

**Instituto Presbiteriano Mackenzie
Fundo Mackenzie de Pesquisa
MACKPESQUISA**

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO NOS AJUSTES
CARDIOVASCULARES EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE
SÍNDROME METABÓLICA: PAPEL DO SISTEMA RENINA-
ANGIOTENSINA**

**Proponente: Profa. Dra. Vera de Moura Azevedo Farah
CCBS - Curso de Farmácia**

**Pesquisadores/Colaboradores: Profa. Dra. Patrícia Fiorino
CCBS - Curso de Ciências Biológicas**

Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles

**Profa. Fernanda Barrinha Fernandes
CCBS - Curso de Farmácia**

São Paulo 15 de Setembro de 2013

Introdução

As doenças cardiovasculares correspondem a quase 30% da mortalidade mundial e estima-se que em 2030 cerca de 17 milhões de pessoas morrerão por doenças cardiovasculares, sendo que dentro destas, 7 milhões correspondem a doenças cardíacas cujos principais fatores de risco são a obesidade, a hipertensão arterial, sedentarismo e diabetes mellitus (WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO, 2005; LOPES et al., 2001). Além disso, disfunções metabólicas como resistência à insulina e hiperinsulinemia presentes no diabetes mellitus tipo 2 quando associadas em um mesmo indivíduo com dislipidemia, obesidade e hipertensão arterial sistêmica constituem a chamada Síndrome Metabólica (SM) e aumenta significativamente o risco para diversas doenças cardiovasculares (ECKEL et al., 2005). De fato, a associação de diferentes fatores de risco cardiovascular em um mesmo indivíduo, tem grande importância do ponto de vista epidemiológico, pois aumenta o risco de mortalidade cardiovascular em cerca de 2,5 vezes (SOC. BRAS. DE HIPERTENSÃO, SOC. BRAS. DE CARDIOLOGIA, SOC. BRAS. DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA et al., 2005).

A SM é considerada como uma doença da civilização moderna estando intimamente relacionada à alimentação inadequada e ao sedentarismo (MISRA et al., 2010). O aumento da incidência da SM devido a uma maior prevalência da relação sobrepeso/obesidade tem sido observado na população geral em todo o mundo (FORD et al., 2002). O alto índice de mortalidade cardiovascular associada com esta doença e o aumento da prevalência dela no mundo industrializado tem despertado grande interesse na investigação assim como no manejo e na prevenção da SM em todo o mundo (ISOMAA et al., 2001).

Quadro semelhante à SM, com características semelhantes às encontradas em humanos, pode ser induzido experimentalmente através de alterações na dieta. Por exemplo, camundongos C57BL/6J quando alimentados com dieta hipercalórica desenvolvem um modelo de diabetes tipo 2 com a presença de obesidade, hiperinsulinemia, aumento da resistência à insulina e intolerância à glicose (SURWIT et al., 1988). A administração de uma dieta rica em frutose, um açúcar presente nos produtos industrializados a fim de adoçar os alimentos, inicia uma série de eventos

metabólicos resultando em hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, hipertensão, resistência à insulina e intolerância à glicose (NAKAGAWA et al., 2006, FARAH et al., 2006; SUZUKI et al., 1997, HALLFRISCH, 1990). A adição de frutose na água de beber na concentração de 10 a 20% também pode induzir alterações metabólicas e fisiológicas semelhantes às encontradas na SM (DAI e MCNEILL, 1995). A inibição da enzima fosfofrutoquinase, responsável pela conversão da frutose-6 fosfato em frutose-1,6-difosfato, é o principal fator responsável pela fisiopatologia dos distúrbios metabólicos oriundos de uma dieta rica em frutose (VASDEV et al., 2004).

De fato, resultados preliminares do nosso laboratório com financiamento externo (FAPESP, no. 09/52556-7) e do Mackpesquisa (Projeto aprovado em 2009), mostraram que o tratamento crônico durante 8 semanas com frutose em animais recém-desmamados levou a importantes alterações cardiovasculares e metabólicas comprovando a idéia de que o consumo de frutose determina um quadro clínico semelhante ao observado na SM. Dessa forma, a dieta associada ao tempo de administração determinou intolerância a glicose, como apresentado na I Mostra de TGI do Curso de Nutrição da UPM da aluna Renata Basaglia Navarro do curso de Nutrição da UPM (NAVARRO, 2010), aumento em 23% a massa adiposa epididimal e a aumento significativo na área e no diâmetro dos adipócitos do tecido epididimal, resultados apresentados pela aluna Elizandra de Sousa da Silva, bolsista PIBIC/Mackpesquisa durante a FESBE 2010 (SILVA et al. 2010). Quanto às alterações cardiovasculares, observamos aumento da pressão arterial e de sua variabilidade, sugerindo aumento da modulação simpática nos animais tratados com frutose, resultados que foram apresentados durante a reunião anual da FESBE 2010 pelo aluno Fernando Santos do curso de Ciências Biológicas da UPM e bolsista PIBIC/Mackpesquisa e durante a FASEB 2010 (SANTOS et al. 2010). Além disso, o trabalho do aluno do curso de Ciências Biológicas da UPM e bolsista PIBIC/Mackpesquisa, Romário Pacheco Andrade, foi apresentado na oralmente no XIX Congresso da Sociedade Brasileira de Hipertensão mostrando que a frutose embora não altere a FC de repouso dos animais, aumenta o tônus simpático cardíaco ao mesmo tempo em que diminui a frequência cardíaca de marca-passo (ANDRADE et al., 2011).

O alto índice de mortalidade cardiovascular associado com a incidência de quadros clínicos da SM bem como o aumento de sua prevalência no mundo industrializado tem justificando as mais diferentes abordagens de investigação visando

não só melhorar o manejo da doença bem como estabelecer estratégias de prevenção da mesma em todo o mundo. Estudos de índices da variabilidade da frequência cardíaca fornecem importantes informações no estudo da modulação autonômica do coração. Estudos populacionais demonstraram que a diminuição da variabilidade da frequência cardíaca é um forte indício de mortalidade entre adultos saudáveis (STEIN e KLEIGER, 1999). Avanços recentes no estudo da modulação autonômica da função cardiovascular têm utilizado a análise espectral como uma importante ferramenta a fim de avaliar com melhor precisão a participação do simpático e parassimpático no controle cardiovascular em situações fisiológicas ou patológicas. A análise espectral permite estudar a pressão arterial (PA) e a frequência cardíaca (FC), avaliadas tanto no domínio do tempo como no domínio da frequência (EWING et al., 1985; FAZAN et al., 1997; FARAH et al., 2004; MORRIS et al., 2007).

O uso da análise espectral tem demonstrado diminuição da variabilidade da FC em diferentes situações de risco cardiovascular, como na hipertensão (BALBINOTT et al., 2005) e no diabetes mellitus (SCHAAN et al., 2004; DE ANGELIS et al., 2009). Além disso, estudos clínicos observaram que o aumento da variabilidade da PA está associado a morbi-mortalidade cardiovascular (KIKUYA et al., 2000) e maior risco para lesão de órgãos alvos (FRATTOLA et al., 1993; PARATI et al., 1987). Experimentalmente foi demonstrado em animais submetidos ao consumo crônico de frutose alterações autonômicas além do aumento da pressão arterial como por exemplo aumento da variabilidade da PA associado ao aumento do componente de baixa frequência, sugerindo aumento na modulação simpática para a circulação (FARAH et al., 2007), diminuição da sensibilidade do reflexo pressorreceptor e da atividade vagal (BRITO et al., 2008), alteração na concentração de catecolaminas e expressão de receptores adrenérgicos (MILLER et al., 1999; KAMIDE et al., 2002).

Além do controle autonômico e reflexo da PA, o sistema hormonal tem importante função no controle cardiovascular. Alguns sistemas regulatórios são importantes para a manutenção da PA sistêmica em curto e médio prazo como o sistema renina angiotensina (SRA) (BRAND et al., 1988). O SRA corresponde a um complexo sistema hormonal, cujo papel fundamental está relacionado com o controle da pressão arterial e homeostasia hidroeletrólítica do organismo. Classicamente, o SRA é entendido como um sistema endócrino cuja substância ativa, angiotensina II (Ang II), é a responsável pela maioria dos efeitos fisiológicos observados (MENARD, 1993). O SRA é uma cascata coordenada de proteínas e hormônios peptídicos que desempenha papel

fundamental na regulação da pressão arterial e no balanço de fluidos e eletrólitos em mamíferos (INAGAMI et al., 1994). Com a utilização de métodos bioquímicos aliados a técnicas modernas de biologia molecular, tem sido possível comprovar a presença dos componentes individuais (angiotensinogênio, renina, ECA e receptores de Ang II) em diversos órgãos como glândulas adrenais, rins, coração, vasos e cérebro. (GRIENGLING et al., 1993). Assim sendo, a atividade do sistema renina- angiotensina foi investigada em animais submetidos ao consumo crônico de frutose pelo aluno de Mestrado do curso de Medicina Translacional do Departamento de Medicina da UNIFESP, Rodrigo Yokota (bacharel em Ciências Biológicas da UPM), e os resultados parciais foram apresentados no American Heart Association's Council for High Blood Pressure Research Scientific Sessions e na sua dissertação de mestrado (YOKOTA et al. 2011).

Na maioria das vezes, o termo resistência à insulina é tido como referência a um efeito inadequado da insulina na homeostase da glicose. No entanto, a insulina apresenta uma ação modulando diversas funções metabólicas, como por exemplo, o metabolismo de proteínas e lipídeos, transporte de íons e aminoácidos e diferenciação celular (PESSIN e SALTIEL, 2000; SALTIEL e KAHN, 2001). Assim, quando considerarmos situações de resistência à insulina, não devemos levar em conta somente o metabolismo de glicose, mas sim, toda gama de ações metabólicas (WANG et al, 2004). Além disso, a interação entre a insulina com outros hormônios, tais como a Ang II, mostra que sua ação pode ser modulada por outros hormônios e sugere uma estreita relação entre o metabolismo de glicose e o sistema renina-angiotensina (VAN GAAL, 2006). Por exemplo, em pacientes diabéticos foi demonstrado ativação do SRA e concomitantemente a um aumento do estresse oxidativo, inflamação e aumento dos níveis de ácidos graxos livres, contribuindo diretamente para a disfunção das células β pancreáticas (TIKELLIS et al., 2006). Além disso, durante a fase inicial do diabetes em humanos, a atividade da renina está aumentada (BELL et al., 1989; NASURE et al., 1995). No entanto, a circulação de renina diminui progressivamente com o desenvolvimento do diabetes (PAULSEN et al., 1989). Estudos experimentais também mostraram a estreita relação que existe entre SRA e o diabetes. O uso de bloqueadores do SRA em animais diabéticos melhorou a estrutura e a função das ilhotas pancreáticas reduzindo significativamente as complicações associadas ao quadro diabético (AROZAL et al., 2009, LEUNG 2006, 2007, OLTMAN et al. 2010). Assim sendo, o

uso de bloqueadores do SRA, seja da enzima de conversão (PERKINS et., 2009) ou do receptor AT1 (DALLA VESTRA et al., 2009) tem sido fortemente recomendados como estratégias terapêuticas a fim de minimizar as complicações clínicas oriundas do diabetes em seus principais órgãos alvo, tais como vasos, olhos, rins e coração.

A prática regular de exercício físico determina adaptações metabólicas, endócrinas e cardiovasculares crônicas distintas daquelas observadas durante uma única sessão de exercício. De fato, está bem estabelecido que o treinamento físico pode provocar alterações cardiovasculares e autonômicas importantes tais como bradicardia de repouso (NEGRÃO et al., 1992; DE ANGELIS et al., 1997, 1999; KATONA et al., 1982; FRICK, 1967), redução da PA em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) (SILVA et al., 1997; BERTAGNOLLI et al., 2006) e melhora da sensibilidade dos pressorreceptores em sujeitos normotensos (MC DONALD et al., 1993; BARNEY et al., 1988; NEGRÃO et al., 1992; BEDFORD e TIPTON, 1987) e em ratos SHR e diabéticos (SILVA et al., 1997; BERTAGNOLLI et al., 2006; HARTHMANN et al., 2007). Além disso, sabe-se que a prática regular de exercício físico melhora o perfil lipídico (DURSTINE e HASKELL, 1994), a sensibilidade à insulina, restaura a intolerância à glicose próxima aos padrões normais e aprimora a captação de glicose muscular (HOLLOSZY et al., 1986; MORGADO e SCHNEIDER, 1991). Assim sendo, o treinamento físico tem sido indicado e utilizado como forma de tratamento não farmacológico em pacientes hipertensos e/ou diabéticos.

O período do desmame dos ratos é caracterizado por altas taxas de crescimento e desenvolvimento e pode ser um período sensível, durante o qual a dieta pode influenciar no aumento do risco de doenças cardiovasculares e diabetes na maioridade. Acredita-se que alterações no balanço entre necessidades energéticas e ingestão alimentar durante a infância e a adolescência possam ter importante impacto no desenvolvimento de problemas de saúde, como a obesidade e o desenvolvimento de resistência à insulina, não apenas a curto prazo, mas com importante reflexo a longo prazo como a persistência da obesidade até a fase adulta, com conseqüente aumento nas taxas de morte decorrentes de cardiopatias, insuficiência renal, hipertensão e diabetes (KRIKKEN et al., 2009).

Justificativa e Relevância

A relevância do projeto se deve ao fato do grande aumento na incidência de SM observada no mundo moderno associada com o aumento dos índices de obesidade, do sedentarismo e da má alimentação determinando um aumento do risco para doenças cardiovasculares e conseqüentemente perda da qualidade de vida. Neste contexto, resultados preliminares obtidos em nosso laboratório têm mostrado importantes associações entre o consumo excessivo de frutose desde o início do ciclo vital, 21 dias de idade, nas distúrbios metabólicos e cardiovasculares associados ao SRA na fase adulta.

Objetivo Geral

Avaliar a participação do sistema renina angiotensina nos ajustes cardiovasculares e metabólicos em animais submetidos ao treinamento físico e induzidos à síndrome metabólica pelo consumo crônico de frutose, fornecida desde o início do ciclo vital (21 dias de idade), período caracterizado por altas taxas de crescimento e desenvolvimento, e durante 8 semanas, ou seja até a fase adulta.

Objetivos Específicos

Os **objetivos específicos** do presente estudo incluem as avaliações de:

1. Peso corporal
2. Consumo de água e ração
3. Perfil lipídico
4. Tolerância a glicose e resistência a insulina
5. Pressão arterial e frequência cardíaca
6. Modulação autonômica cardiovascular
7. Sensibilidade do reflexo pressorreceptor
8. Componentes do sistema renina-angiotensina

Métodos

Foram utilizados ratos Wistar machos neonatos tratados logo após o desmame (21 dias de idade), durante 8 semanas e pesando inicialmente entre 50 - 60g. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada (22° e 25°), ciclo claro-escuro

(12 horas) e com livre acesso à água e alimentação no Biotério da Universidade Presbiteriana Mackenzie.

Os procedimentos experimentais adotados para o estudo obedeceram às normas estabelecidas pela comissão de Pesquisa e Ética da Universidade Presbiteriana Mackenzie (Processo número CEAU-UPM 087/02/2012).

O quadro de resistência à insulina foi induzido com a sobrecarga de frutose na água de beber (D-frutose, 100g/L) (MORRIS et al., 2007). O tratamento começou no 21º dia após o nascimento e foi mantido durante 8 semanas.

Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais com 8 animais em cada grupo experimental:

- Água Sedentário (AS, n=8): alimentados com ração industrial padrão (Nuvilab) para ratos e água por um período de 8 semanas a partir do desmame.
- Água Treinado (AT, n=8): alimentados com ração industrial padrão (Nuvilab) para ratos submetidos ao treinamento físico a partir do desmame e por um período de 8 semanas em esteira ergométrica rolante.
- Frutose Sedentário (FS, n=8): alimentados com ração industrial padrão (Nuvilab) para ratos e tratados com água acrescida de frutose (10%), por um período de 8 semanas a partir do desmame.
- Frutose Treinado (FT, n=8): alimentados com ração industrial padrão (Nuvilab) para ratos e água contendo frutose (10%) e submetidos ao treinamento físico a partir do desmame e por um período de 8 semanas em esteira ergométrica rolante por um período de 8 semanas a partir do desmame.

Treinamento Físico

O treinamento físico foi realizado em esteira ergométrica rolante com intensidade (60 % da velocidade máxima alcançada no teste de esforço) controlada e com ajustes progressivos durante 8 semanas conforme descrito resumidamente no quadro abaixo (De ANGELIS et al. 1997 e IRIGOYEN et al. 2005).

Quadro 1: Protocolo de treinamento físico para ratos

Semana	Duração (min)	Velocidade (Km/h)
1 ^a	15 – 23	0,3 – 0,6
2 ^a	23 – 50	0,3 – 0,8
3 ^a	47 – 55	0,3 – 0,8
4 ^a	55 – 60	0,3 – 0,8
5 ^a	60	0,3 - 1,0
6 ^a	60	0,3 - 1,0
7 ^a	60	0,3 - 1,0
8 ^a	60	0,3 - 1,0

Eutanásia

Os animais foram eutanasiados com decapitação em guilhotina a fim de retirar os tecidos para análise dos componentes do sistema renina-angitensina. O motivo pelo uso desse método é pela necessidade da coleta dos tecidos não sofrerem a interferência de anestésico uma vez que essas substâncias alteram as dosagens dos componentes do sistema renina-angiotensina.

Análise estatística

Os resultados serão apresentados como média \pm EPM. A análise estatística foi feita utilizando o software STATISTIC 6.0. Os resultados foram analisados por ANOVA de 2 caminhos, seguido do *post hoc* de Student Newmann Keuls. Consideramos significativamente diferente somente quando $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

Peso corporal

O peso corporal dos animais foi avaliado semanalmente a partir do início do estudo até o último dia do protocolo (8 semanas), utilizando balança semi-analítica comercial para pequenos animais (KN WAAGEN, modelo KN100, DIGIMED, Brasil).

Ao longo das 8 semanas de tratamento, não houve diferença na evolução do ganho de peso entre os grupos avaliados (Figura 1). Estes dados estão de acordo com outros estudos que mostram que a administração de frutose não altera o ganho de peso dos animais assim como o treinamento físico. Joyeux-Faure *et al* (2006); KOTCHEN *et al.*, 1997; BEZERRA *et al.*, 2001; CATENA *et al.*, 2003.

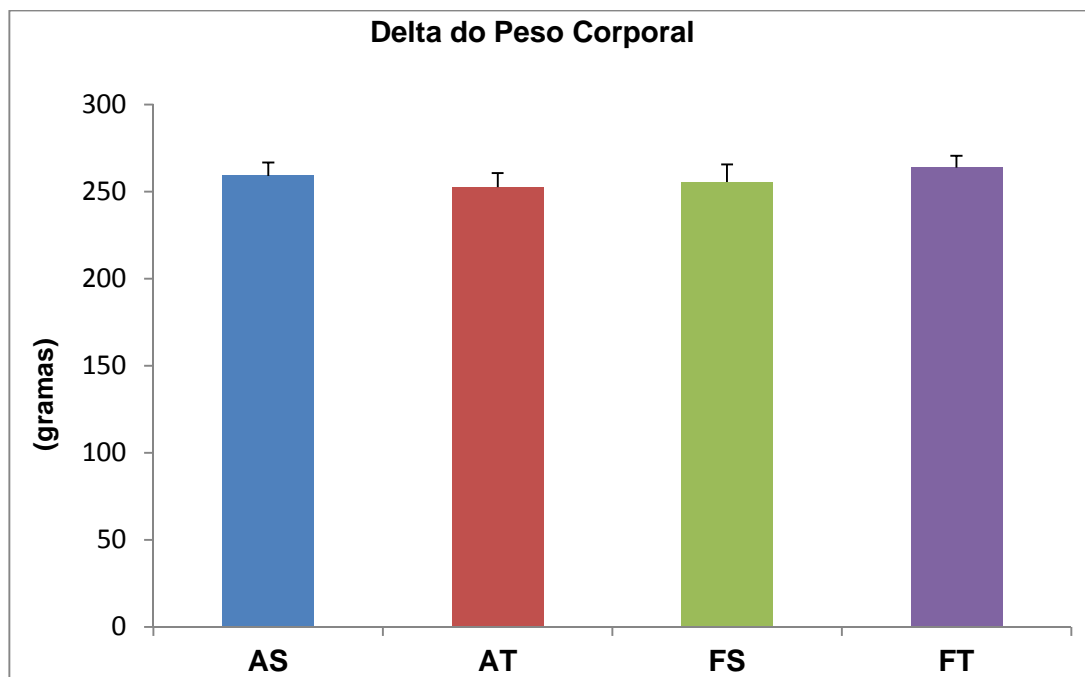


Figura 1: Delta de ganho de peso corporal (final-inicial) dos grupos água sedentário (AS), água treinado (AT), frutose sedentário (FS) e frutose treinado (FT).

Consumo de água e de ração

O consumo de água e ração dos animais foi analisado semanalmente por meio da medida do consumo semanal por rato. Quando analisamos o consumo semanal de água e ração, respectivamente, houve uma diminuição significativa do consumo semanal de ração e um aumento no consumo semanal de água (Figura 2) nos grupos

submetidos à sobrecarga de frutose em relação aos grupos tratados com água ao final do protocolo (8ª semana).

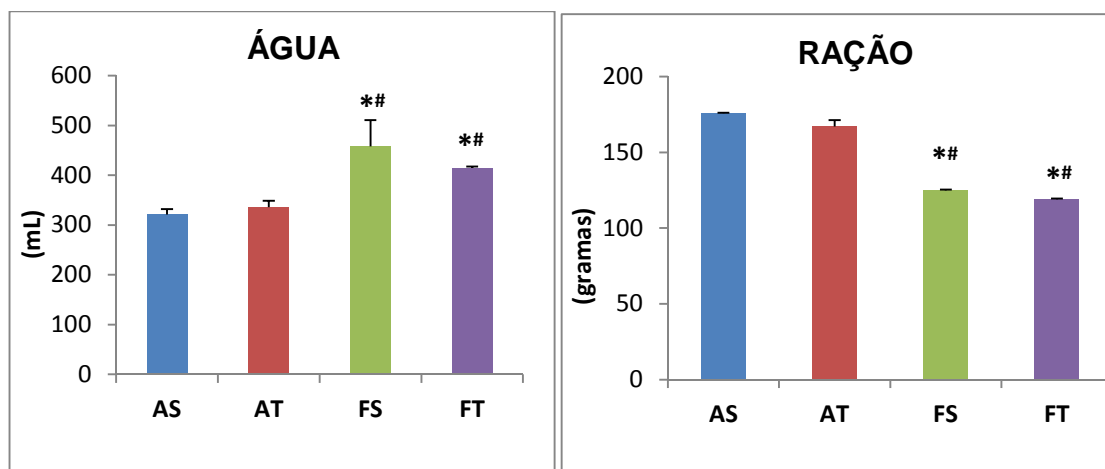


Figura 2: Consumo semanal de água e ração por rato na oitava semana do protocolo dos grupos água sedentário (AS), água treinado (AT), frutose sedentário (FS) e frutose treinado (FT). * $p < 0,05$ vs. AS ; # $p < 0,05$ vs. AT.

É importante destacar que embora o consumo de ração e de água sejam diferentes entre os grupos frutose e água, a ingestão calórica total foi semelhante entre todos os grupos estudados, independente do tratamento com frutose (~80 kcal/dia/rato, considerando que cada grama de frutose fornece 4kcal e cada grama de ração fornece 2,89 kcal).

Teste de Esforço

Antes de iniciar o protocolo treinamento todos os animais foram adaptados na esteira por 4 dias durante 10 minutos na velocidade de 0,3 km/h e então foi feito o teste de esforço inicial. Esta adaptação foi realizada antes de todos os testes de esforço. Após a realização do teste de esforço os grupos sedentários foram colocados algumas vezes por semana na esteira para simular o ambiente do grupo treinado, porém a esteira permanecerá 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. O teste de esforço foi realizado no início, no meio e no fim do protocolo.

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.

Não houve diferença entre os grupos no início do protocolo, mas foi possível observar aumento da velocidade máxima atingida no teste de esforço ao final do protocolo nos grupos AT, FS e FT em comparação ao grupo AS. Adicionalmente, os grupos treinados obtiveram melhor desempenho no teste de esforço em relação ao grupo FS no final do protocolo (Figura 3).

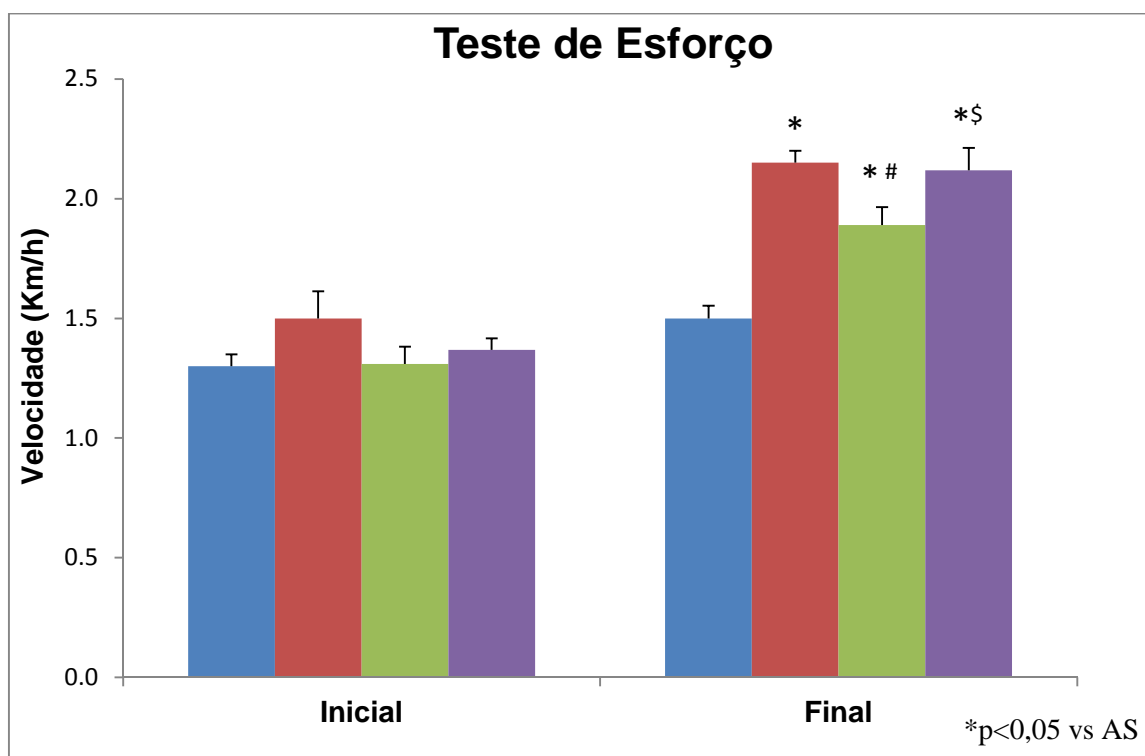


Figura 3: Velocidade atingida no teste de esforço máximo dos grupos água sedentário (AS), água treinado (AT), frutose sedentário (FS) e frutose treinado (FT). * $p < 0,05$ vs. AS; # $p < 0,05$ vs. AT; \$ $p < 0,05$ vs. FS.

Neste aspecto, vale salientar que o teste de esforço (TE) é um dos exames não invasivos mais usados para avaliar pacientes com doença cardiovascular com a finalidade de avaliar a resposta clínica, hemodinâmica, eletrocardiográfica e metabólica ao esforço.

Na literatura a melhora da capacidade física tem sido considerada um marcador da eficiência do protocolo de treinamento físico, sendo um achado comum pós treinamento em ratos controles, diabéticos, velhos, infartados e hipertensos (DE ANGELIS et al., 1997; DE ANGELIS et al., 1999; DE ANGELIS et al., 2000; MUSCH, et al., 1989), bem como em humanos saudáveis (BLAIR et al., 1989).

Interessantemente, observamos maior velocidade atingida no TE no grupo FS em relação ao grupo AS. Tal achado poderia estar ligado à ativação simpática induzida pelo consumo crônico de frutose, conforme observado no presente estudo. Todavia, vale destacar que estudo anterior de Farah et al, 2006 não evidenciou alteração na atividade motora realizada na caixa em camundongos adultos submetidos a sobrecarga de frutose. Dessa forma, estudos futuros deverão ser conduzidos para elucidar os eventuais mecanismos envolvidos nesta adaptação induzida pelo consumo de frutose nesta fase de vida dos animais.

Determinação da Glicemia Plasmática e Teste de Tolerância à Glicose

A glicemia foi determinada na oitava semana do protocolo. Foi realizado um pequeno corte na ponta da cauda do animal após jejum de 12 horas de ração e frutose. Foi colocado água potável para os animais durante o período de jejum.

No final da oitava semana, as concentrações de glicose sanguíneas foram determinadas utilizando o teste de tolerância à glicose – GTT pelo método de química seca (Accu-Check Advantage Blood Glucose Monitor, Roche Diagnostic Corporation, Indianapolis, IN). Após a realização deste procedimento, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de glicose (1,5g/Kg) e amostras de sangue serão coletadas nos tempos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos após injeção de glicose.

Para o teste de tolerância à glicose foram observados decaimento da curva glicêmica (Figura 4) e área sobre a curva (Figura 5) semelhante entre os grupos estudados, não sendo evidenciado, portanto, diferença significativa entre os grupos para

o teste de tolerância à glicose. Adicionalmente, por esta análise pode-se observar glicemia basal semelhante entre os grupos avaliados.

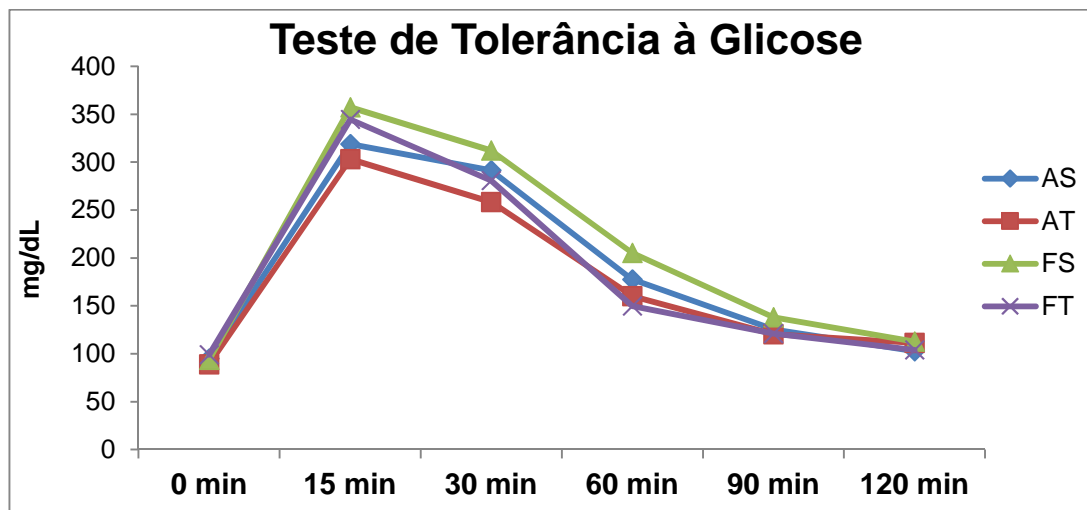


Figura 4: Glicemia nos intervalos de tempo durante o teste de tolerância à glicose (GTT) nos grupos água sedentário (AS), água treinado (AT), frutose sedentário (FS) e frutose treinado (FT).

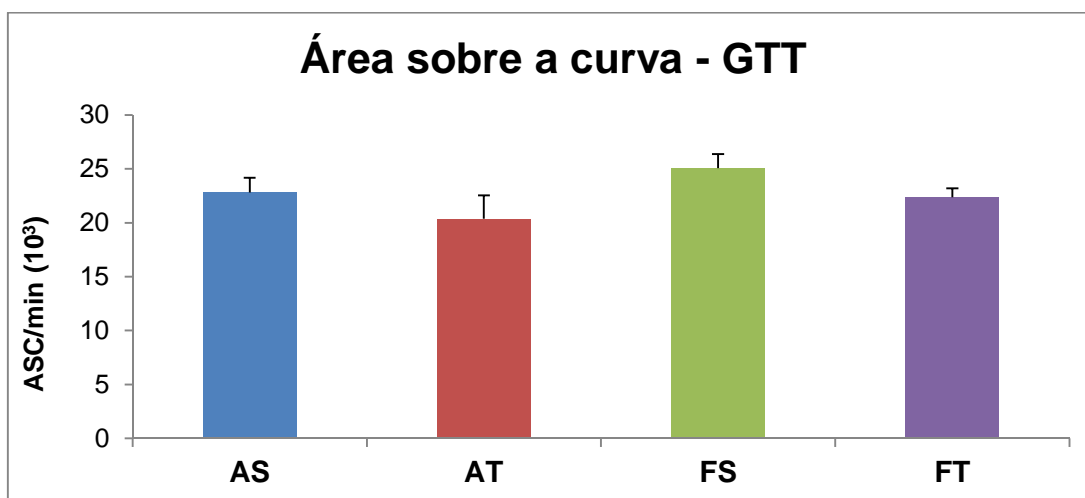


Figura 5: Área sob a curva do teste de tolerância à glicose nos grupos água sedentário (AS), água treinado (AT), frutose sedentário (FS) e frutose treinado (FT).

Apesar do teste de tolerância à glicose não evidenciar diferença significativa entre grupos estudados, nota-se na curva glicêmica no teste de GTT valores absolutos maiores (sem diferença estatística) do grupo FS do que todos os demais grupos estudados. É possível que o tempo de tratamento ou mesmo o fato de termos utilizado animais recém-desmamados possam explicar o fato de não termos observados alterações na tolerância à glicose após o tratamento com frutose.

Teste de resistência à insulina

Na sétima semana do protocolo experimental, após um período de jejum de 4 horas, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (40mg/Kg) e colocados em decúbito dorsal em cama aquecida à 37°C. A veia caudal foi localizada a fim de se administrar uma injeção endovenosa de insulina (0,75 U/Kg peso corporal). Foi coletado sangue da cauda do animal para análise da concentração de glicose sanguínea usando método de química seca (Accu-Check Advantage Blood Glucose Monitor, Roche Diagnostic Corporation, Indianapolis, IN) nos tempos 0, 4, 8, 12 e 16 min após a injeção de insulina. Os valores de glicemia dos min 4 e 16 foram utilizados para calcular a constante de queda da glicose plasmática (KITT) de acordo com a descrição de Bonora (1989).

Até o presente momento, foram realizadas os testes em 4 animais do grupo AS e em 4 animais do grupo FS. Os resultados preliminares, mostraram que os animais tratados com frutose apresentam uma redução na constante de desaparecimento da glicose plasmática (KITT) quando comparados com os animais controle: FS=4,0±0,18 mg/dL/min e AS= 5,0±0,37 mg/dL/min, sugerindo que a ingestão excessiva de frutose pode determinar um quadro de resistência à insulina.

Avaliação da concentração da insulina plasmática

A insulina foi avaliada através de kit comercial de radioimunoensaio (Sensitive Rat Insulin RIA kit-Linco Research, Inc.). A amostra de sangue foi obtida após eutanásia dos animais.

A quantificação da insulina está sendo realizada no Instituto do Coração (InCor) em colaboração com a Profa. Dra. Fabiana de Sant'Anna Evangelista.

Até o presente momento, foram realizadas os testes em 4 animais do grupo AS e em 4 animais do grupo FS. Os resultados preliminares, não mostraram diferença nos valores de insulina entre os grupos avaliados: FS=1,3±0,42 ng/mL e AS=1,4±0,24 ng/mL.

Perfil lipídico

Amostras de sangue foram coletadas ao final do protocolo para dosagem de colesterol total, triglicérides e HDL. A determinação de colesterol, triglicérides e HDL,

foi realizada por métodos calorimétricos enzimáticos comerciais (Labtest, BR), conforme anteriormente utilizado por Botezzelli JD *et al.* (2010), Ghezzi AC *et al.* (2011) e Makino S *et al.* (2012). É importante salientar que os valores encontrados nos nossos animais estão de acordo com outros estudos os quais mostram que, em ratos controles, o HDL contribui com cerca de 45% do colesterol total (Botezzelli JD *et al.*, 2010 e Ghezzi AC *et al.*, 2011).

O consumo crônico de frutose induziu aumento do colesterol total e dos triglicérides. O treinamento físico foi capaz de atenuar o aumento do colesterol total e dos triglicérides no grupo frutose (Tabela 1). As análises do grupo AT estão em andamento.

Tabela 1: Perfil lipídico dos grupos água sedentário (AS), água treinado (AT), frutose sedentário (FS) e frutose treinado (FT) ao final do protocolo.

	Colesterol Total (mg/dL)	Triglicérides (mg/dL)	HDL (mg/dL)
AS	69±3	41±3	33±2
FS	137±15 *	151±7*	34±6
FT	113±11	126±8*#	49±6

* p<0,05 vs. AS ; # p<0,05 vs. AT.

Pressão arterial e frequência cardíaca

Para registro direto da PA e administração de drogas farmacologicamente ativas, a veia e artéria femoral foram cateterizadas. Para isso, os ratos foram anestesiados com uma solução de cloridrato de Ketamina (50 mg/kg) e Xilazina (12 mg/kg) por via intraperitoneal. O cateter foi constituído de uma parte mais fina (PE-10), introduzida pela veia e artéria femoral acessando a aorta e veia cava respectivamente, e uma parte mais grossa (PE-50), passada subcutaneamente até o dorso do animal, entre as escápulas, e então fixada através de pontos cirúrgicos na pele.

Os registros de PA e da FC foram realizados com os ratos acordados e em livre movimentação durante 30 minutos. O registro teve início apenas após a estabilização de atividade exploratória do animal (15-20 minutos).

A medida direta da PA foi obtida do catéter na artéria femoral conectada a um transdutor de pressão (Kent Instruments, EUA) acoplado a um amplificador (General Purpose Amplifier, Stemtech, Inc.; EUA). O sinal amplificado foi digitalizado através de uma placa de conversão analógico digital (Windaq), com frequência de amostragem

de 2000 Hz. Os dados digitalizados foram processados através do programa WinDaq (DataQ Instruments, Inc.; EUA) e posteriormente analisados (Excel, Microsoft Co.; EUA).

Ao avaliar a pressão arterial nota-se que o grupo FS apresentou aumento significativo da PAM e da PAD. O treinamento físico foi capaz de atenuar esta disfunção da PAM, porém manteve valores elevados de PAD em comparação ao grupo AS. Não houve diferença estatística na PAS entre os grupos estudados. Ao avaliar a FC, notou-se bradicardia em repouso nos grupos treinados em relação aos seus respectivos grupos sedentários (Tabela 2).

Tabela 2: Pressão arterial média (PAM), pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC) dos grupos água sedentário (AS), água treinado (AT), frutose sedentário (FS) e frutose treinado (FT).

	PAM (mmHg)	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	FC (bpm)
AS	112±1,0	138±1,5	95±2,0	366±13,4
AT	115±2,5	135±3,9	99±1,8	339±5,8*
FS	122±2,8*	146±2,7	106±2,9*	378±8,3
FT	118±1,8	140±1,8	103±1,5*	340±6,7 ^{\$}

* p<0,05 vs. AS ; \$ p<0,05 vs. FS.

A bradicardia de repouso tem sido utilizada como um marcador cardiovascular da eficácia do treinamento físico. Vários estudos têm demonstrado bradicardia de repouso em ratos machos normotensos jovens (NEGRÃO et al., 1992a), ou velhos (DE ANGELIS et al., 1997), em camundongos (DE ANGELIS et al., 2004) e em humanos (FRICK, 1967; KATONA et al., 1982) treinados. Corroborando com estes estudos, no presente trabalho foi observado bradicardia de repouso nos grupos AT e FT em relação aos respectivos grupos sedentários. Tais achados podem estar associadas à melhora na modulação autonômica cardíaca observada nos animais FT em relação aos animais FS.

O aumento da PA após o consumo crônico em roedores tem sido evidenciado com frequência. Giacchetti et al. (2000) associaram a hipertensão induzida pela sobrecarga de frutose com o aumento da expressão dos receptores AT1a em ratos. Em nosso grupo evidenciamos aumento da PA ratos e camundongos machos tratados com frutose, bem como em fêmeas saudáveis ou ooforectomizadas hipertensas submetidas ao consumo crônico de frutose acompanhada de disfunção autonômica (FARAH et al., 2006; BRITO et al., 2008; MACHI et al., 2012; SANCHES et al., 2012; DE ANGELIS

et al., 2012; MOSTARDA et al., 2013). Tais achados foram associados à disfunção autonômica cardíaca e vascular.

Um importante achado do presente estudo foi a normalização da PAM no grupo treinado frutose, a qual foi acompanhada de normalização dos parâmetros alterados na variabilidade da FC e da PAS. De fato, tal achado evidencia em ratos tratados com frutose desde o desmame e avaliados ainda jovens que o treinamento físico moderado é capaz de atenuar as disfunções hemodinâmicas e autonômicas observadas nos animais mantidos sedentários. Estes resultados estão de acordo com dados anteriormente publicados por nosso grupo em ratos machos adultos (MACHI et al., 2012 e MOSTARDA et al., 2013).

Modulação Autonômica

Os registros originais de PA durante o período de repouso foram submetidos para análise do controle autonômico cardiovascular através de ferramenta de análise tempo-frequência da variabilidade da FC e da PA sistólica (PAS). As variabilidades da PAS e do intervalo de pulso (variabilidade da FC) no domínio do tempo e da frequência foram avaliadas com o método auto-regressivo de análise espectral. Os componentes oscilatórios foram quantificados em duas faixas de frequência de interesse: frequências altas (HF) entre 0,6 e 4 HZ e frequências baixas (LF) entre 0,2 e 0,6 Hz (58). Segmentos que apresentem oscilações em muito baixa frequência (< 0.1 Hz) que contribuam para mais de 70% de toda a variabilidade foram considerados segmentos não estacionários e foram descartados do estudo. As potências de LF, HF e da razão LF/HF foram consideradas como marcadores simpático e parassimpático, e do balanço simpato-vagal, respectivamente.

As avaliações da variabilidade da FC no domínio do tempo e da frequência estão apresentadas na Tabela 3. O desvio padrão do intervalo de pulso (SD IP), variabilidade do intervalo de pulso (VAR IP) e a banda de alta frequência (HF), que indica modulação parassimpática, não apresentaram diferença estatística entre os grupos. A banda de baixa frequência (LF) do IP, que indica modulação simpática, mostrou aumento significativo no grupo FS em relação aos demais grupos, incluindo o grupo FT. A banda de baixa frequência normalizada (%LF) apresentou aumento significativo no grupo FS em relação aos demais grupos. Adicionalmente houve diminuição significativa da banda de alta frequência normalizada (%HF) no grupo FS quando comparado aos demais grupos

estudados. O balanço simpato-vagal (LF/HF) foi maior no grupo FS em relação aos demais grupos estudados (Figura 6).

Tabela 3: Variabilidade da FC no domínio do tempo e da frequência nos grupos água sedentário (AS), água treinado (AT), frutose sedentário (FS) e frutose treinado (FT).

	SD IP (ms)	VAR IP (ms²)	LF (ms²)	HF (ms²)	%LF	%HF
AS	6,3±0,8	33,8±4,6	1,3±0,3	6,3±1,5	21,7±3,5	78,3±3,5
AT	6,7±0,8	43,0±8,2	1,8±0,4	9,5±2,1	23,3±0,9	76,7±0,9
FS	7,2±0,6	50,3±7,5	3,9±0,8*#	7,7±1,2	33,3±2,9*#	66,7±2,9*#
FT	7,3±0,5	60,5±5,8	2,0±0,2 ^{\$}	6,8±0,8	25,3±2,0 ^{\$}	74,7 ± 2,0 ^{\$}

* p<0,05 vs. AS ; # p<0,05 vs. AT; \$ p<0,05 vs. FS

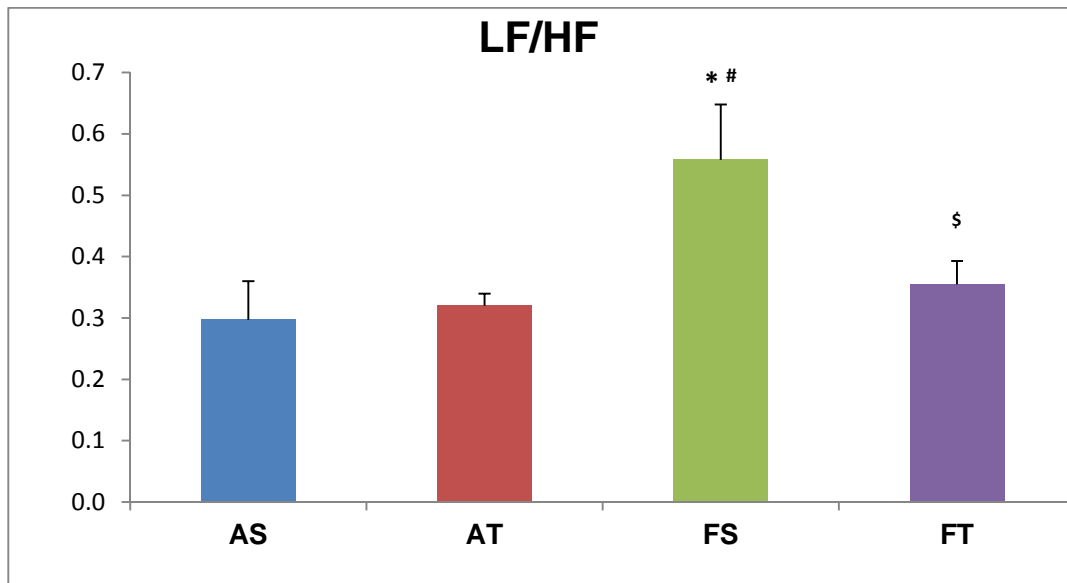


Figura 7: Balanço simpato-vagal cardíaco (LF/HF) nos grupos água sedentário (AS), água treinado (AT), frutose sedentário (FS) e frutose treinado (FT). *p<0,05 vs. AS; #p<0,05 vs. AT; \$p<0,05 vs. FS.

Os parâmetros da variabilidade da pressão arterial sistólica (PAS) no domínio da frequência e do tempo são apresentados na Tabela 4. O desvio padrão da PAS (SD PAS), a variabilidade da PAS (VAR PAS) e a banda de baixa frequência da PAS (LF PAS) tiveram aumento no grupo FS em relação aos demais grupos estudados.

Tabela 4 : Variabilidade da PAS nos grupos estudados.

	SD PAS (mmHg)	VAR PAS (mmHg²)	LF PAS (mmHg²)
AS	4,77 ± 0,20	25,42 ± 2,77	6,94 ± 0,82
AT	4,80 ± 0,35	23,05 ± 3,76	3,72 ± 0,28
FS	6,16 ± 0,40 *#	41,75 ± 4,88 *#	11,91 ± 1,08 *#
FT	4,65 ± 0,18 \$	23,58 ± 2,19 \$	4,80 ± 0,38 \$

* p<0,05 vs. AS ; # p<0,05 vs. AT; \$ p<0,05 vs. FS

O índice alfa da banda de baixa frequência (LF), representativo da sensibilidade barorreflexa espontânea, não foi diferente entre os grupos estudados (Figura 8).

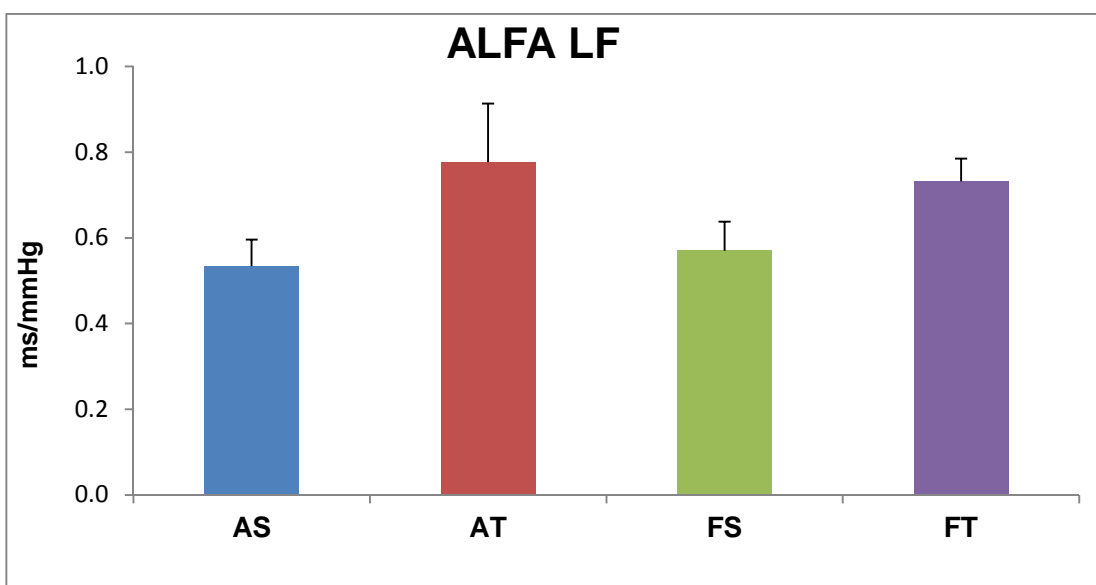


Figura 8: Índice alfa da banda de baixa frequência (LF) nos grupos água sedentário (AS), água treinado (AT), frutose sedentário (FS) e frutose treinado (FT).

A bradicardia em repouso pode estar associada à melhora na modulação autonômica cardíaca observada nos animais FT em relação aos animais FS. Adicionalmente, é possível hipotetizar que alterações no marcapasso cardíaco, conforme observado anteriormente em ratos machos adultos (NEGRÃO et al., 1992a) ou velhos (DE ANGELIS et al., 1997) treinados, ou mesmo alterações no controle autonômico da FC (tônus vagal e simpático), estejam envolvidas na bradicardia

observada no grupo AT, já que a modulação cardíaca tanto no domínio do tempo quanto no domínio da frequência não foram diferentes entre os grupos AS e AT.

De fato, no presente estudo observamos aumento do balanço simpato-vagal cardíaco (LF/HF), bem como aumento da modulação simpática vascular, evidenciada pelos diferentes índices avaliados da variabilidade da PAS, apesar de não termos observado diferença na sensibilidade barorreflexa espontânea, nos animais sedentários tratados cronicamente com frutose. Dessa forma, nossos resultados apontam para uma importante ativação do simpático cardíaco e vascular nos animais tratados com frutose corroborando estudos anteriormente citados.

Avaliação dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina

A avaliação dos componentes do sistema renina angiotensina ainda encontram-se em andamento devido ao atraso no cronograma previamente estabelecido, uma vez que alguns materiais fundamentais para o desenvolvimento do projeto demoraram para serem entregues, tais como a esteira para o treinamento físico, as colunas de separação para cromatografia líquida de alta performance e os anticorpos para o Western Blot.

A avaliação da atividade da ECA plasmática e tecidual e a quantificação das angiotensinas por cromatografia líquida de alta performance estão sendo realizadas em colaboração com a profa. Dra. Fernanda Barrinha Fernandes no laboratório da profa. Dra. Dulce Elena Casarini da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo.

A atividade da ECA plasmática e tecidual será determinada fluorimetricamente utilizando-se como substratos Hipuril-L-His-Leu (HHL) (5 mM) e Z-Phe-His-Leu (Zphe-HL) (1mM). O tampão padrão utilizado para os ensaios será o fosfato de potássio 100mM pH 8,3, contendo NaCl 300mM e ZnSO₄ 0,1mM. Ao final do protocolo, após a eutanásia dos animais, o sangue foi coletado em tubos heparinizados, mantidos em gelo e posteriormente centrifugados a 10000 rpm a 4°C por 10 minutos. O plasma foi imediatamente coletado e armazenado a -80° C. Rins, coração e pulmões foram rapidamente removidos, lavados com PBS, congelados em nitrogênio e armazenados a -80° C, para posterior análise.

A quantificação das angiotensinas no coração, pulmão e fígado foi realizada por cromatografia de alta performance (HPLC). **Até o presente momento já foram**

realizadas a quantificação das angiotensinas nos grupos água sedentário (n=6) e frutose sedentário (n=4). Os tecidos dos outros grupos, inclusive os rins de todos os grupos, foram coletados e encontram-se armazenados em freezer -80oC para posterior análise. (Tabela 5)

Tabela 5 : Valores de Angiotensinas dos grupos água sedentário (AS, n=6) e frutose sedentário (FS, n=4) no coração, pulmão e fígado.

	Ang 1-7 (nmol/g)	Ang II (nmol/g)	Ang I (nmol/g)
AS coração	0,23 ± 0,022	0,06 ± 0,003	0,07 ± 0,006
FS coração	0,3 ± 0,03	0,08 ± 0,005	0,13 ± 0,016
AS pulmão	0,05 ± 0,008	0,4 ± 0,003	0,07 ± 0,007
FS pulmão	0,15 ± 0,029	0,06 ± 0,005	0,18 ± 0,016
AS fígado	0,8 ± 0,02	0,09 ± 0,008	0,15 ± 0,014
FS fígado	0,13 ± 0,012	0,10 ± 0,011	0,17 ± 0,012

Homogenatos do rim e do coração (30 µg) foram preparados e armazenados para a quantificação da enzima de conversão da Angiotensina pelo método de Western Blot. A dosagem de proteínas será realizada através do método de Bradford (1976) (Bio-Rad Protein Assay), usando albumina sérica bovina como padrão.

CONCLUSÃO

Até o presente momento, nossos resultados evidenciaram disfunção hemodinâmica e autonômica nos animais tratados com frutose, bem como atenuação destas alterações após o treinamento físico. Portanto, o consumo crônico de frutose durante o desenvolvimento pode acarretar em disfunções associadas à síndrome metabólica, porém o treinamento físico consegue reduzir estas disfunções, servindo como uma ferramenta no manejo do risco de síndrome metabólica. Além disso, os resultados preliminares da avaliação dos componentes do sistema renina angiotensina, sugerem até o momento alteração nos valores de angiotensina nos animais tratados com frutose sugerindo uma possível participação desse sistema nas alterações hemodinâmicas e autonômicas induzidas pelo consumo crônico de frutose.

Referências Bibliográficas:

ANDRADE R.P.; , ARAUJO I.C.; SANTOS, F. et al. Efeito do consumo crônico de frutose no controle autonômico cardíaco: do desmame a fase adulta. In: **SBH**, 2011, Guarujá. SBH, 2011.

AROZAL, W.; WATANABE, K.; VEERAVEEDU, P.T. et al. Effects of angiotensin receptor blocker on oxidative stress and cardio-renal function in streptozotocin-induced diabetic rats. **Biol Pharm Bull.**;v. 32n.8:p. 1411-6, 2009.

BALBINOTT, A.W.; IRIGOYEN, M.C.; BRASILEIRO-SANTOS, M.S. et al. Dose-dependent autonomic dysfunction in chronic L-NAME-hypertensive diabetic rats. **J Cardiovasc Pharmacol.** v. 46, n. 5, p. 563-569, 2005.

BARNEY, J.A.; EBERT, T.J.; GROBAN, L.; FARREL, P.A.; HUGHES, C.V.; SMITH, J.J. Carotid baroreflex responsiveness in high-fit and sedentary young men. **Journal of Applied Physiology**, v. 65, n. 5, p. 2190-2194, 1988.

BEDFORD, T.G.; TIPTON, C.M. Exercise training and the arterial baroreflex. **Journal of Applied Physiology**, v. 63, n. 5, p. 1926-1932, 1987.

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

BERTAGNOLLI, M.; CAMPOS, C.; SCHENKEL, P.C. et al. Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. **J Hypertens**, v. 24, n. 12, p. 2437-2443, Dec. 2006.

BEZERRA, R.M.; UENO, M.; SILVA, M.S.; TAVARES, D.Q.; CARVALHO, C.R.; SAAD, M.J.; GONTIJO, J.A.; A high-fructose diet induces insulin resistance but not blood pressure changes in normotensive rats. **Braz J Med Biol Res.** Sep;34(9):1155-60, 2001.

BLAIR, S.N.; KOHL, H.W. 3RD.; PAFFENBARGER, R.S. JR.; CLARK, D.G.; COOPER, K.H.; GIBBONS, L.W.; Physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy men and women. **JAMA.** Nov 3;262(17):2395-401,1989.

BONORA, E.; MOGHETTI, P.; ZANCANARO, C. et al. 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**, v. 68, p. 374-378, n. 2, Feb. 1989.

BOTEZELLI, J.D.; CAMBRI, L.T.; GHEZZI, A.C.; DALIA, R.A.; VOLTARELLI, F.A.; DE MELLO, M.A.; Fructose-rich diet leads to reduced aerobic capacity and to liver injury in rats. **Lipids Health Dis** Jun 19;11:78. doi: 10.1186/1476-511X-11-78, 2012.

BRAND, P.H; METTING, P.J; BRITTON, S.L. Support of arterial blood pressure by major pressor systems in conscious dogs. **Am J Physiol.** v. 255, n. 3, p. H483-H491, Sept. 1988.

BRITO, J.O.; PONCIANO, K.; FIGUEROA, D. et al. Parasympathetic dysfunction is associated with insulin resistance in fructose-fed female rats. **Braz J Med Biol Res.** v. 41, n.9, p. 804-808, Sept. 2008.

CATENA, C.; CAVARAPE, A.; NOVELLO, M.; GIACCHETTI, G.; SECHI, L.A; Insulin receptors and renal sodium handling in hypertensive fructose-fed rats. **Kidney Int.** Dec;64(6):2163-71,2003.

DAI, S.; MCNEILL, J.H. Fructose-induced hypertension in rats is concentration- and duration-dependent. **J Pharmacol Toxicol Methods,** v. 33, n. 2 p. 101-107, Apr. 1995.

DALLA VESTRA, M.; SIMIONI, N.; MASIERO, A. Renal effects of dual renin-angiotensin - aldosterone system blockade in patients with diabetic nephropathy. **Int Urol Nephrol.**;41(1):119-26, 2009.

DE ANGELIS, K.; GADONSKI, G.; FANG, J. et al. Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats. **Hypertension,** v. 34, n. 4 p. 768-772, Oct. 1999

DE ANGELIS, K.; IRIGOYEN, M.C; MORRIS, M. Diabetes and cardiovascular autonomic dysfunction: application of animal models. **Auton Neurosci,** v. 145, n. 1-2, p. 3-10, Jan. 2009.

DE ANGELIS, K.; OLIVEIRA, A.R.; WERNER, A. et al. Exercise training in aging: hemodynamis, metabolic, and oxidative stress evaluations. **Hypertension,** v. 30, n. 3, p. 767-771, Oct. 1997.

DE ANGELIS, K.; WICHI, R.B.; JESUS, W.R.; MOREIRA, E.D.; MORRIS, M.; KRIEGER, E.M.; IRIGOYEN, M.C.; Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice.**J Appl Physiol** (1985). Jun;96(6):2174-8. Epub 2004 Jan 16,2004.

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 Regul Integr Comp Physiol.** Apr 15;302(8):R950-7,2012.

DE ANGELIS, K.L.; OLIVEIRA, A.R.; DALL'AGO, P.; PEIXOTO, L.R.; GADONSKI, G.; LACCHINI, S.; FERNANDES, T.G.; IRIGOYEN, M.C.; Effects of exercise training on autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. **Braz J Med Biol Res.** Jun;33(6):635-41,2000 .

DURSTINE, J.L.; HASKELL, W.L. Effects of exercise training on plasma lipids and lipoproteins. **Exerc Sport Sci Rev,** v. 22, n. 1, p. 477-522, Jan. 1994.

ECKEL, R.H.; GRUNDY, S.M.; ZIMMET, P.Z. The metabolic syndrome. **Lancet**, V. 365, n. 9468, p. 1415-1428, Apr. 2005.

EWING, D.J.; MARTYN, C.N.; YOUNG, R.J. et al. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. **Diabetes Care**, v. 8, n. 5, p. 491-498, Sept. 1985.

FARAH, V. DE M.; DE ANGELIS, K.; JOAQUIM, L.F. et al. Autonomic modulation of arterial pressure and heart rate variability in hypertensive diabetic rats. **Clinics**, v. 62 n.4, p. 477-482, 2007.

FARAH, V.; ELASED, K.M.; CHEN, Y. et al. Nocturnal hypertension in mice consuming a high fructose diet. **Auton Neurosci**, v. 130, n. 1-2, p. 41-50, Dec. 2006.

FARAH, V.; ELASED, K.M.; MORRIS, M. Genetic and Dietary Interactions: Angiotensin AT1a Receptors and the Cardiovascular and Metabolic Responses to a Fructose Diet. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 293, n. 2, p. H1083-H1089, Aug. 2007.

FARAH, V.M.; JOAQUIM, L.F.; BERNATOVA, I. et al. Acute and chronic stress influence blood pressure variability in mice. **Physiol Behav**, v. 83, n. 1, p. 135-142, Oct. 2004.

FAZAN, R. JR; BALLEJO, G.; SALGADO, M.C. et al. Heart rate variability and baroreceptor function in chronic diabetic rats. **Hypertension**, v. 30, n. 3, p. 632-635, Sept. 1997.

FORD, E.S.; GILES, W.H.; DIETZ, W.H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. **JAMA**, v. 287, n. 3, p. 356-359, Jan. 2002.

FRATTOLA, A.; PARATI, G.; CUSPIDI, C. et al. Prognostic value of 24-hour blood pressure variability. **J Hypertens**, v. 11, n. 10, p. 1133-1137, Oct. 1993.

FRICK, M.H. The mechanisms of bradycardia evoked by physical training. **Cardiologia**, v. 51, n. 1, p. 46-54, 1967.

GHEZZI AC, CAMBRI LT, RIBEIRO C, BOTEZELLI JD, MELLO MA. Impact of early fructose intake on metabolic profile and aerobic capacity of rats. **Lipids Health Dis**. Jan 11;10:3. doi: 10.1186/1476-511X-10-3,2011 .

GIACCHETTI G, SECHI LA, GRIFFIN CA, DON BR, MANTERO F, SCHAMBELAN M. The tissue renin-angiotensin system in rats with fructose-induced hypertension: overexpression of type 1 angiotensin II receptor in adipose tissue. **J Hypertens**. Jun;18(6):695-702,2000.

GRIENDLING, K.K.; LASSEGUE, B.; ALEXANDER, R.W. The vascular angiotensin (AT1) receptor. **Thromb. Haemost**, v. 70, n. 1, p. 188-192, July. 1993.

HALLFRISCH, J. Metabolic effects of dietary fructose. **FASEB J**, v. 4, n. 9, p. 2652-2660, June. 1990.

HARTHMANN, A.D.; DE ANGELIS, K.; COSTA, L.P. et al. Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats. **Auton Neurosci**, v. 133, n. 2, p. 115-120, May. 2007.

HOLLOSZY, J.O.; SCHULTZ, J.; KUSNIERKIEWICZ, J. et al. Effects of exercise on glucose tolerance and insulin resistance. Brief review and some preliminary results. **Acta Med Scand Suppl**, v. 220, n. S711, p. 55-65, Jan. 1986.

INAGAMI, T.; GUO, D. F.; KITAMI, Y. Molecular biology of angiotensin II receptors: an overview. **J Hypertens Suppl**, v. 12, n. 10, p. 583-594, 1994.

IRIGOYEN, M.C.; PAULINI, J.; FLUES, K. et al. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. **Hypertension**, v. 46, n. 4, p. 683-689, Oct. 2005.

ISOMAA, B.; ALMGREN, P.; TUOMI, T. et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. **Diabetes Care**, v. 24 n. 4, p. 683-689, Apr. 2001.

JOYEUX-FAURE M, ROSSINI E, RIBUOT C, FAURE P. Fructose-fed rat hearts are protected against ischemia-reperfusion injury. **Exp Biol Med (Maywood)**. Apr;231(4):456-62,2006.

KAMIDE, K.; RAKUGI, H.; HIGAKI, J. et al. The renin-angiotensin and adrenergic nervous system in cardiac hypertrophy in fructose-fed rats. **Am J Hypertens**, v. 15 n. 1, p. 66-71, Jan. 2002.

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, n. 6, p. 1652-1657, June. 1982.

KIKUYA, M.; HOZAWA, A.; OHOKUBO, T. et al. Prognostic significance of blood pressure and heart rate variabilities: the Ohasama study. **Hypertension**, v. 36, n. 5, p. 901-906, Nov. 2000.

KOTCHEN, T.A.; REDDY, S.; ZHANG, H.Y.; Increasing insulin sensitivity lowers blood pressure in the fructose-fed rat. **Am J Hypertens**. Sep;10(9 Pt 1):1020-6,1997 .

KRIKKEN, J.A.; BAKKER, S.J.L.; NAVIS, G.J. Editorial Comment: Role of renal haemodynamics in the renal risks of overweight. **Nephrol Dial Transplant**, v. 24, n. 6, p. 1708-1711, June. 2009.

LEUNG PS, DE GASPARO M. Involvement of the pancreatic renin-angiotensin system in insulin resistance and the metabolic syndrome. **J Cardiometab Syndr**. 1(3):197-203. 2006.

LEUNG, P.S. Mechanisms of protective effects induced by blockade of the renin-angiotensin system: novel role of the pancreatic islet angiotensin-generating system in Type 2 diabetes. **Diabet Med.** Feb;24(2):110-6,2007.

LOPES, H.F.; BORTOLOTTI, L.A.; SZLEJF, C. et al. Hemodynamic and metabolic profile in offspring of malignant hypertensive parents. **Hypertension** v. 38, n. 3, p. 616-620, July. 2001.

MACHI JF, BERNARDES N, MOSTARDA C, MORAES-SILVA IC, IRIGOYEN MC, DE ANGELIS K, WICHI RB. Walking promotes metabolic and baroreflex sensitivity improvement in fructose-fed male rats. **Eur J Appl Physiol.** Jan;113(1):41-9, 2013.

MAKINO S, KISHIDA T, EBIHARA K. Lipid metabolism of orchietomised rats was affected by fructose ingestion and the amount of ingested fructose. **Br J Nutr.** Mar;107(6):817-25,2012.

MCDONALD, P.M.; SANFILIPPO, A.J.; SAVARD, G.K. Baroreflex function and cardiac structure with moderate endurance training in normotensive men. **Journal of Applied Physiology**, v. 74, n. 5, p. 2469-2477, 1993.

MENARD, J. Anthology of the renin-angiotensin system: a one hundred reference approach to angiotensin II antagonists. **J. Hypertens. Suppl**, v. 11, n. 3, p. S3-S11, Apr. 1993.

MILLER, A.W.; SIMS, J.J.; CANAVAN, A. et al. Impaired vagal reflex activity in insulin-resistant rats. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 33, n. 5, p. 698-702, 1999.

MORGADO, A.; SCHNEIDER, S.H. Sports medicine for the diabetic athlete. **N J Med**, v. 88, n. 9, p. 651-654, Sept. 1991.

MORRIS, M.; KEY, M.P.; FARAH, V. Sarin produces delayed cardiac and central autonomic changes. **Exp Neurol**, v. 203, n. 1, p. 110-115, jan. 2007.

MUSCH TI, MOORE RL, SMALDONE PG, RIEDY M, ZELIS R. Cardiac adaptations to endurance training in rats with a chronic myocardial infarction. **J Appl Physiol** (1985). Feb;66(2):712-9, 1989.

NAKAGAWA, T.; HU, H.; ZHARIKOV, S. et al. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 290, n. 3, p. F625-F631, Mar. 2006.

NASURE, M.; WASADA, T.; NARUSE, K. et al. Pathophysiological significance of plasma total renin and prorenin in patients with diabetes mellitus. **Endocr J**, v. 42, n. 2, p. 225-233, Apr. 1995.

NAVARRO, R.B. Avaliação do perfil glicêmico em um modelo de diabetes experimental de : efeito da sobrecarga salina. Trabalho de Conclusão de Curso de Nutrição da UPM , 2010.

NEGRÃO, C.E.; MOREIRA, E.D.; BRUM, P.C. et al. Vagal and sympathetic control of heart rate during exercise by sedentary and exercisetraigned rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 25 n. 10, p. 1045-1052, 1992.

OLTMAN, C.L.; DAVIDSON, E.P.; COPPEY, L.J. et al. Role of the effect of inhibition of neutral endopeptidase on vascular and neural complications in streptozotocin-induced diabetic rats. **Eur J Pharmacol**. 15; 650(2-3):556-62, 2010.

PARATI, G.; POMIDOSSI, G.; ALBINI, F. et al. Relationship of 24-hour blood pressure mean and variability to severity of target-organ damage in hypertension. **J Hypertens**, v. 5, n. 1, p. 93-98, Feb. 1987.

PAULSEN, E.P.; SEIP, R.L.; AYERS, C.R. et al. Plasma renin activity and albumin excretion in teenage type I diabetic subjects. A prospective study. **Hypertension**, v. 13, n. 6, p. 781-788, Jun. 1989.

PERKINS, B.A.; AIELLO, L.P.; KROLEWSKI, A.S. Diabetes complications and the renin-angiotensin system. **N Engl J Med.**;361(1):83-5, 2009.

PESSIN, J.E.; SALTIEL, A.R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **J Clin Invest**, v. 106, n. 2, p. 165-169, July. 2000.

SALTIEL, A.R.; KAHN, C.R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 799-806, Dec. 2001.

SANCHES, I.C.; DE OLIVEIRA BRITO, J.; CANDIDO, G.O.; DA SILVA DIAS, D.; JORGE, L.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K.; Cardiometabolic benefits of exercise training in an experimental model of metabolic syndrome and menopause. **Menopause**. May;19(5):562-8, 2012.

SANTOS, F. ; BECHARA, A. C. C. ; MOSTARDA, C. et al. Alterações autonómicas cardiovasculares induzidas por dois fatores de risco: sal e frutose. In: FESBE, 2010, Águas de Lindóia. FESBE, 2010.

SCHAAN, B.D.; DALL'AGO, P.; MAEDA, C.Y. et al. Relationship between cardiovascular dysfunction and hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetes in rats. **Braz J Med Biol Res**. v. 37, n. 12, p. 1895-1902, 2004.

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, n. 3, p. 714-719, Sept. 1997.

SILVA, E. S. ; DIAS, G. ; MATEUS, R. S. et al. Estudo da morfometria de adipócitos em animais tratados cronicamente com frutose. In: FESBE, 2010, Águas de Lindóia. FESBE, 2010.

SOC.BRAS.DE HIPERTENSÃO, SOC.BRAS.DE CARDIOLOGIA, SOC.BRAS.DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, et al. I Brazilian guidelines on diagnosis and treatment of metabolic syndrome. **Arq Bras Cardiol**. v. 84, n. 4, suppl. 1: 1-28, Apr. 2005.

STEIN, P.K.; KLEIGER, R.E. Insights from the study of heart rate variability. **Annu Rev Med**, v. 50, p. 249-261, Feb. 1999.

SURWIT, R.S.; KUHN, C.M.; COCHRANE, C. et al. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. **Diabetes**, v. 37, n. 9, p. 1163-1167, Sept. 1988.

SUZUKI, M.; NOMURA, C.; ODAKA, H. et al. Effect of an insulin sensitizer, pioglitazone, on hypertension in fructose-drinking rats. **Jpn J Pharmacol**. v. 74, n. 4, p. 2297-302, Aug. 1997.

TIKELLIS C.; COOPER, M.E.; THOMAS, M.C. Role of the renin-angiotensin system in the endocrine pancreas: implications for the development of diabetes. **Int J Biochem Cell Biol.**; 38(5-6):737-51, 2006.

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

VASDEV, S.; LONGERICH, L.; GILL, V. Prevention of fructose-induced hypertension by dietary vitamins. **Clin Biochem**, v. 37, n. 1, p. 1-9, Jan. 2004.

WANG, C.C.; GOALSTONE, M.L.; DRAZNIN, B. Molecular mechanisms of insulin resistance that impact cardiovascular biology. **Diabetes**, v. 53, n. 11, p. 2735-2740, Nov. 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – W. H. O. Prevalence of Diabetes Among Older Adults in America. 2005.

YOKOTA, R.; FARAH, V.; FIORINO, P. et al. Long term feeding of fructose influences vascular renal function and renin angiotensin system modulation. **Hypertension**, P407, 2011