

**DIETA RICA EM FRUTOSE PIORA A VARIABILIDADE DA
FREQUÊNCIA CARDÍACA E ESTRESSE OXIDATIVO NO
INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO EXPERIMENTAL**

Layla Mendonça Lirio

Tese de Doutorado em Ciências Fisiológicas

Doutorado em Ciências Fisiológicas

Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, Dezembro de 2021

**DIETA RICA EM FRUTOSE PIORA A VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA
CARDÍACA E ESTRESSE OXIDATIVO NO INFARTO AGUDO DO
MIOCÁRDIO EXPERIMENTAL**

Layla Mendonça Lirio

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo, como quesito parcial para obtenção do grau de Doutora em Ciências Fisiológicas.

Prof. Dr^a. Silvana dos Santos Meyrelles – Orientadora,
UFES

Prof. Dr. Marcelo Perim Baldo – Co-Orientador,
UNIMONTES

Prof^a. Dr^a. Alessandra S. Padilha - Membro interno,
PPGCF-UFES.

Prof^a Dr^a. Ivanita Stefanon – Membro interno, UFES

Prof^a Dr^a Aurélia Araújo Fernandes – Membro externo,
PPGBF-UFES

Prof. Dr Eduardo Frizzera Meira – Membro externo, Alegre,
UFES

Coordenadora do PPGCF Prof^a. Dr^a. Sônia Alves Gouvêa

Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, Dezembro de 2021

Ficha catalográfica

Lirio, Layla Mendonça 1988

Dieta rica em frutose piora a variabilidade da frequência cardíaca e estresse oxidativo no infarto agudo do miocárdio experimental [Vitória] 2021

XXXp., (UFES, D. Sc., Ciências Fisiológicas, 2021)

Orientadora: Prof. Dr^a. Silvana dos Santos Meyrelles

Co-Orientador: Prof. Dr. Marcelo Perim Baldo

Tese de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas,
Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo.

1. Frutose 2. Infarto do Miocárdio 3. Estresse Oxidativo 4. Distúrbios Metabólicos
5. Parâmetros hemodinâmicos

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento deste trabalho. Aos professores e colegas de curso que dividiram seu conhecimento. Especialmente a Rafaela Aires e ao Enildo Broetto, que foram fundamentais para o desenvolvimento dessa pesquisa.

Agradeço à minha família, ao meu avô Wilson que é um torcedor insistente pelo sucesso dos seus netos, aos meus amigos que foram compreensivos com a minha ausência, humor instável e que também estiveram na torcida para que eu alcançasse meu objetivo, em um momento tão complicado vivido mundialmente e por mim de maneira intensa, devido a minha profissão.

À banca avaliadora, que se apresentou disponível, generosa e paciente para avaliar e contribuir com o trabalho apresentado.

Ao Prof. Dr. Marcelo Perim Baldo, pela condução no decorrer do mestrado, que me oportunizou o ingresso no doutorado, pela paciência e disponibilidade para dividir seu conhecimento e por todo o auxílio e orientação desde a idealização do projeto até a conclusão da tese.

E manifesto gratidão a minha orientadora, Profa. Dr^a. Silvana dos Santos Meyrelles, pela insistência, compreensão, auxílio, disponibilidade e dedicação.

Sinto-me grata!

RESUMO

A mudança no padrão alimentar da população nos últimos anos, optando por consumo de industrializados e a escola da indústria alimentícia por adoçar os produtos com frutose, parece estar relacionada com o aumento de casos de alterações metabólicas. Além disso, algumas das alterações metabólicas são fatores de risco, assim como a alimentação inadequada, para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e a ocorrência de eventos agudos, como o infarto do miocárdio. Nossa hipótese, portanto, é de que o consumo elevado de frutose por um longo período de tempo em animais normotensos interfere nos parâmetros hemodinâmicos, metabólicos e na produção de espécies reativas de oxigênio, após infarto do miocárdio. Métodos: ratos Wistar com idade de 6 semanas foram tratados com água ou frutose (10%) durante 7 semanas. Na sétima semana, os animais dos grupos Frutose Infarto e Controle Infarto foram submetidos à ligadura da artéria coronária descendente anterior esquerda, enquanto os animais do grupo Sham Controle e Sham Frutose foram submetidos à cirurgia fictícia. A partir das cirurgias os animais de todos os grupos foram tratados com ração padrão e água e acompanhados por sete dias. A glicemia capilar foi avaliada semanalmente e ao final do protocolo, os testes de tolerância a glicose e sensibilidade à insulina foram realizados na sétima semana e no sétimo dia após infarto. Foi realizado cateterismo da artéria femoral, para avaliação invasiva da pressão arterial e frequência cardíaca, e da artéria carótida para avaliação de parâmetros hemodinâmicos do ventrículo esquerdo, ambos realizados no sétimo dia após infarto. Foram aferidos massa magra, gordura abdominal e peso das vísceras. O sangue dos animais foram coletados para análises bioquímicas e avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio. Resultados: a glicemia apresentou-se aumentada nos animais que consumiram a dieta com frutose. Esses animais também apresentaram maior resistência à insulina e menor tolerância a glicose, com piora após 7 dias de infarto. Foi identificado aumento na pressão sistólica do ventrículo esquerdo e redução na variabilidade da frequência cardíaca no grupo tratado com frutose. Houve aumento nos níveis séricos de triglicerídeos e na produção de espécies reativas de oxigênio desse mesmo grupo. Conclusões: Demonstramos que a dieta rica em frutose

promove perda de peso ponderal pós infarto, aumento nos níveis de triglicerídeos, na sensibilidade à insulina, na tolerância à glicose, aumento da pressão ventricular esquerda após infarto do miocárdio, redução da variabilidade da frequência cardíaca e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio. Nossos resultados sugerem que uma dieta prévia com frutose interfere nos parâmetros hemodinâmicos, metabólicos e bioquímicos, após infarto do miocárdio, sugerindo prejuízo na adaptação do músculo cardíaco ao infarto do miocárdio.

Palavras-chave: Frutose; Infarto do Miocárdio; Estresse Oxidativo; Distúrbios Metabólicos; Parâmetros hemodinâmicos.

ABSTRACT

The change in the population's dietary pattern in recent years, opting for the consumption of industrialized products and the food industry school for sweetening products with fructose, seems to be related to the increase in cases of metabolic alterations in the population. In addition, some of the metabolic changes are risk factors, as well as inadequate nutrition, for the development of cardiovascular diseases and the occurrence of acute events, such as myocardial infarction. Our hypothesis, therefore, is that high fructose consumption for a long period of time in normotensive animals interferes with hemodynamic and metabolic parameters and in the production of reactive oxygen species after myocardial infarction. Methods: Wistar rats aged 6 weeks were treated with water or fructose (10%) for 7 weeks, in the seventh week, ligation of the left anterior descending coronary artery was introduced, the treatment with fructose suspended and followed for seven days. Capillary blood glucose was assessed weekly and at the end of the protocol, glucose tolerance and insulin sensitivity tests were performed in the seventh week and not the seventh day after the infarction. Catheterization of the femoral artery was performed for invasive assessment of blood pressure and heart rate, and of the carotid artery for assessment of hemodynamic parameters of the left ventricle, both performed on the seventh day after the infarction. Lean mass, abdominal fat and visceral weight were measured. And the animals' blood was collected for biochemical analysis and evaluation of the production of reactive oxygen species. Results: glycemia was shown to be increased in animals that consume the fructose diet, these animals also added greater insulin resistance and lower glucose tolerance, worsening after 7 days of infarction. An increase in left ventricular systolic pressure and a reduction in heart rate variability were obtained in the fructose-treated group. There was an increase in serum triglyceride levels and in the production of reactive oxygen species in this same group. Conclusions: We demonstrate that a high fructose diet promotes changes in triglyceride levels, insulin sensitivity, glucose tolerance, increased left ventricular pressure after myocardial infarction, reduced heart rate variability and increased production of reactive species of oxygen. Suggesting that a diet rich in fructose worsens cardiac muscle adaptation to myocardial infarction.

Keywords: Fructose; Myocardial Infarction; Oxidative stress; Metabolic Disorders; Hemodynamic parameters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação das estruturas químicas da D-glicose e D-frutose, respectivamente uma aldose (poliidroxialdeído) e uma cetose (poliidroxicetona) (Fonte: Vicente, 2010). – p. 16

Figura 2. Metabolismo da glicose e sua relação com o metabolismo lipídico e glicídico. Representação da entrada da glicose no fígado (Fonte: Dai e McNeill, 1995) – p. 18

Figura 3. Curva Kaplan-Meier para análise de mortalidade ao longo do tempo, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM. – p. 36-37

Figura 4. Análise temporal dos efeitos da dieta rica em frutose na glicemia em jejum de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio. Valores de média e erro-padrão ($\pm$). * $p < 0,05$, ratos Controle IM vs Frutose IM; [†] $p < 0,05$, ratos Sham Controle vs Sham Frutose; Anova 2 vias; N = 28 – p. 40

Figura 5. (A) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de glicose (2mg/Kg), via intraperitoneal de ratos antes da realização da cirurgia de indução de IM. (B) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de glicose (2mg/Kg), via intraperitoneal de ratos após realização de cirurgia fictícia; com valores de média e erro-padrão ($\pm$). (C) Área abaixo da curva, dos níveis de glicemia, após administração de glicose, com valores de média e erro-padrão ($\pm$) * $p < 0,05$ vs ratos Controle; test *t*. N = 20 – p. 41-42

Figura 6. (A) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de glicose (2mg/Kg), via intraperitoneal, sete dias após cirurgia de indução de IM, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$). (B) Área abaixo da curva, dos níveis de glicemia, sete dias após cirurgia de indução de IAM, após administração de glicose * $p < 0,05$ vs ratos Controle, test *t*. N = 14 – p. 43

Figura 7. (A) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de glicose (2mg/Kg), via intraperitoneal, sete dias após cirurgia de indução de IM e cirurgia fictícia, com valores de média e erro-padrão ($\pm$). (B) Área abaixo da curva, dos níveis de glicemia, sete dias após cirurgia de indução de IM e cirurgia fictícia, após administração de glicose N = 14; Anova 2 – p. 44

Figura 8. (A) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de insulina (1U/Kg), via intraperitoneal de ratos submetidos à cirurgia fictícia, N = 14. (B) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de insulina (1U/Kg), via intraperitoneal, sete dias após cirurgia de indução de IM, N= 13. (C) Área abaixo da curva, dos níveis de glicemia, sete dias após cirurgia de indução de IM, após administração de insulina; Anova 2 vias; * $p < 0,05$ Sham Controle vs Sham Frutose; # $p < 0,05$ Controle IM vs Frutose IM. – p. 46-46

Figura 9. Consumo de ração, consumo de água e ingestão calórica de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio e cirurgia fictícia: Controle IM, Frutose IM, Sham Controle e Sham Frutose; com valores de média e erro-padrão ($\pm$), N = 24 . (A) Consumo diário de ração. (B) Consumo diário de água ou solução de frutose. (C) Ingestão calórica nos. Anova 2 vias; * $p < 0,05$ Sham Controle vs Sham Frutose; # $p < 0,05$ Controle IM vs Frutose IM. – p. 47-48

Figura 10. Evolução do peso corporal dos animais no decurso do tempo, antes da cirurgia de infarto agudo do miocárdio, com valores de média e erro-padrão ($\pm$), test *t*. N = 42 – p. 49

Figura 11. Evolução do peso corporal dos animais durante 7 dias após IM ou cirurgia fictícia, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$). Anova 2 vias; * $p < 0,05$ Controle IM vs Frutose IM; + $p < 0,05$ Sham Frutose vs Frutose IM; # $p < 0,05$ Sham Controle vs Controle IM. – p. 49

Figura 12. Massa magra de ratos submetidos à cirurgia de infarto agudo do miocárdio e à cirurgia fictícia para os grupos Controle IM, Frutose IM, Sham Controle e Sham Frutose; com valores de média e erro-padrão ($\pm$), Anova 2 vias. * $p < 0,05$ Controle IM vs Frutose IM; + $p < 0,05$ Sham Frutose vs Frutose IM. N = 51 – p. 50

Figura 13. Deposição de gordura visceral dos animais dos grupos Controle IM, Frutose IM, Sham Controle e Sham Frutose; com valores de média e erro-padrão ($\pm$), anova 2 vias. * $p < 0,05$ Controle IM vs Frutose IM; ⁺ $p < 0,05$ Sham Frutose vs Frutose IM; ^a $p < 0,05$ Sham Controle vs Sham Frutose; N = 51 – p. 51

Figura 14. Efeitos da dieta rica em frutose na produção, em amostras de sangue, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$), de peroxinitrito-hidroxila, apresentados pela diferença de MIF, obtidas por citometria de fluxo. ** $p < 0,05$ vs ratos Infarto controle, test *t*. N = 12 – p. 54

Figura 15. Efeitos da dieta rica em frutose produção, em amostras de sangue, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$), de óxido nítrico, apresentados pela diferença de MIF, obtidas por citometria de fluxo. ** $p < 0,05$ vs ratos Infarto controle, test *t*. N = 12 – p. 55

Figura 16. Efeitos da dieta rica em frutose produção, em amostras de sangue, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$), de peróxido de hidrogênio, apresentados pela diferença de MIF, obtidas por citometria de fluxo. ** $p < 0,05$ vs ratos Infarto controle, test *t*. N = 12 – p. 55

Figura 17. Efeitos da dieta rica em frutose produção, em amostras de sangue, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$), de ânion superóxido, apresentados pela diferença de MIF, obtidas por citometria de fluxo. ** $p < 0,01$ vs ratos Infarto controle, test *t*. N = 12 – p. 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Média dos parâmetros funcionais e hemodinâmicos avaliados 7 dias após cirurgia de indução de IM para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$). PAS = Pressão arterial sistólica; PAD = Pressão arterial diastólica; PAM = Pressão arterial média; PSVE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo; PDVEi = pressão diastólica do ventrículo esquerdo inicial; PDVEf = pressão diastólica do ventrículo esquerdo final; dP/dt^+ e dP/dt^- = derivada máxima de pressão pelo tempo positiva e negativa, respectivamente. – p. 38

Tabela 2. Variabilidade de Pressão sistólica e Frequência Cardíaca avaliadas 7 dias após cirurgia de indução de IM para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$). VLF = frequência muito baixa; LF = baixa frequência; HF = alta frequência. – p. 39

Tabela 3 Peso de órgãos de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$), coletados 7 dias após IM. – p. 52

Tabela 4. Parâmetros plasmáticos, 7 dias após infarto de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$). – p. 53

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 DESCRIÇÃO, CONSUMO E METABOLISMO DA FRUTOSE	15
1.2 ESTRESSE OXIDATIVO	19
1.3 RELAÇÃO DO CONSUMO DE FRUTOSE COM DOENÇAS CARDIOVASCULARES E METABÓLICAS	22
1.4 INFARTO DO MIOCÁRDIO	25
1.5 JUSTIFICATIVA	27
2. OBJETIVOS	28
2.1 OBJETIVO GERAL	28
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
3. MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1 ANIMAIS E DELIANEAMENTO EXPERIMENTAL	29
3.2 AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DE ÁGUA E RAÇÃO E VOLUME URINÁRIO	30
3.3 AVALIAÇÃO DA GLICEMIA EM JEJUM, TESTE DE TOLERÂNCIA A GLICOSE E TESTE DE SENSIBILIDADE A INSULINA	31
3.4 CIRURGIA DE INDUÇÃO DE INFARTO DO MIOCÁRDIO POR LIGADURA DA ARTÉRIA CORONÁRIA	31
3.5 HEMODINÂMICA E FUNÇÃO VENTRICULAR	32
3.6 COLETA DE SANGUE E ÓRGÃOS	34
3.7 ANÁLISE DE NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO	34
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	35
4. RESULTADOS	36
4.1 AVALIAÇÃO DA MORTALIDADE	36

4.2 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE PARÂMETROS HEMIDINÂMICOS E FUNCIONAIS DE RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO	37
4.3 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE GLICEMIA EM JEJUM, TOLERÂNCIA À GLICOSE E RESISTÊNCIA À INSULINA EM RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO	39
4.3.1 Glicemia em Jejum, Teste de Tolerância a Glicose e de Sensibilidade à Insulina	39
4.3.2 Teste de Sensibilidade à Insulina	44
4.4 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE A INGESTÃO DE ÁGUA E ALIMENTOS E PESO CORPORAL DE RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO	46
4.4.1 Ingestão calórica e consumo alimentar	46
4.4.2 Análise de ganho de peso corporal no decurso do tempo	48
4.5 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE MASSA MAGRA E DEPOSIÇÃO DE GORDURA DE RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO	50
4.6 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE PESO DOS ÓRGÃOS DE RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO	51
4.7 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE PARÂMETROS PLASMÁTICOS DE RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO	52
4.8 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO EM RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO	53
	57
5 DISCUSSÃO	
6 CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS	67

1 INTRODUÇÃO

O padrão alimentar da população é variável (Popkin e Gordon-Larsen, 2004) e é considerado fator de risco, quando inadequado, para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis como hipertensão, diabetes tipo 2, obesidade, dislipidemias, esteatose hepática não alcoólica. Além disso, quando a mudança do padrão alimentar é adequada, pode auxiliar na prevenção e controle dessas mesmas doenças (Popkin e Gordon-Larsen, 2004; WHO, 2014).

Dentre as mudanças no padrão alimentar da população nos últimos anos, o aumento de consumo de produtos industrializados, em especial o de bebidas adoçadas com açúcar destaca-se com grande importância na determinação do risco cardiometabólico. Em 2015, a Organização Mundial de Saúde (OMS) orientou a redução do consumo de alimentos adoçados, incluindo as bebidas adoçadas com açúcar, intencionando auxiliar na prevenção e tratamento de uma série de doenças crônicas, como a diabetes mellitus, hipertensão e obesidade (WHO, 2015). A motivação de a OMS em orientar a respeito da redução do consumo de açúcar deve-se ao fato de que a alta ingestão de alimentos adoçados é fator de risco para doenças crônicas não transmissíveis, que ocupam o primeiro lugar das principais causas de mortes no mundo (WHO, 2014).

A OMS aponta que o consumo de açúcares, como a frutose, por exemplo, é variável de acordo com faixa etária e país (WHO, 2016), sendo a recomendação de que açúcares livres componham, no máximo, 10% da ingestão calórica total (WHO, 2015). Em 2015, Singh e cols., avaliando 187 países, apresentaram que 184 mil mortes estavam relacionadas com o consumo exagerado de bebidas adoçadas com açúcar. Foram encontradas como principais doenças associadas a esses óbitos: doenças cardiovasculares e diabetes mellitus (Singh e cols., 2015).

1.1 DESCRIÇÃO, CONSUMO E METABOLISMO DA FRUTOSE

Humanos tem tendência por escolherem dietas agradáveis ao paladar. O doce é um sabor que torna o alimento mais palatável e por isso produtos adoçados tem seu consumo substancialmente aumentado atualmente (Tappy e Lê, 2009). Até o século XVIII, o consumo do açúcar era extremamente baixo devido a dificuldade em refiná-lo. No entanto, com o desenvolvimento do comércio entre os continentes houve um aumento na exportação e investimentos em tecnologias que proporcionaram um aumento do consumo de açúcar em aproximadamente 1500% (Litch FO, 2005).

A sacarose, até a década de 60, era o açúcar mais utilizado para consumo, tendo baixo teor de frutose e glicose. Nesse período, a indústria alimentícia passou a se dedicar ao desenvolvimento de tecnologias que possibilitassem a conversão de glicose, extraída do amido de milho, por isomerização enzimática, em frutose, produzindo produtos como o xarope de milho com alto teor de frutose (Marshall e Kooi, 1957).

A diferenciação da frutose e da glicose, nos compostos de açúcar, foi possível, nos anos 70, a partir da cromatografia de troca iônica, possibilitando a produção de frutose pura a um menor custo. Em paralelo, descobriu-se também a capacidade de transformação de D-glicose em D-frutose, permitindo a comercialização de xaropes com altos teores de frutose (Wang e Van, 1981). A frutose, em virtude de sua maior solubilidade em água e de ser cerca de 1,7 vez mais doce que a sacarose, tem sido amplamente utilizada para adoçar alimentos industrializados (Hallfrisch, 1990).

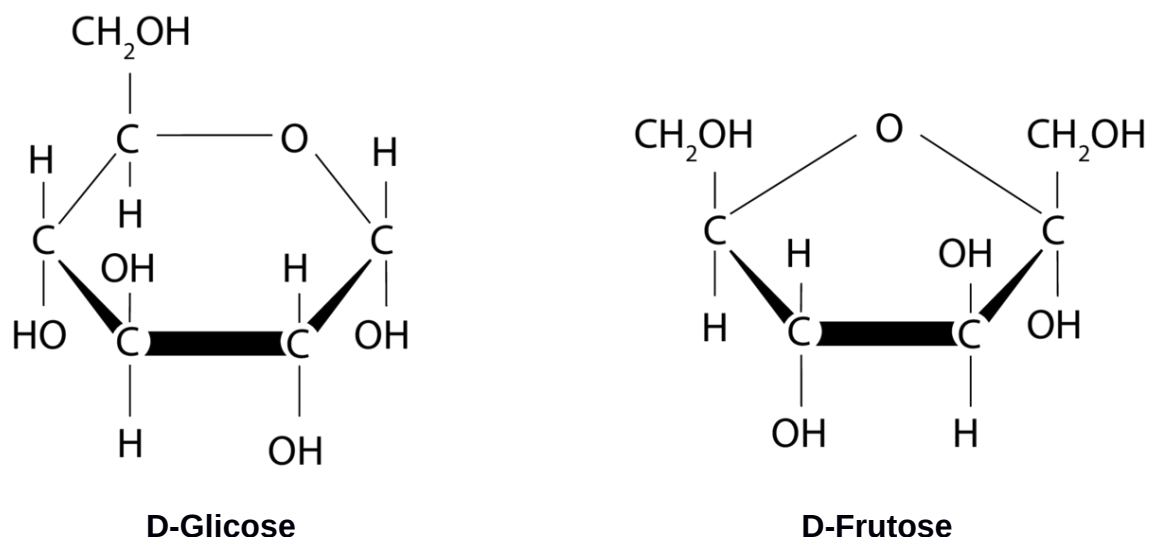


Figura 1. Representação das estruturas químicas da D-glicose e D-frutose, respectivamente uma aldose (poliidroxialdeído) e uma cetose (poliidroxicetona) (Fonte: Vicente, 2010).

Os dados do consumo de açúcar são oficiais apenas na Organização Internacional do Açúcar (ISO), uma organização com sede em Londres e traz estatísticas mundiais acerca do comércio e consumo de açúcar, que aponta o aumento do consumo de açúcar em 16%, no ano de 2007 em comparação com o ano de 1986. Em 1986 o consumo era de 56g/dia por indivíduo, em 2007 passou a ser 65g/dia por indivíduo (ISO, 2008). Ainda, reportam que a América do Sul e a Oceania são os maiores consumidores de açúcar, e que o consumo aumentou mundialmente, em especial na Ásia que era considerado de baixo consumo e teve aumento de 50% (ISO, 2008).

A frutose é classificada como açúcar simples – monossacarídeo, que tem em sua composição 6 átomos de carbono, apresentando grupamentos hidroxila e 1 grupamento carbonila (Dai e McNeill, 1995). Sua absorção é possibilitada por duas vias distintas, no organismo: difusão facilitada – é a primeira via, mediada pelas proteínas GLUT5 e GLUT2, que possui alta afinidade com a frutose (Bismut, Hers e Schaftingen, 1993; Dai e McNeill, 1995), tendo como papel primordial o transporte da molécula de frutose para o interior da célula, atuando independente dos níveis séricos de glicose e insulina. A segunda via é por co-transporte – via que é dependente de glicose e sódio (SGLT) (Dai E McNeill,

1995). A frutose, quando associada à glicose, tem sua absorção aumentada em até 29% (Shi e cols, 1997).

No intestino, a frutose é absorvida por difusão facilitada, mediada pelas proteínas transportadoras GLUT5 e GLUT2, sendo convertida em glicose nos enterócitos (Bismut, Hers e Schaftingen, 1993), gerando a redução da concentração da frutose no interior das células, induzindo sua absorção (Douard e Ferraris, 2013). Quando há aumento da concentração de glicose no intestino, a conversão de frutose em glicose pelos enterócitos é insuficiente, logo, a frutose é direcionada para a corrente sanguínea, sendo metabolizada prioritariamente no fígado (Schaefer, Gleason e Dansigner, 2009).

Tanto no fígado, quanto nos músculos, a absorção da frutose é mediada pela proteína transportadora GLUT2, não dependente de insulina. Nos hepatócitos e nas células musculares, a frutose induz a formação de glicogênio (Petersen e cols, 2001) e a formação de triglicerídeos e acetil-CoA (Feinman e Fine, 2013).

O metabolismo da frutose é iniciado com sua conversão em frutose-1-fosfato pela enzima frutocinase (Johnson e cols, 2013). A frutocinase possui duas isoformas, a tipo A, não presente no fígado e que tem alta afinidade por frutose e a tipo C, expressa no fígado e é responsável pela retirada rápida da frutose da circulação (Ishimoto e cols., 2012). Após a conversão de frutose em frutose-1-fosfato, há a clivagem em D-gliceraldeído-fosfato e dihidroxiacetona, pela enzima aldolase B, que podem seguir vias distintas.

Na primeira via participam da via glicolítica, tendo como produtos piruvato e adenosina trifosfato; na segunda via os compostos são reduzidos a glicerol, moléculas necessárias para formação de triglicerídeos; na terceira via, há condensação das moléculas, até formarem frutose-1-6-difosfato e posteriormente dar início a moléculas de glicose (Dai e McNeill, 1995). Dessa forma, isso permite a produção desordenada de triglicerídeos, glicose e glicogênio (Feinman e Fine, 2013).

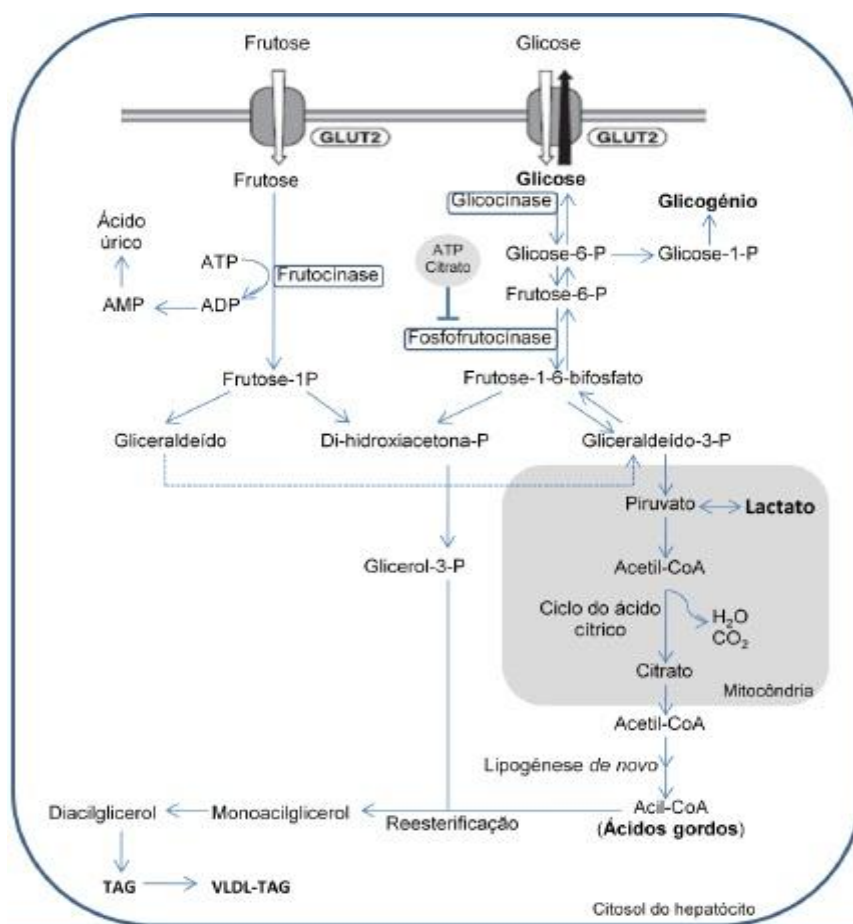


Figura 2. Metabolismo da glicose e sua relação com o metabolismo lipídico e glicídico. Representação da entrada da glicose no fígado (Fonte: Dai e McNeill, 1995)

O aumento da produção de acetil-CoA, induzido pela frutose, induz a formação de ácidos graxos de cadeia longa, promovendo a formação de triglicerídeos (Mayes, 1993), tendo, por meio da frutose, a manutenção da formação de acetil-CoA não controlada pela insulina, sustentando a lipogênese e a formação de triglicerídeos, bem como o armazenamento desses nos hepatócitos (Lê e cols., 2009). Ainda, quando metabolizada, a frutose, por meio da hidrólise de ATP, é fosforilada em adenosina monofosfato (AMP) e ácido úrico (Kurtz e cols., 1986), e o acúmulo de ácido úrico promove aumento da atividade inflamatória e do estresse oxidativo (Dornas e cols., 2015).

1.2 ESTRESSE OXIDATIVO

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), no organismo, é decorrente do processo de metabolismo do oxigênio, sendo a mitocôndria a principal fonte geradora dessas espécies (Barbosa e cols, 2010). É um processo fisiológico natural e contínuo, que permite gerar moléculas instáveis e com alto potencial reativo, que atuam como mediadoras de alguns processos fisiológicos, tais como: produção de moléculas de adenosina trifosfato (ATP) e mecanismos do sistema imunológico (Shami e Moreira, 2004; Ferreira e Matsubara, 1997).

Os radicais livres são gerados, principalmente, nas mitocôndrias e podem ser potencializados na presença de íons de ferro e cobre (Koury, Donangelo e Zinco, 2003). No interior da mitocôndria, mediada pela enzima citocromo oxidase, o oxigênio sofre redução tetravalente, tendo água como produto (Koury, Donangelo e Zinco, 2003; Ferreira e Matsubara, 1997). A citocromo oxidase atua para controlar a produção de radicais livres, contudo, cerca de 5% do oxigênio metabolizado no interior da mitocôndria acessa outra via metabólica, sofrendo redução univalente e dando origem aos radicais livres (Halliwell e Gutteridge, 1999).

A redução univalente do oxigênio gera o radical livre ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) (Schneider e Oliveira, 2004), este, por sua vez, ao receber mais um elétron e dois íons de hidrogênio, dá origem a uma espécie reativa de oxigênio chamada peróxido de hidrogênio (H_2O_2), em um processo denominado dismutase (Pal, 1994), que é mediado pela enzima superóxido dismutase (SOD) (Schneider e Oliveira, 2004).

Por uma reação conhecida como Reação de Fenton, quando em contato com o ferro ou cobre, o peróxido de hidrogênio dá origem ao radical hidroxila ($OH^{\bullet}$) (Schneider e Oliveira, 2004), que é considerado o radical com maior potencial reativo (Jenkins, 1988). Na reação de Haber-Weiss, os íons de cobre e ferro são capazes de catalisar a reação entre o peróxido de hidrogênio e ânion superóxido, originando o radical hidroxila ($OH^{\bullet}$) (Schneider e Oliveira, 2004).

O ânion superóxido ainda possui capacidade de reagir diretamente com o óxido nítrico (NO), dando origem ao peroxinitrito (ONOO⁻), um potente agente oxidante (Schneider e Oliveira, 2004; Green, Brand e Murphy, 2004).

As enzimas nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH oxidases) também são consideradas importantes geradoras de radicais livres, isso ocorre em decorrência da atividade desta enzima de transferir elétrons por meio das membranas celulares. Importante ressaltar que existem 6 isoformas desta enzima e sua ativação depende do seu local de expressão e cofatores de ativação específicos (Bernard e Krause, 2007).

O processo contínuo de produção de EROS estimulou o desenvolvimento de um sistema antioxidante endógeno, que tem por objetivo controlar os potenciais danos provocados pelos radicais livres, controlando a concentração intracelular destes radicais (Shami e Moreira, 2004; Bianchi e Antunes, 1999). E que está dividido, basicamente, em enzimático e não enzimático (Schneider e Oliveira, 2004; Barbosa e cols, 2010).

O sistema antioxidante pode ser do tipo enzimático que inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) (Schneider e Oliveira, 2004). As enzimas catalase e glutathione peroxidase atuam reduzindo o acúmulo de ânion superóxido e de peróxido de hidrogênio, evitando, dessa forma, a geração de radical hidroxila (Pal, 1994; Schneider e Oliveira, 2004; Ferreira e Matsubara, 1997). O sistema antioxidante do tipo não enzimático consiste em substâncias produzidas pelo organismo como por exemplo: hormônios sexuais, melatonina, coenzima Q ou ingeridas via dieta, como por exemplo: ácido ascórbico, flavonoides, β -caroteno (Schneider e Oliveira, 2004).

O estresse oxidativo consiste no desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e das defesas antioxidantes, permitindo acúmulo das EROS e, por consequência, indução do processo de oxidação de moléculas, o que leva ao dano oxidativo às células e tecidos (Barbosa e cols, 2010; Halliwell e Whiteman, 2004).

Dentre os tecidos que podem ser danificados pelas EROS, o músculo cardíaco é um tecido que pode ser lesionado ao ponto de ter comprometimento de suas concentrações iônicas e proteínas contráteis (Misra e cols, 2009). Em situação de isquemia, as reservas de ATP da célula cardíaca são utilizadas e então a célula passa a utilizar metabolismo anaeróbio. Por consequência a concentração intracelular de H^+ aumenta, promovendo alterações de pH intracelular suficientes para a ativação do sistema de troca Na^+/H^+ (STNaH) (Scholz e Albus, 1995). A ativação do STNaH, concomitante a atividade reduzida da Na^+/K^+ ATPase, resulta no acúmulo de sódio no interior da célula (Schaper e cols, 1987), que por sua vez leva ao aumento da concentração de cálcio, por meio do trocador Na^+/Ca^{2+} , provocando morte celular.

No infarto do miocárdio, tanto em modelos experimentais, quanto em humanos, é observado aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, assim como de estresse oxidativo (Singh e cols, 1995). Os sistemas antioxidantes também são potencializados após o infarto do miocárdio, em uma tentativa de minimizar a produção e danos decorrentes do aumento das EROS. Contudo, ao longo do tempo essas defesas são sobrepostas pela grande produção das espécies reativas, ocasionando estresse oxidativo (Dröge, 2002).

O consumo de frutose, que vem aumentando no decorrer do tempo, como já exposto anteriormente, e vem ocupando parcela importante no consumo energético diário dos indivíduos está diretamente relacionado com o aumento das EROS. Em um estudo realizado por Gaspers e cols. (2010), foi constatado aumento na produção de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio no tratamento agudo com frutose (1 – 10mM), os dados do estudo evidenciaram que o tratamento com frutose alterava o metabolismo mitocondrial, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio, e que o tratamento crônico com frutose aumenta os níveis basais de espécies reativas de oxigênio nas mitocôndrias hepáticas (Gaspers e cols., 2010).

Estudos anteriores apontaram que o alto consumo de frutose, eleva os níveis de ácido úrico, induzindo estresse oxidativo intracelular e efeitos pró-inflamatórios (Sautin e cols., 2007; Yu e cols., 2010; Kang e cols., 2005). Além disso, o consumo excessivo de frutose também é capaz de acelerar o

desenvolvimento de esteatose hepática não alcoólica (Lirio e cols., 2015), alterar a função mitocondrial e aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio nas mitocôndrias (Lanaspa e cols., 2012).

1.3 O CONSUMO DA FRUTOSE E A RELAÇÃO COM DOENÇAS CARDIOVASCULARES E METABÓLICAS

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente, 17,5 milhões de indivíduos morrem anualmente em decorrência de doenças cardiovasculares (DVC), representando assim a principal causa de morte por doenças crônicas não transmissíveis (Ribeiro e cols, 2016; BRASIL; 2019). Um dos fatores modificáveis, que constitui um fator de risco para DVC, é a alimentação inadequada, que faz parte do padrão alimentar apresentado pela população nos últimos anos (Ribeiro e cols, 2016; BRASIL; 2019).

A Associação Americana do Coração (AHA), recomenda a redução do consumo de alimentos industrializados, adoçados artificialmente, estimando-se que tal ação seria capaz de promover redução em até 20% a mortalidade por doenças cardiovasculares (WHO, 2003; Ribeiro e cols, 2016).

O consumo excessivo de frutose, principalmente de bebidas adoçadas, está diretamente ligado com o desenvolvimento de doenças metabólicas e cardiovasculares. A ingestão não controlada de frutose induz a deposição de gordura corporal (Schulze e cols, 2004), aumenta o estresse oxidativo (Pereira, 2017; Cai e cols, 2018), promove resistência à insulina (Matikainen e cols, 2017; Lirio e cols, 2015) e provoca alterações na vasoconstrição (Pereira, 2017). Portanto, o excesso na ingesta de frutose é participante no processo de desenvolvimento de doenças como obesidade, resistência à insulina, diabetes tipo 2, esteatose hepática não alcoólica e doenças cardiovasculares (Lelis e cols., 2020).

Estudos demonstraram que a utilização de frutose como escolha para adoçar alimentos foi acompanhada do aumento da incidência de hipertensão sistêmica (Klein e Kiat, 2015), corroborando com a afirmação, Jalal e cols (2010)

realizaram uma análise dos dados de 4.528 adultos, sem história de hipertensão, coletados no National Health and Nutrition Examination Survey – 2003 a 2006, onde observaram que o aumento do consumo de frutose em média foi de 74g/dia, e estava diretamente associado com os níveis elevados de pressão arterial em adultos (Jalal e cols, 2010).

A mesma relação entre hipertensão e consumo de frutose, foi encontrada, por Nguyen e cols (2009), por meio da análise de dados de 4.687 adolescentes, coletados no National Health and Nutrition Examination Survey – 1999 a 2004. Nesse estudo os autores sugerem que, além dos níveis pressóricos, o consumo excessivo de frutose, por meio da ingestão de bebidas adoçadas com açúcar, pode promover alterações também nos níveis de ácido úrico (Nguyen e cols, 2009).

A relação entre o aumento da pressão arterial sistêmica e o consumo de bebidas adoçadas com açúcar também foi observada no International Study of Macro/Micronutrients and Blood Pressure, em que adultos que consumiram 306 ml/dia de bebidas adoçadas com açúcar, representando 7,4% da ingestão energética diária desses indivíduos, apresentaram pressão arterial mais elevada (Brown e cols, 2011).

Portanto, o consumo exagerado de frutose tem a capacidade de promover aumento da pressão arterial sistêmica, como já apresentado em estudos prévios (Brown e cols, 2008; Endo e cols, 2014; Pozo e cols, 2010). E, ainda pode afetar parâmetros metabólicos e antropométricos além de induzir a ocorrência de dislipidemias (Stanhope e cols, 2015) que aparecem antes ao aumento da pressão arterial (Lê e cols, 2006; Stanhope e cols, 2015).

A ingestão excessiva de frutose também tem a capacidade de alterar os receptores de insulina, sugerindo que a dieta rica em frutose tem papel importante nas alterações da sinalização da insulina e da ocorrência da resistência à insulina (Ueno e cols, 2000).

Um estudo experimental, realizado por Bezerra e cols (2000), com ratos machos, alimentados com dieta rica em frutose por 28 dias, demonstrou alterações do receptor de insulina IRS-1, presente no fígado, sugerindo que o mecanismo de resistência à insulina, promovido pela ingestão em excesso de

frutose, são em decorrência de alterações nas etapas iniciais da transdução do sinal de insulina (Bezerra e cols, 2000).

Além das alterações referentes ao metabolismo da insulina, o consumo de frutose provoca o aumento da concentração sérica de triglicerídeos (Basciano, Federico e Adeli, 2005; Lirio e cols, 2015), em decorrência da lipogênese estimulada pela frutose (Basciano, Federico e Adeli, 2005).

O aumento dos níveis de triglicerídeos provoca lipotoxicidade e alterações na atividade das células β , aumentando o risco de ocorrência de diabetes (Ziegler e cols, 2019). Por meio do aumento dos ácidos graxos livres há promoção de lipotoxicidade, inibindo a capacidade de secreção de insulina pelas células β , prejudicando a expressão do gene de insulina e aumentando a ocorrência de apoptose dessas células (Hangman e cols, 2019).

O consumo excessivo de frutose também provoca o aumento de expressão do transportador GLUT5 – principal mediador do transporte de glicose para o interior dos enterócitos –, no tecido adiposo e no intestino (Patel e cols, 2015; Ferraris, Choe e Patel, 2018) e o aumento de tecido adiposo branco, assim como da expressão de componentes do sistema renina-angiotensina (ECA – enzima conversora de angiotensina, receptores tipo 1 e tipo 2 de angiotensina II) (Giani e cols, 2009; Rabie e cols, 2015; Chou e cols, 2017).

Em um estudo realizado por Chou e cols, em 2017, foi demonstrado que a inibição da renina, em ratos machos submetidos à alta ingestão de frutose, foi capaz de reduzir os níveis de Angiotensina II e do estresse oxidativo na gordura visceral desses animais, indicando que a angiotensina II está relacionada ao desenvolvimento de síndrome metabólica nesses modelos experimentais (Chou e cols, 2017).

No estudo realizado em 2008, Giani e cols demonstraram que, injeções subcutâneas de angiotensina-(1-7), em ratos machos Sprague-Dawley – tratados com frutose por 6 semanas, promoveram melhora da hipertensão arterial e da resistência à insulina (Giani e cols, 2008), características da síndrome metabólica, a qual pode ser ocasionada em decorrência da ingestão crônica de frutose (Lirio e cols, 2015).

1.4 INFARTO DO MIOCÁRDIO

O infarto do miocárdio (IM) apresenta-se como uma das doenças cardiovasculares que ocupam as principais causas de morte no mundo. Em países desenvolvidos, em que há incentivo acentuado de medidas preventivas, como redução do consumo de alimentos processados, observa-se a redução do número de casos desse grupo de agravos (Camm e cols, 2004; WHO, 2011).

O IM se traduz pela morte celular do tecido em decorrência da redução da perfusão tecidual ocasionada por oclusão da artéria coronária (Forechi, 2015), com a redução da perfusão, é dado início ao processo de morte celular, ocasionado por necrose e apoptose, das células cardíacas, tornando irreversível a lesão do miocárdio (Sutton e Sharpe, 2000; Mill e cols, 2011).

Após a isquemia modificações bioquímicas, morfológicas e eletrofisiológicas acontecem na área de infarto do músculo cardíaco (Mill e cols, 2011; Stefanon e cols, 2013), esse fenômeno é denominado remodelamento cardíaco, referindo-se as alterações na forma, tamanho e função do ventrículo para a manutenção do débito cardíaco (Sutton e Sharpe, 2000; Zornoff e cols., 2009). O remodelamento cardíaco pode ser dividido em fase aguda e crônica, após a oclusão da artéria coronária.

Na fase aguda, há exposição do conteúdo do interior das células atingidas ativando a cascata da resposta imune inata. Proteínas transmembrana que fazem a mediação da sinalização celular estimulando a produção de substâncias como citocinas, moléculas de adesão e espécie reativas de oxigênio (Erickson e cols, 2008; Hori e Nishida, 2009). As citocinas produzidas estão envolvidas no processo de reparo do tecido cardíaco – por meio da indução da apoptose e outras modificações estruturais (Segura e cols, 2014; Frangogiannis, 2006; Stefanon e cols, 2013).

Na fase crônica, a continuidade da resposta inflamatória induz modificações na matriz extracelular, contribuindo para alterações estruturais e funcionais do infarto (Stefanon e cols, 2013). A modificação de maior expressão é o processo

de hipertrofia ventricular, que ocorre pelo aumento da síntese de colágenos tipo I e III e aumento no tamanho dos cardiomiócitos (Forechi, 2015).

A cirurgia de oclusão da artéria coronária esquerda, que em modelos animais, foi descrita em 1946, por Heimbürger e modificada ao longo dos anos por Johns e Olson (1954),. Foi introduzida como modelo experimental, no Brasil, na década de 80, e constitui-se técnica importante para estudar as alterações morfológicas e funcionais pós infarto do miocárdio (Zornoff e cols, 2009).

A perda do equilíbrio autonômico é uma condição presente em agravos como hipertensão, diabetes e infarto do miocárdio. O coração torna-se mais vulnerável a desenvolver arritmias e insuficiência, com o tônus vagal reduzido em decorrência do aumento da atividade simpática (Bai e cols, 2008).

Adicionalmente, a redução do débito cardíaco e da pressão arterial são consequências agudas da redução da atividade do coração como bomba, decorrente do infarto do miocárdio (Packer, 1992). A intensidade das alterações hemodinâmicas é proporcional à área afetada pela lesão, portanto, quando ocorre uma extensa lesão em parede anterior de ventrículo esquerdo, a consequência será menor ejeção ventricular e menor pressão arterial (Lanfranchi e cols, 2002).

As alterações neuro-humorais, que também ocorrem após o infarto do miocárdio, tem como objetivo de reduzir os possíveis efeitos provocados pela lesão. Assim, há aumento da atividade simpática e redução tônus vagal no nodo sinusal (Mann e Bristow, 2005), para que haja compensação da redução da atividade da bomba cardíaca e manutenção do débito cardíaco e da pressão arterial (Karakas e cols, 2013).

A hiperatividade simpática tem efeito benéfico, a curto prazo, visto que protege a atividade da bomba cardíaca, contudo, esse aumento da atividade simpática é prejudicial à longo prazo (Triposkiadis e cols, 2009). A hiperatividade simpática pode contribuir para o desenvolvimento de disfunção diastólica do ventrículo esquerdo, culminando no aumento do risco de ocorrência de eventos cardiovasculares (Grassi e cols., 2009).

A disfunção autonômica tem sido apontada como uma das principais responsáveis pelas arritmias ventriculares e consequente morte súbita em pacientes que sofreram eventos isquêmicos (Patel e cols, 2010). O controle autonômico cardiovascular pode ser avaliado pela análise temporal da frequência cardíaca e da pressão arterial (Parati e cols, 2001; Lombardi e Mortara, 1998). Na fase aguda do infarto observa-se prejuízo na variabilidade da frequência (VFC) cardíaca, ou seja, no ajuste momento a momento, sendo observada a redução da VFC (Lanfranchi, 2002; Jones, Quin e Minisi, 2008).

A disfunção autonômica pode levar a distúrbios cardiometabólicos - como aumento da pressão arterial e alterações no controle do tônus simpático e do tônus parassimpático. Em um estudo realizado por Silva e cols. (2011), com ratas tratadas com frutose por 18 semanas foi observado aumento da atividade simpática, sem alteração da atividade vagal nesse grupo de animais, quando comparados aos seus controles (Silva e cols., 2011).

1.5 JUSTIFICATIVA

A ocorrência de doenças metabólicas aumenta o risco do surgimento de doenças cardiovasculares e, por consequência o risco de eventos agudos como o infarto agudo do miocárdio. A ingestão crônica e em excesso de frutose comprovadamente promove alterações metabólicas em humanos e animais experimentais. Logo, partindo de tal pressuposto, consideramos a hipótese de que o consumo elevado de frutose por um longo período em animais normotensos interfere nos parâmetros hemodinâmicos, metabólicos e bioquímicos, após infarto do miocárdio. Sendo assim, com os resultados obtidos a partir do presente estudo será possível melhor compreensão dos efeitos de uma dieta crônica rica em frutose no decurso das alterações cardiometabólicas e hemodinâmicas provenientes do infarto do miocárdio.

2 OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Investigar o desenvolvimento de alterações metabólicas, hemodinâmicas e bioquímicas em ratos infartados submetidos previamente a uma dieta rica em frutose.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em animais tratados com dieta rica em frutose:

- I. Avaliar alterações no perfil ponderal e lipídico;
- II. Avaliar as alterações metabólicas e bioquímicas;
- III. Analisar a variabilidade da pressão arterial e da frequência cardíaca após infarto do miocárdio;
- IV. Verificar alterações na pressão arterial e frequência cardíaca e função ventricular após infarto do miocárdio;
- V. Avaliar produção de espécies reativas de oxigênio após infarto do miocárdio.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os protocolos experimentais definidos para a presente pesquisa contaram com a aprovação prévia do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFES), projeto nº 045/2014.

Ratos Wistar machos provenientes do Biotério do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, com seis semanas de idade, foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais: Controle Infarto e Frutose Infarto.

Controle Infarto (n= 21): Os animais foram tratados com ração padrão e água. Após sete semanas, foram submetidos à cirurgia de indução de infarto do miocárdio e acompanhados por mais sete dias, mantendo a dieta padrão. No sétimo dia após infarto do miocárdio foi realizada eutanásia para coleta de sangue e tecidos.

Frutose Infarto (n= 21): Os animais foram tratados com ração padrão e solução de frutose 10%. Após sete semanas foram submetidos à cirurgia de indução de infarto do miocárdio e acompanhados por mais sete dias, modificando, nesse período, a solução de frutose 10% para água. No sétimo dia após infarto do miocárdio foi realizada eutanásia para coleta de sangue e tecidos.

Sham Controle (n = 16): Os animais foram tratados com ração padrão e água. Após sete semanas, foram submetidos à cirurgia fictícia de indução de infarto do miocárdio e acompanhados por mais sete dias, mantendo a dieta padrão. No sétimo dia após infarto do miocárdio foi realizada eutanásia para coleta de sangue e tecidos.

Sham Frutose (n= 16): Os animais foram tratados com ração padrão e solução de frutose 10%. Após sete semanas foram submetidos à cirurgia fictícia de indução de infarto do miocárdio e acompanhados por mais sete dias,

modificando, nesse período, a solução de frutose 10% para água. No sétimo dia após infarto do miocárdio foi realizada eutanásia para coleta de sangue e tecidos.

A escolha pela concentração de frutose 10%, em água de beber, deu-se em virtude de estudos prévios apresentarem que o consumo de bebidas açucaradas contendo 10% de solução de xarope de milho, utilizado pelas indústrias alimentícias para adoçarem seus produtos, é suficiente para promover, em duas semanas, aumento das concentrações plasmáticas de lipoproteínas e ácido úrico (Walter e cols, 2014).

Considerando que a cirurgia para indução do infarto tem mortalidade aproximada de 30%, foram necessários para a realização dos protocolos experimentais o total de 74 ratos Wistar.

Os animais passaram por pesagem antes do início do protocolo e semanalmente, até a cirurgia de indução de infarto, e após, diariamente, durante 7 dias pós infarto. Foram mantidos em até, no máximo, quatro animais, em gaiolas higienizadas.

Os animais submetidos aos experimentos desse estudo foram condicionados em ambiente apropriado com: temperatura, umidade e ciclo claro-escuro controlados.

3.2 AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DE ÁGUA E RAÇÃO E VOLUME URINÁRIO

A avaliação do consumo de água, solução de frutose 10% e ração e volume urinário foram realizadas antes do início do protocolo experimental, quinzenalmente até a sétima semana e 7 dias após cirurgia de indução de infarto.

Individualmente, em gaiolas metabólicas (TECNIPLAST, ITALIA) – (Figura 2), os animais permaneceram por 24 horas. O consumo de ração foi avaliado com a utilização de balança com precisão de 0,1g e o volume de água e urina medido em proveta com precisão de 0,5ml.

Os animais foram adaptados por cinco dias, ao procedimento, antes de registros de consumo de água, solução e ração e excreção de urina.

3.3 AVALIAÇÃO DA GLICEMIA EM JEJUM, TESTE DE TOLERÂNCIA A GLICOSE E TESTE DE SENSIBILIDADE A INSULINA

A avaliação da glicemia em jejum dos animais ocorreu no início da pesquisa, a cada 15 dias até a sexta semana, na sétima semana de tratamento e após 7 dias de cirurgia de indução de infarto. Os animais foram submetidos à jejum aproximado de 12 a 14 horas noturnas, antes da obtenção das medidas. Considerando os hábitos noturnos dos animais submetidos aos protocolos da pesquisa, o horário escolhido, foi para que houvesse efetiva privação da dieta, uma vez que o consumo de ração e solução de frutose durante o dia já se apresenta reduzido (Marchesini e cols, 2003).

Para a realização do teste de tolerância à glicose, após jejum de 12 a 14 horas (Marchesini e cols, 2003; Vasdev e cols, 2010), definiu-se utilização de 50% dos animais, os demais foram submetidos ao teste de sensibilidade à insulina, após jejum de 6 horas (Marchesini e cols, 2003; Vasdev e cols, 2010). Ambos os testes, realizados na sétima semana de tratamento e após 7 dias de cirurgia de indução de infarto, tem por objetivo aferir as variações da glicemia após injeção intraperitoneal de glicose (2mg/Kg), nos intervalos 5', 10', 20', 30, 45', 60', 90' e 120' após a administração da solução; e aferir as variações da glicemia após injeção intraperitoneal de insulina (insulina regular, Lilly France SAS), nos intervalos 5', 10', 20', 30, 45', 60', 90' e 120' após a administração.

Para obtenção das medidas dos valores da glicemia, foi utilizado o aparelho glicosímetro (ACCU-CHEK, Roche, Alemanha).

3.4 CIRURGIA DE INDUÇÃO DE INFARTO DO MIOCÁRDIO POR LIGADURA DA ARTÉRIA CORONÁRIA E DETERMINAÇÃO DA ÁREA DE INFARTO

Para indução da cirurgia de infarto do miocárdio, o animal foi pesado previamente e anestesiado, por via intraperitoneal, com solução contendo cetamina (50 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg). Foi realizada incisão lateral em nível do quarto espaço intercostal, exposição do coração e oclusão permanente da artéria coronária descendente anterior esquerda, com fio cirúrgico de nylon microfilamento 6.0, após, o coração foi reposicionado em cavidade torácica e a incisão suturada (Forechi, 2015; Stefanon e cols, 1994). Os animais foram mantidos por mais sete dias, prazo suficiente para desenvolvimento de atividade inflamatória.

Os animais do grupo Sham Controle e Sham Frutose foram submetidos à cirurgia fictícia, que consiste na realização de todos os passos do procedimento cirúrgico, exceto a oclusão da artéria coronária descendente anterior esquerda.

Após sete dias de acompanhamento do infarto e realização da avaliação hemodinâmica e da função ventricular, o coração foi pesado e seccionado. Os cortes foram acondicionados em solução de cloreto de trifeniltetrazólio 10% - por 10 minutos – e em seguida imersos em formalina tamponada 10 % - por 20 minutos, para aumento do contraste entre a área com lesão e a área não afetada (Dantas, 2012).

As imagens foram digitalizadas (HP Scanjet 2400) e analisadas utilizando o software Image J 1.40g, por planimetria. A quantificação da área de infarto foi expressa em percentual e obtida a partir da divisão da área afetada pelo infarto pela área total do ventrículo esquerdo. Para uniformidade dos grupos, considerando a comparação posterior dos resultados obtidos, foram realizadas as análises dos dados coletados dos animais com infartos entre 30% e 60%.

3.5 HEMODINÂMICA E FUNÇÃO VENTRICULAR

No sexto dia da cirurgia de indução de infarto do miocárdio, aos animais foram pesados, anestesiados com solução contendo cetamina (50 mg/Kg) e xilazina

(10 mg/Kg) e afixados em mesa cirúrgica para cateterismo da artéria femoral esquerda.

Após tricotomia local, foi realizada incisão da pele, dissecação e inserção de cateter de polietileno, preenchido com solução salina 0,9% e heparina, na artéria femoral esquerda e exteriorizado e fixado no dorso do animal. No dia posterior ao cateterismo, para obtenção do registro, foi utilizado um transdutor de pressão (TRI 21, LSI, Espanha), que conectado ao cateter de polietileno converteu o estímulo mecânico em estímulo elétrico. Foi possibilitada amplificação do registro por meio do equipamento Powerlab – 4SP ML750 (ADInstrument, Austrália) e registro digital da pressão conectando o equipamento ao computador.

Após 24 horas, foram obtidas as medidas de frequência cardíaca (FC), pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM), no animal acordado. Foram considerados para análise, o valor médio das curvas de pressão, após registro estável com duração mínima de 20 minutos.

Para medidas de variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e de variabilidade da pressão arterial (VPA), foram considerados os valores de pico de pressão arterial (PA) e os intervalos entre esses picos (Dantas e cols, 2011). No registro, foi realizada remoção manual dos batimentos alterados pela movimentação do animal e pela limpeza da cânula e realizada filtragem dos registros de PAS e intervalos de pulso (IP), que são considerados parâmetros adequados para ratos (Dantas e cols, 2012). As séries temporais de PA foram utilizadas para análise da variabilidade da pressão arterial e os intervalos de pulso correspondentes ao intervalo R-R do eletrocardiograma, para análise da variabilidade da frequência cardíaca (Task, 1996).

Para medidas de pressão intraventricular, pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE), pressão diastólica inicial e final (PDVEi e PSVEf) e derivadas máximas de pressão pelo tempo positiva e negativa ($dp/dt+$ e $dp/dt-$) o animal foi anestesiado (cetamina - 50 mg/Kg e xilazina - 10 mg/Kg), e realizado cateterismo de artéria carótida, avançando com o cateter de polietileno até a cavidade do ventrículo esquerdo.

3.6 COLETA DE SANGUE E ÓRGÃOS

Ao final do protocolo experimental de 8 semanas, os animais foram submetidos a eutanásia por sobrecarga anestésica. Foi realizada coleta de sangue, por punção ventricular, para análise de perfil lipídico e enzimas hepáticas.

Para determinação de perfil lipídico e dosagem de enzimas hepáticas, foram usados testes enzimáticos colorimétricos: colesterol - kit Colesterol Monoreagente K083 (Bioclin – Mindray); HDL - kit HDL Direto K071 (Bioclin – Mindray); triglicerídeos - kit Triglicérides Monoreagente K117 (Bioclin – Mindray); TGP - kit Transaminase ALT (TGP) cinética K049 (Bioclin – Mindray); TGO - kit Transaminase AST (TGO) Cinética K048 (Bioclin – Mindray). A análise foi realizada por meio do Analisador Automático de Bioquímica BS120 (Bioclin – Mindray), que tem por metodologia o método de análise óptico, espectrofotometria.

Órgãos e gorduras foram coletados e pesados para avaliação posterior: pulmão, fígado, rim, coração, gordura mesentérica, gordura epididimal e gordura retroperitoneal.

3.7 ANÁLISE DE NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Os níveis plasmáticos das EROS foram determinados a partir da utilização de marcadores específicos por meio do citômetro de fluxo (FACSCanto II Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Diego, CA, USA). Os dados foram

analisados por meio da mediana de intensidade de fluorescência através dos programas BDFACSDiva (BD) e FCSExpress (De Novo Software, Los Angeles, CA, USA).

A concentração plasmática de anions superóxido foi determinada por meio do marcador de fluorescência dihidroetídeo (DHE) e os níveis de peróxido de hidrogênio, por meio do marcador de fluorescência 2',7'-diacetato de diclorofluoresceína (DCFH-DA). Em síntese, as amostras de plasma foram ressuspensas em 1mL de PBS (1×10^6 células/mL) e incubadas com 160 μ M de DHE e 20mM de DCFH-DA, no escuro, à 37°C por 30 minutos. Para controle positivo, foram incubadas com 10 μ M doxorrubicina ou 50 mM peróxido de hidrogênio, por 5 minutos.

Para determinação da concentração plasmática de peroxinitrito-hidroxila, foi utilizado o marcador de fluorescência hidroxifenilfluoresceína (HPF). As amostras de plasma foram incubadas com HPF (5 μ M), no escuro, à 37°C por 30 minutos. Para controle positivo, foram incubadas com 10 μ M de NPS e 10 μ M doxorrubicina.

Para a determinação da biodisponibilidade de óxido nítrico, foi utilizado o marcador de fluorescência 4,5-diaminofluoresceína-2/diacetato (DAF), as amostras de plasma foram incubadas com DAF, a 37°C por 180 minutos, no escuro.

3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados estão apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. Foi utilizado do test *t* de Student, para comparação desejada entre duas amostras independentes. E ANOVA 2 vias, para comparação entre médias dos grupos. A análise post hoc para detectar diferenças entre médias foi feita pelo teste de Fisher

Para representação da curva de mortalidade ao longo do tempo, foram construídas curvas tendo como base o método de Kaplan-Meier, tais curvas foram comparadas pelo teste de log-rank. Para avaliação da participação de

variáveis na determinação de sobrevida pós-infarto, foi utilizado o modelo de Cox.

As diferenças foram consideradas significativas com $P < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software SPSS® (v. 20, Chicago, USA).

4. RESULTADOS

Os dados serão apresentados considerando os quatro grupos experimentais, sendo os animais dos grupos frutose submetidos ao tratamento com solução de frutose 10%, por sete semanas.

Para inclusão dos dados, foram considerados animais com área de infarto infartos entre 30% e 60% - Controle Infarto: $55,22 \pm 3,26\%$ e Frutose Infarto: $49,19 \pm 6,03\%$; primando esse critério, dois animais foram descartados e os dados não foram imputados nas análises.

4.1 AVALIAÇÃO DA MORTALIDADE

Para avaliação da mortalidade ao longo do tempo, as curvas de mortalidade (Figura 3) dos grupos Controle Infarto e Frutose Infarto, foram construídas com base no método de Kaplan-Meier, que comparadas pelo teste de log-rank, não apresentaram diferença significativa ($P = 0,62$).

Os animais do grupo Controle Infarto apresentaram chance de sobrevida de 61,54%, enquanto os animais do grupo Frutose Infarto apresentaram chance de sobrevida de 52,94%. Para ambos os grupos, a menor chance de sobrevida é encontrada no primeiro dia após IM, cerca de 80% dos óbitos dos animais ocorreram no primeiro dia após IM.

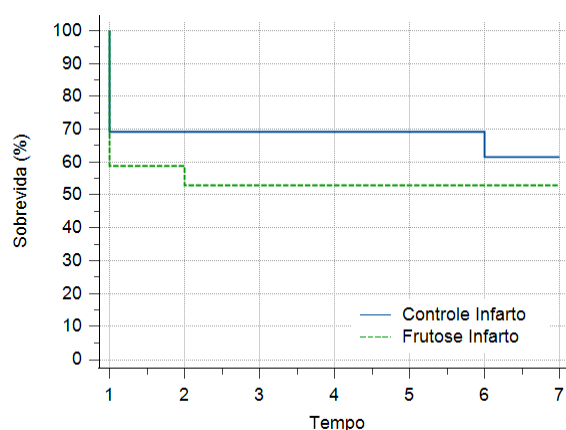


Figura 3. Curva Kaplan-Meier para análise de mortalidade ao longo do tempo, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM.

4.2 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE PARÂMETROS HEMIDINÂMICOS E FUNÇÃO VENTRICULAR DE RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

Para avaliação dos efeitos do tratamento com solução de frutose 10%, a PAS foi aferida de maneira direta, por cateterismo da artéria femoral, no sétimo dia após o infarto e sete dias após a cirurgia fictícia nos animais dos grupos Sham. Os resultados obtidos encontram-se descritos na Tabela 1.

Foi observada redução significativa dos valores de PAS, quando comparados os grupos Controle IM e Frutose IM ($111,41 \pm 2,18^{\#}$ vs $119,55 \pm 2,12^{*,+}$), com os grupos Sham Controle e Sham Frutose ($132,64 \pm 1,84^{\#}$ vs $119,55 \pm 2,12^{*,+}$), respectivamente, sem alterações na PAD e FC. É também possível verificar que a redução da PAS foi mais acentuada no grupo Controle IM, quando comparamos com o grupo Frutose IM, visto a diferença significativa encontrada.

Para avaliação funcional do ventrículo esquerdo foram considerados os seguintes parâmetros: pressão sistólica intraventricular (PSVE), pressão

diastólica inicial (PDVEi), pressão diastólica final (PDVEf) e derivada máxima de pressão pelo tempo (dP/dt^+ e dP/dt^-).

Foi observado aumento da PSVE no grupo Frutose IM quando comparados ao grupo Controle IM ($115,01 \pm 3,94^{\#}$ vs $147,73 \pm 2,42^{*,+}$) e aumento significativo da PDVEf, quando comparados os grupos Controle IM e Frutose IM, com os grupos Sham Controle e Sham Frutose, respectivamente. Não houve alteração significativa nos demais parâmetros (Tabela 1).

Tabela 1. Média dos parâmetros funcionais e hemodinâmicos avaliados 7 dias após cirurgia de indução de IM para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$). PAS = Pressão arterial sistólica; PAD = Pressão arterial diastólica; PAM = Pressão arterial média; PSVE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo; PDVEi = pressão diastólica do ventrículo esquerdo inicial; PDVEf = pressão diastólica do ventrículo esquerdo final; dP/dt^+ e dP/dt^- = derivada máxima de pressão pelo tempo positiva e negativa, respectivamente.

	CONTROLE INFARTO	SHAM CONTROLE	FRUTOSE INFARTO	SHAM FRUTOSE
Frequência Cardíaca (bpm)	394,2 $\pm$ 41,81	318,3 $\pm$ 8,67	375,40 $\pm$ 46,78	317,25 $\pm$ 12,64
PAS (mmHg)	111,41 $\pm$ 2,18 [#]	132,55 $\pm$ 2,22	119,55 $\pm$ 2,12 ^{*,+}	132,64 $\pm$ 1,84
PAD (mmHg)	89,6 $\pm$ 1,7	89,2 $\pm$ 2,59	91,06 $\pm$ 1,49	90,4 $\pm$ 1,88
PAM (mmHg)	96,87 $\pm$ 3,78	103,55 $\pm$ 2,87	100,55 $\pm$ 1,87	104,48 $\pm$ 2,89
PSVE (mmHg)	115,01 $\pm$ 3,94	123,44 $\pm$ 5,89	147,73 $\pm$ 2,42 ^{*,+}	127,38 $\pm$ 3,89
PDVEi (mmHg)	6,92 $\pm$ 0,78	8,23 $\pm$ 1,78	5,51 $\pm$ 0,60	7,97 $\pm$ 2,78
PDVEf (mmHg)	22,48 $\pm$ 1,62 [#]	12,34 $\pm$ 1,89	19,79 $\pm$ 0,07 ⁺	11,24 $\pm$ 1,32
dP/dt+ (mmHg/s)	4300 $\pm$ 419,18	3893,44 $\pm$ 232,22	3687,5 $\pm$ 589,62	3055,00 $\pm$ 135,74
dP/dt- (mmHg/s)	2216,07 $\pm$ 279,02	1696,83 $\pm$ 71,47	2061,36 $\pm$ 402,58	1581,32 $\pm$ 44,76

*p<0,05, ratos Controle IM vs Frutose IM; +p<0,05, ratos Sham Frutose vs Frutose IM; [#]p<0,05, ratos Sham Controle vs Controle IM; ^op<0,05, ratos Sham Controle vs Sham Frutose; Anova 2 vias; N = 28

Nossos dados apontam que, no período de 7 dias de IAM, é possível observar redução da VPA nos animais Controle IM quando comparados ao grupo Sham Controle ($9,39 \pm 1,2$ vs $4,84 \pm 1,58^{\#}$), não havendo diferença quando comparados os grupos Controle IM vs Frutose IM e Sham Controle vs Sham Frutose (Tabela 2).

Também observamos redução significativa da variância de R-R quando comparados os grupos Controle IM vs Frutose IM e Sham Frutose vs Frutose IM. Nos domínios da frequência cardíaca foi observada: redução de LF, quando comparados os grupos Sham Controle vs Controle IM e Sham Controle vs Sham Frutose; aumento de HF, quando comparados os grupos Sham Controle vs Controle IM e Sham Controle vs Sham Frutose;

Tabela 2. Variabilidade de Pressão sistólica e Frequência Cardíaca avaliadas 7 dias após cirurgia de indução de IM para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$). VLF = frequência muito baixa; LF = baixa frequência; HF = alta frequência.

	CONTROLE INFARTO	SHAM CONTROLE	FRUTOSE INFARTO	SHAM FRUTOSE
Variância da Pressão Sistólica (mmHg²)	4,84 $\pm$ 1,56 [#]	9,39 $\pm$ 1,2	15,86 $\pm$ 5,08	11,13 $\pm$ 3,91
VLF(mmHg²)	2,47 $\pm$ 0,86 [#]	5,90 $\pm$ 0,62	7,37 $\pm$ 2,89	7,2 $\pm$ 2,89
LF (mmHg²)	0,68 $\pm$ 0,17 [#]	1,44 $\pm$ 0,3	3,68 $\pm$ 2,13	1,42 $\pm$ 0,6
HF (mmHg²)	0,91 $\pm$ 0,25	0,26 $\pm$ 0,12	2,19 $\pm$ 0,86 ^{*, +}	0,85 $\pm$ 0,21
Variância R-R (ms²)	26,55 $\pm$ 7,23	33,54 $\pm$ 2,28	11,8 $\pm$ 2,76 ^{*, +}	19,36 $\pm$ 0,57 ^α
VLF (ms²)	9,62 $\pm$ 1,91	6,76 $\pm$ 2,23	5,77 $\pm$ 1,29	5,89 $\pm$ 1,87
LF (ms²)	4,17 $\pm$ 1,69 [#]	8,38 $\pm$ 1,23	4,2 $\pm$ 1,08	5,01 $\pm$ 1,36 ^α
HF (ms²)	5,21 $\pm$ 1,79 [#]	1,29 $\pm$ 0,66	5,21 $\pm$ 1,9	6,23 $\pm$ 0,91 ^α

*p<0,05, ratos Controle IM vs Frutose IM; ⁺p<0,05, ratos Sham Frutose vs Frutose IM; [#]p<0,05, ratos Sham Controle vs Controle IM; ^αp<0,05, ratos Sham Controle vs Sham Frutose; Anova 2 vias; N = 28

4.3 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE GLICEMIA EM JEJUM, TOLERÂNCIA À GLICOSE E RESISTÊNCIA À INSULINA EM RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

4.3.1 Glicemia em Jejum, Teste de Tolerância a Glicose e de Sensibilidade à Insulina

Para avaliação dos níveis de glicemia após jejum de 12-14 horas – em cada momento do teste, as medidas foram obtidas antes do início do protocolo, na segunda, quarta, sexta, sétima semana de tratamento e sete dias após a cirurgia de indução de infarto agudo do miocárdio e da cirurgia fictícia.

Observamos na segunda semana de tratamento, aumento significativo do nível de glicemia nos grupos Frutose IM e Sham Frutose, condição sustentada até a sétima semana de protocolo. Na medida aferida após infarto, mesmo com a apresentação de redução nos níveis glicêmicos dos animais submetidos ao tratamento com solução de frutose 10%, é sustentado aumento significativo, quando comparado ao grupo Infarto Controle (Figura 4).

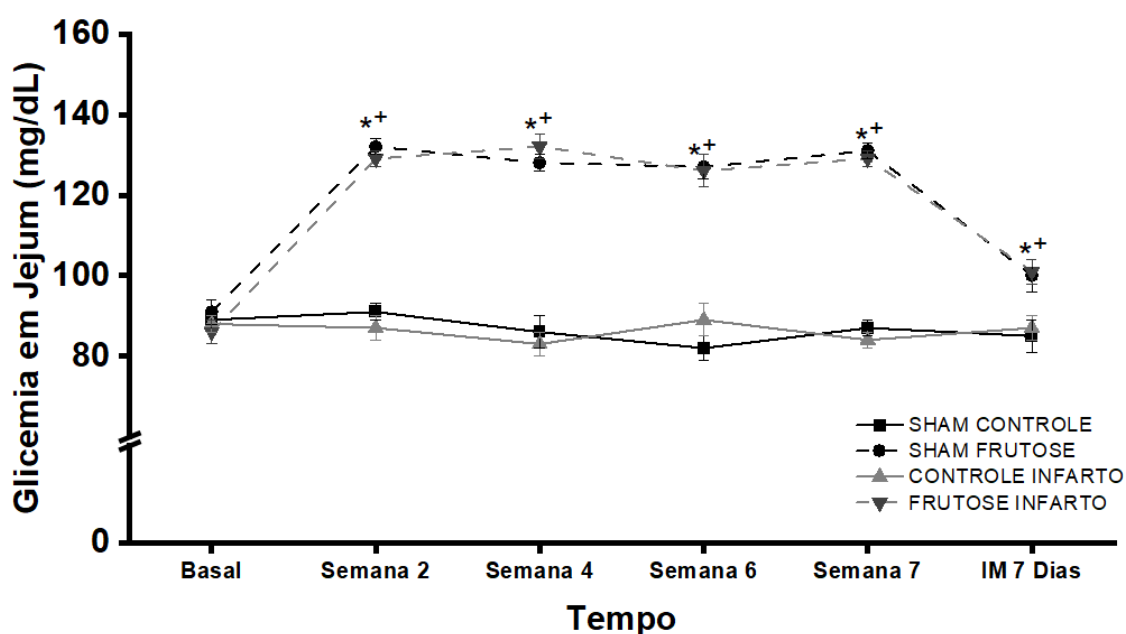
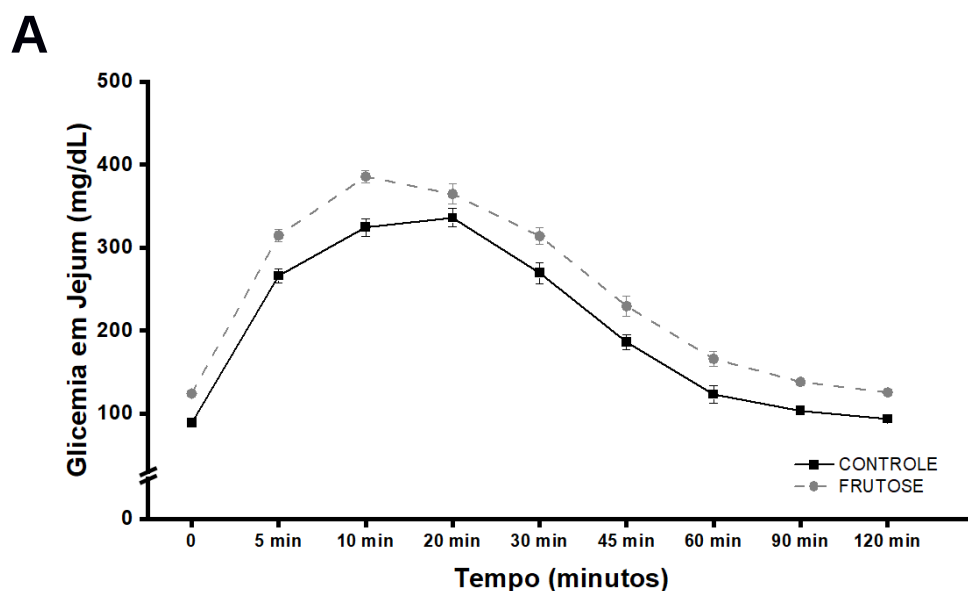


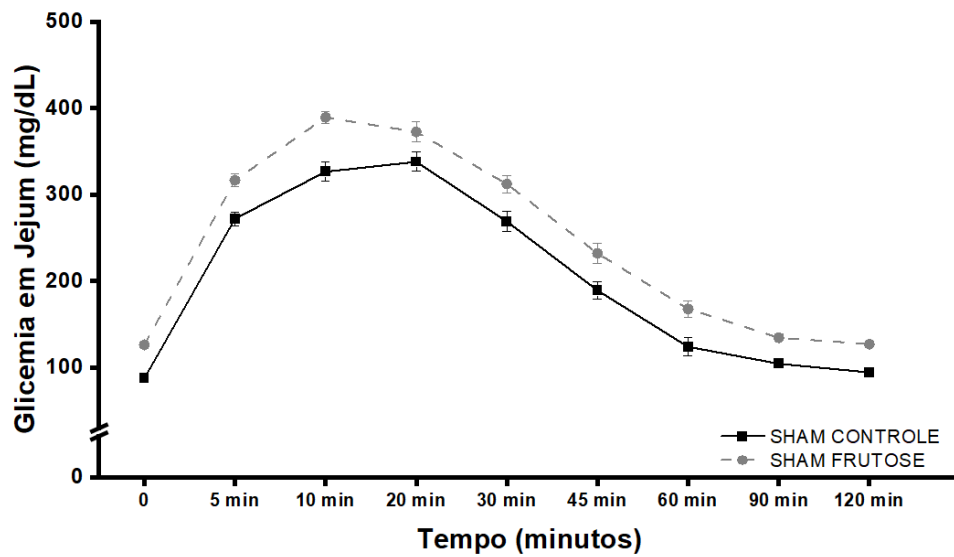
Figura 4. Análise temporal dos efeitos da dieta rica em frutose na glicemia em jejum de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio. Valores de média e erro-padrão ($\pm$). * $p < 0,05$, ratos Controle IM vs Frutose IM; + $p < 0,05$, ratos Sham Controle vs Sham Frutose; Anova 2 vias; N = 28

Ao final de 7 semanas, para avaliação de tolerância à glicose, foi aplicado teste que consiste na administração por via intraperitoneal de glicose (2mg/Kg, *ip*),

após jejum de 12-14 horas. A avaliação temporal dos níveis de glicose foi realizada nos tempos: 0' (basal), 5', 10', 20', 30', 45', 60', 90' e 120'.

A Figura 5A apresenta as medidas dos níveis de glicemia, basal e por 120 minutos, na sétima semana de tratamento. A Figura 5B apresenta as medidas dos níveis de glicemia, basal e por 120 minutos, após sete dias de cirurgia fictícia. Não foram encontradas diferenças dos mesmos grupos nos dois momentos, contudo, estes resultados demonstram que a ingestão crônica de frutose promove redução da tolerância à glicose, visto a elevação dos níveis séricos de glicose, apresentados nos pontos da curva, comparando os animais tratados com os controles. Estes dados foram confirmados pelo cálculo da área abaixo da curva (Figura 5C).





C

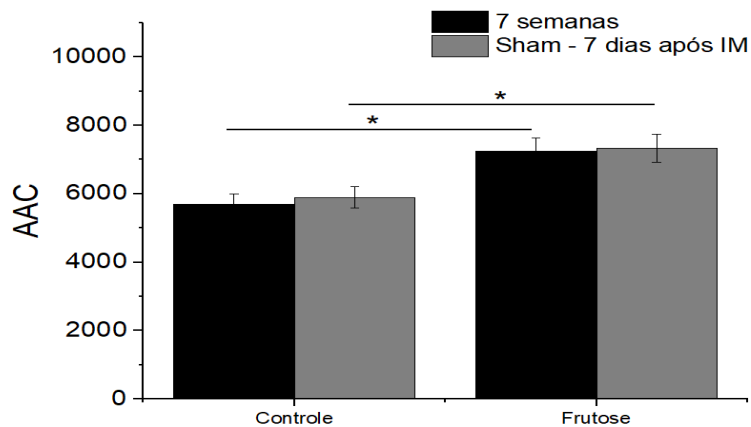


Figura 5. (A) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de glicose (2mg/Kg), via intraperitoneal de ratos antes da realização da cirurgia de indução de IM. (B) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de glicose (2mg/Kg), via intraperitoneal de ratos após realização de cirurgia fictícia; com valores de média e erro-padrão ($\pm$). (C) Área abaixo da curva, dos níveis de glicemia, após administração de glicose, com valores de média e erro-padrão ($\pm$) * $p < 0,05$ vs ratos Controle; test t. N = 20

Após 7 dias de indução de infarto agudo do miocárdio, os animais foram submetidos novamente ao teste de tolerância à glicose, obedecendo os mesmos protocolos realizados na sétima semana. A avaliação temporal dos níveis de glicose foi realizada nos tempos: 0' (basal), 5', 10', 20', 30', 45', 60', 90' e 120'.

É possível verificar como representado na Figura 6A, que os animais infartados submetidos ao tratamento com frutose sustentam a condição de menor tolerância à glicose. Os níveis de glicemia permanecem elevados em todos os

pontos da curva. A área abaixo da curva confirma a afirmação de que a dieta ofertada para o grupo Frutose Infarto reduziu nesse grupo a tolerância à glicose (Figura 6).

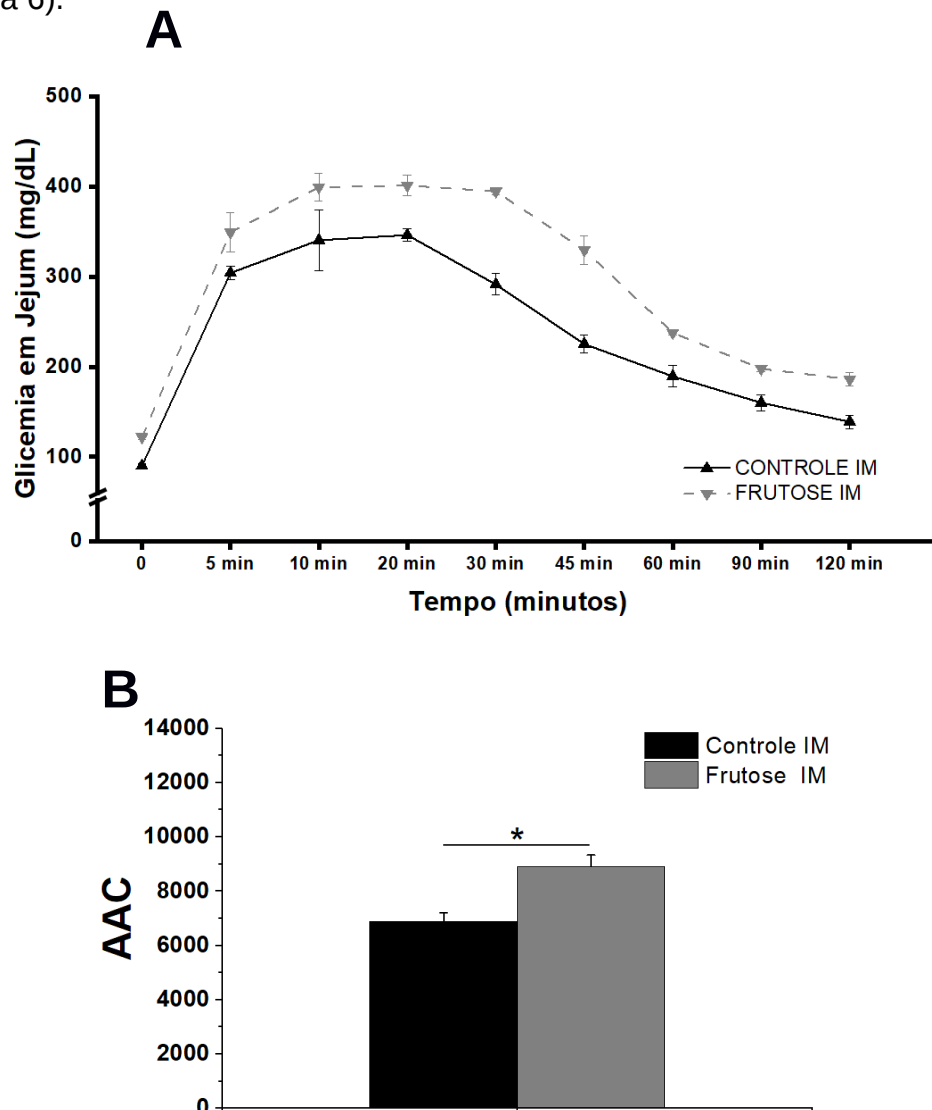


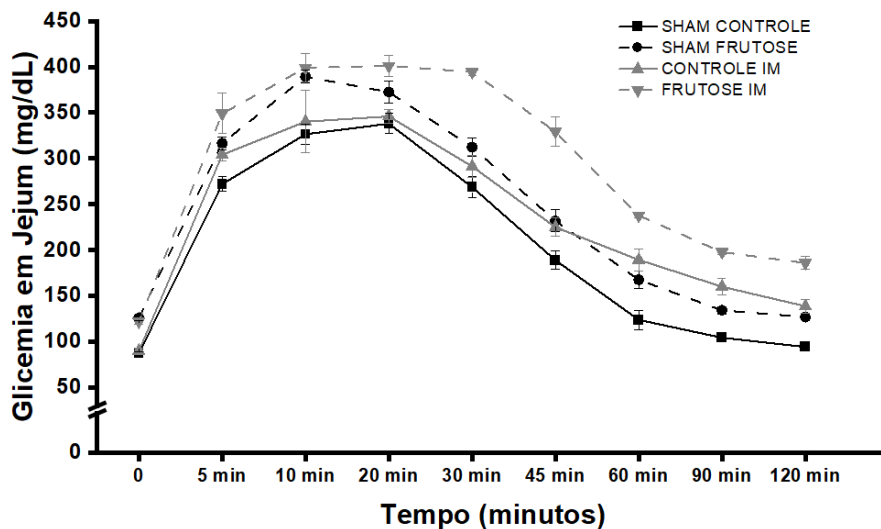
Figura 6. (A) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de glicose (2mg/Kg), via intraperitoneal, sete dias após cirurgia de indução de IM, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$). (B) Área abaixo da curva, dos níveis de glicemia, sete dias após cirurgia de indução de IAM, após administração de glicose $*p < 0,05$ vs ratos Controle, test t . N = 14

No entanto, quando foi analisada a condição pré-infarto, ou seja, na sétima semana de protocolo e 7 dias pós IAM, a própria condição do IM, aumenta a AAC, mas esse aumento parece ser mais evidenciado no grupo Frutose IM (Figura 7B).

Na figura que representa o curso temporal dos níveis de séricos de glicose é observado que após 7 dias de infarto, há uma condição de redução da

tolerância à glicose nos animais infartados, quando comparados com as medidas obtidas do mesmo grupo, antes da cirurgia de indução de infarto agudo do miocárdio.

A



B

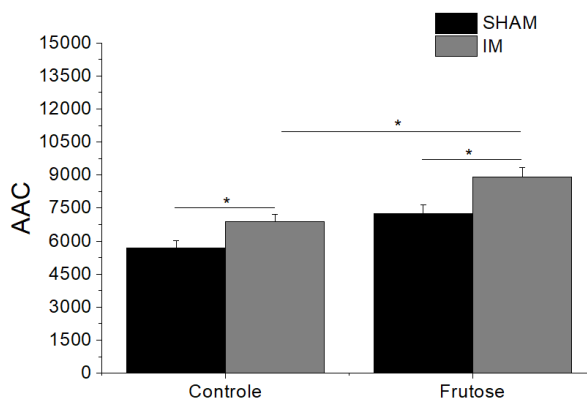


Figura 7. (A) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de glicose (2mg/Kg), via intraperitoneal, sete dias após cirurgia de indução de IM e cirurgia fictícia, com valores de média e erro-padrão ($\pm$). (B) Área abaixo da curva, dos níveis de glicemia, sete dias após cirurgia de indução de IM e cirurgia fictícia, após administração de glicose N = 14; Anova 2 vias. * $p < 0,05$ Sham Controle vs Controle IM; Sham Frutose vs Frutose IM; Controle IM vs Frutose IM.

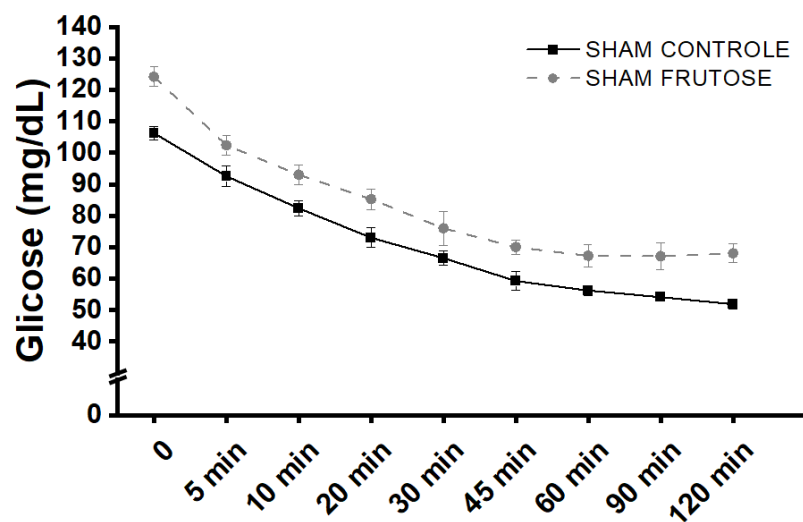
4.3.2 Teste de Sensibilidade à Insulina

Para avaliação de sensibilidade à insulina, foi realizada a aplicação de insulina (1U/Kg), via intraperitoneal, após 6 horas de jejum, e as medidas foram

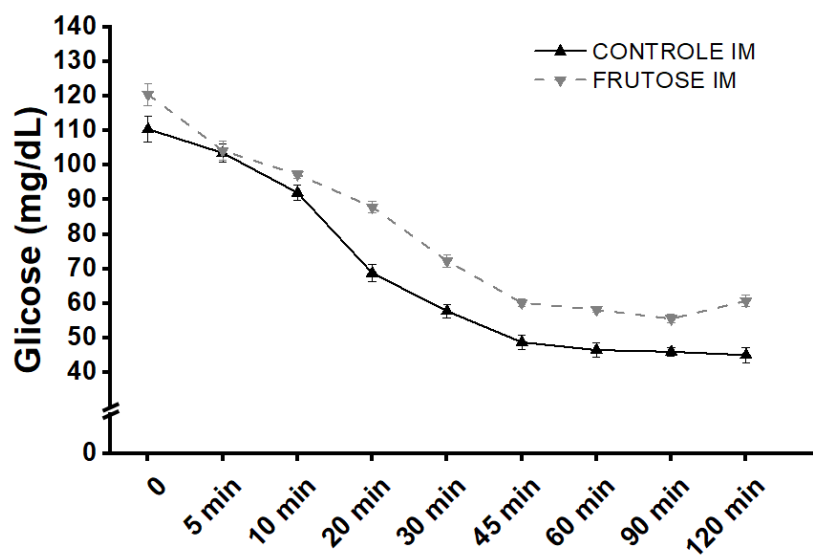
aferidas nos tempos: 0' (basal), 5', 10', 20', 30', 45', 60', 90' e 120'. O teste foi realizado na sétima semana de protocolo e após 7 dias da cirurgia de indução de infarto agudo do miocárdio.

Foi evidenciado que os grupos tratados com frutose possuem menor sensibilidade à insulina, contudo não há diferença evidenciada entre os animais dos grupos submetidos à cirurgia de infarto e dos grupos submetidos à cirurgia fictícia, sugerindo que não há participação do IM nessa condição (Figura 8).

A



B



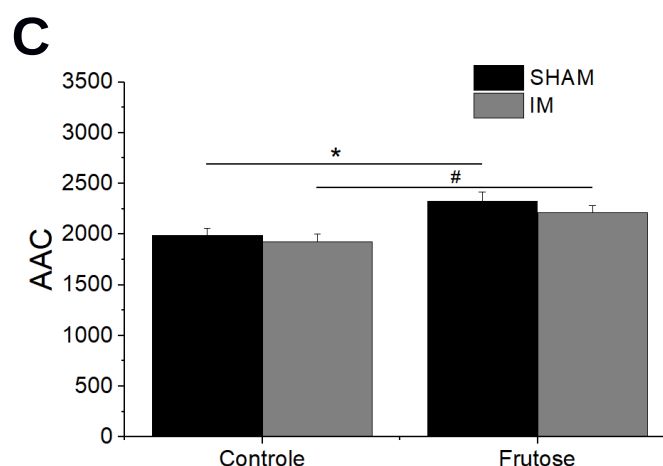


Figura 8. (A) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de insulina (1U/Kg), via intraperitoneal de ratos submetidos à cirurgia fictícia, N = 14. (B) Curso temporal dos níveis de glicemia, após administração de insulina (1U/Kg), via intraperitoneal, sete dias após cirurgia de indução de IM, N= 13. (C) Área abaixo da curva, dos níveis de glicemia, sete dias após cirurgia de indução de IM, após administração de insulina; Valores de média e erro-padrão ($\pm$) Anova 2 vias; * $p < 0,05$ Sham Controle vs Sham Frutose; # $p < 0,05$ Controle IM vs Frutose IM.

4.4 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE A INGESTÃO DE ÁGUA E ALIMENTOS E PESO CORPORAL DE RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

Para avaliação da ingestão de água, alimento e solução de frutose 10%, os animais foram condicionados, individualmente, em gaiolas metabólicas, antes do início do protocolo, na segunda, quarta e sétima semana, e 7 dias após a cirurgia de infarto.

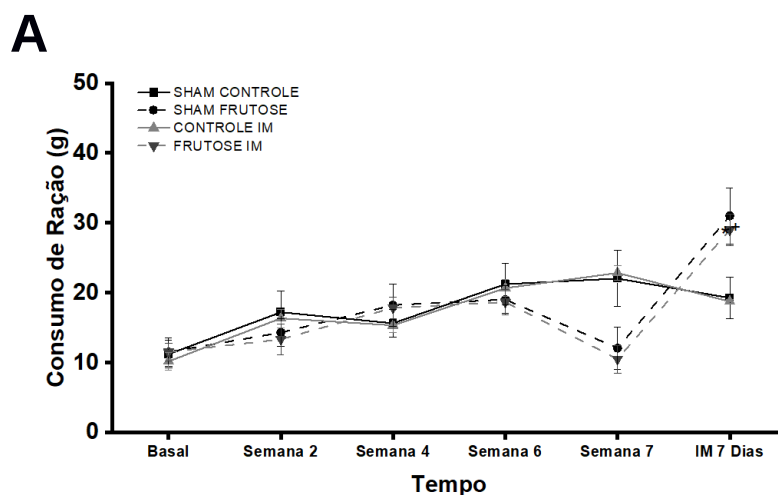
4.4.1 Ingestão calórica e consumo alimentar

Para avaliação do consumo alimentar e ingestão hídrica dos animais submetidos ao protocolo experimental, os animais foram colocados em gaiola metabólica antes do início do estudo, na segunda, quarta, sexta e sétima semana de tratamento e 7 dias após IM ou realização de cirurgia fictícia (Figura 9).

Foi observado aumento progressivo na ingestão hídrica dos animais que receberam a dieta rica em frutose, do início do protocolo ao sétimo dia pós IM (Figura 9B). Houve mudança no padrão do consumo alimentar desse grupo, apenas na sétima semana de tratamento (Figura 9A). Nos animais do grupo controle foi observado aumento progressivo do consumo de ração e manutenção do padrão de consumo de água (Figura 9).

Dadas as diferenças no padrão de consumo de ração e água dos grupos submetidos ao estudo, fez-se necessária a avaliação do consumo energético, obtido a partir da ingestão diária de calorias, calculada a partir do consumo de alimentos e frutose.

Os animais do grupo Frutose Infarto apresentaram maior consumo energético quando comparados ao grupo Controle Infarto, exceto ao final das sete semanas, sendo recuperado após 7 dias de IM (Figura 9C). Houve mudança do padrão alimentar do grupo Frutose Infarto, em uma provável tentativa de suprir o consumo energético reduzido pela não oferta da frutose, o aumento do consumo da ração (Figura 9A) foi suficiente para a manutenção da ingestão calórica.



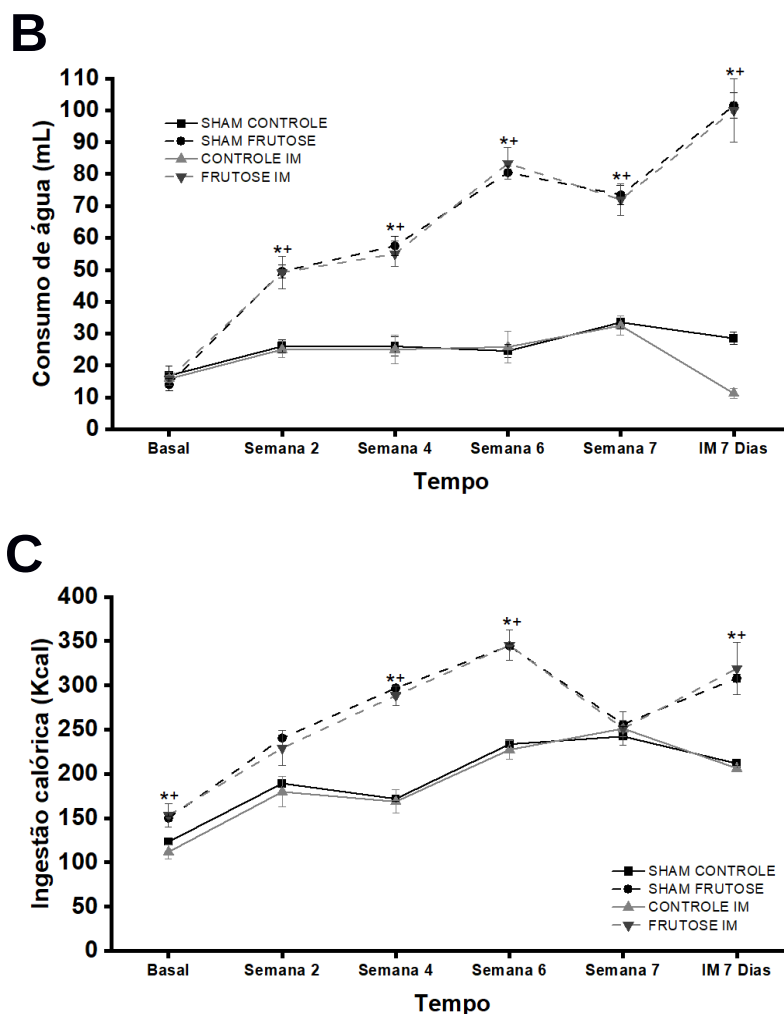


Figura 9. Consumo de ração, consumo de água e ingestão calórica de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio e cirurgia fictícia: Controle IM, Frutose IM, Sham Controle e Sham Frutose; com valores de média e erro-padrão ($\pm$), $N = 24$. (A) Consumo diário de ração. (B) Consumo diário de água ou solução de frutose. (C) Ingestão calórica nos. Anova 2 vias; * $p < 0,05$ Sham Controle vs Sham Frutose; # $p < 0,05$ Controle IM vs Frutose IM.

4.4.2 Análise de ganho de peso corporal no decurso do tempo

Durante o tratamento não houve diferença no ganho de peso corporal dos animais submetidos ou não ao tratamento com solução de frutose 10% (Figura 10), apesar de diferenças apresentadas na ingestão calórica dos animais. No entanto, após IM, foi observada redução significativa no peso dos animais do grupo Frutose IM, quando comparado aos grupos Controle IM e Sham Frutose e durante os três primeiros dias no grupo Controle IM, quando comparado ao grupo Sham Controle (Figura 11).

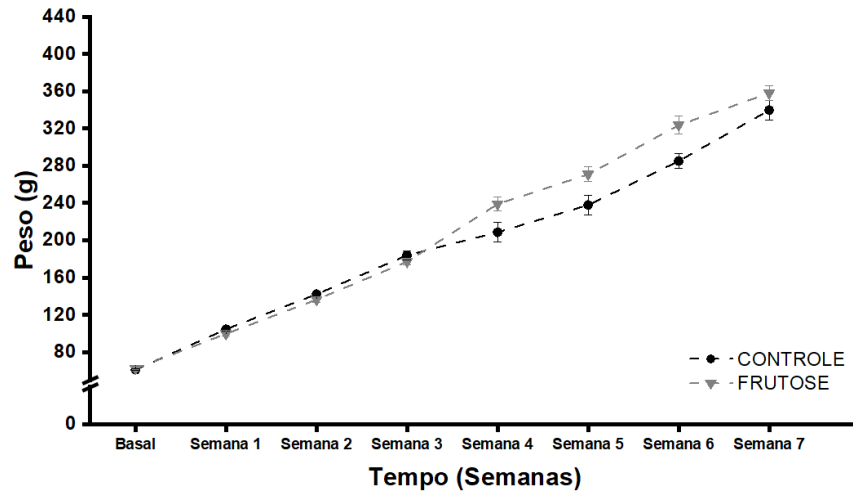


Figura 10. Evolução do peso corporal dos animais no decurso do tempo, antes da cirurgia de infarto agudo do miocárdio, com valores de média e erro-padrão ($\pm$), test *t*. N = 42

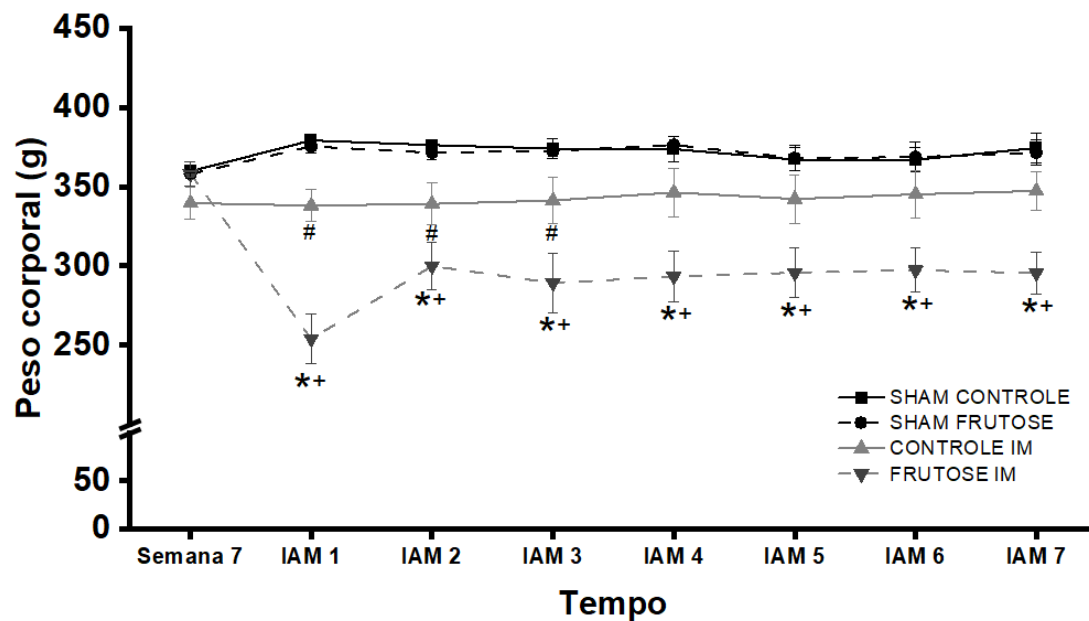


Figura 11. Evolução do peso corporal dos animais durante 7 dias após IM ou cirurgia fictícia, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$). Anova 2 vias; * $p < 0,05$ Controle IM vs Frutose IM; + $p < 0,05$ Sham Frutose vs Frutose IM; # $p < 0,05$ Sham Controle vs Controle IM.

4.5 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE MASSA MAGRA E DEPOSIÇÃO DE GORDURA DE RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

Com objetivo de avaliar as alterações em massa magra e deposição de gordura corporal nos animais submetidos à dieta crônica com solução frutose 10%, foram coletados: músculo gastrocnêmio, gordura retroperitoneal, gordura visceral e gordura epididimal de ambos os grupos, após 7 dias de IM.

Foi encontrada redução na massa magra dos animais, do grupo Frutose, submetidos ao protocolo de pesquisa (Figura 12), que pode ser justificada pela perda de peso importante a redução abrupta da oferta de solução frutose 10%, por consequência – redução de ingestão calórica, após IM.

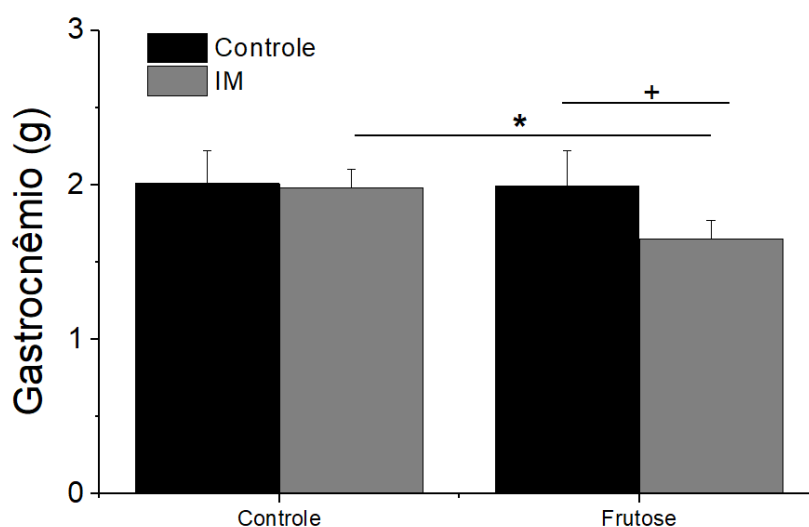


Figura 12. Massa magra de ratos submetidos à cirurgia de infarto agudo do miocárdio e à cirurgia fictícia para os grupos Controle IM, Frutose IM, Sham Controle e Sham Frutose; com valores de média e erro-padrão ($\pm$), Anova 2 vias. * $p < 0,05$ Controle IM vs Frutose IM; + $p < 0,05$ Sham Frutose vs Frutose IM. N = 51

Com relação à deposição de gordura corporal dos animais é possível observar que o grupo Sham Frutose apresenta maior deposição de gordura visceral que os animais do grupo Sham Controle, e há redução significativa de deposição de gordura visceral dos animais Frutose IM quando comparados com o grupo Controle IM e Sham Frutose, respectivamente (Figura 13).

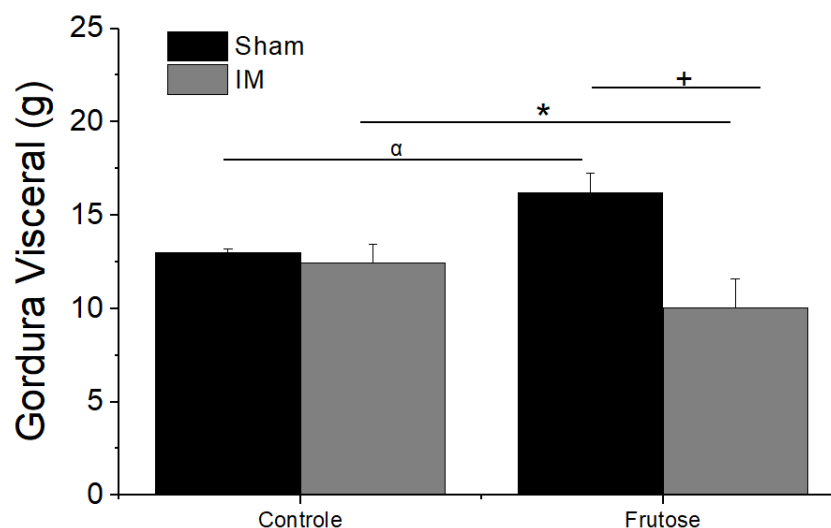


Figura 13. Deposição de gordura visceral dos animais dos grupos Controle IM, Frutose IM, Sham Controle e Sham Frutose; com valores de média e erro-padrão ($\pm$), Anova 2 vias. * $p < 0,05$ Controle IM vs Frutose IM; + $p < 0,05$ Sham Frutose vs Frutose IM; $\alpha p < 0,05$ Sham Controle vs Sham Frutose; N = 51

4.6 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE PESO DOS ÓRGÃOS DE RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

Para análise do efeito da dieta crônica com frutose no peso dos órgãos dos animais submetidos à cirurgia de IM e cirurgia fictícia, foram coletados: ventrículos, rim, fígado e pulmões. A tíbia foi coletada e sua medida utilizada para correção de valores, conforme apresentado na Tabela 3.

Os órgãos foram coletados 7 dias após IM, e não foram observadas diferenças significativas, logo o protocolo de 7 semanas de tratamento com solução

frutose 10% não é suficiente para promover alterações nos pesos dos órgãos avaliados, mesmo quando acrescida a variável IM.

Tabela 3. Peso de órgãos de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$), coletados 7 dias após IM.

	CONTROLE INFARTO	SHAM CONTROLE	FRUTOSE INFARTO	SHAM FRUTOSE
Tíbia (cm)	4,347 $\pm$ 0,037	4,218 $\pm$ 0,042	4,140 $\pm$ 0,086	4,218 $\pm$ 0,091
Ventrículos/Tíbia (g/cm)	0,307 $\pm$ 0,011	0,396 $\pm$ 0,018	0,330 $\pm$ 0,067	0,317 $\pm$ 0,072
Rim/Tíbia (g/cm)	0,292 $\pm$ 0,009	0,303 $\pm$ 0,012	0,275 $\pm$ 0,013	0,293 $\pm$ 0,018
Fígado/Tíbia (g/cm)	3,182 $\pm$ 0,1494	3,221 $\pm$ 0,1531	2,916 $\pm$ 0,1864	2,979 $\pm$ 0,1789
Pulmão/Tíbia (g/cm)	0,639 $\pm$ 0,0496	0,678 $\pm$ 0,0512	0,731 $\pm$ 0,1132	0,742 $\pm$ 0,1215

*p<0,05, ratos Controle IM vs Frutose IM; ⁺p<0,05, ratos Sham Frutose vs Frutose IM; [#]p<0,05, ratos Sham Controle vs Controle IM; ^ap<0,05, ratos Sham Controle vs Sham Frutose; Anova 2 vias; N = 51

4.7 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE PARÂMETROS PLASMÁTICOS DE RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

A dieta crônica por sete semanas, com solução de frutose 10%, promoveu diferença significativa nas concentrações séricas de glicose e triglicerídeos (TG). Foi encontrado das concentrações supracitadas quando comparados os grupos: Controle IM vs Frutose IM e Sham Controle vs Sham Frutose, não houve diferença apresentada nos demais parâmetros avaliados (Tabela 4).

Estudos semelhantes demonstram que dietas crônicas com frutose por um período 6 semanas é suficiente para o aumento de triglicerídeos e glicemia em

jejum de ratos wistar machos (Lirio e cols, 2015), sendo assim, a condição apresentada dá-se, provavelmente em decorrência da dieta prévia com frutose.

Tabela 4. Parâmetros plasmáticos, 7 dias após infarto de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$).

	CONTROLE INFARTO	SHAM CONTROLE	FRUTOSE INFARTO	SHAM FRUTOSE
Glicemia (mg/dL)	85 $\pm$ 4	87 $\pm$ 3	101 $\pm$ 3*	100 $\pm$ 4 ^a
Colesterol (mg/dL)	80,29 $\pm$ 5,96	82,37 $\pm$ 6,18	88,76 $\pm$ 7,56	89,56 $\pm$ 7,74
HDLc (mg/dL)	29,09 $\pm$ 2	30,12 $\pm$ 2,1	30,43 $\pm$ 2	30,77 $\pm$ 1,89
Triglicerídeos (mg/dL)	157,49 $\pm$ 19,55	146,58 $\pm$ 18,23	274,31 $\pm$ 23,04*	257,34 $\pm$ 18,02 ^a
ALT (U/L)	48,68 $\pm$ 3,36	48,68 $\pm$ 3,36	50,94 $\pm$ 6,10	50,94 $\pm$ 6,10
AST (U/L)	84,45 $\pm$ 6,87	84,45 $\pm$ 6,87	86,94 $\pm$ 4,96	86,94 $\pm$ 4,96

*p<0,05, ratos Controle IM vs Frutose IM; ⁺p<0,05, ratos Sham Frutose vs Frutose IM; [#]p<0,05, ratos Sham Controle vs Controle IM; ^ap<0,05, ratos Sham Controle vs Sham Frutose; Anova 2 vias; N = 28

4.8 EFEITOS DO TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE FRUTOSE 10% SOBRE PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO EM RATOS SUBMETIDOS À CIRURGIA PARA INDUÇÃO DE INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

Considerando que diversos estudos apontam para a participação de espécies reativas de oxigênio nas vias de remodelamento do músculo cardíaco pós-infarto e na transição de hipertrofia benéfica para a insuficiência cardíaca. Foi

utilizada a citometria de fluxo para avaliar a concentração plasmáticas de espécies reativas de oxigênio dos grupos estudados.

A Figura 14 apresenta a produção de peroxinitrito-hidroxila ($\bullet\text{ONOO}^-/\bullet\text{OH}^-$). Os animais do grupo Frutose Infarto, quando comparados ao grupo controle, apresentaram menor produção de ($\bullet\text{ONOO}^-/\bullet\text{OH}^-$).

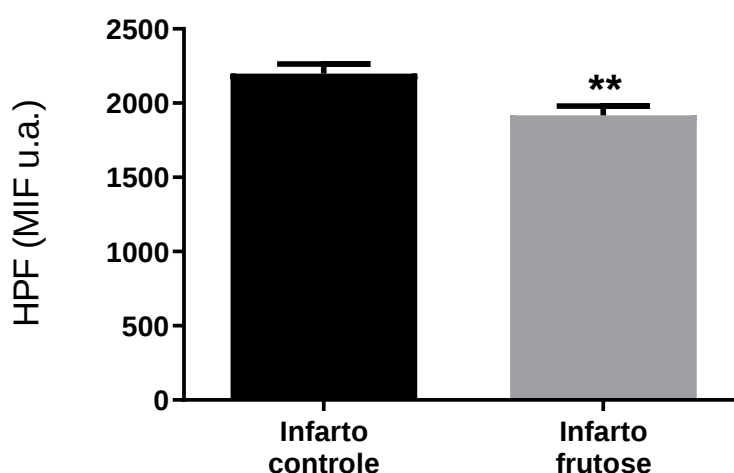


Figura 14. Efeitos da dieta rica em frutose na produção, em amostras de sangue, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$), de peroxinitrito-hidroxila, apresentados pela diferença de MIF, obtidas por citometria de fluxo. ** $p < 0,05$ vs ratos Infarto controle, test t . N = 12

Quando aferida a intensidade de fluorescência, emitida pela utilização do marcador de fluorescência 4,5-diaminofluoresceína-2/diacetato (DAF), para avaliação da produção de óxido nítrico (NO), foi encontrado aumento significativo nos níveis de NO quando comparamos o grupo Infarto Frutose ao grupo Infarto Controle (Figura 15).

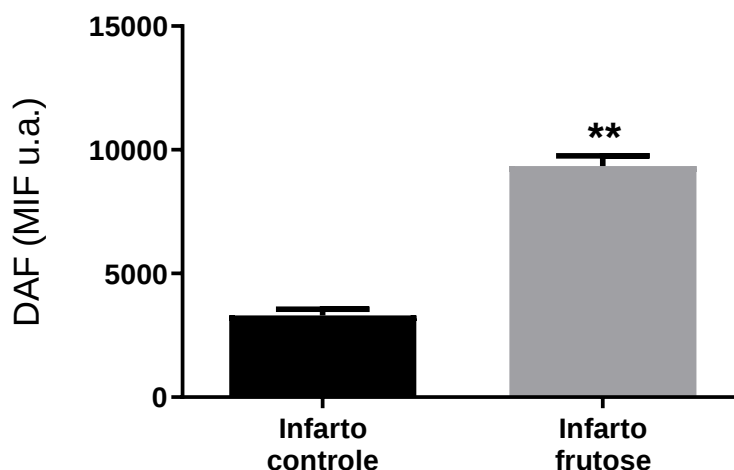


Figura 15. Efeitos da dieta rica em frutose produção, em amostras de sangue, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$), de óxido nítrico, apresentados pela diferença de MIF, obtidas por citometria de fluxo. ** $p < 0,05$ vs ratos Infarto controle, test t . N = 12

Na avaliação dos níveis de peróxido de hidrogênio, possibilitada pela avaliação da intensidade de fluorescência – emitida pela utilização do marcador de fluorescência 2',7'-diacetato de diclorofluoresceína (DCFH-DA), foi verificado aumento na produção de H_2O_2 , quando comparamos o grupo Infarto Frutose ao Grupo Infarto Controle (Figura 16).

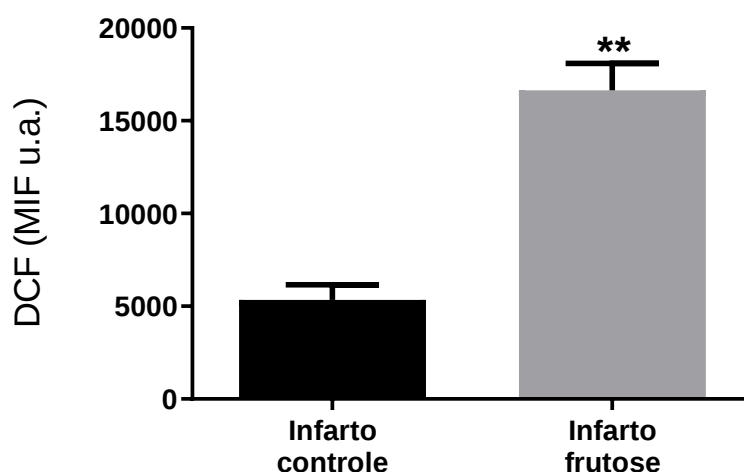


Figura 16. Efeitos da dieta rica em frutose produção, em amostras de sangue, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$), de peróxido de hidrogênio, apresentados pela diferença de MIF, obtidas por citometria de fluxo. ** $p < 0,05$ vs ratos Infarto controle, test t . N = 12

Quando aferida a intensidade de fluorescência, emitida pela utilização do marcador de fluorescência dihidroetídeo (DHE), para avaliação da produção de ânion superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$), foi encontrado aumento significativo nos níveis de $\bullet\text{O}_2^-$, quando comparamos o grupo Infarto Frutose ao grupo Infarto Controle (Figura 17).

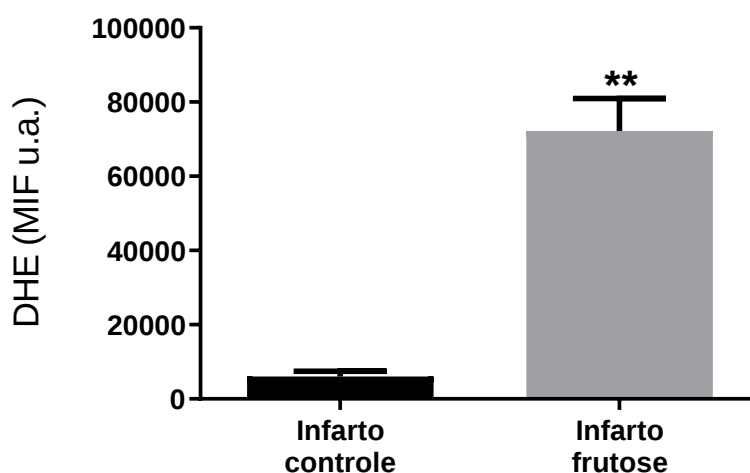


Figura 17. Efeitos da dieta rica em frutose produção, em amostras de sangue, de ratos submetidos a cirurgia de infarto agudo do miocárdio para os grupos Controle IM e Frutose IM com valores de média e erro-padrão ($\pm$), de ânion superóxido, apresentados pela diferença de MIF, obtidas por citometria de fluxo. ** $p < 0,01$ vs ratos Infarto controle, test t . N = 12

5 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou as alterações metabólicas, bioquímicas e hemodinâmicas, após sete dias de infarto, de dieta prévia rica em frutose, por sete semanas. Os dados encontrados evidenciam que o uso crônico de frutose promove alterações no peso ponderal, na tolerância a glicose, na pressão sistólica do ventrículo esquerdo, na pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, na variância de R-R e na produção de espécies reativas de oxigênio, após 7 dias de infarto do miocárdio.

Após a cirurgia de oclusão de artéria coronária são esperadas mortes nas primeiras 24 horas, em decorrência das alterações eletrofisiológicas produzidas pelo insulto ao músculo cardíaco e a fatores relacionados ao próprio procedimento cirúrgico (Mill e cols., 2011), procedimento esse que pode alterar o perfil ponderal dos animais submetidos à cirurgia.

No entanto, na fase aguda, não foi observada diferença na mortalidade dos animais dos grupos estudados, sugerindo que os mecanismos compensatórios iniciais – sistema antioxidante, manutenção de variáveis funcionais e hemodinâmicas – são suficientes para que, nesse período, a mortalidade do grupo Frutose IM não seja aumentada, mesmo com as alterações metabólicas, bioquímicas e hemodinâmicas apresentadas.

O declínio de peso após o infarto é esperado na fase aguda e pode estar relacionado ao processo de reestabelecimento do animal pelo trauma cirúrgico. Dados semelhantes foram encontrados em um estudo realizado em 2015, que encontrou perda de peso corporal na primeira semana após ligadura de artéria coronária, não havendo diferença em comparação com o grupo que foi submetido à cirurgia fictícia (Aires, 2015).

Em indivíduos com doenças cardiovasculares a perda de peso após um evento agudo está diretamente ligada ao desenvolvimento e gravidade de insuficiência cardíaca (Lopez-Jimenez e cols., 2008; Pocock e cols, 2008), sendo presente de maneira precoce, em pacientes acometidos por infarto do miocárdio, associada ao aumento do risco de mortalidade (Kennedy e cols., 2006).

Encontramos declínio do peso ponderal no grupo Frutose IM, após infarto do miocárdio, quando comparamos com o grupo Controle IM e ao grupo Sham Frutose, mesmo com a manutenção do consumo energético alcançada pela mudança do padrão alimentar após o IM e a retirada da solução de frutose.

É possível observar que houve tentativa dos animais do grupo Frutose IM e do grupo Sham Frutose de compensar a ingestão calórica, evidenciado pelo aumento do consumo de ração nesses grupos, que foi suficiente para a manutenção do aporte energético fornecido pela solução de frutose. Contudo, houve perda de peso ponderal, redução de massa magra e de gordura visceral dos animais do grupo Frutose IM.

No entanto, não foi encontrada diferença de peso corporal precedendo a cirurgia, resultado semelhante foi relatado em um estudo prévio, em que animais tratados por seis semanas com dieta rica em frutose apresentaram aumento de gordura visceral e de massa hepática, sem aumentar peso corporal (Lirio e cols, 2015).

A redução do peso ponderal na fase aguda do IM pode ser considerada um indicativo de que animais de modelos experimentais de IM deram início ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca aguda (Faria e cols., 2011), - representando um prognóstico ruim e maior risco de mortalidade (Anker e Sharma, 2002) -, caracterizada pela importante perda de peso ponderal e pela perda de massa magra logo após a oclusão da artéria coronária, para a promoção do infarto do miocárdio.

A perda de peso após a oclusão da artéria coronária pode ser indicativo de desenvolvimento de insuficiência cardíaca aguda (IC) após infarto, podendo ser utilizada como ferramenta não invasiva para estimar o desenvolvimento de IC após infarto (Faria e cols., 2011).

Apesar dos resultados isolados de perda de peso ponderal não serem suficientes para sugerir a ocorrência de insuficiência cardíaca, a avaliação dos parâmetros funcionais após o infarto sugerem que tanto o grupo Frutose IM, quanto o grupo Controle IM deram início ao desenvolvimento de IC, justificada pelo aumento da PDVEf.

No processo de remodelamento cardíaco, iniciado em resposta ao dano provocado pela isquemia, há hipertrofia de cardiomiócitos, aumento do ventrículo esquerdo e do acúmulo de colágeno em áreas próximas a região do infarto, provocando prejuízo na contração cardíaca e posterior IC (Pfeffer e Braunwald, 1990; Sutton e Sharpe, 2000). Como consequência há redução do débito cardíaco e aumento da PDVEf (Parmley, 1985; Teerlink e cols, 1994; Fraccarollo e cols, 2008).

É esperado que no infarto haja redução da pressão arterial sistólica (Packer, 1992; Lanfranchi e cols, 2002), esse resultado foi encontrado em nosso estudo. Os grupos submetidos à cirurgia de infarto apresentaram menor PAS, quando comparados aos grupos submetidos à cirurgia fictícia.

Não foi observada diferença de PAS entre os grupos submetidos à cirurgia fictícia. No entanto, há diferença na PAS dos animais infartados, o grupo Frutose IM teve menor redução da pressão arterial sistólica quando comparado com o grupo Controle IM, assim como também apresentou aumento da PSVE, quando comparado ao grupo Controle IM e Sham Frutose.

O aumento da pressão arterial é encontrado em estudos que investigaram os efeitos da dieta rica em frutose (Nguyen, 2009; Perez-Pozo, 2010; Jalal, 2010; Endo, 2014). No entanto, em nossos resultados não foi evidenciada hipertensão – autores que avaliaram alterações de pressão arterial em animais tratados com dieta crônica de frutose, com um período semelhante ao avaliado em nosso estudo, corroboram nossos achados, visto não terem encontrado quadro de hipertensão nos animais submetidos à dieta (Bezerra e cols, 2001, D'angelo e cols, 2005, Lirio e cols.; 2015).

Vários mecanismos podem explicar o valor aumentado da PAS e PSVE do grupo Frutose IM, quando comparado ao grupo Controle IM. A hiperestimulação da atividade simpática característica do infarto do miocárdio (Mann e Bristow, 2005; Karakas e cols, 2013), somado a redução da sensibilidade do barorreflexo e aumento da atividade simpática induzidos pela ingestão crônica de frutose (DeAngelis e cols, 2012). O aumento dos níveis circulantes de catecolaminas (Tran e cols, 2014), aumento da atividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona estimulado pela ingestão de frutose

(Kobayashi e cols, 1993), o aumento dos níveis de ácido úrico (Perez-Pozo, 2010) e disfunção endotelial (Cai, 2018).

O mecanismo de alteração da PA induzida pela ingestão crônica de frutose ainda não está bem estabelecido, há evidências de que a dieta rica em frutose estimula o sistema nervoso simpático, elevando a pressão arterial (Jalal e cols, 2010) e provoca disfunção endotelial, ocasionando aumento da PA (White, 2013).

Estudos epidemiológicos evidenciam a participação da ingestão inadequada de frutose no aumento da pressão arterial (Nguyen e cols, 2009; Jalal e cols, 2010), sendo o desenvolvimento em adultos independente de histórico familiar de hipertensão (Foss e cols, 2001). Em estudo prévio foi relatado que a ingestão crônica de frutose em indivíduos saudáveis aumenta significativamente a frequência cardíaca, pressão arterial, variabilidade da pressão arterial e reduz a sensibilidade barorreflexa (La Rovere e cols, 2002).

Os prejuízos relatados associados ao consumo excessivo de frutose são preditores de mortalidade por doença cardiovascular (Montano e cols, 2009; Alberti e cols, 2006). Além disso, estudos evidenciaram que o consumo de uma dieta rica em frutose pode induzir disfunção do sistema nervoso em modelos experimentais (Brito e cols, 2008; Cunha e cols, 2007; Suzuki e cols, 1997; De Angelis e cols, 2012).

Quando há disfunção do sistema nervoso autônomo, como no caso IM e diabetes, é possível observar o aumento das oscilações dos valores da pressão e subsequentemente a VPA, em virtude da redução informação aferente dos barorreceptores arteriais para o tronco encefálico, e por consequência prejudicando o ajuste momento a momento da pressão arterial (Curi e Procópio, 2009; Mancia e Grassi, 2000).

A redução da sensibilidade do sistema barorreflexo permite aumento da estimulação simpática, quando há queda da PA, e o sistema nervoso periférico perde a capacidade de regular adequadamente o tônus vasomotor (Curi e Procópio, 2009; Mancia e Grassi, 2000). A VPA é tida como um preditor de risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Parati et al., 2012; Hata et al., 2006).

Nossos dados não apontaram diferenças significativas na variabilidade da pressão arterial relacionados ao consumo de frutose, encontramos a redução da VPA apenas nos animais do grupo Controle IM quando comparados ao grupo Sham Controle. No grupo Frutose IM a VPA permanece aumentada quando comparamos com o grupo Controle IM. Sugerindo que há aumento da estimulação simpática nos animais tratados com frutose.

Foi observada redução na variância R-R, que é tida como indicador da redução da variabilidade da frequência cardíaca, que por sua vez, é indicador de prognóstico de algumas doenças cardiovasculares, como infarto do miocárdio (Task, 1996). A redução da VFC é esperada após infarto do miocárdio, em virtude do desbalanceamento do controle simpático-parassimpático que ocorre na fase aguda do infarto do miocárdio (Aires, 2015), outros estudos que avaliaram alteração na modulação autonômica no infarto do miocárdio corroboram nossos achados (Aires, 2015; Kuch e cols, 2004; Casolo e cols, 1992).

É conhecido o aumento da atividade simpática com a redução da resposta vagal, no infarto do miocárdio (Nolan e cols, 1992; Aires, 2015), que pode explicar a redução da variância R-R em animais infartados (Aires, 2015; Montano e cols, 2009). Além disso, em animais tratados com frutose essa redução da VFC pode ser potencializada em virtude da atenuação do barorreflexo e aumento da atividade simpática promovidos pela ingestão crônica de frutose (DeAngelis, 2012). Contudo é importante salientar que os mecanismos das alterações cardiovasculares produzidas pela ingestão excessiva de frutose ainda não estão bem elucidados (Bouchard-Thomassim e cols, 2011).

A hiperatividade do sistema simpático tem efeito conhecido de possuir uma atividade lipogênica aumentada (Cabral e cols, 2014). Estudos prévios relataram o aumento de deposição de gordura corporal em animais submetidos a dietas ricas em frutose (Thomassim e cols, 2011; Lirio e cols, 2015). A frutose é precursora de gorduras e seu consumo em excesso leva a formação exacerbada de acetil-CoA, que por consequência aumenta a biossíntese de

ácidos graxos (Rizkalla, 2010). Como já descrito, depois de metabolizada no fígado a frutose gera dois compostos que podem seguir três vias distintas, dando origem a piruvato, glicose ou glicogênio e glicerol, importante para a síntese de triglicerídeos (Bruce e Byrne, 2009).

O metabolismo da frutose no fígado tem início com sua rápida conversão em frutose-1-fosfato, mediada pela enzima frutoquinase, sendo livre de feedbacks negativos (Johnson e cols., 2013). A frutoquinase é existente em duas isoformas – a tipo A, distribuída em compartimentos extra-hepáticos e com maior afinidade pela frutose e a tipo C, encontrada no fígado e responsável pela rápida disponibilização de frutose na circulação (Ishimoto e cols., 2012).

Posteriormente a frutose-1-fosfato é clivada em d-gliceraldeído e dihidroxiacetona, podendo assumir 3 vias distintas, tendo como produto o piruvato, glicerol ou glicose (Dai e McNeill, 1995), sendo responsáveis pela produção descontrolada de glicose e triglicerídeos (Feinman e Fine, 2013). A via glicolítica que permite a formação de acetil-CoA, a partir do glicerol, é livre do controle da insulina, promovendo lipogênese e formação de triglicerídeos (Lê e cols., 2009), intolerância à glicose e resistência à insulina (Haber e cols, 2001).

Os índices de triglicerídeos também se apresentaram aumentados nos animais do grupo tratados com solução de frutose, outros estudos já demonstraram que o tratamento com frutose promove alteração no perfil lipídico dos animais submetidos ao tratamento (Lirio e cols, 2015; Lê e cols, 2006; Lê e cols, 2009; Dhingra e cols, 2007). Quando existem baixas concentrações de frutose no intestino, uma quantidade importante é convertida em glicose nos enterócitos (Bismut e cols., 1993), contudo, quando há aumento da concentração de frutose, para além de 1mM, a conversão em glicose no intestino não é suficiente, sendo direcionada para a circulação e posterior metabolismo no fígado (Schaefer e cols., 2009).

A ingestão excessiva de frutose é conhecida por promover desordens metabólicas e cardiovasculares, progressivas, promovendo resistência à insulina (Abdulla e cols, 2011). Contudo, o curso temporal para a promoção das

alterações ocasionadas pela frutose ainda não é bem estabelecido e parece estar relacionado com o período e quantidade de ingestão.

No fígado a frutose é metabolizada, estimula a produção de glicogênio (Petersen e cols., 2001) contribuindo para o aumento da produção de acetil-CoA e triglicerídeos (Feinman e Fine, 2013). A frutose, metabolizada no fígado, é fosforilada em fosfofrutose, por meio da hidrólise de ATP em AMP e ácido úrico (Kurtz e cols., 1986), que quando elevado mostrou estar associado ao desenvolvimento de resistência à insulina (Zhang e cols., 2017).

Estudos demonstram que a partir da sexta semana de tratamento com frutose já é possível observar alterações metabólicas como redução à tolerância a glicose, desenvolvimento de resistência à insulina, alteração nos níveis de triglicerídeos circulante (Lirio e cols., 2015; Axelsen e cols., 2010). Alterações na pressão arterial são posteriores às alterações metabólicas e foram observadas em estudos que submeteram animais à dieta rica com frutose a partir da oitava semana de tratamento (Cheng e cols., 2014; Sánchez-Lozada e cols., 2007).

Os parâmetros glicêmicos dos animais tratados com frutose, nesse estudo, também se apresentaram alterados, mantidos mesmo após a retirada da solução de frutose. Foram observados o aumento da glicemia em jejum e o estabelecimento de resistência à insulina, avaliado a partir do teste de tolerância a glicose e do teste de sensibilidade à insulina.

É bem estabelecido, segundo dados apresentados em outros estudos (Souza, 2017; Tappy e Le, 2010; Lirio e cols, 2015), e corroborados por outros trabalhos (Bray, 2007; Stanhope, 2015) que esclareceram que o metabolismo da frutose, que ocorre majoritariamente no fígado, tem a capacidade de promover lipogênese, alterar níveis de triglicerídeo, promover resistência insulínica e, por consequência, estimular desenvolvimento da síndrome metabólica, que é caracterizada pela reunião de três dos cinco agravos: resistência à insulina, aumento de glicemia em jejum, obesidade, aumento dos níveis de triglicerídeos e hipertensão arterial.

É importante salientar que existem evidências de que o desenvolvimento de uma série de doenças, incluindo o IM, é favorecido pela sobrecarga simpática,

resultando em disfunção endotelial, dislipidemias, resistência à insulina e estresse oxidativo (Hellstrom, 2007)

Evidenciamos em nossos resultados alterações na produção das espécies reativas de oxigênio - peroxinitrito hidroxila, óxido nítrico, peróxido de hidrogênio e ânion superóxido – quando comparados os grupos Frutose IM e Controle IM. Os resultados encontrados em nosso estudo sugerem que há estresse oxidativo nos animais do grupo Frutose IM.

A angiotensina II é considerada com importante mediador do estresse oxidativo vascular, sendo importante ativadora da NADPH oxidase, que por sua vez, atua no estímulo a produção de ânion superóxido (Griendling e cols, 1994). Estudos prévios evidenciam o aumento da produção de Angio II e aldosterona (Farah e cols, 2006) e nos receptores e concentrações plasmáticas de Angio II (Hsieh, 2005; Katovich e cols, 2001; Kamide e cols, 2002) em animais submetidos a dieta rica em frutose.

Um estudo prévio realizado por Pereira (2017), evidenciou redução da contração e aumento do relaxamento de artéria de ratos tratados com frutose, quando incubadas com superóxido dismutase, enzima responsável pela conversão de ânion superóxido em peróxido de hidrogênio e água (Pereira, 2017), sugerindo o aumento na produção de ânion superóxido, dado também encontrado em nossos resultados.

A formação de peróxido de hidrogênio pode ocorrer a partir do ânion superóxido, mediada pela superóxido dismutase (Satoh e cols., 2014), sendo mais estável e exercendo importantes funções fisiológicas (Loperena e Harrison, 2017). Tem sido discutido que o peróxido de hidrogênio estimula a produção de espécies reativas de nitrogênio, melhorando vasodilatação (Pereira, 2017).

No entanto, outros estudos sugerem que o H_2O_2 estimulam o desacoplamento das espécies reativas de nitrogênio e ativam a NADPH oxidase (Cai, 2005; Li e cols., 2001), aumentando a produção de ânion superóxido e por consequência a resposta contrátil dos vasos (Pereira, 2017).

É bem estabelecido que no infarto existe aumento da atividade do sistema antioxidante, em tentativa de reduzir os danos teciduais provocados pelo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, decorrentes da lesão isquêmica (Dröge, 2002), assim como, já foi evidenciado em outros estudos que o tratamento com frutose é capaz de aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (Porto e cols, 2015).

É bem estabelecido o efeito deletério do estresse oxidativo (Poulsen e cols, 1998; Valko e cols., 2004). Em eventos isquêmicos, como o IM, a reperusão sanguínea é acompanhada do aumento exagerado da produção de espécies reativas de oxigênio, que por sua vez, aceleram a morte celular por apoptose e necrose (Francischetti e cols, 2010; Silveira e Procianoy, 2005). As EROS são capazes de influenciar em diversos componentes do sistema cardíaco: função contrátil, fibrose intersticial, disfunção endotelial e hipertrofia de cardiomiócitos (Costa, 2018).

Existem evidências clínicas e experimentais de que há participação do estresse oxidativo no remodelamento cardíaco e progressão da IC (Costa, 2018; Giordano, 2005). Marcadores de estresse oxidativo se apresentam elevados em pacientes com IC e se correlacionam com a disfunção cardíaca (McMurray e cols, 1993; Mallat e cols, 1998; Valgimigli e cols, 2004). As vias de sinalização do estresse oxidativo estão envolvidas no desenvolvimento de hipertrofia ventricular e apoptose de cardiomiócitos (Filomeni e Ciriolo, 2006; Heineke e Molkentin, 2006; Berk e cols, 2007).

Nossos dados sugerem que o consumo prévio de frutose promove estresse oxidativo nos animais infartados, evidenciado pelo aumento da produção de espécies reativas do oxigênio (EROS) - peróxido de hidrogênio e ânion superóxido - e promove necessidade de ativação da atividade antioxidante, evidenciado pelo aumento dos níveis de óxido nítrico e redução dos níveis de peroxinitrito hidroxila.

6 CONCLUSÃO

Em virtude do que foi apresentado em nosso estudo e a partir da análise dos resultados obtidos é possível concluir que a dieta crônica com solução frutose 10%, por sete semanas, é suficiente para promover resistência à insulina, aumento dos níveis de triglicerídeos e aumento dos níveis glicêmicos, sustentados após 7 dias de infarto do miocárdio.

Além disso, redução da variância R-R e aumento da formação de espécies reativas de oxigênio, aumento da PDVEf e perda de peso ponderal, nos animais tratados com frutose, quando comparados aos do grupo controle, sugerindo pior adaptação do músculo cardíaco ao IM.

Dessa forma, podemos confirmar nossa hipótese como verdadeira, que considera que o consumo elevado de frutose por um longo período em animais normotensos interfere nos parâmetros hemodinâmicos, metabólicos e bioquímicos, após infarto do miocárdio, sugerindo prejuízo na adaptação do músculo cardíaco ao infarto do miocárdio.

REFERÊNCIAS

- ABDULLA, M. H., SATTAR, M. A., & JOHNS, E. J. (2011). The Relation between Fructose-Induced Metabolic Syndrome and Altered Renal Haemodynamic and Excretory Function in the Rat. *International Journal of Nephrology*, 2011, 1–17.
- AIRES, RAFAELA (2015) - Curso Temporal das Alterações da Variabilidade da Frequência Cardíaca e da Pressão Arterial após Infarto do Miocárdio em Ratos [Vitória] 2015 72 p., 29,7cm (UFES, M. SC., Ciências Fisiológicas).
- ALBERTI, K., P. ZIMMET AND J. SHAW (2006). Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation." *Diabetic Medicine* 23(5): 469-480.
- ANKER SD, SHARMA R (2002) - The syndrome of cardiac cachexia. *Int J Cardiol.*; 85:51e66.
- AXELSEN, L.N., LADEMANN, J.B., PETERSEN, J.S., RATTHLOU, N.H.H., PLOUG, T., PRATS, C., PEDERSEN, H.D., KJOUBYE, A.L (2010) - Cardiac and metabolic changes in long-term high fructose-fat fed rats with severe obesity and extensive intramyocardial lipid accumulation. *American Journal Physiology*, v. 298, p. 560-570.
- BAI Y, SIU KL, ASHRAF S, FAES L, NOLLO G, CHON KH (2008) - Nonlinear coupling is absent in acute myocardial patients but not healthy subjects. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 295: H578-H586.
- BARBOSA, K. B. F., COSTA, N. M. B., ALFENAS, R. DE C. G., DE PAULA, S. O., MINIM, V. P. R., & BRESSAN, J. (2010). Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição*, 23(4), 629–643.
- BASCIANO, H.; FEDERICO, L.; ADELI, K (2005) - Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab.* v. 1, n. 5, p. 21-22.
- BERK, B.C., FUJIWARA, K. & LEHOUX, S. (2007) ECM remodeling in hypertensive heart disease. *J. Clin. Invest.* 117, 568–575.
- BERNARD K, KRAUSE KH (2007) - The NOX family of ROSgenerating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.*; 87(1):245-313.

BEZERRA R.M., M. UENO, M.S. SILVA, D.Q. TAVARES, C.R. CARVALHO, M.J. SAAD (2000) - A high fructose diet affects the early steps of insulin action in muscle and liver of rats, *J. Nutr.* 130; 1531–1535.

BEZERRA, R. M. N.; UENO, M.; SILVA, M. S.; TAVARES, D. Q.; CARVALHO, C.R.O.; SAAD, M. J. A.; GONTIJO, J. A. R (2001) - A high-fructose diet induces insulin resistance but not blood pressure changes in normotensive rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, Ribeirão Preto, v. 34, n. 9, p. 1155-1160.

BIANCHI MLP, ANTUNES LMG (1999) - Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev Nutr.*; 12(12):123-30.

BISMUT H., HERS H.-G, SCHAFTINGEN E. VAN (1993) - Conversion of fructose to glucose in the rabbit small intestine: a reappraisal of the direct pathway *Eur. J. Biochem.*, 213, pp. 721-726

BOUCHARD-THOMASSIM AA., LACHANCE D., DROLET MC., COUET J., ARSENAULT M (2011) - A high-fructose diet worsens eccentric left ventricular hypertrophy in experimental volume overload. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, p. 125-134.

BRASIL. Ministério da Saúde (2019). *Saúde Brasil 2018: uma análise de situação de saúde e das doenças e agravos crônicos: desafios e perspectivas*. Brasília.

BRAY GA (2007) - How bad is fructose? *Am J Clin Nutr*, 86:895–896.

BRITO, J. O., K. PONCIANO, D. FIGUEROA, N. BERNARDES, I. C. SANCHES, M. C. IRIGOYEN AND K. DE ANGELIS (2008). "Parasympathetic dysfunction is associated with insulin resistance in fructose-fed female rats." *Braz J Med Biol Res* 41(9): 804-808.

BROWN I.J., J. STAMLER, L. VAN HORN, C.E. ROBERTSON, Q. CHAN, A.R. DYER, C.C. HUANG, B.L. RODRIGUEZ, L. ZHAO, M.L. DAVIGLUS, H. UESHIMA, P. ELLIOTT (2011) - Sugarsweetened beverage, sugar intake of individuals, and their blood pressure: international study of macro/micronutrients and blood pressure, *Hypertension* 57; 695–701.

BRUCE KD, BYRNE CD (2009) - The metabolic syndrome: common origins of a multifactorial disorder. *Postgraduate Medical Journal.*; 85(1009):614.

CABRAL PD, HONG NJ, HYE KHAN MA, ORTIZ PA, BEIERWALTES WH, IMIG JD (2014) - Fructose stimulates Na/H exchange activity and sensitizes the proximal tubule to angiotensin II. *Hypertension*; Mar;63(3):e68-73.

CAI W., J. LI, J. SHI, B. YANG, J. TANG, H. TRUBY, D. LI (2018) - Acute metabolic and endocrine responses induced by glucose and fructose in healthy young subjects: a double-blinded, randomized, crossover trial, *Clin. Nutr.* 37; 459–470.

CAI, H (2005) - Hydrogen peroxide regulation of endothelial function: Origins, mechanisms, and consequences. *Cardiovascular Research*, v. 68, n. 1, p. 26–36, 1 out.

CAMM, A. J., CRAIG M. PRATT, MD; PETER J. SCHWARTZ, MD; HUSSEIN R. AL-KHALIDI, PHD; MARIA J. SPYT, MD; MICHAEL J. HOLROYDE, PHD; ROGER KARAM, MD; EDMUND H. SONNENBLICK, MD; JOSE M.G. BRUM, MD (2004). *Mortality in Patients After a Recent Myocardial Infarction: A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Azimilide Using Heart Rate Variability for Risk Stratification. Circulation*, 109(8), 990–996.

CASOLO GC, STRODER P, SIGNORINI C, CALLZOLARI F, ZUCCHINI M, BALLI E, SULLA A, LAZZERINI S (1992) - Heart rate variability during the acute phase of myocardial infarction. *Circ.*; 85:2073-2079.

CHENG SM., CHENG YJ., WU LY., KUO CH., LEE YS., WU MC., HUANG CY., TING H., LEE SD (2014) - Activated apoptotic and anti-survival effects on rat hearts with fructose induced metabolic syndrome. *Cell Biochemistry and Function*; 32, p. 133-141.

CHOU C.L., H. LIN, J.S. CHEN, T.C. FANG (2017) - Renin inhibition improves metabolic syndrome, and reduces angiotensin II levels and oxidative stress in visceral fat tissues in fructose-fed rats, *PLoS One* 12.

COSTA, CÉSAR RAFAEL MARINS (2018) - Avaliação do Tratamento com N-acetilcisteína no Infarto do Miocárdio Experimental em Ratas Wistar -

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Pós Graduação em Ciências Fisiológicas.

CUNHA, T. S., V. FARAH, J. PAULINI, M. PAZZINE, K. M. ELASED, F. K. MARCONDES, M. CLAUDIA IRIGOYEN, K. DE ANGELIS, L. D. MIRKIN AND M. MORRIS (2007). "Relationship between renal and cardiovascular changes in a murine model of glucose intolerance." *Regul Pept* 139(1-3): 1-4.

CURI R, PROCOPIO J (2009) – Fisiologia Básica – Guanabara Koogan, v1 882p.

D'ANGELIS, K., SENADOR, D. D., MOSTARDA, C., IRIGOYEN, M. C., & MORRIS, M. (2012). Sympathetic overactivity precedes metabolic dysfunction in a fructose model of glucose intolerance in mice. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 302(8), R950–R957.

D'ANGELO, G., ELMARAKBY, A. A., POLLOCK, D. M., STEPP, D. W. (2005). Fructose Feeding Increases Insulin Resistance but Not Blood Pressure in Sprague-Dawley Rats. *Hypertension*, 46(4), 806–811.

DAI S, MCNEILL JH (1995) - Fructose-induced hypertension in rats is concentration- and duration-dependent. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 33: 101–107.

DANTAS EM, SANT'ANNA ML, ANDREA RV, GONCALVES CP, MORRA EA, BALDO MP (2011) - Spectral analysis of heart rate variability with the autoregressive method: What model order to choose? *Comput Biol Med*, Dec 1.

DANTAS, E.M (2012) - Efeitos do tratamento crônico com diferentes doses de carvedilol sobre a variabilidade de frequência cardíaca e de pressão arterial de ratos infartados. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO.

DHINGRA, R., SULLIVAN, L., JACQUES, P. F., WANG, T. J., FOX, C. S., MEIGS, J. B., VASAN, R. S. (2007). Soft Drink Consumption and Risk of Developing Cardiometabolic Risk Factors and the Metabolic Syndrome in Middle-Aged Adults in the Community. *Circulation*, 116(5), 480–488.

- DORNAS W.C., LIMA W.G. DE, PEDROSA M.L., SILVA M.E. (2015) - Health implications of highfructose intake and current research, *Adv. Nutr.* 6; 729–737.
- DOUARD, V., FERRARIS, R. P. (2013). The role of fructose transporters in diseases linked to excessive fructose intake. *The Journal of Physiology*, 591(2), 401–414.
- DRÖGE W (2002) - Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, v.82, n.1, p.47-95.
- ENDO M.Y., FUJIHARA, C. YAMAZAKI, H. KASHIMA, K. EGUCHI, A. MIURA, Y. FUKUOKA, Y. FUKUBA (2014) - Acute responses of regional vascular conductance to oral ingestion of fructose in healthy young humans, *J. Physiol. Anthropol.* 33; 11.
- ERICKSON, B.; SPERBER, K.; FRISHMAN, W. H. (2008) - Toll-like receptors: new therapeutic targets for the treatment of atherosclerosis, acute coronary syndromes, and myocardial failure. *Cardiol Rev*, v. 16, n. 6, p. 273-9, Nov-Dec.
- FARAH, V., ELASED, K. M., CHEN, Y., KEY, M. P., CUNHA, T. S., IRIGOYEN, M. C., & MORRIS, M. (2006). Nocturnal hypertension in mice consuming a high fructose diet. *Autonomic Neuroscience*, 130(1-2), 41–50.
- FARIA, T. DE O., BALDO, M. P., SIMÕES, M. R., PEREIRA, R. B., MILL, J. G., VASSALLO, D. V., & STEFANON, I. (2011). Body Weight Loss After Myocardial Infarction in Rats as a Marker of Early Heart Failure Development. *Archives of Medical Research*, 42(4), 274–280.
- FEINMAN R.D., FINE E.J. (2013) - Fructose in perspective, *Nutr. Metab.* 10; 45.
- FERRARIS R.P., CHOYE, C.R. PATEL (2018) - Intestinal absorption of fructose, *Annu. Rev. Nutr.* 38; 41–67
- FERREIRA ALA, MATSUBARA LS (1997) - Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *RAMB*; 43(1):61-8.
- FILOMENI, G., CIRIOLO, M. R. (2006). Redox Control of Apoptosis: An Update. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8(11-12), 2187–2192.
- FORECHI, L. (2015) - Efeitos no remodelamento ventricular esquerdo por dietas com diferentes teores de sódio após o infarto do miocárdio em ratos

normotensos e hipertensos. Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas, UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO.

FOSS, M. C. ; FOSS, N. T. (2001) - Efeito do controle metabólico nas interações imunocelulares no diabetes mellitus do tipo 2. In: XIII Congresso Brasileiro de Diabetes, Rio de Janeiro. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, 2001. v. 45. p. S552-S593.

FRACCAROLLO, D., WIDDER, J. D., GALUPPO, P., THUM, T., TSIKAS, D., HOFFMANN, M. BAUERSACHS, J. (2008). Improvement in Left Ventricular Remodeling by the Endothelial Nitric Oxide Synthase Enhancer AVE9488 After Experimental Myocardial Infarction. *Circulation*, 118(8), 818–827.

FRANCISCHETTI, I., MORENO, J. B., SCHOLZ, M., & YOSHIDA, W. B. (2010). Os leucócitos e a resposta inflamatória na lesão de isquemia-reperusão. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*, 25(4), 575–584.

FRANGOIANNIS, N. G. (2006). The Mechanistic Basis of Infarct Healing. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8(11-12), 1907–1939.

GASPERS, L. D., THOMAS, A. P., DOUARD, V., & FERRARIS, R. P. (2010) Mechanisms Underlying Fructose-Induced Oxidative Stress in the Cytosol and Mitochondria. *Biophysical Journal*, 98(3), 377a.

GIANI J.F., M.A. MAYER, M.C. MUÑOZ, E.A. SILBERMAN, C. HÖCHT, C.A. TAIRA, M.M. GIRONACCI, D. TURYN F.P. DOMINICI (2009) - Chronic infusion of angiotensin-(1-7) improves insulin resistance and hypertension induced by a high-fructose diet in rats, *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 296; E262–E271.

GIORDANO, F. J (2005) - Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *Journal of Clinical Investigation*, v. 115, n. 3, p. 500–508.

GRASSI, G., SERAVALLE, G., QUARTI-TREVANO, F., DELL'ORO, R., ARENARE, F., SPAZIANI, D., & MANCIA, G. (2009). Sympathetic and Baroreflex Cardiovascular Control in Hypertension-Related Left Ventricular Dysfunction. *Hypertension*, 53(2), 205–209.

GREEN K, BRAND MD, MURPHY MP (2004) - Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*; 53(Suppl 1): 110-8.

- GRIENDLING, K. K., MINIERI, C. A., OLLERENSHAW, J. D., & ALEXANDER, R. W. (1994). Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circulation Research*, 74(6), 1141–1148.
- HABER, E. P., CURI, R., CARVALHO, C. R. O., & CARPINELLI, A. R. (2001). Secreção da insulina: efeito autócrino da insulina e modulação por ácidos graxos. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 45(3), 219–227.
- HAGMAN, E., BESOR, O., HERSHKOP, K., SANTORO, N., PIERPONT, B., MATA, M., ... WEISS, R. (2019). Relation of the degree of obesity in childhood to adipose tissue insulin resistance. *Acta Diabetologica*.
- HALLFRISCH J – (1990). Metabolic effects of dietary fructose. *FASEB J.*; 4(9):2652-60.
- HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC (1999) - Free radicals in biology and medicine. 3.ed. New York: Oxford University Press, 936p.
- HATA I, KAJI M, HIRANO S, SHIGEMATSU Y, TSUKAHARA H, MAYUMI M (2006) - Urinary oxidative stress markers in young patients with type 1 diabetes. *Pediatr Int.*;48(1):58-61.
- HEIMBURGER RF (1946) - Injection into pericardial sac and ligation of coronary artery of the rat. *Arch Surg*; 52:677–689.
- HEINEKE J.; MOLKENTIN, J. D (2006) - Regulation of cardiac hypertrophy by intracellular signalling pathways. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 7, p. 589-600.
- HELLSTROM, H. R (2007) - The altered homeostatic theory: A hypothesis proposed to be useful in understanding and preventing ischemic heart disease, hypertension, and diabetes--including reducing the risk of age and atherosclerosis. *Med Hypotheses*, v.68, n.2, p.415-33.
- HORI, M.; NISHIDA, K (2009) - Oxidative stress and left ventricular remodelling after myocardial infarction. *Cardiovasc Res*, v. 81, n. 3, p. 457-64, Feb 15.
- HSIEH, P. S. (2005) Reversal of fructose-induced hypertension and insulin resistance by chronic losartan treatment is independent of AT2 receptor activation in rats." *J Hypertens* 23(12): 2209-2217.

ISHIMOTO T., LANASPA M.A., LE M.P.T., GARCIA G.E., DIGGLE C.P., MACLEAN P.S, JACKMAN M.R., ASIPU A., RONCAL-JIMENEZ C.A., KOSUGIA T., RIVARDA C.J., MARUYAMAD RODRIGUEZ-ITURBE S., B., SÁNCHEZ-LOZADA L.G., BONTHRON D.T., SAUTING Y.Y., JOHNSON R.J. (2012) - Opposing effects of fructokinase C and a isoforms on fructose-induced metabolic syndrome in mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109; 4320–4325.

ISO - INTERNATIONAL SUGAR ORGANIZATION (2008). *Sugar Year Book 2008*. London.

JALAL DI, SMITS G, JOHNSON RJ, CHONCHOL M. (2010) - Increased fructose associates with elevated blood pressure. *Journal of the American Society of Nephrology*; 21(9):1543-9.

JENKINS RR (1998) - Free radical chemistry relationship to exercise. *Sports Med*; 5: 156-70.

JOHNS TNP, OLSON BJ (1954) - Experimental myocardial infarction: method of coronary occlusion in small animals. *Ann Surg*, 140:675–682.

JOHNSON R.J., T. NAKAGAWA, L.G. SANCHEZ-LOZADA, M. SHAFIU, S. SUNDARAM, M. LE, T. ISHIMOTO, Y.Y. SAUTIN, M.A. LANASPA (2013) - Sugar, uric acid, and the etiology of diabetes and obesity, *Diabetes* 62; 3307–3315.

JONES CM, QUINN MS, MINISI, AJ (2008) - Reflex control of sympathetic outflow and depressed baroreflex sensitivity following myocardial infarction. *Auton Neurosci.* 141; 46–53

KAMIDE K., RAKUGI H., HIGAKI J., OKAMURA A., NAGAI M., MORIGUCHI K. (2002) - The renin-angiotensin and adrenergic nervous system in cardiac hypertrophy in fructose-fed rats. *American Journal of Hypertension*;15:66-71.

KANG, D. H., PARK, S. K., LEE, I. K., AND JOHNSON, R. J. (2005) Uric acidinduced C-reactive protein expression. Implication on cell proliferation and nitric oxide production of human vascular cells. *J. Am. Soc. Nephrol.* 16, 3553–3562

KARAKAS M, KOENING W (2013) - Sympathetic nervous system. A crucial player modulating residual cardiovascular risk. *Circ Res.*; 112:13-16.

KATOVICH M. J., REAVES P. Y., FRANCIS S. C., PACHORI A. S., WANG H. W., RAIZADA M. K (2001) - Gene therapy attenuates the elevated blood pressure and glucose intolerance in an insulin-resistant model of hypertension. *Journal of Hypertension*; 19:1553-8.

KENNEDY, L. M. A., DICKSTEIN, K., ANKER, S. D., JAMES, M., COOK, T. J., KRISTIANSON, K., & WILLENHEIMER, R. (2006). Weight-change as a prognostic marker in 12 550 patients following acute myocardial infarction or with stable coronary artery disease. *European Heart Journal*, 27(23), 2755–2762.

KLEIN A.V., KIAT H. (2015) - The mechanisms underlying fructose-induced hypertension: a review, *J. Hypertens.* 33; 912–920.

KOBAYASHI, R., NAGANO, M., NAKAMURA, F., HIGAKI, J., FUJIOKA, Y., IKEGAMI, H., Ogiwara, T. (1993). Role of angiotensin II in high fructose-induced left ventricular hypertrophy in rats. *Hypertension*, 21(6_Pt_2), 1051–1055.

KOURY JC, DONANGELO CM. ZINCO (2003) - Estresse oxidativo e atividade física. *Rev Nutr.*; 16(4):433-41.

KUCH B, PARVANOV T, HENSE HW, AXMANN J, BOLTE HD (2004) - Short-Period heart rate variability in the general population as compared to patients with acute myocardial infarction from the same source population. *A.N.E.*; 9(2):113– 120.

KURTZ T.W., P.M. KABRA, B.E. BOOTH, H.A. AL-BANDER, A.A. PORTALE, B.G. SERENA, H.C. TSAI, R.C. MORRIS (1986) - Liquid-chromatographic measurements of inosine, hypoxanthine, and xanthine in studies of fructose-induced degradation of adenine nucleotides in humans and rats, *Clin. Chem.* 32; 782–786.

LA ROVERE, M. T., BERSANO, C., GNEMMI, M., SPECCHIA, G., & SCHWARTZ, P. J. (2002). Exercise-Induced Increase in Baroreflex Sensitivity Predicts Improved Prognosis After Myocardial Infarction. *Circulation*, 106(8), 945–949.

LANASPA, M. A., SANCHEZ-LOZADA, L. G., CHOI, Y.-J., CICERCHI, C., KANBAY, M., RONCAL-JIMENEZ, C. A., ... JOHNSON, R. J. (2012). Uric Acid

Induces Hepatic Steatosis by Generation of Mitochondrial Oxidative Stress. *Journal of Biological Chemistry*, 287(48), 40732–40744.

LANFRANCHI PA, SOMERS VK (2002) - Arterial baroreflex function and cardiovascular variability: interactions and implications. *Am J Physiol Regul Integr Comp. Physiol* 283:R815-R826.

LÊ K.A., ITH M., KREIS R., FAEH D., BORTOLOTTI M., TRAN C., BOESCH C., TAPPY L. (2009) - Fructose overconsumption causes dyslipidemia and ectopic lipid deposition in healthy subjects with and without a family history of type 2 diabetes, *Am. J. Clin. Nutr.* 89; 1760–1765

LÊ, K.-A., FAEH, D., STETTLER, R., ITH, M., KREIS, R., VERMATHEN, P., TAPPY, L. (2006). A 4-wk high-fructose diet alters lipid metabolism without affecting insulin sensitivity or ectopic lipids in healthy humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(6), 1374–1379.

LELIS, D. DE F., ANDRADE, J. M. O., ALMENARA, C. C. P., BROSEGUINI-FILHO, G. B., MILL, J. G., & BALDO, M. P. (2020). High fructose intake and the route towards cardiometabolic diseases. *Life Sciences*, 118235.

LI, W.-G., MILLER, F. J., ZHANG, H. J., SPITZ, D. R., OBERLEY, L. W., & WEINTRAUB, N. L. (2001). *H₂O₂-induced O₂-2Production by a Non-phagocytic NAD(P)H Oxidase Causes Oxidant Injury. Journal of Biological Chemistry*, 276(31), 29251–29256.

LICHT FO (Editor) – (2005). *International Sugar Economic Yearbook and Directory*. Turnbridge Wells, UK: Agna Informa,

LÍRIO, L. M., FORECHI, L., ZANARDO, T. C., BATISTA, H. M., MEIRA, E. F., NOGUEIRA, B. V., BALDO, M. P. (2015). Chronic fructose intake accelerates non-alcoholic fatty liver disease in the presence of essential hypertension. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 30(1), 85 92.

LOMBARDI F, MORTARA A (1998) - Heart rate variability and cardiac failure. *Heart*; 80:213–214.

LOPERENA, R.; HARRISON, D. G (2017) - Oxidative Stress and Hypertensive Diseases. *Medical Clinics of North America*, v. 101, n. 1, p. 169–193, jan.

LOPEZ-JIMENEZ, F., WU, C. O., TIAN, X., O'CONNOR, C., RICH, M. W., BURG, M. M., JAFFE, A. S. (2008). Weight Change after Myocardial Infarction—the Enhancing Recovery in Coronary Heart Disease patients (ENRICHD) Experience. *American Heart Journal*, 155(3), 478–484.

MALLAT, Z., PHILIP, I., LEBRET, M., CHATEL, D., MACLOUF, J., & TEDGUI, A. (1998). Elevated Levels of 8-iso-Prostaglandin F₂ in Pericardial Fluid of Patients With Heart Failure: A Potential Role for In Vivo Oxidant Stress in Ventricular Dilatation and Progression to Heart Failure. *Circulation*, 97(16), 1536–1539.

MANCIA G, GRASSI G (2000) - Mechanisms and Clinical Implications of Blood Pressure Variability. *J Cardiovasc Pharmacol.*; 35(7 Suppl 4):S15-9.

MANN DL, BRISTOW MR (2005) - Mechanisms and Models in Heart Failure. *The Biomechanical Model and Beyond. Circ.*; 111:2837-2849.

MARCHESINI G, BUGIANESI E, FORLANI G, CERRELLI F, LENZI M, MANINI R, NATALE S, VANNI E, VILLANOVA N, MELCHIONDA N, RIZZETTO M (2003) - Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*; 37:917-23.

MARSHALL RO, KOOL ER – (1957). Enzymatic conversion of D-glucose to D-fructose. *Science* 125: 648–649.

MATIKAINEN N., S. SÖDERLUND, E. BJÖRNSSON, L.H. BOGL, K.H. PIETILÄINEN, A. HAKKARAINEN, N. LUNDBOM, B. ELIASSON, S.M. RÄSÄNEN, A. RIVELLESE, L. PATTI, A. PRINSTER, G. RICCARDI, J.P. DESPRÉS, N. ALMÉRAS, J.J. HOLST, C.F. DEACON, J. BORÉN, M.R. TASKINEN (2017) - Fructose intervention for 12 weeks does not impair glycemic control or incretin hormone responses during oral glucose or mixed meal tests in obese men, *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 27; 534–542.

MAYES, PA (1993) - Intermediary metabolism of fructose. *Am J Clin Nutr.*; Nov; 58(5 Suppl):754S-765S.

MCMURRAY J, MCDONAGH T, MORRISON CE, DARGIE HJ (1993) - Trends in hospitalization for heart failure in Scotland 1980-1990. *Eur Heart J*; 14: 1158-62.

- MILL, J. G., STEFANON, I., DOS SANTOS, L., & BALDO, M. P. (2011). *Remodeling in the ischemic heart: the stepwise progression for heart*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 44(9), 890–898.
- MISRA MK, SARWAT M, BHAKUNI P, TUTEJA R., TUTEJA N (2009) Oxidative Stress and Ischemic Myocardial Syndromes. *Med Sci Monit* 15:RA209-219
- MONTANO, N., PORTA, A., COGLIATI, C., COSTANTINO, G., TOBALDINI, E., CASALI, K. R., & IELLAMO, F. (2009). Heart rate variability explored in the frequency domain: A tool to investigate the link between heart and behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 33(2), 71–80.
- NGUYEN S., H.K. CHOI, R.H. LUSTIG, C. YUAN HSU (2009) - Sugar-sweetened beverages, serum uric acid, and blood pressure in adolescents, *J. Pediatr.* 154; 807–813.
- NOLAN J, FLAPAN AD, CAPEWELL S, MACDONALD TM, NEILSON JMM, EWING DJ (1992) - Decreased cardiac parasympathetic activity in chronic heart failure and its relation to left ventricular function. *Br Heart J*; 67:482-5.
- PACKER M (1992) - The neurohormonal hypothesis: a theory to explain the mechanism of disease progression in heart failure. *J Am Coll Cardiol*; 20:248.
- PAL YU B (2004) - Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*;74:139-62.
- PARATI G, OCHO JE, BILO G (2012) - Blood Pressure Variability, Cardiovascular Risk, and Risk for Renal Disease Progression. *Curr Hypertens Rep*; 14:421–431.
- PARATI, G.; DI RIENZO, M.; MANCIA, G (2001) -Dynamic modulation of baroreflex sensitivity in health and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 940, n. 1, p. 469-487.
- PARMLEY, W. W. (1985). Pathophysiology of congestive heart failure. *The American Journal of Cardiology*, 55(2), A9–A14.
- PATEL C., V. DOUARD, S. YU, P. THARABENJASIN, N. GAO, R.P. FERRARIS (2015) - Fructose-induced increases in expression of intestinal fructolytic and gluconeogenic genes are regulated by GLUT5 and KHK, *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 309; R499–R509

PATEL, S. P., SULLIVAN, P. G., LYTTLE, T. S., & RABCHEVSKY, A. G. (2010). Acetyl-L-carnitine ameliorates mitochondrial dysfunction following contusion spinal cord injury. *Journal of Neurochemistry*; 114, 291–301.

PEREIRA, C. A. C. (2017) - Efeitos da exposição aguda à frutose em anéis isolados de aorta de ratos. 82 f. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2017.

PETERSEN K.F., LAURENT D., YU C., CLINE G.W., SHULMAN G.I. – (2001), Stimulating effects of low-dose fructose on insulin-stimulated hepatic glycogen synthesis in humans, *Diabetes* 50 1263–1268.

PFEFFER MA, BRAUNWALD E (1990) Ventricular remodeling after myocardial infarction, experimental observations and clinical implications. *Circulation*; 81:1161-72.

POCOCK, S. J., MCMURRAY, J. J. V., DOBSON, J., YUSUF, S., GRANGER, C. B., MICHELSON, E. L. (2008). Weight loss and mortality risk in patients with chronic heart failure in the candesartan in heart failure: assessment of reduction in mortality and morbidity (CHARM) programme. *European Heart Journal*, 29(21), 2641–2650.

POPKIN, B. M., & GORDON-LARSEN, P. (2004). The nutrition transition: worldwide obesity dynamics and their determinants. *International Journal of Obesity*, 28(S3), S2–S9.

PORTO, M. L., LÍRIO, L. M., DIAS, A. T., BATISTA, A. T., CAMPAGNARO, B. P., MILL, J. G., MEYRELLES S. S, BALDO, M. P. (2015). Increased oxidative stress and apoptosis in peripheral blood mononuclear cells of fructose-fed rats. *Toxicology in Vitro*, 29(8), 1977–1981.

POULSEN, H.E., PRIEME, H., LOFT, S (1998) - Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. *European Journal of Cancer Prevention*, Oxford, v.7, n.1, p.9-16.

POZO S.E. PEREZ, J. SCHOLD, T. NAKAGAWA, L.G. SÁNCHEZ-LOZADA, R.J. JOHNSON, J.L. LILLO (2010) - Excessive fructose intake induces the

features of metabolic syndrome in healthy adult men: role of uric acid in the hypertensive response, *Int. J. Obes.* 34; 454–461.

RABIE E.M., G.H. HEEBA, M.M. ABOUZIED, M.M.A. KHALIFA (2015) - Comparative effects of Aliskiren and Telmisartan in high fructose diet-induced metabolic syndrome in rats, *Eur. J. Pharmacol.* 760; 145–153.

Ribeiro ALP, Duncan BB, Brant LCC, Lotufo PA, Mill JG, Barreto SM. (2016) - Cardiovascular health in Brazil: trends and perspectives. *Circulation.*;26;133(4):422-33.

RIZKALLA SW (2010) - Health implications of fructose consumption: a review of recent data. *Nutrition & Metabolism.*; 7(82):1-17.

SÁNCHEZ-LOZADA, L. G., TAPIA, E., JIMÉNEZ, A., BAUTISTA, P., CRISTÓBAL, M., NEPOMUCENO, T., ... FRANCO, M. (2007). Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 292(1), F423–F429.

SATOH, K., GODO, S., SAITO, H., ENKHJARGAL, B., & SHIMOKAWA, H. (2014). Dual roles of vascular-derived reactive oxygen species—With a special reference to hydrogen peroxide and cyclophilin A—. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 73, 50–56.

SAUTIN, Y. Y., NAKAGAWA, T., ZHARIKOV, S., AND JOHNSON, R. J. (2007) - Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes. NADPH oxidase mediated oxidative/nitrosative stress. *Am. J. Physiol. Cell Physiol* 293, C584–C596.

SCHAEFER, E. J., GLEASON, J. A., & DANSINGER, M. L. (2009). Dietary Fructose and Glucose Differentially Affect Lipid and Glucose Homeostasis. *The Journal of Nutrition*, 139(6), 1257S–1262S.

SCHAPER W, BINZ K, SASS S, WINKLER B (1987) - Influence of collateral blood flow and of variations in MVO₂ on tissue-ATP content in ischemic and infarcted myocardium. *J Mol Cell Cardiol*; Jan;19(1):19-37.

- SCHNEIDER CD, OLIVEIRA AR (2004) - Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *RBME*; 10(10):308-13.
- SCHOLZ W, ALBUS U (1995) - Potential of selective sodium-hydrogen exchange inhibitors in cardiovascular therapy. *Cardiovasc Res*; Feb;29(2):184-8.
- SCHULZE, M. B. (2004). Sugar-Sweetened Beverages, Weight Gain, and Incidence of Type 2 Diabetes in Young and Middle-Aged Women. *JAMA*, 292(8), 927.
- SEGURA, A. M.; FRAZIER, O. H.; BUJA, L. M (2014) - Fibrosis and heart failure. *Heart Fail Rev*, v. 19, n. 2, p. 173-85, Mar.
- SHAMI NJIE, MOREIRA EAM (2004) - Licopeno como agente antioxidante. *Rev Nutr*. 2004; 17(2):227-36.
- SHI X, SCHECLL HP, SUMMERS RM, LAMBERT GP, CHANG RT, XIA T, e cols – (1997). Fructose transport mechanism in humans. *Gastroenterology*; 113(4):1171-9.
- SILVA, R J ; BERNARDES N; BRITO J DE O, SHACHES I.; IRIGOYEN M C; DE ANGELIS, K (2011) - Simvastatin-induced cardiac autonomic control improvement in fructose-fed female rats. *Basic Researchs, Clinics* 66 (10).
- SILVEIRA R C, PROCIANOY R S (2005) - Lesões isquêmicas cerebrais no recém-nascido pré-termo de muito baixo peso. *J. Pediatr. (Rio J.)* 81 (1 suppl 1), Mar.
- SINGH, G. M., MICHA, R., KHATIBZADEH, S., LIM, S., EZZATI, M., & MOZAFFARIAN, D. (2015). Estimated Global, Regional, and National Disease Burdens Related to Sugar-Sweetened Beverage Consumption in 2010. *CLINICAL PERSPECTIVE. Circulation*, 132(8), 639–666.
- SINGH, N., DHALLA, A. K., SENEVIRATNE, C., & SINGAL, P. K. (1995). Oxidative stress and heart failure. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 147(1-2), 77–81.

SOUSA, GLAUCIENE JANUÁRIO (2017) - A ingestão elevada de frutose altera a reatividade vascular mesentérica em ratos normotensos [Vitória] 2017. xx, 77p., 29,7 cm (UFES, M. Sc. Ciências Fisiológicas.

STANHOPE K.L., V. MEDICI, A.A. BREMER, V. LEE, H.D. LAM, M.V. NUNEZ, G.X. CHEN, N.L. KEIM, P.J. HAVEL (2015) - A dose-response study of consuming high-fructose corn syrup-sweetened beverages on lipid/lipoprotein risk factors for cardiovascular disease in young adults, *Am. J. Clin. Nutr.* 101; 1144–1154.

STEFANON I, MARTINS MA, VASSALLO DV, MILL JG (1994) - Analysis of right and left ventricular performance of the rat heart with chronic myocardial infarction. *Braz J Med Biol Res.*; 27(11):2667-79.

STEFANON, I., VALERO-MUÑOZ, M., FERNANDES, A. A., RIBEIRO, R. F., RODRÍGUEZ, C., MIANA, M., CACHOFEIRO, V. (2013). Left and Right Ventricle Late Remodeling Following Myocardial Infarction in Rats. *PLoS ONE*, 8(5), e64986.

SUTTON, M. G.; SHARPE, N (2000) - Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation*, v. 101, n. 25, p. 2981-8, Jun 27.

SUZUKI, M., NOMURA, C., ODAKA, H., & IKEDA, H. (1997). Effect of an Insulin Sensitizer, Pioglitazone, on Hypertension in Fructose-Drinking Rats. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 74(4), 297–302.

TAPPY, L., & LÊ, K.-A. (2009). Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity. *Physiological Reviews*, 90(1), 23–46.

TAPPY, L., LÊ, K.A (2010) - Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity. *Physiology Reviews*, v. 90, Janeiro, p. 23-46.

TASK FORCE (1996) Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circ*;93 (5), 1043–1065.

TEERLINK, J. R., PFEFFER, J. M., & PFEFFER, M. A. (1994). Progressive ventricular remodeling in response to diffuse isoproterenol- induced myocardial necrosis in rats. *Circulation Research*, 75(1), 105–113.

THOMASSIN, A.A.B., LACHANCE, D., DROLET, M.C., COUET, J., ARSENAUT, M (2011) - A high-fructose diet worsens eccentric left ventricular hypertrophy in experimental volume overload. *American Journal of Physiology*, p. 125-134.

TRAN L.T., MACLEOD K.M., MCNEILL J.H (2014) - Selective alpha1-adrenoceptor blockade prevents fructose-induced hypertension. *Molecular and Cellular Biochemistry*.

TRIPOSKIADIS, F., KARAYANNIS, G., GIAMOUZIS, G., SKOULARIGIS, J., LOURIDAS, G., BUTLER, J. (2009). The Sympathetic Nervous System in Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 54(19), 1747–1762.

UENO M., R.M.N. BEZERRA, M.S. SILVA, D.Q. TAVARES, C.R. CARVALHO, M.J.A. SAAD (2000) - A high-fructose diet induces changes in pp185 phosphorylation in muscle and liver of rats, *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 33; 1421–1427.

VALGIMIGLI, M., MERLI, E., MALAGUTTI, P., SOUKHOMOVSKAIA, O., CICCHITELLI, G., ANTELLI, A., FERRARI, R. (2004). Hydroxyl radical generation, levels of tumor necrosis factor-alpha, and progression to heart failure after acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 43(11), 2000–2008.

VALKO, M., IZAKOVIC, M., MAZUR, M., RHODES, C. J., & TELSER, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266(1/2), 37–56.

VASDEV S., GILL VD., RANDELL E., HAN Y., GADAG V (2010) - Fructose and moderately high dietary salt-induced hypertension: prevention by a combination of N-acetylcysteine and L-arginine. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 337:9–16.

VICENTE, JUAREZ – (2010). Determinação da incerteza expandida associada à análise de açúcares redutores pelo método de Lane-Eynon / Juarez Vicente – 2010. 79 f.: il.

WANG YM, VAN EYS J – (1981). Nutritional significance of fructose and sugar alcohols. *Ann Rev Nutr.*; 1:437-75.

WALKER RW, DUMKE KA, GORAN MI – (2014). Fructose content in popular beverages made with and without high-fructose corn syrup. *Nutrition*. 2014 Jul-Aug;30(7-8):928- 35

WHITE, J.S (2013) - Challenging the fructose hypothesis: new perspectives on fructose consumption and metabolism. *American Society for Nutrition, Advances in Nutrition*, v. 4, p. 246-256.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION (2003) - Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases; 916:i-viii, 1-149, backcover.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION (2011). Edited by: MENDIS, SHANTHI, PUSKA, PEKKA, NORRVING, B - Global atlas on cardiovascular diseases prevention and control.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION (2014) - Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2014.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION (2015) - Sugars Intake for Adults and Children - vol. 26, *Libr. Cat. Data* (2015), pp. 34-36

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION (2016) - Calls on Countries to Reduce Sugars Intake among Adults and Children *World Heal.*

YU, M. A., SÁNCHEZ-LOZADA, L. G., JOHNSON, R. J., AND KANG, D. H. (2010) Oxidative stress with an activation of the renin-angiotensin system in human vascular endothelial cells as a novel mechanism of uric acid-induced endothelial dysfunction. *J. Hypertens.* 28, 1234–1242.

ZHANG, D.-M., JIAO, R.-Q., & KONG, L.-D. (2017). High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Functions. *Nutrients*, 9(4), 335.

ZIEGLER O., D. QUILLIOT, B. GUERCI, P. DROUIN (2001) - Macronutrients, fat mass, fatty acid flux and insulin sensitivity, *Diabetes Metab.* 27; 261–270.

ZORNOFF LEONARDO A. M., PAIVA SERGIO A. R., MINICUCCI MARCOS F., SPADARO JOEL (2009) - Infarto do miocárdio experimental em ratos: análise do modelo. Arq Bras Cardiol, v. 93, n. 3, p. 434-440.