmática dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	101
Figura 33	Tolerância à insulina dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	103
Figura 34	Tempo alcançado nos testes de esforço máximo dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.	104
Figura 35	Pressão arterial média dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	107
Figura 36	Frequência cardíaca dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	107

Figura 37	Respostas bradicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	110
Figura 38	Respostas taquicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	110
Figura 39	Fator de necrose tumoral alfa no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	115
Figura 40	Interleucina-6 no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.	116
Figura 41	Razão entre o fator de necrose tumoral alfa e a interleucina-10 no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.	117
Figura 42	Fator de necrose tumoral alfa no baço dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	119
Figura 43	Interleucina-1 beta no baço dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	120
Figura 45	Nitritos plasmáticos dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	121
Figura 46	Ânion superóxido plasmático dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	124
Figura 46	Atividade da superóxido dismutase plasmático dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT)	

	no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	126
Figura 47	Lipoperoxidação no plasma dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	128
Figura 48	Oxidação de proteínas no plasma dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.....	128
Figura 49	Curso temporal das disfunções na síndrome metabólica (grupo H vs. grupo HF).....	149
Figura 51	Curso temporal dos efeitos do treinamento físico aeróbico (grupo HFT vs. grupo HF).....	168

LISTA DE ABREVIATURAS

ABAP: 2 amidino propano

AHA: american heart association

ANOVA: análise de variância

AZO: 2,2' azo:bis

bpm/mmHg: batimentos por minuto por milímetro de mercúrio

bpm: batimentos por minuto

C: grupo normotenso

CAT: enzima catalase

DM: diabetes mellitus

DNPH: 2,4 dinitro fenil hidrazina

ECA: enzima conversora de angiotensina

Elisa: enzyme linked immunosorbent assay

EROS: espécies reativas de oxidgenio

FC: frequência cardíaca

g: gramas

GPx: glutationa peroxidase

GSH/GSSG: razão glutationa reduzida e oxidada

GSH: glutationa

H: grupo hipertenso

H₂O₂: peróxido de hidrogênio

HCl: ácido clorídrico

HF: grupo hipertenso+frutose

HFT: grupo hipertenso+frutose+treinamento

HMGB1: High Mobility Group Box 1

i.p.: intraperitoneal

IL-10: interleucina 10

IL-18: interleucina 18

IL-1 β : interleucina 1 beta

IL-6: interleucina 6

ITT: teste de tolerância à insulina

KITT: constante de queda da glicose plasmática

L-NAME: L-nitroarginine methyl ester

LPO: lipoperoxidação de membrana

MAPK: Mitogen-activated protein kinase

mg/dl: miligrama por decilitro

mmHg: milímetro de mercúrio

mmoles/mg: milimol por miligrama

NADPH: nicotiamide adenine dinucleotide phosphate

NFkB: fator nuclear kappa B

ng/ml: nanograma por mililitro

nmol/mg: nanomol por miligrama

O₂: oxigênio

PA: pressão arterial

PAD: pressão arterial diastólica

PAM: pressão arterial média

PAS: pressão arterial sistólica

PCR: proteína C reativa

pg/mg: picograma por miligrama

pg/ml/mg: picograma por mililitro por miligrama

PVN: Núcleo paraventricular

SHR: ratos espontaneamente hipertensos

SOD: superóxido dismutase

TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TNF α : fator de necrose tumoral alfa

TRAP: capacidade antioxidante total

μ M: micromol

USOD/mg: unidade de sod por miligrama

V/V: volume por volume

VO₂ máx: volume máximo de oxigênio

μ g/ml: picograma por mililitro

RESUMO

Bernardes N. *Mecanismos associados ao desenvolvimento das complicações cardiometabólicas em SHR submetidos à sobrecarga de frutose- papel do treinamento físico aeróbio* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

Neste estudo testamos a hipótese que alterações no controle autonômico precedem alterações cardiometabólicas em animais espontaneamente hipertensos tratados com frutose (SHR). Adicionalmente avaliamos os efeitos do treinamento físico aeróbio (TFA) no curso temporal das disfunções observadas neste modelo de síndrome metabólica. Para isso, foram utilizados ratos machos Wistar e SHR divididos em grupos (n=8): Controle (C), Hipertenso (H), Hipertenso+Frutose (HF) e Hipertenso+Frutose+Treinamento Físico (HFT). A sobrecarga de frutose (100g/L) e o TFA (esteira: 1h/d., 5d/sem.) foram iniciados 30 dias após o nascimento dos animais. Os grupos experimentais foram divididos em subgrupos que foram avaliados após 7, 15, 30 e 60 dias de protocolo. A partir dos 7 dias de protocolo a associação da hipertensão ao consumo de frutose (grupo HF) induziu redução da sensibilidade barorreflexa para respostas bradicárdicas (RB) e taquicárdicas (RT) em comparação ao grupo C; observando-se redução adicional da RB no grupo HF em relação ao grupo H (7 dias: -40% e 15 dias: -36%). A reatividade vascular à fenilefrina (8µg/ml: 7 aos 60 dias) estava prejudicada nos grupos H e HF em relação ao C; com prejuízo adicional do grupo HF ao nitroprussiato de sódio na dose de 20µg/ml (15 aos 60 dias de protocolo vs. C). Além disso, aos 15 e 30 dias de protocolo, o grupo HF apresentou um aumento marcante do TNF α e IL-6 no tecido adiposo e de IL-1 β no baço em relação aos grupos C e H. Houve redução de nitritos plasmáticos no grupo HF em 15 (55%) e 30 dias (58%) vs. o grupo C, acompanhado de aumento do peróxido de hidrogênio em 30 dias vs. o grupo H (98%). Em relação as defesas antioxidantes, o grupo HF apresentou menor atividade da superóxido dismutase (SOD) vs. os grupos C (15 dias: 36%, 30 dias: 31% e 60 dias: 47%) e H (15 dias: 25%, 30 dias: 21% e 60 dias: 43%), sem alterações significantes na catalase e no potencial antioxidante total. O grupo HF teve maior lipoperoxidação e oxidação de proteínas vs. os grupos C (46% e 117%) e H (49% e 45%) somente aos 60 dias de protocolo. A partir de 15 dias de protocolo foram observadas alterações metabólicas no grupo HF, como o aumento dos triglicerídeos plasmáticos em relação aos grupos C (15

dias: 20%; 30 dias: 19%; 60 dias: 23%) e H (15 dias: 19%; 30 dias: 21%; 60 dias: 24%); aumento da insulina plasmática em comparação ao grupo C (30 dias: 160% e 60 dias: 260%); e redução da sensibilidade à insulina em relação aos grupos C (17%) e H (17%) em 60 dias de protocolo. Além das alterações metabólicas, houve aumento progressivo da pressão arterial (PA) nos grupos hipertensos, com aumento adicional da PA no grupo HF em relação ao grupo H em 30 dias (8%) e 60 dias de protocolo (11%). Por outro lado, o treinamento físico aeróbio atenuou parte destas disfunções. Nesse sentido, observamos aumento da sensibilidade barorreflexa no grupo HFT para as RB em 7 (100%), 15 (86%), 30 (76%) e 60 dias de protocolo (74%) e para as RT em 7 (34%), 15 (31%) e 30 dias de protocolo (49%) vs. grupo HF. Entretanto, o treinamento físico não atenuou o prejuízo na RT em 60 dias de protocolo e na reatividade vascular. Houve redução da razão entre TNF- α /IL-10 no tecido adiposo (40%) e da IL-1 β no baço (30%) no grupo HFT em relação ao grupo HF em 15 dias; todavia o TNF- α foi maior no baço no grupo HFT em 60 dias de protocolo em relação aos seus valores iniciais. Os nitritos plasmáticos estavam aumentados no grupo HFT quando comparado ao grupo HF em 7 e 15 dias de protocolo. Em relação ao estresse oxidativo, aos 60 dias de protocolo, observou-se aumento da SOD (74%) e redução da lipoperoxidação (46%) e do dano à proteína (60%) no plasma do grupo HFT em relação ao grupo HF. O treinamento físico reduziu a glicemia (15%) e aumentou a sensibilidade à insulina (31%) ao final do protocolo, apesar de não alterar os triglicerídeos sanguíneos ou a PA. Concluindo, os resultados demonstram que disfunções hemodinâmicas, autonômicas, inflamatórias e de estresse oxidativo são tempo dependente em animais SHR e que a associação ao consumo de frutose induz prejuízos adicionais. Além disto, a disfunção do barorreflexo precede as alterações hemodinâmicas, metabólicas, de inflamação e de estresse oxidativo nesse modelo. Por outro lado, o treinamento físico aeróbio foi eficaz em atenuar parte das disfunções neste modelo de síndrome metabólica.

Descritores: Síndrome Metabólica; Barorreflexo; Treinamento Físico Aeróbio; Frutose; Estresse Oxidativo; Inflamação.

ABSTRACT

Bernardes N. *Mechanisms associated with cardiometabolic dysfunctions development in SHR submitted to fructose overload: role of aerobic exercise training [thesis]. Sao Paulo: School of Medicine, University of São Paulo; 2016.*

This study tested the hypothesis that changes in autonomic control precede cardiometabolic changes in spontaneously hypertensive rats (SHR) treated with fructose. Additionally, the effects of aerobic exercise training (AET) were evaluated in the time course of the dysfunctions observed in this metabolic syndrome model. Wistar and SHR rats were divided into groups (n=8/group): control (C), hypertensive (H), hypertensive + fructose (HF) and hypertensive + fructose + AET (HFT). The fructose overload (100g/l) and the AET (treadmill 1h/d, 5d/wk) was initiated at 30 days of life. The experimental groups were divided into subgroups, which were evaluated after 7, 15, 30 and 60 days of protocol. Since 7 day of protocol the association of hypertension and fructose consumption (HF group) induced a reduction in baroreflex sensitivity for bradycardic (BR) and tachycardia responses (TR) when compared to the C group; there was an additional reduction of BR in the HF group when compared to the H group (7 days: 40% and 15 days: 36%). The vascular reactivity to phenylephrine (8µg/ml: 7 to 60 days) was impaired in H and HF groups when compared to the C group; it was observed an additional impairment in the HF group to sodium nitroprusside at the dose of 20µg/ml (15 to 60 days of protocol vs. C). Additionally, at 15 and 30 day of protocol, the HF group showed an increase in TNF α and IL-6 in adipose tissue and in IL-1 β in the spleen when compared to C and H groups. There was a reduction in plasma nitrites in the HF group in 15 (55%) and 30 days of protocol (58%) vs. the C group, accompanied by an increase of the hydrogen peroxide in 30 days vs. H group (98%). Regarding the antioxidant defenses, the HF group showed reduced superoxide dismutase (SOD) activity as compared to C (15 days: 36%, 30 days: 31% and 60 days: 47%) and H groups (15 days: 25% 30 days: 21% and 60 days: 43%), without significant changes in catalase and in total antioxidant potential. The HF group had increased lipid peroxidation and protein oxidation vs. the C (46% and 117%) and H groups (49% and 45%) only at 60 days of protocol. Since 15 day of protocol, the metabolic changes were observed in the HF group, such as an increase in plasma triglycerides in HF

group when compared to the C (15 days: 20%; 30 days: 19%; 60 days: 23%) and H groups (15 days 19%; 30 days: 21%, 60 days: 24%). It was observed an increase in plasma insulin in the HF group when compared to the C group (30 days: 160% and 60 days: 260%); and a decrease in insulin sensitivity in HF group when compared to the C (17%) and H groups (17%) at 60 days of protocol. In addition to metabolic changes, there was a progressive increase in blood pressure (BP) in hypertensive groups. There was a further increase in BP in the HF group when compared to the H group in 30 days (8%) and 60 days of protocol (11%). On the other hand, AET attenuated part of these dysfunctions. Accordingly, we observed an increase in baroreflex sensitivity in HFT group for BR at 7 (100%), 15 (86%), 30 (76%) and 60 days of protocol (74%) and for TR in 7 (34%), 15 (31%) and 30 days of protocol (49%) as compared to the HF group. However, the AET did not attenuate the impairment in TR at 60 days of protocol nor the vascular reactivity dysfunction. There was a reduction in the relation of TNF- α /IL-10 in fat tissue (40%) and IL-1 β in the spleen (30%) in the HFT group when compared to the HF group in 15 days of protocol. However, the TNF- α in spleen was higher in the HFT group at 60 days of protocol when compared to its initial values. The nitrites in plasma were increased in HFT group as compared to the HF group at 7 and 15 days of protocol. Regarding oxidative stress in plasma at 60 days of protocol, there was an increase in SOD activity (74%) and a decrease in lipid peroxidation (46%) and in protein oxidation (60%) in the HFT group when compared to the HF group. The AET reduced blood glucose (15%) and increased insulin sensitivity (31%) at the end of the protocol, although it did not alter blood triglycerides or BP. In conclusion, the results show that hemodynamic, autonomic, inflammatory and oxidative stress disorders are time dependent in SHR and that the association of fructose overload induces additional impairments. Furthermore, the baroreflex dysfunction precedes hemodynamic, metabolic, inflammatory and oxidative stress disorders in this model. On the other hand, the aerobic exercise training was effective in attenuate disorders in this model of metabolic syndrome.

Key words: Metabolic Syndrome; Baroreflex; Aerobic Exercise Training; Fructose; Oxidative stress; Inflammation.

Introdução

1.INTRODUÇÃO

1.1. Consumo de Frutose Induz Disfunções Cardiometabólicas e Disautonomia

O alto consumo de frutose na alimentação tem crescido nos últimos anos em razão do aumento da comercialização de produtos industrializados, da expansão de redes classificadas como *fast-food* e de mudança desfavoráveis no estilo de vida (BARREIROS et al., 2005; BASCIANO et al., 2005; ELLIOT et al., 2002). Paralelamente ao aumento do consumo de frutose, houve um aumento na prevalência de alterações cardiometabólicas, como por exemplo, resistência a insulina, obesidade, dislipidemia, hipertensão, levando ao maior risco de doenças cardiovasculares (LUSTIG et al., 2012; THE WORLD HEALTH REPORT, 2002; BASCIANO et al., 2005; ELLIOT et al., 2002). O conjunto dessas alterações leva ao quadro clínico de síndrome metabólica ocasionando uma importante perda na qualidade de vida e aumentando a morbi-mortalidade nesta população (BELTRÁN-SÁNCHEZ et al, 2013; TAPPY, 2010; THE WORLD HEALTH REPORT, 2002).

A frutose pode ser encontrada em frutas e vegetais, porém também é produzida sinteticamente para sua utilização nas indústrias como adoçante em bebidas tais como refrigerantes e sucos (BARREIROS et al., 2005). Neste aspecto, a utilização de modelos experimentais associados à dieta rica em frutose serve para induzir alterações cardiometabólicas semelhantes às observadas na síndrome metabólica, como a resistência a insulina, dislipidemia e aumento da pressão arterial (PA) (MORRIS et al., 2012; MOURA

et al., 2008; FARAH et al., 2006; BRITO et al., 2008a; CUNHA et al., 2007; SUZUKI et al., 1997; TEFF et al., 2004). De fato, pesquisas realizadas anteriormente mostraram uma correlação entre o aumento na ingestão de frutose e o aparecimento de disfunções do sistema cardiovascular, autonômico e renal (FARAH et al., 2006; CUNHA et al., 2007; BRITO et al., 2008a).

Atualmente, é consenso que a manutenção da função cardíaca é realizada através da regulação neural do coração pela integração da atividade nervosa do simpático e do parassimpático (MANCIA et al., 1997; IRIGOYEN et al., 2005). Estudos vêm demonstrando de forma consistente que a hiperatividade simpática aumenta o risco cardiovascular, ao passo que uma função vagal preservada ou aumentada tem sido considerada um fator de proteção cardiovascular (TASK FORCE, 1996; KLEIGER et al., 1987). Vários trabalhos experimentais e clínicos têm evidenciando que a disautonomia está presente em uma série de patologias, tais como, a hipertensão arterial, a insuficiência cardíaca, o diabetes e a síndrome metabólica (IRIGOYEN & KRIEGER, 1998; ZANCHETTI & MANCIA, 1991; LA ROVERE et al., 1998; EWING et al., 1980; VINIK et al., 2003; DE ANGELIS et al., 2004; FARAH et al., 2007). Clinicamente, alterações na função autonômica podem ser observadas precocemente em sujeitos com história familiar positiva de diabetes mellitus (DM) ou hipertensão (FOSS et al., 2001; SARTORI et al., 2009). Dessa forma, é possível que a disautonomia possa ser o fator causal do desenvolvimento da hiperinsulinemia e da hiperglicemia (NONOGAKI et al., 2000). Nesse sentido, intervenções para prevenir e/ou atenuar a disfunção autonômica tem sido vistas como estratégias importantes na prevenção e manejo de diversas doenças que tenham como eixo comum as disfunções cardiometabólicas (TASK FORCE, 1996).

Em humanos saudáveis, a ingestão aguda de frutose, mas não de água, aumentou significativamente, a frequência cardíaca, pressão arterial, variabilidade da PAS e diminuição da sensibilidade do barorreflexo (BROWN et al., 2008). Estudos desenvolvidos em nosso grupo demonstraram que dietas ricas em frutose induziram disfunção do sistema nervoso em animais adultos de ambos os sexos (FARAH et al., 2006; CUNHA et al., 2007; BRITO et al., 2008a). Farah et al. (2006) verificaram que o consumo crônico de frutose por 8 semanas induziu aumento da pressão arterial associado a disfunção autonômica, caracterizada por aumento da variância e da banda de baixa frequência da pressão arterial sistólica. Além disto, um estudo em camundongos machos adultos submetidos à sobrecarga de frutose por 8 semanas demonstrou intolerância à glicose, além de correlação entre disfunções renais e as alterações cardiovasculares e autonômicas (CUNHA et al., 2007). Corroborando os resultados obtidos em machos, evidenciamos que a resistência à insulina estava associada à disfunção autonômica (redução do tônus vagal) em ratas adultas fêmeas saudáveis submetidas à sobrecarga de frutose na água de beber (BRITO et al., 2008a). Tais dados evidenciam que a sobrecarga de frutose na dieta de ratos ou camundongos adultos induz disfunções na regulação cardiovascular que foram acompanhadas de aumento da pressão arterial, intolerância à glicose e dislipidemia.

No entanto, apesar de animais tratados com frutose apresentarem aumento da pressão, não se observa valores compatíveis com hipertensão arterial estabelecida. Neste sentido, recentemente temos realizado a sobrecarga de frutose na água de beber em animais espontaneamente hipertensos (SHR) a fim de aproximar ainda este modelo experimental de um modelo de desenvolvimento de síndrome metabólica. Dentre os modelos experimentais de hipertensão mais estudados, os modelos genéticos e, mais especificamente, de SHR são

os que mais se assemelham à hipertensão primária no homem. Em 1963, Okamoto e Aoki introduziram na pesquisa uma linhagem de ratos espontaneamente hipertensos, muito conhecida entre todos os modelos de hipertensão experimental, sem que nenhum recurso fisiológico, farmacológico ou cirúrgico fosse necessário (FAZAN et al., 2001). Estes investigadores iniciaram suas colônias em Kyoto, no Japão, pelo cruzamento de um macho Wistar-Kyoto que tinha pressão arterial elevada, em um nível de hipertensão moderada (145-175 mmHg de pressão sistólica), com uma fêmea com nível de pressão não tão elevada quanto a do seu par (130-140mmHg de pressão sistólica), porém considerada hipertensa. Na terceira geração, todos os filhotes já apresentavam hipertensão arterial. Em nosso grupo evidenciamos que a sobrecarga de frutose por 18 semanas induziu aumento adicional da pressão arterial, resistência à insulina, aumento da glicose e triglicérides plasmáticos e disautonomia, caracterizada por exacerbada atenuação do tônus vagal e da sensibilidade baroreflexa em fêmeas ooforectomizadas SHR (BRITO et al., 2008b).

1.2. Mecanismos Associados às Complicações Cardiometabólicas

Correlações foram demonstradas entre disfunções cardiovasculares, autonômicas e metabólicas em humanos e animais (BRITO et al., 2008a; FARAH et al., 2006; FARAH et al., 2007; GRASSI et al., 2009; HELLSTROM, 2007; VAN GAAN et al., 2006). Atualmente evidências sugerem que a obesidade visceral e a resistência à insulina aumentam o risco cardiovascular, por mecanismos clássicos (dislipidemia, hipertensão e dismetabolismo da glicose), bem como por alterações na secreção de biomoléculas pelo

tecido adiposo, pelos macrófagos infiltrados neste tecido, ou mesmo pelo baço (VAN GAAN et al., 2006; BOROVIKOVA et al., 2000; HUSTON et al., 2006). Van Gaan et al. (2006) postularam que caminhos comuns na patogênese da obesidade e doenças cardiovasculares são a resistência à insulina, inflamação e estresse oxidativo.

O estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e das defesas antioxidantes, ao ponto de deter a produção pró-oxidante (NORDMANN, 1994). Atualmente existem mais de 100 técnicas para determinar “estresse oxidativo” que se baseiam na avaliação em fluídos corporais ou tecidos de produtos de oxidação de biomoléculas (lipoperoxidação ou dano à proteína) e de promotores (produtores ou produção de espécies reativas de oxigênio) ou inibidores (antioxidantes enzimáticos ou não enzimáticos) de dano. Alternativamente, o estresse oxidativo pode ainda ser mensurado pelo potencial de oxidação/redução (razão glutatona oxidada/glutaciona reduzida, capacidade antioxidante total) de uma determinada amostra ou pela suscetibilidade de componentes oxidáveis da amostra a peroxidação ex vivo (DOTAN et al., 2004). Um número crescente de evidências sugere que a produção aumentada de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio, como o ânion superóxido e o radical hidroxila, participam criticamente da patogênese das doenças coronarianas, hipertensão, aterosclerose e síndrome metabólica (DANTAS, 2000; BELLÓ-KLEIN et al., 2001). Vale lembrar que o óxido nítrico (NO) pode ser captado pelo radical superóxido (RUBANYI & VANHOUTE, 1986; GRYGLEWSKI et al., 1986) e poderá ser protegido por mecanismos antioxidantes como a enzima superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutatona peroxidase (GPx) e o sistema não enzimático (DORMANDY, 1978; SIES, 1986). Sugere-se ainda que o aumento do NO e do ânion superóxido em situações de estresse exerça função em alterações dos

pressorreceptores (CHOWDHARY et al., 2000; DE ANGELIS et al., 1999; LI et al., 1996; SHULTZ & USTINOVA, 1998). Além disto, é plausível que exista uma associação entre moléculas bioativas liberadas a partir de tecido adiposo e o estresse oxidativo, sendo essa associação responsável pelo menos em parte pelo desenvolvimento de resistência à insulina e disfunção endotelial. Pacientes diabéticos tipo 2 apresentam um aumento na lipoperoxidação de membranas, bem como diminuição da GSH plasmática e de enzimas antioxidantes (ALTOMARE et al., 1992). O aumento do estresse oxidativo foi relacionado com a hiperinsulinemia e redução na concentração da enzima catalase (CAT) em animais (XU et al., 1999). Camundongos ob/ob, além de apresentarem aumento na glicemia, apresentam aumento no TBARS (uma medida de lipoperoxidação), que foi correlacionado com a diminuição da sensibilidade a insulina (SÁINZ et al., 2010). Estudos verificaram que a resistência à insulina e a hiperinsulinemia aumentam a peroxidação lipídica e diminuem os antioxidantes no plasma, sugerindo que os dois estejam interligados (MIZUNO et al., 2004). O estresse oxidativo, juntamente com o estado de hiperglicemia crônica, característico do diabetes, pode estar associado a outros problemas como a elevação na concentração de moléculas pró-inflamatórias (SALLAM et al., 2010). Existem evidências de que no DM tipo 2 há um aumento na proteína C reativa (PCR), interleucina 6 (IL-6) e no fator de necrose tumoral (TNF α). Por outro lado, os níveis elevados de PCR e IL-6 podem ser considerados como preditores da resistência à insulina e da disfunção endotelial e consequentemente podem estar envolvidos no desenvolvimento do DM tipo 2 (KAJITANI, 2010). Correlação negativa entre adiponectina e resistência à insulina, bem como correlação positiva entre leptina plasmática e resistência à insulina já foram observadas (TAPSELL et al., 2004). Além disto, níveis séricos elevados de interleucina 18 (IL-18) foram observados

em pacientes com síndrome metabólica, mostrando também que essa citocina estava associada com obesidade e resistência à insulina, independente da síndrome metabólica (FLOREZ et al., 2006; YAMAGUCHI et al., 2006 e HUNG et al., 2005). Um estudo experimental de GLUSHAKOVA et al (2008) demonstrou alteração em marcadores inflamatórios nos rins de animais submetidos a uma dieta rica em frutose. Foi observado também aumento da resistência à insulina acompanhado de aumento nos níveis de PCR, interleucinas 1 e 6, bem como desregulação de adipocitocinas e leptina em ratos alimentados com uma dieta rica em frutose (ARMUTCU et al., 2005). De fato, estudos recentes sugerem que a inflamação decorrente do sistema imunológico é uma característica da síndrome metabólica (KOH et al., 2005; NAKAGAWA et al., 2004).

Além disso, o aumento de citocinas pró-inflamatórias tem sido relacionado com o aumento na secreção de angiotensina II. A angiotensina II é o componente biológico ativo do sistema renina-angiotensina (SAYE et al., 1993). Evidências sugerem que o aumento nos níveis de angiotensina II contribui com a obesidade e com a resistência a insulina (MESSIERA et al., 2001). Metabolicamente, a angiotensina II contribui para o aumento dos ácidos graxos e dos níveis de triglicérides, inibição da lipólise no tecido adiposo e no tecido muscular esquelético, prejuízo na secreção de insulina pelo pâncreas e redução da sensibilidade a insulina em tecidos periféricos. Centralmente, a angiotensina II ativa o sistema nervoso simpático alterando a sensibilidade barorreflexa (CHU et al., 2009; SENADOR et al., 2009). Em camundongos ob/ob, a inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA), diminui a modulação simpática e melhora a sensibilidade barorreflexa, sugerindo que a angiotensina II está associada ao desequilíbrio da modulação autonômica em camundongos com deficiência de leptina (HILZENDEGER et al., 2010).

Em camunongos adultos submetidos a sobrecarga de frutose também foi observado aumento da angiotensina II que foi acompanhada de intolerância a glicose, aumento da PA e da modulação simpática vascular (Farah et al., 2006). Além disto, há evidências que a angiotensina II diminui a biodisponibilidade de óxido nítrico, diminuindo as defesas antioxidantes do organismo e induz aumento na produção de NADPH no pâncreas. Essa produção de NADPH por sua vez, provoca o aumento do estresse oxidativo fazendo com que haja apoptose das células β (SCHULMAN et al., 2006; CHU et al., 2009).

No entanto, é importante destacar que Hellstrom (2007) apresentou evidências convincentes de que o desenvolvimento de um grupo diverso de doenças, como hipertensão, diabetes e doença cardíaca isquêmica, é favorecido pelo aumento da atividade simpática (sistema nervoso autônomo), resultando em disfunção endotelial, dislipidemia, resistência à insulina, inflamação e estresse oxidativo. Isto é provavelmente atenuado/prevenido por um efeito protetor induzido por mudanças no parassimpático. Esta hipótese foi corroborada pelos resultados em modelos animais que mostram que a descarga vagal eferente inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias e a inflamação sistêmica, identificando uma função imunológica do nervo vago (BOROVIKOVA et al., 2000; HUSTON et al., 2006). Também é importante ressaltar que estudos evidenciam que moléculas bioativas (inflamatórias) secretadas pelos adipócitos (e macrófagos infiltrados neste tecido) podem levar ao estresse oxidativo e a disfunção endotelial, aumentando o risco cardiovascular (VAN GAAL et al., 2006). Portanto, existem evidências que o sistema nervoso autônomo possa ser o fator desencadeador da secreção de biomoléculas envolvidas na gênese das disfunções cardiometabólicas. Reforçando esta idéia, recentemente evidenciamos que o consumo crônico de frutose em camundongos machos induziu

resistência à insulina, aumento dos níveis plasmáticos de colesterol, triglicérides e leptina somente após 60 dias de consumo de frutose; além de aumento da pressão arterial sistólica e média, ativação simpática cardíaca e vascular e atenuação do barorreflexo a partir do 15º dia de consumo de frutose. Tais achados demonstraram que a disfunção da modulação autonômica cardiovascular ocorreu antes de qualquer alteração metabólica (DE ANGELIS et al., 2012).

Todavia, nos estudos de nosso grupo, bem como de outros grupos (SUZUKI et al., 1997; TEFF et al., 2004; FARAH et al., 2006; BRITO et al., 2008a; DE ANGELIS et al., 2012) a sobrecarga de frutose foi iniciada na fase adulta dos animais, ficando a dúvida de qual seria o curso temporal das alterações cardiometabólicas desta dieta iniciada logo após o desmame (30 dias de vida) e seguida até a fase adulta (90 dias de vida) em ratos SHR. Head e Adams (1988) ao avaliarem SHR aos 6, 9, 14 e 20 semanas de vida evidenciaram aumento progressivo da pressão arterial, acompanhada de redução da sensibilidade barorreflexa. Além disto, sabe-se que o risco de doenças cardiovasculares e de diabetes pode ser influenciado pela dieta e pelos hábitos de vida no período de crescimento. Neste sentido, Bell et al. (1989) demonstraram que o consumo excessivo de frutose na dieta durante o período de desenvolvimento pode acarretar em mudanças no metabolismo de lipídeos e carboidratos na fase adulta, induzindo dislipidemia, resistência a insulina e obesidade. Entretanto, tal estudo não avaliou efeitos cardiovasculares ou autonômicos do consumo de frutose. Neste sentido, no presente estudo avaliamos o curso temporal das alterações cardiometabólicas, e sua relação com alterações no controle autonômico da circulação e em parâmetros de inflamação e de estresse oxidativo, da sobrecarga de frutose iniciada aos 30 dias de vida em ratos SHR. Neste estudo foi testado a hipótese de que

alterações no controle autonômico precedem alterações cardiometabólicas em animais SHR tratados com frutose. Neste sentido, a disfunção autonômica induz um aumento de fatores inflamatórios e de estresse oxidativo, promovendo alterações cardiometabólicas, como o aumento da pressão arterial, dos triglicerídeos plasmáticos e da resistência à insulina.

1.3. Efeitos do Treinamento Físico em Disfunções Cardiometabólicas

Atualmente a prática regular de exercícios físicos tem pouca aderência da população e o sedentarismo pode ser considerado como o provável fator causador de um grande aumento na ocorrência de doenças cardiovasculares em todo o mundo (MUIR et al., 1992; AMERICAN HEART ASSOCIATION- AHA, 1998). Por outro lado, os efeitos benéficos do treinamento físico têm sido demonstrados na prevenção e tratamento da hipertensão, na resistência à insulina, no DM, na dislipidemia, na obesidade e na síndrome metabólica (NCEP, 2001; TUOMILEHTO et al., 2001; ROSS et al., 2000; HAGBERG et al., 2000; GUIMARÃES & CIOLAC, 2004).

De fato, o exercício físico regular tem seus benefícios já bastante evidenciados na literatura, como diminuição da pressão arterial em hipertensos (IRIGOYEN et al., 2005; WHELTON et al., 2002; AMARAL et al., 2000; SILVA et al., 1997); redução da dose ou até a suspensão do uso de medicamentos anti-hipertensivos em pacientes hipertensos (LATERZA et al., 2007; MONTEIRO & FILHO, 2004); bradicardia de repouso (DE ANGELIS et al., 1997; SILVA et al., 1997; DE ANGELIS et al., 2004; MIDDLETON &

VITO, 2005; IRIGOYEN et al., 2005; SANCHES et al., 2012); melhora da razão parede/luz das artérias do músculo treinado, redução da resistência vascular periférica (AMARAL et al., 2000); melhora da sensibilidade do mecanismo barorreflexo em ratos machos normotensos, hipertensos, diabéticos e ratas ooforectomizadas (IRIGOYEN et al., 2005; DE ANGELIS et al., 2004; SILVA et al., 1997), como também humanos (O'SULLIVAN & BELL, 2000; LAITINEN et al., 1998); melhora do mecanismo do quimiorreflexo e do reflexo cardiopulmonar em ratos hipertensos e diabéticos (HARTHMANN et al., 2007; SILVA et al., 1997).

A redução da pressão arterial de repouso em humanos hipertensos e ratos hipertensos treinados aerobicamente pode estar associada à diminuição da atividade simpática periférica e/ou do débito cardíaco (VERAS-SILVA et al., 1997; JENNING et al., 1986); uma vez que a normalização do exacerbado tônus simpático cardíaco estaria associada a bradicardia de repouso e, consequentemente, a redução do débito cardíaco observada em ratos machos SHR treinados (GAVA et al., 1995; VERAS-SILVA et al., 1997). Outros fatores que contribuem para a redução da pressão arterial são a atenuação da disfunção barorreflexa (SILVA ET AL., 1997; BRUM ET AL., 2000; O'SULLIVA & BELL, 2000), redução da resistência vascular periférica (CLÉROUX et al., 1992; HARA & FLORA, 1992), mudanças na responsividade vascular (MCCORD et al., 2006; RAO et al., 2002; HALLIWELL et al., 2000) e redução no volume sistólico (RONDON et al., 2002; DUJIC et al., 2006); alterações essas promovidas pelo treinamento físico dinâmico em indivíduos hipertensos (SILVA et al., 2010).

Além das alterações cardiovasculares citadas acima, sabe-se que existem diversos benefícios associados a risco cardiovascular, tais como redução da resistência à insulina, da

dislipidemia, da obesidade e do estresse oxidativo (PEDERSEN & SALTIN, 2006; IRIGOYEN et al., 2005; DE ANGELIS et al., 2004; IRIGOYEN et al., 2003; RIQUE et al., 2002; DE ANGELIS et al., 1997).

Estudos demonstraram adaptações das enzimas antioxidantes e redução do estresse oxidativo em resposta ao treinamento físico (JI & FU, 1992; DE ANGELIS et al., 1997; IRIGOYEN et al., 2005; BERTAGNOLLI et al., 2006). Ji e Fu (1992) demonstraram que uma carga de trabalho exaustivo produzia um aumento da lipoperoxidação e também um incremento das enzimas antioxidantes GPx, CAT e SOD. Margaritis (1997) relacionou positivamente o aumento do VO₂ máx. com uma maior atividade e consequente maior proteção antioxidante. Venditti e Di Meo (1997) comprovaram essa teoria ao submeterem ratos adultos ao treinamento regular durante um ano e verificaram o aumento das defesas antioxidantes proporcional ao aumento da capacidade de resistência aeróbia, limitando o dano tecidual causado pelos radicais livres. É importante destacar que estudos de nosso grupo em animais submetidos a treinamento físico evidenciaram redução do estresse oxidativo e aumento das enzimas antioxidantes que foram correlacionados com melhora em parâmetros cardiovasculares e autonômicos (DE ANGELIS et al., 1997; RABELO et al., 2001; IRIGOYEN et al., 2005; BERTAGNOLI et al., 2006; BERTAGNOLI et al., 2008).

Recentemente foi realizado um estudo com homens e mulheres portadores de SM que mostrou que após um período de seis meses de treinamento físico aeróbio associado à dieta ocorreu a diminuição do índice de massa corporal, dos níveis de triglicerídeos, de colesterol, de glicose sanguínea, de pressão arterial sistólica e diastólica (DRAGUSHA et al., 2010). Além disso, estudos também demonstram benefícios na ação inflamatória

associada ao treinamento físico como em indivíduos saudáveis (PETERSEN et al., 2007; FLYNN et al., 2007) e em idosos (BRUUNSGAARD et al., 2003). Já em pacientes com predisposição a síndrome metabólica, foi observado que o treinamento físico aeróbio aumentou a adiponectina sérica (RING-DIMITROU et al., 2006). Em nosso laboratório verificamos recentemente que ratas submetidas ao consumo crônico de frutose apresentavam redução dos níveis plasmáticos de leptina e aumento dos níveis de adiponectina pós treinamento físico aeróbio de 8 semanas (BRITO et al., 2014).

Em um estudo publicado recentemente pelo nosso grupo, Sanches et al. (2012) demonstraram que o treinamento físico aeróbio foi capaz de atenuar as disfunções metabólicas, promover bradicardia de repouso, atenuar o tônus simpático e aumentar a sensibilidade do barorreflexo em um modelo experimental de ratas SHR com privação dos hormônios ovarianos submetidas à sobrecarga de frutose. Além disso, as ratas SHR com privação dos hormônios ovarianos que não foram submetidas à sobrecarga de frutose apresentaram redução da pressão arterial e aumento do tônus vagal após o treinamento físico aeróbio (SANCHES et al., 2012). Todavia, os efeitos do treinamento físico nas alterações cardiometabólicas induzidas pelo consumo de frutose desde o desmame em ratos SHR ainda não foram estudadas. Neste sentido, o presente estudo avaliou adicionalmente o curso temporal (7, 15, 30 e 60 dias) dos eventuais efeitos de um protocolo de 8 semanas de treinamento físico aeróbio nas alterações cardiometabólicas, no controle autonômico da circulação, na inflamação e no estresse oxidativo em ratos SHR submetidos à sobrecarga de frutose desde os 30 dias de vida. Nesse sentido, nossa hipótese é que o treinamento físico aeróbio induz benefícios no curso temporal das disfunções observadas no modelo de síndrome metabólica.

Objetivo

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o curso temporal (7, 15, 30 e 60 dias de protocolo) do desenvolvimento de alterações cardiometabólicas em ratos SHR submetidos à sobrecarga de frutose desde os 30 dias de vida, bem como os efeitos do treinamento físico aeróbio nessa condição, analisando os seguintes parâmetros:

- ✓ **metabólicos:** peso corporal; triglicérides sanguíneos, glicose sanguínea, tolerância à insulina e insulina plasmática;
- ✓ **de capacidade funcional:** teste de esforço máximo;
- ✓ **hemodinâmicos:** pressão arterial e frequência cardíaca;
- ✓ **autonômicos:** sensibilidade barorreflexa;
- ✓ **reatividade vascular:** resposta da pressão arterial a drogas vasoativas;
- ✓ **inflamatórios:** TNF α , IL-6, IL-1 β e IL-10 no tecido adiposo branco retroperitoneal e TNF- α , IL-6 e IL-1 β no baço.
- ✓ **de metabolização de óxido nítrico:** concentração de nitritos plasmáticos;
- ✓ **de estresse oxidativo:** produção do ânion superóxido e peróxido de hidrogênio, atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase, capacidade antioxidante total, lipoperoxidação de membrana e proteínas carboniladas no plasma.

Vale destacar que os resultados do presente estudo foram divididos em dois capítulos para contemplar o objetivo do trabalho. Nesse sentido, o primeiro capítulo contempla o objetivo de avaliar o curso temporal do desenvolvimento de alterações cardiometabólicas em ratos SHR submetidos ao consumo crônico de frutose. E o segundo capítulo contempla o objetivo de avaliar o curso temporal do efeito do treinamento físico aeróbio sobre as alterações observadas em animais SHR submetidos ao consumo crônico de frutose.

Materiais e Métodos

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Amostra

Foram utilizados para a realização dos experimentos ratos machos Wistar e ratos machos espontaneamente hipertensos (linhagem SHR). Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada, entre 22 e 25°C, ciclo claro-escuro (12 horas) e com livre acesso a água e alimentação no Biotério da Divisão de Experimentação do Incor.

Os animais foram divididos nos seguintes grupos:

- ✓ Grupo I: **Controle normotenso (C)- animais Wistar** acompanhados desde os 30 até 90 dias de vida;
- ✓ Grupo II: **SHR (H)- animais SHR** acompanhados desde os 30 até 90 dias de vida;
- ✓ Grupo III: **SHR-frutose (HF)- animais SHR** submetidos à sobrecarga de frutose a desde os 30 até 90 dias de vida;
- ✓ Grupo IV: **SHR-frutose submetido ao treinamento físico aeróbio (HFT)- animais SHR** submetidos à sobrecarga de frutose e ao treinamento físico aeróbio desde os 30 até 90 dias de vida.

Os grupos experimentais acima descritos foram divididos em 4 subgrupos (n=8 em cada grupo) que foram avaliados aos 37, 45, 60 e 90 dias de vida conforme pode ser observado na Figura 1. Os animais foram eutanasiados em todos os tempos avaliados (7, 15, 30 e 60 dias de protocolo) (Figura 01) somando ao total de 16 grupos.

Figura 01: Sequência Experimental

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de São Paulo de acordo com o seguinte protocolo- 035/12 (Anexo1).

3.2. Procedimentos

3.2.1. Sobrecarga de Frutose

Os grupos HF e HFT foram submetidos a ingestão de frutose na água de beber (D-frutose, 100g/L) (BRITO et al., 2008a; SUZUKI et al., 1997). O tratamento foi iniciado aos 30 dias de vida dos animais até o final do protocolo (Figura 02).

Figura 02: Tratamento de D-frutose na água de beber.

3.2.2. Treinamento Físico Aeróbio e Teste de Esforço Máximo

Com 30 dias de vida dos animais, foi iniciado o treinamento físico aeróbio. No entanto, antes de iniciar o protocolo de treinamento todos os animais foram adaptados na esteira por 4 dias durante 10 minutos na velocidade de 0,3 km/h e então foi realizado o teste de esforço inicial. A adaptação foi realizada antes de todos os testes de esforço. Após a realização do teste de esforço máximo os grupos sedentários foram colocados algumas vezes por semana na esteira para simular o ambiente do grupo treinado, porém a esteira permaneceu desligada. O teste de esforço constitui-se de um protocolo que varia a velocidade em 0,3 km/h a cada 3 minutos, até que a velocidade máxima suportada pelos animais seja atingida. Esta velocidade é determinada quando o rato não consegue mais correr ao incremento da velocidade estipulada. Este protocolo de teste de esforço apresenta correlação significativa com a medida do consumo direto de oxigênio em ratos machos (RODRIGUES et al., 2007) o que nos confere validade e fidedignidade para

prescrição e controle do treinamento físico por meio desta avaliação. O teste de esforço foi realizado em 7, 15, 30 e 60 dias de protocolo (DE ANGELIS et al., 2007) (Figura 03).

Figura 03: Teste de esforço máximo em esteira ergométrica adaptada.

Os ratos do grupo treinado foram expostos ao protocolo de exercício físico na esteira ergométrica 5 vezes por semana durante 8 semanas. O treino foi baseado de acordo com o resultado do teste de esforço, sendo estipulado em 40-60% da velocidade máxima alcançada no teste de esforço. O tempo de exercício físico foi aumentando progressivamente atingindo 1 hora por dia no final da 2 semana, sendo este tempo mantido até o final do protocolo (RODRIGUES et al., 2007) (Figura 04).

Figura 04: Treinamento físico aeróbio em esteira ergométrica adaptada.

3.2.3. Determinação das Concentrações Sanguíneas de Triglicerídeos

As concentrações sanguíneas de triglicerídeos foram avaliadas em 7, 15, 30 e 60 dias de protocolo, após 4 horas de jejum em uma gota de sangue obtida da cauda do animal, através do aparelho ACCUTREND da Roche (Figura 05).

Figura 05: Aparelho utilizado para determinação de triglicerídeos.

3.2.4. Medida da Glicose Sanguínea

Os animais foram submetidos a jejum de após 4 horas e, foi retirado uma gota de sangue obtida da cauda do animal para análise da glicose através do glicosímetro (Accucheck, Roche) em 7, 15, 30 e 60 dias de protocolo (Figura 06).

Figura 06: Aparelho utilizado para determinação da glicemia.

3.2.5. Canulação e Registro de Pressão Arterial

Os ratos foram anestesiados (i.p.) com cloridrato de cetamina (50mg/Kg, Ketalar a 10% ou 100mg/ml, Parke-Davis) e cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum a 2% ou 20mg/ml, Bayer) e colocadas em decúbito dorsal para que se realize uma pequena incisão na região do pescoço para implantação de uma cânula na artéria carótida em direção ao ventrículo esquerdo, para registro direto da PA e na veia jugular para administração das drogas. Após a correta e firme implantação das cânulas na artéria carótida e veia jugular, as extremidades mais calibrosas das cânulas foram passadas subcutaneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical e fixadas com fio de algodão na pele (Figura 07). As cânulas

foram confeccionadas com tubos de Policloreto de Vinila (Abbott) equivalente ao polietileno PE10 e PE50. Estes foram soldados por aquecimento e logo após, as cânulas foram preenchidas com solução fisiológica e mantidas ocluídas com pinos de aço inoxidável (IRIGOYEN et al., 2005; DE ANGELIS et al., 1999, 2000). Este procedimento foi realizado em 7, 15, 30 e 60 dias de protocolo.

No dia seguinte à canulação, com o animal acordado, a cânula arterial foi conectada a uma extensão de 20 cm (PE-50), permitindo livre movimentação do animal pela caixa, durante todo o período do experimento. Esta extensão foi conectada a um transdutor eletromagnético (Blood Pressure XDCR, Kent[®] Scientific, Litchfield, CT, EUA) que, por sua vez, esteve conectado a um pré-amplificador (STEMTECH BPMT-2, Quintron Instrument[®] Inc, Milwaukee, EUA). Sinais de PA foram gravados durante um período de 30 minutos em um microcomputador equipado com um sistema de aquisição de dados (CODAS, 1Kz, DATAQ Instruments, Akron, OH, EUA), permitindo análise dos pulsos de pressão, batimento-a-batimento, com uma frequência de amostragem de 2000 Hz por canal, para estudo dos valores de PA sistólica (PAS), PA diastólica (PAD), PA média (PAM) e FC. Os valores de FC foram derivados do sinal pulsátil da PA (Figura 08).

Figura 07: Cânulas exteriorizadas no dorso do animal.

Figura 08: Ilustração da conexão entre a cânula e o transdutor eletromagnético e do sistema de registro de pressão arterial.

3.2.6. Avaliação da Sensibilidade do Barorreflexo

Após o registro da PA e da FC, uma extensão de aproximadamente 20 cm (PE10) foi conectada na cânula venosa para posterior injeção de drogas vasoativas. Após os animais terem permanecido em condições de repouso por 15 minutos, a sensibilidade dos

pressorreceptores foi testada através da infusão de fenilefrina e de nitroprussiato de sódio. Fenilefrina e nitroprussiato foram infundidos randomicamente entre os animais, iniciando-se a sessão com um ou outro fármaco. Para análise da sensibilidade dos pressorreceptores, o pico máximo ou mínimo da PAM foi comparado aos valores de PAM do período controle. Da mesma forma, a variação máxima da FC foi comparada com os valores de FC do período controle, imediatamente antes da injeção das drogas, para posterior quantificação das respostas. A sensibilidade barorreflexa foi avaliada pelo índice calculado através da divisão da variação da FC pela variação da PAM (DE ANGELIS et al., 1997; DE ANGELIS et al., 1999; IRIGOYEN et al., 2005) (Figura 09).

Figura 09: Registro da pressão arterial e frequência cardíaca antes e após a administração de drogas vasoativas.

3.2.7. Reatividade Vascular

As alterações de pressão arterial média à fenilefrina nas doses de 0,5µg/ml e 8µg/ml (resposta pressora) e ao nitroprussiato de sódio nas doses de 2,5µg/ml e 20µg/ml (resposta depressora) foram consideradas para a avaliação da reatividade vascular (SHI et al., 1995; WICHI et al., 2005).

3.2.8. Teste de Tolerância à Insulina

No dia seguinte das avaliações hemodinâmicas os animais foram submetidos à jejum de 2 horas, foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg), e receberam uma injeção endovenosa de insulina (0,75 U/kg peso corporal). A glicose plasmática foi medida a partir de amostras de sangue obtidas da veia caudal utilizando-se de um glicosímetro (Accucheck, Roche) nos tempos 0, 4, 8, 12 e 16 min após a injeção de insulina. Os valores de glicemia dos minutos 4 a 16 foram usados para calcular a constante de queda da glicose plasmática (Kitt) de acordo com a descrição de Bonora et al (1989). Este procedimento foi realizado em 7, 15, 30 e 60 dias de protocolo (Figura 10).

Figura 10: Injeção de insulina para teste de tolerância à insulina.

3.2.9. Eutanásia dos Animais

No dia seguinte ao término das avaliações metabólicas, os animais de todos os grupos foram submetidos a eutanásia por decapitação e foram coletados o tecido adiposo branco retroperitoneal, o baço e o sangue para as avaliações bioquímicas. Este procedimento foi realizado em 7, 15, 30 e 60 dias de protocolo.

3.2.10. Insulina Plasmática

Após 4h de jejum, os animais foram eutanasiados por decapitação e o sangue coletado, separado o plasma para avaliação da concentração de insulina mensurada por teste imunoenzimático de Elisa (MORGAN & LAZAROW, 1963) utilizando o Kit comercial (EZRMI-13K/ Rat/Mouse Insulin, Merck Millipore, USA). A sensibilidade do ensaio foi de 0,2 ng/ml.

3.2.11. Mediadores Inflamatórios

As dosagens de citocinas foram realizadas no tecido adiposo branco retroperitoneal (TNF α , IL-6, IL-1 β e IL-10) e no baço (TNF α , IL-6 e IL-1 β). As proteínas do tecido adiposo branco retroperitoneal (200mg) foram extraídas com o tampão RIPA (Tris 50mM, pH 8, NaCl 150mM, 1% de Triton X-100, 0,5% oxalato de sódio, 0,1% SDS, fluoreto de sódio 100mM; pirofosfato de sódio 100mM; ortovanadato de sódio 10mM; aprotinina 10 μ g/mL, leupeptina 1 μ g/mL, PMSF 2 mM) e as proteínas do baço (200mg) foram extraídas em tampão Tris base (100mM, pH 7,5; EDTA 10mM; fluoreto de sódio 100mM; pirofosfato de sódio 100mM; ortovanadato de sódio 10mM; aprotinina 10 μ g/mL, leupeptina 1 μ g/mL, PMSF 2mM), e foram incubadas com Triton X-100 - 10% por 30 minutos em gelo. Imediatamente, a amostra foi centrifugada a 13.000 rpm, 4°C, durante 20 minutos, e os sobrenadantes submetidos à quantificação proteica pelo método de Lowry, que utiliza como padrão uma solução de albumina bovina na concentração de 1mg/mL, a absorbância foi determinada a 625nm (LOWRY et al., 1951).

A expressão das citocinas foram realizadas por ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) nas amostras do extrato de proteínas extraído do tecido adiposo e do baço, incubadas com Kits Duo-set disponíveis para IL-1 β , IL-6 e IL-10 (BD Systems Inc., Minneapolis, MN, EUA) e TNF α (Pharmlingen, San Jose, CA, EUA). Incubou-se a placa, de um dia para o outro a 4°C com o anticorpo primário (captura 100 μ L/poço). Após esse período, a placa foi lavada três vezes com o tampão de lavagem (PBS contendo 0,05% Tween 20 - Sigma Chemical Co, EUA) e incubada com o tampão de experimento que contém PBS e BSA por 1 hora. Após nova lavagem, foram adicionadas as amostras/ou

padrão (curva) e incubou-se por mais 2 horas. Ao final desse período foram adicionados os anticorpos secundários biotinilados (100µL/poço) e incubados por mais 2 horas. A placa foi novamente lavada, e adicionada 100µL/poço de estreptovidina conjugada com HRP (Horseradish Peroxidase). A placa foi coberta e protegida da luz e incubada por mais 20 minutos. Em seqüência, a placa foi novamente lavada e incubada por mais 30 minutos com 100µL/poço de TMB (tetramethylbenzidine - Calbiochem,USA) e novamente protegida da luz. A reação colorimétrica foi parada com H₂SO₄ (2N) e a densidade óptica foi determinada a 450nm. A sensibilidade do ensaio foi de 15 pg/ml.

3.2.12. Nitritos no Plasma

Os níveis de nitritos foram medidos pela reação das amostras com o reagente de Griess microplacas (96 poços) em aparelho leitor de ELISA. O total de nitrito tecidual foi analisado pela reação das amostras com 50 µl de reagente de Griess. O total de nitrito tecidual foi estimado a partir de uma curva padrão de absorbância em 592 nm (GRANGER et al., 1999).

3.2.13. Marcadores de Estresse Oxidativo

No presente estudo avaliamos o estresse oxidativo sistêmico, através do plasma dos animais por técnicas que se baseiam na avaliação de metabolização de óxido nítrico

(concentração de nitritos) na avaliação de promotores de dano (produção de espécies reativas de oxigênio- ânion superóxido e peróxido de hidrogênio), na avaliação de inibidores de dano (antioxidantes enzimáticos- superóxido dismutase e catalase) e capacidade antioxidante total, e na avaliação de produtos de oxidação de biomoléculas (lipoperoxidação- técnica TBARS-substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; e dano à proteína- técnica das carbonilas). Desta forma, avaliamos de diferentes formas o estresse oxidativo nos grupos estudados (DOTAN et al., 2004)

3.2.13.1. Dosagem de Proteínas

As proteínas foram quantificadas pelo método descrito por Lowry et al., que utiliza como padrão uma solução de albumina bovina na concentração de 1mg/mL (LOWRY et al., 1951).

3.2.13.2. Dosagem do Ânion Superóxido

O ânion superóxido foi determinado nos homogenizados pela taxa de oxidação da adrenalina lido em espectrofotômetro a 480 nm, conforme descrito por McCord e Fridovich (1973).

3.2.13.3. Dosagem do Peróxido de Hidrogênio

O peróxido de hidrogênio foi mensurado através oxidação de vermelho de fenol mediada pela peroxidase rabanete (HRP), levando à formação de um composto mensurável 610nm. O plasma foi incubado por 30 min a 37 °C em tampão fosfato 10 mmol/l (NaCl 140 mmol/l e dextrose 5 mmol/l). Os sobrenadantes foram transferidos para tubos com 0,28 mmol/l de vermelho de fenol e 8,5 U/ml de HRPO. Depois de 5 min de incubação, 1 mol/l de NaOH foi adicionado e os valores de absorbância da solução medidos a 610 nm. Os resultados foram expressos em nmoles H₂O₂ grama de tecido (PICK & KEISARI, 1980).

3.2.13.4. Superóxido Dismutase (SOD)

A técnica utilizada foi baseada na inibição da reação do radical superóxido com o piragalol. Uma vez que não se consegue determinar a concentração da enzima nem sua atividade em termos de substrato consumido por unidade de tempo, se utiliza a quantificação em unidades relativas. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibe em 50% a velocidade de oxidação do detector. A oxidação do pirogalol leva à formação de um produto colorido, detectado espectrofotometricamente a 420 nm durante 2 minutos. A atividade da SOD foi determinada medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado. No meio de reação, foram utilizados 20 µL de plasma 973 µL de tampão Tris-Fosfato a 50 mmol/L (pH 8,2), 8 µL de pirogalol a 24 mmol/L, 4

μL de CAT a $30 \mu\text{mol/L}$. Esta curva obtida foi utilizada como branco. Foi também realizado uma curva padrão utilizando três concentrações distintas de SOD (0,25U, 0,5U e 1U), através da qual foi obtida a equação da reta para realização dos cálculos (MCCORD & FRIDOVICH, 1969).

3.2.13.5. Catalase (CAT)

A taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio é diretamente proporcional à atividade da CAT. Desta forma, o consumo de H_2O_2 pode ser utilizado como uma medida de atividade da enzima CAT. O ensaio consiste em medir a diminuição da absorbância a 240nm , comprimento de onda onde há a maior absorção pelo peróxido de hidrogênio, utilizando-se cubetas de quartzo. Para a realização das medidas foi usada uma solução tampão constituída de fosfatos a 50 mmol/L em pH 7,4. Foram adicionados $9\mu\text{L}$ deste tampão e $10\mu\text{L}$ de amostra de plasma na cubeta do espectrofotômetro, sendo esta mistura descontada contra um branco de tampão fosfato. A seguir foram adicionados $35\mu\text{L}$ de peróxido de hidrogênio ($0,3 \text{ mol/L}$) e foi monitorada a diminuição da absorbância no espectrofotômetro (BOVERIS & CHANCE, 1973).

3.2.13.6. Capacidade Antioxidante Total (TRAP)

Esta técnica foi baseada na formação de um radical que emite luz, e que é detectado por contador beta (*TriCrab 2800TR*, *PerkinElmer*) com o circuito de coincidência desconectado e utilizando o canal de trítio em sala escura. O meio de reação consiste em 3,0 mL de uma solução de AZO, a qual foi adicionado 10 μ L de luminol, realizando-se uma leitura basal. Após, adicionou-se a amostra (em torno de 10 μ L). Para estabelecer a curva padrão foram realizadas duas leituras contendo Trolox, nas quantidades 5 μ L e 10 μ L. Esta técnica é baseada na decomposição do 2,2' Azo-bis (2-amidino-propano ABAP) diidrocloreto que gera radicais livres. Os radicais formados pela decomposição do ABAP vão, por sua vez, reagir com o luminol acrescentado ao meio de reação, gerando outro radical livre mais energético e com maior emissão de luz, isto faz com que sua detecção pelo contador seja facilitada. Porém, se no meio de reação existir a presença de uma substância antioxidante, esta irá neutralizar os radicais livres e, assim, diminuir a emissão de luz. Quando toda a substância antioxidante tiver reagido, ou seja, quando todo antioxidante tiver sido consumido, o luminol volta a reagir com o ABAP radical aumentando novamente a emissão de luz detectada pelo contador. A primeira leitura é realizada com ABAP e luminol nesta, verificamos a formação de radicais livres, posteriormente realizamos uma curva padrão utilizando o Trolox como antioxidante e, medimos a capacidade antioxidante de nossas amostras observando-se o tempo que a amostra inibe a formação dos radicais do luminol (LISSI et al., 1995).

3.2.13.7. Medida de Lipoperoxidação (TBARS)

Para o ensaio das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, o ácido tricloroacético (20%, p/v), o SDS (8,1 %, p/v) e ácido tiobarbitúrico (0,67%, p/v) foi adicionado ao plasma para precipitar as proteínas e para acidificar as amostras. Esta mistura foi, em seguida, centrifugada (4000 rpm, 5 min), e a amostra livre de proteína foi extraída. As amostras foram colocadas no banho (95°C) durante 30 min e ao término foram colocadas em gelo por 5 minutos. As absorbâncias foram medidas a 535nm. Os resultados são expressos como nanomoles por miligrama de proteína, adaptação de Ohkawa (1979).

3.2.13.8. Dosagem de Proteínas Oxidadas (Carbonilas)

O ensaio para detecção das carbonilas é uma das técnicas utilizadas para a determinação de proteínas modificadas oxidativamente (REZNICK & PACKER, 1994). A técnica se baseia na reação das proteínas oxidadas do plasma sanguíneo com 2,4 dinitro fenil hidrazina (DNPH) em meio ácido, seguido de sucessivas lavagens com ácidos e solventes orgânicos e incubação final com guanidina. Desta forma, a absorbância das carbonilas foi medida em um espectrofotômetro a 360nm, num meio de reação contendo os seguintes reagentes- guanidina (6M) em ácido clorídrico (HCl) (2,5M) pH= 2,5; 2,4 DNPH em HCl (2,5M); ácido tricloroacético (TCA) 20%; TCA 10%; etanol - acetato de etila 1-1 (V/V). Paralelamente foi realizada a curva padrão de proteína, com albumina, com a absorbância lida em 280nm no espectrofotômetro.

3.3. Análise Estatística

Os resultados estão apresentados como média $\pm$ erro padrão. O teste de Levene foi utilizado para verificar a homogeneidade das amostras. O teste de análise de variância (ANOVA) foi devidamente aplicado para análise dos dados, seguido do post hoc de Student Newman Keuls. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Resultados

4. RESULTADOS

Os resultados estão apresentados em dois capítulos. No primeiro capítulo, foi avaliado o curso temporal das alterações induzidas pelo consumo de frutose em animais espontaneamente hipertensos sendo, portanto, comparados os grupos C (controle normotenso), H (hipertenso), HF (hipertenso+frutose) nos tempos 7, 15, 30 e 60 dias. No segundo capítulo, foram avaliados o efeito preventivo do treinamento físico aeróbio sobre as alterações observadas em animais hipertensos submetidos ao consumo crônico de frutose, sendo, portanto, comparados os grupos HF (hipertenso+frutose) e HFT (hipertenso+frutose+treinamento físico) nos tempos 7, 15, 30 e 60 dias.

4.1. CAPÍTULO I- Curso temporal das alterações induzidas pela sobrecarga de frutose em animais geneticamente predispostos à hipertensão (grupos C, H e HF)

4.1.1. Peso Corporal

No início do protocolo (30 dias), os animais controles (grupo C) apresentaram maior peso corporal do que os animais SHR (C: 63 ± 4 vs. H: 41 ± 4 ; HF: 42 ± 4 g).

Todos os grupos (C, H e HF) apresentaram aumento de peso corporal ao longo do protocolo (60 dias de protocolo vs. 7, 15 e 30 dias; 30 dias de protocolo vs. 7 e 15 dias; e em 15 dias vs. 7 dias de protocolo) como pode ser observado na Tabela 01 e Figura 11.

Os grupos hipertensos (H e HF) apresentaram menor peso corporal em 15, 30 e 60 dias de protocolo em relação ao grupo normotenso (C) nos mesmos períodos. Somado a isso, em 7 dias de protocolo o grupo H apresentou menor peso corporal em relação ao grupo C, já o grupo tratado com frutose (HF) apresentou um peso corporal maior em relação ao grupo C neste mesmo período. Adicionalmente, o grupo HF apresentou valores de peso corporal maior que o grupo H em 7 e 15 dias de protocolo (Tabela 01, Figura 11).

Tabela 01: Peso corporal dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias \ Variável	7	15	30	60
Peso Corporal (g)				
C	88±4,4	154±3,3*	203±4,0†	288±12,3‡
H	71±4,4§	94±4,3*§	176±1,6†§	259±5,6‡§
HF	95±2,9§#	115±3,6*§#	172±8,21†§	258±4,8‡§

Valores representam média ± erro padrão da média. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo; † p< 0,05 vs. 7 e 15 dias no mesmo grupo; ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 11: Peso corporal dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo; † p< 0,05 vs. 7 e 15 dias no mesmo grupo; ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

4.1.2. Triglicerídeos Sanguíneos, Glicemia e Insulina Plasmática

O perfil metabólico no curso temporal dos grupos estudados pode ser observado na Tabela 02 e Figuras 12 e 13.

O consumo de frutose (grupo HF) induziu um aumento nos triglicerídeos sanguíneos em 15, 30 e 60 dias de protocolo em relação ao grupo controle (C) nos mesmos tempos avaliados. Além disso, o grupo HF apresentou um aumento em 30 e 60 dias de protocolo em relação ao grupo H nos mesmos períodos (Tabela 02, Figura 12).

Não foram observadas diferenças significantes na glicose sanguínea entre os grupos no curso temporal avaliado (Tabela 02).

Em relação à insulina no plasma, o grupo hipertenso (H) apresentou valores maiores em 60 dias de protocolo quando comparado ao grupo normotenso (C) nos mesmo tempo avaliado. Já o grupo hipertenso tratado com frutose (HF) apresentou valores maiores de insulina plasmática em 30 e 60 dias de protocolo quando comparado ao grupo normotenso (C) nos mesmos períodos (Tabela 02, Figura 13).

Tabela 02: Triglicerídeos Sanguíneos, Glicemia e Insulina Plasmática nos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variáveis	7	15	30	60
Triglicerídeos (mg/dl)				
C	107±5,0	109±5,5	109±4,1	107±5,9
H	107±3,6	115±1,9	107±5,7	105±5,3
HF	124±6,5	136±7,7§	135±4,9§#	139±6,4§#
Glicemia (mg/dl)				
C	96±2,4	102±1,0	95±4,6	99±2,4
H	103±2,75	96±5,7	95±2,1	98±2,1
HF	105±4,6	109±2,0	107±3,1	105±2,6
Insulina (ng/ml)^{\$}				
C	0,45±0,12	0,65±0,13	0,68±0,15	0,47±0,06
H	0,84±0,20	1,04±0,27	0,98±0,25	1,44±0,07§
HF	1,02±0,14	1,42±0,23	1,76±0,17§	1,72±0,16§

Valores representam média ± erro padrão da média. § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo. \$ número de animais= 4 nos grupos C e H; número de animais= 5-6 no grupo HF.

Figura 12: Triglicerídeos sanguíneos dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo; # $p < 0,05$ vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 13: Insulina plasmática dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo.

4.1.3. Teste de Tolerância à Insulina

O grupo hipertenso tratado com frutose (HF) apresentou uma redução da sensibilidade à insulina ao final do protocolo (60 dias vs. 7, 15 e 30 dias no mesmo grupo). Adicionalmente, apresentou uma resistência à insulina em relação aos grupos controle (C) e ao grupo hipertenso (H) em 60 dias de protocolo (Tabela 03, Figura 14).

Tabela 03: Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variável	7	15	30	60
KITT (mg/dl/%)				
C	4,5±0,2	4,4±0,2	4,3±0,3	3,9±0,2
H	4,7±0,2	4,6±0,3	4,2±0,2	3,9±0,1
HF	5,3±0,3	5,1±0,2	4,3±0,2	3,2±0,2‡§#

Valores representam média ± erro padrão da média. ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 14: Teste de tolerância à insulina dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. ‡ p < 0,05 vs. 7, 15 e 30 dias no mesmo grupo; § p < 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo; # p < 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

4.1.4. Teste de Esforço Máximo

Os grupos hipertensos (H e HF) apresentaram uma velocidade de corrida maior que o grupo normotenso (C) em 7, 15 e 30 dias de protocolo conforme pode ser observado na Tabela 04 e Figura 15.

O consumo de frutose (grupo HF) induziu uma redução da capacidade física ao final do protocolo (60 vs. 7, 15 e 30 dias no mesmo grupo), apresentando uma redução adicional em relação ao grupo controle (C) e ao grupo hipertenso (H) em 60 dias (Tabela 04, Figura 15).

Tabela 04: Tempo alcançado no teste de esforço máximo dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias \ Variável	7	15	30	60
Teste de Esforço (min.)				
C	14±0,5	12±0,6	14±1,1	13±1,0
H	18±0,4§	18±0,8§	17±0,6§	17±1,1
HF	18±0,9§	19±0,8§	18±1,0§	10±0,9‡§#

Valores representam média ± erro padrão da média. ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 15: Tempo alcançado no teste de esforço máximo dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

4.1.5. Pressão Arterial e Frequência Cardíaca

As avaliações hemodinâmicas sistêmicas, PAD, PAS, PAM e FC em repouso podem ser observadas na Tabela 05 e nas Figuras 16 e 17.

O grupo controle (C) não apresentou diferenças na PAD, PAS e na PAM durante o protocolo (Tabela 05, Figura 16).

O grupo hipertenso (H) apresentou um aumento na PAD, PAS e PAM ao final do protocolo (60 vs. 7, 15, e 30 dias de protocolo no mesmo grupo). Além disso, a hipertensão (H) induziu um aumento na PAD, PAS e PAM em todos os tempos avaliados (7, 15, 30 e 60 dias de protocolo) em relação ao grupo normotenso (C) nos mesmos tempos (Tabela 05, Figura 16).

O grupo hipertenso tratado com frutose (HF) apresentou um aumento na PAD, PAS e PAM em 30 (vs. 7 e 15 dias) e 60 dias de protocolo (vs. 7, 15 e 30) em relação aos valores observados no mesmo grupo. Somado a isso, a hipertensão+frutose (HF) induziu um aumento na PAD, PAS e PAM em todos os tempos avaliados (7, 15, 30 e 60 dias de protocolo) em relação ao grupo normotenso (C) nos mesmos tempos. Adicionalmente, a sobrecarga de frutose (grupo HF) induziu um aumento na PAD, PAS e PAM em relação ao grupo hipertenso (H) em 30 e 60 dias de protocolo (Tabela 05, Figura 16).

Não foi observada diferença significativa na FC entre os grupos. O grupo normotenso (C) e o grupo hipertenso (H) apresentaram uma redução da FC em 15, 30 e 60 dias em relação ao início do protocolo (7 dias no mesmo grupo). Por outro lado, a frequência cardíaca no grupo hipertensão+frutose se manteve igual ao longo do protocolo,

não apresentando redução em relação aos seus valores iniciais (37 dias de vida), no qual a frequência cardíaca apresenta uma tendência para valores maiores (Tabela 05, Figura 17).

Tabela 05: Pressão arterial e frequência cardíaca em repouso dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variáveis	7	15	30	60
PAD (mmHg)				
C	76±2,1	91±2,2	92±3,0	96±1,4
H	103±2,9§	109±1,7§	118±3,0§	141±4,1‡§
HF	101±3,0§	107±3,3§	132±3,9†§#	158±4,2‡§#
PAS (mmHg)				
C	111±2,7	119±1,8	121±3,6	126±2,1
H	144±3,1§	161±2,6§	165±4,5§	192±4,3‡§
HF	144±3,5§	148±1,6§	175±3,7†§#	211±5,9‡§#
PAM (mmHg)				
C	95±1,9	105±1,5	107±2,9	112±1,8
H	124±1,7§	134±1,7§	141±3,4§	165±3,2‡§
HF	123±2,7§	128±2,9§	153±3,5†§#	184±3,4‡§#
FC (bpm)				
C	405±12,3	358±8,2*	338±7,6*	335±7,3*
H	421±13,9	375±5,1*	351±7,1*	345±7,5*

HF	403±13,2	381±6,2	369±5,1	367±10
----	----------	---------	---------	--------

Valores representam média $\pm$ erro padrão da média. PAD- pressão arterial diastólica, PAS- pressão arterial sistólica, PAM- pressão arterial média, FC- frequência cardíaca. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo; † $p < 0,05$ vs. 7 e 15 dias no mesmo grupo; ‡ $p < 0,05$ vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo; # $p < 0,05$ vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 17: Pressão arterial média em repouso dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. † $p < 0,05$ vs. 7 e 15 dias no mesmo grupo; ‡ $p < 0,05$ vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo; # $p < 0,05$ vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 16: Frequência cardíaca em repouso dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo.

4.1.6. Avaliação da Sensibilidade Barorreflexa

A sensibilidade do reflexo comandado pelos pressorreceptores induzidas por drogas vasoativas foi avaliada através de repostas bradicárdicas e taquicárdicas reflexas, induzidas por aumentos e quedas da PA, respectivamente, sendo seus resultados apresentados na Tabela 06 e Figuras 18 e 19.

A hipertensão (grupo H) induziu uma redução da sensibilidade do barorreflexo para respostas bradicárdicas ao longo do protocolo (30 e 60 dias vs. 7 dias de protocolo no mesmo grupo), e em 30 e 60 dias quando comparado ao grupo normotenso (C) nos mesmos tempos. O grupo hipertenso tratado com frutose (HF) apresentou uma redução

desta resposta em todo o curso temporal avaliado (7, 15, 30 e 60 dias de protocolo) em relação ao grupo normotenso (C) nos mesmos tempos. Além disso, o grupo HF apresentou uma redução adicional nas respostas bradicárdicas em 7 e 15 dias de protocolo em relação ao grupo hipertenso (H) no mesmo período (Tabela 06, Figura 18).

Para as respostas taquicárdicas o grupo hipertenso (H) apresentou uma redução desta resposta em 30 e 60 dias em relação aos seus valores iniciais e em relação ao grupo normotenso (C) nos mesmos períodos. O grupo hipertensão+frutose (HF) apresentou uma redução das respostas taquicárdicas em todos os tempos avaliados (7, 15, 30 e 60 dias de protocolo) quando comparado ao grupo normotenso (C) nos mesmos períodos (Tabela 06, Figura 19).

Tabela 06: Sensibilidade barorreflexa avaliada pelas respostas bradicárdicas e taquicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variável	7	15	30	60
RB (bpm/mmHg)				
C	-1,28±0,13	-1,26±0,08	-1,39±0,08	-1,37±0,16
H	-1,24±0,06	-1,04±0,07	-0,76±0,05*§	-0,82±0,05*§
HF	-0,74±0,08§#	-0,66±0,05§#	-0,68±0,06§	-0,74±0,03§
RT (bpm/mmHg)				
C	-3,27±0,46	-3,01±0,11	-2,91±0,24	-3,06±0,09
H	-2,94±0,12	-2,51±0,11	-2,05±0,15§	-2,07±0,22§
HF	-2,24±0,10§	-2,14±0,13§	-1,79±0,19§	-1,53±0,06§

Valores representam média ± erro padrão da média. RB- resposta bradicárdica; RT- resposta taquicárdica. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo; § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 18: Respostas bradicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo; § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo; # $p < 0,05$ vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 19: Respostas taquicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo.

4.1.7. Reatividade Vascular

As alterações de pressão arterial à fenilefrina nas doses de $0,5\mu\text{g/ml}$ e $8\mu\text{g/ml}$, e ao nitroprussiato de sódio nas doses de $2,5\mu\text{g/ml}$ e $20\mu\text{g/ml}$ podem ser observadas na Tabelas 07, 08 e Figuras 20, 21 e 22.

Não foi observado diferença na resposta pressórica a $0,5\mu\text{g/ml}$ de fenilefrina entre os grupos. Todavia, os grupos hipertensos (H e HF) apresentaram em todos os tempos avaliados (7, 15, 30 e 60 dias de protocolo) menor resposta pressórica para $8\mu\text{g/ml}$ de fenilefrina em relação ao grupo normotenso (C) para a mesma dose e períodos (Tabela 07, Figura 20).

Tabela 07: Resposta da pressão arterial à fenilefrina nas doses de 0,5µg/ml e 8µg/ml dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Doses	7	15	30	60
ΔPA (mmHg) fenilefrina 0,5 µg/ml				
C	23,6±3,3	20,0±4,3	26,7±1,8	22,4±1,8
H	21,3±1,6	15,7±0,5	17,9±1,6	20,6±2,2
HF	16,5±0,9	17,3±3,1	22,4±1,2	14,9±3,2
ΔPA (mmHg) fenilefrina 8 µg/ml				
C	42,6±3,1	42,4±2,6	47,3±1,8	44,9±4,0
H	27,4±3,4§	29,0±4,9§	32,2±2,4§	26,2±2,2§
HF	29,2±1,6§	25,8±4,2§	32,3±2,1§	28,9±2,5§

Valores representam média ± erro padrão da média. § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo.

Figura 20: Resposta pressórica à fenilefrina na dose de 8µg/ml dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo.

Já para as respostas ao nitroprussiato de sódio, não houve diferença entre os grupos na dose de 2,5µg/ml. Em relação à resposta depressora a 20µg/ml de nitroprussiato de sódio, o grupo hipertensão+frutose (HF) apresentou maior resposta em 15, 30 e 60 dias de protocolo quando comparado ao grupo normotenso (C) nos mesmos períodos, o que não foi observado no grupo H (Tabela 08, Figura 21).

Tabela 08: Resposta da pressão arterial ao nitroprussiato de sódio nas doses de 2,5µg/ml e 20µg/ml dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Doses	7	15	30	60
ΔPA (mmHg) Nitroprussiato de sódio 2,5 µg/ml				
C	-25,3±2,2	-16,4±1,3	-20,2±2,0	-15,6±1,1
H	-23,8±3,6	-26,7±2,4	-26,4±1,8	-24,3±2,4
HF	-25,2±3,2	-25,6±1,8	-26,9±2,9	-22,1±2,6
ΔPA (mmHg) Nitroprussiato de sódio 20 µg/ml				
C	-33,6±3,7	-28,9±2,7	-26,9±1,9	-25,8±5,1
H	-30,7±4,2	-45,6±2,8	-41,4±1,8	-36,4±2,7
HF	-43,5±5,3	-50,8±3,4§	-50,8±4,3§	-44,2±5,7§

Valores representam média ± erro padrão da média. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo;
§ p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo.

Figura 21: Resposta depressora ao nitroprussiato de sódio na dose de 20µg/ml dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo. § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo.

4.1.8. Mediadores Inflamatórios no Tecido Adiposo Branco Retroperitoneal

Para apresentação dos resultados das citocinas inflamatórias o grupo controle (C) nos diferentes tempos de avaliação foi considerado um único grupo, assim como o grupo hipertenso (H). A apresentação dos resultados englobando vários tempos dos animais C ou H devido a pouca sensibilidade das amostras para o kit utilizado, resultando em um número reduzido de amostras com resultados positivos em cada tempo avaliado. É importante ressaltar, que os grupos C e H não apresentavam diferença estatística no curso temporal dos mesmos (entre os tempos avaliados no mesmo grupo).

O grupo hipertensão+frutose (HF) apresentou um aumento nos valores de TNF α e IL-6 em 15 dias (145 $\pm$ 27; 359 $\pm$ 91 pg/mg prot.) e 30 dias (135 $\pm$ 24; 334 $\pm$ 34 pg/mg prot.) em relação aos seus valores em 7 dias (40 $\pm$ 7; 108 $\pm$ 10 pg/mg prot.) e 60 dias de protocolo (55 $\pm$ 15; 71 $\pm$ 15 pg/mg prot.) e em relação ao grupo normotenso (C: 29 $\pm$ 7; 72 $\pm$ 10 pg/mg prot.) e ao grupo hipertenso (H: 33 $\pm$ 2; 60 $\pm$ 27 pg/mg prot.) (Figuras 22 e 23).

A IL-1 β apresentou-se maior no grupo HF em 15 dias (63 $\pm$ 13 pg/mg prot.) em relação aos seus valores em 30 dias (32 $\pm$ 7 pg/mg prot.) e 60 dias de protocolo (5 $\pm$ 0,9 pg/mg prot.) e em relação ao grupo C (8 $\pm$ 2 pg/mg prot.). Não houve marcação para o grupo H na leitura desta citocina.

Figura 22: Fator de necrose tumoral alfa no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertensão+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo; ¥ $p < 0,05$ vs. 15 e 30 dias no mesmo grupo; § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo; # $p < 0,05$ vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 23: Interleucina-6 no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo; ¥ $p < 0,05$ vs. 15 e 30 dias no mesmo grupo; § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo; # $p < 0,05$ vs. grupo H no mesmo tempo.

4.1.9. Mediadores Inflamatórios no Baço

Não foram observadas diferenças do TNF α e da IL-6 no baço no curso temporal entre os grupos estudados (Tabela 9).

O grupo hipertensão+frutose (HF) apresentou um aumento da IL-1 β em 15 dias em relação aos seus valores em 7 dias e 60 dias de protocolo. Além disso, o grupo HF apresentou um aumento desta interleucina em 15 e 30 dias de protocolo quando comparado aos grupos normotenso (C) e hipertenso (H) nos mesmos períodos (Tabela 09, Figura 24).

Tabela 09: Citocinas inflamatórias no baço dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variáveis	7	15	30	60
TNFα (pg/mg prot.)				
C	26 $\pm$ 4,7	25 $\pm$ 3,4	16 $\pm$ 2,3	19 $\pm$ 3,4
H	11 $\pm$ 1,5	12 $\pm$ 0,9	15 $\pm$ 1,5	16 $\pm$ 1,7
HF	13 $\pm$ 1,2	20 $\pm$ 5,0	23 $\pm$ 2,5	27 $\pm$ 1,7
IL-6 (pg/mg prot.)				
C	65 $\pm$ 5,6	55 $\pm$ 5,7	45 $\pm$ 5,3	49 $\pm$ 3,7
H	58 $\pm$ 22,1	39 $\pm$ 2,9	50 $\pm$ 2,9	49 $\pm$ 5,0
HF	42 $\pm$ 2,2	55 $\pm$ 5,6	48 $\pm$ 0,2	34 $\pm$ 1,0
IL-1β (pg/mg prot.)				
C	64 $\pm$ 2,8	82 $\pm$ 3,6	49 $\pm$ 5,2	48 $\pm$ 2,4
H	74 $\pm$ 18,0	42 $\pm$ 6,7	63 $\pm$ 19,0	49 $\pm$ 7,9
HF	102 $\pm$ 12,1	136 $\pm$ 10,1*§#	110 $\pm$ 6,4§#	87 $\pm$ 3,5¶

Valores representam média $\pm$ erro padrão da média. TNF α - fator de necrose tumoral alfa; IL-6- interleucina 6; IL-1 β - interleucina 1 beta. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo; ¶ p< 0,05 vs. 15 dias no mesmo grupo; § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 24: Interleucina-1 beta no baço dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo; § $p < 0,05$ vs. 15 dias no mesmo grupo; § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo; # $p < 0,05$ vs. grupo H no mesmo tempo.

4.1.10. Nitritos Plasmáticos

A metabolização de óxido nítrico avaliada pela concentração de nitrito plasmático pode ser observada na Tabela 10 e Figura 25.

O grupo hipertensão+frutose (HF) apresentou uma redução da biodisponibilidade de óxido nítrico em 15 e 30 dias de protocolo em relação ao grupo normotenso (C) nos mesmos períodos (Tabela 10, Figura 25).

Tabela 10 Nitritos plasmáticos dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variável	7	15	30	60
Nitritos (nmol/mg prot.)				
C	0,71±0,1	0,74±0,1	0,79±0,1	0,52±0,1
H	0,48±0,1	0,61±0,1	0,57±0,1	0,51±0,1
HF	0,49±0,1	0,33±0,05§	0,33±0,05§	0,33±0,05

Valores representam média ± erro padrão da média. § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo.

Figura 25: Nitritos plasmáticos no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo.

4.1.11. Marcadores de Estresse Oxidativo

Para verificar a produção de EROs, foram realizadas as medidas de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio, como pode ser observado na Tabela 11 e na Figura 26. Não foram observadas diferenças no ânion superóxido no curso temporal entre os grupos avaliados. O grupo hipertensão+frutose apresentou um aumento do peróxido de hidrogênio em 30 dias de protocolo quando comparado ao grupo hipertenso (H) no mesmo período (Tabela 11, Figura 26).

Tabela 11: Concentração de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variáveis	7	15	30	60
Ânion superóxido (O ²⁻ mmoles/mg prot.)				
C	65±7,6	73±6,7	55±4,3	82±11,2
H	76±11,3	113±20,9	123±7,9	98±15,3
HF	87±12,8	82±12,7	73±12,8	73±9,6
Peróxido de hidrogênio (µM/g tecido)				
C	9,46±0,4	13,9±1,4	13,1±1,3	10,1±1,5
H	9,21±2,6	12,3±1,9	9,9±1,6	10,6±1,3
HF	16,2±1,6	15,7±1,5	19,7±2,4#	15,6±3,5

Valores representam média ± erro padrão da média. # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 26: Peróxido de hidrogênio plasmático dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. # $p < 0,05$ vs. grupo H no mesmo tempo.

Com relação ao perfil antioxidante, foram realizadas as medidas das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a capacidade antioxidante total (TRAP), que podem ser observadas na Tabela 12 e Figura 27.

O grupo hipertensão+frutose (HF) apresentou uma redução da atividade da enzima antioxidante SOD em 60 dias de protocolo em relação aos seus valores em 7, 15 e 30 dias. Somado a isso, o grupo HF apresentou menor atividade dessa enzima em 15, 30 e 60 dias de protocolo quando comparado aos grupos controle (C) e hipertenso (H) nos mesmos períodos (Tabela 12, Figura 27).

Não foram observadas diferenças significantes na atividade da enzima catalase e na capacidade antioxidante total no plasma entre os grupos durante o curso temporal avaliado (Tabela 12).

Tabela 12: Perfil antioxidante dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variáveis	7	15	30	60
SOD (USOD/mg prot.)				
C	6,3±0,4	7,3±0,2	7,3±0,2	6,6±0,5
H	5,6±0,5	6,2±0,3	6,45±0,2	6,2±0,1
HF	5,7±0,4	4,6±0,1§#	4,9±0,3§#	3,5±0,4‡§#
CAT (nmol/mg prot.)				
C	0,10±0,01	0,15±0,03	0,14±0,04	0,10±0,02
H	0,13±0,02	0,15±0,04	0,10±0,02	0,11±0,02
HF	0,14±0,03	0,13±0,02	0,14±0,03	0,07±0,02
TRAP (uM de trolox)				
C	52,6±8,9	50,8±7,2	47,1±8,6	47,9±10,4
H	51,0±6,1	51,0±11,0	36,0±2,0	41,2±4,3
HF	59,8±8,4	73,0±11,7	57,7±6,3	30,7±5,9

Valores representam média ± erro padrão da média. SOD: Superóxido Dismutase, CAT: Catalase, TRAP: Capacidade Antioxidante Total. ‡ p< 0,05 vs. 7, 15 e 30 dias no mesmo grupo; § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 27: Atividade da superóxido dismutase no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. ‡ $p < 0,05$ vs. 7, 15 e 30 dias no mesmo grupo; § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo; # $p < 0,05$ vs. grupo H no mesmo tempo.

Com relação a avaliação de dano, foram realizadas as medidas de lipoperoxidação (TBARS) e de oxidação de proteínas (carbonilas) como pode ser observado na Tabela 13 e Figuras 28 e 29.

O grupo hipertensão+frutose apresentou um aumento da lipoperoxidação e da oxidação de proteínas no plasma ao final do protocolo (60 dias) em relação aos seus valores em 7, 15 e 30 dias. Além disso, esse grupo apresentou maior lipoperoxidação e oxidação de proteínas quando comparado aos grupos normotenso (C) e hipertenso (H) em 60 dias (Tabela 13, Figuras 28, 29).

Tabela 13: Lipoperoxidação e oxidação de proteína no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variáveis	7	15	30	60
Lipoperoxidação (nmoles/mg prot.)				
C	537±53,9	554±34,7	599±46,1	556±46,7
H	508±41,7	564±45,8	585±53,7	542±66,0
HF	560±51,2	513±50,5	492±57,0	810±53,5‡§#
Oxidação de proteínas (nmol/mg prot.)				
C	1,87±0,18	1,95±0,21	2,23±0,10	1,91±0,23
H	2,12±0,22	2,55±0,30	2,52±0,28	2,86±0,26
HF	2,46±0,12	2,13±0,18	2,24±0,45	4,15±0,90‡§#

Valores representam média ± erro padrão da média. ‡ p< 0,05 vs. 7, 15 e 30 dias no mesmo grupo; § p< 0,05 vs. grupo C no mesmo tempo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 28: Lipoperoxidação no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. ‡ $p < 0,05$ vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo; # $p < 0,05$ vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 29: Oxidação de proteínas no plasma dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. ‡ $p < 0,05$ vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; § $p < 0,05$ vs. grupo C no mesmo tempo; # $p < 0,05$ vs. grupo H no mesmo tempo.

4.2. CAPITULO II: Curso temporal das alterações induzidas pelo treinamento físico aeróbio em animais com sobrecarga de frutose e geneticamente predispostos à hipertensão (grupos HF e HFT).

4.2.1. Peso Corporal

No início do protocolo (30 dias), os grupos HF e HFT apresentavam peso corporal semelhante (HF: 42 ± 4 vs. HFT: 48 ± 2 g).

Todos os grupos (HF e HFT) apresentaram aumento de peso corporal ao longo do protocolo (60 dias vs. 7, 15 e 30; 30 dias vs. 7 e 15; 15 dias vs. 7 dias de protocolo) conforme pode ser observado na Tabela 14 e Figura 30.

O grupo treinado (HFT) apresentou uma redução no peso corporal em 7 dias de protocolo quando comparado ao grupo sedentário (HF) no mesmo período (Figura 30).

Tabela 14: Peso corporal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias \ Variável	7	15	30	60
Peso Corporal (g)				
HF	96±2,9	115±3,6*	172±8,21†	258±4,8‡
HFT	74±4,0#	110±3,3*	184±7,5†	257±2,9‡

Valores representam média ± erro padrão da média. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo; † p< 0,05 vs. 7 e 15 dias no mesmo grupo; ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

Figura 30: Peso corporal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo; † p< 0,05 vs. 7 e 15 dias no mesmo grupo; ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo H no mesmo tempo.

4.2.2. Triglicerídeos Sanguíneos, Glicemia e Insulina Plasmática

O perfil metabólico no curso temporal dos grupos estudados (HF e HFT) pode ser observado na Tabela 15 e nas Figuras 31 e 32.

Não foram observadas diferenças significantes nos triglicerídeos sanguíneos entre os grupos durante o curso temporal avaliado (Tabela 15).

O grupo treinado (HFT) apresentou uma redução da glicose sanguínea ao final do protocolo (60 dias) em relação ao grupo sedentário (HF) no mesmo período (Tabela 15, Figura 31).

Por outro lado, o grupo sedentário+frutose (HF) apresentou um aumento da insulina no plasma em 30 e 60 dias de protocolo em relação aos seus valores no início do protocolo (7 dias), o que não foi observado no grupo HFT (Tabela 15, Figura 32).

Tabela 15: Triglicerídeos Sanguíneos, Glicemia e Insulina Plasmática dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias	7	15	30	60
Variáveis				
Triglicerídeos (mg/dl)				
HF	125±6,5	136±7,8	135±4,9	139±6,4
HFT	129±10,6	128±7,7	118±7,2	127±9,1
Glicemia (mg/dl)				
HF	105±4,6	109±2,0	107±3,1	105±2,6
HFT	97±3,2	93±3,5	101±4,1	89 ±4,2#
Insulina (ng/ml)^{\$}				
HF	1,02±0,1	1,42±0,2	1,76±0,2*	1,72±0,2*
HFT	1,09±0,1	1,40±0,1	1,57±0,1	1,41±0,1

Valores representam média ± erro padrão da média. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo;
p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo. \$ número de animais= 5-6.

Figura 31: Glicemia dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. # $p < 0,05$ vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 32: Insulina plasmática dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo.

4.2.3. Teste de Tolerância à Insulina

O grupo hipertensão+frutose (HF), apresentou uma redução da sensibilidade à insulina ao final do protocolo (60 vs. 7, 15 e 30 dias no mesmo grupo) como pode ser observado na Tabela 16 e Figura 33.

Por outro lado, o treinamento físico (grupo HFT) aumentou a sensibilidade à insulina, que estava reduzida no grupo HF, ao final do protocolo (60 dias) em relação ao grupo sedentário (HF) no mesmo período (Tabela 16, Figura 33).

Tabela 16: Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos normotenso (C), hipertenso (H) e hipertenso+frutose (HF) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variável	7	15	30	60
ITT (KITT mg/dl/%)				
HF	5,3±0,3	5,1±0,2	4,3±0,2	3,2±0,2‡
HFT	5,7±0,2	5,5±0,3	4,4±0,6	4,2±0,5#

Valores representam média ± erro padrão da média. ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 33: Tolerância à insulina dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. ‡ $p < 0,05$ vs. 7, 15 e 30 dias no mesmo grupo; # $p < 0,05$ vs. grupo HF no mesmo tempo.

4.2.4. Teste de Esforço Máximo

A hipertensão associada à sobrecarga de frutose (grupo HF) reduziu a capacidade física ao final do protocolo (60 dias vs. 7, 15 e 30 dias). O treinamento físico (grupo HFT) foi capaz de manter essa capacidade física, ou seja, o grupo HFT apresentou um aumento quando comparado ao grupo sedentário (HF) em 60 dias de protocolo (Tabela 17 e Figura 34).

Tabela 17: Tempo alcançado nos testes de esforço dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias \ Variável	7	15	30	60
Teste de Esforço (min.)				
HF	18±0,9	19±0,8	18±1,0	10±0,9‡
HFT	20±1,1	20±1,5	20±1,1	20±0,5#

Valores representam média ± erro padrão da média. ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 34: Tempo alcançado nos testes de esforço máximo dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

4.2.5. Pressão Arterial e Frequência Cardíaca

As avaliações hemodinâmicas sistêmicas, PAD, PAS, PAM e FC em repouso podem ser observadas na Tabela 18 e nas Figuras 35 e 36.

A hipertensão associada ao consumo de frutose (grupo HF) independente do treinamento físico (grupo HFT) induziu um aumento na PAD, PAS e PAM em 30 dias quando comparado aos seus períodos de 7 e 15 dias de protocolo nos respectivos grupos, e em 60 dias quando comparado aos seus períodos de 7, 15 e 30 dias de protocolo nos respectivos grupos. Não foram observadas diferenças entre os grupos na pressão arterial no curso temporal avaliado (Tabela 18, Figura 35).

Os valores de FC não apresentaram diferenças significantes entre os grupos. Todavia, o grupo treinado (HFT) apresentou uma bradicardia de repouso em 15 e 30 dias de protocolo quando comparado aos seus valores em 7 dias, e em 60 dias quando comparado aos seus valores em 7 e 15 dias de protocolo (Tabela 18, Figura 36).

Tabela 18: Pressão arterial e frequência cardíaca em repouso dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variáveis	7	15	30	60
PAD (mm/Hg)				
HF	101±3,0	107±3,3	132±3,9†	158±4,2‡
HFT	99±1,7	104±2,6	122±6,7†	161±3,0‡
PAS (mm/Hg)				
HF	144±3,5	148±1,6	175±3,7†	211±5,9‡
HFT	139±2,1	146±2,9	165±7,15†	208±5,3‡
PAM (mm/Hg)				
HF	123±2,7	128±2,9	153±3,5†	184±3,4‡
HFT	119±1,3	125±2,6	143±6,2†	184±3,7‡
FC (bpm)				
HF	403±13,2	381±6,2	369±5,1	367±10,0
HFT	427±5,1	380±15,3*	340±7,2*	340±6,6†

Valores representam média ± erro padrão da média. PAD: pressão arterial diastólica, PAS: pressão arterial sistólica, PAM: pressão arterial média, FC: frequência cardíaca. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo; † p< 0,05 vs. 7 e 15 dias no mesmo grupo; ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo.

Figura 35: Pressão arterial média dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. † $p < 0,05$ vs. 7 e 15 dias no mesmo grupo; ‡ $p < 0,05$ vs. 7, 15 e 30 dias no mesmo grupo.

Figura 36: Frequência cardíaca dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo. † $p < 0,05$ vs. 7 e 15 dias no mesmo grupo.

4.2.6. Avaliação da Sensibilidade do Barorreflexo

A sensibilidade do reflexo comandado pelos pressorreceptores foi avaliada através de repostas bradicárdicas e taquicárdicas reflexas induzidas por aumentos e quedas da PA, respectivamente, é apresentada na Tabela 19 e nas Figuras 37 e 38.

O treinamento físico (grupo HFT) induziu um aumento da sensibilidade do barorreflexo para as respostas bradicárdicas em todos os períodos avaliados (7, 15, 30 e 60 dias de protocolo) quando comparado ao grupo sedentário (HF) nos mesmos períodos (Tabela 19, Figura 37).

Com relação as respostas taquicárdicas, o grupo HFT apresentou uma redução da sensibilidade do barorreflexo ao final do protocolo (60 dias) em relação aos seus valores em 7 e 15 dias de protocolo. Todavia, o treinamento físico (grupo HFT) foi capaz de melhorar a sensibilidade do barorreflexo em 7, 15 e 30 dias de protocolo quando comparado ao grupo sedentário (HF) nos mesmos períodos (Tabela 19, Figura 38).

Tabela 19: Respostas bradicárdicas e taquicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variável	7	15	30	60
RB (bpm/mmHg)				
HF	-0,74±0,08	-0,66±0,05	-0,68±0,06	-0,74±0,03
HFT	-1,52±0,08#	-1,23±0,06#	-1,20±0,18#	-1,29±0,09#
RT (bpm/mmHg)				
HF	-2,24±0,10	-2,14±0,13	-1,79±0,19	-1,53±0,06
HFT	-2,87±0,20#	-2,81±0,25#	-2,67±0,29#	-2,00 ±0,13†

Valores representam média ± erro padrão da média. RB: resposta bradicárdica; RT: resposta taquicárdica. † p< 0,05 vs. 7 e 15 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 37: Respostas bradicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. # $p < 0,05$ vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 38: Respostas taquicárdicas a alterações da pressão arterial dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. † $p < 0,05$ vs. 7 e 15 dias no mesmo grupo; # $p < 0,05$ vs. grupo HF no mesmo tempo.

4.2.7. Reatividade Vascular

As alterações de pressão arterial à fenilefrina (0,5 e 8 µg/ml) e ao nitroprussiato de sódio (2,5 e 20 µg/ml) podem ser observadas nas Tabelas 20 e 21 e Figura 39.

Não foram observadas diferenças na resposta pressórica a fenilefrina em ambas as doses (0,5 e 8 µg/ml) entre os grupos (Tabela 20).

Tabela 20: Resposta da pressão arterial à fenilefrina nas doses de 0,5µg/ml e 8µg/ml dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias	7	15	30	60
ΔPA (mmHg)				
fenilefrina 0,5 µg/ml				
HF	16,4±0,9	17,3±3,1	22,4±1,2	14,9±3,2
HFT	21,3±3,3	19,8±4,4	17,56±3,4	13,8±4,1
ΔPA (mmHg)				
fenilefrina 8 µg/ml				
HF	29,2±1,6	25,8±4,2	32,3±2,1	28,9±2,5
HFT	31,9±2,8	30,6±3,9	32,2±3,3	34,9±2,9

Valores representam média ± erro padrão da média.

Com relação as respostas ao nitroprussiato de sódio, na dose de 2,5µg/ml e 20 µg/ml, não foram observadas diferenças entre os grupos (Tabela 21).

Tabela 21: Resposta da pressão arterial ao nitroprussiato de sódio nas doses de 2,5µg/ml e 20µg/ml dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias	7	15	30	60
ΔPA (mmHg)				
nitroprussiato de sódio				
2,5 µg/ml				
HF	-25,2±3,2	-25,6±1,8	-26,9±2,9	-22,1±2,6
HFT	-25,3±2,9	-20,1±2,8	-24,4±3,5	-19,6±3,7
ΔPA (mmHg)				
nitroprussiato de sódio				
20 µg/ml				
HF	-43,5±5,3	-50,8±3,4	-50,8±4,3	-44,2±5,7
HFT	-40,5±3,9	-33,2±6,0	-33,4±3,3	-38,3± 4,4

Valores representam média ± erro padrão da média. # p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

4.2.8. Mediadores Inflamatórios no Tecido Adiposo Branco Retroperitoneal

As citocinas inflamatórias estudadas podem ser observadas na Tabela 22 e nas Figuras 39, 40 e 41.

O grupo sedentário (HF) apresentou um aumento do TNF α no tecido adiposo em 15 dias em relação aos seus valores em 7 e 60 dias, e em 30 dias em relação aos seus valores no início do protocolo (7 dias) (Tabela 22, Figura 39).

Com relação a IL-6, o grupo HF apresentou um aumento dessa citocina pró-inflamatória em 15 dias em relação aos seus valores em 7 e 60 dias de protocolo. Interessantemente, o grupo HFT apresentou um aumento da IL-6 em 30 dias em relação aos seus valores em 7 e 60 dias de protocolo (Tabela 22, Figura 40).

Em relação a IL-1 β , o grupo sedentário (HF) apresentou um aumento dessa citocina em 15 dias (63 ± 12 pg/mg) em relação aos seus valores em 7 dias (31 ± 2 pg/mg), 30 dias (32 ± 7 pg/mg) e 60 dias de protocolo (5 ± 1 pg/mg). O grupo treinado (HFT) apresentou uma redução da IL-1 β em 15 dias (19 ± 4 pg/mg) quando comparado ao grupo sedentário (HF) no mesmo período (HF: 63 ± 12 pg/mg).

A razão entre o TNF α e IL-10 foi maior no grupo sedentário (HF) em 15 dias em relação aos seus valores em 7, 30 e 60 dias de protocolo e em relação ao grupo treinado (HFT) (Tabela 22, Figura 41).

Tabela 22: Citocinas inflamatórias no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias	7	15	30	60
Variáveis				
TNFα (pg/mg prot.)				
HF	40 $\pm$ 6,8	145 $\pm$ 27,3*	135 $\pm$ 23,7*	55 $\pm$ 15,5¶
HFT	40 $\pm$ 11,7	106 $\pm$ 26,1	88 $\pm$ 5,9	58 $\pm$ 2,0
IL-6 (pg/mg prot.)				
HF	108 $\pm$ 10,4	359 $\pm$ 91,0*	334 $\pm$ 34,5	71 $\pm$ 15,1¶
HFT	116 $\pm$ 8,2	342 $\pm$ 105,5*	435 $\pm$ 24,8*	130 $\pm$ 21,5
IL-10 (pg/mg prot.)				
HF	82 $\pm$ 18,3	176 $\pm$ 31,0	170 $\pm$ 22,4	95 $\pm$ 28,2
HFT	107 $\pm$ 27,5	207 $\pm$ 32,4	221 $\pm$ 23,0	126 $\pm$ 20,4
Razão (TNFα/IL-10)				
HF	0,67 $\pm$ 0,1	0,96 $\pm$ 0,03*	0,68 $\pm$ 0,1¶	0,74 $\pm$ 0,1¶
HFT	0,54 $\pm$ 0,1	0,57 $\pm$ 0,1#	0,43 $\pm$ 0,1	0,45 $\pm$ 0,04

Valores representam média $\pm$ erro padrão da média. TNF α : fator de necrose tumoral alfa; IL-6- interleucina 6; IL-1 β : interleucina 1 beta. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo; ¶ p< 0,05 vs. 15 dias no mesmo grupo; || p< 0,05 vs. 30 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 39: Fator de necrose tumoral alfa no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo; ¶ $p < 0,05$ vs. 15 dias no mesmo grupo.

Figura 40: Interleucina-6 no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo; ¶ $p < 0,05$ vs. 15 dias no mesmo grupo; || $p < 0,05$ vs. 30 dias no mesmo grupo.

Figura 41: Razão entre o fator de necrose tumoral alfa e a interleucina-10 no tecido adiposo branco retroperitoneal dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo; ¶ $p < 0,05$ vs. 15 dias no mesmo grupo; # $p < 0,05$ vs. grupo HF no mesmo tempo.

4.2.9. Mediadores Inflamatórios no Baço

As citocinas inflamatórias estudadas podem ser observadas na Tabela 23 e nas Figuras 42 e 43.

O TNF α apresentou um aumento no final do protocolo (60 dias) em ambos os grupos estudados em relação as avaliações iniciais (HF: 60 dias vs. 7 dias; HFT: 60 dias vs. 7, 15 e 30) (Tabela 23, Figura 42).

Não foram observadas diferenças nos grupos e tempos avaliados em relação a IL-6 no baço (Tabela 23).

O grupo hipertensão+frutose (HF) apresentou um aumento da IL-1 β em 15 dias de protocolo em relação aos seus valores em 7, 30 e 60 dias. Por outro lado, o treinamento físico (grupo HFT) reduziu essa citocina no mesmo período (15 dias de protocolo) quando comparado ao grupo HF (Tabela 23, Figura 43).

Tabela 23: Citocinas inflamatórias no baço dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias Variáveis	7	15	30	60
TNFα (pg/mg prot.)				
HF	13 $\pm$ 1,2	20 $\pm$ 5,0	23 $\pm$ 2,5	27 $\pm$ 1,7*
HFT	19 $\pm$ 0,6	24 $\pm$ 1,8	24 $\pm$ 5,5	37 $\pm$ 1,7‡
IL-6 (pg/mg prot.)				
HF	40 $\pm$ 2,9	55 $\pm$ 9,0	48 $\pm$ 7,3	34 $\pm$ 1,0
HFT	46 $\pm$ 4,2	43 $\pm$ 5,3	32 $\pm$ 4,0	26 $\pm$ 5,3
IL-1β (pg/mg prot.)				
HF	102 $\pm$ 12,1	136 $\pm$ 10,1*	110 $\pm$ 6,4¶	87 $\pm$ 3,5¶
HFT	87 $\pm$ 9,0	94 $\pm$ 6,8#	84 $\pm$ 7,6	91 $\pm$ 4,7

Valores representam média $\pm$ erro padrão da média. TNF α : fator de necrose tumoral alfa; IL-6- interleucina 6; IL-1 β - interleucina 1 beta. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo; ¶ p< 0,05 vs. 15 dias no mesmo grupo; ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 42: Fator de necrose tumoral alfa no baço dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo; ¶ $p < 0,05$ vs. 15 dias no mesmo grupo; ‡ $p < 0,05$ vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo.

Figura 43: Interleucina-1 beta no baço dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * $p < 0,05$ vs. 7 dias no mesmo grupo; ¶ $p < 0,05$ vs. 15 dias no mesmo grupo; # $p < 0,05$ vs. grupo HF no mesmo tempo.

4.2.10. Nitritos Plasmáticos

Os dados em relação a metabolização de óxido nítrico podem observados na Tabela 24 e Figura 44.

O treinamento físico (grupo HFT) induziu um aumento na concentração de nitritos no plasma ao início do protocolo (7 e 15 dias) em comparação ao grupo sedentário (HF). Além disso, o aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico em 7 dias no grupo HFT foi maior quando comparado aos seus valores em 15, 30 e 60 dias (Tabela 26, Figura 44).

Tabela 24: Nitritos plasmáticos dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias \ Variável	7	15	30	60
Nitritos (nmol/mg prot.)				
HF	0,49±0,06	0,33±0,05	0,33±0,05	0,33±0,05
HFT	1,05±0,2#	0,81±0,1*#	0,64±0,1*	0,62±0,1*

Valores representam média ± erro padrão da média. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 45: Nitritos plasmáticos dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. * p< 0,05 vs. 7 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

4.2.11. Marcadores de Estresse Oxidativo

Já para a produção de EROs, foram realizadas as medidas de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio, como pode ser observado na Tabela 25 e Figura 45.

O grupo HFT apresentou um aumento do ânion superóxido ao final do protocolo (60 dias) em relação aos seus valores em 30 dias e em comparação ao grupo HF no mesmo período (Tabela 25, Figura 45).

Não foram observadas diferenças no peróxido de hidrogênio entre os grupos e no curso temporal avaliado (Tabela 25).

Tabela 25: Concentração de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio no plasma dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias	7	15	30	60
Variáveis				
Ânion superóxido				
(O₂- mmoles/mg prot.)				
HF	87±12,8	82±12,7	73±12,8	73±9,6
HFT	85±9,9	87±16,9	60±13,2	137±1,6 #
Peróxido de hidrogênio				
(μM/g tecido)				
HF	16,2±1,6	15,7±1,5	19,7±2,4	15,6±3,5
HFT	17,3±3,5	15,4±2,9	17,6±2,7	8,3±0,8

Valores representam média ± erro padrão da média. || p< 0,05 vs. 30 dias no mesmo grupo;
p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 46: Ânion superóxido plasmático dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. || $p < 0,05$ vs. 30 dias no mesmo grupo; # $p < 0,05$ vs. grupo HF no mesmo tempo.

Com relação ao perfil antioxidante, foram realizadas as medidas das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a capacidade antioxidante total (TRAP) (Tabela 26, Figura 46).

O grupo hipertensão+frutose (HF) apresentou uma redução da atividade da enzima antioxidante SOD ao final do protocolo (60 dias) em relação aos seus valores em 7, 15 e 30 dias. O treinamento físico (grupo HFT) foi capaz de aumentar essa enzima antioxidante em 60 dias, período em que o grupo sedentário (HF) apresentou diminuição dessa enzima (Tabela 26, Figura 46).

Não foram observadas diferenças significantes na atividade da enzima CAT e na capacidade antioxidante total no plasma entre os grupos durante o protocolo (Tabela 26).

Tabela 26: Perfil antioxidante plasmático dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias	7	15	30	60
Variáveis				
SOD (USOD/mg prot.)				
HF	5,74±0,36	4,64±0,14	4,98±0,26	3,47±0,39‡
HFT	7,18±0,28	6,04±0,36	5,73±0,38	6,04±0,43#
CAT (nmol/mg prot.)				
HF	0,14±0,03	0,13±0,02	0,14±0,03	0,07±0,02
HFT	0,16±0,07	0,20±0,06	0,19±0,04	0,15±0,02
TRAP (uM de trolox)				
HF	59,8±8,4	73,0±11,7	57,7±6,3	30,7±5,9
HFT	65±5,3	72±9,1	58±7,6	65±7,15

Valores representam média ± erro padrão da media. SOD: Superóxido Dismutase, CAT: Catalase, TRAP: Capacidade Antioxidante Total. ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 46: Atividade da superóxido dismutase plasmático dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. ‡ $p < 0,05$ vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; # $p < 0,05$ vs. grupo HF no mesmo tempo.

Com relação ao dano foram realizadas as medidas de lipoperoxidação (TBARS) e oxidação de proteínas (carbonilas) como pode ser observado na Tabela 27 e nas Figuras 47 e 48.

O grupo hipertensão+frutose (HF) apresentou um aumento da lipoperoxidação ao final do protocolo (60 dias vs. 7, 15 e 30 dias de protocolo no mesmo grupo) e o treinamento físico (grupo HFT) foi capaz de reduzir esses valores, que estavam aumentados no grupo sedentário (HF), no mesmo período (60 dias) (Figura 47).

O grupo hipertensão+frutose (HF) apresentou um aumento da oxidação de proteínas no plasma em 60 dias de protocolo em relação aos seus valores em 15 e 30 dias.

Por outro lado, o treinamento físico (grupo HFT) reduziu essa oxidação de proteínas aumentada no grupo sedentário (HF) em 60 dias de protocolo (Figura 48).

Tabela 27: Lipoperoxidação e oxidação de proteínas no plasma dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias.

Dias	7	15	30	60
Variáveis				
Lipoperoxidação				
(nmoles/mg prot.)				
HF	560±51,2	513±50,5	492±57	810±53,5‡
HFT	476±49,7	488±47,6	508±41,9	436±27,3 #
Oxidação de proteínas				
(nmol/mg prot.)				
HF	2,46±0,1	2,13±0,2	2,24±0,5	4,15±0,9¥
HFT	2,88±0,8	1,98±0,4	2,52±0,4	1,66±0,4#

Valores representam média ± erro padrão da média. ¥ p< 0,05 vs. 15 e 30 dias no mesmo grupo; ‡ p< 0,05 vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; # p< 0,05 vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 47: Lipoperoxidação no plasma dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. [‡] $p < 0,05$ vs. 7,15 e 30 dias no mesmo grupo; [#] $p < 0,05$ vs. grupo HF no mesmo tempo.

Figura 48: Oxidação de proteínas no plasma dos grupos hipertenso+frutose (HF) e hipertenso+frutose+treinamento físico (HFT) no curso temporal de 7, 15, 30 e 60 dias. [¥] $p < 0,05$ vs. 15 e 30 dias no mesmo grupo; [#] $p < 0,05$ vs. grupo HF no mesmo tempo.

Discussão

5. DISCUSSÃO

Considerando, o aumento na prevalência de síndrome metabólica na população é de suma importância a realização de estudos que busquem compreender os mecanismos envolvidos no desenvolvimento e agravamento dessa doença. Um estudo anterior de nosso grupo observou que o aumento da atividade simpática precedia as alterações metabólicas em camundongos submetidos ao consumo de frutose (DE ANGELIS et al., 2012). Mais recentemente, um estudo demonstrou em ratos SHR que as alterações no barorreflexo antecediam as alterações de pressão arterial e de bradicardia observadas após treinamento físico aeróbio (MASSON et al., 2014). Deve-se ainda considerar que há evidências de que o sistema nervoso autônomo pode modular o processo inflamatório (TRACEY, 2002), e, conseqüentemente, o estresse oxidativo. Neste sentido, nossa hipótese de estudo foi que as alterações autonômicas precederiam as alterações metabólicas e hemodinâmicas em animais submetidos à sobrecarga de frutose na água de beber, e que o treinamento físico poderia ter efeito benéfico neste modelo experimental de síndrome metabólica. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o curso temporal (7, 15, 30 e 60 dias protocolo) do desenvolvimento de alterações cardiometabólicas em ratos SHR submetidos à sobrecarga de frutose desde os 30 dias de vida, bem como os efeitos do treinamento físico aeróbio nessa condição.

Desta forma, neste estudo a associação da hipertensão, geneticamente determinada nos SHR, e do consumo de frutose nos possibilitou o estudo das alterações metabólicas, cardiovasculares e autonômicas em um modelo que apresenta disfunções semelhantes às observadas na síndrome metabólica. Além disto, a aplicação do treinamento físico aeróbio

nos possibilitou avaliar o papel desta abordagem não farmacológica na prevenção e/ou tratamento das disfunções cardiometabólicas dessa síndrome.

5.1. CAPÍTULO I

5.1.1. Perfil Metabólico e Capacidade Física

Os resultados do capítulo I demonstram que os ratos hipertensos (grupo H) apresentaram menor peso corporal em todos os tempos avaliados (7, 15, 30 e 60 dias de protocolo) quando comparado ao grupo normotenso (C) nos mesmos períodos. A redução no peso corporal em ratos hipertensos é uma característica da linhagem SHR, que possui porte físico relativamente pequeno (PICCO et al., 2012; CICOGNA et al., 1997).

Interessantemente, o consumo de frutose (grupo HF) induziu um aumento no peso corporal em relação ao grupo normotenso (C) em 7 dias de protocolo e em relação ao grupo hipertenso (H) em 7 e 15 dias de protocolo. De fato, estudos demonstram aumento do peso corporal após o consumo de frutose em ratos Wistar (CASTRO et al., 2015a; MORAES-SILVA et al., 2013), em ratas SHR ooforectomizadas (CONTI et al., 2014) e em camundongos (JURGENS et al., 2005). Além disso, camundongos tratados com frutose apresentaram aumento do peso corporal quando comparados a camundongos tratados com glicose para a mesma fração de açúcar nas dietas (RENDEIRO et al., 2015).

Com relação aos níveis sanguíneos de triglicerídeos, não foi observada alteração nos grupos normotenso (C) e hipertenso (H) ao longo do protocolo. Porém, observou-se um aumento dos triglicerídeos no grupo hipertenso submetido à sobrecarga de frutose (HF) (HF: 15, 30 e 60 vs. grupo C; 30 e 60 vs. grupo H nos mesmos períodos). Isso pode ocorrer devido a exposição do fígado a grandes quantidades de frutose levando à uma estimulação de lipogênese e a um acúmulo de triglicerídeos (BASCIANO et al., 2005).

Dados do nosso grupo demonstraram aumento nos triglicerídeos sanguíneos após a sobrecarga de frutose (BRITO et al., 2008a) em modelos associados à ooforectomia (CONTI et al., 2014, 2015; SANCHES, 2012). Outros grupos também demonstraram aumento dos triglicerídeos sanguíneos após o consumo de frutose, em ratos machos (CASTRO et al., 2015b; MOURA et al., 2008) e em ratos SHR (LÍRIO et al., 2016; HERNÁNDEZ-SALINAS et al., 2015; REAVEN & HOFFMAN, 1990).

Não foi observado alterações na glicose sanguínea entre os grupos estudados. Nesse sentido, Reaven & Hoffman (1990) não observaram diferenças na glicose plasmática em ratos SHR tratados com dieta composta por 66% de frutose durante 12 dias. Castro et al. (2015b) também não observaram alteração na glicemia em ratos tratados com frutose (10%) durante 21 dias; no entanto foi observado um aumento no índice HOMA, um índice de resistência à insulina nesses animais.

Os resultados dos presente estudos evidenciam que os ratos SHR (grupo H) apresentaram um aumento da insulina plasmática ao final do protocolo (60 dias) em relação ao grupo normotenso (C), sugerindo resistência à insulina (SUPLICY, 2000). No grupo com a sobrecarga de frutose (grupo HF) esse aumento da insulina plasmática foi observado já com 30 dias e se manteve até o final do protocolo em relação ao grupo H. De fato, estudos demonstraram aumento da insulina plasmática após consumo crônico de frutose em camundongos (DE ANGELIS et al., 2012), em ratas SHR ooforectomizadas (CONTI et al., 2015), em ratos SHR (HERNÁNDEZ-SALINAS et al., 2015; REAVEN & HOFFMAN, 1990) e em ratos Wistar (CASTRO et al., 2015b).

Somado a isso, a hipertensão associada a sobrecarga de frutose (grupo HF) também induziu uma redução da tolerância à insulina ao longo do protocolo (HF: 60 vs. 7, 15, 30),

e em relação aos grupos normotenso (C) e hipertenso (H) em 60 dias de protocolo. Estes achados estão de acordo com o observado em animais submetidos ao consumo crônico de frutose em ratas fêmeas Wistar (BRITO et al., 2008a), em ratos machos Wistar (MOSTARDA et al., 2012) bem como em ratas SHR ooforectomizadas (CONTI et al., 2014; SANCHES et al., 2012). Além disso, ratos normotensos ou hipertensos após 6 semanas de consumo de frutose, apresentam intolerância à sobrecarga de glicose e resistência à insulina exógena. Nesse sentido, os estudos demonstraram que o consumo crônico de frutose induziu resistência à insulina (LÍRIO et al., 2016; EL-BASSOSSY & WATSON, 2015; CASTRO et al., 2015). Interessantemente, Kawamura et al. (2002) não observaram alteração na insulina em ratos SHR tratados com frutose na ração durante 16 semanas, em relação a ratos somente SHR.

É importante destacar, que o acúmulo de triglicerídeos devido a sobrecarga de frutose hepática pode contribuir para uma redução da sensibilidade à insulina, para a resistência à insulina e a intolerância à glicose hepática, devido a diminuição dos receptores de insulina (MURAKAMI et al., 1997). De fato, o grupo com sobrecarga de frutose (grupo HF) apresentou um aumento dos triglicerídeos e insulina plasmáticos e uma redução da sensibilidade à insulina, importantes características da síndrome metabólica (MALIK et al., 2010; BASCIANO et al., 2005; ELLIOTT et al., 2002).

No presente estudo, os animais SHR sedentários (grupos H e HF) apresentaram maior capacidade física em 7, 15 e 30 dias de protocolo, em relação aos animais Wistar (grupo C), isso se deve à característica hiperativa da linhagem SHR (TAKAHASHI, 2006). Todavia, o consumo de frutose nos ratos hipertensos (grupo HF) foi capaz de reduzir a capacidade física ao final do protocolo (HF: 60 vs. 7, 15 e 30 dias) e em relação aos grupos

normotenso (C) e hipertenso (H) em 60 dias de protocolo. De fato, o consumo de frutose pode estar relacionado com a redução da capacidade física. Apesar de Moura et al. (2008) não terem observado alterações na capacidade física de ratos Wistar com dieta rica em frutose (60%) durante 60 dias, Rendeiro et al. (2015) demonstraram uma redução da atividade física espontânea em ratos tratados com frutose. De forma semelhante, Rahman et al. (2011) observaram diminuição na capacidade de exercício (natação) em ratos submetidos a dieta rica frutose.

5.1.2. Parâmetros Cardiovasculares e Autonômicos

Com relação aos dados hemodinâmicos, não foi observada diferença na frequência cardíaca entre os grupos sedentários ao longo do protocolo. Os grupos C e H apresentaram uma redução da FC em 15, 30 e 60 dias de protocolo em relação aos seus valores em 7 dias de protocolo, ou seja, 37 dias de vida. Esse aumento da FC nos primeiros dias de vida está provavelmente associado ao efeito cronotrópico positivo do sistema nervoso simpático sobre a FC de ratos (WEKSTEIN, 1965). Nessa perspectiva, o consumo de frutose (grupo HF) parece induzir a permanência desse efeito cronotrópico do sistema nervoso simpático, já que não observamos redução da FC ao longo do protocolo como foi observado nos demais grupos (C e H).

DICKHOUT & LEE (1998) observaram aumento da FC em ratos SHR em relação a ratos Wistar Kyoto com 15, 21 e 30 dias de vida. Vale ressaltar que essa diferença não foi observada com 45 semanas de vida, corroborando com os achados do presente estudo, no

qual, nós observamos valores de frequência cardíaca maior nos animais SHR em 37 dias de vida em relação aos valores de 45, 60 e 90 dias de vida.

Conforme esperado os animais SHR (grupo H) apresentaram um aumento da PAD, da PAS e da PAM ao longo do protocolo (60 vs. 7, 15, 30 dias) e em relação ao grupo normotenso (C) em todos os tempos avaliados. Segundo Salgado et al. (2001), os animais SHRs começam a desenvolver a hipertensão arterial com 5 semanas de vida, mas fatores ambientais podem afetar o desenvolvimento da doença, como o consumo de frutose utilizado no presente estudo. De fato, o grupo submetido à sobrecarga de frutose (grupo HF) apresentou aumento da PAD, PAS, PAM ao longo do protocolo (HF: 60 vs. 7, 15, 30 dias; 30 vs. 7, 15 dias) e em relação ao grupo normotenso (C) em todos os tempos avaliados; entretanto apresentou um aumento adicional da PA em relação ao grupo hipertenso (H) em 30 e 60 dias de protocolo.

O aumento da PA em SHRs está associado a hiperatividade simpática, prejuízo na sensibilidade barorreflexa (SILVA et al., 1997; GAVA et al., 1995, DONOHUE et al., 1988) e ao aumento da atividade do sistema renina angiotensina (SARTORI-VALINOTTI et al., 2008).

De fato, os resultados do presente estudo evidenciam que os animais hipertensos (grupos H e HF) apresentaram uma redução da sensibilidade do barorreflexo. O grupo hipertenso (H) apresentou uma redução da sensibilidade barorreflexa tanto para respostas bradicárdicas como para respostas taquicárdicas em 30 e 60 dias de protocolo quando comparado ao grupo normotenso (C) e aos seus valores no início do protocolo (7 dias, para resposta bradicárdica). Entretanto, é importante ressaltar que o consumo de frutose, por sua vez, induziu um prejuízo adicional da sensibilidade do barorreflexo. Com apenas 7 dias de

protocolo o grupo HF já apresentava disfunção no controle autonômico reflexo da circulação. Em todos os tempos avaliados, tanto para respostas bradicárdicas como para respostas taquicárdicas, o grupo HF apresentou redução da sensibilidade do barorreflexo em relação ao grupo controle (C). Somado a isso, o grupo HF teve uma redução adicional da sensibilidade do barorreflexo para as respostas bradicárdicas em relação ao grupo hipertenso (H) em 7 e 15 dias de protocolo.

Estudos da literatura corroboram com estes resultados. A redução da sensibilidade do barorreflexo está presente em pacientes hipertensos (BRISTOW et al., 1969) e em ratos SHR (BERTAGNOLLI et al., 2006; ALVES et al., 2015; SUETA et al., 2014; MASSON et al., 2012; DICKHOUT & LEE, 1998) e em ratos com sobrecarga de frutose (MORAES SILVA et al., 2013; MILLER et al., 1999). Além disso, La Rovere et al. (1998) demonstraram que este importante mecanismo de controle da pressão a curto prazo, é um forte preditor de mortalidade em pacientes pós infarto.

Vale lembrar que o barorreflexo como controle autonômico da circulação é constituído por mecanorreceptores sensíveis às deformações da parede vascular responsáveis pelo controle da PA momento a momento (IRIGOYEN et al., 2003). Além do controle reflexo, o barorreflexo também desempenha o controle tônico sobre a atividade simpática (inibição) e parassimpática (estimulação). Dessa forma, a modulação inadequada da atividade simpática e parassimpática pela disfunção do barorreflexo, pode gerar disfunções no controle da função cardiovascular (IRIGOYEN et al., 1995).

É interessante destacar, que mesmo sem alteração no perfil metabólico (triglicerídeos, glicemia, insulina e resistência à insulina) já podemos observar disfunção no controle autonômico reflexo da circulação neste modelo de síndrome metabólica com

apenas 7 dias de sobrecarga de frutose. Isso poderia estar relacionado com um aumento da atividade simpática e/ou redução da atividade parassimpática. Neste sentido, Masson et al. (2014) observaram em ratos SHR (14 semanas de vida) um aumento da atividade simpática central e De Angelis et al. (2012) observaram em camundongos C57 tratados com frutose (10 semanas de vida) um aumento da modulação simpática vascular.

A disfunção na circulação de vasos de resistência tem sido demonstrada na condição de síndrome metabólica como um todo (SERNE et al., 2007), bem como nas diferentes patologias individuais que caracterizam esta síndrome (DE JONGH et al., 2004; WIERNSPERGER 2001; DIEDERICH et al., 1990)

No presente estudo nós demonstramos que os grupos H e HF apresentaram menor resposta pressora a estimulação adrenérgica induzida pela dose de 8 µg/ml de fenilefrina em relação ao grupo controle (C) em todos os tempos avaliados. Mendizábal et al. (2011) evidenciou que ratos SHR obesos por deficiência de leptina exibiram menor contratilidade para estimulação adrenérgica. Além disto, esses autores demonstraram que os SHR obesos quando comparados com ratos Wistar Kyoto na avaliação com bloqueio de L-NAME sobre as contrações induzidas por fenilefrina em artéria mesentérica apresentaram uma resposta reduzida, sugerindo comprometimento do controle vascular pelo NO. Nesse sentido, nossos resultados evidenciam níveis reduzidos de nitritos plasmáticos, um metabólito do NO, nos animais hipertensos de uma forma geral, porém somente com diferença estatísticas no grupo HF em 15 e 30 dias de protocolo em relação ao grupo controle. Além disto, é plausível que as diferenças nas respostas à fenilefrina entre os animais Wistar e SHR estejam relacionadas com um padrão diferente de distribuição receptores α_1 e α_2 s. Em ratos SHR foi observado uma quantidade diminuída

de receptores α_1 adrenérgicos (KOJIMA et al., 1989). Esta resposta adaptativa pode estar relacionada à maior modulação simpática vascular nos animais SHR. Neste sentido, há evidências que as alterações mecânicas no endotélio diminuem a capacidade de resposta vascular β -adrenérgica e conseqüentemente atenuam o fluxo simpático (LAUGHLIN et al., 2008). De fato, o aumento na modulação vascular simpática foi observado em ratos tratados com frutose (CASTRO et al., 2015a) e em ratos velhos SHR (SUETA et al., 2014). Somado a isso, SANCHES et al. (2012) demonstraram aumento da modulação simpática em ratas SHR ooforectomizadas tratadas com frutose.

É interessante notar que a hipertensão está associada com disfunção endotelial, que é geralmente caracterizada por respostas dilatadoras alteradas tanto in vivo como in vitro, quer em artérias isoladas ou em órgãos perfundidos. No entanto, estas disfunções endoteliais apresentam características diferentes, dependendo do leito vascular, do modelo animal utilizado e/ou da idade dos animais (FÉLÉTOU & VANHOUTTE, 2006). Na aorta ou no leito vascular mesentérica de SHRs, a deficiência na dilatação dependente do endotélio está associada com a geração de fatores constritores derivados do endotélio e da ciclooxigenase, com pouca ou nenhuma alteração na produção de NO (FÉLÉTOU et al., 2009; HUTRI-KAHONEN et al., 1997; MANTELLI et al., 1995; FUJII et al., 1992; LÜSCHER et al., 1990). No entanto, na artéria carótida a disfunção na dilatação à acetilcolina está provavelmente relacionada a uma disfunção do músculo liso, na capacidade de resposta ao NO, sem envolvimento de fatores de constrição derivados do endotélio (HONGO et al., 1988; LÜSCHER et al., 1988). Alterações similares foram observadas em artérias de ratos STZ -diabéticos, em que foram demonstradas aumento da

sensibilidade vascular à noradrenalina e uma deficiência na vasodilatação induzida por acetilcolina (TAYLOR et al., 1992).

Em tecido renal perfundido de ratos SHR já foi observada que a dilatação dependente do endotélio para acetilcolina ou bradicinina pode estar minimamente inibida (HAYAKAWA et al., 1993), não afetada (BURTON et al., 1991) ou ainda aumentada (SIMONET et al., 2009, 2012; CHAMORRO et al., 2004; CACHOFEIRO & NASJLETTI, 1991). Nossos resultados evidenciam resposta depressora sistêmica exacerbada ao nitroprussiato de sódio nas doses de 2,5 µg/ml nos grupos H e HF e 20 µg/ml no grupo HF. Tais resultados sugerem que os animais hipertensos tratados com frutose (grupo HF) apresentaram disfunção do relaxamento vascular adicional quando comparado aos hipertensos, apesar das diferenças estatísticas terem sido observadas somente em relação ao grupo controle. No estudo de Simonet et al. (2012) foi observado que o tratamento crônico com L-nitroarginine methyl ester (L-NAME) de ratos SHR induziu uma resposta vasodilatadora para o nitroprussiato de sódio exacerbada no tecido renal, sugerindo que em casos de deficiência mais pronunciada da biodisponibilidade de NO, possa se observar uma resposta exacerbada ao nitroprussiato de sódio. Neste sentido, nossos dados mostraram redução de nitritos plasmáticos no grupo HF em relação ao grupo C aos 15 e 30 dias de protocolo.

Vale lembrar que a disfunção vascular está associada a um prejuízo de NO derivado do endotélio. De fato, em SHR a hemoglobina ferro nitrosilada circulante, um índice de níveis de NO no sangue, e a concentração de nitrito/nitrato na urina foram menores do que em ratos Wistar Kyoto, confirmando uma redução global de biodisponibilidade neste modelo genético de hipertensão (BENTER et al., 2005;

SIMONET et al., 2012). O NO é um importante mediador da vasodilatação dependente do endotélio, possuindo importantes propriedades anti-inflamatórias e anti-trombóticas (LANDMESSER et al., 2004). Em conjunto, nossos achados evidenciam que os animais (grupo HF) que apresentaram um prejuízo adicional na reatividade vascular também apresentaram uma redução da biodisponibilidade de NO; provavelmente repercutindo em prejuízo exacerbado na sensibilidade barorreflexa e no aumento adicional da PA no modelo de síndrome metabólica utilizado no presente estudo.

5.1.3. Parâmetros Inflamatórios

A linhagem SHR é considerada um dos melhores modelos para estudar a hipertensão primária ou essencial observadas em humanos (AMARAL & MICHELINI, 2011; TRIPPODO & FROHLICH, 1981). Neste modelo, a progressão da hipertensão pode estar associada ao aumento de citocinas pró-inflamatórias. O aumento da atividade e expressão do NF κ B induz transcrição gênica para as citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF- α , IL-6 e IL-1 β promovendo o aumento da produção dessas citocinas (JANSSEN-HEININGER et al., 2000) o que contribui para o desenvolvimento e progressão da doença (VAZIRI & RODRIGUEZ-ITURBE, 2006; WILCOX 2001). A associação da hipertensão ao consumo crônico de frutose nos permite estudar essas alterações que se tornam mais evidentes na síndrome metabólica (RENNA et al, 2013; SHIMAMOTO & URA, 2009; ORON-HERMAN et al., 2008).

O tecido adiposo e o baço são sítios importantes no estudo do perfil inflamatório. O tecido adiposo é um órgão endócrino que libera citocinas e mediadores bioativos como citado anteriormente a leptina, a IL-6 e o TNF- α , que influenciam negativamente a PA, a coagulação, a inflamação e a homeostase da glicose e lipídeos, podendo conduzir à disfunção endotelial e a aterosclerose (LAU et al., 2005; VAN GAAL et al., 2006). De fato, com relação ao perfil inflamatório no tecido adiposo branco retroperitoneal dos animais, nós observamos um aumento do TNF- α e da IL-6 no grupo com sobrecarga de frutose (HF) em 15 e 30 dias de protocolo em relação aos grupos controle (C) e hipertenso (H) e aos seus valores em 7 e 60 dias de protocolo. Estes resultados sugerem que ocorra uma sinalização inflamatória marcante por volta de 15 e 30 dias após o início da sobrecarga de frutose.

Nesse sentido, estudos que avaliaram os efeitos crônicos de uma dieta rica em frutose demonstraram aumento do TNF- α no tecido adiposo em ratas SHR ooforectomizadas (CONTI et al., 2014), aumento do TNF- α no vaso de ratos SHR (RENNA et al., 2013), aumento de TNF- α em ratos machos (CASTRO et al., 2015b) e aumento da IL-6 em ratos machos (PORTO et al., 2015).

Interessantemente, o aumento do TNF- α está envolvido com o desenvolvimento de resistência à insulina (HOSTAMISLIGIL et al., 1993). Shimamoto & Ura (2009) relataram que, apesar de poucos estudos em pacientes hipertensos ou em modelos animais de hipertensão, o aumento do TNF- α no tecido adiposo, mais evidente em modelo com dieta de frutose, pode estar associado ao desenvolvimento da resistência à insulina. Isso poderia explicar os achados do presente estudo, no qual o grupo HF apresentou um aumento do TNF- α no tecido adiposo aos 15, 30 dias de protocolo, seguido de um aumento de insulina

plasmática aos 30, 60 dias de protocolo, que provavelmente repercutiu em uma diminuição da tolerância à insulina aos 60 dias de protocolo.

O grupo HF também apresentou um aumento da IL-1 β , no tecido adiposo branco retroperitoneal, em 15 dias de protocolo em relação aos seus valores em 30 e 60 dias de protocolo, e quando comparado ao grupo C em 15 dias. Este aumento da IL-1 β também foi observado no baço dos animais tratados com frutose, o grupo HF apresentou um aumento desta citocina quando comparado aos grupos controle (C) e hipertenso (H) em 15 e 30 dias de protocolo. Vale ressaltar ainda, que em 15 dias de protocolo o grupo HF também apresentou maior IL-1 β no baço em relação aos seus valores em 7 e 60 dias de protocolo. Nesse sentido, um estudo recente demonstrou aumento de IL-1 β em ratos tratados com frutose (CASTRO et al., 2015b).

Neste contexto, a produção de TNF- α e a ativação de macrófagos pode ser mediada pela leptina (LOFFREDA et al., 1998), hormônio que se encontra elevado após uma dieta rica em frutose (DE ANGELIS et al., 2012). Assim como os achados do presente estudo, Renna et al. (2013) verificaram em ratos machos submetidos à sobrecarga de frutose um aumento deste marcador inflamatório. Estudos evidenciam que algumas citocinas como o TNF- α , a IL-1 e a IL-6 podem aumentar a expressão de RNAm para a síntese de leptina (SILVEIRA et al., 2009; MOTA & ZANESCO, 2007; FONSECA-ALANIZ et al., 2006). Estudos sugerem que o TNF- α é capaz de estimular a produção de leptina no tecido adiposo (LAU et al., 2002). Vale destacar que a leptina atua no sistema nervoso central (controle da ingesta de alimentos *versus* energia consumida), e esta associado a lipogênese, uma vez que o tecido adiposo branco é responsável por 80% da sua produção. Nesse sentido, o aumento descontrolado desse hormônio contribui para o processo inflamatório

(AHIMA e FLIER, 2000). Isso ocorre pois a leptina modifica a função imune, estimulando a proliferação de células linfócitos T e a produção de citocinas (GEORGE et al., 2008). De fato, um estudo ainda não publicado de nosso grupo evidenciou em ratas SHR ooforectomizadas tratadas com frutose, um aumento da leptina no tecido adiposo branco (BRITO, 2014).

É importante destacar que um estudo de Tracey (2002) destaca o baço como um tecido mediador no processo de inflamação, o qual através do estímulo do vago pode modular a resposta inflamatória. Somado a isso, Borovikova et al. (2000) e Van Gaal et al. (2006) também relatam que o vago pode modular a resposta inflamatória e o estresse oxidativo em algumas situações fisiopatológicas. Neste sentido, os resultados do presente estudo sugerem que a disfunção barorreflexa (e, portanto, do controle autonômico cardiovascular), precocemente observada nos animais hipertensos tratados com frutose (7 dias de protocolo) pode estar associada ao aumento da liberação de mediadores inflamatórios (observados em 15 e 30 dias de protocolo) pelo tecido adiposo e baço, colaborando para o agravamento das disfunções cardiometabólicas observadas neste modelo de síndrome metabólica.

5.1.4. Parâmetros de Estresse Oxidativo

O superóxido, o radical hidroxila e o peróxido de hidrogênio associado aos produtos da peroxidação de lipídios, favorecem o status de um organismo em estresse oxidativo (NEVES et al., 2015). O estresse oxidativo também pode desencadear o início do

processo inflamatório através do aumento da secreção de prostaglandinas e do fator de crescimento endotelial vascular (LEE et al., 2004). Em relação a produção de EROs, não foram observadas diferenças no ânion superóxido plasmático entre os grupos. Todavia, o grupo HF apresentou maior concentração de peróxido de hidrogênio em relação ao grupo H em 30 dias de protocolo. Nessa perspectiva, estudo de Fariña et al. (2013) demonstrou um aumento das EROs em adipócitos isolados após o tratamento com frutose (10%) durante 3 semanas. Por outro lado, estudo com ratos SHR apresentou aumento do ânion superóxido no tecido cardíaco e na aorta (ALVES et al., 2015).

Em relação ao perfil antioxidante plasmático, não foram observadas diferenças na enzima catalase e na capacidade antioxidante total entre os grupos. Todavia, ratos tratados com frutose (10%) durante 3 semanas apresentam redução da capacidade não enzimática no tecido adiposo (FARIÑA et al., 2013). Vale destacar que a a enzima catalase esta presente na maioria das células aeróbicas, sendo que em animais se encontra principalmente no fígado, rins e eritrócitos. A catalase é a enzima que se encarrega de fazer a conversão de altas concentrações de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Quando o peróxido de hidrogênio está presente em baixas concentrações, a glutathione peroxidase é quem se encarrega de transformá-lo em água (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1985). No presente estudo o aumento do peróxido de hidrogênio foi observado apenas em 30 dias de protocolo no grupo HF, sugerindo uma possível explicação para não observarmos alterações na catalase plasmática.

Todavia, o grupo HF apresentou uma redução atividade da enzima superóxido dismutase em relação aos grupos C e H em 15, 30 e 60 dias de protocolo. Somado a isso, o grupo HF apresentou ainda uma redução dessa enzima ao final do protocolo (60 dias) em

relação aos seus valores em 7, 15 e 30 dias. No estudo de Taleb-Dida et al. (2011) também foi observado uma redução da SOD em ratos submetidos a sobrecarga de frutose. Além disso, Girard et al. (2006) também evidenciaram redução da defesa antioxidante em machos SHR submetidos a ingesta crônica de frutose (60%) durante 13 semanas.

Com relação ao perfil oxidativo no plasma, o grupo HF apresentou um aumento da lipoperoxidação e da oxidação de proteínas quando comparado aos grupos C e H em 15, 30 e 60 dias de protocolo. Somado a isso, o grupo HF apresentou ainda, um aumento desse dano ao final do protocolo (60 dias) em relação aos seus valores em 7, 15 e 30 dias. Estes achados corroboram com estudos da literatura, que demonstraram aumento do TBARS plasmático em ratos SHR (ALVES et al., 2015) e em ratos tratados com frutose (50%) durante 16 semanas (HERNÁNDEZ-SALINAS et al., 2015). Delbosc et al. (2005) verificaram que o consumo de frutose (60%) em ratos induziu um aumento da concentração de TBARS, indicando uma lipoperoxidação de membrana. Nessa perspectiva, Fariña et al. (2013) observaram aumento do TBARS no tecido adiposo em ratos tratados com frutose (10%) durante 3 semanas.

Estudos recentes em seres humanos indicam que a dieta rica em frutose, pode levar a uma doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) (BASARANOGLU et al., 2013) causando esteatose, fibrose e inflamação hepática. Nesse sentido, a dieta rica em frutose tem sido considerada como um fator chave para o desenvolvimento dessa doença hepática. Ratos SHR submetidos a 6 semanas de sobrecarga de frutose (10%) apresentaram fibrose no fígado (LÍRIO et al., 2016) e isso pode estar associado ao aumento de estresse oxidativo e aumento de citocinas inflamatórias (BYRNE, 2010).

Somado a isso, um grupo de estudo da Argentina tem demonstrado em diversos trabalhos que uma dieta rica em frutose por 3 semanas é capaz de induzir aumento dos triglicerídeos, insulina plasmáticos, de estresse oxidativo sem alteração da glicemia (CASTRO et al., 2013; FRANCINI et al., 2010) corroborando com os achados do presente estudo. Por fim, vale ainda destacar que a inflamação vem sendo associada ao aumento de estresse oxidativo, que por sua vez, é considerado um dos possíveis mecanismos das disfunções celulares causadas pela hipertensão, além de desempenhar importante papel na progressão da doença (AGARWAL et al., 2012; WILCOX 2005; GUIJARRO & EGIDO, 2001). Neste sentido, os resultados do presente estudo evidenciam que o dano oxidativo foi observado somente aos 60 dias de protocolo nos animais do grupo HF. Em conjunto, nossos achados sugerem que o prejuízo precoce no controle autonômico (a partir de 7 dias) possa ter desencadeado o aumento do processo inflamatório em médio prazo (15 e 30 dias), com consequente aumento de estresse oxidativo (60 dias), resultando em alterações cardiometabólicas, como a resistência à insulina e o aumento adicional da PA, ao final do período de seguimento deste protocolo nos SHR submetidos à sobrecarga de frutose.

5.1.5. Sumário

Sumarizando, neste primeiro capítulo observamos que a associação da hipertensão ao consumo de frutose induziu primeiramente uma disfunção no controle autonômico da circulação, evidenciado por uma redução da sensibilidade barorreflexa desde o início do protocolo (7 dias). Em seguida observamos um aumento dos triglicerídeos plasmáticos

desde os 15 dias de protocolo. O aumento da inflamação foi evidenciada por aumento de citocinas inflamatórias no tecido adiposo (TNF- α , IL-6 e IL-1 β) e no baço (IL-1 β) em 15 e 30 dias de protocolo. Concomitantemente, observamos o desenvolvimento de um quadro de resistência à insulina (insulina plasmática: maior em 30 e 60 dias; KITT maior em 60 dias). E interessante, neste mesmo período (15 e 30 dias de protocolo) observamos uma redução da biodisponibilidade do NO (nitritos plasmáticos), associado com um aumento da produção de EROs (peróxido-30 dias), e uma redução de antioxidantes (SOD, desde os 15 dias de protocolo). Ao final do protocolo (60 dias) observamos um aumento no dano oxidativo (lipoperoxidação e dano a proteína), acompanhado de um aumento adicional da pressão arterial (30 e 60 dias), além de uma redução da capacidade física (60 dias) (Figura 49).

Nesse sentido, nossos resultados sugerem que a disfunção barorreflexa possa ser o “gatilho” para desencadear as demais alterações cardiometabólicas observadas neste modelo experimental de síndrome metabólica. Neste sentido, a ativação simpática, normalmente associada à disfunção barorreflexa, poderia induzir um aumento do perfil inflamatório em tecidos-alvo como o baço e o tecido adiposo, levando um aumento do estresse oxidativo sistêmico. Tais disfunções poderiam culminar em aumento da resistência à insulina e da pressão arterial, bem como redução da capacidade funcional, características bem marcantes de portadores de síndrome metabólica.

Disfunções Cardiometabólicas

Figura 49: Curso temporal das disfunções cardiometabólicas no presente estudo (grupo HF vs. grupo H).

SBR: sensibilidade do barorreflexo; PA: pressão arterial; TG: triglicerídeos sanguíneos; ITT: teste de tolerância a insulina; TEM: teste de esforço máximo/capacidade física; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa/citocina pró-inflamatória; IL-6: interleucina 6/ citocina pró-inflamatória; IL-1 β : interleucina 1 beta/ citocina pró-inflamatória; H₂O₂: peróxido de hidrogênio/perfil oxidativo; SOD: enzima superóxido dismutase; LPO: lipoperoxidação/TBARS; Oxid. Proteína: oxidação de proteínas/carbonilas; TAB: tecido adiposo branco retroperitoneal; *observado diferença em relação ao grupo normotenso (C).

5.2. CAPÍTULO II

5.2.1. Perfil Metabólico e Capacidade Física

O treinamento físico tem sido considerado um componente chave no tratamento da síndrome metabólica, isso porque a atividade física regular promove adaptações cardiometabólicas favoráveis.

Os grupos hipertensos tratados com frutose (HF, HFT) apresentavam peso corporal semelhante no início do protocolo (30 dias). Após 7 dias de treinamento físico o grupo HFT apresentou uma redução no peso corporal em relação ao grupo HF, o que não foi observado ao longo do protocolo. Vale destacar que o consumo de frutose, observado no capítulo I, induziu aumento de peso corporal somente no início do protocolo (7, 15 dias) em relação ao grupo somente hipertenso.

Estudos demonstraram que o treinamento físico pode ser uma abordagem favorável para redução e/ou controle do aumento de peso corporal, tanto em humanos (BOUCHARD, 2003; TEIXEIRA et al., 2003) quanto em animais de experimentação (MELO et al., 2003; DE ANGELIS et al., 1997). Todavia, a redução do peso corporal após um programa de treinamento físico não é um consenso na literatura. Além disso, devemos considerar o ganho de massa muscular e a redução da massa gorda que ocorre após o treinamento físico (FRANCISCHI et al., 2001). Caponi et al. (2013) não observaram redução de peso corporal e do índice Lee em animais SHR após 10 semanas de treinamento físico aeróbio, bem como Kawamura et al. (2004) também não observaram

redução do peso corporal em ratos SHR tratados com frutose após 16 semanas de treinamento físico aeróbio, mas observaram redução no tecido adiposo epididimal.

A prática regular de exercícios físicos aeróbicos reduz os níveis de triglicerídeos (KASINSKI & FONSECA, 2001), entretanto, no presente estudo, o treinamento físico aeróbio (grupo HFT) não reduziu os triglicerídeos sanguíneos. Vale ressaltar, que os valores de triglicerídeos no grupo HFT se apresentaram dentro da faixa de normalidade. Em um estudo de Kawamura et al. (2004) também não se observou redução dos triglicerídeos em ratos SHR tratados com frutose após treinamento físico aeróbio.

Entretanto, o treinamento físico (grupo HFT) reduziu a glicose sanguínea no final do protocolo (60 dias) em relação ao grupo HF. Essa redução da glicemia pode estar associada ao aumento da permeabilidade da fibra muscular à glicose, em virtude do processo de contração (DUNSTAN et al., 1998). Isso porque o treinamento físico aeróbio aumenta o transporte de glicose, especialmente no músculo esquelético, mesmo em tecidos sensíveis à insulina (PLOUG et al., 1990). Recentemente, foi observado após protocolo de treinamento físico aeróbio em ratos SHR com síndrome metabólica, um aumento do GLUT-4 no coração, no músculo gastrocnêmico, no tecido adiposo epididimal (CAPONI et al., 2013) e no músculo sóleo em ratos SHR “stroke-prone” (SONG et al., 1998).

Todavia, não foram observadas diferenças significantes entre os grupos na insulina plasmática após o treinamento físico. Contudo, o grupo sedentário (HF) apresentou um aumento da insulina no plasma ao final do protocolo (30 e 60 dias), a qual não foi observado no grupo treinado (HFT). De fato, o treinamento físico (grupo HFT) foi eficaz em aumentar a sensibilidade à insulina (KITT), que estava reduzida no grupo sedentário (HF) ao final do protocolo (60 dias), corroborando com estudos da literatura que

demonstram melhora da sensibilidade à insulina após o treinamento físico aeróbio em animais com síndrome metabólica (CAPONI et al., 2013; MORAES-SILVA et al., 2013).

A hiperinsulinemia e a resistência à insulina possuem importante papel na hipertensão e nas doenças cardiovasculares, e o consumo de frutose contribui para esse quadro de resistência à insulina. Isso porque a insulina tem sido casualmente ligada à hipertensão pela ativação do sistema nervoso simpático e retenção de sódio (DE FRONZO E FERRANNINI, 1991). Por outro lado, o treinamento físico induziu uma redução da hiperinsulinemia e da resistência à insulina em ratos alimentados com uma dieta de alto teor de frutose (REAVEN et al., 1988).

A hipertensão associada ao consumo de frutose (grupo HF) induziu uma redução da capacidade física ao final do protocolo (60 dias). O treinamento físico (grupo HFT) foi eficaz em aumentar a capacidade física em 60 dias de protocolo. Vale ressaltar que foi demonstrado por nosso grupo que se pode estimar o consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx), ou seja, o transporte, consumo e utilização de oxigênio, a partir dos resultados do teste de esforço máximo utilizando-se a equação de regressão linear entre VO_2 máx e teste de esforço. Além disto, diferenças na capacidade de exercício podem ser detectadas pelo teste de esforço uma vez que a velocidade máxima obtida nesse teste foi correlacionada com o VO_2 máx em ratos machos saudáveis (RODRIGUES et al., 2006). Desta forma, nossos resultados demonstram que a redução de capacidade física observada no grupo sedentário (HF) em 60 dias foi prevenida pelo treinamento físico aeróbio (grupo HFT) aplicado neste trabalho.

5.2.2. Parâmetros Cardiovasculares e Autonômicos

A redução de PA é um dos benefícios após o treinamento físico aeróbio frequentemente observado em animais SHR (MELO et al., 2003; KRIEGER et al., 1999; SILVA et al., 1997). No presente estudo a PAD, PAS e PAM apresentaram aumento durante o protocolo (30 dias vs. 7 e 15; 60 dias vs. 7, 15 e 30) nos grupos HF e HFT, não sendo observadas diferenças estatísticas entre os grupos em relação à PA. Interessantemente, em ratos SHR, não foi observado redução de PA após 2 semanas de treinamento físico aeróbio (MASSON et al., 2015). Kawamura et al. (2004) também não observaram redução na PA em animais SHR tratados com frutose após 16 semanas de treinamento físico aeróbio. De fato, não foi observado em animais tratados com frutose uma redução na PA após 10 semanas (CASTRO et al., 2015b), 8 semanas (GALIPEAU et al., 2002) ou 4 semanas (BOA et al., 2014) de treinamento físico aeróbio. Dados recentes de nosso grupo também não evidenciaram redução de PA após 8 semanas de treinamento físico em esteira em ratas SHR fêmeas submetidas ao consumo crônico de frutose (SANCHES et al., 2012). Tais achados podem estar relacionados ao aumento da atividade simpática e a prejuízos na função endotelial (HIGUCHI et al., 1985, SANCHES et al., 2012) agravados pelo consumo de frutose, os quais o treinamento físico não conseguiu prevenir/atenuar.

A bradicardia de repouso é um achado comum após o treinamento físico, e tem sido utilizada como um marcador cardiovascular da eficácia do treinamento físico (SANCHES et al., 2012; MIDDLETON & VITO, 2005; NEGRÃO et al., 1992; DE ANGELIS et al., 1997, 1999, 2004; SILVA et al., 1997; KATONA et al., 1982; FRICK, 1967). No presente

estudo não foram observadas diferenças na FC entre os grupos (HF e HFT), todavia, o grupo treinado (HFT) apresentou uma redução da FC ao longo do protocolo (15 e 30 vs. 7 dias; 60 vs. 7 e 15 dias), o que não foi observado no grupo que se manteve sedentário. Estudos em animais tratados com frutose (CASTRO et al., 2015b; BOA et al., 2014) ou em SHR (ALVES et al., 2015; MIZUNO et al., 2015) também não observaram redução da FC após ~1, 2 ou 3 meses de treinamento físico aeróbio em relação aos seus respectivos controles. Entretanto, conforme comentado anteriormente na discussão do capítulo I, a redução da FC ao longo da vida em ratos tem sido associada à redução da atividade simpática sobre o nodo sino-atrial; neste sentido, o fato dos animais HF não apresentarem tal redução sugere uma maior participação simpática na regulação da FC basal ao longo da vida nos animais hipertensos tratados com frutose. Assim, o fato do grupo HFT reduzir a FC ao longo da vida como os grupos C e H (do capítulo I) sugere que o treinamento físico esteja modulando favoravelmente o controle autonômico cardíaco nesses animais.

Em relação ao controle autonômico reflexo da circulação, os animais treinados (grupo HFT) apresentaram maior sensibilidade do barorreflexo para as respostas bradicárdicas em todos os tempos avaliados quando comparado ao grupo sedentário (HF). Somado a isso, o treinamento físico aeróbio (grupo HFT) também foi eficaz em aumentar a sensibilidade do barorreflexo para as respostas taquicárdicas em 7, 15 e 30 dias de protocolo quando comparado ao grupo HF. Estes achados corroboram com o estudo de Alves et al. (2015) que observaram melhora da sensibilidade barorreflexa após o treinamento de natação durante 4 semanas em animais SHR. Masson et al. (2014; 2015) e Bertagnolli et al. (2006) também demonstraram aumento da sensibilidade barorreflexa em ratos SHR após treinamento físico aeróbio. Adicionalmente, Moraes-Silva et al. (2013)

observaram melhora da sensibilidade barorreflexa espontânea após 10 semanas de treinamento físico aeróbio em animais tratados com frutose.

Entretanto, é importante destacar que em 60 dias de protocolo a sensibilidade barorreflexa para as respostas taquicárdicas não foi diferente entre os grupos HF e HFT, somado a isso, o grupo HFT apresentou uma redução dessa sensibilidade ao final do protocolo (60 dias) em relação aos seus valores em 7 e 15 dias de protocolo. Provavelmente, o maior tempo de consumo de frutose ao final do protocolo possa ter impedido a manutenção da melhora da sensibilidade barorreflexa decorrente do treinamento físico. Isso pode estar associado à somatória de disfunções observadas neste modelo de síndrome metabólica. No presente estudo observamos um aumento de estresse oxidativo, bem como a não redução de PA nesta avaliação de 60 dias de protocolo. Além disso, como citado anteriormente, o consumo crônico de frutose aumenta a atividade simpática (CASTRO et al., 2015a; MORAES-SILVA et al, 2013), o que pode estar associado à disfunção barorreflexa observada ao final do protocolo nos animais hipertensos submetidos ao consumo de frutose tanto sedentários quanto treinados.

Com relação à reatividade vascular, não foram observadas diferenças nas alterações de PA para fenilefrina entre os grupos HF e HFT. Deve-se lembrar que a resposta pressórica à fenilefrina estava atenuada nos animais H e HF em relação ao grupo C na dose de 8 µg/ml (Capítulo 1), sugerindo, portanto, que o treinamento físico aplicado no presente estudo não teve um efeito expressivo na modulação adrenérgica vascular. Com relação ao nitroprussiato de sódio, não foram observadas diferenças na resposta depressora entre os grupos na dose de 2,5 µg/ml e 20µg/ml (em todos os tempos avaliados), a qual permaneceu, portanto, exacerbada em relação ao grupo C (Capítulo 1)., sugerindo que a

associação da hipertensão ao consumo de frutose induziu alterações vasculares, que de fato, são observadas na síndrome metabólica (SERNE et al., 2007), e que o protocolo de treinamento físico aeróbio não reverteu totalmente a possível disfunção no relaxamento vascular, mesmo melhorando a biodisponibilidade do óxido nítrico no início do protocolo (7 e 15 dias).

De fato, no presente estudo o treinamento físico (grupo HFT) induziu um aumento de nitritos plasmáticos no início do protocolo (7 e 15 dias) quando comparado ao grupo sedentário (HF) nos mesmos períodos, observando clara tendência a redução dos nitritos ao longo do período de seguimento deste estudo; de tal forma, que não foram observadas diferenças nos nitritos plasmáticos entre os grupos HF e HFT aos 30 e 60 dias de protocolo. Estudos anteriores evidenciaram aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico após treinamento físico em esteira durante 10 semanas em ratos SHR (BERTAGNOLLI et al., 2008) e após treinamento de natação durante 4 semanas em ratos tratados com frutose (RAHMAN et al., 2011). Neste sentido, é possível que associação de dois fatores de risco, hipertensão e consumo de frutose, tenham contribuído para a redução da biodisponibilidade de NO ao final do protocolo, a qual foi acompanhada de prejuízo na reatividade vascular e na sensibilidade barorreflexa, bem como de manutenção de valores pressóricos bastante elevados.

Uma possível via pela qual o exercício físico aeróbio aumenta a liberação de NO é pelo “shear stress” como resultado do aumento do fluxo sanguíneo gerado durante o exercício. De fato, Niebauer & Cooke (1996) demonstraram que o exercício físico aumenta o “shear stress” levando a alterações histológicas e funcionais no endotélio, resultando em um aumento da estrutura e função vascular. Faria et al. (2010) observaram uma importante

melhora da reatividade vascular após uma sessão de exercício físico resistido em ratos SHR. Os autores relataram que essa melhora foi devido ao aumento da liberação de NO pelo endotélio após o exercício, sugerindo que os vasodilatadores endoteliais possam estar envolvidos no mecanismo de hipotensão pós-exercício. Adicionalmente, 8 semanas de um protocolo de exercício em bicicleta ergonômica (30 minutos/dia; 5 dias/semana) foi efetivo em restaurar a disfunção endotelial em indivíduos com síndrome metabólica (SONNENSCHNEIN et al., 2011). No entanto, os resultados de nosso estudo sugerem que o treinamento físico aeróbio no modelo de síndrome metabólica utilizado não consegue restaurar a função vascular, o que pode contribuir para a disfunção barorreflexa e para a não redução da PA observada no grupo HFT.

5.2.3. Parâmetros Inflamatórios

Um número crescente de evidências sugere que os efeitos benéficos do exercício na hipertensão podem ser atribuídos a redução de citocinas pró-inflamatórias, a melhora da homeostase redox celular e a regulação negativa da atividade de NF- κ B (AGARWAL et al., 2012b). De fato, o exercício físico aeróbio realizado durante 16 semanas reduziu citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β) no cérebro, atenuou a hiperatividade simpática e melhorou a defesa anti-inflamatória em ratos SHR (AGARWAL et al., 2011). No entanto, estes achados não são universais. Neste sentido, no estudo de Kawamura et al. (2002) não se observou alteração no TNF- α em diferentes tecidos após 16 semanas de treinamento físico aeróbio em ratos SHR tratados com frutose. Um estudo de Pereira et al.

(2012) avaliou em pacientes com síndrome metabólica e os efeitos do treinamento físico em alguns marcadores inflamatórios no plasma, demonstrando não haver alterações nas citocinas. Possivelmente um dos mecanismos que explicaria tal fato, seria a depleção de glicogênio do músculo esquelético, o que pode afetar diretamente a produção de IL-6. Desta forma, os efeitos moduladores de IL-6 sobre a produção de TNF- α e outras citocinas anti-inflamatórias, tais como IL-1 e IL-10 poderiam ser suprimidas.

No entanto, em relação ao TNF- α no tecido adiposo retroperitoneal, no presente estudo o grupo HF apresentou um aumento dessa citocina inflamatória em 15 e 30 dias de protocolo o que não foi observado no grupo treinado (HFT). Além disto, a hipertensão associada ao consumo de frutose (grupos HF e HFT) induziu um aumento da IL-6 no tecido adiposo retroperitoneal (HF: 15 dias vs. 7 e 60 dias; HFT: 15 dias vs. 7; 30 vs. 7 e 60 dias de protocolo) e o treinamento físico (grupo HFT) não foi capaz de reduzir essa citocina inflamatória. Adicionalmente, não observamos diferenças na IL-10 no tecido adiposo retroperitoneal, todavia, a razão entre TNF- α /IL-10 foi menor no grupo treinado (HFT) em 15 dias de protocolo em relação ao grupo sedentário (HF). Essa razão estava aumentada em 15 dias de protocolo em relação aos demais tempos avaliados no grupo HF. Nesse sentido, Cabral-Santos (2015) demonstraram redução da razão TNF- α /IL-10 após exercício aeróbio agudo contínuo ou intermitente em homens saudáveis.

É interessante destacar que o aumento da citocina anti-inflamatória IL-10 pode reduzir a expressão do TNF- α e da IL-6 (KUMADA et al., 2004; WOLF et al., 2004). A IL-10 secretada por adipócitos atua como antagonista do TNF- α , inibindo a sinalização do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (FAIN et al., 2004). Além disso, o aumento dos níveis de IL-10 provenientes do treinamento físico aeróbio, gera benefícios anti-inflamatórios e

redução da resistência à insulina pós-treino, pois esta interleucina exerce um papel fundamental na modulação do metabolismo da glicose (PEDERSEN et al., 2007 e 2006). De fato, no presente estudo evidenciamos melhor perfil metabólico (insulina e resistência à insulina) em 30 e 60 dias de protocolo nos animais treinados em relação aos sedentários, momentos nos quais a razão $\text{TNF-}\alpha/\text{IL-10}$ no tecido adiposo estava em média 58% e 64% reduzida, respectivamente, no grupo HFT em relação ao HF.

O aumento da produção de citocinas inflamatórias tem sido relacionado adicionalmente com a disfunção autonômica observada em animais SHR. Neste sentido, o treinamento físico aeróbio durante 42 dias induziu um retardo na progressão do aumento da PA, uma redução da hipertrofia cardíaca e melhora da função diastólica em animais hipertensos. Isto foi associado com redução das citocinas pró-inflamatórias, aumento da IL-10 e atenuação do estresse oxidativo no núcleo paraventricular. O destreino durante 14 dias, não aboliu a atenuação da hipertensão e não reverteu a melhora induzida pelo exercício nas citocinas pró-inflamatórias no núcleo paraventricular, contudo, o destreinamento não preservou completamente os benefícios do exercício na hipertrofia, na função cardíaca e no aumento da IL-10 (AGARWAL et al., 2012b).

Recentemente, Masson et al. (2015) investigaram se treinamento físico aeróbio (14 dias) em esterira diminuiria anormalidades autonômicas e cardiovasculares em ratos SHRs, e se estes efeitos eram associados com diminuição do conteúdo High Mobility Group Box 1 (HMGB1), a ativação microglial e a inflamação no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN). Vale destacar que o HMGB1 é uma proteína abundante no núcleo celular, podendo ser secretada por macrófagos, células dendríticas, tumores, células endoteliais e também pode ser liberada no processo de necrose. As vias de transdução do sinal interno ativado

por HMGB1 envolvem quinases da família da mitogen-activated protein kinase (MAPK) que convergem para a translocação nuclear de NF- κ B, relacionando-se ao processo pró-inflamatório. Os autores observaram que além da reduzida variabilidade da frequência cardíaca, da diminuição da atividade vagal cardíaca e do aumento da PA, da variabilidade da pressão arterial e da atividade simpática vasomotora, os animais SHR apresentaram maior expressão de HMGB1, TNF- α e IL-6, I κ B- α fosforilada e ativação da microglia no PVN. O grupo treinado apresentou diminuição da expressão de HMGB1, CXCR4, SDF-1, e da fosforilação da p42/44 e I κ B- α , da ativação microglial e citocinas pró-inflamatórias no PVN, e também melhorou o controle autonômico. Em conjunto, os dados deste estudo de Masson et al. (2015) sugerem que o treinamento físico em ratos hipertensos induz a regulação negativa do eixo ativado HMGB1/CXCR4/microglia/citocinas pró-inflamatórias no PVN de SHR, sendo esta uma adaptação neural importante para contrabalançar os efeitos deletérios da inflamação no controle autonômico.

Em nosso estudo, apesar de não termos avaliado o PVN, podemos hipotetizar que efeitos semelhantes possam ter sido induzidos pelo treinamento físico pelo menos até os 30 dias de protocolo nos animais SHR submetidos ao consumo de frutose. De fato, observamos, que de uma forma geral, o treinamento físico atenuou a disfunção autonômica (sensibilidade do barorreflexo) e a inflamação em tecido adiposo e baço no HFT em relação ao grupo HF até os 30 dias de protocolo. Todavia, a longo prazo, ou seja, aos 60 dias de consumo de frutose associado ao treinamento físico, não observamos os mesmos benefícios; sugerindo que o agravamento do quadro de hipertensão associado ao consumo crônico de frutose atenua os benefícios observados do treinamento físico aeróbio. Neste sentido, ao final do protocolo (60 dias), não observamos diferenças entre os grupos na

reduzida resposta taquicárdica do barorreflexo e nos níveis elevados de TNF α no baço, sugerindo que tais alterações possam estar associadas a não redução da PA no grupo HFT em comparação ao grupo HF.

5.2.4. Parâmetros de Estresse Oxidativo

O aumento do estresse oxidativo observado em animais SHR pode ser associado as mudanças na atividade de enzimas antioxidantes em diferentes tecidos ou aumento da produção sistêmica de EROs. Ademais, o treinamento físico vem sendo utilizado como uma abordagem não farmacológica para redução do estresse oxidativo, provavelmente por reduzir algumas fontes de oxidação (MAEDA et al., 2001) através do aumento da defesa antioxidante (ROQUE et al., 2013; AGARWAL et al., 2012b) ou por aumento da resistência de órgãos e tecidos a ação deletéria das EROs (POLIDORI et al., 2000). Nesse contexto, o treinamento físico tem diferentes efeitos sobre os parâmetros de estresse oxidativo em diferentes tecidos (ROQUE et al., 2013). Os efeitos do treinamento físico nas enzimas antioxidantes se diferem devido a produção de EROS, bem como a capacidade antioxidante basal do tecido (KAKARLA et al., 2005).

Além disto, a melhora na função endotelial devido ao treinamento físico pode ter papel importante da redução das EROs e do aumento das defesas antioxidantes (MARCELINO et al., 2013; RADAK et al., 2013) resultando em um aumento da expressão de NO-sintase endotelial (HODGES et al., 2010).

Com relação à produção de EROs interessante, o grupo HFT apresentou um aumento do ânion superóxido ao final do protocolo (60 dias) em relação ao grupo HF. Não foram observadas diferenças no peróxido de hidrogênio. Nessa perspectiva, Alves et al. (2015) não observaram diferenças no ânion superóxido no coração, após 4 semanas de treinamento aeróbio em ratos SHR. No presente estudo, o aumento do ânion superóxido no plasma ao final do protocolo no grupo treinado (HFT), pode estar associado à sua função sinalizadora, pois o ânion superóxido funciona também como sinalizador molecular através da sua capacidade de oxidar grupos –SH em ligações dissulfeto, podendo ativar e desativar enzimas que contenham metionina. Vale ressaltar, que a atuação do ânion superóxido como oxidante direto é irrelevante. Dentre os aminoácidos, o único que sofre oxidação com o ânion superóxido é a cisteína. Além disso, o ânion superóxido presente no organismo é eliminado pela SOD, que catalisa a dismutação de duas moléculas de O_2 em O_2 e peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio quando não eliminado do organismo pelas enzimas peroxidases e catalase, pode gerar radicais hidroxila (HALLIWELL et al., 2000). Dessa forma, o aumento do ânion superóxido plasmático no grupo HFT pode estar sinalizando para um aumento da enzima antioxidante SOD culminando na redução da lipoperoxidação aos 60 dias.

De fato, o grupo treinado (HFT) apresentou um aumento da SOD ao final do protocolo (60 dias) quando comparado ao grupo sedentário que apresentou uma redução dessa enzima (HF: 60 dias vs. 7, 15 e 30 dias de protocolo) no mesmo período. Estes resultados corroboram com os dados de Bertagnoli et al. (2006), que observaram um aumento da SOD em ratos SHR após 10 semanas de treinamento físico aeróbio.

Todavia, devemos considerar adicionalmente que o aumento do ânion superóxido ao final do protocolo possa estar associado a menores níveis de biodisponibilidade de NO (o que é sugerido pela redução de nitritos plasmáticos) no grupo HFT, os quais poderiam colaborar para o prejuízo na reatividade vascular, no barorreflexo e para a não redução da PA observada nos animais treinados.

Não foram observadas diferenças na enzima catalase e na capacidade antioxidante total, que se refere ao perfil não enzimático. Todavia, os valores médios de CAT e TRAP plasmáticos foram aproximadamente o dobro no grupo HFT em relação ao grupo HF. A comparação dos grupos HFT e HF aos 60 dias de protocolo por teste t Student evidencia aumento da CAT ($p=0,01$) e tendência a aumento da TRAP ($p=0,1$). De fato, em modelo de sobrecarga de frutose em ratos machos foi demonstrado prejuízo na defesa antioxidante enzimática e não enzimática, sendo esse revertido pelo treinamento físico aeróbico, que reduziu a lipoperoxidação de membrana e aumentou a defesa antioxidante. Tais achados sugerem um mecanismo adaptativo ao exercício físico crônico (THIRUNAVUKKARASU et al., 2003).

Ainda no perfil de estresse oxidativo, observamos um aumento da lipoperoxidação ao final do protocolo no grupo sedentário (HF: 60 dias vs. 7, 15, 30 dias de protocolo), o que não foi observado no grupo submetido ao treinamento físico (HFT) no mesmo período. Vale ressaltar que a lipoperoxidação de membranas se inicia com a reação do hidrogênio do ácido graxo poliinsaturado da membrana celular com a ERO, promovendo a perda da seletividade na troca iônica, liberação do conteúdo de organelas e formação de produtos citotóxicos culminando, em muitos casos, na morte celular (HERSHKO, 1989).

De fato, o treinamento físico tem sido evidenciado pela melhora no estresse oxidativo. Neste sentido, evidências apotam para redução da lipoperoxidação no plasma (ALVES et al., 2015) após 4 semanas de protocolo de natação em animais SHR e após 10 semanas de treinamento em esteira, ratos SHR reduziram a lipoperoxidação em eritrócitos (BERTAGNOLLI et al., 2006). Além disto, corroborando com os nossos achados, Eleutério-Silva et al. (2013) observaram aumento da SOD, não alteração na catalase e redução do lipoperoxidação em pacientes com síndrome metabólica após 6 semanas de exercício aeróbio.

Em relação à oxidação de proteínas, foi observado um aumento no grupo sedentário (HF: 60 dias vs. 15 e 30 dias de protocolo) ao final do protocolo, o que não foi observado no grupo submetido ao treinamento físico (grupo HFT). Um estudo recente demonstrou que 10 semanas de treinamento aeróbio foi eficaz em reduzir o estado oxidante total e o índice de estresse oxidativo bem como, aumentar a capacidade antioxidante total em diferentes tecidos de ratos SHR. Interessantemente, após 5 ou 10 semanas de destreinamento, os animais apresentam um perfil de estresse oxidativo e hemodinâmico semelhantes aos animais sedentários, sugerindo que os benefícios do treinamento são reversíveis (KILIC-ERKEK et al., 2016).

É interessante relatar, que estudos do nosso grupo em animais submetidos a treinamento físico evidenciaram redução do estresse oxidativo e aumento das enzimas antioxidantes, correlacionados com melhora em parâmetros cardiovasculares e autonômicos (BERTAGNOLLI et al., 2006, 2008; IRIGOYEN et al., 2005; DE ANGELIS et al., 1997). Neste sentido, acreditamos que a disfunção autômica observada nos animais hipertensos tratados com frutose possa modular a resposta inflamatória e o estresse

oxidativo. Apesar de não termos observado prejuízo no perfil redox sistêmico ao final do protocolo nos animais treinados, acreditamos que possa haver um desequilíbrio no balanço redox em tecidos envolvidos com a regulação cardiovascular, como o coração, vasos ou rins, que possam colaborar para a não redução da PA neste modelo ao final do protocolo.

5.2.5. Sumário

Sumarizando, no segundo capítulo observamos que as disfunções induzidas pela associação da hipertensão ao consumo de frutose podem ser em parte atenuadas pelo treinamento físico aeróbio.

O treinamento físico (grupo HFT) atenuou a redução de capacidade física observada no grupo sedentário, reduziu a glicemia e aumentou a sensibilidade à insulina. Além disto, esta abordagem não farmacológica induziu aumento da sensibilidade barorreflexa para as respostas bradicárdicas em todos os tempos avaliados e das respostas taquicárdicas em 7, 15 e 30 dias de protocolo, aumento do nitrito plasmático em 7 e 15 dias de protocolo, atenuação da resposta inflamatória em baço e tecido adiposo (15 e 30 dias), aumento da SOD e redução da lipoperoxidação e do dano à proteína no plasma ao final do protocolo no grupo treinado (HFT) em relação ao grupo sedentário (HF) (Figura 50).

Entretanto, 60 dias de treinamento físico em esteira não induziram normalização dos triglicérides plasmáticos, do TNF α em baço, da reatividade vascular, das respostas taquicárdicas do barorreflexo e da PA nos SHR submetidos ao consumo crônico de frutose (Figura 52). Neste sentido, nossos resultados sugerem que o treinamento físico tenha sido

eficaz em atenuar as disfunções autonômicas e inflamatórias até 30 dias de protocolo e as disfunções no metabolismo da glicose até os 60 dias de protocolo. Todavia, após 60 dias de consumo de frutose os animais hipertensos, mesmo submetidos a treinamento físico diário, não conseguiram atenuar algumas disfunções clínicas observadas na associação de fatores de risco desse modelo, como a hipertensão e a hipertriglicidemia (Figura 50).

Considerando, que as doenças cardiovasculares representam a principal causa de morte no mundo, a redução da PA neste modelo experimental de síndrome metabólica poderia representar um importante desfecho. Neste sentido, acreditamos que o treinamento físico não tenha induzido redução na PA em função de sua ineficiência em melhorar o barorreflexo e a reatividade vascular ao final do protocolo, culminando em um quadro de aumento de moléculas inflamatórias (TNF α em baço) e oxidantes (ânion superóxido sistêmico). Estudos futuros poderiam avaliar o papel do treinamento físico em diferentes tecidos importantes na regulação cardiovascular como o coração, os rins e os vasos, a fim de possibilitar uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos nesta disfunção. Além disto, o estudo de outras abordagens terapêuticas que possam ser mais eficientes que o treinamento físico aeróbio, como o treinamento físico combinado, é importante na busca de alternativas para a prevenção a longo prazo das disfunções associadas a hipertensão e ao consumo excessivo de frutose.

Figura 50: Curso temporal dos efeitos do treinamento físico aeróbio (grupo HFT vs. grupo HF).

SBR: sensibilidade do barorreflexo; PA: pressão arterial; TG: triglicerídeos sanguíneos; ITT: teste de tolerância a insulina; TEM: teste de esforço máximo/capacidade física; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa/citocina pró-inflamatória; IL-10: interleucina 10/citocina anti-inflamatória; IL-1 β : interleucina 1 beta/ citocina pró-inflamatória; O $_2^{\bullet-}$: ânion superóxido; SOD: enzima superóxido dismutase; LPO: lipoperoxidação/TBARS; Oxid. Proteína: oxidação de proteínas/carbonilas; TAB: tecido adiposo branco retroperitoneal.

Conclusão

6. CONCLUSÃO

Concluindo, os resultados do presente estudo demonstram que as disfunções hemodinâmicas, autonômicas, inflamatórias e de estresse oxidativo são tempo dependente em animais SHR e que a associação ao consumo de frutose induz prejuízos adicionais. Além disto, a disfunção do barorreflexo precede as alterações hemodinâmicas, metabólicas de inflamação e de estresse oxidativo nesse modelo. Por outro lado, o treinamento físico aeróbio foi eficaz em atenuar parte das disfunções neste modelo de síndrome metabólica.

Referências Bibliográficas

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, D.; DANGE, R.B.; VILA, J.; OTAMENDI, A.J.; FRANCIS, J. Detraining differentially preserved beneficial effects of exercise on hypertension: effects on blood pressure, cardiac function, brain inflammatory cytokines and oxidative stress. **PLoS ONE** 7:e52569, 2012b.

AGARWAL, D.; WELSCH, M.A.; KELLER, J.N.; FRANCIS J. Chronic exercise modulates RAS components and improves balance between pro- and anti-inflammatory cytokines in the brain of SHR. **Basic Res Cardiol.**106:1069-85, 2011.

AGARWAL, D.; ELKS, C.M.; REED S.D.; MARIAPPAN, N.; MAJID, D.S.A.; FRANCIS, J. Chronic Exercise Preserves Renal Structure and Hemodynamics in Spontaneously Hypertensive Rats, **Antioxid. Redox Signal**, n.16, p.139-152, 2012.

AHIMA, R.S.; SAPER, C.B.; FLIER, J.S; ELMQUIST, J.K. Leptin regulation of neuroendocrine systems. **Front Neuroendocrinol.** 21(3):263-307, 2000.

ALTOMARE, E.; VENDEMIALE, G. *et al.* Increased lipid peroxidation in type 2 poorly controlled diabetic patients. **Diabete Metab**, v.18, n.4, Jul-Aug, p.264-71. 1992.

ALVES, N.F.; PORPINO, S.K.; MONTEIRO M.M.; GOMES E.R.; BRAGA V.A. Coconut oil supplementation and physical exercise improves baroreflex sensitivity and oxidative stress in hypertensive rats. **Appl Physiol Nutr Metab.** 40(4):393-400, 2015.

AMARAL, S.L.; ZORN, T.M.; MICHELINI, L.C. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v.18, n.11, p.1563-1572, 2000.

AMARAL, S.L. & MICHELINI, L.C. Effect of gender on training-induced vascular remodeling in SHR. **Braz J Med Biol Res**, v.44, n.9, p.814-826, 2011

American Heart Association 71st scientific sessions. Dallas, Texas, USA. November 8-11, 1998. Abstracts. **Circulation**, v.98, n.17 Suppl, Oct 27, p.IA-T, I1-1016. 1998.

ARMUTCU, F.; COSKUN, O.; GUREL, A.; KANTER, M.; CAN, M.; UCAR, F.; UNALACAK, M. Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats. **Clin Biochem**, v.38: p.540-7, 2005.

BARREIROS, R. C.; BOSSOLAN, G.; TRINDADE, C. E. P. Frutose em humanos: efeitos metabólicos, utilização clínica e erros inatos associados. **Revista de Nutrição da PUCCAMP**, v. 18, n. 3, p. 377-389, 2005.

BASARANOGLU, M.; BASARANOGLU, G.; SABUNCU, T.; SENTÜRK, H. Fructose as a key player in the development of fatty liver disease. **World J Gastroenterol**. Feb 28;19(8):1166-72, 2013.

BASCIANO, H.; FREDERICO, L.; ADELI, K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. **Nutrition & Metabolism**, v.5, p. 1-14, 2005.

BELL, G. M.; BERSTEIN, R. K.; LARAGH, J. H. *et al.* Increased plasma atrial natriuretic factor and reduced plasma renin in patients with poorly controlled diabetes mellitus. **Clin Sci**. v. 77, p.177-182, 1989

BELLÓ-KLEIN, A.; BOCK, P.M.; TRAVACIO, M., SENNA, S.M.; LLESUY, S., BITTENCOURT, P.I. , IRIGOYEN, M.C.; BELLÓ, A.A.; KUMAR, D.; SINGAL, P.K. Myocardial oxidative stress and antioxidants in hypertension as a result of nitric oxide synthase inhibition. **Cardiovasc Toxicol**, v.1, n.1, p.43-50, 2001.

BELTRÁN-SÁNCHEZ, H.; HARHAY, M.O.; HARHAY, M.M.; MCELLIGOTT, S. Prevalence and trends of Metabolic Syndrome in the adult US population 1999-2010. **Am Coll Cardiol**. 62(8): 697-703, 2013.

BENTER, I.F.; FRANCIS, I.; COJOCEL, C.; JUGGI, J.S.; YOUSIF, M.H.; CANATAN, H. Contribution of cytochrome metabolites of arachidonic acid to hypertension and end-organ damage in SHR treated with L-NAME. **Auton Autacoid Pharmacol**. 25: 143-154, 2005.

BERTAGNOLLI, M.; SCHENKEL, P.C.; CAMPOS, C.; MOSTARDA, C.T.; CASARINI, D.E.; BELLÓ-KLEIN, A. *et al.* Exercise training reduces sympathetic modulation on

cardiovascular system and cardiac oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. **Am J Hypertens**.21:1188-932, 2008

BERTAGNOLLI, M., CAMPOS, C., *et al.* Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. **J Hypertens**, v.24, n.12, Dec, p.2437-43. 2006.

BOA, B.C.; COSTA, R.R.; SOUZA, M.G.; CYRINO, F.Z.; PAES, L.S.; MIRANDA, M.L.; CARVALHO, J.J.; BOUSKELA, E. Aerobic exercise improves microvascular dysfunction in fructose fedhamsters. **Microvasc Res**. May;93:34-41, 2014.

BONORA, E.; MOGHETTI, P.; ZANCANARO, C.; CIGOLINI, M.; QUERENA, M.; CACCIATONI, V.; CORGNATI, A.; MUGGEO, M. Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, n.68, p.374-378, 1989.

BOROVIKOVA, L. V.; IVANOVA, S.; ZHANG, M.; YANG, H.; BOTCHKINA, G. I.; WATKINS, L. R.; WANG, H.; ABUMRAD, N.; EATON, J. W.; TRACEY, K. J. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. **Nature**, v. 405, n. 6785, p. 458-462, 2000.

BOUCHARD, C. **Atividade física e obesidade**. Barueri- Sp: Manole, 2003.

BOVERIS, A. & CHANCE, B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. **Biochem J**, v.134, n.3, Jul, p.707-16. 1973.

BRISTOW, J.D.; HONOUR, A.J.; PICKERING, G.W.; SLEIGHT, P.; SMYTH, H.S. Diminished baroreflex sensitivity in high blood pressure. *Circulation*. 39(1):48-54. 1969.

BRITO, J. O.; PONCIANO, K. *et al.* Parasympathetic dysfunction is associated with insulin resistance in fructose-fed female rats. **Braz J Med Biol Res**, v.41, n.9, Sep, p.804-8. 2008a.

BRITO, J. O. A influência da hipertensão nos ajustes induzidos pelo treinamento físico na modulação autonômica cardiovascular e no estresse oxidativo em um modelo experimental de menopausa e disfunção metabólica. **Dissertação de mestrado**, 2008b.

BRITO, J.O. Mecanismos associados às disfunções cardiometabólicas em um modelo experimental de menopausa e síndrome metabólica: papel do treinamento físico aeróbico ou resistido. **Tese de Doutorado**, 2014.

BROWN, C. M.; DULLOO, A. G.; YEPURI, G.; MONTANI, J. P. Fructose ingestion acutely elevates blood pressure in healthy young humans. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** v. 294, n.3, p. 730-737, 2008.

BRUM, P.C.; DA SILVA, G.J.; MOREIRA, E.D.; IDA, F.; NEGRÃO, C.E.; KRIEGER, E.M. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. **Hypertension**, v.36, p.1018-22, 2000.

BRUUNSGAARD, H.; LADELUND, S.; PEDERSEN, A.; SCROLL, M.; JORGENSEN, T.; PEDERSEN, B. Predicting death from tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in 80-year-old people. **Clin Exp Immunol**, v.132, n.1, p. 24-31, 2003.

BURTON, G.A., HAYLOR, J.; DE JONGE, A. Renal sensitivity to endothelium-derived-relaxing-factor-mediated vasodilatation in the spontaneously hypertensive rat. **Clin Sci. (Lond)** 80: 435-441, 1991.

BYRNE, C. D. Fatty liver: Role of inflammation and fatty acid nutrition. **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids**. 82(4-6), 265–271, 2010.

CABRAL-SANTOS, C.; GEROSA-NETO, J. INOUE, D.S.; PANISSA, V.L.; GOBBO, L.A.; ZAGATTO, A.M.; CAMPOS, E.Z.; LIRA, F.S. Similar Anti-Inflammatory Acute Responses from Moderate-Intensity Continuous and High-Intensity Intermittent Exercise. **J Sports Sci Med**, 2015.

CACHOFEIRO, V.; NASJLETTI, A. Increased vascular responsiveness to bradykinin in kidneys of SHR. Effect of N omega-nitro-L-arginine. **Hypertension**. 15: 683-688, 1991.

CAPONI, P.W.; LEHNEN, A. M.; PINTO, G. H.; BORGES, J.; MARKOSKI, M.; MACHADO, U. F.; SCHAAN, B. D. Aerobic exercise training induces metabolic benefits

in rats with metabolic syndrome independent of dietary changes. **Clinics** (São Paulo). Jul;68(7):1010-7, 2013.

CASTRO, M.C.; MASSA, M.L.; ARBELÁEZ, L.G.; SCHINELLA, G.; GAGLIARDINO, J.J., FRANCINI, F. Fructose-induced inflammation, insulin resistance and oxidative stress: A liver pathological triad effectively disrupted by lipoic acid. **Life Sci.** 15;137:1-6, 2015b.

CASTRO, E.F.S.; MOSTARDA, C.T.; RODRIGUES, B.; MORAES-SILVA, I.C.; FERIANI, D.J.; DE ANGELIS, K.; IRIGOYEN, M.C. Exercise training prevents increased intraocular pressure and sympathetic vascular modulation in an experimental model of metabolic syndrome. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 48(4): 332-338, 2015a.

CASTRO, M.C.; MASSA, M.L.; SCHINELLA, G., GAGLIARDINO, J.J.; FRANCINI, F. Lipoic acid prevents liver metabolic changes induced by administration of a fructose-rich diet. **Biochim. Biophys. Acta** 1830 2226-2232, 2013.

CHAMORRO, V., MORENO, J.M., WANGENSTEEN, R., SAINZ, J., RODRIGUEZ-GOMEZ I., OSUNA, A. *et al.* Effects of deoxycorticosterone on renal vascular reactivity and flow-pressure curve in spontaneously hypertensive rats. **J Physiol Pharmacol.** 55: 17-26, 2004.

CHOWDHARY, S.; VAILE, J.C.; FLETCHER, J.; ROSS, H.F.; COOTE, J.H.; TOWNEND, J.N. Nitric oxide and cardiac autonomic control in humans. **Hypertension**, n.36, p.264-269, 2000.

CHU, K. Y. & LEUNG, P. S. Angiotensin II in type 2 diabetes mellitus. **Curr Protein Pept Sci**, v.10, n.1, Feb, p.75-84. 2009.

CICOONA, A.C. ; BROOKS, W.W. ; HAYES, J.A. ; ROBINSON, K.G. ; SEN, S. ; CONRAD, C.H. ; BING, O.H. Effect of chronic colchicine administration on the myocardium of the aging spontaneously hypertensive rat. *Mol cell biochem*, 166(1-2): 45-54, 1997.

CONTI, F.F., BRITO, J.O; BERNARDES, N.; DIAS, D.S.; MALFITANO, C.; MORRIS, M.; LLESUY, S.F.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K. Positive effect of combined

exercise training in a model of metabolic syndrome and menopause: autonomic, inflammatory, and oxidative stress evaluations. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 15;309(12):R1532-9, 2015.

CONTI, F.F; BRITO, J.O.; BERNARDES, N.; DIAS, D.S.; SANCHES, I.C.; MALFITANO, C.; LLESUY, S.F.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K. Cardiovascular autonomic dysfunction and oxidative stress induced by fructose overload in an experimental model of hypertension and menopause. **BMC Cardiovasc Disord.**11;14:185, 2014.

CUNHA, T.S.; FARAH, V.; PAULINI, J.; *et al.* Relationship between renal and cardiovascular changes in a murine model of glucose intolerance. **Regul Pept.** v. 139, n. 1-3, p. 1-4, 2007.

DANTAS, A.P.V.; CARVALHO, M.H.C. et al. Efecto protector de los estrógenos em el sistema cardiovascular. **Antioxidantes y calidad de vida**, v.7, n.28, p.6-11, 2000.

DE ANGELIS, K.; WICHI, R. B. et al. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. **J Appl Physiol**, v.96, n.6, p.2174-8, 2004.

DE ANGELIS, K.; GADONSKI, G., et al. Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats. **Hypertension**, v.34, n.4(Pt. 2), p.768-72, 1999.

DE ANGELIS, K.; SENADOR D.D.; MOSTARDA, C.; IRIGOYEN, M.C.; MORRIS M. Sympathetic overactivity precedes metabolic dysfunction in a fructose model of glucose intolerance in mice. **Am J Physiol**, v. 302, n. 8, 2012.

DE ANGELIS, K.L.D.; OLIVEIRA, A.R.; WERNER, A.; BOCK, P.; BELLÓ-KLEIN, A.; FERNANDES, T.G.; BELLÓ-KLEIN, A.A.; IRIGOYEN, M.C. Exercise training in aging: hemodynamics, metabolic, and oxidative stress evaluations. **Hypertension**, v.30, n.3, p.767-771, 1997.

DE FRONZO R.A.; FERRANNINI, E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. **Diabetes Care**, v.14, p.173-194, 1991.

- DE JONGH, R.T.; SERNE, E.H.; IJZERMAN, R.G.; DE VRIES, G.; STEHOUWER, C.D. Impaired microvascular function in obesity: implications for obesity-associated microangiopathy, hypertension, and insulin resistance. **Circulation**, v.109, p.2529–35, 2004.
- DELBOSC, A. S.; PAIZANISB, E.; MAGOUSB, R.; ARAIZA, C.; DIMOB, T.; CRISTOLA, J.P.; CROSB, G.; AZAYB, J. Involvement of oxidative stress and NADPH oxidase activation in the development of cardiovascular complications in a model of insulin resistance, the fructose-fed rat. **Atherosclerosis**, v.179, n.1, p.43-9, 2005.
- DICKHOUT, J.G.; LEE, R.M. Blood pressure and heart rate development in young spontaneously hypertensive rats. **Am J Physiol**. V.274(3 Pt 2), p.H794-800, 1998.
- DIEDERICH, D.; YANG, Z.H.; BUHLER, F.R.; LUSCHER, T.F. Impaired endothelium dependent relaxations in hypertensive resistance arteries involve cyclooxygenase pathway. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.258, p.H445-H451, 1990.
- DONOHUE, S.; STITZEL, R.; HEAD, R. Time course of changes in the norepinephrine content of tissues from spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto rats. **J Pharmacol Exp Ther**, v.245, p.24–31, 1988.
- DORMANDY, T.L. Free-radical oxidation and antioxidants. **Lancet**, v.1, p.647-650, 1978.
- DOTAN, Y.; LICHTENBERG, D.; PINCHUK, I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. **Prog Lipid Res.**, v.43, n.3, p.200-227, 2004.
- DRAGUSHA, G.; ELEZI, A.; DRAGUSHA, S.; GORANI, D.; BEGOLLI, L.; SAIT, V. Treatment Benefits on Metabolic Syndrome with Diet and Physical Activity. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**, v.10, n.2, p.169-176, 2010.
- DUNSTAN, D.W.; PUDDEY, I.B.; BEILIN, L.J.; BURKE, V.; MORTON A.R.; STANTON, K.G. Effects of a short-term circuit weight training program on glycaemic control in NIDDM. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v.40, p.53-61, 1998.
- EL-BASSOSSY, H.M & WATSON, M.L. Xanthine oxidase inhibition alleviates the cardiac complications of insulin resistance: effect on low grade inflammation and the angiotensin system. **J Transl Med**, v.6, n.13, p.82, 2015.

ELEUTÉRIO-SILVA, M.A.; SÁ DA FONSECA, L.J.; VELLOSO, E.P.; DA SILVA GUEDES, G.; SAMPAIO, W.O.; DA SILVA, W.F. et al. Shortterm cardiovascular physical programme ameliorates arterial stiffness and decreases oxidative stress in women with metabolic syndrome. **J Rehabil Med**, v.45, p.572-9, 2013.

ELLIOT, S.S.; KEIM, N.L.; STERN, J.S.; TEFF, K.; HAVEL, P.T. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **Am J Clin Nutr**, v.76, p.c911-922, 2002.

EWING, D.; CAMPBELL, I.; CLARKE, B. The natural history of diabetic autonomic neuropathy. **Quart J Med**, v.49, p.95-108, 1980.

FAIN, J.N.; BAHOUTH, S.W.; MADAN, A.K. TNFalpha release by the nonfat cells of human adipose tissue. **International Journal of Obesity**, n.28, p.616-622, 2004.

FARAH, V.; DE ANGELIS, K.; CANDIDO, G.; BERNARDES, N.; JOAQUIM, L.F.; SCAAN, B.D.; IRIGOYEN, M.C. Autonomic modulation of arterial pressure and heart rate variability in hypertension diabetic rats. **Clinics**, v.62, n.4, p.477-482, 2007.

FARAH, V.; ELASED, K.; CHEN, Y.; KEY, M.; CUNHA, T.; IRIGOYEN, M.C.; MORRIS, M. Nocturnal hypertension in mice consuming a high fructose diet. **Autonomic Neuro Science Basic and Clinical**, p.1-10, 2006.

FARIA, T.D.E.O.; TARGUETA, G.P.; ANGELI, J.K.; ALMEIDA, E.A.; STEFANON, I.; VASSALLO, D.V.; LIZARDO, J.H. Acute resistance exercise reduces blood pressure and vascular reactivity, and increases endothelium-dependent relaxation in spontaneously hypertensive rats. **Eur J Appl Physiol**, v.110(2), p.359-66, 2010.

FARIÑA, J.P.; GARCÍA, M.E.; ALZAMENDI, A.; GIOVAMBATTISTA, A.; MARRA, C.A.; SPINEDI, E.; GAGLIARDINO, J.J. Antioxidant treatment prevents the development of fructose-induced abdominal adipose tissue dysfunction. v.1, n.125(2), p87-97, 2013.

FAZAN JR, R.; SILVA, V.J.D.; SALGADO, H.C. Modelos de hipertensão arterial. **Rev Bras Hipertens**, v.8, n.1, 2001.

FÉLÉTOU, M.; VERBEUREN, T.J.; VANHOUTTE, P.M. Endothelium-dependent contractions in SHR: a tale of prostanoid TP and IP receptors. **Br J Pharmacol**, v.15, p.563-574, 2009.

FÉLÉTOU, M.; VANHOUTTE, P.M. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder (The Wiggers Award Lecture). **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.291, n.3, p.H985-1002, 2006.

FLOHE, L. & GUNZLER, W.A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol**, v.105, p.114-21. 1984.

FLOREZ, H.; CASTILLO-FLOREZ, S.; MENDEZ, A. et al. C-reactive protein is elevated in obese patients with the metabolic syndrome. **Diab Res Clin Pract**, v.71, n.1, p.92–100, 2006.

FLYNN, M.G.; MCFARLIN, B.K.; MARKOFSKI, M.M. State of the art reviews: The anti-inflammatory actions of exercise training. **Am J Lifestyle Med**, v.1, n.3, p.220-35, 2007.

FONSECA-ALANIZ, MH, TAKADA, J, ALONSO-VALE, MIC, LIMA, FB. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.50, n.2, p.216-229, 2006.

FOSS, C.H., VESTBO, E. et al. Autonomic neuropathy in nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects is associated with urinary albumin excretion rate and 24-h ambulatory blood pressure: the Fredericia Study. **Diabetes**, v.50, n.3, Mar, p.630-6. 2001.

FRANCINI, F.; CASTRO, M.C.; SCHINELLA, G.; GARCIA, M.E.; MAIZTEGUI, B.; RASCHIA, M.A.; GAGLIARDINO, J.J.; MASSA, M.L. Changes induced by a fructose-rich diet on hepatic metabolism and the antioxidant system. **Life Sci**, v.86, p.965-971, 2010.

FRANCISCHI R.P.; PEREIRA L.O.; LANCH JR, A.H. Exercício, comportamento alimentar e obesidade: revisão dos efeitos sobre a composição corporal e parâmetros metabólicos. **Rev Paul Educ Fís**, v.15, p.117-40, 2001.

FRICK, M.H. The mechanisms of bradycardia evoked by physical training. **Cardiologia**, n.51, p.46-54, 1967.

FUJII, K.; TOMINAGA, M.; OHMORI, S.; KOBAYASHI, K.; KOGA, T.; TAKATA, Y. et al. Decreased endothelium-dependent hyperpolarization to acetylcholine in smooth

muscle of the mesenteric artery of spontaneously hypertensive rats. **Circ Res.** v.70, p.660-669, 1992.

GALIPEAU, D.; VERMA, S.; MCNEILL, J.H. Female rats are protected against fructose-induced changes in metabolism and blood pressure. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.283, n.6, p.H2478-84, 2002.

GAVA, N.S.; VÉRAS-SLIVA, A.S.; NEGRÃO, C.E.; KRIEGER, E.M. Low-intensity exercise training attenuates cardiac β -adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v.26, p.1129-33, 1995.

GEORGE, A. & BRAY, M.D. Gut Signals and Energy Balance: Ghrelin, Peptide YY, Leptin, and Amylin (Slides With Transcript), **Medscape.com**, 2007. (acesso: 09/03/2014).

GIRARD, A.; MADANI, S.; BOUKORTT, F.; CHERKAOUI-MALKI, M.; BELLEVILLE, J.; PROST J. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. **Nutrition**, v.22, n.7-8, p.758-766, 2006.

GLUSHAKOVA, O.; KOSUGI, T.; RONCAL, C.; MU, W.; HEINIG, M.; CIRILLO, P.; SA´NCHEZ-LOZADA, L.G.; JOHNSON, R.J.; NAKAGAWA, T. Fructose Induces the Inflammatory Molecule ICAM-1 in Endothelial Cells. **J Am Soc Nephrol**, v.19, p.1712-1720, 2008.

GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; QUARTI-TREVANO, F.; DELL'ORO, R.; BOMBELLI, M.; MANCIA, G. Metabolic syndrome and cardiometabolic risk: an update. **Blood Press**, v.18, n.1-2, p.7-16, 2009.

GRYGLEWSKI, R.J.; PALMER, R.M.; MONCADA, S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. **Nature**, n.320, p.454-456, 1986.

GUIJARRO, C. & EGIDO, J. Transcription factor-kappaB (NF-kappaB) and renal disease. **Kidney International**, n.59, p.415-424, 2001.

GUIMARÃES, G.V. & CIOLAC, E.G. Síndrome metabólica: abordagem do educador físico. **Rev Soc Cardiol de São Paulo**, v.14, p.659-70, 2004.

HAGBERG, M.; HARMS-RINGDAHL, K. et al. Rehabilitation of neck-shoulder pain in women industrial workers: a randomized trial comparing isometric shoulder endurance training with isometric shoulder strength training. **Arch Phys Med Rehabil**, v.81, n.8, p.1051-8, 2000.

HALLIWELL, B, GUTTERIDGE, J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine, Ed 3. **Oxford University Press**, Oxford, 1985.

HALLIWELL, B & GUTTERIDGE, J.M.. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. **Ann N Y Acad Sci**, v.899, p.136-47, 2000

HARTHMANN, A.D.; DE ANGELIS, K. et al. Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats. **Auton Neurosci**, v.133, n.2, p.115-20, 2007.

HAYAKAWA, H.; HIRATA, Y.; SUZUKI, E.; SUGIMOTO, T.; MATSUOKA, H.; KIKUCHI, K. et al. Mechanisms for altered endothelium-dependent vasorelaxation in isolated kidneys from experimental hypertensive rats. **Am J Physiol**, v.264, p.H1535-H1541, 1993.

HEAD, G.A.; ADAMS, M.A. Time course of changes in baroreceptor reflex control of heart rate in conscious SHR and WKY: contribution of the cardiac vagus and sympathetic nerves. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v.15, n.4, p.289-92, 1988.

HELLSTROM, H.R. The altered homeostatic theory: A hypothesis proposed to be useful in understanding and preventing ischemic heart disease, hypertension, and diabetes--including reducing the risk of age and atherosclerosis. **Med Hypotheses**, v.68, n.2, p.415-433, 2007.

HERNÁNDEZ-SALINAS, R.; DECAP, V.; LEGUINA, A.; CÁCERES, P.; PEREZ, D.; URQUIAGA, I.; ITURRIAGA, R.; VELARDE, V. Antioxidant and anti hyperglycemic role of wine grape powder in rats fed with a high fructose diet. **Biol Res**, v.30, n.48, p.53, 2015.

HERSHKO, C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. **Semin Hematol**. v.26, n.4, p.277-85, 1989.

HIGUCHI, M.; HASHIMOTO, I.; YAMAKAWA, K. Effect of exercise training on aortic collagen content in spontaneously hypertensive rats (SHR). **Eur J Appl Physiol**, v.53, p.330–333, 1985.

HILZENDEGER, A.M.; GONCALVES, A.C. et al. Autonomic dysregulation in ob/ob mice is improved by inhibition of angiotensin-converting enzyme. **J Mol Med**, v.88, n.4, p.383-90, 2010.

HODGES, G.J.; SHARP, L.; STEPHENSON, C. et al. The effect of 48 weeks of aerobic exercise training on cutaneous vasodilator function in post-menopausal females. **Eur J Appl Physiol**, v.108, n.6, p.1259–1267, 2010.

HONGO, K.; NAKAGOMI, T.; KASSELL, N.F.; SASAKI, T.; LEHMAN M.; VOLLMER, D.G. et al. Effects of aging and hypertension on endothelium-dependent vascular relaxation in rat carotid artery. **Stroke**, v.19, p.892-897, 1988.

HUNG, J.; MCQUILLAN, B.M.; CHAPMAN, C.M.; THOMPSON, P.L.; BEILBY, J.P. Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome independent of obesity and insulin resistance. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.25, n.6, p.1268–73, 2005.

HUSTON, J. M.; OCHANI, M.; ROSAS-BALLINA, M.; LIAO, H.; OCHANI, K.; PAVLOV, V.A.; GALLOWITSCH-PUERTA, M.; ASHOK, M.; CZURA, C.J.; FOXWELL, B.; TRACEY, K.J.; ULLOA, L. Splenectomy inactivates the cholinergic anti-inflammatory pathway during lethal endotoxemia and polymicrobial sepsis. **J Exp Med**, v.203, n.7, p.1623–1628, 2006.

HUTRI-KAHONEN, N.; KAHONEN, M.; TOLVANEN, J.P.; WU, X.; SALLINEN, K.; PORSTI, I. Ramipril therapy improves arterial dilation in experimental hypertension. **Cardiovasc Res**, v.33, p.188-195, 1997.

IRIGOYEN, M.C.; PAULINI, J. et al. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. **Hypertension**, v.46, n.4, p.998-1003, 2005.

IRIGOYEN, M.C. & KRIEGER, E.M. Baroreflex control of sympathetic activity in experimental hypertension. **Brazilian Journal Of Medical Biological Research**, n.31, p.1213-20, 1998.

IRIGOYEN, M.C.; MOREIRA, E.D.; IDA, F.; PIRES, M.; CESTARI, I.A.; KRIEGER, E.M. Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. **Hypertension**, v.26, n.6 (Pt 2), p.1111-6, 1995.

IRIGOYEN, M.C.; LACCHIN, I.S.; DE ANGELIS, K.; MICHELINI, L.C. Fisiopatologia da Hipertensão: O que avançamos? **Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo**. v.1, p.20-45, 2003.

JANSSEN-HEININGER, Y.M.; POYNTER, M.E.; BAEUERLE, P.A. Recent Advances Towards Understanding Redox Mechanisms in the Activation of Nuclear Factor_Β. **Free Radic Biol Med**, n.28, p.1317-1327, 2000.

Ji, L.L.; FU, R. Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hidroperoxide. **J Appl Physiol**, v.72, p.549-54, 1992.

JURGENS, H.; HAASS, W.; CASTAÑEDA, T.R.; SCHURMANN, A.; KOEBNICK, C.; DOMBROWSKI, F.; OTTO, B.; NAWROCKI, A.R.; SCHERER, P.E.; SPRANGER, J.; RISTOW, M.; JOOST, H.; HAVEL, P.J.; TSCHO, M.H. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. **Obesity Research**, v.13, n.7, p.1146-1156, 2005.

KAKARLA, P.; VADLURI, G.; REDDY, K.S.; LEEUWENBURGH, C. Vulnerability of the mid aged rat myocardium to the age-induced oxidative stress: influence of exercise training on antioxidant defense system. **Free Radic Res**, v.39, p.1211–1217, 2005.

KASINSKI, N. & FONSECA, F.A.H. Dislipidemias: diagnóstico e tratamento. In: PRADO, F. C.; RAMOS.; VALLE, J.R. **Atualização terapêutica**, p.47-50. 2001.

KATONA, P.G.; McLEAN, M.; DIGHTON, D.H.; GUZ, A. Sympathetic and parasympathetic cardiac control in athletes and nonathletes at rest. *Journal of Applied Physiology*, v.52, p.1652-1657, 1982.

KAWAMURA, T.; YOSHIDA, K.; SUGAWARA, A.; NAGASAKA, M.; MORI, N.; TAKEUCHI, K.; KOHZUKI, M. Impact of exercise and angiotensin converting enzyme inhibition on tumor necrosis factor-alpha and leptin in fructose-fed hypertensive rats. **Hypertens Res**, v.25, n.6, p.919-26, 2002.

KAWAMURA, T.; YOSHIDA, K.; SUGAWARA, A.; NAGASAKA, M.; MORI, N.; TAKEUCHI, K.; KOHZUKI, M. Regulation of skeletal muscle peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression by exercise and angiotensin-converting enzyme inhibition in fructose-fed hypertensive rats. **Hypertens Res**, v.27, n.1, p. 61-70, 2004.

KILIC-ERKEK, O.; KILIC-TOPRAK, E.; CALISKAN, S.; EKBIC, Y.; AKBUDAK, I.H.; KUCUKATAY, V.; BOR-KUCUKATAY, M. Detraining reverses exercise-induced improvement in blood pressure associated with decrements of oxidative stress in various tissues in spontaneously hypertensive rats. **Mol Cell Biochem**, v.412, n1-2, p.209-19, 2016.

KLEIGER, R.E.; MILLER, J.P.; BIGGER JR, J.T.; MOSS, A.J. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. **Am J Cardiol**, v.1, n.59-4, p.256-62, 1987.

KOH, K.K.; HAN, S.H.; QUON, M.J. Inflammatory markers and the metabolic syndrome: insights from therapeutic interventions. **J Am Coll Cardiol**, v.46, n.11, p.1978–85, 2005.

KOJIMA, M.; ASANO, M.; AOKI, K.; YAMAMOTO, M.; MATSUDA, T. Decrease in alpha 1-adrenoceptor reserve in mesenteric arteries isolated from spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**, v.7, p.873-878, 1989.

KRIEGER, E.M.; BRUM, P.C.; NEGRAO, C.E. State-of-the-art lecture: influence of exercise training on neurogenic control of blood pressure in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v.34, p.720–723, 1999.

LA ROVERE, M.T.; BIGGER JR, J.T.; MARCUS, F.I.; MORTARA, A.; SCHWARTZ, P.J. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. **Lancet**, v.351, p.478-84, 1998.

LAITINEN, T.; HARTIKAINEN, J.; VANNINEN, E.; NISKANEN, L.; GEELEN, G.; LÄNSIMIES, E. Age and gender dependency of baroreflex sensitivity in healthy subjects. **Journal of Applied Physiology**, v.2, n.84, p.576-583, 1998.

LANDMESSER, U.; HORNIG, B.; DREXLER, H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? **Circulation**, v.109, n.21 (Suppl1), p.II27-33, 2004.

LAUGHLIN, M.H.; NEWCOMER, S.C.; BENDER, S.B. Importance of hemodynamic forces as signals for exercise-induced changes in endothelial cell phenotype. **J. Appl. Physiol**, v.104, p.588–600, 2008.

LEE, J.M.; JOHNSON, J.A. An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism. **J Biochem Mol Biol**, v.37, p.139-43, 2004

LÍRIO, L.M.; FORECH, L.; ZANARDO, T.C.; BATISTA, H.M.; MEIRA, E.F.; NOGUEIRA, B.V.; MILL, J.G. BALDO, M.P. Chronic fructose intake accelerates non-alcoholic fatty liver disease in the presence of essential hypertension. **J Diabetes Complications**, v.30, n.1, p.85-92, 2016.

LISSI, E.; SALIM-HANNA, M.; PASCUAL, C.; DEL CASTILLO, M.D. Evaluation of total antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. **Free Radic Biol Med**, v.18, n.2, p.153-8, 1995.

LOFFREDA, S.1.; YANG, S.Q.; LIN, H.Z.; KARP, C.L.; BRENGMAN, M.L.; WANG, D.J.; KLEIN, A.S.; BULKLEY, G.B.; BAO, C.; NOBLE, P.W.; LANE, M.D.; DIEHL, AM. Leptin regulates proinflammatory immune responses. **FASEB J.** v.12, n. 1, p. 57-65, 1998.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J., *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem**, v.193, n.1, p.265-75. 1951.

LÜSCHER, T.F.; AARHUS, L.L.; VANHOUTTE P.M. Indomethacin improves the impaired endothelium-dependent relaxations in small mesenteric arteries of the spontaneously hypertensive rats. **Am J Hypertens**. v.3, p. 55-58, 1990.

LÜSCHER, T.F.; DIEDERICH, D.; WEBER, E.; VANHOUTTE, P.M. ; BUHLER F.R. Endothelium-dependent responses in carotid and renal arteries of normotensive and hypertensive rats. **Hypertension**, v.11: p. 573-578, 1988.

LUSTIG, R.H.; SCHMIDT, L.A.; BRINDIS, C.D. Excessive consumption of fructose can cause many of the same health problems as alcohol. **Nature**. v. 482: p. 27-29, 2012

MAEDA, S.; MIYAUCHI, T.; KAKIYAMA T. Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. **Life Sci**, v.69, p.1005-1016, 2001.

MALIK, V.S.; POPKIN, B.M.; BRAY, G.A.; DESPREZ, J.P.; WILLETT, W.C.; HU FB. Sugar-Sweetened Beverages and Risk of Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**. 33: 2477-2483, 2010.

MANCIA, G.; GRASSI, G.; FERRARI, A. U. Reflex control of circulation in experimental and human hypertension. In: ZANCHETTI, A; MANCIA, G. Handbook of hypertension, Pathophysiology of hypertension. Amsterdam: **Elsevier Science Publishers BV**, p.568-601, 1997.

MANTELLI L.; AMERINI, S.; LEDDA, F. Role of nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factor in vasorelaxant effect of acetylcholine as influenced by aging and hypertension. **J Cardiovasc Pharmacol**. v, 25: p. 595-602, 1995.

MARCELINO, T.B.; LONGONI, A.; KUDO, K.Y., et al., Evidences that maternal swimming exercise improves antioxidant defenses and induces mitochondrial biogenesis in the brain of young Wistar rats. **Neuroscience**, v.246, p. 28–39, 2013.

MASSON, G. S.; NAIR, A.R.; SILVA, SOARES P.P.; MICHELINI, L. C.; FRANCIS J. Aerobic training normalizes autonomic dysfunction, HMGB1 content, microglia activation and inflammation in hypothalamic paraventricular nucleus of SHR. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. v.309, n.7, p. H1115-22, 2015.

MASSON, G.S.; COSTA, T. S. R.; YSHII, L.; FERNANDES, D.C.; SOARES, P.P.S.; et al. Time-Dependent Effects of Training on Cardiovascular Control in Spontaneously

Hypertensive Rats: Role for Brain Oxidative Stress and Inflammation and Baroreflex Sensitivity. **PLOS ONE**, v.9, n.5, 2014.

MCCORD, J.M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. Enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein). **J Biol Chem.**, v. 244, pp.6049-6055, 1969.

MCCORD, J.M, FRIDOVICH, I. Production of O₂⁻ in photolyzed water demonstrated through the use of superoxide dismutase. *Photochem Photobiol*, v.17, n.2 ,p.115-21. . 1973.

MELO, R.M.; MARTINHO Jr.; MICHELINI, L.C. Training-induced, pressure-lowering effect in SHR wide effects on circulatory profile of exercise and nonexercised muscles. **Hypertension**, v.42, part 2, p.851-857, 2003.

MENDIZÁBAL, Y.; LLORENS, S.; NAVA, E. Reactivity of the aorta and mesenteric resistance arteries from the obese spontaneously hypertensive rat: effects of glitazones. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. v.301, p. H1319-H1330, 2011.

MIDDLETON, N.; DE VITO, G. Cardiovascular autonomic control in endurance-trained and sedentary young women. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v.25, n.2, p.83-89, 2005.

MILLER, ALLISON.; SIMS, J; CANAVAN, AMY.; HSU, THEODORE.; UJHELYI, MICHAEL. Impaired Vagal Reflex Activity in Insulin-Resistant Rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**. v.33, n.5, p.698-702, 1999.

MIZUNO, M.; IWAMOTO G. A.; VONGPATANASIN, W.; MITCHELL, J. H.; SMITH S.A. Dynamic exercise training prevents exercise pressor reflex overactivity in spontaneously hypertensive rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. v.309, n.5, p. H762-70, 2015.

MIZUNO, T.; MATSUI, H.; IMAMURA, A.; NUMAGUCHI, Y.; SAKAI, K.; MUROHARA, T. et al. Insulin resistance increases circulating malondialdehy demodified LDL and impairs endothelial function in healthy young men. **Int J Cardiol**, v.97, p.455-61, 2004

MONTEIRO, M. F. M.; FILHO, D. C. S. Exercício físico e o controle da pressão arterial. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v.10, n.6, p.513-516, 2004.

MORAES-SILVA, C.I.; MOSTARDA, C.; MOREIRA, E.D.; SILVA, K.A.S.; SANTOS, F.; DE ANGELIS, K.; FARAH, V.M.A.; IRIGOYEN, M.C. Preventive role of exercise training in autonomic, hemodynamic, and metabolic parameters in rats under high risk of metabolic syndrome development. **J Appl Physiol**, v.114, p.786–791, 2013.

MOSTARDA, C.; MORAES-SILVA, I.C.; SALEMI, V.M.; MACHI, J.F.; RODRIGUES, B.; DE ANGELIS, K.; FARAH, V. de M., IRIGOYEN, M.C. Exercise training prevents diastolic dysfunction induced by metabolic syndrome in rats. **Clinics**, v.67, n.7, p.815-20, 2012.

MOTA, G.R.; ZANESCO, A. Leptina, ghrelina e exercício físico. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.51, n.1, p.25-33, 2007

MOURA, R. F. et al. Capacidade Aeróbia de Ratos Alimentados Com Dieta Rica em Frutose. **Rev Bras Med Esporte**, v. 14, n. 5, 2008.

MUIR, A.; SCHATZ, D. A., *et al.* The pathogenesis, prediction, and prevention of insulin-dependent diabetes mellitus. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v.21, n.2, Jun, p.199-219. 1992.

MURAKAMI, T.; SHIMOMURA, Y.; FUJITSUKA, N, et al. Enlargement of glycogen store in rat liver and muscle by fructose-diet intake and exercise training. **J Appl Physiol** v.82, p.772-775, 1997.

NAKAGAWA, T.; TUTTLE, K.R.; SHORT, R.A.; JOHNSON, R.J. Hypothesis: Fructose induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. **Nat Clin Pract Nephrol**, v.1, p.80–86, 2004.

NCEP- Executive summary of the third report of the national cholesterol education program expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III) **JAMA**, v. 285, p. 2486-2497, 2001.

NEGRÃO, C.E.; MOREIRA, E.D.; BRUM, P.C.; DENADAI, M.L.D.R.; KRIEGER, E.M. Vagal and sympathetic control of heart rate during exercise by sedentary and exercisetraigned rats. **Braz J Med Biol Res**, n.25, p.1045-1052, 1992.

- NEVES, M.F.; CUNHA, A.R.; D'EL-REI, J.P. Pathophysiology of inflammation in obesity and hypertension. **Revista Hipertensão**. v.18; n.1; 2015.
- NIEBAUER, J.; COOKE, J.P. Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress. **J Am Coll Cardiol**, v.28, p. 1652–1660, 1996
- NONOGAKI, K. New insights into sympathetic regulation of glucose and fat metabolism. **Diabetologia**, v.43, n.5, p.533-49. 2000.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, vol. 95, no. 2, pp. 351-358, 1979.
- ORON-HERMAN, M.; KAMARI, Y.; GROSSMAN, E.; YEGER, G.; PELEG E.; SHABTAY .; SHAMISS, A.; SHARABI, Y. Metabolic syndrome: comparison of the two commonly used animal models. **Am J Hypertens**, v.21, n.9, p.1018-22, 2008.
- O'SULLIVAN, S.E.; BELL, C. The effects of exercise and training on human cardiovascular reflex control. **J Auton Nerv Syst**, v. 81, p. 16–24, 2000.
- PEDERSEN, B.K.; SALTIN, B. Evidence for prescribing exercise as therapy in chronic disease. **Scand J Med Sci Sports**, v. 16 (Suppl. 1), p. 3–63, 2006.
- PEDERSEN, BK. IL-6 signalling in exercise and disease. **Biochem Soc Trans**, v.35, n.5, p.1295-7, 2007
- PEREIRA, D.S.; QUEIROZ, B.Z.; MATEO, E.C.; ASSUMPÇÃO, A.M.; FELÍCIO, D.C.; MIRANDA, A.S.; ANJOS, D.M.; JESUS-MORALEIDA, F.; DIAS, R.C.; PEREIRA, D.A.; TEIXEIRA, A.L.; PEREIRA, L.S. Interaction between cytokine gene polymorphisms and the effect of physical exercise on clinical and inflammatory parameters in older women: study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, v.13, n.13, 2012.
- PETERSEN, A. M; E PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. **J Appl Physiol**, v.98, n.4, p.1154-62. 2005.
- PICCO, D.C.R.; COSTA, L.F.; DELBEM, A.C.B.; SASSAKI, K.T.; SUMIDA, D.H.; ANTONIALI, C. Spontaneously hypertensive rat as experimental model of salivary hypofunction. **Arquives of Oral Biology**, v. 57, p.1320-1326, 2012.

- PICK, E.; KEISARI, Y.J. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. **Immunol Methods**, n.38, n.1-2, p.161-70, 1980.
- PLOUG, T.; STALLKNECHT, B.; PEDERSEN, O.; KAHN, B.; OHKUWA, T.; VINTEN J, et al. Effect of endurance training on glucose transport capacity and glucose transporter expression in rat skeletal muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.259, n.6, p.E778-86, 1990.
- POLIDORI, M.C.; MECOCCHI, P.; CHERUBINI, A. Physical activity and oxidative stress during aging. **Int J Sports Med**, v.21,p. 154–157, 2000.
- PORTO, M.L.; LÍRIO, L.M.; DIAS, A.T.; BATISTA, A.T.; CAMPAGNARO, B.P.; MILL, J.G.; MEYRELLES, S.S.; BALDO, M.P. Increased oxidative stress and apoptosis in peripheral blood mononuclear cells of fructose-fed rats. **Toxicol In Vitro**, v.29, n.8, p.1977-81, 2015.
- RADAK, Z.; MARTON, O.; NAGY, E., et al., The complex role of physical exercise and reactive oxygen species on brain. **J. Sport Health Sci.** v. 2, n.2, p.87–93, 2013
- RAHMAN, M.M.; PARK, H.M.; KIM, S.J.; GO, H.K.; KIM, G.B.; HONG, C.U.; LEE, Y.U.; KIM, S.Z.; KIM, J.S.; KANG, H.S. Taurine prevents hypertension and increases exercise capacity in rats with fructose-induced hypertension. **Am J Hypertens**, v.24,n.5, 574-81., 2011.
- REAVEN, G.M.; HO, H.; HOFFMAN, B.B. Attenuation of fructose-induced hypertension. **Hypertension** 12: 129- 132, 1988.
- REAVEN, G.M.; HO, H.; HOFFMAN, B.B. Effects of a fructose-enriched diet on plasma insulin and triglyceride concentration in SHR and WKY rats. **Horm Metab Res.** Jul;22(7):363-5, 1990
- RENDEIRO, C.; MASNIK, A.M.; MUN, J.G.; DU1, K.; CLARK, D.; DILGER, R.N.; ANNA C. DILGER, A.C.; RHODES, J.S. Fructose decreases physical activity and increases body fat without affecting hippocampal neurogenesis and learning relative to an isocaloric glucose diet. **Sci. Rep.** v.5, p.9589, 2015.

RENNA, N.F.; LEMBO, C.; DIEZ, E.; MIATELLO, R.M. Role of renin-angiotensin system and oxidative stress on vascular inflammation in insulin resistance model. **Int J Hypertens**, 2013.

REZNICK A. Z.; PACKER L. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, v. 233, p. 357–363, 1994.

RING-DIMITRIOU, S., PAULWEBER, B., *et al.* The effect of physical activity and physical fitness on plasma adiponectin in adults with predisposition to metabolic syndrome. **Eur J Appl Physiol**, v.98, n.5, Nov, p.472-81. 2006.

RODRIGUES, B.; FIGUEROA, D.M.; MOSTARDA, C.T.; HEEREN, M.V.; IRIGOYEN M.C.; DE ANGELIS K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. **Cardiovascular Diabetology**, v.6, p.38, 2007.

RODRIGUES, B.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K. Correlation between speed and oxygen consumption (VO₂) in rats submitted to maximum exercise test. **FIEP Bulletin**, n.76, p.231-233, 2006.

ROQUE, F.R.; BRIONES, A.M.; GARCIA-REDONDO, A.B.; GALA, N M; MARTÍNEZ-REVELLES, S.; AVENDAN˜O, M.S. *et al.* Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. **Br J Pharmacol**, v.168, p. 686–703, 2013.

ROSS, R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. **Am Heart J**, v.138, n.5 Pt 2, p.S419–S420, 1999.

SALLAM, N.; KHAZAEI, M., *et al.* Effect of moderate-intensity exercise on plasma C-reactive protein and aortic endothelial function in type 2 diabetic mice. **Mediators Inflamm**, v.2010, p.149678.

SANCHES, I.C.; BRITO, J.O.; CANDIDO, G.O.; DIAS, D.S.; JORGE, L.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K. Cardiometabolic benefits of exercise training in an experimental model of metabolic syndrome and menopause. **Menopause**, v. 19, n. 5, p. 562-568, 2012.

SARTORI, M.; FRANCICA, J.V., *et al.* Early Impairment on Heart Rate Variability in Offspring of Diabetic Parents: Role of Physically Active Life. **Circulation**, v.120 p. S411, 2009.

SARTORI-VALINOTTI, J.C.; ILIESCU, R.; YANES, L.L.; DORSETT-MARTIN, W.; RECKELHOFF, J.F. Sex differences in the pressor response to angiotensin II when the endogenous renin-angiotensin system is blocked. **Hypertension**, v.51, n.4, p.1170-1176, 2008.

SAYE, J. A.; RAGSDALE, N. V., *et al.* Localization of angiotensin peptide-forming enzymes of 3T3-F442A adipocytes. **Am J Physiol**, v.264, n.6, p.C1570-6. 1993.

SCHULMAN, I. H.; ZHOU, M. S., *et al.* Interaction between nitric oxide and angiotensin II in the endothelium: role in atherosclerosis and hypertension. **J Hypertens Suppl**, v.24, n.1, Mar, p.S45-50. 2006.

SENADOR, D.; KANAKAMEDALA, K., *et al.* Cardiovascular and autonomic phenotype of db/db diabetic mice. **Exp Physiol**, v.94, n.6, Jun, p.648-58. 2009.

SERNE, E.H.; DE JONGH, R.T.; ERINGA, E.C.; IJZERMAN, R.G.; STEHOUWER, C.D. Microvascular dysfunction: a potential pathophysiological role in the metabolic syndrome. **Hypertension**, v.50, p. 204-211, 2007.

SHI X.; POTTS J. T.; RAVEN P. B.; FORESMAN B. H. Aortic-cardiac reflex during dynamic exercise. **J Appl Physiol**, v.78, n.4, p.1569-74, 1995.

SHIMAMOTO KAZUAKI & URA NOBUYUKI. Mechanisms of Insulin Resistance in Hypertensive Rats, **Clinical and Experimental Hypertension**, 28:6, 543-552, 2006.

SILVA, G. J. J.; BRUM, P. C.; NEGRÃO, C. E.; KRIEGER, E. M. Acute and chronic effect of exercise or baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 30, p. 714-719, 1997.

SILVEIRA, M.R.; FROLLINI, A.B.; VERLENGIA, R.; CAVAGLIERI, C.R. Correlação entre obesidade, adipocinas e sistema imunológico. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum**, v.11, n.4, p.466-472, 2009.

SIMONET, S.; ISABELLE, M.; BOUSQUENAUD, M.; CLAVREUL, N.; FÉLÉTOU, M.; VAYSSETTES-COURCHAY, C.; VERBEUREN, T. J. KCa_{3.1} channels maintain endothelium-dependent vasodilatation in isolated perfused kidneys of spontaneously hypertensive rats after chronic inhibition of NOS. **British Journal of Pharmacology**. v.167 p.854-867, 2012.

SIMONET, S.; BOUSQUENAUD, M.; ISABELLE, M.; VAYSSETTES-COURCHAY, C.; FÉLÉTOU, M.; VERBEUREN, T.J. Endothelial dysfunction in isolated perfused kidneys of L-NAME-treated spontaneous hypertensive rats. **Arch Cardiovasc Dis**, V.102. p. S31-S32, 2009.

SONG, Y.J.; SAWAMURA, M.; IKEDA, K.; IGAWA, S.; NARA Y.; YAMORI Y. Training in swimming reduces blood pressure and increases muscle glucose transport activity as well as GLUT4 contents in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Appl Human Sci**.v.17,n. 6, p. 275-80,1998.

SONNENSCHN, K.; HORVÁTH, T.; MUELLER, M.; MARKOWSKI, A.; SIEGMUND, T.; JACOB, C. et al. Exercise training improves in vivo endothelial repair capacity of early endothelial progenitor cells in subjects with metabolic syndrome. **Eur J Cardiovascular Prevention Rehab**, v.18, p. 406–414, 2011.

SUETA, D.; KOIBUCHI, N.; HASEGAWA, Y.; TOYAMA, K.; UEKAWA, K.; KATAYAMA, T.; MA, M.; NAKAGAWA, T.; WAKI, H.; MAEDA, M.; OGAWA, H.; KIM-MITSUYAMA S. Blood pressure variability, impaired autonomic function and vascular senescence in aged spontaneously hypertensive rats are ameliorated by angiotensin blockade. **Atherosclerosis**.v. 236, n. 1, p.101-7, 2014.

SUPLICY, H. L. Obesidade visceral, resistência à insulina e hipertensão arterial. *Revista Brasileira de Hipertensão* , v. 7, n.2, p. 136-139, 2000

SUZUKI, M.; NOMURA, C; ODAKA, H; IKEDA, H. Effect of an insulin sensitizer, pioglitazone, on hypertension in fructose-drinking rats. **Jpn J Pharmacol**, v. 74, n. 4, p. 297-302, 1997.

TAKAHASHI, R.N. Animais espontaneamente hipertensos (ratos SHR) como modelo experimental de TDAH. **Anais da 58ª Reunião Anual da SBPC**, Florianópolis, 2006.

TALEB-DIDA, N.; KROUF, D.; BOUCHENAK, M. Globularia alypum aqueous extract decreases hypertriglyceridemia and ameliorates oxidative status of the muscle, kidney, and heart in rats fed a high-fructose diet. **Nutr Res**, v.31, n.6, p.488-95, 2011.

TAPSELL, L.C.; GILLEN, L.J.; PATCH, C.S.; BATTERHAM, M.; OWEN, A.; BARE', M. et al. Including walnuts in a low-fat/modified-fat diet improves HDL cholesterol-to-total cholesterol ratios in patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v.27, p.2777-83, 2004.

TAPPY, L.; LE, KA.; TRAN, C.; PAQUOT, N. Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. **Nutrition**, v. 2611, n.12, p.1044-1049, 2010.

TAYLOR P.D.; MCCARTHY A.L.; THOMAS C.R.; POSTON L. Endothelium-dependent relaxation and noradrenaline sensitivity in mesenteric resistance arteries of streptozotocin-induced diabetic rats. **Br J Pharmacol**, v. 107, p.393-399, 1992.

TEFF, K. L.; ELLIOTT, S. S.; TSCHOP, M.; KIEFFER, T. J.; RADER, D.; HEIMAN, M.; TOWNSEND, R. R.; KEIM, N. L.; D'ALESSIO, D.; HAVEL, P. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. **J Clin Endocrinol Metab**, n. 89, p. 2963-2972, 2004.

TEIXEIRA, P.J.; GOING, S.B.; HOUTKOOPE, L.B.; METCALFE, L.L.; BLEW, R.M.; FLINT-WAGNER, H.G.; CUSSLER, E.C.; SARDINHA, L.B.; LOHMAN, T.G. Resistance training in postmenopausal women with and without hormone therapy. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.4, n.35, p.555-562, 2003.

THE WORLD HEALTH REPORT. REDUCING RISKS, PROMOTING HEALTHY LIFE. **World Health Organization**, 2002.

THIRUNAVUKKARASU, V.; BALAKRISHNAN, S.D.; RAVICHANDRAN, M.K; ANURADHA,C.V. Influence of 6-week exercise training on erythrocyte and liver antioxidant defense in hyperinsulinemic rats. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol**, v.135, n.1, p.31-7, 2003.

TRACEY, K.J. The inflammatory reflex. **Nature**, v.420, p.853-859, 2002.

TRIPPODO, N.C; FROHLICH, E.D. Similarities of Genetic (Spontaneous) **Hypertension Circ Res** 48: 309-19, 1981.

TUOMILEHTO, J.; LINDSTROM, J., *et al.* Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. **N Engl J Med**, v.344, n.18, p.1343-50. 2001.

VAN GAAL, L. F.; MERTENS, I. L.; DE BLOCK, D. E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 875-880, 2006.

VAZIRI, N.D.; RODRÍGUEZ-ITURBE, B. Mechanisms of disease: oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of hypertension. **Nat Clin Pract Nephrol**, v.2, n.10,p.582-93, 2006.

VINIK, A. I.; MASER, R. E.; MITCHELL, B. D.; FREEMAN, R. Diabetic autonomic neuropathy. **Diabetes Care**, v.26, n.5, p.1553-79, 2003.

WALLACE, T.M.; LEVY, J.C., *et al.* Use and Abuse of HOMA Modeling. **Diabetes Care**, v.27, n.6, p.1487-95. 2004.

WEKSTEIN, DR. Heart rate of the preweanling rat and its autonomic control.1965

WHELTON, S. P.; CHIN, A.; XIN, X.; HE, J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: A meta-analysis of randomized, controlled trials. **Annals of Internal Medicine**, v.136, n.7, p.493-503, 2002.

WICHI R.B.; SOUZA S.B.; CASARINI D.E.; MORRIS M.; BARRETO-CHAVES M.L., IRIGOYEN M.C. Increased blood pressure in the offspring of diabetic mothers. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. v.288, n. 5, p.R1129-33, 2005.

WIERNSPERGER, N.F. In defense of microvascular constriction in diabetes. **Clin Hemorheol Microcirc**. 25: 55, 2001.

WILCOX, C.S. Oxidative stress and nitric oxide deficiency in the kidney: a critical link to hypertension? **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.289, n.4, p. R913-35, 2005.

WOLF, A.M.; WOLF, D.; RUMPOLD, H.; ENRICH, B.; TILG, H. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 323, n.2, p.630-5, 2004.

XU, L.; BADR, M. Z. Enhanced potential for oxidative stress in hyperinsulinemic rats imbalance between hepatic peroxisomal hydrogen peroxide production and decomposition due to hyperinsulinemia. **Horm Metab Res**, v.31, p.278-82, 1999.

YAMAGUCHI, Y.; YOSHIKAWA, N.; KAGOTA, S.; NAKAMURA, K.; HAGINAKA, J.; KUNITOMO, M. Elevated circulating levels of markers of oxidative-nitrative stress and inflammation in a genetic rat model of metabolic syndrome. **Nitric Oxide**, v.15, n.4, p.380-6, 2006.

ZANCHETTI, A. & MANCIA, G. Cardiovascular reflexes and hypertension. **Hypertension**, n.18, p.III13-III21, 1991.

Anexos

8. ANEXOS

8.1. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

APROVAÇÃO

O Coordenador da CEUA do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em 29.03.2012, após atendimento a diligência encaminhada **APROVOU *ad-referendum*** o Protocolo de Pesquisa nº 035/12 intitulado: "Mecanismos associados ao desenvolvimento das complicações cardiometabólicas em SHR submetidos à sobrecarga de frutose: papel do treinamento físico aeróbio." que utilizará 96 Ratos Wistar e Ratos espontaneamente hipertensos (SHR), apresentado pelo Programa de Fisiopatologia Experimental.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, o relatório final sobre a pesquisa, (Lei Procedimentos para o Uso Científico de Animais - Lei No 11.794-8 de outubro de 2008).

Pesquisador (a) Responsável: Kátia de Angelis

Pesquisador (a) Executante: Nathalia Bernardes

CEP-FMUSP, 29 de março de 2012.

Dr. Eduardo Pompeu
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais

Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa