

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

PROGRAMA DE MESTRADO EM MEDICINA – CIÊNCIAS DA SAÚDE

ANTONIO VIANA DO NASCIMENTO FILHO

**ALTERAÇÕES RENAIIS NA PROLE DE GENITORES
SUBMETIDOS À SOBRECARGA DE FRUTOSE:
PAPEL DO TREINAMENTO FÍSICO**

São Paulo

2022

ANTONIO VIANA DO NASCIMENTO FILHO

**ALTERAÇÕES RENAIIS NA PROLE DE GENITORES
SUBMETIDOS À SOBRECARGA DE FRUTOSE:
PAPEL DO TREINAMENTO FÍSICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós Graduação em Medicina
da Universidade Nove de Julho – UNINOVE
como requisito para obtenção do título de
mestre em Medicina – Ciências da Saúde

Orientadora: Profa. Dra. Kátia De Angelis

São Paulo

2022

Nascimento Filho, Antonio Viana do.

Alterações renais na prole de genitores submetidos à sobrecarga de frutose: papel do treinamento físico. / Antonio Viana do Nascimento Filho. 2022.

95 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2022.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Kátia de Angelis.

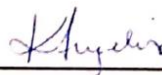
São Paulo, 12 de dezembro de 2022.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno: **ANTONIO VIANA DO NASCIMENTO FILHO**

Título da dissertação: **IMPACTO RENAL NA PROLE DE GENITORES SUBMETIDOS À SOBRECARGA DE FRUTOSE: PAPEL DO TREINAMENTO FÍSICO.**

Presidente: PROFA. DRA. KÁTIA DE ANGELIS



Membro: PROFA. DRA. MARIA APARECIDA DALBONI



Membro: PROFA. DRA. VERA DE MOURA AZEVEDO FARAH



À minha mãe, ontem, hoje e sempre.

AGRADECIMENTOS

Existem muitos nomes por trás desta conquista, contudo seria injusto não começar com meus pais Laurita Rosa do Nascimento e Manuel Dutra de Sousa, os exemplos mais puros de entendimento e apoio.

Ao Vinícius Alves de Lima, que caminha ao meu lado.

À minha amiga Thais de Sá Clementino por seu apoio em horas cruciais e pelo frescor que traz em minha vida.

Aos meus amigos Tamires Flávia Pereira de Souza Correia, Kleber Correia da Silva e Antony Lima pelo incentivo e entusiasmo na caminhada.

À minha mentora, guia e amiga, Danielle da Silva Dias, o maior exemplo de humanidade e empatia que tenho dentro da pesquisa, sem ela eu não teria chegado aqui.

Aos meus companheiros de estresse e inflamação dentro e fora do laboratório, importantes em cada etapa deste processo: Marcelle de Paula Ribeiro, Ariane Oliveira Viana, Marina Rascio Henriques Dutra, Tânia Plens Shecaira, Pietra Petrica Neves, Victor Hugo Martins de Miranda e Maycon Junior Ferreira, parafraseando Bilbo Bolseiro na série de livros “O Senhor dos Anéis” – “Eu não conheço metade de vocês como gostaria; e gosto de menos da metade de vocês a metade do que vocês merecem”.

À Pamela Nithzi Bricher Choque pela dedicação e disponibilidade, saudades de nossas horas de imunohistoquímica e conversas agradáveis.

Aos meus professores ao longo desta jornada, especialmente no âmbito da pós-graduação, em especial à Prof^a Vera Azevedo de Moura Farah e à Prof^a Maria Aparecida Dalboni pelas importantes contribuições na banca de defesa, e, novamente à Prof^a Maria Aparecida Dalboni, à Prof^a Rosilene Motta Elias e ao Prof^o Humberto Dellê, que inicialmente compuseram minha arguição para entrada no programa e, posteriormente, como figuras de imensa inspiração. Neste sentido, à pessoa mais crucial em todo este processo, minha orientadora Prof^a Kátia De Angelis por acreditar em mim, pelo estímulo em buscar a perfeição e por ser um exemplo de que isto é possível. Não existem palavras para expressar o quanto a senhora transformou minha vida.

E por fim, à UNINOVE e à CAPES pelo apoio financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da
Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001,
Processo nº 88887.615903/2021-00

“ Há uma celeuma muda no silêncio, a tempestade mais calma, o distanciamento mais presente, a mudança mais constante. ”

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar parâmetros cardiometabólicos, inflamatórios e de estresse oxidativo (EO) renais na prole de ratos submetidos ao consumo de frutose, além do papel do treinamento físico (TF) na prole. Os genitores receberam dieta controle ou frutose (10%) durante a gestação e lactação da prole. **Protocolo 1** foram avaliadas as alterações em um curso temporal de desmame (CD e FD); 7 dias (C7 e F7) e 30 dias (C30 e F30) após o desmame (n=7-9/tempo/grupo). Houve aumento de triglicérides (TG) nas proles FD e F30, e menor sensibilidade à insulina na prole frutose em todos os tempos. Houve aumento de pressão arterial sistólica (PAS) na prole F30, desvio padrão da PAS (DP-PAS), variância da PAS (VAR-PAS) e modulação simpática vascular (LF-abs) nas proles F7 e F30. No perfil de EO renal houve aumento de ânion superóxido nas proles FD e F30, peróxido de hidrogênio nas proles F7 e F30, NADPH-oxidase na prole F7, redução da capacidade antioxidante na prole F30, e biodisponibilidade de óxido nítrico (nitritos) nas proles F7 e F30. **Protocolo 2** foi avaliado o impacto do TF aeróbio de 4 semanas na prole frutose 30 dias (FT30). O TF reverteu as alterações metabólicas e atenuou o aumento da PAS, DP-PAS, VAR-PAS e LF-abs na prole FT30, reduziu a razão TNF- α /IL-10 e a peroxidação lipídica e aumentou os nitritos em tecido renal. Em conclusão nossos achados demonstram prejuízo cardiometabólico, autonômico e no perfil pró-oxidante renal na prole de animais frutose, sendo tais alterações atenuadas pelo TF.

Palavras Chave: frutose; síndrome metabólica; prole; dano renal; treinamento físico.

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate cardiometabolic, inflammatory and renal oxidative stress (OS) parameters in the offspring of rats submitted to fructose consumption, in addition to the role of exercise training (ET) in the offspring. **Protocol 1** evaluated changes in a time course of weaning (CD and FD); 7 days (C7 and F7) and 30 days (C30 and F30) after weaning (n=7-9/time/group). There was an increase in triglycerides (TG) in FD and F30 offspring, and lower insulin sensitivity in fructose offspring at all times. There was an increase in systolic arterial pressure (SAP) in F30 offspring, SAP standard deviation (SD-SAP), SAP variance (VAR-SAP) and vascular sympathetic modulation (LF-abs) in F7 and F30 offspring. In the renal OS profile, there were increase in superoxide anion in FD and F30 offspring, in hydrogen peroxide in F7 and F30 offspring, in NADPH-oxidase in F7 offspring; and reduced antioxidant capacity in F30 offspring, and bioavailability of nitric oxide (nitrites) in offspring F7 and F30. **Protocol 2** evaluated the impact of 4-week aerobic ET on 30-day fructose (FT30) offspring. ET reversed the metabolic alterations and attenuated the increase in SAP, SD-SAP, VAR-SAP and LF-abs in the FT30 offspring, reduced the TNF- α /IL-10 ratio and lipid peroxidation and increased nitrites in renal tissue. In conclusion our findings demonstrated impair in cardiometabolic, autonomic, and renal pro-oxidant profile in the offspring of fructose animals. These changes were attenuated by ET.

Keywords: fructose; metabolic syndrome; offspring; kidney damage; physical training.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sequência Experimental dos Protocolos. Fonte: Autoria própria.....	27
Figura 2 – Localização das cânulas pós procedimento de canulação. Fonte: Laboratório de Fisiologia do Exercício – Universidade Federal de São Paulo.....	31
Figura 3 – Sistema de Registro da Pressão Arterial. Fonte: Laboratório de Fisiologia do Exercício – Universidade Federal de São Paulo.....	32
Figura 4 – Parâmetros metabólicos dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. (A) Peso corporal (gramas), (B) glicose sanguínea (mg/dL), (C) triglicérides (mg/dL) e (D) constante de decaimento da glicemia no teste de tolerância à insulina (%/min) dos grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo. KITT = Teste de Tolerância à Insulina.....	40
Figura 5 – Parâmetros hemodinâmicos e variabilidade da pressão arterial dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. (A) Pressão arterial sistólica – PAS (mmHg), (B) desvio padrão da PAS – DP-PAS (mmHg), (C) variância da PAS – VAR-PAS (mmHg ²) e (D) modulação simpática vascular – LF abs (mmHg ²) dos grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.....	42
Figura 6 – Mediadores inflamatórios no tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Razão TNF- α /IL-10 os grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.....	44
Figura 7 – Perfil pró-oxidante em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. (A) Ânion Superóxido – O ₂ ⁻ (nmol/ mg proteína) (B) Peróxido de Hidrogênio – H ₂ O ₂ (μ M/g tecido) e (C) NADPH-Oxidase (nmol/ mg proteína) dos grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.....	46
Figura 8 – Perfil antioxidante em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. (A) Catalase (nmol/ mg proteína) (B) Superóxido Dismutase (USOD/ mg proteína), (C) Glutathione Peroxidase (nmol/ mg proteína) e (D) capacidade antioxidante não enzimática – FRAP (μ MFelI) dos grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são	

apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.....48

Figura 9 – Nitritos em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Nitritos (nmol/mg proteína) dos grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.....50

Figura 10 – Correlação de Pearson obtida entre atividade da superóxido dismutase (SOD) e concentração de nitritos renais ($r=0,8096$, $p<0,0001$).....50

Figura 11 – Sumário dos achados do protocolo 1: esquema representa a comparação da prole de genitores submetidos à sobrecarga de frutose com a prole de genitores controles em diferentes tempos. $\uparrow$ = aumento, $\downarrow$ = redução, TG = triglicérides, ITT = teste de sensibilidade à insulina, PAS = pressão arterial sistólica, DP-PAS = desvio padrão da pressão arterial sistólica, VAR-PAS = variância da pressão arterial sistólica, LF-abs = modulação simpática vascular, TNF- α = fator de necrose tumoral alfa, IL-10 = interleucina 10, TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, FRAP = ferric reducing antioxidant power, O_2^- = ânion superóxido, H_2O_2 = peróxido de hidrogênio.....51

Figura 12 – Parâmetros metabólicos dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). (A) Peso corporal (gramas), (B) glicose sanguínea (mg/dL), (C) triglicérides (mg/dL) e (D) constante de decaimento da glicemia no teste de tolerância à insulina (%/min) dos grupos controle, frutose e frutose treinado 30 dias após o desame. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30. KITT = Teste de Tolerância à Insulina.....52

Figura 13 – Parâmetros hemodinâmicos e variabilidade da pressão arterial dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). (A) Pressão arterial sistólica – PAS (mmHg), (B) desvio padrão da PAS – DP-PAS (mmHg), (C) variância da PAS – VAR-PAS (mmHg²) e (D) modulação simpática vascular – LF abs (mmHg²) dos grupos controle, frutose e frutose treinado 30 dias após o desame. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30.....54

Figura 14 – Mediadores Inflamatórios dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Razão TNF- α /IL10. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30.....56

Figura 15 – Dano oxidativo em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). (A) Oxidação de Proteínas – Carbonilas (nmol/mg proteína) e (B) Peroxidação Lipídica – TBARS (μ mol/mg proteína) dos grupos controle, frutose e frutose treinado 30 dias após o desame. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30.....58

Figura 16 – Nitritos em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Nitritos (nmol/ mg proteína) dos grupos controle, frutose e frutose treinado 30 dias após o desame. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30.....59

Figura 17 – Sumário dos achados do protocolo 2. Esquema representa a comparação da prole de genitores submetidos à sobrecarga que foi mantida sedentária com prole de genitores submetidos à sobrecarga que foi treinada. $\uparrow$ = aumento, $\downarrow$ = redução, TG = triglicérides, ITT = teste de sensibilidade à insulina, PAS = pressão arterial sistólica, DP-PAS = desvio padrão da pressão arterial sistólica, VAR-PAS = variância da pressão arterial sistólica, LF-abs = modulação simpática vascular, TNF- α = fator de necrose tumoral alfa, IL-10 = interleucina 10, TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, FRAP = ferric reducing antioxidant power, O_2^- = ânion superóxido, H_2O_2 = peróxido de hidrogênio.....60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros metabólicos dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo. KITT = Teste de Tolerância à Insulina.....39

Tabela 2 – Parâmetros hemodinâmicos e variabilidade da pressão arterial dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo. PAS = Pressão Arterial Sistólica, DP-PAS = Desvio Padrão da PAS, VAR-PAS = Variância da PAS, LF abs = Banda de baixa frequência.....41

Tabela 3 – Mediadores inflamatórios no tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo.....43

Tabela 4 – Perfil pró-oxidante em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo. O_2^- = Ânion Superóxido, H_2O_2 = Peróxido de Hidrogênio.....45

Tabela 5 – Perfil antioxidante em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo. CAT = Catalase, SOD = Superóxido Dismutase, GPx = Glutathione Peroxidase, FRAP = Ferric Reducing Antioxidant Power.....47

Tabela 6 – Dano oxidativo em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. TBARS = Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico. -- medida não realizada em função da reduzida quantidade de amostra.....49

Tabela 7 – Nitritos em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.....49

Tabela 8 – Parâmetros metabólicos dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30. KITT = Teste de Tolerância à Insulina.....52

Tabela 9 – Parâmetros hemodinâmicos e variabilidade da pressão arterial dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. grupo F30. PAS = Pressão Arterial Sistólica, DP-PAS = Desvio Padrão da PAS, VAR-PAS = Variância da PAS, LF abs = Banda de baixa frequência.....	53
Tabela 10 – Parâmetros de função renal grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Os dados são apresentados como média ± EPM.....	55
Tabela 11 – Mediadores Inflamatórios dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. grupo F30.....	55
Tabela 12 – Perfil Pró-Oxidante em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. O_2^- = Ânion Superóxido, H_2O_2 = Peróxido de Hidrogênio.....	56
Tabela 13 – Perfil Antioxidante em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Os dados são apresentados como média ± EPM. CAT = Catalase, SOD = Superóxido Dismutase, GPx = Glutathione Peroxidase, FRAP = Ferric Reducing Antioxidant Power.....	57
Tabela 14 – Dano oxidativo em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. grupo F30. TBARS = Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico.....	58
Tabela 15 – Nitritos em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. grupo F30.....	59

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Síndrome Metabólica e Consumo de Frutose.....	18
1.2 Consumo de Frutose e Programação Metabólica.....	19
1.3 Doença Renal e Risco Cardiovascular: Aspectos Metabólicos.....	21
1.4 Variabilidade da Pressão Arterial, Inflamação e Estresse Oxidativo como Mecanismos de Disfunção.....	22
1.5 Treinamento Físico em Disfunções associadas ao Consumo de Frutose.....	24
2. OBJETIVOS.....	26
2.1 Objetivos Gerais.....	26
2.2 Objetivos Específicos.....	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
3.1 Animais e Grupos.....	27
3.1.1 Genitores.....	28
3.1.2 Prole.....	28
3.1.2.1 PROTOCOLO 1.....	28
3.1.2.2 PROTOCOLO 2.....	29
3.2 Procedimentos.....	29
3.2.1 Modelo Experimental de Síndrome Metabólica.....	29
3.2.2 Teste de Esforço e Treinamento Físico Aeróbio.....	30
3.2.3 Avaliações Metabólicas.....	30
3.2.3.1 Peso Corporal.....	30
3.2.3.2 Medida de Glicemia e Triglicérides Plasmáticos.....	30
3.2.3.3 Teste de Tolerância à Insulina.....	30
3.2.4 Avaliações Hemodinâmicas e Autonômicas.....	31
3.2.4.1 Canulação.....	31
3.2.4.2 Registro Direto da Pressão Arterial.....	32
3.2.4.3 Avaliação da Modulação Autonômica Cardiovascular.....	33
3.2.5 Função Renal.....	33

3.2.5.1 Coleta de Plasma.....	33
3.2.5.2 Dosagem de Ureia e Creatinina Plasmática.....	33
3.2.6 Coleta de Tecido Renal.....	33
3.2.6.1 Mediadores Inflamatórios.....	33
3.2.6.1.1 Preparação do Tecido.....	33
3.2.6.1.2 Dosagem de Citocinas.....	34
3.2.6.2 Perfil de Estresse Oxidativo.....	34
3.2.6.2.1 Preparação do Tecido.....	34
3.2.6.2.2 Espécies Pró-Oxidantes.....	34
3.2.6.2.3 Mensuração de Antioxidantes.....	35
3.2.6.2.4 Marcadores de Dano Celular.....	36
3.2.6.2.5 Biodisponibilidade de Óxido Nítrico.....	37
3.7 Análise Estatística.....	37
4. RESULTADOS.....	38
4.1 PROTOCOLO 1.....	38
4.1.1 Parâmetros Metabólicos.....	38
4.1.2 Parâmetros Hemodinâmicos e Autonômicos.....	41
4.1.3 Mediadores Inflamatórios em Tecido Renal.....	43
4.1.4 Perfil de Estresse Oxidativo e Biodisponibilidade de NO em Tecido Renal.....	44
4.2 PROTOCOLO 2.....	51
4.2.1 Parâmetros Metabólicos.....	51
4.2.2 Parâmetros Hemodinâmicos e Autonômicos.....	53
4.2.3 Parâmetros de Função Renal.....	55
4.2.3 Mediadores Inflamatórios em Tecido Renal.....	55
4.2.4 Perfil de Estresse Oxidativo e Biodisponibilidade de NO em Tecido Renal.....	56
5. DISCUSSÃO.....	61
6. CONCLUSÃO.....	79

1. INTRODUÇÃO

1.1 SÍNDROME METABÓLICA E CONSUMO DE FRUTOSE

A Síndrome Metabólica (SM) é caracterizada como um distúrbio complexo relacionado a desordens metabólicas que se apresentam como adiposidade abdominal, resistência à insulina/ intolerância à glicose, hipertensão e dislipidemia manifestada como aumento de triglicerídeos e redução de colesterol HDL^{1,2}. Considera-se um quadro de SM a presença de três ou mais dessas desordens, tendo obrigatoriamente adiposidade abdominal manifesta, entretanto alguns outros fatores predisponentes podem ser elencados como estado pró-inflamatório e pró-trombótico, disfunção endotelial, doença hepática gordurosa não-alcóolica, microalbuminúria e hiperurcemia³.

É bem estabelecido na literatura que a SM aumenta o risco cardiovascular em ambos os sexos^{4,5}. Neste sentido, uma revisão sistemática de Mottillo et al., 2010 com 87 estudos mostrou associação entre SM e aumento de até 2 vezes no risco cardiovascular, mortalidade cardiovascular e acidente vascular encefálico (AVE), além do aumento de 1,5 vez no risco de mortalidade por todas as causas⁶. Neste contexto, vale ainda destacar que as doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de mortalidade prematura (até os 70 anos) no Brasil, representando aproximadamente 42% dos óbitos em 2017⁷.

Como mecanismos responsáveis pelo risco cardiovascular inerente à SM, o aumento de tecido adiposo visceral promove resistência à insulina e hiperglicemia, elevação da pressão arterial, estado pró-trombótico e pró-inflamatório; ademais a dislipidemia resulta também na formação de placas ateroscleróticas⁶. Igualmente, o estado de resistência à insulina e hiperinsulinemia é capaz de provocar o aumento do espessamento de íntima-média, maior atividade plaquetária e rigidez arterial que juntos contribuem para disfunção endotelial⁸.

Estudos já relataram o estabelecimento de dislipidemia, resistência à insulina, intolerância à glicose e hipertensão, portanto fatores relacionados à SM, pelo consumo exacerbado de frutose⁹⁻¹¹. A frutose é um monossacarídeo presente naturalmente em alguns alimentos como mel, frutas e vegetais¹². Por sua vez, o xarope de milho de alta frutose, também chamado de HFCS (do inglês – *High Fructose Corn Syrup*), pode ser obtido através do processo de isomerização da glicose¹³. O HFCS é considerado um açúcar mais doce que a própria sacarose sendo amplamente

utilizado na indústria alimentícia para adoçar alimentos ultra processados, bem como estender seu prazo de validade, dadas estas propriedades seu uso tem sido bastante elevado, e atualmente constitui uma fonte de alta carga de frutose^{13,14}.

A maior ingesta de bebidas industrializadas, por conseguinte de HFCS, constitui aproximadamente 50g de frutose por dia na população americana, o que contribui para aproximadamente 200kcal diárias. Estudos destacam o consumo exacerbado de frutose como um dos fatores responsáveis para o aumento da prevalência de sobrepeso/ obesidade^{9,15}. Dados de estudos experimentais demonstraram que, de fato, a sobrecarga de frutose (HFCS) predispõe o ganho de peso, e favorece alterações como ativação do sistema-renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), inflamação e resistência à leptina¹⁶⁻¹⁸. Logo, é sugestivo relacionar o consumo exacerbado de frutose como determinante para o surgimento do quadro de SM, uma vez que se observam desordens metabólicas compatíveis às supracitadas^{15,19}.

Em parâmetros cardiovasculares, nosso grupo já demonstrou que o consumo crônico de frutose em ratos Wistar machos e fêmeas leva a aumento da pressão arterial (PA) e da sua variabilidade (VPA), disfunção autonômica, aumento da frequência cardíaca (FC), mudanças na morfometria ventricular esquerda e disfunção diastólica, acompanhados de inflamação e estresse oxidativo²⁰⁻²⁴.

1.2 CONSUMO DE FRUTOSE E PROGRAMAÇÃO METABÓLICA

A teoria das Origens Desenvolvimentistas da Saúde e Doença (no inglês *DOHaD – Developmental Origins of Health and Disease*), é baseada no conceito de que a gestação e lactação são períodos críticos capazes de modular o metabolismo da prole ao longo da vida, sendo que doenças relacionadas ao estilo de vida se desenvolvem por consequência das alterações metabólicas ocasionadas pelas condições adversas durante o desenvolvimento fetal e na primeira infância, portanto um fenômeno de programação metabólica²⁵. Este conceito surge de estudos de Barker e colaboradores que propunham que o ambiente intrauterino de carência nutricional tornaria o feto/ neonato metabolicamente mais poupador de energia, facilitando o ganho de peso durante infância, adolescência e idade adulta devido à maior disponibilidade de alimentos/ oferta energética, elevando o risco de desenvolvimento de doenças metabólicas ao longo da vida²⁶. Estudos em modelos

experimentais demonstraram que o consumo de frutose é capaz de modificar o metabolismo materno e da prole (programação metabólica), podendo causar aumento de triglicérides hepáticos, intolerância à glicose e hiperinsulinemia, fatores estes predisponentes para o quadro de SM²⁷⁻³¹.

Estudo experimental de Alzamendi et al.³², 2010 demonstrou que a dieta com 10% de frutose para genitoras, no período de lactação, foi suficiente para levar ao aumento de peso corporal, maior ingesta calórica e hiperinsulinemia na prole com 60 dias de vida. Ainda nesta linha, Carapeto et al.³³, 2018 mostraram que a dieta rica em frutose por 8 semanas, somente para os genitores machos (pais) ou genitoras fêmeas (mães), foi capaz de desregular hormônios relacionados ao balanço da ingesta alimentar (aumento de leptina e redução de adiponectina) na prole, ademais quando ambos genitores foram expostos a esta dieta houve um aumento de parâmetros inflamatórios (NFkB, JNK, TNF- α , IL-1 β e IL-6) no fígado da prole.

Para além de efeitos a curto prazo, evidências recentes têm demonstrado que o consumo de frutose dos genitores é capaz de modular o metabolismo da prole a longo prazo. Estudos de Koo et al.³⁴, 2021 e Saad et al.³⁵, 2016 mostraram que a prole já adulta (7 meses e 1 ano de vida respectivamente) apresentou alterações metabólicas, isto é, aumento de triglicérides hepáticos, pressão arterial e resistência à insulina. Chao et al.³⁶, 2020 mostraram que, na prole de animais frutose, houve maior expressão de receptores 1 de Angiotensina II (AT1R) e ativação de estresse oxidativo no núcleo rostro ventro lateral (RVLM) do bulbo, região responsável pela atividade simpática tônica. Seong et al.³⁷, 2019 apresentaram uma ativação multigeracional do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) pelo consumo de frutose dos genitores. Ambos estudos apontam maior atividade simpática e do SRAA como possíveis mecanismos diretos responsáveis pelo aumento pressórico observado na prole^{36,37}.

Os efeitos a longo prazo em humanos não estão totalmente elucidados devido ao tempo de seguimento dos estudos e limitado número de amostras, mas sabe-se que a frutose é capaz de atravessar a placenta humana, tendo sido encontrada na circulação fetal^{38,39}. Neste sentido, apesar dos avanços científicos, há uma escassez de dados a longo prazo na prole devido ao consumo de frutose pelos genitores, e considerando que as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são influenciadas por hábitos de vida, mais estudos nesta linha devem ser encorajados.

1.3 DOENÇA RENAL E RISCO CARDIOVASCULAR: ASPECTOS METABÓLICOS

A síndrome cardiorrenal (SCR) caracteriza-se por um processo patológico no qual a disfunção renal induz disfunção cardíaca ou vice-versa, sendo que efeitos diretos ou indiretos em cada órgão podem iniciar e/ou perpetuar desordens em ambos os órgãos através de mecanismos de feedback neuro-hormonais. A SCR pode ser classificada em 5 tipos, onde danos cardíacos ocasionam danos renais (tipo I e tipo II, respectivamente danos agudos e crônicos), danos renais causando danos cardíacos (tipos III e IV, respectivamente danos agudos e crônicos), ou ainda danos sistêmicos que contribuem para prejuízo funcional em ambos os órgãos (tipo V)⁴⁰.

Embora os mecanismos de conexão entre ambas disfunções não estejam ainda totalmente esclarecidos, a curto prazo já se observa que a queda da taxa de filtração glomerular (TFG) ativa vias de retenção de sódio, aumento da atividade simpática e do SRAA, contribuindo para o estabelecimento ou piora de um quadro hipertensivo que culminará em um processo de adaptação cardiovascular. Na cronicidade o dano renal promove acúmulo de toxinas urêmicas com consequente estado de inflamação crônica de baixo grau, fatores que levam à disfunção endotelial bem como formação e progressão de placa aterosclerótica⁴⁰.

Ainda que na insuficiência renal aguda (IRA) ocorram alterações volêmicas que contribuem de forma significativa para danos cardiovasculares, é a doença renal crônica (DRC) que se caracteriza por marcada alteração cardiometabólica^{41,42}. A DRC afeta 8 – 16% da população global, e em 2016 foi a 16ª causa de anos de vida perdidos em todo o mundo, principalmente devido às suas complicações cardiovasculares, sendo que espera-se que suba para a 5ª causa até 2040, uma vez que apresenta manejo custoso a DRC representa um desafio significativo para os sistemas de saúde^{43,44}.

Para além disto, sabe-se que alterações cardiometabólicas como resistência à insulina e hipertensão arterial constituem fatores de risco tradicionais para o estabelecimento da DRC, respectivamente, doença renal diabética e nefroesclerose hipertensiva^{6,45}. A nefroesclerose hipertensiva caracteriza-se como estágio prévio à DRC, baseada na exposição à elevada pressão arterial por 10 anos ou mais⁴⁶. Já a doença renal diabética (antes chamada de nefropatia diabética) afeta aproximadamente 40% dos pacientes diabéticos, compreendendo a principal causa

de estágio terminal da doença renal em todo mundo, e também correlacionando-se a fatores de risco para doenças cardiovasculares^{47,48}.

Importante salientar que tanto o quadro de resistência à insulina quanto de aumento da PA são fatores da SM que contribuem de forma interligada para lesão renal^{46,49}. A resistência à insulina promove um ambiente hiperglicêmico que, no tecido renal, leva à podocitopatia. Além disso, agudamente, para evitar a perda urinária de glicose, ocorre o aumento na expressão do transportador sódio-glicose SGLT1 (do inglês – *sodium glucose transporter 1*), o que contribui diretamente para aumento de volemia e consequente elevação de pressão arterial, através de menor excreção de sódio. O aumento pressórico provoca estresse de parede glomerular e aumento de tônus vascular, que leva a um remodelamento vascular e isquemia tubular renal, culminando na perda progressiva de néfrons. Além disto, a disfunção endotelial, ocasionada tanto pelo aumento da pressão quanto pelo ambiente hiperglicêmico pode contribuir para inflamação túbulo intersticial^{8,50}.

1.4 VARIABILIDADE DA PRESSÃO ARTERIAL, INFLAMAÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO COMO MECANISMOS DE DISFUNÇÃO

Para além das ações diretas da resistência à insulina e hipertensão arterial no estabelecimento da DRC, ambos fatores compartilham mecanismos indiretos que cursam com a piora da função renal. Neste sentido, ao longo das últimas décadas, evidências vêm mostrando que, além dos valores absolutos de PA, o aumento em sua variabilidade (VPA) está associado ao desenvolvimento, progressão e gravidade de danos cardiovasculares e renais, juntamente com aumento do risco de mortalidade cardiovascular^{51,52}. Resultados em modelos animais demonstraram uma relação entre a maior flutuação nos valores da PA e o desenvolvimento de lesão em órgãos-alvo^{53,54}.

Este aumento na VPA cursa com elevada atividade da alça simpática do sistema nervoso autônomo (SNA) e redução da sensibilidade do barorreflexo, um dos sistemas de controle da PA^{52,55}. Evidências mostram que essas flutuações da PA a curto e longo prazo estão relacionadas ao desenvolvimento, progressão e severidade de danos cardiovasculares e renais⁵². Estudo de Mallamaci; Tripepi⁵⁶, 2013 em pacientes com DRC (estágios 2 – 5) mostrou que o aumento da VPA foi associado ao maior risco de morte e eventos cardiovasculares, independentemente do valor absoluto da PA e de alteração em marcadores da função renal como redução da taxa

de filtração glomerular estimada, proteinúria, anemia e hipoalbuminemia. De fato o aumento da VPA e disfunção autonômica são fatores comuns na DRC, e podem contribuir diretamente para o aumento do risco cardiovascular⁵¹.

Dados do nosso grupo demonstraram que o consumo exacerbado de frutose leva à disfunção autonômica que precede o aumento de mediadores inflamatórios, traçando um paralelo entre atividade do SNA e inflamação^{20,21,57}. A inflamação desempenha um papel importante na gênese de diversas condições crônicas como doenças cardiometabólicas⁵⁸. Cabe ressaltar que há associação entre prejuízo renal e diferentes marcadores inflamatórios como IL-6, TNF- α , fibrinogênio e proteína C reativa (PCR), mesmo em pacientes com perda moderada de função renal, sugerindo que o dano renal também caracteriza-se como um processo inflamatório de baixo grau^{59–61}.

Por sua vez, o estresse oxidativo (EO) pode ser entendido como um desequilíbrio no balanço redox marcado por maior formação e ação de compostos pró-oxidantes, entre estes as espécies reativas de oxigênio (EROs), e menor atuação dos sistemas de defesa antioxidantes celulares⁶². Evidências apontam que EROs participam diretamente da gênese e progressão de doenças cardiometabólicas e renais principalmente através da disfunção endotelial e aumento de resistência vascular periférica^{63,64}.

As EROs são produzidas através da ação de células do sistema imune, outrossim a inflamação é sensível ao balanço redox, sendo que a maior ativação de células imunes e infiltrado inflamatório ocorrerá em ambientes oxidantes, uma vez que as EROs são capazes de ativar fatores de transcrição pró-inflamatórios como NF κ B, estabelecendo um ciclo vicioso inflamação – estresse oxidativo que contribui para piora da função renal^{62,65,66}. Cabe ressaltar que um aumento da produção de EROs e infiltrado inflamatório contribuem para podocitopatia e inflamação tubulointersticial que promovem glomeruloesclerose e fibrose renal, portanto, sendo mecanismos que associam-se ao dano renal^{49,67–70}.

Alterações metabólicas e hemodinâmicas comuns na SM influenciam e determinam o estabelecimento deste ciclo vicioso⁷¹. Ações pró-inflamatórias e pró-oxidantes são desencadeadas por resistência à insulina e aumento de pressão arterial^{72,73}. Ademais, moléculas bioativas liberadas a partir do tecido adiposo, também chamadas de adipocinas, associam-se às EROs contribuindo para estabelecimento

do quadro de EO mediante diferentes mecanismos moleculares como formação de ânion superóxido (O_2^-) via NADPH oxidase (NOX) e fosforilação oxidativa^{62,74,75}. Somado a isso, estudos apontam que obesidade central, resistência à insulina e hiperinsulinemia, fatores comuns à SM, aumentam a lipoperoxidação (dano oxidativo aos lipídios de membranas celulares) e reduzem os antioxidantes plasmáticos, sugerindo uma estreita interligação entre síndrome metabólica e estresse oxidativo⁷⁶⁻⁷⁹. Por fim, o quadro de EO durante a gestação predispõe anormalidades metabólicas no desenvolvimento intrauterino e a longo prazo na prole⁸⁰.

1.5 PAPEL DO TREINAMENTO FÍSICO NAS DISFUNÇÕES ASSOCIADAS AO CONSUMO DE FRUTOSE

Os efeitos benéficos do treinamento físico como uma abordagem não farmacológica na prevenção e tratamento de hipertensão, resistência à insulina/diabetes, dislipidemia, obesidade e síndrome metabólica já estão bem estabelecidos⁸¹⁻⁸⁴.

Estudos do nosso grupo com animais Wistar e SHR (do inglês – *Spontaneously Hypertensive Rats*), submetidos a diferentes modalidades de treinamento físico, ressaltam a melhora em perfil metabólico e hemodinâmico, bem como melhora da atividade autonômica por meio de uma redução da modulação simpática, aumento do tônus vagal e melhora da sensibilidade do barorreflexo, seguida de redução em marcadores inflamatórios e de EO^{23,85,86}. O treinamento físico também apresenta benefícios autonômicos, inflamatórios e no perfil de EO em indivíduos saudáveis⁸⁷⁻⁸⁹. Adicionalmente, estudos do nosso grupo, demonstraram que modalidades de treinamento físico aeróbico e combinado foram capazes de prevenir disfunções cardiometabólicas e de EO em ratos submetidos à sobrecarga de frutose^{22,23,90}.

Estudo de Dragusha et al.⁹¹, 2010 com pacientes portadores de síndrome metabólica, observou que após um período de seis meses de treinamento físico aeróbico, associado à dieta, ocorreu uma diminuição do índice de massa corporal, dos níveis de triglicerídeos, colesterol, glicose sanguínea e pressão arterial. Eleutério-Silva et al.⁹², 2013 observaram melhora da função renal e redução de marcadores sistêmicos de estresse oxidativo, após 18 sessões de exercício físico aeróbico em mulheres portadoras de síndrome metabólica. Há evidências demonstrando que o exercício promove benefícios em pacientes com DRC através do aumento da massa

muscular, redução de risco cardiovascular e inflamação sistêmica, bem como melhora da qualidade de vida^{93–95}.

Neste sentido, nesse estudo buscamos compreender as alterações renais na prole de modelo experimental de SM induzida por sobrecarga de frutose, bem como os efeitos do treinamento físico aeróbio em parâmetros metabólicos, hemodinâmicos/ autonômicos, e marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo renais.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo deste estudo foi avaliar parâmetros metabólicos, hemodinâmicos/ autonômicos, inflamatórios e de estresse oxidativo no tecido renal da prole de ratos Wistar submetidos à sobrecarga de frutose, bem como o papel do treinamento físico nessa condição.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar as alterações em um curso temporal (desmame, 7 e 30 dias após o desmame) na prole dos genitores controle e frutose (Protocolo 1), bem como o papel do treinamento físico aeróbio na prole (Protocolo 2), sobre os seguintes parâmetros:

- **Parâmetros Metabólicos:** peso corporal, glicemia, triglicérides plasmáticos (TG), teste de tolerância à insulina (KITT).
- **Parâmetros Hemodinâmicos e Autonômicos:** pressão arterial sistólica (PAS), e modulação autonômica cardiovascular (desvio padrão da PAS – DP-PAS, variância da PAS – VAR-PAS, e modulação simpática vascular – LF-abs).
- **Parâmetros da Função Renal:** ureia e creatinina plasmática (somente no protocolo 2).
- **Parâmetros Inflamatórios em Tecido Renal:** TNF- α , IL-6, IL-10.
- **Parâmetros de Estresse Oxidativo e Biodisponibilidade de Óxido Nítrico em Tecido Renal:** Espécies Pró-oxidantes: ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e NADPH oxidase; Espécies Antioxidantes: catalase, superóxido dismutase, glutathione peroxidase e antioxidantes não enzimáticos (FRAP); Dano Celular evidenciado por lipoperoxidação e proteínas carboniladas e Biodisponibilidade de Óxido Nítrico evidenciada pela concentração de nitritos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS E GRUPOS

Os procedimentos e protocolos foram autorizados pelos Comitês de Ética em Experimentação no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Nove de Julho (**CEUA-UNINOVE Nº AN0018.2016**) e da Universidade Federal de São Paulo (**CEUA-UNIFESP Nº 3150050619**). **No presente trabalho utilizamos o tecido renal, cuja retirada foi previamente autorizada.**

Os animais (ratos Wistar) provenientes dos biotérios da Universidade Nove de Julho ficaram alojados em gaiolas contendo de 3-5 animais cada, a 22-24°C com ciclo invertido dia/noite de 12h, recebendo ração padrão laboratorial e água *ad libitum* (grupo controle) ou 10% de frutose diluída na água (grupo frutose).

Todos os procedimentos deste projeto seguiram as orientações de Ética em Cuidados de Animais Experimentais aprovados pelo Institutional Animal Care and Use Committee e a sustentabilidade dos 3 R's proposto na publicação dos Princípios das Técnicas Experimentais Humanas (*The Principles of Human Experimental Technique*) por Willian Russell e Rex Burch, em 1959, visando a redução do número de animais na pesquisa, melhorando a condução do estudo e consequentemente minimizando algum possível desconforto a um outro animal.

Para atingir o objetivo proposto, toda parte *in vivo* deste estudo foi realizada conforme sequência experimental a seguir (Figura 1):

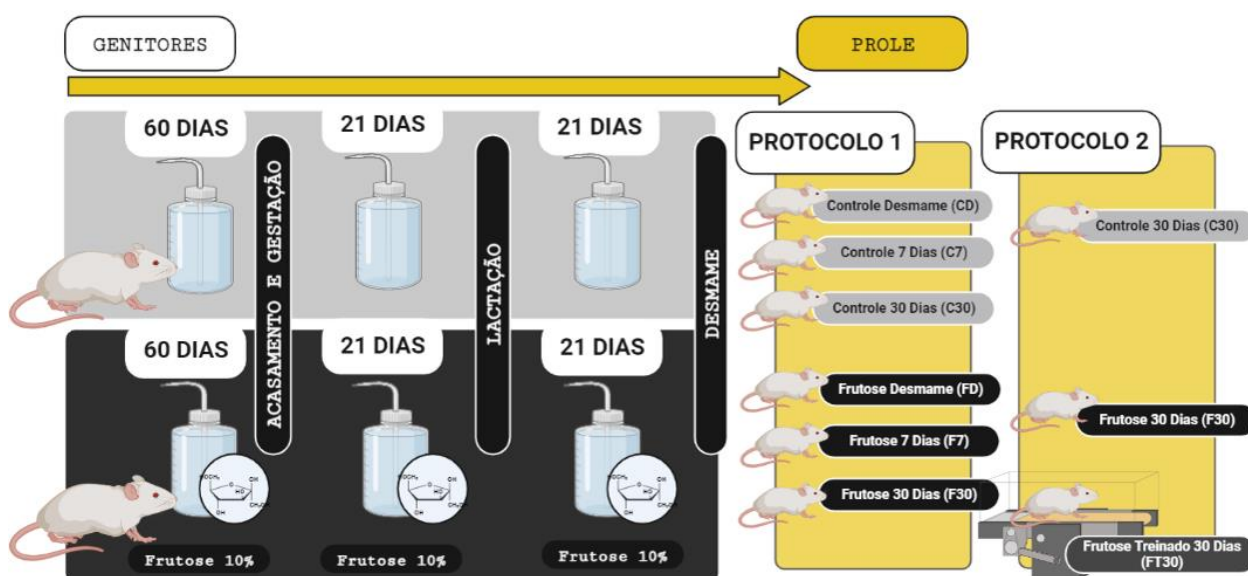


Figura 1 – Sequência Experimental dos Protocolos. Fonte: Autoria própria

3.1.1 GENITORES

A primeira parte do estudo foi conduzida como parte de projetos de doutorado e pós-doutorado, e consistiu em separar os animais em dois grupos de 12 animais cada (3 machos e 9 fêmeas por grupo). O grupo controle recebeu água *ad libitum* por um período de 60 dias (dos 30 aos 90 dias de vida). O grupo frutose recebeu sobrecarga de frutose (10%) na água de beber, pelo mesmo período de 60 dias (dos 30 aos 90 dias de vida). Em ambos os grupos a ração foi oferecida de modo irrestrito.

Após os 60 dias de acompanhamento ou sobrecarga de frutose, cada rato macho foi alocado em caixa apropriada com 3 fêmeas para propiciar o acasalamento. Comprovada a monta, os machos foram eutanasiados. As fêmeas foram alocadas em um animal por caixa sendo mantido o fornecimento de água ou frutose durante os períodos de gestação e lactação.

3.1.2 PROLE

Após o nascimento a prole seguiu o período de lactação de 21 dias com suas respectivas genitoras. Ao final do período de lactação (desmame), as genitoras foram eutanasiadas. No dia 21 foram formados os seguintes protocolos e grupos:

3.1.2.1 PROTOCOLO 1

- **Controle Desmame (CD):** 5 machos e 5 fêmeas totalizando 10 animais dos genitores controle que foram avaliados aos 21 dias de vida, ou seja, logo após o desmame.
- **Frutose Desmame (FD):** 5 machos e 5 fêmeas totalizando 10 animais dos genitores frutose que foram avaliados aos 21 dias de vida, ou seja, logo após o desmame.
- **Controle 7 dias (C7):** 5 machos e 5 fêmeas totalizando 10 animais dos genitores controle que foram avaliados 7 dias após o desmame (28 dias de vida).
- **Frutose 7 dias (F7):** 5 machos e 5 fêmeas totalizando 10 animais dos genitores frutose que foram avaliados 7 dias após o desmame (28 dias de vida).

- **Controle 30 dias (C30):** 5 machos e 5 fêmeas totalizando 10 animais dos genitores controle que foram avaliados 30 dias após o desmame (51 dias de vida).
- **Frutose 30 dias (F30):** 5 machos e 5 fêmeas totalizando 10 animais dos genitores frutose que foram avaliados 30 dias após o desmame (51 dias de vida).

3.1.2.2 PROTOCOLO 2

- **Controle 30 dias (C30):** 5 machos e 5 fêmeas totalizando 10 animais dos genitores controle que foram avaliados 30 dias após o desmame (51 dias de vida). Sendo os mesmos animais do protocolo 1.
- **Frutose 30 dias (F30):** 5 machos e 5 fêmeas totalizando 10 animais dos genitores frutose que foram avaliados 30 dias após o desmame (51 dias de vida). Sendo os mesmos animais do protocolo 1.
- **Frutose Treinado 30 dias (FT30):** 4 machos e 4 fêmeas totalizando 8 animais dos genitores frutose que foram submetidos ao treinamento físico aeróbio logo após o desmame e avaliados após 30 dias (51 dias de vida).

Todos os grupos foram avaliados com relação a parâmetros metabólicos, hemodinâmicos e autonômicos em estudos prévios autorizados pela CEUA (CEUA-UNINOVE Nº AN0018.2016 e CEUA-UNIFESP Nº 3150050619). Os rins de todos os animais foram coletados nos protocolos e foram avaliados com relação a parâmetros inflamatórios e de estresse oxidativo. Não foram analisados grupos separados por sexo em função da maturidade sexual ser atingida em torno de 60 dias de vida do rato, e as avaliações neste estudo foram anteriores a este período.

3.2 PROCEDIMENTOS

3.2.1 MODELO EXPERIMENTAL DE SÍNDROME METABÓLICA

Os genitores frutose foram submetidos à ingestão de frutose (D-frutose, 100g/L) na água de beber^{22,96}. O consumo de frutose seguiu até o acasalamento (machos) ou final da lactação (fêmeas).

3.2.2 TESTE DE ESFORÇO E TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO

Foram realizados somente na prole frutose treinada 30 dias (FT30). O teste de esforço foi realizado em esteira adaptada, constituiu em um protocolo escalonado com incrementos de velocidade de 0,3 km/h a cada 3 minutos, até que fosse atingida a velocidade máxima suportada pelos animais. O critério utilizado para a determinação da exaustão do animal, e interrupção do teste, foi o momento em que o rato não foi mais capaz de correr mediante o incremento de velocidade da esteira⁹⁷. O protocolo de treinamento físico aeróbio se iniciou logo após o desmame ($\approx$ 21 dias de vida) sendo realizado em esteira adaptada com velocidade e carga progressiva, durante 4 semanas, a 40-60% da velocidade máxima alcançada no teste de esforço^{16,98,99}.

3.2.3 AVALIAÇÕES METABÓLICAS

3.2.3.1. PESO CORPORAL

Todos os animais foram pesados em balança analítica comum.

3.2.3.2. MEDIDA DE GLICEMIA E TRIGLICÉRIDES PLASMÁTICOS

Todos os animais foram submetidos ao jejum de 4 horas, posteriormente foi retirada uma gota de sangue da cauda para análise da glicose plasmática (Accucheck, Roche) e para medida dos triglicérides sanguíneos (Accutrend GTC, Roche).

3.2.3.3. TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA

Os animais, submetidos ao 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)¹⁰⁰.

3.2.4 AVALIAÇÕES HEMODINÂMICAS E AUTONÔMICAS

3.2.4.1 CANULAÇÃO

Os animais foram anestesiados (i.p.) com cloridrato de cetamina (80 mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis) e cloridrato de xilazina (12 mg/Kg, Rompum, Bayer) e colocados em decúbito dorsal, foi realizada uma pequena incisão na região do pescoço para implantação de uma cânula na artéria carótida em direção ao ventrículo esquerdo, para registro direto da Pressão Arterial (PA), e na veia jugular para administração de drogas vasoativas. Após a implantação das cânulas as extremidades mais calibrosas destas foram passadas subcutaneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical e fixadas à pele com fio de algodão (Figura 2). 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^{82,101}.

Ao término do procedimento foram administrados analgésicos Tramadol (5mg/kg) e Dipirona (50mg/kg) por via subcutânea de 8/8 horas.



Figura 2 – Localização das cânulas pós procedimento de canulação. Fonte: Laboratório de Fisiologia do Exercício – Universidade Federal de São Paulo

3.2.4.2 REGISTRO DIRETO DA PRESSÃO ARTERIAL

No dia seguinte à canulação, com os animais acordados, 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, foi conectado a um pré-amplificador (Figura 3) (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)^{82,98,101–104}.



Figura 3 – Sistema de Registro da Pressão Arterial. Fonte: Laboratório de Fisiologia do Exercício – Universidade Federal de São Paulo

3.2.4.3 AVALIAÇÃO DA MODULAÇÃO AUTÔNOMICA CARDIOVASCULAR

A variabilidade da PAS foi avaliada no domínio do tempo (variância) e no domínio da frequência usando a transformada rápida de Fourier. Neste método, séries temporais da PAS foram divididas em segmentos de 350 batimentos com sobreposição de 50%. Um espectro foi obtido para cada um dos segmentos via recurso de Levinson-Durbin, com a ordem modelo escolhido de acordo com critério de Akaike, variando entre 10 e 14. No domínio do tempo foram avaliados o desvio

padrão da PAS e a variância da PAS. No domínio da frequência o componente de baixa frequência (LF) do espectro foi quantificado^{105,106}.

3.2.5 FUNÇÃO RENAL

3.2.5.1 COLETA DE PLASMA: O sangue foi coletado imediatamente após a eutanásia, e o plasma foi obtido após centrifugação a 4°C (5804R - Eppendorf®, Hamburgo, Alemanha), então foi congelado e armazenado em freezer a -80°C.

3.2.5.2 DOSAGEM E CREATININA E UREIA PLASMÁTICA: A creatina plasmática foi dosada em duplicata nos animais do protocolo 2 em microplaca com 20µl de plasma, 160µl de tampão e 10µl de picrato, a cinética de leitura foi realizada em leitor de microplacas a 510nm por 5 minutos conforme especificações do kit (CREATININA K VET 300 LABTEST). Os valores mais lineares foram usados para cálculo do delta de variação sendo posteriormente multiplicado pelo fator obtido através da variação do padrão de 2mg/dL presente no kit. A ureia foi dosada em microplaca com 10µl de plasma e 100µl de urease tamponada, a placa foi agitada e incubada a 37°C por 5 minutos, posteriormente foi adicionado reagente oxidante de uso, seguido de nova agitação e incubação da placa 37°C por 5 minutos, a leitura foi realizada em leitor de microplaca a 600nm, a curva foi realizada com 10µl de diferentes concentrações da solução padrão de ureia presente no kit (UREIA UV LIQUIFORM LABTEST).

3.2.6 COLETA DE TECIDO RENAL

Conforme autorização da CEUA (CEUA-UNINOVE Nº AN0018.2016 e CEUA-UNIFESP Nº 3150050619) os animais foram eutanasiados por decapitação após anestesia prévia, e os rins foram coletados, desencapsulados e congelados (-80°C).

3.2.6.1 MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

3.2.6.1.1 PREPARAÇÃO DO TECIDO

O tecido renal foi cortado em balança analítica, e aproximadamente 100 mg foram utilizadas para dosagem de mediadores inflamatórios. Em microtubo foram adicionados ao tecido 400µl de Tampão Tris-Base (100 mM) + EDTA (10 mM), e 4µl

de coquetel pronto inibidor de protease (Sigma P830), com posterior homogeneização em homogeneizador Ultra 80 Turrax blender (Ultra Stirer®, Malasia). Posteriormente, o órgão foi incubado com 40µl de Triton 1% durante 30 minutos no gelo. Transcorrido o tempo, o homogeneizado foi centrifugado a 12.000 rpm por 30 min em centrífuga refrigerada a 4°C (5804R - Eppendorf®, Hamburgo, Alemanha), e o sobrenadante obtido foi congelado no freezer a -80°C.

3.2.6.1.2 DOSAGEM DE CITOCINAS

As dosagens de interleucinas (IL-6 e IL-10) e TNF-α foram realizadas em microplacas (96 poços) sensibilizadas com o anticorpo para a proteína de interesse. Foi realizado um bloqueio prévio de ligações inespecíficas e posterior incubação das amostras experimentais, contendo a proteína (antígeno) a ser dosada. Foi feita a incubação com anticorpo ligado a enzima marcada com peroxidase, e posterior reação com cromógeno. Na mesma placa, foi feita a curva-padrão, usada para o cálculo da quantidade de proteína por poço. A absorbância foi medida em aparelho leitor de microplaca a 550 nm. Foram utilizados kits específicos para ratos: *Rat TNFα*, *Rat IL-6* e *Rat IL-10* (R&D Systems)²³.

3.2.6.2 PERFIL DE ESTRESSE OXIDATIVO

3.2.6.2.1 PREPARAÇÃO DOS TECIDOS E QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNA

O tecido renal foi cortado em um meio com Buffer Fosfato (30 mM) com KCl (120mM) e PMSF – solução inibidora de proteases (100mM), e triturado em homogeneizador Ultra 80 Turrax blender (Ultra Stirer®, Malasia), posteriormente foi centrifugado em centrífuga refrigerada a 4°C (5804R - Eppendorf®, Hamburgo, Alemanha), e o sobrenadante foi congelado e armazenado em freezer a -80°C²³.

A quantificação de proteínas foi realizada pelo método descrito por Lowry et al., usando solução de albumina bovina como padrão. A absorbância foi mensurada em espectrofotômetro IL-593 (Kazuaki®, Wuxi, China) a 280 nm¹⁰⁷.

3.2.6.2.2 ESPÉCIES PRÓ-OXIDANTES

ÂNION SUPERÓXIDO: O ânion superóxido (O₂⁻) foi determinado em homogeneizado renal pela taxa de oxidação da adrenalina lida em espectrofotômetro IL-593 (Kazuaki®, Wuxi, China) a 480nm. O ensaio foi feito com 900µL de tampão glicina (50mM), 50µL de homogenato, 40µL de catalase, descontando contra um

branco desta mistura e adicionado 30µL de adrenalina, conforme descrito por McCord & Fridovich¹⁰⁸.

PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO: O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi mensurado através da oxidação de vermelho de fenol mediada pela solução de peroxidase rabanete (PRS). O ensaio foi realizado em microplaca (96 poços) e consistiu em 70µL de homogenato, 180µL de PRS (tampão dextrose + vermelho de fenol + peroxidase rabanete), incubado a 25°C por 25 minutos, e a reação foi parada adicionando-se 5µL de NaOH sendo a absorbância lida em 630nm em espectrofotômetro IL-593 (Kazuaki®, Wuxi, China). Para realização da curva foram utilizadas concentrações conhecidas de H_2O_2 seguindo as mesmas etapas¹⁰⁹.

ATIVIDADE DA NADPH OXIDASE: A atividade da enzima foi determinada em homogeneizados de tecido renal e avaliada pela produção de superóxido, em microplaca de 96 poços. Para realização do ensaio foi utilizado 170µL tampão fosfato 50mM contendo EDTA 2mM e sucrose 150mM, 20µL de NADPH 1,3mM e 10µL de homogenato ¹¹⁰.

3.2.6.2.3 MENSURAÇÃO DE ANTIOXIDANTES

CATALASE: A atividade da catalase (CAT) foi determinada medindo-se a decomposição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 240nm. Em cubeta de quartzo foram adicionados 980µL de tampão fosfato (50mmol/L), 10µL de homogenato, sendo esta mistura descontada contra um branco de tampão fosfato. A seguir foram adicionados 10µL de H_2O_2 e foi monitorada a diminuição da absorbância em espectrofotômetro IL-593 (Kazuaki®, Wuxi, China)¹¹¹.

SUPERÓXIDO DISMUTASE: A quantificação da atividade da superóxido dismutase (SOD) é baseada na inibição da reação entre o radical superóxido (O_2^-) com o pirogalol. 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 é definida como a quantidade de enzima que inibe em 50% a velocidade de oxidação no detector. A oxidação do pirogalol leva à formação de um produto colorido, detectado espectrofotometricamente a 420nm durante 2 minutos. A atividade da SOD é determinada medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado em unidades relativas. No meio de reação, foram utilizados 980µL de tampão tris-base (50mmol) com EDTA (1mM), 5µL de CAT, 5µL de homogenato, descontar contra um branco

desta mistura e, por fim, adicionados 10µL de pirogalol 24 mM. A curva padrão foi feita 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. A leitura foi realizada em espectrofotômetro IL-593 (Kazuaki®, Wuxi, China)¹¹².

GLUTATIONA PEROXIDASE: A atividade da glutathione peroxidase (GPx) pode ser determinada medindo-se o consumo de NADPH na reação de redução da glutathione oxidada (GSSG) que é acoplada à reação da GPx. A atividade da GPx foi medida em espectrofotômetro IL-593 (Kazuaki®, Wuxi, China), sendo monitorada a diminuição de absorbância do NADPH a 340nm por 20 segundos. O ensaio consistiu em 540µL de tampão fosfato de sódio (100mM) com EDTA (1mM), 50µL do homogenato, 10µL de GR (glutathione reductase), 300µL de NADPH, 50µL de GSH (glutathione reduzida) e 50µL de hidroperóxido de tert-butila (TboOH)¹¹³.

ANTIOXIDANTES NÃO ENZIMÁTICOS: A capacidade antioxidante não enzimática, do inglês Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), está baseada na produção do íon Fe^{2+} (forma ferrosa) a partir da oxidação do íon Fe^{3+} (forma férrica) presente no complexo 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ). Assim, a mudança na absorbância, é diretamente relacionada ao poder de doação de elétrons presentes na reação. Quando a oxidação ocorre, há uma alteração na tonalidade da mistura de reação, passando de roxo claro a um roxo intenso. A técnica foi realizada em microplaca, na qual adicionou-se a 290µL de reativo de FRAP (tampão acetato de sódio/ ácido acético, TPTZ 10mM; cloreto férrico hexahidratado 20mM) e 10µL de homogenato, a microplaca foi então incubada durante 5 minutos com agitação à 37°C. A leitura foi realizada em espectrofotômetro IL-593 (Kazuaki®, Wuxi, China) a 593nm. Para a curva da reação foi utilizada 290µL de reativo de FRAP e uma solução-padrão de sulfato ferroso heptahidratado¹¹⁴.

3.2.6.2.4 MARCADORES DE DANO CELULAR

DOSAGEM DE PROTEÍNAS CARBONILADAS (DANO ÀS PROTEÍNAS): O ensaio para detecção das carbonilas é uma das técnicas utilizadas para a determinação de proteínas modificadas oxidativamente. A técnica se baseia na reação das proteínas oxidadas do homogeneizado com 2,4 dinitrofenil hidrazina (DNPH) em meio ácido, seguido de sucessivas lavagens com ácidos e solventes orgânicos e incubação final com guanidina. O homogenato foi incubado com DNPH em HCl (2,5 M) por uma hora em ambiente escuro, as amostras foram agitadas a cada 15 minutos,

subsequentemente foi adicionado ácido tricloroacético (TCA) 20%, incubação no gelo por 10 min e centrifugação por 5 min a 2000 rpm para coleta do precipitado de proteínas. Foi realizada lavagens adicionais com TCA 10% e etanol – acetato 1:1. O precipitado foi dissolvido em guanidina (6M) e incubado a 37°C por 10 minutos, a absorbância foi determinada em 360nm em espectrofotômetro IL-593 (Kazuaki®, Wuxi, China)¹¹⁵.

LIPOPEROXIDAÇÃO POR DOSAGEM DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS): O ensaio para detecção de TBARS foi realizado com adição de homogenato em ácido tricloroacético (TCA 10%) para precipitar as proteínas e acidificar as amostras, a mistura foi então centrifugada por 3 min e o sobrenadante foi transferido para tubos de ensaio e mantido a 100°C durante 15 min com a adição de solução de ácido tiobarbitúrico (TBA 0,67%), transcorrido o tempo os tubos foram mergulhados no gelo para interromper a reação. Absorbância foi medida a 535nm em espectrofotômetro IL-593 (Kazuaki®, Wuxi, China)¹¹⁶.

3.2.6.2.5 BIODISPONIBILIDADE DE ÓXIDO NÍTRICO

NITRITOS: Os nitritos refletem indiretamente a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO). Os níveis de nitritos foram medidos pela reação de 50µl de amostra com 50µl de reagente de Griess em microplaca de 96 poços. O total de nitrito foi estimado a partir de uma curva padrão de absorbância em 592nm¹¹⁷.

3.2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram apresentados como média $\pm$ erro padrão. O programa PRISMA (GraphPad Software) foi usado para as análises estatísticas. Os dados foram testados quanto a normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. O teste de análise de variância (ANOVA ONE WAY) seguido do pós-hoc de Student Newman-Keuls foi aplicado para análise dos dados. Foi realizada correlação de Pearson para identificar a associação entre variáveis. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

4. RESULTADOS

Os resultados estão apresentados em dois capítulos. No primeiro capítulo, apresentamos os resultados do protocolo 1, no qual foi avaliado o curso temporal das alterações metabólicas, hemodinâmicas/autonômicas e renais induzidas pelo consumo de frutose dos genitores sob a prole sendo, portanto, as proles C (controle) comparados às proles F (frutose) nos tempos desmame, 7 e 30 dias. No segundo capítulo, apresentamos os resultados do protocolo 2, no qual foram avaliados os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre as alterações observadas na prole dos genitores frutose no tempo de 30 dias.

4.1 CAPÍTULO 1 – PROTOCOLO 1

4.1.1 Parâmetros Metabólicos

O perfil metabólico no curso temporal dos grupos pode ser observado na **Tabela 1 e Figura 4**. Como esperado, foi observado um aumento de peso corporal nos grupos ao longo do tempo, porém sem diferenças entre os grupos C e F nos tempos analisados (**Tabela 1 e Figura 4**).

Embora não tenha sido observada diferença entre os grupos na glicemia, houve aumento de triglicérides na prole frutose desmame e frutose 30 dias comparadas aos seus respectivos controles. Houve redução da sensibilidade à insulina ao longo do tempo em ambos os grupos controle e frutose, mas o consumo de frutose pelos genitores induziu menor sensibilidade à insulina em todos os tempos da prole frutose comparada aos seus respectivos controles (**Tabela 1 e Figura 4**).

Tabela 1 – Parâmetros metabólicos dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo.

Dia de Protocolo Variáveis	Desmame	7 dias	30 dias
Peso (gramas)			
C	56±4	76±3	219±14††
F	62±4	83±8	206±19††
Glicemia (mg/dl)			
C	119±2,6	114±4,3	105±0,0
F	120±3,0	118±6,2	105±3,6
Triglicérides (mg/dl)			
C	91±7,5	99±5,4	94±2,8
F	126±4,8*	105±11,7	132±12,0*
KITT (%/min)			
C	7,0±0,2	6,3±0,2	4,3±0,3††
F	5,7±0,5*	5,0±0,4*	3,2±0,2††*

Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo. KITT = Teste de Tolerância à Insulina.

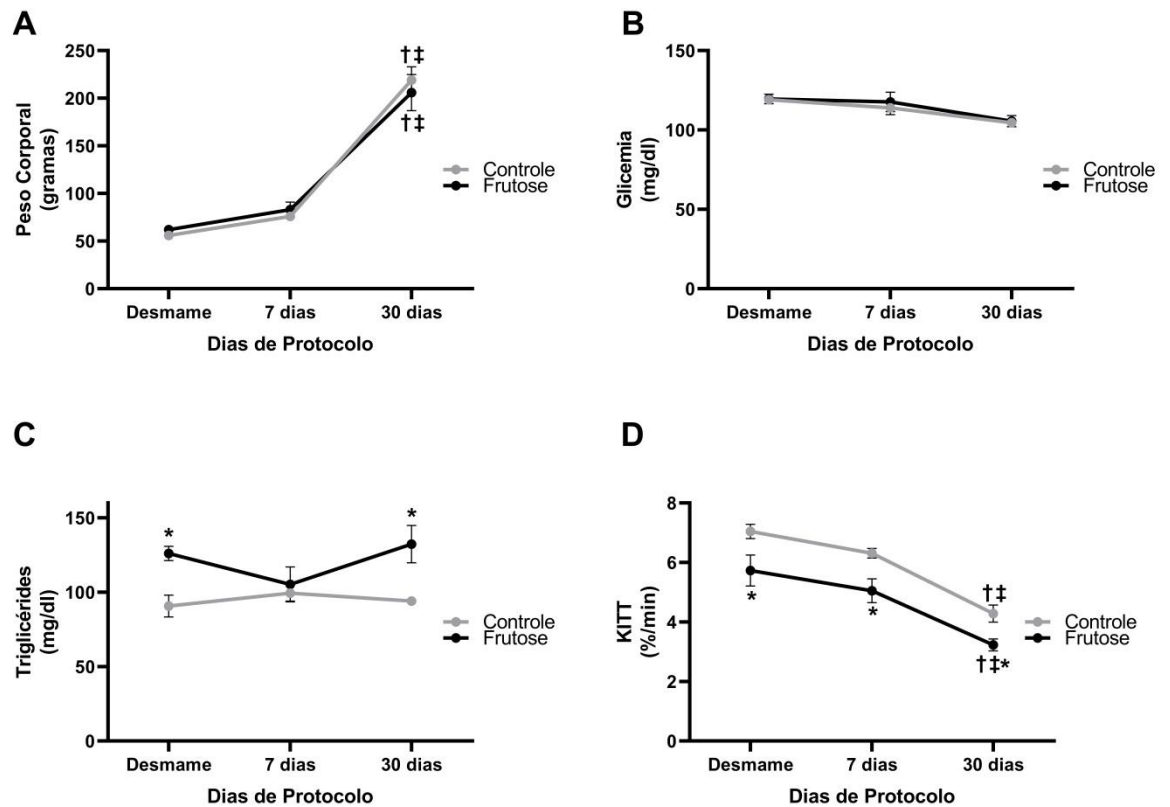


Figura 4 – Parâmetros metabólicos dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. (A) Peso corporal (gramas), (B) glicose sanguínea (mg/dL), (C) triglicérides (mg/dL) e (D) constante de decaimento da glicemia no teste de tolerância à insulina (%/min) dos grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo. KITT = Teste de Tolerância à Insulina.

4.1.2 Parâmetros Hemodinâmicos e Autonômicos

As avaliações hemodinâmicas e autonômicas no curso temporal podem ser observadas na **Tabela 2 e Figura 5**.

Observou-se aumento da PAS em ambos as proles aos 30 dias comparadas aos tempos de desmame e 7 dias. Adicionalmente, a prole frutose 30 dias apresentou maior incremento da PAS quando comparada à prole controle neste tempo.

Somado a isto, foi observado um aumento do desvio padrão da pressão arterial sistólica (DP-PAS) e da variância da pressão arterial sistólica (VAR-PAS) nos grupos frutose 7 dias e frutose 30 dias quando comparados aos seus respectivos grupos controles.

A modulação simpática vascular (LF abs) aumentou nos grupos frutose 7 dias e 30 dias comparados aos seus respectivos grupos controles, adicionalmente houve aumento no grupo frutose 30 comparado ao tempo de 7 dias.

Tabela 2 – Parâmetros hemodinâmicos e variabilidade da pressão arterial dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo.

Dia de Protocolo	Desmame	7 dias	30 dias
Variáveis			
PAS (mmHg)			
C	98±2,2	102±1,8	117±1,6†‡
F	101±3,4	109±2,4	125±3,0†‡*
DP-PAS (mmHg)			
C	3,6±0,2	3,4±0,1	3,3±0,2
F	3,9±0,2	4,2±0,2*	4,3±0,2*
VAR-PAS (mmHg²)			
C	13,7±1,4	11,9±0,6	10,2±1,3
F	15,7±1,5	17,9±0,8*	19,7±1,9*
LF abs (mmHg²)			
C	1,5±0,2	2,1±0,2	1,9±0,4
F	3,1±0,5	3,6±0,5*	4,8±0,6†*

Os dados são apresentados como média ± EPM. * p ≤ 0,05 vs. grupo controle no mesmo tempo; † p ≤ 0,05 vs. desmame do mesmo grupo; ‡ p ≤ 0,05 vs. grupo 7 dias do mesmo grupo. PAS = Pressão Arterial Sistólica, DP-PAS = Desvio Padrão da PAS, VAR-PAS = Variância da PAS, LF abs = Banda de baixa frequência.

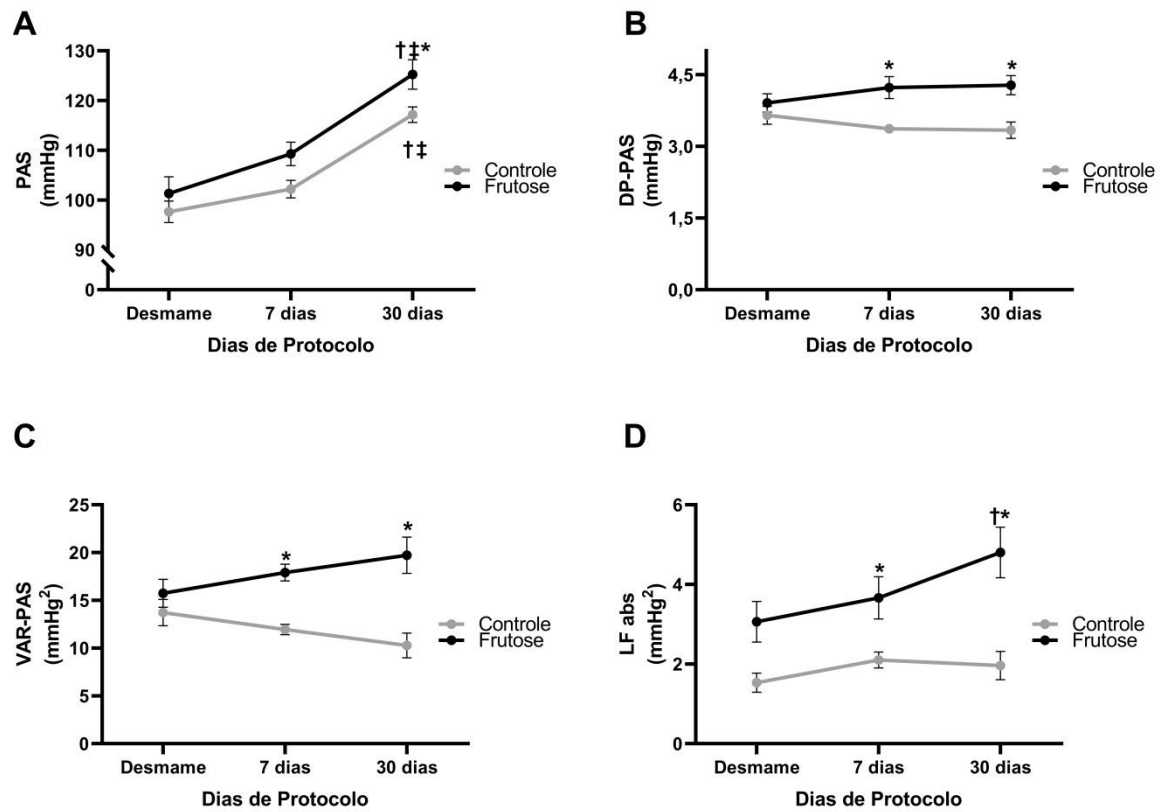


Figura 5 – Parâmetros hemodinâmicos e variabilidade da pressão arterial dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. (A) Pressão arterial sistólica – PAS (mmHg), (B) desvio padrão da PAS – DP-PAS (mmHg), (C) variância da PAS – VAR-PAS (mmHg²) e (D) modulação simpática vascular – LF abs (mmHg²) dos grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.

4.1.3 Mediadores inflamatórios em tecido renal

As avaliações de mediadores inflamatórios foram realizadas em tecido renal. Foram avaliados TNF- α , interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10); os valores são apresentados na **Tabela 3**.

Houve uma elevação de TNF- α tanto no grupo controle 7 dias quanto frutose 7 dias com relação aos respectivos grupos desmame. Não houve diferença em relação a IL-10 e IL-6 entre os grupos. A razão TNF- α / IL-10 foi maior nas proles controle e frutose nos tempos de 7 dias e 30 dias em relação aos respectivos grupos desmame (**Tabela 3 e Figura 6**).

Tabela 3 – Mediadores inflamatórios no tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo.

Diá de Protocolo Variáveis	Desmame	7 dias	30 dias
TNF-α (pg/mg proteína)			
C	72 $\pm$ 6,7	105 $\pm$ 5,3†	93 $\pm$ 5,1
F	91 $\pm$ 8,4	118 $\pm$ 5,8†	105 $\pm$ 5,2
IL-10 (pg/mg proteína)			
C	120 $\pm$ 5,5	119 $\pm$ 5,6	104 $\pm$ 4,4
F	125 $\pm$ 4,7	136 $\pm$ 9,3	116 $\pm$ 7,9
IL-6 (pg/mg proteína)			
C	141 $\pm$ 5,4	155 $\pm$ 6,7	132 $\pm$ 5,2
F	164 $\pm$ 4,6	172 $\pm$ 7,0	153 $\pm$ 11,4
Razão TNF-α/IL-10			
C	0,57 $\pm$ 0,06	0,86 $\pm$ 0,04†	0,89 $\pm$ 0,02†
F	0,71 $\pm$ 0,09	0,89 $\pm$ 0,03†	0,92 $\pm$ 0,03†

Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo.

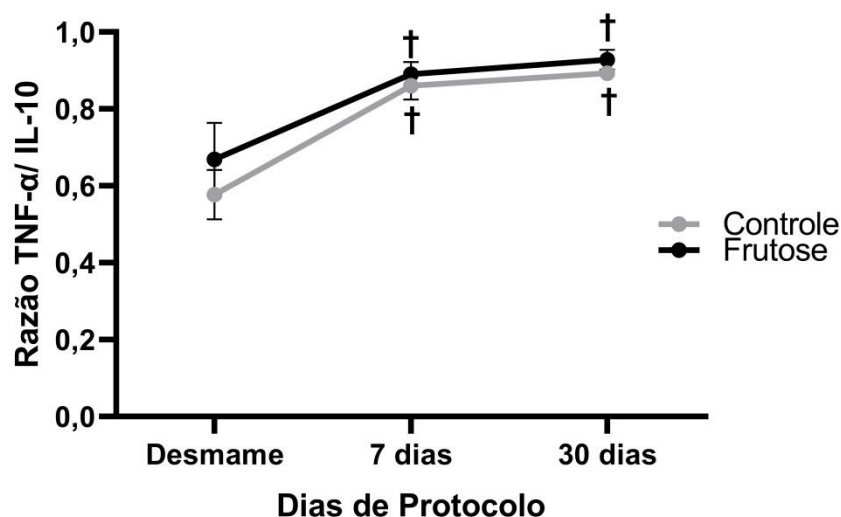


Figura 6 – Mediadores inflamatórios no tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Razão TNF- α /IL-10 os grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.

4.1.4 Perfil de estresse oxidativo e biodisponibilidade de NO em tecido renal

Para as avaliações do perfil de estresse oxidativo foram realizadas medidas para mensurar perfil pró-oxidante (EROs e NADPH-Oxidase), perfil antioxidante (enzimas antioxidantes e capacidade antioxidante não enzimática – FRAP) e dano oxidativo (carbonilas e TBARS) em tecido renal.

Para avaliar a produção de EROs, foram realizadas medidas de ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e atividade da NADPH oxidase. Os resultados estão apresentados na **Tabela 4 e Figura 7**.

O O_2^- reduziu nos grupos 30 dias em comparação aos grupos desmame e 7 dias. Adicionalmente, essa redução foi observada no grupo frutose 7 dias em relação ao grupo frutose desmame. Contudo, nos tempos de 7 e 30 dias a prole frutose apresentou maiores concentrações de O_2^- maiores quando comparada aos seus respectivos controles.

O H_2O_2 foi maior nas proles frutose 7 dias e frutose 30 dias comparadas ao tempo de desmame e aos seus respectivos controles; no entanto no grupo frutose 30 dias houve uma redução em comparação ao grupo frutose 7 dias.

A atividade da NADPH-oxidase foi maior no grupo frutose 7 dias comparado aos grupos frutose desmame, frutose 30 dias e ao seu respectivo controle.

Tabela 4 – Perfil pró-oxidante em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo.

Dia de Protocolo Variáveis	Desmame	7 dias	30 dias
O₂⁻ (nmol/ mg proteína)			
C	17,9±1,3	14,5±1,1	6,5±0,7††
F	22,0±1,5*	15,9±1,1†	10,7±1,5††*
H₂O₂ (µM/g tecido)			
C	8,3±0,1	9,9±0,5	9,9±0,3
F	7,8±0,2	13,4±1,0†*	11,4±0,7††*
NADPH-Oxidase (nmol/ mg proteína)			
C	0,19±0,01	0,20±0,02	0,23±0,01
F	0,22±0,01	0,32±0,02†*	0,27±0,02‡

Os dados são apresentados como média ± EPM. * p≤ 0,05 vs. grupo controle no mesmo tempo; † p≤ 0,05 vs. desmame do mesmo grupo; ‡ p≤ 0,05 vs. grupo 7 dias do mesmo grupo. O₂⁻ = Ânion Superóxido, H₂O₂ = Peróxido de Hidrogênio.

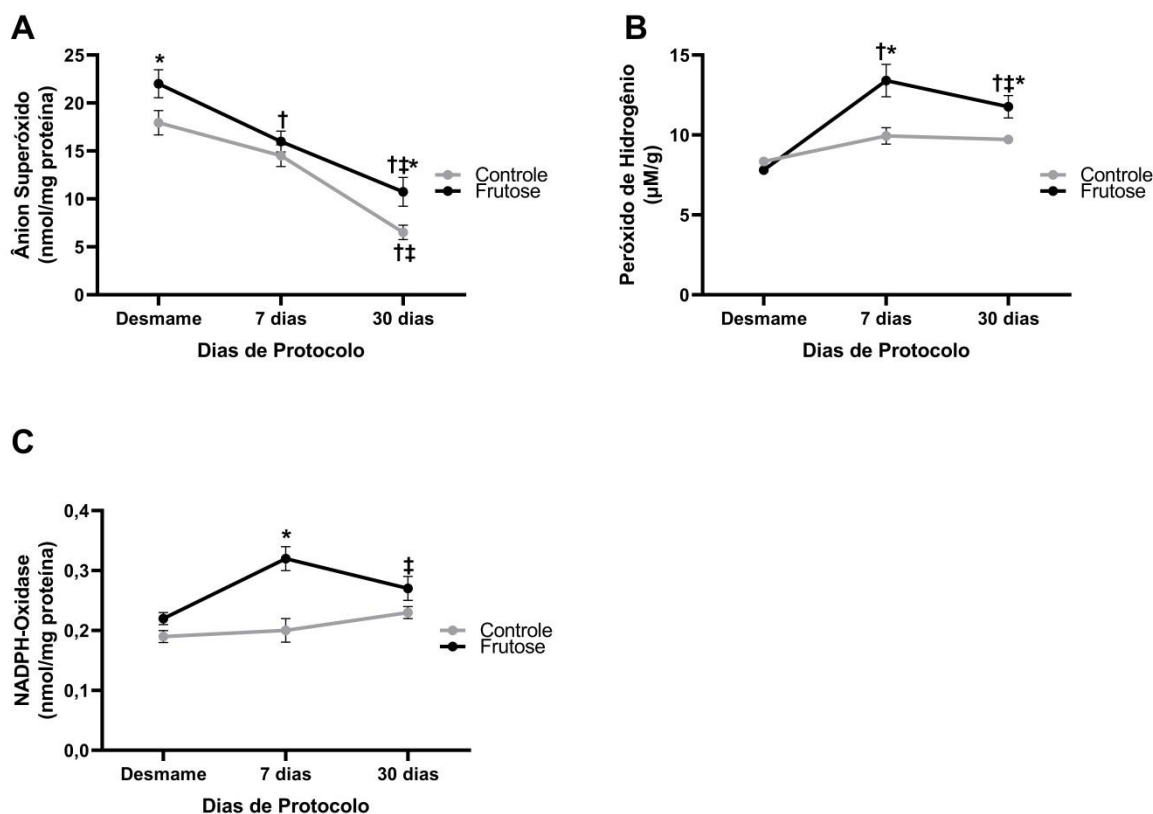


Figura 7 – Perfil pró-oxidante em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. (A) Ânion Superóxido – O_2^- (nmol/ mg proteína) (B) Peróxido de Hidrogênio – H_2O_2 (µM/g tecido) e (C) NADPH-Oxidase (nmol/ mg proteína) dos grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.

Para verificar o perfil antioxidante, foram realizadas medidas da atividade das enzimas CAT, SOD e GPx, além da capacidade antioxidante não enzimática – FRAP. Os resultados estão apresentados na **Tabela 5 e Figura 8**.

Foi observada uma redução na CAT em ambos os grupos 30 dias comparados aos grupos 7 dias. Já na SOD houve uma redução em ambos os grupos 30 dias quando comparados aos tempos anteriores. A atividade da GPx aumento no grupo controle 30 dias comparado ao desmame e 7 dias, enquanto que no grupo frutose 30 dias este aumento foi somente com relação ao grupo frutose desmame. A capacidade antioxidante não enzimática – FRAP sofreu aumento ao longo do tempo, entretanto, foi menor no grupo frutose 30 dias comparado ao seu respectivo grupo controle (**Tabela 5 e Figura 8**).

Tabela 5 – Perfil antioxidante em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo.

Dia de Protocolo Variáveis	Desmame	7 dias	30 dias
CAT (nmol/ mg proteína)			
C	6,6±0,6	6,7±0,5	4,8±0,4‡
F	5,0±0,4	5,9±0,3	4,0±0,6‡
SOD (USOD/ mg proteína)			
C	21,4±1,0	20,0±0,6	15,2±0,7+‡
F	21,0±0,9	20,9±1,3	13,9±0,2+‡
GPx (nmol/ mg proteína)			
C	15,1±1,8	25,4±2,8	39,1±1,7+‡
F	16,5±2,2	24,5±3,8	32,0±4,1+
FRAP (µM Fe II)			
C	0,8±0,05	1,0±0,06	1,5±0,10+‡
F	0,8±0,02	0,9±0,07	1,3±0,08+‡*

Os dados são apresentados como média ± EPM. * p≤ 0,05 vs. grupo controle no mesmo tempo; † p≤ 0,05 vs. desmame do mesmo grupo; ‡ p≤ 0,05 vs. grupo 7 dias do mesmo grupo. CAT = Catalase, SOD = Superóxido Dismutase, GPx = Glutathione Peroxidase, FRAP = Ferric Reducing Antioxidant Power.

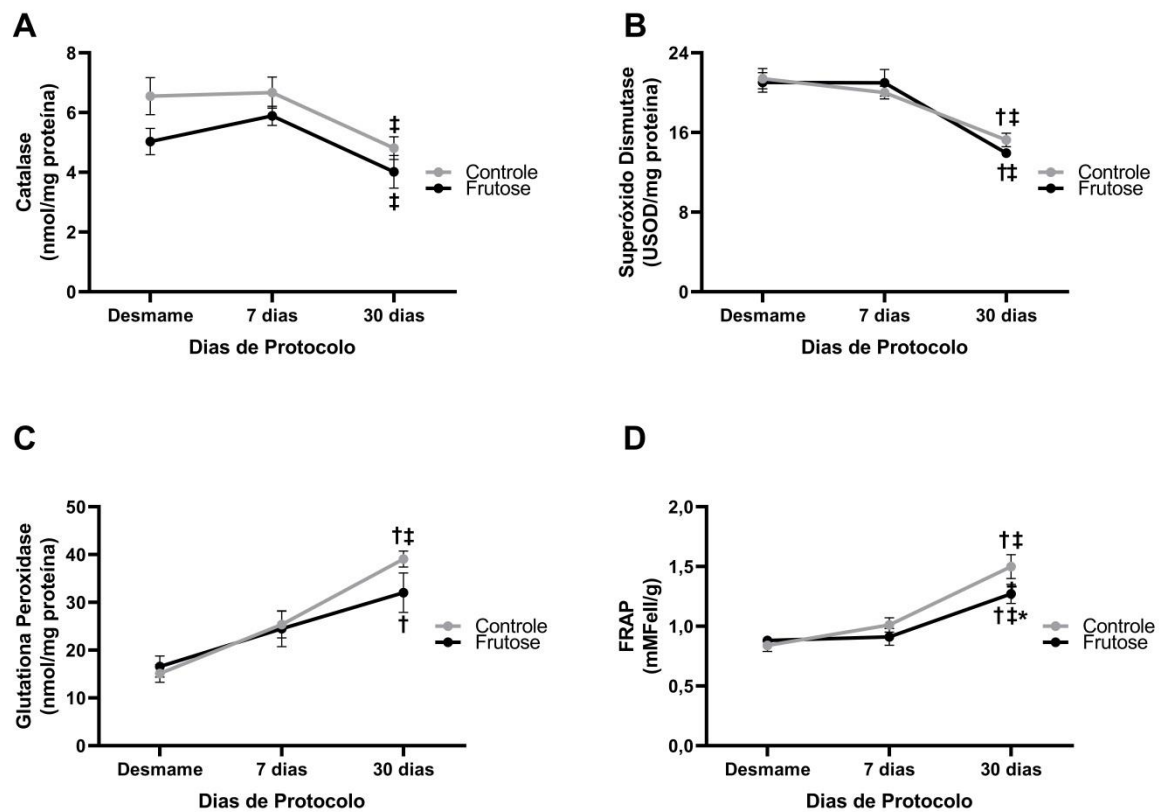


Figura 8 – Perfil antioxidante em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. (A) Catalase (nmol/ mg proteína) (B) Superóxido Dismutase (USOD/ mg proteína), (C) Glutathione Peroxidase (nmol/ mg proteína) e (D) capacidade antioxidante não enzimática – FRAP (μMFeII) dos grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.

Os resultados da avaliação de dano oxidativo podem ser observados na **Tabela 6**. Não houve diferenças entre os grupos na oxidação de proteínas avaliada pela técnica de carbonilas. Em função da quantidade limitada de amostra, a lipoperoxidação por TBARS não foi avaliada nos grupos desmame. Não houve diferença e TBARS entre os grupos avaliados.

Tabela 6 – Dano oxidativo em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo.

Dia de Protocolo Variáveis	Desmame	7 dias	30 dias
Carbonilas (nmol/ mg proteína)			
C	4,9±0,26	3,6±0,47	3,6±0,45
F	4,5±0,24	4,0±0,39	4,1±0,32
TBARS (μmol/ mg proteína)			
C	--	4,4±0,51	3,3±0,33
F	--	5,7±0,32	4,5±0,56

Os dados são apresentados como média ± EPM. TBARS = Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico. -- medida não realizada em função da reduzida quantidade de amostra

A biodisponibilidade de óxido nítrico, medida indiretamente pela concentração de nitritos em tecido renal pode ser observada na **Tabela 7 e Figura 9**. Houve redução de nitritos nos grupos controle e frutose 30 dias com relação aos tempos anteriores, entretanto, o grupo frutose 7 dias mostrou redução comparado ao desmame e ao seu controle. O grupo frutose 30 dias também apresentou diminuição comparado ao controle 30 dias. Foi observada correlação positiva entre a atividade da SOD e os níveis de nitrito em tecido renal (**Figura 10**).

Tabela 7 – Nitritos em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle (C) e Frutose (F), no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo.

Dia de Protocolo Variáveis	Desmame	7 dias	30 dias
Nitritos (nmol/ mg proteína)			
C	1,59±0,07	1,48±0,07	1,05±0,03†‡
F	1,45±0,07	1,22±0,05†*	0,84±0,05†‡*

Os dados são apresentados como média ± EPM. * p ≤ 0,05 vs. grupo controle no mesmo tempo; † p ≤ 0,05 vs. desmame do mesmo grupo; ‡ p ≤ 0,05 vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.

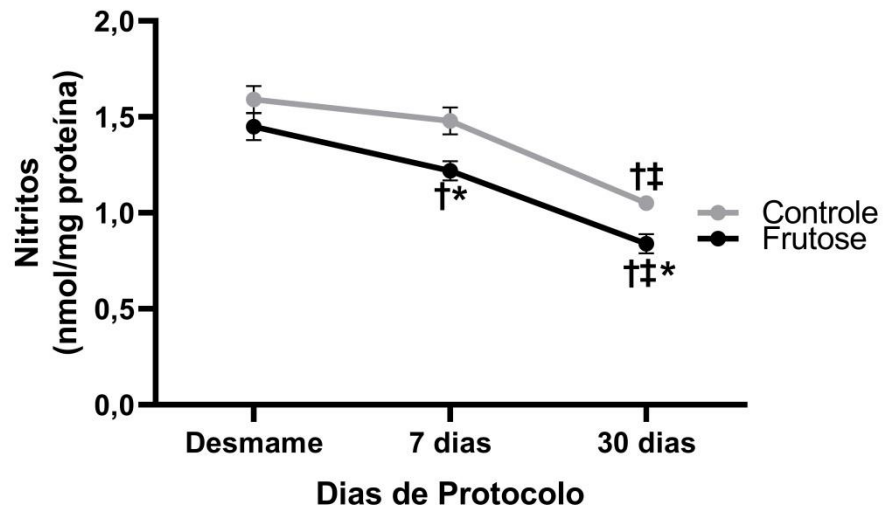


Figura 9 – Nitritos em tecido renal dos grupos descendentes dos genitores Controle e Frutose, no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Nitritos (nmol/ mg proteína) dos grupos descendentes de genitores controle e frutose no curso temporal de desmame, 7 dias e 30 dias de protocolo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo controle no mesmo tempo; † $p \leq 0,05$ vs. desmame do mesmo grupo; ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo 7 dias do mesmo grupo.

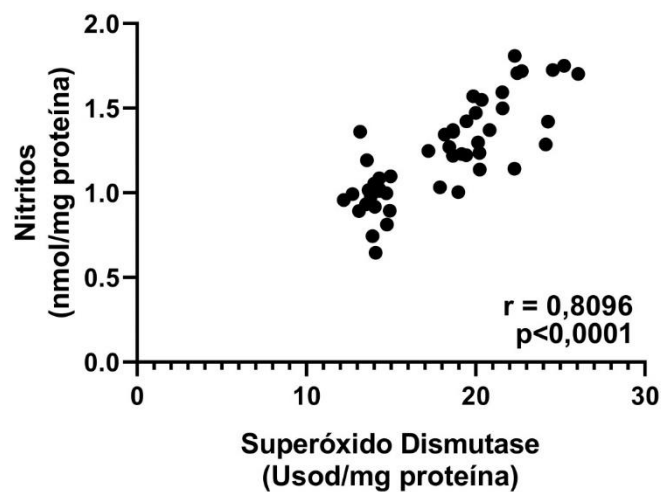
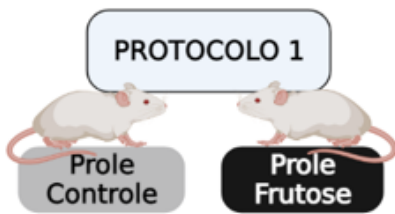


Figura 10 – Correlação de Pearson obtida entre atividade da superóxido dismutase (SOD) e concentração de nitritos renais ($r=0,8096$, $p<0,0001$).



	Desmame	7 dias	30 dias
Parâmetros Metabólicos	• ↑TG		• ↑TG • ↓ITT
Parâmetros Hemodinâmicos/Autonômicos		• ↑DP-PAS • ↑VAR-PAS • ↑LF-abs	• ↑PAS • ↑DP-PAS • ↑VAR-PAS • ↑LF-abs
Mediadores Inflamatórios Renais			
Estresse Oxidativo Renal	• ↑O₂⁻	• ↑H₂O₂ • ↑NADPH-oxidase	• ↓FRAP • ↑O₂⁻ • ↑H₂O₂
Biodisponibilidade de Óxido Nítrico		• ↓Nitritos	• ↓Nitritos

Figura 11 – Sumário dos achados do protocolo 1: esquema representa a comparação da prole de genitores submetidos à sobrecarga de frutose com a prole de genitores controles em diferentes tempos. ↑ = aumento, ↓ = redução, TG = triglicérides, ITT = teste de sensibilidade à insulina, PAS = pressão arterial sistólica, DP-PAS = desvio padrão da pressão arterial sistólica, VAR-PAS = variância da pressão arterial sistólica, LF-abs = modulação simpática vascular, TNF-α = fator de necrose tumoral alfa, IL-10 = interleucina 10, TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, FRAP = ferric reducing antioxidant power, O₂⁻ = ânion superóxido, H₂O₂ = peróxido de hidrogênio.

4.2 CAPÍTULO 2 – PROTOCOLO 2

4.2.1 Parâmetros Metabólicos

O perfil metabólico dos grupos pode ser observado na **Tabela 8 e Figura 12**. Não houve diferenças em peso corporal e glicemia entre os grupos. Houve um aumento em triglicérides no grupo frutose 30 dias comparado ao controle 30 dias e ao grupo frutose treinado 30 dias. No teste de tolerância à insulina (KITT) houve uma redução no grupo frutose 30 dias comparado aos grupos controle e frutose treinado 30 dias.

Tabela 8 – Parâmetros metabólicos dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30).

Grupos	C30	F30	FT30
Variáveis			
Peso (gramas)	219±14	206±19	206±14
Glicemia (mg/dl)	104,6±0,0	105,6±3,6	102,9±4,6
Triglicérides (mg/dl)	94,1±2,8	132,5±12,0*	97,4±2,5#
KITT (%/min)	4,3±0,3	3,2±0,2*	4,0±0,3#

Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30. KITT = Teste de Tolerância à Insulina.

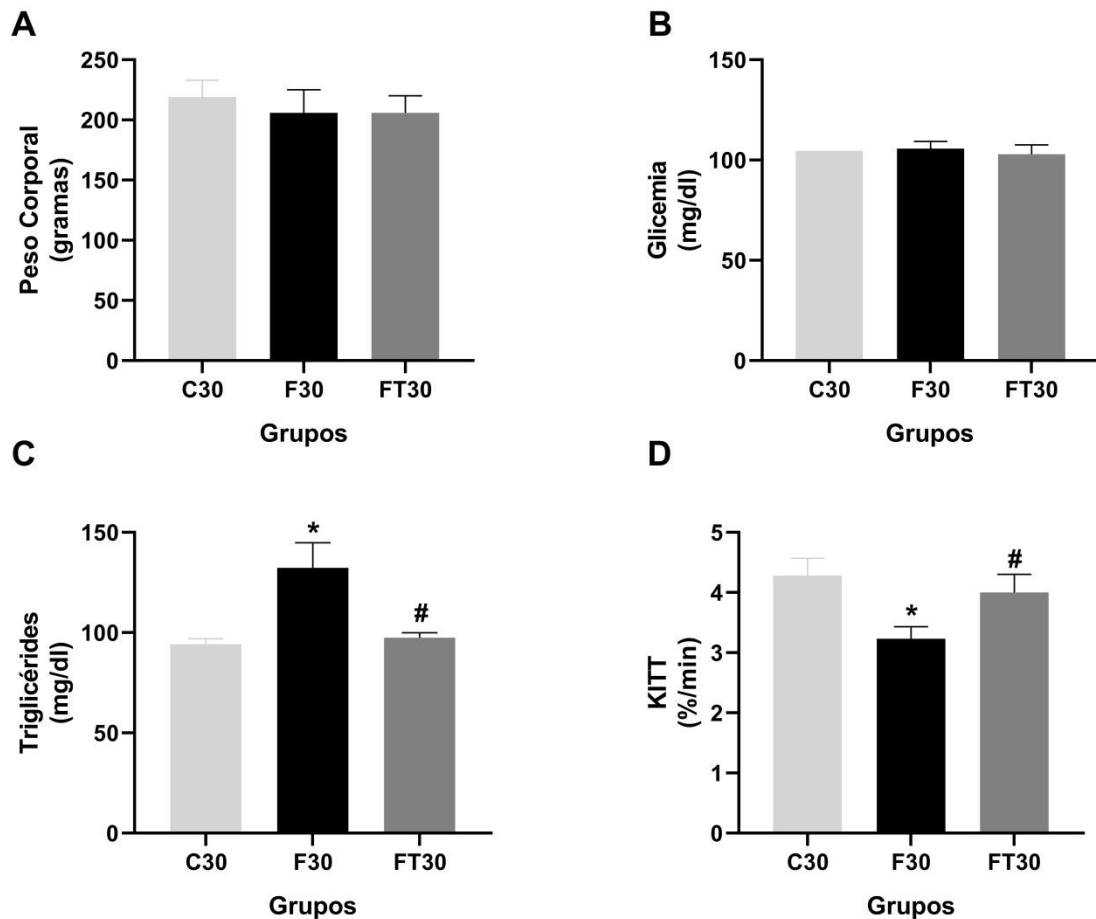


Figura 12 – Parâmetros metabólicos dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). (A) Peso corporal (gramas), (B) glicose sanguínea (mg/dL), (C) triglicérides (mg/dL) e (D) constante de decaimento da glicemia no teste de tolerância à insulina (%/min) dos grupos controle, frutose e frutose treinado 30 dias após o desame. Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30. KITT = Teste de Tolerância à Insulina.

4.2.2 Parâmetros hemodinâmicos e autonômicos

As avaliações hemodinâmicas e autonômicas nos grupos 30 dias podem ser observadas na **Tabela 9 e Figura 13**.

Houve aumento da PAS, do desvio padrão da PAS (DP-PAS), da variância da PAS (VAR-PAS) e da modulação simpática vascular (LF-abs) no grupo frutose 30 dias (F30) comparado ao controle 30 dias (C30). Adicionalmente, o grupo frutose treinado 30 dias (FT30) apresentou redução do DP-PAS, VAR-PAS e LF-abs comparado ao grupo frutose sedentário (F30). Não houve diferença na PAS entre os grupos C30 e FT30.

Tabela 9 – Parâmetros hemodinâmicos e variabilidade da pressão arterial dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30).

Grupos Variáveis	C30	F30	FT30
PAS (mmHg)	117±1,6	125±3,0*	119±2,2
DP-PAS (mmHg)	3,3±0,17	4,3±0,20*	3,6±0,15#
VAR-PAS (mmHg²)	10,3±1,30	19,7±1,90*	13,5±0,46#
LF-abs (mmHg²)	1,9±0,36	4,8±0,64*	2,7±0,46#

Os dados são apresentados como média ± EPM. * p ≤ 0,05 vs. grupo C30. # p ≤ 0,05 vs. grupo F30. PAS = Pressão Arterial Sistólica, DP-PAS = Desvio Padrão da PAS, VAR-PAS = Variância da PAS, LF abs = Banda de baixa frequência.

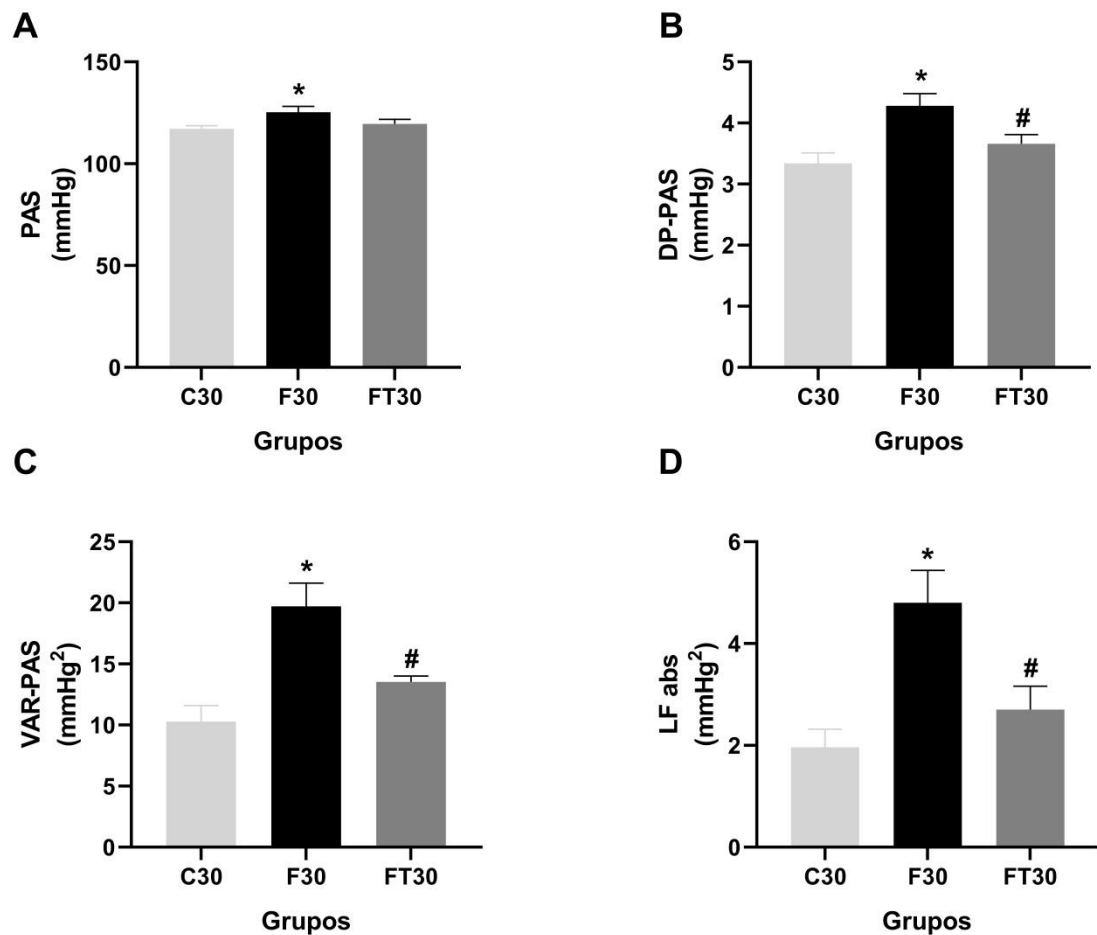


Figura 13 – Parâmetros hemodinâmicos e variabilidade da pressão arterial dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). (A) Pressão arterial sistólica – PAS (mmHg), (B) desvio padrão da PAS – DP-PAS (mmHg), (C) variância da PAS – VAR-PAS (mmHg²) e (D) modulação simpática vascular – LF abs (mmHg²) dos grupos controle, frutose e frutose treinado 30 dias após o desame. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30.

4.2.3 Parâmetros de função renal

As avaliações de função renal nos grupos 30 dias podem ser observadas na **Tabela 10**.

Não encontramos diferenças na dosagem plasmática de creatinina e ureia.

Tabela 10 – Parâmetros de função renal grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30).

Grupos Variáveis	C30	F30	FT30
Creatinina (mg/dL)	0,41±0,02	0,42±0,04	0,47±0,02
Ureia (mg/dL)	24,93±1,4	18,68±3,8	22,45±2,2

Os dados são apresentados como média ± EPM.

4.2.4 Mediadores inflamatórios em tecido renal

Os mediadores inflamatórios nos grupos 30 dias, mensurados em tecido renal, podem ser observados na **Tabela 11**. Embora não tenham sido encontradas diferenças em TNF- α , interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10), houve uma redução da razão TNF- α /IL-10 no grupo frutose treinado 30 dias (FT30) comparado aos grupos controle (C30) e frutose sedentário (F30) (**Tabela 11 e Figura 14**).

Tabela 11 – Mediadores Inflamatórios dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30).

Grupos Variáveis	C30	F30	FT30
TNF-α (pg/mg proteína)	93±4,8	105±4,8	107±3,8
IL-10 (pg/mg proteína)	104±4,1	115±7,9	115±3,3
IL-6 (pg/mg proteína)	131±5,2	153±11,4	148±5,1
Razão TNF-α/IL-10	0,89±0,02	0,92±0,03	0,82±0,02*#

Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. grupo F30.

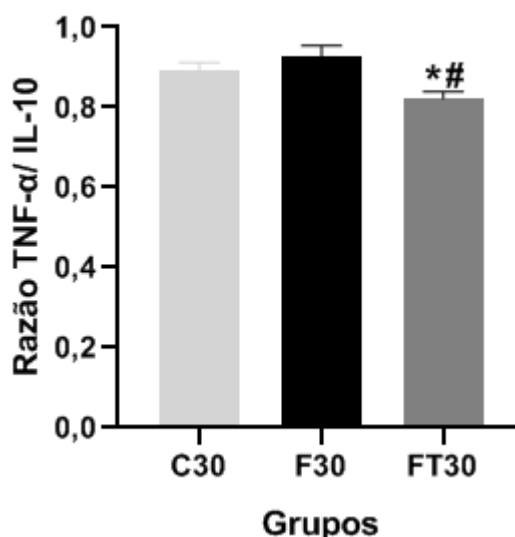


Figura 14 – Mediadores Inflamatórios dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Razão TNF- α /IL10. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30.

4.2.5 Estresse oxidativo e biodisponibilidade de NO em tecido renal

As avaliações do perfil de estresse oxidativo foram realizadas em tecido renal. Para avaliar a produção de EROs nos grupos 30 dias foram realizadas medidas de ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e atividade da NADPH oxidase. Os resultados estão apresentados na **Tabela 12**.

Houve aumento do ânion superóxido e peróxido de hidrogênio no grupo frutose sedentário (F30) comparado ao controle (C30), o que não foi observado no grupo frutose treinado (FT30). A atividade da NADPH oxidase foi semelhante entre os grupos.

Tabela 12 – Perfil Pró-Oxidante em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30).

Grupos	C30	F30	FT30
Variáveis			
O_2^- (nmol/ mg proteína)	6,5 $\pm$ 0,7	10,7 $\pm$ 1,5*	8,4 $\pm$ 0,7
H_2O_2 (μ M/g tecido)	9,7 $\pm$ 0,2	11,7 $\pm$ 0,7*	10,5 $\pm$ 0,6
NADPH-Oxidase (nmol/ mg proteína)	0,23 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,02	0,22 $\pm$ 0,01

Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. O_2^- = Ânion Superóxido, H_2O_2 = Peróxido de Hidrogênio.

Para verificar o perfil antioxidante, foram realizadas medidas das enzimas CAT, SOD e GPx, além da capacidade antioxidante não enzimática – FRAP. Os resultados estão apresentados na **Tabela 13**. Não foram encontradas diferenças entre os grupos.

Tabela 13 – Perfil Antioxidante em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30).

Grupos Variáveis	C30	F30	FT30
CAT			
(nmol/ mg proteína)	4,8±0,4	4,0±0,5	5,1±0,3
SOD			
(USOD/ mg proteína)	15,2±0,7	13,9±0,2	13,4±0,4
GPx			
(nmol/ mg proteína)	39,1±1,7	32,0±4,1	32,3±4,0
FRAP			
(µMFeII)	1,5±0,10	1,3±0,08	1,5±0,08

Os dados são apresentados como média ± EPM. CAT = Catalase, SOD = Superóxido Dismutase, GPx = Glutathione Peroxidase, FRAP = Ferric Reducing Antioxidant Power.

Os resultados da avaliação de dano oxidativo nos grupos 30 dias podem ser observados na **Tabela 14 e na Figura 15**. Não houve diferenças entre os grupos na oxidação de proteínas por técnica de carbonilas. O TBARS foi maior no grupo frutose sedentário (F30) comparado aos grupos controle (C30) e frutose treinado (FT30).

Tabela 14 – Dano oxidativo em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30).

Grupos Variáveis	C30	F30	FT30
Carbonilas			
(nmol/ mg proteína)	3,6±0,45	4,1±0,32	3,8±0,21
TBARS			
(μmol/ mg proteína)	3,3±0,33	4,5±0,56*	2,8±0,37#

Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. grupo F30. TABRS = Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico.

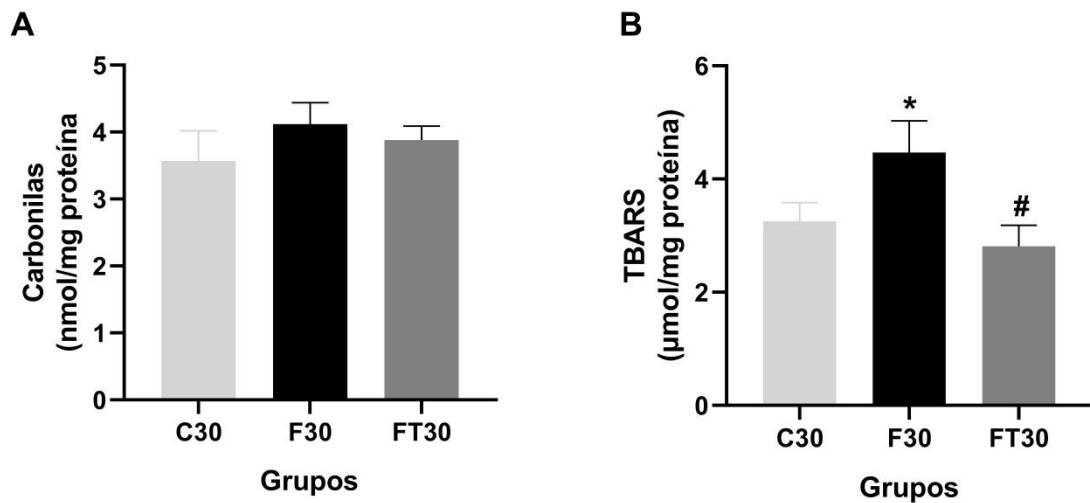


Figura 15 – Dano oxidativo em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). (A) Oxidação de Proteínas – Carbonilas (nmol/ mg proteína) e (B) Peroxidação Lipídica – TBARS (μmol/ mg proteína) dos grupos controle, frutose e frutose treinado 30 dias após o desame. Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30.

A biodisponibilidade de óxido nítrico foi medida indiretamente pela concentração de nitritos em tecido renal e pode ser observada na **Tabela 15 e na Figura 16**. Houve redução de nitritos no grupo frutose 30 dias (F30) comparado aos grupos controle 30 dias (C30) e frutose treinado 30 dias (FT30).

Tabela 15 – Nitritos em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30).

Grupos	C30	F30	FT30
Variáveis			
Nitritos			
(nmol/ mg proteína)	1,0±0,03	0,84±0,05*	1,1±0,03#

Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. grupo F30.

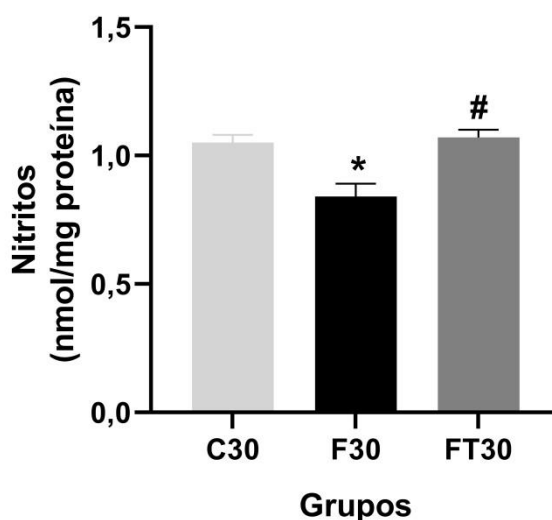


Figura 16 – Nitritos em tecido renal dos grupos Controle 30 dias (C30), Frutose 30 dias (F30), e Frutose Treinado 30 dias (FT30). Nitritos (nmol/ mg proteína) dos grupos controle, frutose e frutose treinado 30 dias após o desame. Os dados são apresentados como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C30. # $p \leq 0,05$ vs. F30.



	Sedentária	Treinada
Parâmetros Metabólicos	• ↑TG • ↓ITT	• ↓TG • ↑ITT
Parâmetros Hemodinâmicos/ Autonômicos	• ↑PAS • ↑DP-PAS • ↑VAR-PAS • ↑LF-abs	• ↓DP-PAS • ↓VAR-PAS • ↓LF-abs
Mediadores Inflamatórios Renais		• ↓Razão TNFα/IL-10
Estresse Oxidativo Renal	• ↓FRAP • ↑O₂⁻ • ↑H₂O₂	• ↓TBARS
Biodisponibilidade de Óxido Nítrico	• ↓Nitritos	• ↑Nitritos

Figura 17 – Sumário dos achados do protocolo 2. Esquema representa a comparação da prole de genitores submetidos à sobrecarga que foi mantida sedentária com prole de genitores submetidos à sobrecarga que foi treinada. ↑ = aumento, ↓ = redução, TG = triglicérides, ITT = teste de sensibilidade à insulina, PAS = pressão arterial sistólica, DP-PAS = desvio padrão da pressão arterial sistólica, VAR-PAS = variância da pressão arterial sistólica, LF-abs = modulação simpática vascular, TNF-α = fator de necrose tumoral alfa, IL-10 = interleucina 10, TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, FRAP = ferric reducing antioxidant power, O₂⁻ = ânion superóxido, H₂O₂ = peróxido de hidrogênio.

5. DISCUSSÃO

O aumento na prevalência de SM, bem como do risco cardiovascular e renal inerentes a esta condição, traz a necessidade de mais estudos buscando compreender os fatores que predispõem tais alterações⁴⁸. A resistência à insulina, que predispõe o diabetes mellitus tipo 2, e o aumento pressórico, alterações comuns na SM, são fatores de risco para doença renal^{46,47}. Ademais, considerando o controle pressórico a longo prazo exercido pelo rim, é bem estabelecido que alterações funcionais neste órgão cursam com prejuízo na saúde cardiometabólica e aumento do risco cardiovascular¹¹⁸.

Nesse sentido, o consumo de alimentos industrializados ricos em frutose está relacionado ao desenvolvimento de SM, de tal forma que, experimentalmente, o modelo animal de SM pode ser obtido através da sobrecarga de frutose^{119,120}. Estudos experimentais apontam que a sobrecarga direta de frutose é capaz de acelerar o desenvolvimento de doença renal e exacerbar a proteinúria através de esclerose glomerular, atrofia e/ou dilatação tubular, bem como aumento de infiltrado inflamatório no tecido renal devido a maior expressão de fatores quimiotáticos pelas células tubulares e endoteliais^{121,122}.

Para além do impacto direto do consumo de frutose, uma revisão narrativa de Nusken et al.¹²³, 2020 ressaltou que padrões alimentares dos genitores, incluindo a sobrecarga de frutose, são capazes de induzir prejuízos metabólicos e hemodinâmicos na prole, predispondo o desenvolvimento de doença renal. De fato, a literatura aponta aumento de inflamação, estresse oxidativo, disfunção endotelial, disfunção da microbiota intestinal, com consequente alteração na biodisponibilidade de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), e desbalanço entre hormônios envolvidos no controle da ingesta alimentar e do gasto energético como mecanismos pelos quais a dieta rica em frutose, dada aos genitores, induz alterações metabólicas e hemodinâmicas prejudiciais na prole^{35,123}.

Adicionalmente, estudos prévios do nosso grupo têm demonstrado os efeitos deletérios causados pelo consumo exacerbado de frutose em ratos^{16,21,124}. Considerando um curso temporal, recentemente, demonstramos que apenas 7 dias de consumo de frutose, iniciado logo após o desmame, pode causar prejuízo na sensibilidade do barorreflexo, importante mecanismo de controle pressórico, acompanhado de aumento de mediadores pró-inflamatórios em 15 dias, e marcadores

de dano oxidativo aos 60 dias, em ratos geneticamente predispostos à hipertensão (SHR – *spontaneously hypertensive rats*)⁵⁷.

Neste sentido, o treinamento físico surge como uma abordagem não farmacológica para prevenção e tratamento de disfunções metabólicas associadas à SM e à doença renal^{83,95}. Recentemente demonstramos que tanto o treinamento aeróbico quanto o resistido de 8 semanas foram eficazes em reduzir o dano oxidativo renal em ratas hipertensas ooforectomizadas e com dieta rica em frutose, portanto, em uma condição de somatória de fatores de risco cardiometabólicos²². Ademais, nosso grupo já demonstrou que o treinamento físico combinado foi capaz de prevenir disfunções cardiometabólicas após 30 dias em ratos hipertensos submetidos à sobrecarga de frutose, mas com benefícios em parâmetros autonômicos, inflamatórios e de estresse oxidativo cardíaco já com 7 dias após seu início²³.

Contudo, os mecanismos pelos quais o consumo exacerbado de frutose pelos genitores perturba a saúde cardiometabólica e renal da prole ainda não estão totalmente elucidados na literatura, bem como o papel do treinamento físico nesta condição. Nossa hipótese de estudo foi que a sobrecarga de frutose nos genitores poderia desencadear disfunção autonômica, no perfil inflamatório e de estresse oxidativo na prole, e que esses mecanismos fisiopatológicos, poderiam preceder os prejuízos cardiometabólicos e renais associados ao desenvolvimento de SM. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar no protocolo 1 o curso temporal (0, 7 e 30 dias após o desmame) das alterações cardiometabólicas, inflamatórias e de estresse oxidativo na prole de ratos Wistar submetidos à sobrecarga de frutose, bem como no protocolo 2 o papel do treinamento físico aeróbio (30 dias após o desmame) nestes animais. Nossos resultados demonstram prejuízo cardiometabólico neste modelo associado ao aumento de DP-PAS, VAR-PAS e da modulação simpática vascular (LF-abs) já com 7 e 30 dias, além de maior desequilíbrio redox renal com aumento de H₂O₂ e NADPH-oxidase aos 7 dias e redução de capacidade antioxidante não enzimática e biodisponibilidade de óxido nítrico renal aos 30 dias. Ademais as alterações autonômicas, inflamatórias e na biodisponibilidade de óxido nítrico foram atenuadas pelo treinamento físico aeróbio de 4 semanas.

5.1 CAPÍTULO 1 – PROTOCOLO 1

No protocolo 1 foram avaliados parâmetros metabólicos e autonômicos cardiovasculares *in vivo*, e perfil inflamatório e de estresse oxidativo no tecido renal da prole de genitores que receberam sobrecarga de frutose em um curso temporal de 0, 7 e 30 dias após o desmame. Os achados deste capítulo evidenciaram disfunção autonômica ao longo do tempo marcada por prejuízo na VPA e nos perfis inflamatório e de estresse oxidativo renal na prole de genitores submetidos à sobrecarga de frutose.

5.1.1 Parâmetros Metabólicos

Como esperado houve incremento de peso corporal ao longo do tempo nos grupos estudados, contudo mesmo ao final do protocolo o peso corporal não diferiu entre as proles frutose e controle. Previamente nosso grupo chegou a demonstrar que o consumo direto de frutose (10%) em apenas 7 dias induziu aumento de peso corporal⁵⁷. A ausência de diferença no peso corporal das proles neste estudo pode ser devido à dose e ao curto tempo de seguimento deste protocolo, uma vez que estudos que já avaliaram os efeitos crônicos sob a prole do consumo de frutose pelos genitores usaram doses maiores e/ ou um maior tempo de seguimento^{32,34}. No presente estudo buscou-se uma dose mais próxima do consumo humano diário (10%)^{125,126}.

No que tange alterações de peso corporal, Embora Bray e Popkin.¹²⁷, 2014 tenham apontado uma correlação positiva entre o consumo de frutose e o aumento da prevalência mundial de sobrepeso e obesidade, é importante enfatizar que a obesidade é uma condição complexa não sendo determinada a curto prazo pelo consumo exclusivo de um único nutriente.

Com relação à glicemia não observamos diferenças entre as proles dos genitores controle e frutose. De fato, alterações glicêmicas apresentam maior heterogeneidade na literatura, sendo um fator dependente da dose e do tempo de seguimento dos protocolos. Um estudo do nosso grupo com camundongos C57BL/6 não observou aumento na glicemia após 15 dias de sobrecarga direta de frutose (10%), o que só foi observado após 60 dias de consumo¹²⁸. Estudo de Alzamendi et al.³², 2010 com a prole de ratos Sprague-Dowley, e a mesma dose de frutose (10%), dada aos genitores durante o período de lactação, também não observou diferença em glicemia entre as

proles frutose e controle mesmo após 60 dias de vida. Já estudo de Koo et al.³⁴, 2021 utilizando 20% de frutose para fêmeas C57BL/6J durante os períodos de gestação e lactação, demonstrou aumento de glicemia na prole somente após 7 meses de vida.

O aumento de triglicérides nos grupos frutose no desmame e 30 dias comparados aos seus respectivos controles demonstra a alta capacidade lipogênica da frutose. Dados anteriores do nosso grupo ressaltam o aumento deste parâmetro devido à sobrecarga de frutose (10%)^{21,23}. Para além da alteração metabólica diretamente, achados na literatura evidenciam que a sobrecarga de frutose nos genitores durante períodos de gestação e lactação (doses entre 10 a 45%) induz esteatose hepática na prole^{33,34,129}. Estudo Bramlage et al., 2021 com camundongos C57BL/6J mostrou que a sobrecarga de frutose diretamente promoveu aumento sérico de alanina amino transferase (ALT), indicativo de dano hepático, e triglicérides intra-hepáticos já a partir de 8 semanas, além disto os camundongos frutose tiveram menor DNA mitocondrial e área de superfície média da mitocôndria sugerindo uma disfunção e depleção mitocondrial como mecanismos contribuintes para menor oxidação de ácidos graxos, e consequente aumento de triglicérides¹³⁰.

No presente estudo foi observado uma redução da sensibilidade à insulina ao longo do tempo, porém, com acentuada redução em todos os tempos nas proles frutose comparadas às proles controle. Sabe-se que o acúmulo de lipídios torna o ambiente mais resistente à ação da insulina^{9,131}. Para além do aumento de triglicérides, a frutose causa fosforilação do receptor do substrato de insulina 1 (IRS-1), levando à redução na cascata intracelular de sinalização da insulina^{131,132}. Outros estudos na literatura demonstram disfunção na sinalização da insulina, através de acentuada hiperinsulinemia e/ou redução da sensibilidade à insulina, corroborando com nossos achados^{32,35,36}.

Uma vez ingerida, a frutose é rapidamente absorvida pelo enterócito via GLUT5, chegando à circulação sanguínea e adentrando no fígado por meio do GLUT2, portanto processo independente da sinalização e/ou regulação da insulina⁹. Um vez no hepatócito grande parte da frutose é convertida em Frutose 1,6 bi-fosfato através da enzima frutoquinase mediante a fosforilação de uma molécula de ATP, contudo estas reações ocorrem sem o controle enzimático realizado pela enzima fosfofrutoquinase (PFK)^{9,131}. Duas considerações bioquímicas podem ser obtidas através desta reação, primeiro a enzima PFK é responsável por controlar a velocidade

de formação de substratos subsequentes da via glicolítica, de tal forma que, na ausência de sua ação ocorrerá um excesso na produção destes substratos, neste sentido a frutose promove um grande estímulo na formação de intermediários finais da via glicolítica (piruvato e acetil-coenzima A), sinalizando à célula uma abundância energética e promovendo o desvio destes substratos para o citoplasma passando a alimentar a via da lipogênese⁹. Segundo, diferentemente do metabolismo da glicose que atua para garantir as concentrações intracelulares de ATP, o metabolismo da frutose causa a depleção de ATP com resultante aumento de AMP (adenosina monofostato), o que ativa a enzima adenosina monofostato deaminase, gerando inosina monofostato e, eventualmente, ácido úrico¹²².

Nossos dados apontam alterações metabólicas na prole de genitores submetidos ao consumo de frutose, sendo que está bem estabelecido na literatura que as condições metabólicas da mãe são capazes de alterar o ambiente gestacional bem como modular o metabolismo fetal¹³³.

5.1.2 Parâmetros Hemodinâmicos e Autonômicos

As avaliações hemodinâmicas realizadas no protocolo 1 evidenciaram aumento de PAS ao longo da vida na prole dos animais controle e frutose, contudo há incremento adicional na prole dos genitores frutose 30 dias quando comparados ao seu respectivo controle. Estudos do nosso grupo demonstraram efeito similar sobre a PA em camundongos e ratos^{22,23,134}.

É bem estabelecido na literatura que o consumo direto de frutose *per se* desencadeia a elevação de PA tanto em modelos experimentais como em humanos^{90,131,135,136}. Somado a isto, o consumo de frutose pelos genitores induz aumento de PA desde o desmame (21 dias de vida) até um seguimento mais tardio (1 ano de vida) da prole^{35,137}. Embora a dieta materna seja de grande preocupação, Carapeto et al.³³, 2018 mostraram que uma dieta contendo 45% de frutose na ração, somente para as fêmeas ou machos genitores, foi capaz de promover o aumento da PA na prole, sendo este efeito mais severo quando ambos genitores consumiram esta dieta.

Salienta-se que a regulação da PA é complexa, e seu aumento pode ser atribuído à maior atividade simpática, prejuízo na sensibilidade barorreflexa e disfunções hormonais (como ativação do SRAA)⁵². Tain et al.¹³⁷, 2015 sugerem que o aumento

pressórico observado na prole é um produto da alteração de genes relacionados à nefrogênese, sistema renina-angiotensina-aldosterona e reguladores epigenéticos nos rins. Um estudo de Seong et al.³⁷, 2019 mostrou aumento de PA, medida por pletismografia de cauda, alteração em marcadores de função renal e atividade do SRAA na prole de camundongos submetidos a um consumo de 20% de frutose durante a gestação e a lactação, sugerindo menor eficiência renal no controle pressórico. Ademais neste mesmo estudo as alterações não se limitaram apenas a uma geração.

Por meio do registro direto da PA (cateterização), com os animais acordados, demonstramos prejuízo na modulação autonômica cardiovascular, evidenciado por aumento de DP-PAS, VAR-PAS e modulação simpática vascular (LF-abs) na prole frutose aos 7 e 30 dias quando comparada à prole controle destes tempos. Previamente já observamos em camundongos C57BL/6 que 10% de frutose possibilitou o aumento da variância da PAS e da modulação simpática vascular após 15 dias de consumo, ressaltando que estas alterações autonômicas ocorrem de forma aguda¹²⁸. Além disso, nosso grupo já mostrou que a disfunção do sistema nervoso autônomo (SNA) precede alterações metabólicas clássicas deste modelo de sobrecarga de frutose^{20,57,128}.

Estudos sugerem que a frutose é capaz de atuar diretamente no SNC modulando a atividade do SNA^{138,139}. Chao et al.³⁶, 2020 evidenciaram prejuízo no perfil de estresse oxidativo na área vasomotora simpática da medula rostro ventrolateral do bulbo (RVLM), região de onde partem eferências da alça simpática do SNA, com um consumo direto de 60% de frutose. Cabe ressaltar que o aumento da VPA é um indicativo de disfunção autonômica com maior atividade simpática, bem como redução da ação do barorreflexo no controle da PA, fatores que se relacionam a prejuízos de caráter pró-inflamatório e pró-oxidante, em um ciclo vicioso de disfunção autonômica-inflamatória e de EO¹⁴⁰.

O aumento da variância da PAS encontrado já aos 7 dias após o desmame da prole frutose reflete uma maior atividade simpática neste período, fator que predispõe alterações inflamatórias e de estresse oxidativo discutidas nas seções seguintes, como também se associa a lesão em órgãos alvo, como o rim. Irigoyen et al.⁵², 2016 ressaltam a variação da PA como um marcador da função autonômica e apontam que seu aumento está diretamente relacionado à progressão de doenças

cardiovasculares, renais e cerebrovasculares. De fato, pacientes com doença renal avançada exibem elevação nas variações da PA e alteração no próprio padrão circadiano da PA, sendo que flutuações da PA medidas a longo prazo, isto é, ao longo dos dias parecem apresentar maior valor preditivo para disfunção renal¹⁴¹.

5.1.3 Parâmetros Inflamatórios, de Estresse Oxidativo e Biodisponibilidade de NO

Neste estudo encontramos aumento de TNF- α em ambas as proles controle e frutose aos 7 dias assim como da razão TNF- α /IL-10 aos 7 e 30 dias quando comparadas ao tempo do desmame. Além disto, a literatura aponta para um aumento de citocinas pró inflamatórias como TNF- α , IL-6 e IL-1 β com o consumo crônico de frutose, fator que contribui para o desenvolvimento de desordens metabólicas e DCV¹³².

Vale destacar que embora sejam processos aparentemente separados, existe uma relação entre o metabolismo lipídico e a inflamação, uma vez que o tecido adiposo branco (TAB) é considerado também um órgão endócrino capaz de sintetizar e secretar adipocinas responsáveis por modular diferentes eixos do metabolismo, assim como citocinas pró-inflamatórias¹⁴². Evidências denotam que a inflamação crônica de baixo grau é uma comorbidade presente na obesidade^{124,143}.

Nosso grupo já demonstrou aumento de citocinas inflamatórias em TAB com apenas 15 dias de consumo direto de frutose apontando um estímulo pró-inflamatório já em estágios precoces da vida⁵⁷. Dado seu alto poder lipogênico, seja por aumento de lipogênese hepática ou por promover maior estoque lipídico no TAB, a frutose é capaz de causar dislipidemia, sendo que a hipertrigliceridemia correlaciona-se ao aumento de TNF- α e IL-6^{132,144,145}. Em tecido hepático a frutose também promove inflamação através da promoção da cascata inflamatória via c-jun(NH2)-terminal quinase (JNK), uma proteína regulatória da síntese de citocinas pró-inflamatórias¹³².

Entretanto, as alterações pró-inflamatórias em tecido renal decorrentes do consumo de frutose não estão totalmente elucidadas, isto porque embora estudos experimentais apontem para um maior estímulo pró-inflamatório marcado por elevada expressão de NF κ B (transcrito pró-inflamatório) e síntese de ácido úrico, já foi observado redução em inflamação em pacientes com doença renal crônica após uma dieta com baixas doses de frutose^{37,146,147}.

Além disso, uma revisão sistemática com metanálise de Della Corte et al.¹⁴⁸, 2018, com 13 estudos conduzidos em adolescentes e adultos e um total de 1.141 participantes, não encontrou diferenças em títulos séricos de proteína C reativa, um marcador pró-inflamatório, entre os grupos que receberam dietas com maiores teores de glicose e/ou sacarose comparadas à frutose. Os autores concluíram que são necessárias mais investigações com amostras maiores, por período de seguimento mais longo e que de fato avaliem a inflamação de baixo grau como um desfecho primário.

Para além da inflamação, o EO tem sido descrito como um mecanismo chave em muitos processos fisiopatológicos^{64,149}. A alteração do perfil lipídico também é capaz de ocasionar desbalanço do perfil redox, sendo a relação EO e SM comum^{32,76,150}. As EROs são moléculas que participam de processos de sinalização celular, embora seu excesso esteja envolvido na progressão de inflamação, apoptose, disfunção endotelial e cardíaca^{63,151}. Cabe destacar que o desbalanço do perfil redox e a inflamação são processos interligados, de tal forma que o estabelecimento de um ciclo vicioso entre ambos é comum^{66,152}. Estudo de Seong et al.³⁷, 2019 observou aumento de NFκB no tecido renal da prole de camundongos que consumiram dieta com 20% de frutose durante os períodos de gestação e lactação. Quando fosforilado, o NFκB transloca-se do citoplasma para o núcleo e ativa a expressão de TNFα bem como EROs, estabelecendo a comunicação entre o eixo inflamatório – oxidante¹⁵³.

Em tecido renal estudos evidenciam um aumento de EO na prole de ratos com 3 meses de idade que consumiram uma dieta contendo 60% de frutose¹³⁷. Neste estudo, apesar da redução de O_2^- com o decorrer do tempo, houve aumento na prole frutose já no desmame e aos 30 dias comparada à prole controle. O consumo direto de frutose (10 - 60%) contribui para aumento de O_2^- em diferentes espécies^{154,155}.

Além disso, no presente estudo observamos aumento na concentração de H_2O_2 na prole frutose aos 7 e 30 dias comparada à prole controle nestes tempos, o que pode ter sido ocasionado pela maior atividade da enzima NADPH-oxidase na prole frutose aos 7 dias e pela redução da atividade da catalase aos 30 dias. De fato, embora não tenhamos avaliado subtipos da enzima NADPH-oxidase, sabe-se que o subtipo 4 desta enzima participa diretamente da síntese de H_2O_2 ¹⁵⁶. Um estudo de Seong et al.³⁷, 2019 demonstrou maior expressão proteica da enzima NADPH-oxidase (subtipos 3 e 4), e uma redução da expressão da superóxido dismutase, enzima

antioxidante, na segunda geração da prole de animais que consumiram 20% de frutose durante os períodos de gestação e lactação, além disto, estas alterações também foram acompanhadas por uma ativação do SRRA em gerações posteriores, sugerindo que o padrão alimentar dos genitores contribui para prejuízos em balanço redox mesmo em gerações futuras.

A redução da atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase ao longo do tempo em ambas as proles pode ser ocasionada por uma estabilização do balanço redox que acompanha a maturação dos sistemas fisiológicos, especialmente renal, nestes animais. Jung., Henke¹⁵⁷, 1996 discutiram que a atividade das enzimas antioxidantes varia ao longo do tempo em tecido hepático e renal de ratos Wistar. Por sua vez o aumento da atividade da glutathione peroxidase se dá por um mecanismo compensatório à redução da atividade da catalase, uma vez que ambas enzimas competem pelo mesmo substrato (H_2O_2)¹⁵⁸.

Com relação à capacidade antioxidante não enzimática (FRAP) houve aumento ao longo do tempo em ambas as proles deste estudo, o que pode ter contribuído para a inativação de EROs formadas bem como do seu dano às biomoléculas. De fato, não encontramos diferenças em danos oxidativos às proteínas e lipídios ao longo do tempo entre os grupos. No entanto, embora tenha aumentado com o tempo, a FRAP foi menor aos 30 dias no grupo frutose comparado ao controle, sendo um indicador de uma provável menor capacidade antioxidante na prole dos genitores frutose com o decorrer do tempo, que pode causar prejuízo oxidativo adicional mais tardiamente.

Embora não tenhamos observado diferença no dano oxidativo a proteínas e lipídios (lipoperoxidação), medido através da dosagem de TBARS, nosso grupo trabalha com a hipótese que em um curso temporal a disfunção autonômica promova o aumento de mediadores inflamatórios, e alterações em marcadores de estresse oxidativo, com consequente prejuízo cardiovascular na prole de genitores submetidos à sobrecarga de frutose. Ressalta-se que o estabelecimento de um perfil oxidante em fetos de camundongos submetidos à sobrecarga de frutose já foi observado, sugerindo que o excesso de frutose circulante é capaz de alterar a placenta e a formação uterina, achados que podem se estender também para humanos^{30,159}.

No rim as EROs participam tanto de processos fisiológicos quanto patológicos, na doença renal diabética as EROs são produzidas por diferentes vias decorrentes do ambiente hiperglicêmico, como, por exemplo, a menor atuação do receptor ativado

por proliferadores de peroxissoma coativado 1 α (PGC-1 α), que regula a biogênese mitocondrial e expressão de enzimas antioxidantes, maior fragmentação mitocondrial e maior expressão de NOX4 (isoforma da NADPH-oxidase formadora de H₂O₂)¹⁶⁰. Já na nefroesclerose hipertensiva as EROs formadas podem prejudicar a vasodilatação mediada pelo NO, bem como induzir aumento intracelular de cálcio nas células musculares lisas do endotélio, provocando ação vasoconstritora; somado a estes efeitos, centralmente as EROs também são capazes de aumentar a síntese de ANGII, aldosterona e hormônio antidiurético (ADH), tendo efeitos de aumento pressórico e continuidade do dano renal^{160,161}.

Neste estudo encontramos uma redução na biodisponibilidade de NO renal, medida através da concentração de nitritos, na prole frutose aos 7 e 30 dias comparada à prole controle. Já é bem estabelecido a participação do NO na vasodilatação e redução da pressão arterial, outrossim a insuficiência de NO durante o desenvolvimento embrionário está relacionada a problemas vasculares na prole¹⁶².

Dois mecanismos podem estar envolvidos na redução de NO renal, primeiro a maior produção de O₂⁻, observada na prole frutose, pode contribuir para o desacoplamento da enzima óxido nítrico endotelial através da oxidação de cofatores desta enzima, como a tetrahydrobiopterina (BH₄), desviando a síntese de NO para a produção de O₂⁻. Embora não tenhamos avaliado a expressão ou função desta enzima encontramos uma correlação positiva (r=0,81) entre a atividade da superóxido dismutase, principal enzima envolvida na redução das concentrações de O₂⁻, e a concentração de nitritos renais.

Outra alteração que pode estar relacionada à redução na biodisponibilidade de NO renal é o aumento de ácido úrico. A literatura aponta, tanto em estudos clínicos como experimentais, que a dieta rica em frutose promove o aumento de ácido úrico, sendo este, por sua vez, associado à lipogênese, resistência à insulina, inflamação e desbalanço no perfil de EO^{131,163}. O excesso intracelular de ácido úrico é capaz de causar disfunção celular ativando vias geradoras de EROs, como a NADPH-oxidase¹⁶⁴. No rim o aumento de ácido úrico leva à redução local de NO com maior produção de EROs³⁷. Portanto, nossos resultados evidenciam que mesmo indiretamente a sobrecarga de frutose condiciona uma maior concentração de EROs precocemente, assim como redução de mecanismos antioxidantes e na

biodisponibilidade de NO, processos interligados à atividade autonômica e ao perfil metabólico.

Em conjunto nossos achados do protocolo 1 evidenciam que a dieta rica em frutose dada aos genitores, inclusive durante períodos de gestação e lactação, é capaz de condicionar um perfil metabólico desfavorável na prole já a partir do desmame; além disso, houve aumento precoce da variabilidade da PAS e da modulação simpática vascular (após 7 dias de desmame), que foram acompanhadas por um marcado desbalanço do perfil redox com aumento substancial de EROs e redução da biodisponibilidade de óxido nítrico no tecido renal, o que provavelmente está associado ao aumento de PAS observada na prole frutose aos 30 dias após o desmame.

5.2 CAPÍTULO 2 – PROTOCOLO 2

No protocolo 2 foram avaliados parâmetros metabólicos, cardiovasculares e autonômicos *in vivo*, além do perfil inflamatório e de estresse oxidativo no tecido renal da prole de genitores submetidos à sobrecarga de frutose após 30 dias do desmame, bem como o papel do treinamento aeróbio nestes parâmetros. Os achados deste capítulo evidenciaram que o treinamento físico aeróbio de apenas 4 semanas foi eficaz em atenuar prejuízos metabólicos, hemodinâmicos, autonômicos e de estresse oxidativo renal mesmo na prole de genitores frutose.

5.2.1 Parâmetros Metabólicos

Atualmente, a principal fonte de frutose são os alimentos e bebidas industrializadas ricos em xarope de milho de alta frutose – HFCS, bastante utilizado por suas propriedades adoçantes e estabilizantes. Estima-se que a população americana consuma aproximadamente 2000kcal diárias de frutose, fenômeno que acompanha o aumento da prevalência de sobrepeso/obesidade e SM nas últimas décadas^{14,15,165}.

Particularmente, o excessivo ganho de peso durante a gestação promove aumento de marcadores inflamatórios, ácidos graxos livres e modificação da sinalização de hormônios reguladores do apetite, de tal forma que estas alterações impactam no funcionamento da placenta com maior ativação de células imunes, resposta inflamatória e estresse oxidativo, alterando o desenvolvimento do tecido nervoso fetal e culminando em desordens metabólicas a longo prazo¹⁶⁶. Neste sentido,

investigações na prole de genitores que consumiram dieta rica em frutose apontam alterações no SNC, durante a formação fetal e/ ou infantil, como possível mecanismo adicional para explicar os prejuízos metabólicos.

De fato, o consumo exacerbado de frutose contribui para danos neuroendócrinos como diminuição da sensibilidade hipotalâmica para insulina e leptina, assim como maior ativação hipotalâmica da via AMPK (Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina), um processo relacionado à maior liberação de glicose hepática, e aumento do tônus do sistema nervoso simpático que contribui tanto para prejuízos metabólicos por meio da resistência à insulina, como por disfunções cardiovasculares e aumento pressórico^{32,36,167}.

Embora não tenhamos observado mudanças em peso corporal e glicemia, o treinamento físico foi eficaz em reduzir triglicérides plasmáticos e elevar a sensibilidade à insulina na prole frutose treinada, reforçando seus efeitos benéficos mesmo em condições metabólicas hereditárias desfavoráveis. De fato, a melhora na sensibilidade à insulina já foi observada em estudos prévios do nosso grupo com diferentes modalidades de treinamento físico. Farah et al., 2016 com treinamento aeróbio de 8 semanas em intensidade moderada, e Conti et al., 2015 com treinamento combinado, isto é, aeróbio complementado pelo resistido, de intensidade moderada, realizados em dias intercalados durante 8 semanas evidenciaram tal benefício^{85,90}.

Além dos mecanismos já citados, ressalta-se uma provável disfunção nos sistemas de controle do gasto energético pelo consumo exacerbado de frutose. Um estudo de Shapiro et al.¹⁶⁸, 2008 demonstrou resistência à leptina e redução da fosforilação hipotalâmica de STAT3 (do inglês – *signal transducers and activators of transcription 3*), fator de transcrição ativado pela cascata de sinalização do receptor de leptina, com consequente maior ganho de peso, após 6 meses de dieta rica em frutose (60%). Importante salientar que a leptina atua como um fator neurotrófico para o desenvolvimento hipotalâmico, e a resistência a este hormônio durante período de desenvolvimento neural isto é, na primeira infância, poderia causar prejuízo no controle do balanço energético ao longo da vida¹⁴⁴. Ademais estudo experimental de Dupas et al.¹⁶⁹, 2018 demonstrou que seis semanas de exercício aeróbio melhorou a sensibilidade à insulina, glicemia de jejum, níveis plasmáticos de leptina e adiponectina mesmo na vigência da sobrecarga de frutose (20 – 25%).

Dessa forma, nossos resultados evidenciam que embora o treinamento físico aeróbio de 4 semanas não tenha promovido alteração de peso corporal ou glicemia, ele atenuou o aumento de triglicérides e reverteu a resistência à insulina apresentada pela prole de genitores que consumiram frutose.

5.2.2 Parâmetros Hemodinâmicos e Autonômicos

Neste estudo, por meio do registro direto da PA, demonstramos aumento de PAS, DP-PAS, VAR-PAS e modulação simpática vascular (LF-abs) na prole dos genitores que consumiram frutose quando comparada à prole controle. De forma importante, o treinamento físico aeróbio foi eficaz em atenuar estes prejuízos hemodinâmicos e autonômicos.

As alterações de PA observadas na prole do grupo frutose são explicadas, em parte, por um aumento da modulação simpática e redução da atividade parassimpática por meio do nervo vago, sendo determinada por uma disfunção do sistema barorreflexo de controle da PA¹⁷⁰. Nosso grupo já demonstrou prejuízo da sensibilidade barorreflexa em animais submetidos à sobrecarga de frutose⁵⁷. Vale ressaltar que a disfunção a longo prazo no barorreflexo é capaz de projetar o *set point* de ativação das células barorreceptoras deste sistema para valores de pressão mais elevados, contribuindo para uma manutenção da alteração pressórica¹⁷¹.

Para além da maior atividade simpática e consequente redução da atividade vagal, a disfunção barorreflexa também se relaciona ao aumento da variabilidade da PAS (VPA)¹⁴⁰. A VPA caracteriza-se como um fenômeno complexo resultante de interações entre fatores comportamentais, ambientais, humorais e neurais, assim como outros potenciais fatores interferentes da PA. Estudos com modelo animal de desnervação sinoaórtica, isto é com disfunção barorreflexa determinada pela interrupção das vias aferentes dos barorreceptores presentes na aorta e carótidas, mostram um marcante aumento da VPA ainda que os valores pressóricos sejam constantes^{172,173}. Ademais, estudos que investigaram o impacto renal da desnervação sinoaórtica demonstraram o estabelecimento de lesões escleróticas parenquimatosas e vasculares renais acompanhadas de fibrose intersticial e alterações isquêmicas tanto em glomérulos quanto em túbulos renais, estes achados também favoreceram o aumento de EROs renais neste modelo^{174,175}.

O aumento de DP-PAS e VAR-PAS, variáveis relacionadas às flutuações da PA, na prole frutose sedentária demonstra claramente o prejuízo desta dieta nos genitores sobre aspectos autonômicos e de controle da PA a longo prazo na prole. Estudos têm relatado que o aumento das flutuações da PA, tanto em curto como a longo prazo está relacionado ao desenvolvimento e progressão de disfunções renais^{176,177}. Neste sentido, previamente nosso grupo já demonstrou que a sobrecarga direta de frutose em um seguimento de apenas 15 dias de consumo, favoreceu acentuado acréscimo da variância da PAS e da modulação simpática a nível vascular¹²⁸. Ademais, evidenciamos correlações positivas entre a excreção urinária de proteína com aumento da VPA e modulação simpática vascular (Lf-abs) em camundongos submetidos à sobrecarga de frutose¹⁷⁸. Recentemente ainda demonstramos que a sobrecarga de frutose nos genitores é capaz de induzir estas alterações mesmo em sua prole (dados ainda não publicados)¹⁷⁹.

Na literatura está estabelecido o papel protetor do exercício físico regular como ferramenta eficaz na melhora do perfil autonômico cardiovascular¹⁸⁰. Já encontramos melhora das respostas taquicárdica e bradicárdica em resposta a drogas vasoativas, indicativos da sensibilidade barorreflexa, com diferentes modalidades de treinamento físico, seja aeróbio, resistido ou combinado^{23,86}. Adicionalmente, em modelo experimental de menopausa demonstramos que o treinamento aeróbio de 8 semanas contribuiu para melhora da sensibilidade barorreflexa mesmo em condições de somatização de fatores de risco cardiovascular¹⁸¹. Em estudo recentemente publicado mostramos que o treinamento físico combinado, iniciado 7 dias após o desmame em ratos hipertensos, pode prevenir a disfunção autonômica e aumentar a sensibilidade do barorreflexo mesmo com dieta rica em frutose (10%), e estes benefícios se estendem mesmo após 60 dias de sobrecarga de frutose²³. Em conjunto estes dados, e os resultados do presente estudo, apontam para os benefícios cardiovasculares a longo prazo de uma vida fisicamente ativa iniciada em estágios mais precoces.

De fato, na última década estudos têm divulgado que o estilo de vida fisicamente ativo iniciado já na infância pode prevenir disfunções cardiometabólicas na idade adulta, e melhorar a expectativa de vida da população^{182,183}. Neste sentido, uma revisão sistemática com metanálise de 17 ensaios clínicos randomizados demonstrou que diferentes modalidades de atividade física, realizadas em âmbito escolar por um período de 6 meses, promoveram redução de pressão arterial sistólica e diastólica,

assim como melhora em perfil metabólico, em crianças de 6 a 12 anos¹⁸⁴. Neste sentido, a OMS (Organização Mundial da Saúde) recomenda pelo menos 60 minutos por dia de atividade física moderada a vigorosa para crianças e adolescentes (5 – 17 anos), devendo ser realizada ao longo da semana¹⁸⁵.

5.2.3 Função renal

Nossos dados não evidenciaram disfunção renal através das dosagens de creatinina e ureia plasmáticas. A ausência de diferenças nestes parâmetros muito provavelmente ocorre em função da somatória de fatores como a dose utilizada nos genitores, a forma indireta de exposição à frutose e o tempo de seguimento de avaliação da prole, portanto uma relativa tenra idade dos animais. Ressalta-se que estudo de Gersh et al.¹²¹, 2007, encontrou aumento de ureia plasmática somente após 17 semanas de consumo direto de frutose (60%) associado à nefrectomia 5/6, além de que esses fatores não promoveram alterações em creatinina plasmática no mesmo período.

Cabe ressaltar que mesmo na condição da DRC estabelecida, ocorre um processo de compensação fisiológica através da maior filtração glomerular de néfrons individuais remanescentes¹⁸⁶. Entretanto, esta ação homeostática também contribui para o estabelecimento de maior dano renal, uma vez que a maior demanda leva à hipertrofia e grande necessidade energética para estes néfrons. Isto excede a quantidade de substrato disponível e, quando associada a um suprimento vascular inadequado, comum na DRC, estabelece hipóxia e isquemia local com adoção de um metabolismo anaeróbico e geração de EROs que contribuem para perda destes néfrons restantes¹⁸⁶. Neste sentido, apesar de não haver alterações clínicas na função renal, nossos achados ressaltam alteração no balanço redox renal, conforme será discutido a seguir, sendo que, a longo prazo estas alterações caracterizam-se como um importante mecanismo de disfunção neste órgão.

5.2.4 Parâmetros Inflamatórios, de Estresse Oxidativo e Biodisponibilidade de NO

No presente estudo, embora não tenham sido observadas alterações nos títulos de citocinas renais (TNF- α , IL-6 e IL-10), encontramos uma redução da razão TNF- α /IL-10 no grupo frutose treinado comparado tanto ao frutose sedentário quanto ao

controle neste tempo. Neste sentido, vale lembrar que nas últimas décadas estudos têm discutido o papel do sistema nervoso autônomo enquanto regulador da resposta imune, sendo que a maior atividade simpática se correlaciona com aumento de inflamação e estresse oxidativo, enquanto a maior atividade parassimpática, por meio do nervo vago, atenua estas disfunções^{187,188}.

A nível renal a maior atividade simpática também contribui para maior infiltrado inflamatório local¹⁴⁰. Ressalta-se que pacientes hipertensos, caracterizados por possuírem maior grau de atividade simpática assim como aumento na VPA, também apresentam maior grau de glomeruloesclerose e fibrose renal com elevada carga de células imunes no espaço intersticial renal^{189,190}. Cabe ressaltar que descendentes de indivíduos com um perfil cardiometabólico menos favorecido, como hipertensos, apresentam também um maior risco de desenvolvimento destas disfunções através de um marcado prejuízo no controle barorreflexo e na modulação autonômica cardiovascular^{191,192}.

Dados prévios do nosso grupo evidenciam o papel modulador do exercício físico aumentando a atividade vagal/ parassimpática e reduzindo a atividade simpática, com consequente menor ação pró-inflamatória. Dias et al.²³, 2020 apresenta aumento na variância do intervalo de pulso, indicativo de maior variabilidade da frequência cardíaca e, consequentemente, melhor controle das variações pressóricas com o treinamento combinado mesmo na vigência do consumo direto de frutose.

Ainda que o treinamento não tenha mostrado efeito sobre os mediadores antioxidantes e a oxidação de proteínas, assim como reduzido as espécies pró-oxidantes (O_2^- e H_2O_2) elevadas no grupo frutose sedentário, houve uma diminuição da lipoperoxidação renal na prole frutose treinada. De fato, já encontramos redução de dano oxidativo renal, com menor oxidação proteica e lipoperoxidação, e aumento de defesas antioxidantes em animais hipertensos submetidos à sobrecarga direta de frutose, com treinamento aeróbio ou resistido de 8 semanas, alterações acompanhadas também de menor banda de baixa frequência da PAS (Lf-abs), indicativa da modulação simpática vascular, portanto acentuando os benefícios do estilo de vida fisicamente ativo sobre diferentes mecanismos²². Ademais, já observamos que o treinamento físico combinado promove mudanças positivas em perfil de estresse oxidativo, através de redução da oxidação de proteínas já com 15

dias de seguimento, e atenuação da lipoperoxidação aos 60 dias, no tecido cardíaco de animais SHR submetidos à sobrecarga de frutose²³.

Embora uma sessão aguda e prolongada de exercício físico promova maior formação de EROs, por consequência da maior atividade fosforilativa mitocondrial, é bem estabelecido que o treinamento físico combate diretamente o estresse oxidativo através de uma adaptação dos sistemas de defesa antioxidantes¹⁹³. Neste sentido, dados prévios do nosso grupo mostram que o estilo de vida fisicamente ativo promoveu melhora autonômica com maior variabilidade da frequência cardíaca, indicativo de melhor controle da variância da pressão arterial, o que também acompanhou a melhora em perfil de estresse oxidativo através da redução de O_2^- e H_2O_2 em filhos de pais hipertensos⁸⁹.

As alterações inflamatórias e no perfil de estresse oxidativo na prole treinada foram acompanhadas de melhora da biodisponibilidade de NO em tecido renal. A literatura aponta uma correlação positiva entre diferentes modalidades de exercício físico e biodisponibilidade de NO¹⁹⁴. Dados prévios do nosso grupo com ratos SHR, que receberam dieta com 10% de frutose, mostraram a efetividade do treinamento combinado em aumentar a biodisponibilidade de NO já a partir de 7 dias após seu início²³.

O NO é formado através de diferentes isoformas da enzima óxido nítrico sintase (NOS), requerendo o aminoácido L-arginina, NADPH, calmodulina, tetrahidropiobterina (BH_4), flavina-adenina dinucleotídeo (FAD) e flavina mono nucleotídeo (FMC) como cofatores em sua produção¹⁹⁵. Sua ação vasodilatadora se dá através da ativação da enzima guanilil ciclase solúvel (sGC) e a ação de GMPc (guanosina mono fosfato cíclico) como segundos mensageiros, sendo que a literatura aponta que o treinamento aeróbio de apenas 6 semanas é capaz de elevar a expressão proteica desta enzima em diferentes regiões do sistema nervoso central^{195,196}. Além dos benefícios hemodinâmicos os efeitos do NO também se estendem para angiogênese, melhora da função endotelial, redução de agregação plaquetária, melhora da TFG e redução da reabsorção tubular de sódio, da secreção de ANGII e da atividade simpática renal; além de contribuir para melhora metabólica através da promoção à sensibilidade à insulina, redução de triglicérides e aumento da eficiência mitocondrial, o que pode favorecer diretamente a oxidação de ácidos graxos como também menor produção de EROs¹⁹⁵.

Em conjunto nossos dados do protocolo 2 permitem afirmar que o treinamento aeróbio é eficaz em atenuar as disfunções metabólicas, hemodinâmicas, autonômicas, inflamatórias e de estresse oxidativo renal na prole de genitores expostos à sobrecarga de frutose durante períodos críticos para seu desenvolvimento. Estes achados reforçam que o estilo de vida fisicamente ativo, iniciado precocemente, apresenta efetividade em combater o desenvolvimento de desordens cardiometabólicas a longo prazo.

6. CONCLUSÃO

Neste estudo testamos a hipótese de que a sobrecarga de frutose em genitores é capaz de promover disfunções autonômicas, inflamatórias e de estresse oxidativo renal na prole em diferentes idades, assim como o treinamento físico aeróbico na prole é capaz de combater estes prejuízos.

Nossos resultados evidenciam que as disfunções autonômicas marcadas por aumento na variabilidade da pressão arterial iniciam-se em estágios precoces da vida (apenas 7 dias após o desmame), e se somam a um desbalanço do perfil redox renal se estendendo a longo prazo, o que contribui para o desenvolvimento de dano renal, assim como de aumento de risco cardiovascular em um modelo experimental de estudo da prole de genitores expostos à sobrecarga de frutose. Todavia, o treinamento físico aeróbico de apenas 4 semanas mostrou-se capaz de atenuar estas alterações nesta condição, denotando que a adoção de um estilo de vida fisicamente ativo pode promover benefícios cardiometabólicos, autonômicos, e no perfil inflamatório e redox em tecido renal mesmo na presença de um perfil cardiometabólico hereditariamente desfavorável.

É importante destacar que a SM se caracteriza como uma condição complexa de manejo desafiador, que muitas vezes predispõe o desenvolvimento de outras doenças crônicas como a doença renal. Neste sentido, a busca de estratégias, como a prática regular de atividade física, que possam atuar precocemente na disfunção de mecanismos que interconectam estas doenças deve ser encorajada.

REFERÊNCIAS

1. Grundy SM. Metabolic syndrome update. *Trends Cardiovasc Med*. maio de 2016;26(4):364–73.
2. Khosravi-Boroujeni H, Ahmed F, Sadeghi M, Roohafza H, Talaei M, Dianatkhan M, et al. Does the impact of metabolic syndrome on cardiovascular events vary by using different definitions? *BMC Public Health*. 29 de dezembro de 2015;15:1313.
3. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. abril de 2005;84:3–28.
4. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 4 de dezembro de 2002;288(21):2709–16.
5. Mitrakou A. Women's health and the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci*. dezembro de 2006;1092:33–48.
6. Mottillo S, Filion KB, Genest J, Joseph L, Pilote L, Poirier P, et al. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 28 de setembro de 2010;56(14):1113–32.
7. Malta DC, Teixeira R, Oliveira GMM de, Ribeiro ALP. Cardiovascular Disease Mortality According to the Brazilian Information System on Mortality and the Global Burden of Disease Study Estimates in Brazil, 2000-2017. *Arq Bras Cardiol*. 28 de agosto de 2020;115(2):152–60.
8. Kosmas CE, Silverio D, Tsomidou C, Salcedo MD, Montan PD, Guzman E. The Impact of Insulin Resistance and Chronic Kidney Disease on Inflammation and Cardiovascular Disease. *Clin Med Insights Endocrinol Diabetes*. 2018;11:1179551418792257.
9. Basciano H, Federico L, Adeli K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab (Lond)*. 21 de fevereiro de 2005;2(1):5.
10. Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr*. abril de 2004;79(4):537–43.
11. Tran LT, Yuen VG, McNeill JH. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Mol Cell Biochem*. dezembro de 2009;332(1–2):145–59.
12. Henry RR, Crapo PA, Thorburn AW. Current issues in fructose metabolism. *Annu Rev Nutr*. 1991;11:21–39.
13. Hanover LM, White JS. Manufacturing, composition, and applications of fructose. *Am J Clin Nutr*. novembro de 1993;58(5 Suppl):724S-732S.

14. Parker K, Salas M, Nwosu VC. High fructose corn syrup: Production, uses and public health concerns. *BMBR*. 30 de setembro de 2010;5(5):71–8.
15. Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI, Kang DH, et al. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. outubro de 2007;86(4):899–906.
16. Farah V, Elased K, Chen Y, Key M, Cunha T, Irigoyen M, et al. Nocturnal hypertension in mice consuming a high fructose diet. *Autonomic neuroscience : basic & clinical*. 1º de dezembro de 2006;130:41–50.
17. Jürgens H, Haass W, Castañeda TR, Schürmann A, Koebnick C, Dombrowski F, et al. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes Res*. julho de 2005;13(7):1146–56.
18. Kelley GL, Allan G, Azhar S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. *Endocrinology*. fevereiro de 2004;145(2):548–55.
19. Swanson JE, Laine DC, Thomas W, Bantle JP. Metabolic effects of dietary fructose in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*. abril de 1992;55(4):851–6.
20. Brito JO, Ponciano K, Figueroa D, Bernardes N, Sanches ÍC, Irigoyen MC, et al. Parasympathetic dysfunction is associated with insulin resistance in fructose-fed female rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. setembro de 2008;41(9):804–8.
21. Conti FF, Brito J de O, Bernardes N, Dias D da S, Sanches IC, Malfitano C, et al. Cardiovascular autonomic dysfunction and oxidative stress induced by fructose overload in an experimental model of hypertension and menopause. *BMC Cardiovasc Disord*. 11 de dezembro de 2014;14:185.
22. de Oliveira Brito-Monzani J, Stoyell-Conti FF, Shecaira TP, Dos Santos Ferreira Silva MP, da Silva Dias D, Bernardes N, et al. Aerobic or resistance training improves autonomic control of circulation in oophorectomized rats with cardiometabolic dysfunctions: Impact on renal oxidative stress. *Exp Gerontol*. março de 2021;145:111181.
23. Dias D da S, Bernardes N, Stoyell-Conti FF, dos Santos CP, de Araujo AA, Llesuy S, et al. Impact of combined exercise training on the development of cardiometabolic and neuroimmune complications induced by fructose consumption in hypertensive rats. *PLoS One*. 10 de junho de 2020;15(6):e0233785.
24. Lehnen AM, Rodrigues B, Irigoyen MC, De Angelis K, Schaan BD. Cardiovascular Changes in Animal Models of Metabolic Syndrome. *J Diabetes Res* [Internet]. 2013 [citado 2 de fevereiro de 2021];2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3647579/>

25. Fernandez-Twinn DS, Ozanne SE. Mechanisms by which poor early growth programs type-2 diabetes, obesity and the metabolic syndrome. *Physiol Behav.* 30 de junho de 2006;88(3):234–43.
26. Barker DJP. The developmental origins of adult disease. *Eur J Epidemiol.* 2003;18(8):733–6.
27. Feillet-Coudray C, Fouret G, Vigor C, Bonafos B, Jover B, Blachnio-Zabielska A, et al. Long-Term Measures of Dyslipidemia, Inflammation, and Oxidative Stress in Rats Fed a High-Fat/High-Fructose Diet. *Lipids.* janeiro de 2019;54(1):81–97.
28. Jen KL, Rochon C, Zhong SB, Whitcomb L. Fructose and sucrose feeding during pregnancy and lactation in rats changes maternal and pup fuel metabolism. *J Nutr.* dezembro de 1991;121(12):1999–2005.
29. Ortega-Pacheco D, Jiménez-Pérez MM, Serafín-López J, Juárez-Rojas JG, Ruiz-García A, Pacheco-García U. Vanadyl Sulfate Effects on Systemic Profiles of Metabolic Syndrome in Old Rats with Fructose-Induced Obesity. *Int J Endocrinol.* 2018;2018:5257216.
30. Rodríguez L, Panadero MI, Roglans N, Otero P, Alvarez-Millán JJ, Laguna JC, et al. Fructose during pregnancy affects maternal and fetal leptin signaling. *J Nutr Biochem.* outubro de 2013;24(10):1709–16.
31. Zou M, Arentson EJ, Teegarden D, Koser SL, Onyskow L, Donkin SS. Fructose consumption during pregnancy and lactation induces fatty liver and glucose intolerance in rats. *Nutr Res.* agosto de 2012;32(8):588–98.
32. Alzamendi A, Castrogiovanni D, Gaillard RC, Spinedi E, Giovambattista A. Increased male offspring's risk of metabolic-neuroendocrine dysfunction and overweight after fructose-rich diet intake by the lactating mother. *Endocrinology.* setembro de 2010;151(9):4214–23.
33. Carapeto PV, Ornellas F, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguila MB. Liver metabolism in adult male mice offspring: consequences of a maternal, paternal or both maternal and paternal high-fructose diet. *J Dev Orig Health Dis.* agosto de 2018;9(4):450–9.
34. Koo S, Kim M, Cho HM, Kim I. Maternal high-fructose intake during pregnancy and lactation induces metabolic syndrome in adult offspring. *Nutr Res Pract.* abril de 2021;15(2):160–72.
35. Saad AF, Dickerson J, Kechichian TB, Yin H, Gamble P, Salazar A, et al. High-fructose diet in pregnancy leads to fetal programming of hypertension, insulin resistance, and obesity in adult offspring. *Am J Obstet Gynecol.* setembro de 2016;215(3):378.e1-6.
36. Chao YM, Wu KLH, Tsai PC, Tain YL, Leu S, Lee WC, et al. Anomalous AMPK-regulated angiotensin AT1R expression and SIRT1-mediated mitochondrial biogenesis at RVLM in hypertension programming of offspring to maternal high fructose exposure. *J Biomed Sci.* 23 de maio de 2020;27(1):68.

37. Seong HY, Cho HM, Kim M, Kim I. Maternal High-Fructose Intake Induces Multigenerational Activation of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System. Hypertension. setembro de 2019;74(3):518–25.
38. Holmberg NG, Kaplan B, Karvonen MJ, Lind J, Malm M. Permeability of human placenta to glucose, fructose, and xylose. Acta Physiol Scand. 31 de maio de 1956;36(4):291–9.
39. Sloboda DM, Li M, Patel R, Clayton ZE, Yap C, Vickers MH. Early life exposure to fructose and offspring phenotype: implications for long term metabolic homeostasis. J Obes. 2014;2014:203474.
40. Ronco C, Haapio M, House AA, Anavekar N, Bellomo R. Cardiorenal Syndrome. Journal of the American College of Cardiology. 4 de novembro de 2008;52(19):1527–39.
41. Chawla LS, Kimmel PL. Acute kidney injury and chronic kidney disease: an integrated clinical syndrome. Kidney International. 1º de setembro de 2012;82(5):516–24.
42. Slee AD. Exploring metabolic dysfunction in chronic kidney disease. Nutr Metab (Lond). 26 de abril de 2012;9:36.
43. Elshahat S, Cockwell P, Maxwell AP, Griffin M, O'Brien T, O'Neill C. The impact of chronic kidney disease on developed countries from a health economics perspective: A systematic scoping review. PLoS One. 2020;15(3):e0230512.
44. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. Lancet. 20 de julho de 2013;382(9888):260–72.
45. Alicic RZ, Rooney MT, Tuttle KR. Diabetic Kidney Disease: Challenges, Progress, and Possibilities. Clin J Am Soc Nephrol. 7 de dezembro de 2017;12(12):2032–45.
46. Seccia TM, Caroccia B, Calò LA. Hypertensive nephropathy. Moving from classic to emerging pathogenetic mechanisms. J Hypertens. fevereiro de 2017;35(2):205–12.
47. Bell S, Fletcher EH, Brady I, Looker HC, Levin D, Joss N, et al. End-stage renal disease and survival in people with diabetes: a national database linkage study. QJM. fevereiro de 2015;108(2):127–34.
48. Satirapoj B, Adler SG. Prevalence and Management of Diabetic Nephropathy in Western Countries. Kidney Dis (Basel). maio de 2015;1(1):61–70.
49. Rayego-Mateos S, Morgado-Pascual JL, Opazo-Ríos L, Guerrero-Hue M, García-Caballero C, Vázquez-Carballo C, et al. Pathogenic Pathways and Therapeutic Approaches Targeting Inflammation in Diabetic Nephropathy. Int J Mol Sci [Internet]. 27 de maio de 2020 [citado 5 de fevereiro de 2021];21(11). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7312633/>

50. Satoh M. Endothelial dysfunction as an underlying pathophysiological condition of chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol.* agosto de 2012;16(4):518–21.
51. Bilo G, Parati G. Blood pressure variability and kidney disease: another vicious circle? *J Hypertens.* maio de 2018;36(5):1019–21.
52. Irigoyen MC, De Angelis K, Dos Santos F, Dartora DR, Rodrigues B, Consolim-Colombo FM. Hypertension, Blood Pressure Variability, and Target Organ Lesion. *Curr Hypertens Rep.* abril de 2016;18(4):31.
53. Moraes-Silva IC, De La Fuente RN, Mostarda C, Rosa K, Flues K, Damaceno-Rodrigues NR, et al. Baroreflex deficit blunts exercise training-induced cardiovascular and autonomic adaptations in hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* março de 2010;37(3):e114-120.
54. Oosting J, Struijker-Boudier HA, Janssen BJ. Autonomic control of ultradian and circadian rhythms of blood pressure, heart rate, and baroreflex sensitivity in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens.* abril de 1997;15(4):401–10.
55. Kishi T. Baroreflex failure and beat-to-beat blood pressure variation. *Hypertens Res.* agosto de 2018;41(8):547–52.
56. Mallamaci F, Tripepi G. Blood pressure variability in chronic kidney disease patients. *Blood Purif.* 2013;36(1):58–62.
57. Bernardes N, da Silva Dias D, Stoyell-Conti FF, de Oliveira Brito-Monzani J, Malfitano C, Caldini EG, et al. Baroreflex Impairment Precedes Cardiometabolic Dysfunction in an Experimental Model of Metabolic Syndrome: Role of Inflammation and Oxidative Stress. *Sci Rep.* 5 de junho de 2018;8(1):8578.
58. Donath MY, Meier DT, Böni-Schnetzler M. Inflammation in the Pathophysiology and Therapy of Cardiometabolic Disease. *Endocr Rev.* 1º de agosto de 2019;40(4):1080–91.
59. de Vinuesa SG, Goicoechea M, Kanter J, Puerta M, Cachofeiro V, Lahera V, et al. Insulin resistance, inflammatory biomarkers, and adipokines in patients with chronic kidney disease: effects of angiotensin II blockade. *J Am Soc Nephrol.* dezembro de 2006;17(12 Suppl 3):S206-212.
60. Donate-Correa J, Martín-Núñez E, Muros-de-Fuentes M, Mora-Fernández C, Navarro-González JF. Inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *J Diabetes Res.* 2015;2015:948417.
61. Nowak KL, Jovanovich A, Farmer-Bailey H, Bispham N, Struempf T, Malaczewski M, et al. Vascular Dysfunction, Oxidative Stress, and Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Kidney360.* junho de 2020;1(6):501–9.
62. Bernardes N. Mecanismos associados ao desenvolvimento das complicações cardiometabólicas em SHR submetidos à sobrecarga de frutose: papel do treinamento físico aeróbio [Internet] [text]. Universidade de São Paulo; 2016

[citado 3 de fevereiro de 2021]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5160/tde-04082016-154155/>

63. Belló-Klein A, Bock PM, Travacio M, Senna SM, Llesuy S, de Bittencourt PI, et al. Myocardial oxidative stress and antioxidants in hypertension as a result of nitric oxide synthase inhibition. *Cardiovasc Toxicol*. 2001;1(1):43–50.
64. Hsu CN, Tain YL. Developmental Origins of Kidney Disease: Why Oxidative Stress Matters? *Antioxidants (Basel)*. 30 de dezembro de 2020;10(1).
65. Cachofeiro V, Goicochea M, de Vinuesa SG, Oubiña P, Lahera V, Luño J. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl*. dezembro de 2008;(111):S4-9.
66. Nemmar A, Al-Salam S, Beegam S, Zaaba NE, Yasin J, Hamadi N, et al. Cardiac Inflammation, Oxidative Stress, Nrf2 Expression, and Coagulation Events in Mice with Experimental Chronic Kidney Disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:8845607.
67. Duni A, Liakopoulos V, Roumeliotis S, Peschos D, Dounousi E. Oxidative Stress in the Pathogenesis and Evolution of Chronic Kidney Disease: Untangling Ariadne's Thread. *Int J Mol Sci*. 29 de julho de 2019;20(15).
68. Miranda-Díaz AG, Pazarín-Villaseñor L, Yanowsky-Escatell FG, Andrade-Sierra J. Oxidative Stress in Diabetic Nephropathy with Early Chronic Kidney Disease. *J Diabetes Res*. 2016;2016:7047238.
69. Toualbi LA, Adnane M, Abderrezak K, Ballouti W, Arab M, Toualbi C, et al. Oxidative stress accelerates the carotid atherosclerosis process in patients with chronic kidney disease. *Arch Med Sci Atheroscler Dis*. 2020;5:e245–54.
70. Vodošek Hojs N, Bevc S, Ekart R, Hojs R. Oxidative Stress Markers in Chronic Kidney Disease with Emphasis on Diabetic Nephropathy. *Antioxidants (Basel)*. 27 de setembro de 2020;9(10).
71. Monserrat-Mesquida M, Quetglas-Llabrés M, Capó X, Bouzas C, Mateos D, Pons A, et al. Metabolic Syndrome Is Associated with Oxidative Stress and Proinflammatory State. *Antioxidants (Basel)*. 12 de março de 2020;9(3):236.
72. Crowley SD. The cooperative roles of inflammation and oxidative stress in the pathogenesis of hypertension. *Antioxid Redox Signal*. 1º de janeiro de 2014;20(1):102–20.
73. Jia G, Sowers JR. Hypertension in Diabetes: An Update of Basic Mechanisms and Clinical Disease. *Hypertension*. novembro de 2021;78(5):1197–205.
74. Manna P, Jain SK. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metab Syndr Relat Disord*. dezembro de 2015;13(10):423–44.

75. Orie NN, Zidek W, Tepel M. Reactive oxygen species in essential hypertension and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Hypertens.* dezembro de 1999;12(12 Pt 1-2):1169–74.
76. Abdel-Moneim A, Mahmoud B, Nabil A, Negeem Z. Correlation between oxidative stress and hematological profile abnormalities in diabetic nephropathy. *Diabetes Metab Syndr.* agosto de 2019;13(4):2365–73.
77. Higdon JV, Frei B. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1º de março de 2003;23(3):365–7.
78. Merzouk SA, Hichami A, Sari A, Madani S, Merzouk H, Berrouiguet A, et al. Impaired oxidant/antioxidant status and LDL-fatty acid composition are associated with increased susceptibility to peroxidation of LDL in diabetic patients. *General physiology and biophysics.* 1º de janeiro de 2005;23:387–99.
79. Mizuno T, Matsui H, Imamura A, Numaguchi Y, Sakai K, Murohara T, et al. Insulin resistance increases circulating malondialdehyde-modified LDL and impairs endothelial function in healthy young men. *Int J Cardiol.* dezembro de 2004;97(3):455–61.
80. Bouanane S, Benkalfat NB, Baba Ahmed FZ, Merzouk H, Mokhtari NS, Merzouk SA, et al. Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in overfed obese rats and their offspring. *Clin Sci (Lond).* abril de 2009;116(8):669–80.
81. Ciolac EG, Guimarães GV. Physical exercise and metabolic syndrome. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte.* agosto de 2004;10(4):319–24.
82. De Angelis Lobo d'Avila K, Gadonski G, Fang J, Dall'Ago P, Albuquerque VL, Peixoto LR, et al. Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats. *Hypertension.* outubro de 1999;34(4 Pt 2):768–72.
83. Myers J, Kokkinos P, Nyelin E. Physical Activity, Cardiorespiratory Fitness, and the Metabolic Syndrome. *Nutrients.* 19 de julho de 2019;11(7):E1652.
84. Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med.* 3 de maio de 2001;344(18):1343–50.
85. Conti FF, Brito J de O, Bernardes N, Dias D da S, Malfitano C, Morris M, et al. 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 de dezembro de 2015;309(12):R1532–1539.
86. da Palma RK, Moraes-Silva IC, da Silva Dias D, Shimojo GL, Conti FF, Bernardes N, et al. Resistance or aerobic training decreases blood pressure and improves cardiovascular autonomic control and oxidative stress in hypertensive menopausal rats. *J Appl Physiol (1985).* 1º de outubro de 2016;121(4):1032–8.

87. Flynn MG, McFarlin BK, Markofski MM. The Anti-Inflammatory Actions of Exercise Training. *Am J Lifestyle Med.* maio de 2007;1(3):220–35.
88. Pedersen BK, Bruunsgaard H. Possible beneficial role of exercise in modulating low-grade inflammation in the elderly. *Scand J Med Sci Sports.* fevereiro de 2003;13(1):56–62.
89. Santa-Rosa FA, Shimojo GL, Dias DS, Viana A, Lanza FC, Irigoyen MC, et al. Impact of an active lifestyle on heart rate variability and oxidative stress markers in offspring of hypertensives. *Sci Rep.* 24 de julho de 2020;10(1):12439.
90. Farah D, Nunes J, Sartori M, Dias D da S, Sirvente R, Silva MB, et al. Exercise Training Prevents Cardiovascular Derangements Induced by Fructose Overload in Developing Rats. *PLoS One.* 2016;11(12):e0167291.
91. Dragusha G, Elezi A, Dragusha S, Gorani D, Begolli L, Saiti V. Treatment benefits on metabolic syndrome with diet and physical activity. *Bosn J Basic Med Sci.* maio de 2010;10(2):169–76.
92. Eleutério-Silva MA, Sá da Fonseca LJ, Velloso EPP, da Silva Guedes G, Sampaio WO, da Silva WF, et al. Short-term cardiovascular physical programme ameliorates arterial stiffness and decreases oxidative stress in women with metabolic syndrome. *J Rehabil Med.* junho de 2013;45(6):572–9.
93. Castaneda C, Gordon PL, Uhlin KL, Levey AS, Kehayias JJ, Dwyer JT, et al. Resistance training to counteract the catabolism of a low-protein diet in patients with chronic renal insufficiency. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 4 de dezembro de 2001;135(11):965–76.
94. Greenwood SA, Koufaki P, Mercer TH, MacLaughlin HL, Rush R, Lindup H, et al. Effect of exercise training on estimated GFR, vascular health, and cardiorespiratory fitness in patients with CKD: a pilot randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis.* março de 2015;65(3):425–34.
95. Viana JL, Kosmadakis GC, Watson EL, Bevington A, Feehally J, Bishop NC, et al. Evidence for Anti-Inflammatory Effects of Exercise in CKD. *J Am Soc Nephrol.* setembro de 2014;25(9):2121–30.
96. Suzuki M, Nomura C, Odaka H, Ikeda H. Effect of an insulin sensitizer, pioglitazone, on hypertension in fructose-drinking rats. *Jpn J Pharmacol.* agosto de 1997;74(4):297–302.
97. Brooks GA, White TP. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* dezembro de 1978;45(6):1009–15.
98. Irigoyen MC, Paulini J, Flores LJF, Flues K, Bertagnolli M, Moreira ED, et al. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. *Hypertension.* outubro de 2005;46(4):998–1003.

99. Mostarda C, Moraes-Silva IC, Salemi VMC, Machi JF, Rodrigues B, De Angelis K, et al. Exercise training prevents diastolic dysfunction induced by metabolic syndrome in rats. *Clinics*. julho de 2012;67(7):815–20.
100. Bonora E, Moghetti P, Zancanaro C, Cigolini M, Querena M, Cacciatori V, et al. Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. *J Clin Endocrinol Metab*. fevereiro de 1989;68(2):374–8.
101. De Angelis KLD, Oliveira AR, Dall'Ago P, Peixoto LRA, Gadonski G, Lacchini S, et al. Effects of exercise training on autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Braz J Med Biol Res*. junho de 2000;33:635–41.
102. De Angelis K, Wichy RB, Jesus WRA, Moreira ED, Morris M, Krieger EM, et al. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. *J Appl Physiol* (1985). junho de 2004;96(6):2174–8.
103. De Angelis KL, Oliveira AR, Werner A, Bock P, Belló-Klein A, Fernandes TG, et al. Exercise training in aging: hemodynamic, metabolic, and oxidative stress evaluations. *Hypertension*. setembro de 1997;30(3 Pt 2):767–71.
104. Souza SBC, Flues K, Paulini J, Mostarda C, Rodrigues B, Souza LE, et al. Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats. *Hypertension*. outubro de 2007;50(4):786–91.
105. Mostarda C, Rogow A, Moraes Silva IC, De La Fuente RN, Jorge L, Rodrigues B, et al. Benefits of exercise training in diabetic rats persist after three weeks of detraining. *Autonomic Neuroscience*. 28 de janeiro de 2009;145(1):11–6.
106. Quagliotto E, Neckel H, Riveiro DF, Casali KR, Mostarda C, Irigoyen MC, et al. Histamine in the posterodorsal medial amygdala modulates cardiovascular reflex responses in awake rats. *Neuroscience*. 10 de dezembro de 2008;157(4):709–19.
107. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. novembro de 1951;193(1):265–75.
108. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 25 de maio de 1972;247(10):3170–5.
109. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods*. 1980;38(1–2):161–70.
110. Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem*. março de 1969;27(3):502–22.

111. Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J.* julho de 1973;134(3):707–16.
112. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.* 16 de setembro de 1974;47(3):469–74.
113. Flohé L, Günzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Meth Enzymol.* 1984;105:114–21.
114. Benzie IF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol.* 1999;299:15–27.
115. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Meth Enzymol.* 1994;233:357–63.
116. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302–10.
117. Granger DL, Anstey NM, Miller WC, Weinberg JB. Measuring nitric oxide production in human clinical studies. *Methods Enzymol.* 1999;301:49–61.
118. Jankowski J, Floege J, Fliser D, Böhm M, Marx N. Cardiovascular Disease in Chronic Kidney Disease: Pathophysiological Insights and Therapeutic Options. *Circulation.* 16 de março de 2021;143(11):1157–72.
119. Khitan Z, Kim DH. Fructose: A Key Factor in the Development of Metabolic Syndrome and Hypertension. *J Nutr Metab.* 2013;2013:682673.
120. Tappy L, Lê KA. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev.* janeiro de 2010;90(1):23–46.
121. Gersch MS, Mu W, Cirillo P, Reungjui S, Zhang L, Roncal C, et al. Fructose, but not dextrose, accelerates the progression of chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* outubro de 2007;293(4):F1256-1261.
122. Johnson RJ, Sanchez-Lozada LG, Nakagawa T. The effect of fructose on renal biology and disease. *J Am Soc Nephrol.* dezembro de 2010;21(12):2036–9.
123. Nüsken E, Voggel J, Fink G, Dötsch J, Nüsken KD. Impact of early-life diet on long-term renal health. *Mol Cell Pediatr.* 3 de dezembro de 2020;7(1):17.
124. Bernardes N, Ayyappan P, De Angelis K, Bagchi A, Akolkar G, da Silva Dias D, et al. Excessive consumption of fructose causes cardiometabolic dysfunctions through oxidative stress and inflammation. *Can J Physiol Pharmacol.* outubro de 2017;95(10):1078–90.

125. Powell ES, Smith-Taillie LP, Popkin BM. Added Sugars Intake Across the Distribution of US Children and Adult Consumers: 1977-2012. *J Acad Nutr Diet.* outubro de 2016;116(10):1543-1550.e1.
126. Vos MB, Kimmons JE, Gillespie C, Welsh J, Blanck HM. Dietary fructose consumption among US children and adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape J Med.* 9 de julho de 2008;10(7):160.
127. Bray GA, Popkin BM. Dietary sugar and body weight: have we reached a crisis in the epidemic of obesity and diabetes?: health be damned! Pour on the sugar. *Diabetes Care.* abril de 2014;37(4):950–6.
128. De Angelis K, Senador DD, Mostarda C, Irigoyen MC, Morris M. Sympathetic overactivity precedes metabolic dysfunction in a fructose model of glucose intolerance in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 15 de abril de 2012;302(8):R950-957.
129. Toop CR, Muhlhausler BS, O'Dea K, Gentili S. Impact of perinatal exposure to sucrose or high fructose corn syrup (HFCS-55) on adiposity and hepatic lipid composition in rat offspring. *J Physiol.* 1º de julho de 2017;595(13):4379–98.
130. Bramlage KS, Bhattacharjee J, Kirby M, Myronovych A, Gupta R, Gonzalez RMS, et al. A Diet High in Fat and Fructose Induces Early Hepatic Mitochondrial Aging. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1º de julho de 2021;73(1):99–102.
131. Dornas WC, de Lima WG, Pedrosa ML, Silva ME. Health implications of high-fructose intake and current research. *Adv Nutr.* novembro de 2015;6(6):729–37.
132. Softic S, Stanhope KL, Boucher J, Divanovic S, Lanaspá MA, Johnson RJ, et al. Fructose and hepatic insulin resistance. *Crit Rev Clin Lab Sci.* agosto de 2020;57(5):308–22.
133. O'Reilly JR, Reynolds RM. The risk of maternal obesity to the long-term health of the offspring. *Clin Endocrinol (Oxf).* janeiro de 2013;78(1):9–16.
134. Sanches IC, de Oliveira Brito J, Candido GO, da Silva Dias D, Jorge L, Irigoyen MC, et al. Cardiometabolic benefits of exercise training in an experimental model of metabolic syndrome and menopause. *Menopause.* maio de 2012;19(5):562–8.
135. Malik VS, Li Y, Pan A, De Koning L, Schernhammer E, Willett WC, et al. Long-Term Consumption of Sugar-Sweetened and Artificially Sweetened Beverages and Risk of Mortality in US Adults. *Circulation.* 30 de abril de 2019;139(18):2113–25.
136. Rippe JM, Angelopoulos TJ. Added sugars and risk factors for obesity, diabetes and heart disease. *Int J Obes (Lond).* março de 2016;40 Suppl 1:S22-27.
137. Tain YL, Wu KLH, Lee WC, Leu S, Chan JYH. Maternal fructose-intake-induced renal programming in adult male offspring. *J Nutr Biochem.* junho de 2015;26(6):642–50.

138. Chiba Y, Murakami R, Matsumoto K, Wakamatsu K, Nonaka W, Uemura N, et al. Glucose, Fructose, and Urate Transporters in the Choroid Plexus Epithelium. *Int J Mol Sci.* 30 de setembro de 2020;21(19):E7230.
139. DiNicolantonio JJ, Mehta V, Onkaramurthy N, O’Keefe JH. Fructose-induced inflammation and increased cortisol: A new mechanism for how sugar induces visceral adiposity. *Prog Cardiovasc Dis.* junho de 2018;61(1):3–9.
140. Shecaira, T.P., Nascimento-Filho, A.V, Petrica-Neves, P., Miranda, V.H.M., Gomes, G.N., De Angelis, K. Disfunção autonômica cardiovascular & dano renal: papel da inflamação e do estresse oxidativo. 2022;
141. Matsui Y, Ishikawa J, Eguchi K, Shibasaki S, Shimada K, Kario K. Maximum value of home blood pressure: a novel indicator of target organ damage in hypertension. *Hypertension.* junho de 2011;57(6):1087–93.
142. Kawai T, Autieri MV, Scalia R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *Am J Physiol Cell Physiol.* 1º de março de 2021;320(3):C375–91.
143. Bernardi S, Marcuzzi A, Piscianz E, Tommasini A, Fabris B. The Complex Interplay between Lipids, Immune System and Interleukins in Cardio-Metabolic Diseases. *Int J Mol Sci.* 14 de dezembro de 2018;19(12):E4058.
144. Goran MI, Dumke K, Bouret SG, Kayser B, Walker RW, Blumberg B. The obesogenic effect of high fructose exposure during early development. *Nat Rev Endocrinol.* agosto de 2013;9(8):494–500.
145. Lundman P, Eriksson MJ, Silveira A, Hansson LO, Pernow J, Ericsson CG, et al. Relation of hypertriglyceridemia to plasma concentrations of biochemical markers of inflammation and endothelial activation (C-reactive protein, interleukin-6, soluble adhesion molecules, von Willebrand factor, and endothelin-1). *Am J Cardiol.* 1º de maio de 2003;91(9):1128–31.
146. Prince PD, Lanzi CR, Toblli JE, Elesgaray R, Oteiza PI, Fraga CG, et al. Dietary (–)-epicatechin mitigates oxidative stress, NO metabolism alterations, and inflammation in renal cortex from fructose-fed rats. *Free Radical Biology and Medicine.* 1º de janeiro de 2016;90:35–46.
147. Brymora A, Flisiński M, Johnson RJ, Goszka G, Stefańska A, Manitius J. Low-fructose diet lowers blood pressure and inflammation in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* fevereiro de 2012;27(2):608–12.
148. Della Corte KW, Perrar I, Penczynski KJ, Schwingshackl L, Herder C, Buyken AE. Effect of Dietary Sugar Intake on Biomarkers of Subclinical Inflammation: A Systematic Review and Meta-Analysis of Intervention Studies. *Nutrients.* 12 de maio de 2018;10(5):606.
149. Porto ML, Lírio LM, Dias AT, Batista AT, Campagnaro BP, Mill JG, et al. Increased oxidative stress and apoptosis in peripheral blood mononuclear cells of fructose-fed rats. *Toxicol In Vitro.* dezembro de 2015;29(8):1977–81.

150. McCracken E, Monaghan M, Sreenivasan S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clin Dermatol.* fevereiro de 2018;36(1):14–20.
151. Forman HJ, Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov.* setembro de 2021;20(9):689–709.
152. Daiber A, Steven S, Euler G, Schulz R. Vascular and Cardiac Oxidative Stress and Inflammation as Targets for Cardioprotection. *Curr Pharm Des.* 2021;27(18):2112–30.
153. Mitchell S, Vargas J, Hoffmann A. Signaling via the NFkB system. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* maio de 2016;8(3):227–41.
154. Calabró V, Piotrkowski B, Fischerman L, Vazquez Prieto MA, Galleano M, Fraga CG. Modifications in nitric oxide and superoxide anion metabolism induced by fructose overload in rat heart are prevented by (-)-epicatechin. *Food Funct.* abril de 2016;7(4):1876–83.
155. Mellor K, Ritchie RH, Meredith G, Woodman OL, Morris MJ, Delbridge LMD. High-fructose diet elevates myocardial superoxide generation in mice in the absence of cardiac hypertrophy. *Nutrition.* 2010;26(7–8):842–8.
156. Buck T, Hack CT, Berg D, Berg U, Kunz L, Mayerhofer A. The NADPH oxidase 4 is a major source of hydrogen peroxide in human granulosa-lutein and granulosa tumor cells. *Sci Rep.* 5 de março de 2019;9(1):3585.
157. Jung K, Henke W. Developmental changes of antioxidant enzymes in kidney and liver from rats. *Free Radic Biol Med.* 1996;20(4):613–7.
158. Förstermann U, Xia N, Li H. Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circ Res.* 17 de fevereiro de 2017;120(4):713–35.
159. Zein S, Sitti F, Osman M, Arnaud J, Batandier C, Gauchez AS, et al. Middle Iron-Enriched Fructose Diet on Gestational Diabetes Risk and on Oxidative Stress in Offspring Rats. *Biol Trace Elem Res.* fevereiro de 2017;175(2):405–13.
160. Ishimoto Y, Tanaka T, Yoshida Y, Inagi R. Physiological and pathophysiological role of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in the kidney. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* novembro de 2018;45(11):1097–105.
161. Griendling KK, Camargo LL, Rios FJ, Alves-Lopes R, Montezano AC, Touyz RM. Oxidative Stress and Hypertension. *Circ Res.* 2 de abril de 2021;128(7):993–1020.
162. Bazer FW, Wu G, Johnson GA, Wang X. Environmental factors affecting pregnancy: endocrine disruptors, nutrients and metabolic pathways. *Mol Cell Endocrinol.* dezembro de 2014;398(1–2):53–68.
163. Zhang C, Li L, Zhang Y, Zeng C. Recent advances in fructose intake and risk of hyperuricemia. *Biomed Pharmacother.* novembro de 2020;131:110795.

164. Sautin YY, Nakagawa T, Zharikov S, Johnson RJ. Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress. *Am J Physiol Cell Physiol.* agosto de 2007;293(2):C584-596.
165. Christian Flemming GM, Bussler S, Körner A, Kiess W. Definition and early diagnosis of metabolic syndrome in children. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 28 de julho de 2020;33(7):821–33.
166. Shook LL, Kislal S, Edlow AG. Fetal brain and placental programming in maternal obesity: A review of human and animal model studies. *Prenat Diagn.* agosto de 2020;40(9):1126–37.
167. Mukai Y, Ozaki H, Serita Y, Sato S. Maternal fructose intake during pregnancy modulates hepatic and hypothalamic AMP-activated protein kinase signalling in a sex-specific manner in offspring. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* maio de 2014;41(5):331–7.
168. Shapiro A, Mu W, Roncal C, Cheng KY, Johnson RJ, Scarpace PJ. Fructose-induced leptin resistance exacerbates weight gain in response to subsequent high-fat feeding. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* novembro de 2008;295(5):R1370-1375.
169. Dupas J, Feray A, Guernec A, Pengam M, Inizan M, Guerrero F, et al. Effect of personalized moderate exercise training on Wistar rats fed with a fructose enriched water. *Nutr Metab (Lond).* 2018;15:69.
170. Klein AV, Kiat H. The mechanisms underlying fructose-induced hypertension: a review. *J Hypertens.* maio de 2015;33(5):912–20.
171. Campagnole-Santos MJ, Haibara AS. Reflexos cardiovasculares e hipertensão arterial. *Rev bras hipertens.* 2001;30–40.
172. Aw C, Jf L, Ac G. Role of baroreceptor reflex in daily control of arterial blood pressure and other variables in dogs. *Circulation research [Internet].* maio de 1973 [citado 27 de novembro de 2022];32(5). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4713198/>
173. Irigoyen MC, Moreira ED, Ida F, Pires M, Cestari IA, Krieger EM. Changes of Renal Sympathetic Activity in Acute and Chronic Conscious Sinoaortic Denervated Rats. *Hypertension.* 1º de dezembro de 1995;26(6):1111–6.
174. Aoki Y, Kai H, Kajimoto H, Kudo H, Takayama N, Yasuoka S, et al. Large blood pressure variability aggravates arteriolosclerosis and cortical sclerotic changes in the kidney in hypertensive rats. *Circ J.* 2014;78(9):2284–91.
175. Zhang C, Chen H, Xie HH, Shu H, Yuan WJ, Su DF. Inflammation is involved in the organ damage induced by sinoaortic denervation in rats. *J Hypertens.* novembro de 2003;21(11):2141–8.

176. Parati G, Pomidossi G, Albini F, Malaspina D, Mancina G. Relationship of 24-hour blood pressure mean and variability to severity of target-organ damage in hypertension. *J Hypertens.* fevereiro de 1987;5(1):93–8.
177. Tatasciore A, Renda G, Zimarino M, Soccio M, Bilo G, Parati G, et al. Awake systolic blood pressure variability correlates with target-organ damage in hypertensive subjects. *Hypertension.* agosto de 2007;50(2):325–32.
178. Cunha TS, Farah V, Paulini J, Pazzine M, Elased KM, Marcondes FK, et al. Relationship between renal and cardiovascular changes in a murine model of glucose intolerance. *Regul Pept.* 1º de março de 2007;139(1–3):1–4.
179. Santos CP dos. Sobrecarga de frutose nos genitores: impactos cardiometabólicos e neuroimunes sobre a prole. Fructose overload in parents: cardiometabolic and neuroimmune impacts on offspring [Internet]. 30 de setembro de 2021 [citado 27 de novembro de 2022]; Disponível em: <https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/62444>
180. Cornelissen VA, Verheyden B, Aubert AE, Fagard RH. Effects of aerobic training intensity on resting, exercise and post-exercise blood pressure, heart rate and heart-rate variability. *J Hum Hypertens.* março de 2010;24(3):175–82.
181. da Silva Dias D, Moraes-Silva IC, Bernardes N, de Oliveira Brito-Monzani J, Stoyell-Conti FF, Machi JF, et al. Exercise training initiated at old stage of lifespan attenuates aging-and ovariectomy-induced cardiac and renal oxidative stress: Role of baroreflex. *Experimental Gerontology.* 1º de setembro de 2019;124:110635.
182. Andersen LB, Riddoch C, Kriemler S, Hills AP. Physical activity and cardiovascular risk factors in children. *Br J Sports Med.* setembro de 2011;45(11):871–6.
183. Hills AP, Andersen LB, Byrne NM. Physical activity and obesity in children. *Br J Sports Med.* setembro de 2011;45(11):866–70.
184. Cesa CC, Molino GOG, Lima J, Pereira RB, Eibel B, Barbiero SM, et al. Physical Activity and Cardiovascular Risk Factors in Children: a Meta-Analysis Update. *Int J Cardiovasc Sci.* 7 de janeiro de 2022;35:304–15.
185. Bull FC, Al-Ansari SS, Biddle S, Borodulin K, Buman MP, Cardon G, et al. World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. *Br J Sports Med.* dezembro de 2020;54(24):1451–62.
186. Schnaper HW. Remnant nephron physiology and the progression of chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* fevereiro de 2014;29(2):193–202.
187. Andersson U, Tracey KJ. Neural reflexes in inflammation and immunity. *J Exp Med.* 4 de junho de 2012;209(6):1057–68.

188. Zila I, Mokra D, Kopincova J, Kolomaznik M, Javorka M, Calkovska A. Vagal-immune interactions involved in cholinergic anti-inflammatory pathway. *Physiol Res*. 22 de setembro de 2017;66(Suppl 2):S139–45.
189. Di M. Immune mechanisms of salt-sensitive hypertension and renal end-organ damage. *Nature reviews Nephrology* [Internet]. maio de 2019 [citado 27 de novembro de 2022];15(5). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30804523/>
190. Hughson MD, Gobe GC, Hoy WE, Manning RD, Douglas-Denton R, Bertram JF. Associations of glomerular number and birth weight with clinicopathological features of African Americans and whites. *Am J Kidney Dis*. julho de 2008;52(1):18–28.
191. Ranasinghe P, Cooray DN, Jayawardena R, Katulanda P. The influence of family history of hypertension on disease prevalence and associated metabolic risk factors among Sri Lankan adults. *BMC Public Health*. 20 de junho de 2015;15:576.
192. Viana A, Dias D da S, Nascimento MC, Dos Santos F, Lanza F de C, Irigoyen MC, et al. Impact of Overweight in Mens with Family History of Hypertension: Early Heart Rate Variability and Oxidative Stress Disarrangements. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:3049831.
193. Vargas-Mendoza N, Morales-González Á, Madrigal-Santillán EO, Madrigal-Bujaidar E, Álvarez-González I, García-Melo LF, et al. Antioxidant and Adaptative Response Mediated by Nrf2 during Physical Exercise. *Antioxidants* (Basel). 25 de junho de 2019;8(6):196.
194. Oral O. Nitric oxide and its role in exercise physiology. *J Sports Med Phys Fitness*. setembro de 2021;61(9):1208–11.
195. Carlström M. Nitric oxide signalling in kidney regulation and cardiometabolic health. *Nat Rev Nephrol*. setembro de 2021;17(9):575–90.
196. Chalimoniuk M, Chrapusta SJ, Lukačova N, Langfort J. Endurance training upregulates the nitric oxide/soluble guanylyl cyclase/cyclic guanosine 3',5'-monophosphate pathway in the striatum, midbrain and cerebellum of male rats. *Brain Res*. 27 de agosto de 2015;1618:29–40.