



IMPACTO DO TREINAMENTO FÍSICO NO PERFIL INFLAMATÓRIO E REDOX RENAL NO DESENVOLVIMENTO DE SÍNDROME METABÓLICA

IMPACT OF EXERCISE TRAINING ON INFLAMMATORY AND REDOX RENAL PROFILES IN METABOLIC SYNDROME DEVELOPMENT

 Antonio Viana do Nascimento Filho^{1*}

 Glaucivan Gomes Gurgel^{2*}

 Douglas Thomazetti³

 Pietra Petrica Neves⁴

 Marina Rascio Henriques Dutra⁵

 Tânia Plens Shecaira⁶

 Danielle da Silva Dias⁷

 Nathalia Bernardes⁸

 Kátia De Angelis⁹

Protocolo aprovado pela CEUA – UNINOVE N° AN004/2013

Autor correspondente:

Kátia De Angelis, PhD
 Universidade Nove de Julho (UNINOVE)
 Rua Vergueiro, 245, Laboratório de Fisiologia Translacional
 São Paulo – SP, Brasil
prof.kangelis@yahoo.com

¹ Mestrado em Ciências da Saúde. Laboratório de Fisiologia Translacional, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), São Paulo, SP, Brasil.
antonio.nascimento@uni9.edu.br

² Graduação em Nutrição. Laboratório de Fisiologia Translacional, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), São Paulo, SP, Brasil.
glaugurgel@uni9.edu.br

³ Graduando em Educação Física, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), São Paulo, SP, Brasil.
thomazetti@uni9.edu.br

⁴ Mestrado em Ciências da Reabilitação. Laboratório de Fisiologia Translacional, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), São Paulo, SP, Brasil.
pietra.petrica@uni9.edu.br

⁵ Doutorado em Ciências da Saúde. Laboratório de Fisiologia Translacional, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), São Paulo, SP, Brasil.
marinarhdutra@gmail.com

⁶ Mestrado em Medicina Translacional, UNIFESP, São Paulo, SP, Brasil. Laboratório de Fisiologia do Exercício, Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil.
plensshecaira@gmail.com

⁷ Doutorado em Ciências da Reabilitação, UNINOVE. Laboratório de Fisiologia do Exercício, Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil. Programa de Pós-graduação em Educação Física, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.
danielledias@outlook.com

⁸ Doutorado em Fisiopatologia Experimental, USP. Laboratório do Movimento Humano, Universidade São Judas Tadeu (USJT), São Paulo, SP, Brasil.
prof.n.bernardes@usjt.br

⁹ Doutorado em Ciências Biológicas (Fisiologia), UFRGS. Laboratório de Fisiologia do Exercício, Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil. Laboratório de Fisiologia Translacional, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), São Paulo, SP, Brasil.
prof.kangelis@yahoo.com

* autores contribuíram igualmente para o artigo

Cite como

Vancouver

Nascimento-Filho, AV, Gurgel, GG, Thomazetti, D, Petrica Neves, P., Dutra, MRH, Shecaira, TP, Dias, DS, Bernardes, N, De Angelis K. Impacto do treinamento físico no perfil inflamatório e redox renal no desenvolvimento de síndrome metabólica. *Conscientiae Saúde* 2023;22(1):1-17, e23408. <https://doi.org/10.5585/22.2023.23408>.



Introdução

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença crônica não transmissível (DCNT) considerada como um importante problema de saúde pública, que se caracteriza por níveis elevados e sustentados de pressão arterial sistólica (PAS) maiores ou iguais a 140 mmHg e/ ou pressão arterial diastólica (PAD) maiores ou iguais a 90 mmHg¹. No Brasil, dados recentes do Sistema Único de Saúde (SUS) apontaram aumento de 32% em custos no manejo de doenças cardiovasculares (DCV) associadas à HAS, passando de R\$ 1,6 bilhão em 2010 para R\$ 2,2 bilhões em 2019². Embora a HAS *per se* esteja relacionada a 13% da mortalidade por DCV no Brasil, sabe-se que ela contribui significativamente para o aumento de morbidade nesta população, visto que se associa às outras condições cardiometabólicas e à ocorrência de lesões em órgãos-alvo, inclusive com progressão da doença renal crônica (DRC)^{1,3}.

Neste sentido, a frutose, amplamente utilizada pela indústria alimentícia na forma de xarope e milho de frutose (HFCS – do inglês *high fructose corn syrup*), contribui para o estabelecimento de distúrbios metabólicos e cardiovasculares, dentre elas o aumento pressórico⁴. Para além disto, o consumo exacerbado de frutose é capaz de alterar variáveis da função renal. Um estudo do nosso grupo com camundongos C57/BL adultos mostrou aumento de volume urinário e excreção proteica, além de intensa vacuolização no epitélio tubular proximal, após 12 semanas de sobrecarga de frutose⁵.

Ademais, nosso grupo demonstrou que o consumo exacerbado de frutose promove disfunção autonômica marcada por aumento da variância da pressão arterial sistólica (VAR-PAS) e da modulação simpática vascular (LF-abs), além de redução do tônus vagal, mecanismos relacionados ao aumento pressórico e à disfunção renal em ratos machos adultos^{6,7}. O prejuízo autonômico também desencadeia o estabelecimento de um quadro inflamatório sistêmico que desempenha um papel importante na gênese de DCNT, como as doenças cardiometabólicas e renais⁷. Nos rins, o infiltrado de células imunes e a maior produção de citocinas pró-inflamatórias podem promover inflamação tubulointersticial e fibrose renal⁸.

As células imunes produzem espécies reativas de oxigênio (EROs) como mecanismo de defesa e comunicação celular. Contudo, o excesso na produção de EROs e/ou uma redução em sua eliminação por menor atuação dos sistemas de defesa antioxidantes, caracterizam um desbalanço do perfil redox, que pode ser chamado de estresse oxidativo (EO)⁴. Por sua vez, o EO também é capaz de ativar fatores de transcrição pró-inflamatórios como fator nuclear kappa B (NFκB), estabelecendo um ciclo vicioso inflamação – EO que contribui para piora da função renal⁹. Nesse contexto, um número crescente de evidências sugere que a produção aumentada

de EROs, como o ânion superóxido (O_2^-) e o radical hidroxila (OH^\cdot) se relacionam com a patogênese da HAS e da DRC^{8,10}.

Recentemente nosso grupo demonstrou que apenas 7 dias de consumo de frutose, iniciado logo após o desmame em ratos SHR, pode causar prejuízo na sensibilidade do barorreflexo, induzindo aumento da pressão arterial ao longo do tempo (60 dias). Tais alterações neste modelo foram acompanhado de aumento de mediadores pró-inflamatórios em 15 dias, e alteração no perfil de EO aos 60 dias, evidenciada por dano oxidativo, sugerindo que a sobrecarga de frutose iniciada em estágios precoces da vida cursa com o desenvolvimento de disfunções autonômicas, inflamatórias e de estresse oxidativo a longo prazo associadas ao desenvolvimento da síndrome metabólica (SM)¹¹.

Por outro lado, os efeitos benéficos do treinamento físico já estão bem estabelecidos na literatura como uma abordagem não farmacológica na prevenção e tratamento de disfunções cardiometabólicas, como HAS e resistência à insulina¹². Em modelo experimental de hipertensão, o treinamento físico aeróbio foi capaz de modular a função do sistema nervoso autônomo através do aumento do componente vagal e/ou uma diminuição da atividade simpática, com conseqüente redução da VAR-PAS¹³. Adicionalmente, um estudo do nosso grupo em modelo experimental de hipertensão demonstrou que o treinamento físico aeróbio também foi capaz de prevenir disfunções autonômicas e de estresse oxidativo renal em ratos adultos submetidos à sobrecarga de frutose¹⁴.

Para além do prejuízo cardiometabólico, é fundamental compreender os mecanismos fisiopatológicos relacionados ao desenvolvimento do dano renal oriundo deste perfil condicionado pela sobrecarga de frutose iniciado precocemente (desde o desmame), assim como o papel do treinamento físico nesta condição. Portanto, o objetivo do nosso estudo foi investigar o perfil inflamatório e de estresse oxidativo renal em modelo de desenvolvimento de SM (hipertensão + sobrecarga de frutose), assim como a contribuição do treinamento físico aeróbio nestes parâmetros.

Materiais e métodos

Ratos Wistar e espontaneamente hipertensos (SHR), machos, com 30 dias de vida (logo após o desmame) foram obtidos do Biotério da Universidade Nove de Julho e separados em 4 grupos (n=7-8/grupo): controle normotenso (C), hipertenso (H), hipertenso frutose (HF) e hipertenso frutose treinado (HFT). A sobrecarga de frutose foi dada na água de beber (100g/ L) iniciando aos 30 dias de vida nos grupos HF e HFT e seguiu por 8 semanas. Animais dos grupos

C e H receberam dieta padrão e água *ad libitum*. Todos os procedimentos deste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Nove de Julho (protocolo AN0003/2013) e foram realizados de acordo com o *National Institutes of Health-Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*.

Teste de Capacidade Máxima e Treinamento Físico Aeróbio Após adaptação prévia dos animais à esteira (Imbramed TK-01, Brasil) durante 3 dias em velocidade de 0,3 km/h durante 10 minutos, foi realizado o Teste de Capacidade Máxima, o qual consistiu em incrementos de velocidade de 0,3 km/h a cada 3 min até a velocidade máxima suportada pelo animal coincidente ao seu estado de fadiga. O Treinamento Físico Aeróbio foi realizado somente no grupo HFT durante 8 semanas na intensidade de 40 – 60% da velocidade máxima obtida no Teste de Capacidade Máxima, com progressão de carga ao longo das semanas.

Eutanásia e Coleta de Tecido Renal. Os animais foram submetidos à eutanásia por decapitação após anestesia prévia, e os rins foram coletados, desencapsulados e congelados (-80°C). O tecido renal foi homogeneizado em um meio contendo Buffer Fosfato (30 mM) com KCl (120mM) e PMSF – solução inibidora de proteases (100mM), e triturado em homogeneizador Ultra 80 Turrax blender (Ultra Stirer®, Malasia). Posteriormente, o tecido foi centrifugado em centrífuga refrigerada a 4°C (5804R - Eppendorf®, Hamburgo, Alemanha), e o sobrenadante foi usado para as análises¹⁵.

Dosagem de Citocinas em Tecido Renal. Aproximadamente 100mg de tecido foram usados para dosagem de mediadores inflamatórios. Em microtubo, foram adicionados ao tecido 400µl de Tampão Tris-Base (100 mM) + EDTA (10 mM) 4µl de coquetel pronto de inibidores de proteases (Sigma P830). O tecido foi então triturado em homogeneizador Ultra 80 Turrax blender (Ultra Stirer®, Malasia). Posteriormente, o órgão foi incubado com 40µl de Triton 1% durante 30 minutos no gelo. Transcorrido o tempo, o homogeneizado foi centrifugado a 12.000 rpm por 30 min em centrífuga refrigerada a 4°C (5804R - Eppendorf®, Hamburgo, Alemanha). Então, o sobrenadante foi congelado no freezer a -80°C. As citocinas TNF- α , IL-6 e IL-10 foram dosadas por ensaio imunoenzimático em microplacas (96 poços) sensibilizadas com o anticorpo para a proteína de interesse. Foi realizado bloqueio prévio de ligações inespecíficas com posterior incubação das amostras experimentais. Foi feita a incubação com anticorpo ligado a enzima marcada com peroxidase, e posterior reação com cromógeno. Na mesma placa, foi feita a curva-padrão, usada para o cálculo da quantidade de proteína por poço. A absorbância foi medida em aparelho leitor de ELISA a 550 nm. Foram utilizados kits específicos para ratos: *Rat TNF α e Rat IL-10* (R&D Systems)⁷.

Estresse oxidativo em tecido renal

Dosagem de Proteínas: A quantificação de proteínas foi realizada pelo método descrito por Lowry e colaboradores, usando como padrão uma solução de albumina bovina. A absorvância foi medida em espectrofotômetro a 280 nm (Kazuaki®, Wuxi, China)¹⁶.

Espécies Pró-Oxidantes: O ânion superóxido foi determinado em homogeneizado renal pela taxa de oxidação da adrenalina em espectrofotômetro a 480nm. O ensaio foi feito com 900µL de tampão glicina (50mM), 50µL de amostra, 40µL de catalase, descontando contra um branco desta mistura e adicionado 30µL de adrenalina, conforme descrito por McCord & Fridovich¹⁷. O peróxido de hidrogênio foi mensurado através da oxidação de vermelho de fenol mediada pela solução de peroxidase rabanete (PRS), levando à formação de um composto mensurável a 630nm. O ensaio foi realizado em microplaca (96 poços) e consistiu em 70µL de amostra, 180µL de PRS (tampão dextrose + vermelho de fenol + peroxidase rabanete), incubado a 25°C por 25 minutos. A reação foi parada adicionando-se 5µL de NaOH e as absorvâncias foram lidas em 630nm¹⁸.

Biodisponibilidade de Óxido Nítrico: A concentração de nitritos renais reflete indiretamente a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO). Os níveis de nitritos foram medidos pela reação de 50µL de amostra com 50µL de reagente de Griess em microplaca de 96 poços. O total de nitrito foi estimado a partir de uma curva padrão de absorvância em 592nm¹⁹.

Defesas Antioxidantes: A atividade da catalase (CAT) foi determinada medindo-se a decomposição de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 240nm. Foram adicionados 980µL de tampão fosfato (50mmol/L), 10µL de amostra, sendo esta mistura descontada contra um branco de tampão fosfato, posteriormente adicionados 10µL de peróxido de hidrogênio e foi monitorada a diminuição da absorvância no espectrofotômetro²⁰. A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi baseada na inibição da reação entre o radical superóxido (O₂⁻) com o pirogalol medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado em unidades relativas. No meio de reação, foram utilizados 980µL de tampão tris-base (50mmol) com EDTA (1mM); 5µL de CAT, 5µL de homogeneizado e 10µL de pirogalol com leitura realizada a 240 mM²¹. A capacidade antioxidante não enzimática (FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Power), está baseada na produção do íon Fe²⁺ (forma ferrosa) a partir da oxidação do íon Fe³⁺ (forma férrica) presente no complexo 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ). Assim, a mudança na absorvância é diretamente relacionada ao poder de doação de elétrons presentes na reação. A técnica foi realizada em microplaca, na qual se adicionou 290µL de reativo de FRAP (tampão acetato de sódio/ ácido acético; TPTZ 10mM; cloreto férrico hexahidratado 20mM) e 10µL de amostra. A

microplaca foi então incubada durante 5 minutos com agitação à 37°C e a leitura foi realizada a 593nm. Para a curva da reação foram utilizados 290µl de reativo de FRAP e uma solução-padrão de sulfato ferroso heptahidratado²².

Dosagem de Proteínas Oxidadas: A determinação de proteínas modificadas oxidativamente se baseia na reação das proteínas oxidadas do homogeneizado com 2,4 dinitrofenil hidrazina (DNPH) em meio ácido, seguida de sucessivas lavagens com ácidos e solventes orgânicos e incubação final com guanidina. Desta forma, a absorvância das carbonilas foi medida em um espectrofotômetro a 360nm, num meio de reação contendo os seguintes reagentes: guanidina (6M) em ácido clorídrico (HCl) (2,5M) pH= 2,5; 2,4 DNPH em HCl (2,5M); ácido tricloroacético (TCA) 20%; TCA 10%; etanol - acetato de etila 1:1 (V/V)²³.

Liperoxidação (LPO) por dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS): O ensaio foi realizado com adição de homogenato em ácido tricloroacético (TCA 10%) para precipitação das proteínas e acidificação das amostras. A mistura foi então centrifugada por 3 min e o sobrenadante foi transferido para tubos de ensaio e mantido a 100°C durante 15 min com a adição de solução de ácido tiobarbitúrico (TBA 0,67%). Transcorrido o tempo, os tubos foram mergulhados no gelo para interromper a reação. A absorvância foi medida a 535nm em espectrofotômetro²⁴.

Análise Estatística. Os dados são expressos como média ± erro padrão da média (EPM). Para comparação entre os grupos foi realizado ANOVA ONE-WAY seguido do pós-hoc de Bonferroni. O nível de significância adotado foi definido como $p \leq 0,05$.

Resultados

Não houve diferenças em peso corporal, peso do rim esquerdo entre os grupos (Tabela 1). Os grupos H e HF apresentaram aumento no peso do rim direito comparado ao grupo C. A glicemia foi menor no grupo HFT quando comparado ao grupo HF (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros Metabólicos nos grupos estudados

Grupos	C	H	HF	HFT
Variáveis				
Peso corporal (g)	274±9	264±12	261±6	246±5
Rim Esquerdo (g)	0,69±0,09	0,81±0,12	0,93±0,03	0,84±0,03
Rim Direito (g)	0,67±0,09	0,91±0,03*	0,93±0,02*	0,87±0,03
Glicemia (mg/dl)	100,4±3,3	99,9±3,9	102,1±2,9	85,0±4,9‡

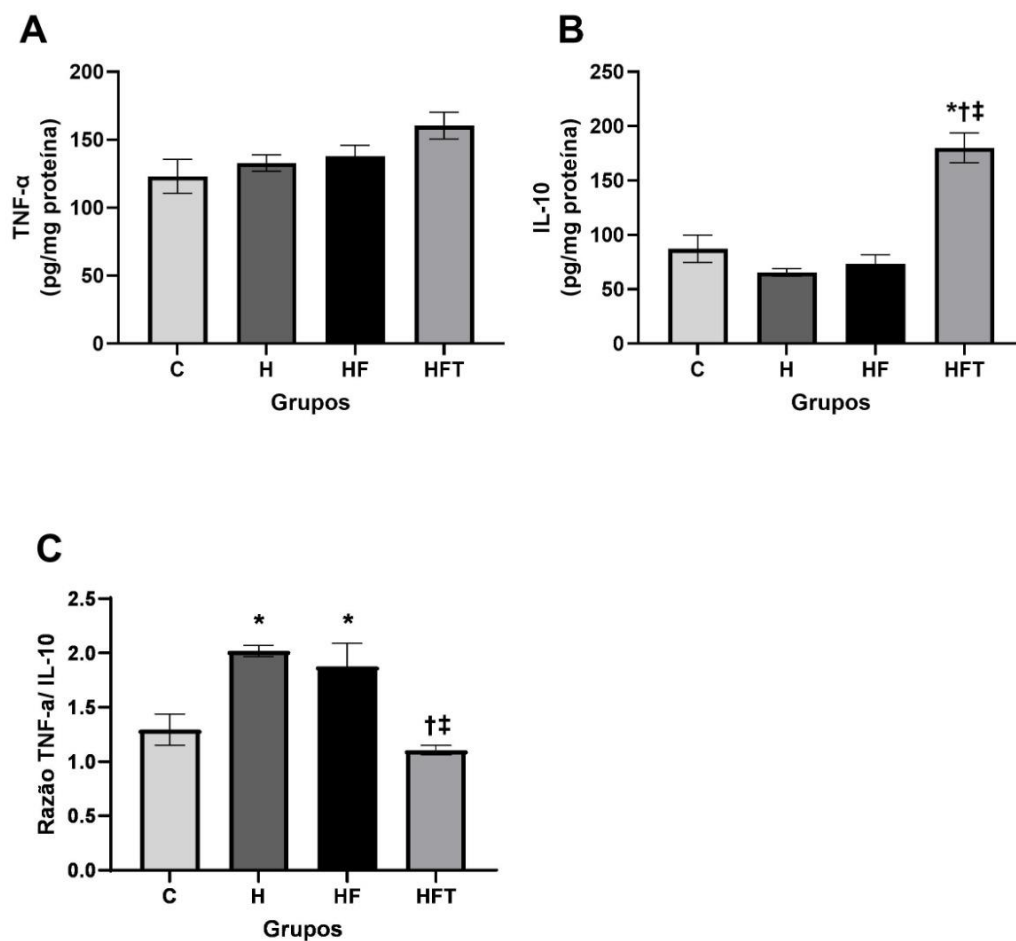
* $p \leq 0,05$ vs. grupo C. ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo HF.

Fonte: Autoria própria.

Perfil inflamatório em tecido renal

Nas avaliações de mediadores inflamatórios, não houve diferença entre os grupos estudados nos níveis de TNF- α em tecido renal. O grupo HFT apresentou maiores níveis de IL-10 em relação aos demais grupos estudados. Ademais, houve redução na razão TNF- α /IL-10 no grupo HFT comparado aos grupos H e HF (Figura 1).

Figura 1 - Perfil Inflamatório em Tecido Renal. (A) TNF- α (pg/ mg proteína) (B) IL-10 (pg/mg proteína). (C) Razão TNF- α / IL-10. * $p \leq 0,05$ vs. grupo C. † $p \leq 0,05$ vs. grupo controle H. ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo HF



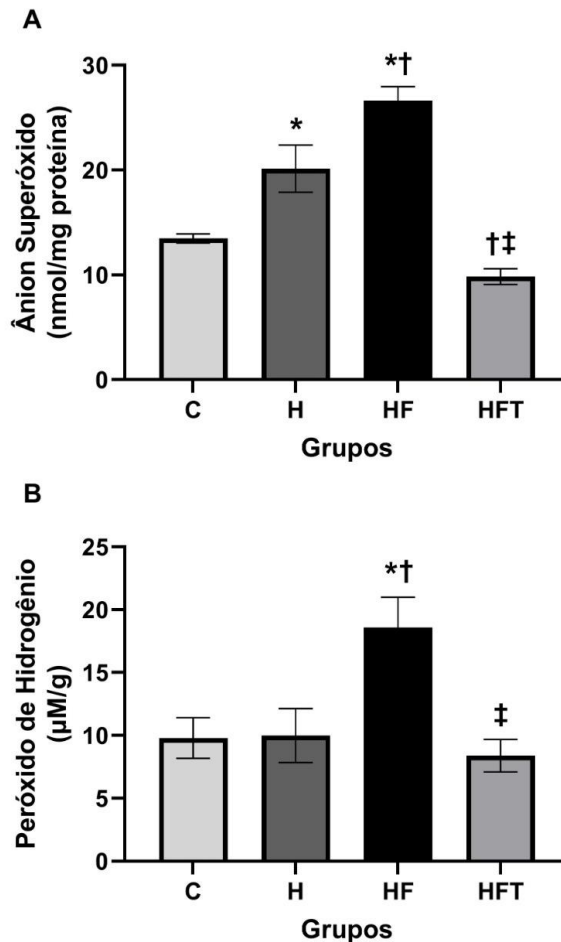
Fonte: Autoria própria.

Espécies pró-oxidantes em tecido renal

Nas avaliações de estresse oxidativo em tecido renal, houve aumento na concentração de ânion superóxido (O_2^-) nos grupos H e HF comparados ao grupo controle (C), com aumento adicional do grupo HF em relação ao grupo H. Além disso, o grupo HFT apresentou valores reduzidos comparado aos grupos H e HF (Figura 2).

O grupo HF apresentou aumento na concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) quando comparado aos demais grupos estudados (C, H e HFT) (Figura 2).

Figura 2 - Espécies Pró-Oxidantes em Tecido Renal. (A) Ânion Superóxido – O₂⁻ (nmol/ mg proteína) (B) Peróxido de Hidrogênio – H₂O₂ (µM/g tecido). * p ≤ 0,05 vs. grupo C. † p ≤ 0,05 vs. grupo controle H. ‡ p ≤ 0,05 vs. grupo HF



Fonte: Autoria própria.

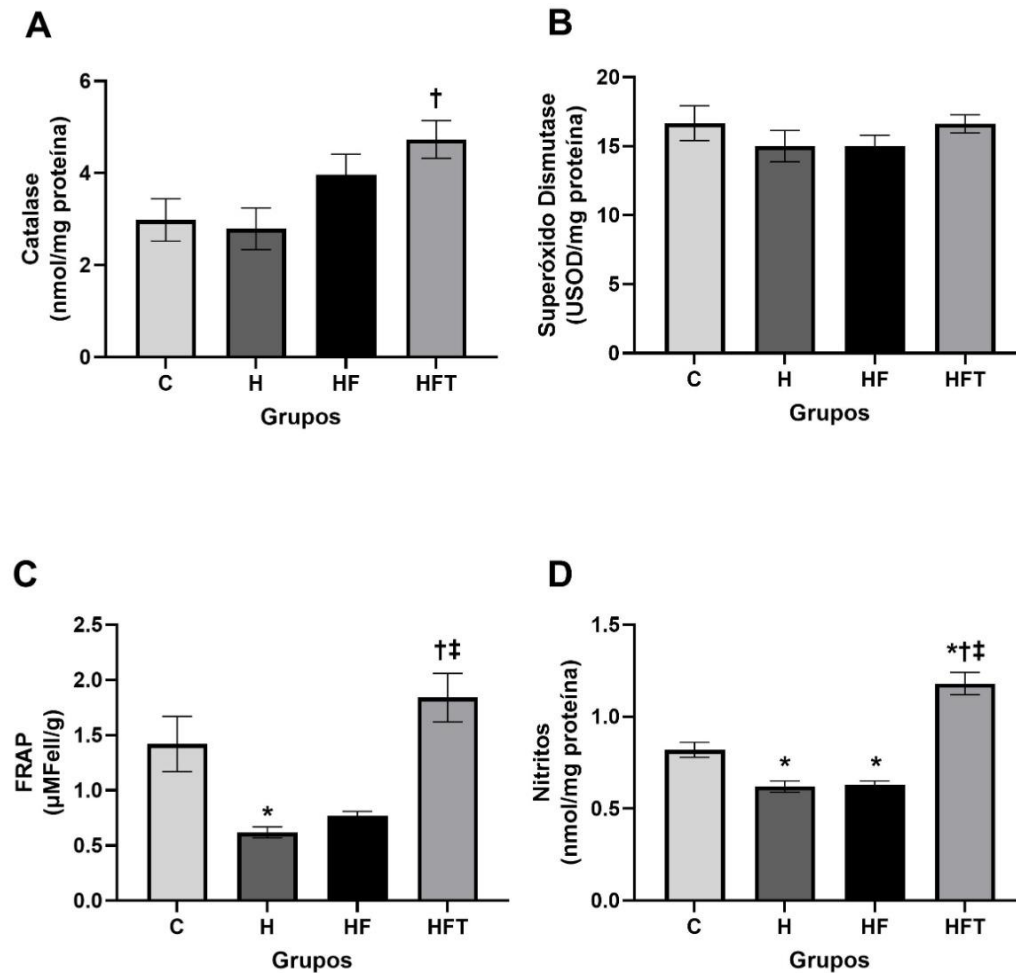
Defesas antioxidantes e biodisponibilidade de NO em tecido renal

Em relação às enzimas antioxidantes não foi observada diferença na atividade da SOD entre os grupos. Entretanto, o grupo HFT apresentou aumento da atividade da CAT em relação ao grupo H (Figura 3).

O grupo HFT apresentou aumento na medida de FRAP em relação aos grupos H e HF, e houve menores níveis de FRAP no grupo H quando comparado ao grupo C (Figura 3).

Na biodisponibilidade de NO foi observado aumento no grupo C em relação aos grupos H e HF, com aumento adicional do HFT em relação aos demais grupos estudados (Figura 3).

Figura 3 - Defesas Antioxidantes e Biodisponibilidade de Óxido Nítrico em Tecido Renal. (A) Catalase (nmol/ mg proteína) (B) Superóxido Dismutase (nmol/ mg proteína) (C) FRAP ($\mu\text{MFeII/g}$) (D) Nitritos (nmol/ mg proteína). * $p \leq 0,05$ vs. grupo C. † $p \leq 0,05$ vs. grupo controle H. ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo HF. FRAP = Ferric Reducing Antioxidant Power

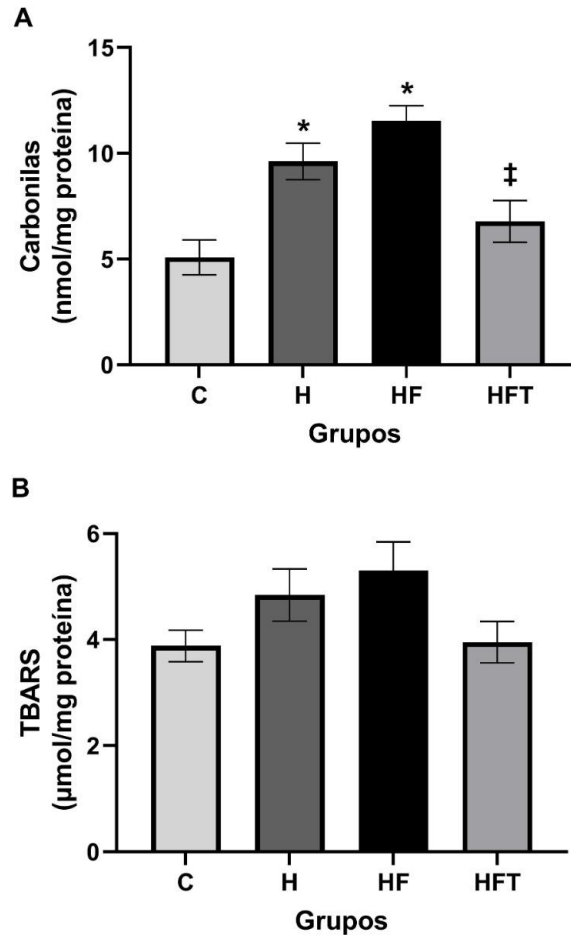


Fonte: Autoria própria.

Dano oxidativo em tecido renal

Quando avaliada a oxidação de proteínas pela técnica de carbonilas, os grupos H e HF apresentaram aumento comparados ao grupo C, seguido de uma redução no grupo HFT quando comparado ao HF. Não houve diferença na lipoperoxidação avaliada através dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) entre os grupos estudados (Figura 4).

Figura 4 - Dano Oxidativo em Tecido Renal. (A) Proteínas oxidadas - Carbonilas (nmol/ mg proteína) (B) TBARS ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ proteína). * $p \leq 0,05$ vs. grupo C. ‡ $p \leq 0,05$ vs. grupo HF. TBARS = Thiobarbituric Acid Reactive Substances



Fonte: Autoria própria.

Discussão

Considerando que a sobrecarga de frutose, para além das alterações metabólicas, promove o estabelecimento de um perfil pró-inflamatório e/ou pró-oxidante, sendo estes mecanismos chave para o desenvolvimento da doença renal, assim como a conhecida ação anti-inflamatória e antioxidante do treinamento físico, nosso objetivo foi avaliar o impacto da sobrecarga de frutose associada a predisposição à hipertensão em mediadores inflamatórios e de EO renal em animais hipertensos, além do papel do treinamento físico aeróbio nesta condição. Nossos principais achados enfatizam um prejuízo no balanço redox no tecido renal, e reforçam que o treinamento físico aeróbio é eficaz em atenuar este prejuízo, bem como em promover um perfil anti-inflamatório renal neste modelo de desenvolvimento de SM.

Sabe-se que alto consumo de frutose, iniciado em idade precoce, relaciona-se a disfunções metabólicas e ao desenvolvimento de SM a longo prazo⁴. Para além destas alterações, a literatura já aponta um prejuízo em mecanismos de controle pressórico como fatores adicionais à sobrecarga de frutose^{6,7,11}. Neste estudo, o aumento do tamanho do rim direito nos grupos hipertenso (H) e hipertenso frutose (HF) pode ser explicado por um provável mecanismo relacionado ao prejuízo na modulação da pressão arterial, visto que o estudo de Sans-Atxer et al. (2010) encontrou uma associação entre o aumento no padrão de variabilidade da pressão arterial diastólica ao longo do dia com o maior tamanho renal, sugerindo ainda, que esse desajuste, presente em condições de controle pressórico prejudicado, como por exemplo na HAS e SM, atue como um mecanismo de disfunção renal a longo prazo²⁵.

Embora o consumo de frutose não tenha promovido alterações na glicemia entre os grupos, o treinamento físico foi eficaz em reduzir as concentrações glicêmicas, acentuando seus benefícios mesmo em um perfil metabólico desfavorável como na presença da sobrecarga de frutose. Estudo prévio de nosso grupo já demonstrou que o treinamento aeróbico de 8 semanas promoveu redução na glicemia em animais hipertensos submetidos à sobrecarga de frutose, ressaltando seu papel benéfico mesmo na associação de fatores de risco cardiometabólico¹⁴.

Para além do impacto metabólico e autonômico, a SM acrescenta fatores de risco para o manejo da HAS como inflamação e estresse oxidativo, que também estão envolvidos como mecanismos de lesão em órgãos alvo⁴. Em modelo de hipertensão e sobrecarga de frutose nosso grupo já demonstrou comprometimento do sistema barorreflexo de controle da pressão arterial, elevação de citocinas pró-inflamatórias no tecido adiposo branco e desbalanço do perfil redox plasmático, marcado por redução da atividade da superóxido dismutase e aumento das concentrações de peróxido de hidrogênio¹¹. Ademais, neste mesmo estudo, observa-se que estas alterações se iniciam ainda em estágios precoces da vida dos animais, e se estendem para sua idade adulta¹¹.

Neste sentido, uma revisão de Bernardes et al. (2017) discute o papel pró-inflamatório da frutose através de um prejuízo metabólico, demonstrado pelo estabelecimento de hiperlipidemia hepática e no tecido adiposo branco que resulta em maior resistência à insulina, disfunção endotelial e aumento de infiltrado inflamatório, predominantemente composto de monócitos–macrófagos, nestes sítios²⁶. Por sua vez, o aumento de citocinas pró-inflamatórias, secretadas pelas células fagocíticas, resulta na ativação global do sistema imune que contribui para maior liberação de EROs, que estimulam a expressão do transcrito NFκB, sinalizando uma cascata pró-inflamatória, e possibilitam maior expressão de peptídeo-1 quimioatrativo, resultando em maior migração de monócitos e aumento na produção de citocinas pró-

inflamatórias TNF- α e IL-6, perpetuando um ciclo vicioso entre inflamação e estresse oxidativo²⁶.

Adicionalmente, a inflamação também contribui para a piora do perfil metabólico, uma vez que a maior concentração de TNF- α e IL-6 reduz a sensibilidade à insulina inibindo as vias de ativação do substrato do receptor de insulina (IRS-1)⁴. A resistência à insulina torna o ambiente mais hiperglicêmico, o que promove auto oxidação da glicose formando produtos finais de glicação avançada (AGEs). Os AGEs estimulam a produção de EROs através da ativação de NADPH-oxidase, enzima com atividade pró-oxidante que catalisa reações de transferência de elétrons para o oxigênio molecular formando EROs²⁶. É importante ressaltar que este ambiente hiperglicêmico, e por consequência pró-inflamatório, resulta em maior risco cardiovascular também através da disfunção endotelial, assim como é capaz de lesionar podócitos no tecido renal, contribuindo para um quadro de podocitopatia e alterando a permeabilidade glomerular, sendo um dos principais mecanismos relacionados à doença renal diabética²⁷.

Apesar de não haver diferença em TNF- α entre os grupos (Figura 1), no presente estudo o treinamento físico proporcionou o estabelecimento de um perfil anti-inflamatório renal através das maiores concentrações de IL-10 (citocina anti-inflamatória) e redução da razão TNF- α /IL-10 (Figura 1). Previamente, Bernardes et al. (2016) demonstraram que o treinamento físico aeróbio foi eficaz em estabelecer um perfil anti-inflamatório em tecido adiposo branco, mesmo com a continuidade de uma dieta rica em frutose, em animais com 45 dias de vida, reduzindo em 40% a razão TNF- α /IL-10 no grupo treinado comparado ao grupo frutose sedentário⁴. Em conjunto, estes achados reforçam a atuação do treinamento físico como uma ferramenta importante no manejo das disfunções precoces associadas à SM.

O aumento de O₂⁻ e H₂O₂ (Figura 2) observado no tecido renal do grupo hipertenso com frutose (HF), mas não no grupo puramente hipertenso (H), demonstra o papel de ativação pró-oxidante da frutose. De fato, a literatura aponta maior produção de EROs em quadros associados ao consumo exacerbado de frutose como resistência à insulina, hipertensão e dislipidemia²⁶.

Diferentes mecanismos permitem explicar a relação direta ente a sobrecarga de frutose e o desbalanço redox renal. Primeiro, em virtude de um ambiente hiperglicêmico, por resistência à insulina, ocorre maior expressão de NOX 4 no rim, isoforma da NADPH-oxidase formadora de O₂⁻ e H₂O₂, com consequente prejuízo na vasodilatação mediada pelo NO. Ademais, a frutose também pode promover disfunção mitocondrial e maior expressão da proteína p22phox, componente da enzima NADPH-oxidase²⁶. Outra alteração desencadeada pela dieta rica em frutose é o aumento de ácido úrico (AU), que está relacionado a prejuízos

metabólicos, assim como inflamação e desbalanço no perfil redox²⁶. O estudo de Ejaz et al. (2006) associa o AU à ativação da enzima NADPH-oxidase, o que estimula a produção de EROs com resultante peroxidação lipídica contribuindo para insulto renal²⁸.

Além de sua atuação local, no sistema nervoso central as EROS são capazes de aumentar a sinalização para síntese de angiotensina II (ANG), aldosterona e hormônio antidiurético (ADH), que juntos promovem aumento pressórico sustentado a nível renal e sistêmico²⁹. Cabe ressaltar que, além da inflamação, o EO também apresenta relação direta com a doença renal, levando a disfunção endotelial, injúria glomerular e fibrose túbulo intersticial⁸.

A menor biodisponibilidade de óxido nítrico (Figura 3) observada nos grupos H e HF pode estar diretamente relacionada à maior concentração de O_2^- nestes grupos. De fato, o O_2^- pode reagir com o NO formando peroxinitrito ($ONOO^-$), um radical citotóxico que promove dano a proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, como também contribui para inativação da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), através da oxidação de seus cofatores, como por exemplo tetrahydrobiopterina (BH4). A forma inativada/ desacoplada adquirida pela eNOS é incapaz de sintetizar NO e desvia sua produção para maior síntese de O_2^- ³⁰.

A ausência de diferença entre os grupos na atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT (Figura 3) pode estar associada à concentração da sobrecarga de frutose bem como ao tempo de seguimento deste estudo, uma vez que estudo de Dornas et al. (2017) mostrou uma redução de SOD e aumento de NFκB (transcrito pró-inflamatório) em tecido renal de animais submetidos a uma dieta rica em frutose (20%) durante 20 semanas associada à dieta rica em sal (8%) por 10 semanas³¹. Apesar de não haver impacto na atividade das enzimas antioxidantes no presente estudo, é importante salientar que os animais mesmo avaliados em uma idade ainda jovem, já apresentam prejuízos no perfil redox renal, caracterizada por maior concentração de EROs oriunda da sobrecarga de frutose.

Estudos prévios do nosso grupo ressaltam a capacidade anti-inflamatória e de combate ao EO do treinamento físico. Dias et al. (2020) demonstraram que o treinamento combinado (aeróbico + resistido, 40 – 60% de intensidade durante 8 semanas) promoveu redução de proteínas carboniladas, isto é, modificadas oxidativamente, em tecido cardíaco após 60 dias de consumo de frutose no mesmo modelo experimental que no presente estudo¹⁵. A redução de proteínas oxidadas (Figura 4) no grupo frutose treinado comparado ao grupo frutose sedentário também foi observada neste estudo em tecido renal. Além disso, Bernardes et al. (2021), demonstraram que o treinamento físico aeróbico, em outras palavras o estilo de vida fisicamente ativo, diminui os prejuízos em perfil redox plasmático, previamente evidenciado por uma redução da atividade plasmática da SOD e elevação do dano oxidativo em animais com 60 dias

de consumo de frutose (90 dias de vida), reforçando o papel protetor da atividade física contra o estabelecimento do desbalanço redox⁴.

No presente estudo, apesar de não haver diferenças nas enzimas antioxidantes do grupo HFT comparado ao HF, o treinamento físico aeróbio promoveu aumento da capacidade antioxidante não enzimática (FRAP) e na biodisponibilidade de óxido nítrico (nitritos renais) (Figura 3), além de redução de O_2^- e H_2O_2 . (Figura 2). Até onde sabemos, nosso estudo é o primeiro a demonstrar os benefícios do treinamento físico aeróbio de 8 semanas em parâmetros de estresse oxidativo em tecido renal neste modelo experimental de desenvolvimento de SM.

Em conclusão, o treinamento aeróbio mitigou os prejuízos em estresse oxidativo e proporcionou um perfil anti-inflamatório renal neste modelo experimental de hipertensão e sobrecarga de frutose, o que sugere sua eficácia como uma abordagem capaz de atenuar as alterações inflamatórias- oxidativas, mesmo na associação de fatores de risco ao longo do desenvolvimento da SM.



Referências

1. Barroso WKS, Rodrigues CIS, Bortolotto LA, Mota-Gomes MA, Brandão AA, Feitosa AD de M, et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. *Arq Bras Cardiol.* 2021;116(3):516–658. <https://doi.org/10.36660/abc.20201238>
2. Nilson EAF, Andrade R da CS, de Brito DA, de Oliveira ML. [Costs attributable to obesity, hypertension, and diabetes in the Unified Health System, Brazil, 2018Costos atribuibles a la obesidad, la hipertensión y la diabetes en el Sistema Único de Salud de Brasil, 2018]. *Rev Panam Salud Publica Pan Am J Public Health.* 2020;44:e32. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.32>
3. Précoma DB, Oliveira GMM de, Simão AF, Dutra OP, Coelho OR, Izar MC de O, et al. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – 2019. *Arq Bras Cardiol.* 2019;113(4):787–891. <https://doi.org/10.5935/abc.20190204>
4. Bernardes N. Mecanismos associados ao desenvolvimento das complicações cardiometabólicas em SHR submetidos à sobrecarga de frutose: papel do treinamento físico aeróbio [Internet] [text]. Universidade de São Paulo; 2016 [citado 3 de fevereiro de 2021]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5160/tde-04082016-154155/>
5. Cunha TS, Farah V, Paulini J, Pazzine M, Elased KM, Marcondes FK, et al. Relationship between renal and cardiovascular changes in a murine model of glucose intolerance. *Regul Pept.* 2007;139(1–3):1–4. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2006.11.023>
6. Brito JO, Ponciano K, Figueroa D, Bernardes N, Sanches ÍC, Irigoyen MC, et al. Parasympathetic dysfunction is associated with insulin resistance in fructose-fed female rats. *Braz J Med Biol Res.* 2008;41(9):804–8. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2008005000030>
7. Conti FF, Brito J de O, Bernardes N, Dias D da S, Sanches IC, Malfitano C, et al. Cardiovascular autonomic dysfunction and oxidative stress induced by fructose overload in an experimental model of hypertension and menopause. *BMC Cardiovasc Disord.* 2014;14:185. <https://doi.org/10.1186/1471-2261-14-185>
8. Nowak KL, Jovanovich A, Farmer-Bailey H, Bispham N, Struempf T, Malaczewski M, et al. Vascular Dysfunction, Oxidative Stress, and Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Kidney360.* 2020;1(6):501–9. <https://doi.org/10.34067/kid.0000962019>
9. Rayego-Mateos S, Morgado-Pascual JL, Opazo-Ríos L, Guerrero-Hue M, García-Caballero C, Vázquez-Carballo C, et al. Pathogenic Pathways and Therapeutic Approaches Targeting Inflammation in Diabetic Nephropathy. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):3798. <https://doi.org/10.3390/ijms21113798>
10. Griendling KK, Camargo LL, Rios FJ, Alves-Lopes R, Montezano AC, Touyz RM. Oxidative Stress and Hypertension. *Circ Res.* 2021;128(7):993–1020. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318063>
11. Bernardes N, da Silva Dias D, Stoyell-Conti FF, de Oliveira Brito-Monzani J, Malfitano C, Caldini EG, et al. Baroreflex Impairment Precedes Cardiometabolic Dysfunction in an

Experimental Model of Metabolic Syndrome: Role of Inflammation and Oxidative Stress. *Sci Rep*. 2018;8(1):8578. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26816-4>

12. Myers J, Kokkinos P, Nyelin E. Physical Activity, Cardiorespiratory Fitness, and the Metabolic Syndrome. *Nutrients*. 2019;11(7):E1652. <https://doi.org/10.3390/nu11071652>

13. da Silva Dias D, Moraes-Silva IC, Bernardes N, de Oliveira Brito-Monzani J, Stoyell-Conti FF, Machi JF, et al. Exercise training initiated at old stage of lifespan attenuates aging- and ovariectomy-induced cardiac and renal oxidative stress: Role of baroreflex. *Exp Gerontol*. 2019;124:110635. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.110635>

14. de Oliveira Brito-Monzani J, Stoyell-Conti FF, Shecaira TP, Dos Santos Ferreira Silva MP, da Silva Dias D, Bernardes N, et al. Aerobic or resistance training improves autonomic control of circulation in oophorectomized rats with cardiometabolic dysfunctions: Impact on renal oxidative stress. *Exp Gerontol*. 2021;145:111181. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2020.111181>

15. Dias D da S, Bernardes N, Stoyell-Conti FF, dos Santos CP, de Araujo AA, Llesuy S, et al. Impact of combined exercise training on the development of cardiometabolic and neuroimmune complications induced by fructose consumption in hypertensive rats. *PLoS ONE*. 2020;15(6):e0233785.

16. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193(1):265–75. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)

17. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1972;247(10):3170–5. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)45228-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)45228-9)

18. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods*. 1980;38(1):161–70. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(80\)90340-3](https://doi.org/10.1016/0022-1759(80)90340-3)

19. Granger DL, Anstey NM, Miller WC, Weinberg JB. Measuring nitric oxide production in human clinical studies. *Methods Enzymol*. 1999;301:49–61. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)01068-x](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)01068-x)

20. Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J*. 1973;134(3):707–16. <https://doi.org/10.1042/bj1340707>

21. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem*. 1974;47(3):469–74. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>

22. Benzie IF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol*. 1999;299:15–27. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99005-5)

23. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol.* 1994;233:357–63. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(94\)33041-7](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(94)33041-7)
24. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302–10. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(78)52032-6)
25. Sans Atxer L, Roca-Cusachs A, Torra R, Calero F, Arias P, Ballarin J, et al. Relationship between kidney size and blood pressure profile in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease without renal failure. *Nefrologia Ed.* 2010;30(5):567–72. <https://doi.org/10.3265/Nefrologia.pre2010.May.10418>
26. Bernardes N, Ayyappan P, De Angelis K, Bagchi A, Akolkar G, da Silva Dias D, et al. Excessive consumption of fructose causes cardiometabolic dysfunctions through oxidative stress and inflammation. *Can J Physiol Pharmacol.* 2017;95(10):1078–90. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2016-0663>
27. Nakamichi R, Hayashi K, Itoh H. Effects of High Glucose and Lipotoxicity on Diabetic Podocytes. *Nutrients.* 2021;13(1):241. <https://doi.org/10.3390/nu13010241>
28. Ejaz AA, Mu W, Kang DH, Roncal C, Sautin YY, Henderson G, et al. Could uric acid have a role in acute renal failure? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2(1):16–21. <https://doi.org/10.2215/CJN.00350106>
29. Ishimoto Y, Tanaka T, Yoshida Y, Inagi R. Physiological and pathophysiological role of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in the kidney. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2018;45(11):1097–105. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13018>
30. Förstermann U, Xia N, Li H. Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circ Res.* 2017;120(4):713–35. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309326>
31. Dornas WC, de Lima WG, Pedrosa ML, Silva ME. Health implications of high-fructose intake and current research. *Adv Nutr Bethesda Md.* 2015;6(6):729–37. <https://doi.org/10.3945/an.114.008144>

