



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**  
Centro Biomédico  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

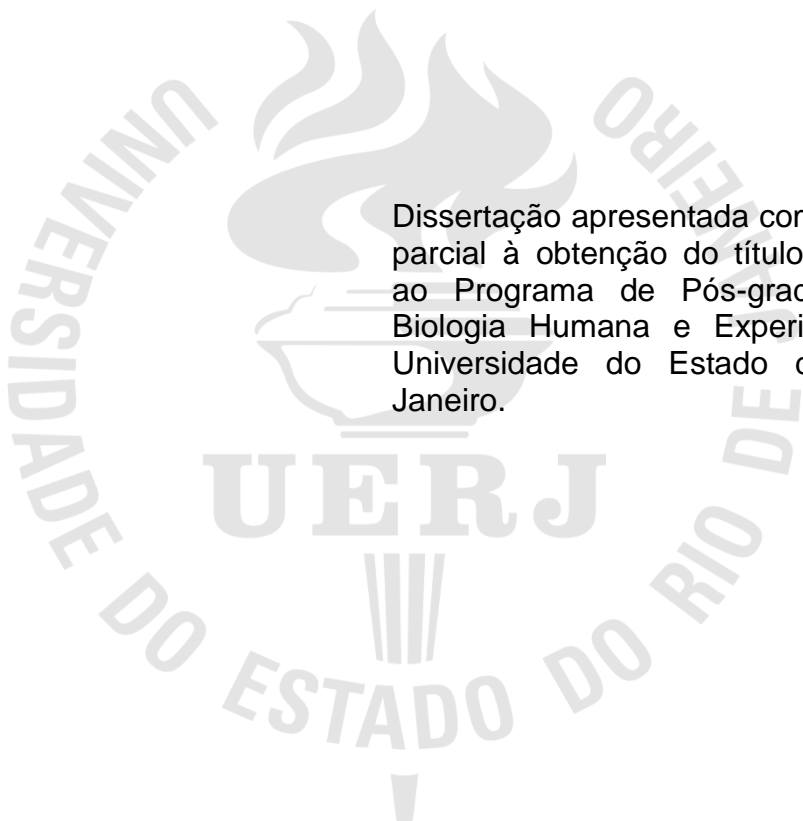
Guilherme Sá de Oliveira

**Exercício intervalado de alta intensidade causa remodelamento  
cardíaco benéfico através da modulação do SRA local em  
camundongos alimentados com dieta hiperlipídica ou rica em  
frutose**

Rio de Janeiro  
2017

Guilherme Sá de Oliveira

**Exercício intervalado de alta intensidade causa remodelamento cardíaco benéfico através da modulação do SRA local em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica ou rica em frutose**



Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Barbosa Silva

Rio de Janeiro

2017

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

O48 Oliveira, Guilherme Sá de.

Exercício intervalado de alta intensidade causa remodelamento cardíaco benéfico através da modulação do SRA local em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica ou rica em frutose / Guilherme Sá de Oliveira – 2017. 80 f.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Sandra Barbosa Silva

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental.

1. Exercícios físicos - Teses. 2. Gorduras na dieta – Teses. 3. Sistema renina-angiotensina – Teses. 4. Coração – Hipertrofia - Teses. I. Silva, Sandra Barbosa. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 613.72:616-056.52

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira . CRB7/6382

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Guilherme Sá de Oliveira

**Exercício intervalado de alta intensidade causa remodelamento cardíaco benéfico através da modulação do SRA local em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica ou rica em frutose**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em: 21 de fevereiro de 2017

Banca examinadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Barbosa Silva (Orientadora)  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Matsuura  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

---

Prof. Dr. Pedro Paulo da Silva Soares  
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro  
2017

## DEDICATÓRIA

Para a minha família, meus amigos e para todo o universo que conspira para tudo dar errado enquanto nós lutamos para dar certo.

## AGRADECIMENTOS

À minha família, meus pais e amigos, que me proporcionaram todo o suporte para a realização não só do mestrado, mas sim, de todas as conquistas da minha vida.

Para a minha mãe que é minha força, que me inspira a lutar por ela e por mim. Nada disso poderia existir se não fosse por ela.

A pessoa que entrou em minha vida de um modo inusitado e continua nela até hoje acreditando em mim e me aceitando da forma que sou, sem nunca me pedir para mudar. Ana Carolina da Silva Paiva, muito obrigado!

Aos eternos amigos que são a família que escolhemos, irmãos da vida, que sempre me apoiaram e incentivaram, sempre acreditaram em mim mesmo eu não sendo nada nem ninguém. Estaremos sempre juntos pois, amigo não é aquele que está sempre presente fisicamente e sim, sendo apenas um verdadeiro amigo quando precisa ser.

Ao médico, mestre e grande amigo Afonso Aragão, que conheci na universidade e levarei para a vida toda, seu apoio e o aprendizado que recebi foi essencial para minha formação profissional e pessoal, sem ele não seria possível nem iniciar esse trabalho. Agradeço infinitamente ao exemplo de Homem que ele é, e que, por ventura, se tornou tudo que quero ser.

Ao grande amigo Marcel Pimenta pela enorme ajuda durante todo esse trabalho e toda a graduação estando sempre ao meu lado para todos os momentos.

As amigas Thatiany Marinho, Fernanda Ornellas, Vanesa de Souza-Mello, Aline Penna, Michele Soares, Iara Karise que me ajudaram e sempre estiveram dispostas a auxiliar a qualquer momento em que necessitei.

Ao meu amigo Helder Gonçalves que se mostrou um amigo inestimado em minha caminhada e que ainda não desistiu de pedir minha mão em casamento.

A Profa. Dra. Márcia Barbosa Águila Mandarin-de-Lacerda pela atenção e presteza com meu trabalho, e por toda a assessoria nos aspectos nutricionais do estudo.

E por último e não menos importante, muito pelo contrário, de suma importância. A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Barbosa Silva pela confiança, suporte, compreensão, auxílio e

paciência com o meu trabalho, além de me possibilitar a desenvolvê-lo com todo suporte técnico e subsídios inerentes ao estudo.

O destino é inexorável.

*Uthred de Bebbanburg*



## RESUMO

De Oliveira, Guilherme Sá. *Exercício intervalado de alta intensidade causa remodelamento cardíaco benéfico através da modulação do SRAA local em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica ou rica em frutose*. 2017. 80 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

O HIIT (treinamento de intervalo de alta intensidade) tem o potencial de reduzir os fatores de risco cardiometabólicos, porém seus efeitos no remodelamento cardíaco e no sistema renina-angiotensina (SRA) local em camundongos alimentados com dietas hiperlipídica ou rica em frutose ainda precisam ser esclarecidos. Sessenta camundongos C57BL/6 machos (12 semanas) foram aleatoriamente divididos em três grupos de acordo com a dieta oferecida (controle, dieta hiperlipídica (HF) ou rica em frutose (HFRU) e foram monitorados por 8 semanas antes do protocolo HIIT. Em seguida, os animais foram subdivididos em seis grupos (n = 10 cada grupo), três grupos iniciaram um protocolo HIIT de 12 semanas, enquanto os outros três permaneceram sedentários. O HIIT reduziu a massa corporal e a pressão arterial sistólica, ao mesmo tempo que aumentou a sensibilidade à insulina após a ingestão das dietas HF e HFRU. Além disso, o HIIT reduziu a hipertrofia ventricular esquerda causada por ambos esquemas dietéticos. Em particular, o HIIT modulou positivamente os fatores-chave necessários no sistema renina-angiotensina ventricular esquerdo: redução da expressão proteica da renina, ECA e receptor AT2 em ambos os grupos treinados e redução da expressão da proteica do receptor AT1R apenas no grupo HF treinado. O HIIT obteve um papel benéfico na modulação do eixo do receptor ECA2 / Ang (1-7) / rMas. A expressão gênica de ECA2 foi aumentada nos grupos HIIT, acompanhado de maior expressão gênica do receptor Mas após o protocolo do HIIT. O presente estudo mostra a eficácia das sessões do HIIT na produção de melhorias significativas na resistência à insulina e na atenuação da hipertrofia do ventrículo esquerdo, embora a hipertensão arterial tenha sido controlada apenas no grupo da dieta HF submetido ao protocolo HIIT. O sistema SRA local no coração medeia estas descobertas e o receptor MAS parece desempenhar um papel crucial quando se trata de melhorar a remodelação cardíaca estrutural e funcional devido ao HIIT.

Palavras chave: Exercício de alta intensidade. HIIT. Hipertrofia cardíaca. SRA

## ABSTRACT

De Oliveira, Guilherme Sá. *High-intensity interval training has beneficial effects on cardiac remodeling through local renin-angiotensin system modulation in mice fed high-fat or high-fructose diets*. 2017. 80 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

HIIT (high-intensity interval training) has the potential to reduce cardiometabolic risk factors, but the effects on cardiac remodeling and local RAS in mice fed high-fat or high-fructose diets still need to be fully addressed. Sixty male C57BL/6 mice (12 weeks old) were randomly divided into three groups according to the diet offered (control, High-fat diet, or High-fructose diet) and were monitored for 8 weeks before the HIIT protocol. Then, mice were subdivided into six groups (n =10 each group), three groups started a 12-week HIIT protocol, whereas the other three remained sedentary. HIIT reduced body mass and systolic blood pressure while enhanced insulin sensitivity after high-fat or high-fructose intake. Moreover, HIIT reduced left ventricular hypertrophy and mass caused by both dietary schemes. Notably, HIIT modulated positively important keys factors in the local left ventricular renin-angiotensin-system (RAS): reduced protein expression of renin, ACE, and AT2 in both trained groups and reduced AT1R protein expression only in the high-fat trained group. HIIT elicited a beneficial role in the modulation of ACE2/Ang (1–7)/Mas receptor axis. ACE2 mRNA gene expression was enhanced in HIIT groups, complying with elevated Mas receptor mRNA gene expression after HIIT protocol and the beneficial effects observed. This study shows the effectiveness of HIIT sessions in producing significant improvements in insulin resistance and mitigating LV hypertrophy, though hypertension was controlled only in the high-fat-fed submitted to the HIIT protocol. Local RAS system in the heart mediates these findings and receptor MAS seems to play a pivotal role when it comes to the amelioration of cardiac structural and functional remodeling due to HIIT

Keywords: High intensity exercise. HIIT. Cardiac hypertrophy. RAAS

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Efeitos cardiometabólicos do HIIT. A figura mostra o impacto muscular e cardiovascular do HIIT nas doenças metabólicas comuns.....	21
Figura 2 –	Cascata do Sistema Renina Angiotensina. O SRA convencional, incluindo os efeitos opostos da Ang II e da Ang (1-7) na fisiopatologia cardiovascular.....	27
Figura 3 –	Linha do tempo, ilustrando a divisão dos grupos em períodos pré e pós-HIIT. ....	33
Tabela 1 –	Composição das dietas .....	34
Figura 4 –	TOTG 8 semanas antes de iniciar o HIIT .....	42
Tabela 2 –	Calorimetria indireta. ....	43
Figura 5 –	TOTG 12 semanas após o HIIT.....	44
Figura 6 -	Espessura da parede do ventrículo esquerdo (mm).....	49
Tabela 3 –	Parâmetros: Massa corporal, Massa do Ventrículo esquerdo, Pressão arterial, Triglicerídeos, Colesterol total, Ácido úrico, QUICKI.....	51
Figura 7 –	Expressão proteica de Renina, corrigida pela beta-actina.....	54
Figura 8 –	Expressão proteica da ECA, corrigida pela beta-actina.....	55
Figura 9 –	Expressão proteica de AT1R, corrigida pela beta-actina.....	56
Figura 10 –	Expressão proteica de AT2R, corrigida pela beta-actina.....	57
Figura 11 –	Expressão gênica da Renina.....	59
Figura 12 –	Expressão gênica de AT1R.....	60
Figura 13 –	Expressão gênica de AT2R.....	61
Figura 14 –	Expressão gênica da ECA.....	61
Figura 15 –	Expressão gênica da ECA2.....	62
Figura 16 –	Expressão gênica da rMAS.....	63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGS –	ácidos graxos saturados
Akt –	<i>murine thymoma viral oncogene homolog</i> – homólogo da murina de oncogene viral
Ang –	angiotensina
Ang II –	angiotensina II
Ang (1-7) –	angiotensina (1-7)
ANOVA –	análise de variância
AT1r –	receptor de angiotensina 1
AT2r –	receptor de angiotensina 2
ATP –	<i>adenosine triphosphate</i> – adenosina trifosfato
AUC –	<i>area under the curve</i> – área sob a curva
C -	controle
Ca –	cálcio
cDNA –	complementary deoxyribonucleic acid – ácido desoxirribonucleico complementar
C-NT –	controle não treinado
CO <sub>2</sub> –	dióxido de carbono
C-T –	controle treinado
CT –	colesterol total
DCV –	doenças cardiovasculares
DNA –	deoxyribonucleic acid – ácido desoxirribonucleico
DP –	desvio padrão
EE –	expediente energético
ECA –	enzima conversora de angiotensina
ECA II –	enzima conversora de angiotensina II
FC <sub>máx</sub> –	frequência cardíaca máxima
GE –	gastrocnêmio
GLUT 2 –	<i>glucose transporter type 2</i> – transportador de glicose tipo 2
GLUT 4 –	<i>glucose transporter type 4</i> – transportador de glicose tipo 4
GLUT 5 –	<i>glucose transporter type 5</i> – transportador de glicose tipo 5
HF –	<i>high fat</i> – alto teor de gordura

HF – T – *high fat treinad* – alto teor de gordura treinado  
HFRU – *high fructose* – alto teor de frutose  
HFRU – T – *high fructose treinad* – alto teor de frutose treinado  
HIIT – *High-intensity interval training* – treinamento intervalado de alta intensidade  
HVE – hipertrofia do ventrículo esquerdo  
LDL-c - *low-density lipoprotein cholesterol* – lipoproteína de baixa densidade  
MC – massa corporal  
MICT – *moderate intensity continuous training* – treinamento contínuo de intensidade moderada  
mRNA – *messenger ribonucleic acid* – ácido ribonucleico mensageiro  
mTOR – *mechanistic target of rapamycin* – *proteína alvo da rapamicina*  
O<sub>2</sub> – oxigênio  
OS – óxido nítrico sintase  
PAS – pressão arterial sistólica  
QUICKI - quantitative insulin sensitivity check index - índice quantitativo de verificação da sensibilidade à insulina  
RNA – ácido ribonucleico  
RT-qPCR – *real time*-quantitative polymerase chain reaction – transcriptase reversa- quantitativo em tempo real  
SRA – sistema renina-angiotensina  
TOTG – teste oral de tolerância a glicose  
VE – ventrículo esquerdo  
VLDL - *very low density lipoprotein* – preteína de muito baixa densidade  
V:O<sub>2</sub> – volume máximo de oxigênio  
V:CO<sub>2</sub> – volume máximo de produção de dióxido de carbono  
WB – western blot

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
1	<b>OBJETIVO</b> .....	14
1.1	<b>Geral</b> .....	14
1.2	<b>Específico</b> .....	14
2	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.1	<b>Cardiopatia</b> .....	15
2.2	<b>Exercício físico</b> .....	16
2.3	<b>Exercício intervalado de alta intensidade (<i>High-intensity interval training</i>–HIIT)</b> .....	18
2.3.1	<u>Papel do HIIT sobre o sistema cardiovascular</u> .....	19
2.3.2	<u>Hipertrofia cardíaca e treinamento intervalado de alta intensidade</u> .....	21
2.4	<b>Sistema Renina-Angiotensina (SRA) local e doença cardiovascular</b> .....	25
2.5	<b>Efeitos cardiovasculares da alta ingestão de frutose</b> .....	28
2.6	<b>Efeitos da dieta hiperlipídica na doença cardiovascular</b> .....	30
3	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	32
3.1	<b>Animais e desenho experimental</b> .....	32
3.1.1	<u>Protocolo de Exercício</u> .....	34
3.1.2	<u>Teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e índice quantitativo de verificação da sensibilidade à insulina (QUICKI)</u> .....	35
3.1.3	<u>Calorimetria Indireta</u> .....	36
3.1.4	<u>Pressão arterial sistólica (PAS)</u> .....	36
3.1.5	<u>Eutanásia</u> .....	37
3.1.6	<u>Análise do coração</u> .....	37
3.1.7	<u>Análise bioquímica</u> .....	37
3.1.8	<u>Ácido úrico</u> .....	38
3.1.9	<u>Western blot</u> .....	38
3.2	<b>RT-qPCR</b> .....	39
3.3	<b>Análise Estatística</b> .....	40

4	<b>RESULTADOS</b> .....	41
4.1	<b>Pré-HIIT</b> .....	41
4.1.1	<u>Massa Corporal (MC)</u> .....	41
4.1.2	<u>Teste Oral de Tolerância à Glicose – TOTG</u> .....	41
4.2	<b>Pós-HIIT</b> .....	42
4.2.1	<u>Massa corporal (MC)</u> .....	42
4.2.2	<u>Calorimetria indireta</u> .....	43
4.2.3	<u>Teste Oral de tolerância à glicose - área sob a curva (AUC)</u> .....	44
4.2.4	<u>Índice quantitativo de verificação da sensibilidade à insulina (QUICKI)</u> .....	45
4.2.5	<u>Colesterol total (CT)</u> .....	45
4.2.6	<u>Triglicerídeos</u> .....	46
4.2.7	<u>Ácido úrico</u> .....	46
4.2.8	<u>Pressão arterial Sistólica – inicia</u> .....	47
4.2.9	<u>Pressão arterial Sistólica – final</u> .....	47
4.3	<b>Massa ventricular esquerda (VE)</b> .....	48
4.3.1	<u>Espessura da parede do ventrículo esquerdo</u> .....	48
4.4	<b>Western blot</b> .....	54
4.5	<b>Análise de mRNA - RT-qPCR</b> .....	58
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	64
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	69
	<b>ANEXO A - Certificado da Comissão de Ética para o cuidado e uso de animais experimentais</b> .....	79
	<b>ANEXO B - Submissão do artigo</b> .....	80

## INTRODUÇÃO

A prevalência de obesidade aumentou em todo o mundo e está associada ao nosso estilo de vida atual, que promove hábitos sedentários e maus hábitos alimentares como ingestão excessiva de frutose, principalmente em bebidas industrializadas e alimentos (Rippe e Angelopoulos, 2016a; Alwahsh e Gebhardt, 2017), ou a dieta ocidental, constituída por carboidratos excessivos e gordura. Essas condições estão colaborando com a incidência atualmente aumentada de doenças cardiovasculares (DCV) (Rippe e Angelopoulos, 2016b; Sacks *et al.*, 2017).

A inatividade física é prejudicial à função cardiovascular e tem sido associada a um risco aumentado de doenças crônicas, como diabetes tipo 2 e hipertensão arterial sistêmica (HAS) (Lakka *et al.*, 2003). Além disso, hoje em dia, a falta de tempo se constitui como uma das principais barreiras para exercer a adesão. Neste contexto, o treinamento intervalado de alta intensidade do inglês: high-intensity interval training (HIIT) se apresenta como um modo de treinamento que requer pouco tempo e pode ser descrito como "intervalos breves de atividade física vigorosa intercalados com períodos de baixa atividade ou repouso", o que induz uma forte resposta fisiológica aguda (Gibala *et al.*, 2012). Além disso, o HIIT demonstrou melhorias na redução dos fatores de risco cardiometabólicos como o treinamento contínuo tradicional de intensidade moderada do inglês: moderate intensity continuous training (MICT) (Burgomaster *et al.*, 2008; Gibala *et al.*, 2012).

Em relação às dietas, atualmente há um maior interesse no papel potencial dos açúcares adicionados, principalmente a frutose como fator contribuinte para a DCV. Quando consumido em concentrações elevadas, a frutose pode promover mudanças metabólicas como hiperuricemia, inflamação (Kanuri *et al.*, 2011) e HAS (Kanuri *et al.*, 2011).

É importante notar que a ingestão excessiva de gordura na dieta leva ao aumento da deposição lipídica nos tecidos adiposo e não adiposo. Além disso, a gordura dietética induz a oxidação de ácidos graxos e, conseqüentemente, aumenta os produtos da peroxidação lipídica promovendo uma cadeia de eventos que leva ao desenvolvimento de DCV (Liang *et al.*, 2014) como a hipertrofia ventricular esquerda (HVE) e a disfunção diastólica (Sverdlov *et al.*, 2016). Do mesmo modo, uma dieta com elevadas concentrações de frutose afeta negativamente a estrutura e função cardíaca (Huang *et al.*, 2016).

Por outro lado, a prática de exercícios físicos está fortemente associado ao risco reduzido de doença crônica e tem sido amplamente empregado para combater fatores de risco para obesidade, HAS e DCV (Bassuk e Manson, 2005; Bidwell *et al.*, 2014). Neste



contexto, evidências recentes indicam que o HIIT fornece um estímulo mais forte do que o MICT para provocar melhorias miocárdicas (Cassidy *et al.*, 2017).

No entanto, enquanto a relação entre exercício aeróbio e pressão arterial e saúde cardiovascular foi amplamente explorada (Fisher *et al.*, 2015; Pimenta *et al.*, 2015), pouco se sabe sobre os efeitos diretos do HIIT nos componentes moleculares do sistema renina-angiotensina (SRA), especialmente em modelos de obesidade induzida pela dieta rica em gordura ou rica em frutose.

Sabe-se que o SRA tem amplos efeitos reguladores cardiovasculares e sua anormalidade participa da geração e desenvolvimento da hipertensão (Giles, 2007). Desta forma, a hiperativação do SRA contribui para a fibrose miocárdica estrutural e funcional e hipertrofia cardíaca, e o SRA local no coração pode ter um papel decisivo (Cassidy *et al.*, 2017). A hiperatividade do SRA também causa sobrecarga de volume e vasoconstrição periférica, levando ao aumento das pressões diastólicas do VE, HVE e alterações da geometria cardíaca (Chinnaiyan *et al.*, 2005; Sciarretta *et al.*, 2009). Sabemos agora que o eixo clássico da enzima conversora de angiotensina (ECA) / angiotensina II (Ang II) / receptor de angiotensina 1 (AT1) não é a única via de sinal envolvida na ativação do SRA, mas outras vias como o eixo do ECA 2 / Ang (1-7) / receptor Mas (rMAS) desempenham um papel fundamental que se opõem aos efeitos de Ang II nos sistemas cardiovascular e renal (De Mello, 2017).

Considerando que os animais alimentados com dietas ricas em gordura ou alta concentração de frutose são modelos de ratos bem estabelecidos usados para estudar hipertrofia cardíaca / cardiomiopatia (Raheer *et al.*, 2008; Bouchard-Thomassin *et al.*, 2011), com resistência à insulina, HAS e hiperatividade do SRA e o papel fundamental que o desequilíbrio SRA toca em remodelação cardiovascular adversa, nós hipotetizamos que HIIT atenua a remodelação cardiovascular adversa e neutraliza as alterações metabólicas decorrentes da ingestão excessiva de gordura ou frutose em camundongos, modulando o SRA local. Para isso, avaliamos a proteína e a expressão gênica do sistema SRA no VE, bem como a morfometria da parede do VE; o perfil lipídico, a pressão arterial sistólica e a sensibilidade à insulina também foram avaliados para determinar como o HIIT impactou os parâmetros cardiometabólicos após a ingestão de frutose ou dieta rica em gordura.

## 1 OBJETIVOS

### 1.1 Geral

- Analisar qualitativa e quantitativamente os mecanismos benéficos do HIIT sobre o sistema cardiovascular de camundongos C57BL/6 submetidos à dieta rica em frutose e hiperlipídica.

### 1.2 Específicos

- Avaliar o metabolismo basal e parâmetros biométricos, antes e após o protocolo de treinamento;
- Analisar o remodelamento cardiovascular, através de ferramentas estereológicas;
- Avaliar os efeitos do treinamento de alta intensidade no metabolismo de carboidratos, lipídios e pressão arterial;
- Determinar a expressão gênica e tecidual de proteínas específicas do coração para avaliar a ativação local do sistema renina angiotensina-aldosterona.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Cardiopatia

Cardiopatia é o termo que abrange todas as doenças que acometem o coração sendo elas as doenças do miocárdio, cardiopatias congênitas, infecções cardíacas, valvulopatias, cardiopatia isquêmica e hipertensiva (Kalla *et al.*, 2016).

Epidemiologicamente, de acordo com a OMS as doenças cardiovasculares foram responsáveis por 30% de mortalidade, tendo um indivíduo a possibilidade de desenvolver uma cardiopatia em uma estimativa de 15% em um período de 10 anos (SIGN, 2007). Tendo uma possibilidade de 90% de desenvolver um infarto agudo do miocárdio (IAM) caso os hábitos de ressicco não sejam modificados. E, não obstante, as incapacidades geradas pelas doenças cardiovasculares tendem a aumentar passando de 85 milhões de pacientes para 150 milhões de pacientes até 2020 (Ko *et al.*, 2006; SIGN, 2007).

No Brasil estima-se que cerca de que em 345,111 pessoas morreram devido a algum tipo de doença cardiovascular, tendo um aumento em mortalidade de 82,73% no período de 2004-2015 (SBC, 2015). Neste quadro temos uma predominância das mortes por isquemia cardíaca (com destaque para o IAM) atingindo 54,6 pessoas por 100 mil habitantes no ano de 2013, neste ano também, tivemos um pico de 23,9 mortes por 100 mil habitantes causadas por doenças hipertensivas destacando a hipertensão arterial sistêmica (HAS) (SBC, 2015). Em 2011 Mansur e Favarato (Mansur e Favarato, 2012) já identificavam a principal causa de morte entre homens e mulheres no Brasil, sendo responsáveis por 20% das mortes em indivíduos maiores de 30 anos.

Andando em parceria com estes dados temos que as doenças cardiovasculares em crianças vêm se manifestando cada vez mais, atingindo entre 8 a 10 crianças em cada 1000 nascidos segundo Junior *et al* 2002 (Pinto JR *et al.*, 2004). Esses dados deixando claro a necessidade de uma política de intervenção cada vez maior sobre este tipo de manifestações cardiopatológicas.

Dentro dessas patologias temos um fator agravante muito importante e que vem crescendo cada vez mais, a HAS, sendo uma das causas mais comuns de IAM

e acidente vascular encefálico (AVE) (MS, 2006) Um levantamento feito, em 2015, nos Estados Unidos da América constatou que a HAS estava presente em 69% dos pacientes que vieram a desenvolver um IAM, 77% que desenvolveram AVE, 75% com insuficiência cardíaca (IC), e 60% com doença arterial periférica (DAP) (MS, 2006)

No Brasil estima-se que a HAS acometa cerca de 36 milhões de indivíduos adultos (32,5%) sendo um dos principais contribuintes para a morte por doença cardiovascular (SBC, 2016), de 2004 a 2013 houveram 411,529 óbitos por doenças hipertensivas ou HAS equivalendo a 3,74% do número total de óbitos no Brasil neste período (SBC, 2015). Segundo dados estatísticos a morte por cardiopatias aumenta progressivamente a elevação da pressão arterial (PA) a partir de 115/75 mmHg (SBC, 2010). Estimativas em cidades brasileiras no decorrer dos últimos 20 anos apontaram prevalência de HAS a cima de 30%.

Dentre os fatores de risco prevalentes na etiologia da HAS temos e sobrepeso e a obesidade onde, mesmo entre indivíduos fisicamente ativos, um aumento de  $2,4\text{kg}/\text{m}^2$  no índice de massa corporal eleva o risco de desenvolvimento de HAS. A ingestão de sal e o sedentarismo também são poderosos fatores de influência na prevalência da HAS (SBC, 2010).

## 2.2 Exercício físico

Atualmente muito se tem em voga a prática de exercícios como uma forma de melhorar a saúde, relaxar, diversão, evasão da realidade, convívio social, entre tantas outras possibilidades (Anderson e Shivakumar, 2013). Dentro desta miríade o tipo de exercício que enfocamos é o que se pratica em prol da saúde.

O termo exercício por si só não se revela como a real intenção de pratica-lo na busca por uma saúde melhor. O que deve ser entendido é que, para caracterizarmos que tipo de exercício faremos para termo os resultados benéficos que esperamos na saúde é necessário saber seu tipo de empregabilidade. Por definição, “atividade física” é uma expressão genérica que engloba qualquer tipo de movimento realizado pelo arcabouço locomotor que realiza um dispêndio energético maior que o repouso. Já “exercício físico “ é todo movimento do arcabouço locomotor que se realizada de forma planejada visando manter ou aumentar a saúde otimizando assim, a aptidão

física (Mochcovitch *et al.*, 2016) Logo, iremos empregar neste estudo o termo: exercício físico.

Analogamente, o exercício físico vem se mostrando uma potente ferramenta de tratamento não-farmacológico para a SM (Boudet *et al.*, 2016), (Lee *et al.*, 2016a). Exercícios como caminhadas, corridas, andar de bicicleta, atividades contra resistência, calistenia, dentre outras múltiplas modalidades de exercício se apresentam com enormes funcionalidades e benefícios para a saúde.

Vehí e colaboradores (2016) (Vehi *et al.*, 2016) obtiveram com um protocolo de marcha nórdica (tipo de caminhada utilizando um bastão em cada mão para impulsionar o corpo) realizado 2 vezes na semana por um período de uma ano, melhora na percepção de esforço destes paciente, assim como redução na média da massa corporal de  $92,22 \pm 15,88$  para  $90,34 \pm 17,77$  kg, e todos os marcadores relativos ao diagnóstico da SM glicose e hemoglobina glicada, colesterol LDL e HDL, pressão arterial sistólica e diastólica e triglicerídeos.

Corroborando com estes resultados Lee et al (2016) (Lee *et al.*, 2016a) identificaram redução nos parâmetros que definem a SM em indivíduos que praticaram exercício físico uma ou mais vezes por semana, maiores do que os que não praticaram nenhum tipo de atividade física. Identificou também, que o tipo e a frequência do exercício físico adotado influenciam diretamente nos resultados sobre a SM.

Pierard e colaboradores (2016) (Pierard *et al.*, 2016) submetem roedores a um treinamento em esteira rolante em que chegaram a um tempo máximo de 60 minutos ao final do treinamento e identificaram redução na MC, na glicemia, e nos receptores de 1 e 2 de adiponectina.

Em outro estudo, Mitranun et al. (2014) (Mitranun *et al.*, 2014) comparou grupos de indivíduos adultos portadores de diabetes tipo 2 submetido ao treinamento contínuo e um segundo grupo, ao High intensity interval training (HIIT). Ambos utilizando a esteira rolante como forma de exercício. Ao final do protocolo de treinamento foi identificado redução em todos os componentes de SM, nível de glicemia e colesterol (LDL e HDL), triglicerídeos, hemoglobina glicada, redução da resistência à insulina, MC e índice de massa corporal (IMC) e níveis de pressão arterial sistólica e diastólica para ambos os grupos treinados; tendo, ao final do estudo, um equilíbrio de respostas benéficas de ambos os grupos ao treinamento.

Diante desses expostos percebemos que mais de um tipo de exercício físico se apresenta como opção para o tratamento não farmacológico da SM, sendo cada um deles efetivos em suas particularidades.

### **2.3 Exercício intervalado de alta intensidade (*High-intensity interval training*–HIIT)**

O exercício desempenha um papel central no controle e tratamento de doenças metabólicas comuns, mas a sociedade moderna apresenta muitas barreiras ao exercício. Em adultos, a quantidade recomendada de exercício físico para modificar os riscos à saúde é equivalente a 150 min/semana de exercício contínuo de intensidade moderada (MICT) ou 75 min/ semana de exercício vigoroso (Garber *et al.*, 2011). A maior barreira à atividade física regular é a falta de tempo, o que questiona a praticidade do MICT na população total de adultos, considerando sua rotina de compromisso (Samir *et al.*, 2011). O HIIT pode ser descrito como "breves intervalos de atividade vigorosa intercalados com períodos de baixa atividade ou repouso", o que induz uma forte resposta fisiológica aguda e tem sido amplamente estudado na última década (Gibala *et al.*, 2012) .

Vários protocolos do HIIT foram adotados na literatura, porém a maioria das intervenções usam intervalos de alta intensidade de 1 a 4 minutos. O objetivo do HIIT é acumular atividade em uma intensidade que o participante seja incapaz de sustentar por períodos prolongados (ou seja, 80-95% do consumo máximo de oxigênio (pico  $V:O_2$ ) ou > 90% da frequência cardíaca máxima (FC<sub>máx</sub>), pelo que o tempo de recuperação deve ser suficiente para permitir que o intervalo subsequente seja completado com a intensidade desejada (Nicolo e Girardi, 2016). A duração total de uma sessão HIIT tende a ser  $\leq 20$  min, que são comparáveis com as recomendações de órgãos moderadores de exercício físico, em termos de duração. Há também uma subcategoria de HIIT envolvendo intervalos de 10-30 segundos e intensidades que frequentemente excedem 100%  $V:O_2$ pico, isto é, exercício "all-out" com uma carga de trabalho acima da capacidade aeróbia máxima. Esse tipo de exercício é chamado de treinamento de intervalo de sprint e não foi testado substancialmente em populações clínicas (Burgomaster *et al.*, 2005).

A maior parte dos estudos publicados utilizando o HIIT, particularmente em populações clínicas, usou modalidades de exercício envolvendo ciclismo, caminhada e corrida, a maioria realizada em ciclos estacionários e esteiras. No entanto, outros equipamentos, como cross-trainers/ellipticals são opções razoáveis para alguns (Fex *et al.*, 2015). Evidentemente, existe uma clara variação em toda a literatura e ainda está por determinar se existe um protocolo ótimo do HIIT para o tratamento da alterações metabólicas.

### 2.3.1 Papel do HIIT sobre o sistema cardiovascular

Complicações cardiovasculares são a principal causa de mortalidade naqueles com doenças metabólicas comuns (Rafiq *et al.*, 2009). O *design* do intervalo do HIIT para incluir períodos de descanso permite aos pacientes acumular tempo em intensidades de exercício mais elevadas, desafiando assim o sistema cardiovascular. Evidências limitadas indicam que o HIIT fornece um estímulo mais forte do que MICT para induzir melhorias miocárdicas. Ao lado do impacto benéfico do HIIT sobre a aptidão vascular e cardiorrespiratória, isso sugere que o benefício cardiovascular do HIIT supera o benefício metabólico (Nicolo e Girardi, 2016).

No tocante às adaptações cardíacas adquiridas com a prática do HIIT, a maior parte dos mecanismos moleculares é obtida a partir de estudos em modelos experimentais de roedores, devido à dificuldade de obtenção de tecido miocárdico humano. Os corações de roedores apresentam semelhanças com os corações humanos e imitam o ser humano na resposta cardíaca ao exercício físico (Hasenfuss, 1998; Hollekim-Strand *et al.*, 2014). O modelo de camundongos db/db proporciona uma boa representação do coração humano em pacientes diabéticos. Após 13 semanas de HIIT, a contratilidade e a disponibilidade de Ca<sup>2+</sup> foram restauradas para níveis normais (Stolen *et al.*, 2009). Estas adaptações ocorreram apesar de nenhuma melhora nas concentrações de glicose ou insulina, demonstrando o impacto direto do HIIT sobre o miocárdio. Adaptações similares foram observadas em modelos de insuficiência cardíaca e roedores saudáveis (Wisloff *et al.*, 2002; Kemi *et al.*, 2005), com maiores alterações ocorrendo após exercício de alta intensidade com 85-90% do

consumo máximo de oxigênio [ $V:O_2\max$ ]) em comparação com exercício de intensidade moderada (65-70%  $V:O_2\max$ ) (Kemi *et al.*, 2005).

O exercício também ativa a fosfoinositol-3 quinase/Akt, alvo da transdução de sinal da rapamicina (mTOR) que conduz à elevação da biogênese ribossomal e à síntese protéica, induzindo assim a hipertrofia fisiológica HIIT (85-90%  $V:O_2\max$ ) versus moderada (65-70%  $V:O_2\max$ ) MICT (Wisloff *et al.*, 2002; Kemi *et al.*, 2005).

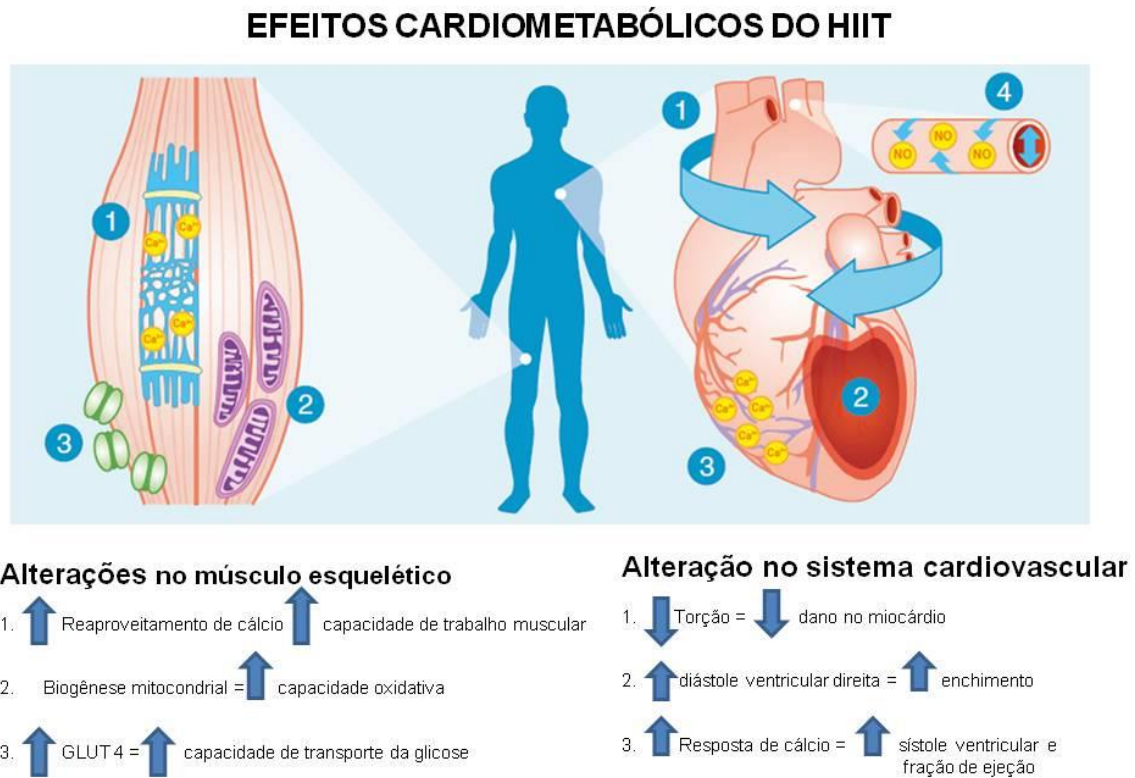
As vias ativadas induzidas pelo exercício nos modelos de doença podem diferir (Wisloff *et al.*, 2002), mas modelos saudáveis de humanos e de roedores indicam que o exercício estimula importantes mecanismos de regulação transcricional e translacional que levam ao remodelamento estrutural do tecido cardíaco e, assim, à melhora da força das contrações cardíacas (Stolen *et al.*, 2009).

Em relação à estrutura cardíaca é postulado que adultos com doenças metabólicas comuns apresentam remodelamento concêntrico do ventrículo esquerdo, o que representa uma redução no volume diastólico final e também é conhecido como hipertrofia patológica (Zile *et al.*, 2011). Esta redução no volume diastólico final ocorre em resposta aos sinais de estresse e é reflexo de um acúmulo de colágeno no miocárdio (Frey *et al.*, 2004). O HIIT, por outro lado, demonstrou induzir hipertrofia fisiológica (Cassidy *et al.*, 2016), aumentando a massa da parede ventricular esquerda e o volume diastólico final por meio de uma resposta fisiológica aos sinais de crescimento (Frey *et al.*, 2004). O número de estudos que investigam a estrutura cardíaca após HIIT é pequeno; recente estudo demonstrou um aumento de 8 ml no volume diastólico final após 12 semanas de HIIT em pacientes com diabetes tipo 2 (Cassidy *et al.*, 2016). Além disso, o gasto energético do HIIT mostrou ser superior ao gasto energético do MICT, e somando-se a este fator causou remodelamento estrutural cardíaco naqueles com hipertensão arterial (Molmen-Hansen *et al.*, 2012).

Outro aspecto cardiovascular de importante papel do HIIT é no controle da hipertensão arterial. Sendo assim, estudo recente relatou que doze semanas de HIIT induziram melhora na pressão sistólica em adultos com diabetes tipo 2 (Hollekim-Strand *et al.*, 2014; Cassidy *et al.*, 2016), hipertensão (Molmen-Hansen *et al.*, 2012) e insuficiência cardíaca. Doze semanas de HIIT em pacientes hipertensos melhoraram os eventos iniciais na sístole, que se correlacionam com a contratilidade e são independentes da carga (Molmen-Hansen *et al.*, 2012). Essas melhorias são iguais às observadas com o tratamento farmacológico comumente usados, como inibidores da ECA ou betabloqueadores (Wisloff *et al.*, 2007).



Figura 1 – Efeitos cardiometabólicos do HIIT. A figura mostra o impacto muscular e cardiovascular do HIIT nas doenças metabólicas comuns



Nota: Adaptado de Cassidy e colaboradores  
 Fonte: (Cassidy *et al.*, 2017).

### 2.3.2 Hipertrofia cardíaca e treinamento intervalado de alta intensidade

A hipertrofia cardíaca caracteriza-se como uma resposta do coração a elevação da demanda de funcional de trabalho por este executado, devido a um agente interveniente causador de sobrecarga hemodinâmica crônica. Muitos fatores são responsáveis por causar esta hipertrofia, porém, a estreita relação com a carga hemodinâmica leva a deformações pressóricas e elevação da tenção causadas na parede cardíaca levando ao aumento do volume dos miocárdios (Franchini, 2001).

Como as células do miocárdio são incapazes de se dividirem na vida adulta, sua hipertrofia acaba se dando devido as adaptações pressóricas o que leva a um

aumento na massa miocárdica (Anversa *et al.*, 1986), originando um espessamento na parede das câmaras cardíacas sendo mais acentuada na parede do ventrículo esquerdo (VE)

Cabe ressaltar que há diferentes tipos de hipertrofia cardíaca apresentado, assim, características estruturais diferentes onde hipertrofia pressórica, sobrecarga de volume e resposta ao treinamento físico são totalmente dispares em seus fatores funcionais, contudo, apresentam o aumento da carga hemodinâmica no coração como um fator patogênico comum (Levy *et al.*, 1990).

Quando a hipertrofia cardíaca está relacionada a condições patológicas como a HAS ela se tonar muito mais nociva ao ser humano, alçando-se a um dos principais riscos de morbimortalidade podendo levar a morte súbita, disfunção ventricular sistólica e diastólica, arritmia ventricular e isquemia miocárdica. Como podemos ver, esta hipertrofia por si só, já se constitui como um potente fator de risco (Mill e Vassallo, 2001). Cabe ressaltar que, não é a penas a HAS que irá ser um aliado negativo a hipertrofia cardíaca, mas também, as valvopatias, doenças genéticas, comunicações intracavitárias, entre outras.

Como podemos ver, a hipertrofia cardíaca se caracteriza como um dos grandes males da atualidade, contudo, não é toda hipertrofia cardíaca que será ruim. Há diferenças importantes entre a hipertrofia patológica e a causada por exercício físico, sendo esta conhecida como hipertrofia fisiológica (Mihl *et al.*, 2008).

Dentro da hipertrofia cardíaca patológica existem dois tipos de hipertrofia diferentes com respostas fisiopatológicas (maléficas) diferentes, sendo estas: hipertrofia concêntrica do miocárdio e hipertrofia excêntrica do miocárdio (Mihl *et al.*, 2008).

Segundo Katz e Rolett (2016) (Katz e Rolett, 2016) a hipertrofia concêntrica do miocárdio consiste na síntese de sarcômeros novos dispostos em paralelo em relação aos sarcômeros já existentes aumentando, assim, a força de contração do cardiomiócitos. Isto faz com que haja um espessamento da parede do miocárdio ultrapassando o limite do miocárdio, sendo o VE a estrutura cardíaca mais afetada. Conforme a evolução desta patologia há uma tendência a redução do espessamento deste miocárdio o que traz consigo, uma redução na contratilidade do coração levando a cardiomiopatia dilatada. Esta hipertrofia se desenvolve sobre o estímulo de sobrecarga no VE de pressão arterial sistêmica, por exemplo (Nadruz, 2015).

Já na hipertrofia excêntrica do miocárdio os novos sarcômeros se dispõem em série em relação aos já existentes, o que leva a um alongamento dos cardiomiócitos gerando um aumento no volume da cavidade do VE e a redução e ineficiência da contratilidade do miocárdio (Matos-Souza *et al.*, 2008; Barsukov *et al.*, 2015). Cabe considerar que os estímulos causadores deste quadro são originados por uma sobrecarga volumétrica como a insuficiência mitral.

Relativo a hipertrofia fisiológica, esta ocorre como resposta ao crescimento do ser humano, no período de gravidez e através da prática de exercícios físicos (Matos-Souza *et al.*, 2008). As adaptações geradas terão um fim benéfico otimizando o funcionamento do sistema cardiovascular, uma vez que estas se darão através de solicitações hemodinâmicas oriundas, dentre outras, do exercício físico (Mangold *et al.*, 2013). Estas adaptações respondem com o alongamento e melhor tensão nas células cardíacas o que gera um aumento das miofibrilas dos cardiomiócitos (Mihl *et al.*, 2008).

Em praticantes de exercício físico semelhantes endurece como ciclismo e corrida, apresentam um maior volume ventricular esquerdo com um aumento na frequência cardíaca, volume sistólico, débito cardíaco e pressão arterial gerando uma sobrecarga neste VE. A resposta do coração para esta demanda é aumentar a câmara e espessura da parede do VE, com os novos sarcômeros dispostos em série com relação aos já existentes. Esta alteração se apresenta como benéfica uma vez que não tem efeitos deletérios e não traz complicações patológicas (Mihl *et al.*, 2008; Scharf *et al.*, 2010).

Nos praticantes de exercícios contra resistência como musculação, as adaptações cardiológicas apresentam aumento da espessura da parede ventricular, porém, nunca ultrapassando os limites fisiológicos estando os sarcômeros dispostos em paralelo em relação aos já existentes, e há um ligeiro aumento da câmara ventricular. Estas adaptações se dão devido ao estímulo gerado por períodos, intermitentes, de elevação da PA, FC, volume sistólico e débito cardíaco (Mihl *et al.*, 2008).

Cabe ressaltar que, mesmo a disposição dos sarcômeros parecendo semelhantes nos quadros de hipertrofia patológica e fisiológica existem diferenças cruciais na disposição deste sarcômeros uma vez que, na hipertrofia cardíaca patológica estes se mantêm aglutinados (prejudicando, desta forma, o funcionamento

do miocárdio) em relação aos sarcômeros da hipertrofia fisiológica, sejam eles dispostos em paralelo ou em série (Matos-Souza *et al.*, 2008).

Whalley *et al.* (2004) (Whalley *et al.*, 2004) em estudo realizado em Auckland, Nova Zelândia, utilizou grupos de homens jovens e idosos dividindo-os entre treinados e não treinados, utilizando como critério para treinado indivíduos que praticavam regularmente exercício físico por mais de dois anos e os não treinados (NT), o contrário disso e livre de doenças cardíacas. O grupo idoso (60 – 80 anos) teve 18 homens NT e 18 treinados, e o grupo jovem (20 – 30 anos) teve 12 NT e 10 treinados. Apesar da idade, os autores consideraram ambos, idosos e jovens, no mesmo grupo NT e treinado não identificando resultados disparees devido a variação da faixa etária. Os indivíduos treinados apresentaram melhores parâmetros morfométricos e de tolerância ao esforço em relação aos não treinados; identificou também, uma elevação nos indivíduos treinado de diâmetro diastólico e sistólico final no VE assim como uma elevação na sua massa, porém, sem ter alteração no espessamento da parede do mesmo.

Radovits e colaboradores (2013) (Radovits *et al.*, 2013) utilizaram ratos wister jovens como modelo experimental de treinamento com natação, submetendo os animais a 12 semanas de treino com 200 minutos por sessão de treinamento, durante 5 dias na semana. Os grupos foram divididos entre treinado e NT, e entre grupo treinado/destreinado e destreinado controle. Foi identificado que o treinamento de natação, quando comparado ao grupo NT, induz hipertrofia cardíaca caracterizada por uma melhor performance sistólica acompanhada por um melhor relaxamento, e melhora na reposta mecanoenergética do coração. Observaram também, um ligeira aumento na espessura da parede do VE e em sua massa, e aumento no diâmetro dos cardiomiócitos. Os autores salientam que as respostas dependem da intensidade, duração e frequência da prática de exercícios. Quanto ao destreinamento, foi identificado que em um período de sedentarismo de 8 semanas após o treinamento fizeram os animais retornarem aos níveis basais de antes do treinamento.

Em um estudo realizado em New Castle, Inglaterra, Cassidy *et al.* (2016) (Cassidy *et al.*, 2016) utilizou 24 pacientes masculinos com diabetes mellitus tipo 2 e submeteu-os ao treinamento HIIT. Dividiu os pacientes em 2 grupos: controle (n=14) e HIIT (n=14). Os pacientes do grupo HIIT treinaram por 12 semanas, com 3 sessões de treinamento/semana com a intensidade do exercício sendo baseada na escala de Borg. Este treinamento gerou um leve aumento na massa do VE, no volume diastólico

final (indicando uma expansão da câmara do VE), melhora na função sistólica o que levou a uma elevação no volume ejetado com isso, apresentou, também, elevação na fração de ejeção do VE.

Mais uma vez, torna-se possível identificar os benefícios oriundos do treinamento físico na resposta cardíaca. Mais ainda, vem se destacando o HIIT como uma nova e ágil forma de intervenção não farmacológica para tratamento de malefícios causados no sistema cardiovascular e no funcionamento do coração.

## 2.4 Sistema Renina-Angiotensina (SRA) local e doença cardiovascular

O SRA é um dos sistemas hormonais filogeneticamente mais antigos e conseqüentemente bem conservado principalmente nas espécies altamente desenvolvidas (Steckelings *et al.*, 2009). Nos tempos antigos, o SRA serviu para equilibrar a homeostase de eletrólitos em tempos de falta de sal. Além disso, foi e continua a ser substancialmente envolvido na manutenção da circulação corporal em situações de rápida perda de volume. Quando superativado, o SRA contribui para muitas doenças, como lesões causadas pela hipertensão, diabetes e aterosclerose (Hall *et al.*, 1990).

De acordo com a visão tradicional, o angiotensinogênio produzido pelo fígado é convertido em Angiotensina (Ang) I através da ação da renina, uma enzima sintetizada por células do aparelho justaglomerular dos rins (Hall *et al.*, 1990). Subseqüentemente, o Ang I é clivado pela enzima conversora de angiotensina (ECA) produzida nos pulmões e rins gerando assim, a Ang II, que exerce os seus efeitos através da ligação a dois receptores acoplados à proteína G denominados receptor de angiotensina tipo 1 (AT1) e tipo 2 (AT2) (Touyz e Berry, 2002).

Nas duas últimas décadas, a compreensão do SRAA foi amplificada pela identificação de novas enzimas, receptores e diversos mediadores localmente ativos, incluindo Ang-(1-7), Ang III (Simoes e Silva *et al.*, 2013). Estes peptideos são formados através da hidrólise de Ang I ou Ang II por várias enzimas (Vickers *et al.*, 2002). Por exemplo, ECA2 é uma metaloprotease de zinco homóloga à ECA, que converte Ang II diretamente em Ang-(1-7) ou Ang- (1-9) a partir da hidrólise de Ang I (Donoghue *et al.*, 2000; Rice *et al.*, 2004). No entanto, Ang-(1-7) é produzida nos ovários e rins,

atuando, principalmente, através da ação da ECA 2 em Ang II, que tem 400 vezes mais afinidade para ECA2. Ang- (1-7) liga-se a um receptor específico, denominado receptor Mas, que também é um receptor acoplado as proteínas transmembranares G (Santos *et al.*, 2003).

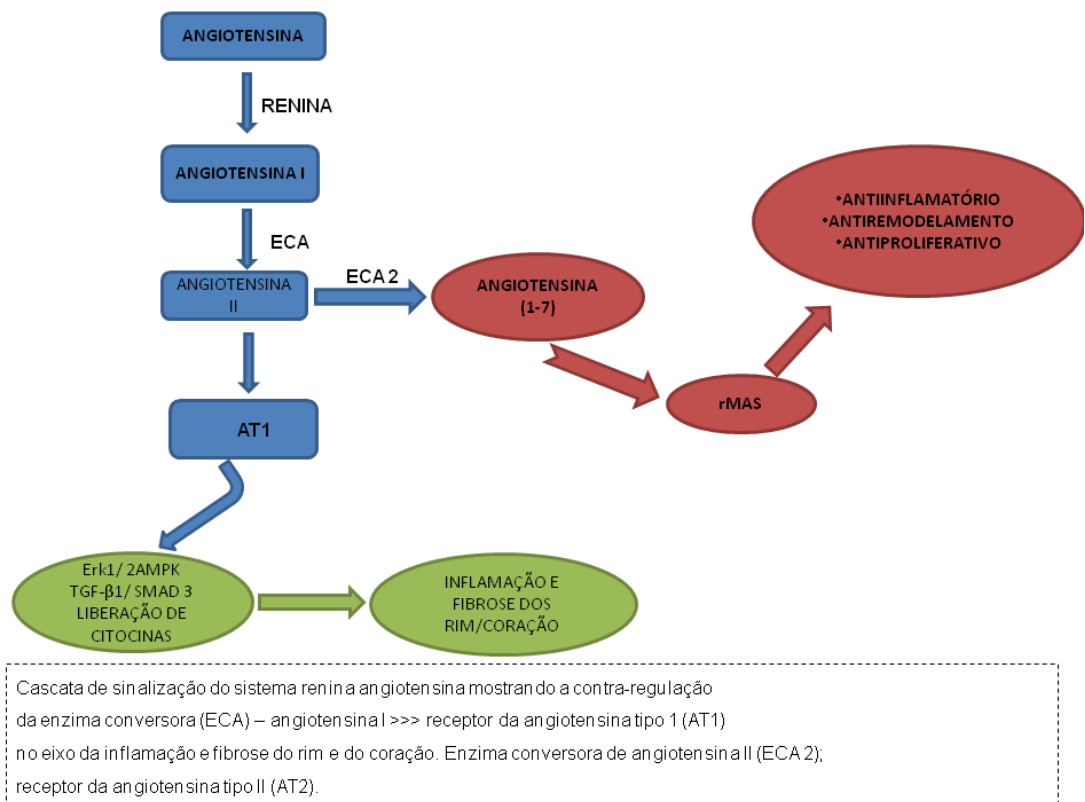
A interação da Ang-(1-7) com o receptor Mas desencadeia mecanismos intracelulares e eventos funcionais que, em geral, se opõem às ações desencadeadas por Ang II. A Ang-(1-7) produz vasodilatação, inibição do crescimento celular, efeitos antitrombóticos, anti-inflamatórios e anti-fibróticos (Passos-Silva *et al.*, 2015). Portanto, foi proposto que a ativação de ambos os eixos contra-regulatórios do SRA, ECA2/Ang-(1-7)/rMas e ECA2/Ang-(1-9)/AT2, possa opor-se aos efeitos da ECA/AngII/ AT1 e prevenir ou reverter a lesão de órgãos em modelos experimentais de doenças renais e cardíacas (Flores-Munoz *et al.*, 2012).

A presença do SRA em órgãos específicos foi demonstrada para o coração, grandes artérias e arteríolas, rins e outros órgãos, sua ativação leva a mudanças estruturais e funcionais, independentes das provocadas pelo SRA clássico . Os componentes desse SRA local, por exemplo, foram encontrados em células e tecidos e algumas de suas funções locais desempenham um papel importante na homeostase celular (De Mello, 2017). Além disso, a síntese de vários componentes do SRA foi detectada no coração (Bader, 2002) e estudos prévios realizados em suínos, indicaram que até 75% da Ang II cardíaca é sintetizada localmente (van Kats *et al.*, 1998). Os receptores AT1 e AT2 da Ang II, são rapidamente internalizados contribuindo para a regulação negativa da expressão da renina em cardiomiócitos (Hein *et al.*, 1997).

Em humanos, os gradientes de Ang II em todo o coração foram aumentados em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva, achado correlacionado com o estresse da parede cardíaca. Em casos de falência cardíaca, a concentração local de Ang II é elevada e a quantidade de Ang II cardíaca liberada está relacionada aos sinais patológicos da insuficiência cardíaca (Sernerri *et al.*, 2001). O papel preciso dos diferentes componentes do SRA na doença cardíaca, não é completamente entendido. Contudo, modelos de camundongos transgênicos foram desenvolvidos para examinar o papel do SRA na hipertrofia cardíaca e os resultados mostraram a presença de hipertrofia ventricular ou fibrose, em alguns modelos, mas em outros não (Bader, 2002).

De acordo com esses estudos, a hipertrofia ventricular é muito mais dependente das alterações hemodinâmicas do que dos níveis locais de Ang II (Xu *et al.*, 2010). Estudos recentes em camundongos transgênicos indicaram que quando as condições hemodinâmicas permanecem inalteradas, a Ang II cardíaca não altera o tamanho do coração ou as funções cardíacas (Xu *et al.*, 2010). No entanto, em animais com hipertensão, a Ang II cardíaca, através do receptor AT1 aumenta a inflamação, o estresse oxidativo e a morte celular (provavelmente via down regulação de PI 3-quinase e Akt), contribuindo assim para hipertrofia cardíaca e fibrose. Estudos em camundongos da linhagem TG1306/1R também demonstraram que a superexpressão a longo prazo do angiotensinogênio no coração conduz a uma síntese aumentada de Ang II, com conseqüente disfunção sistólica e diastólica e comprometimento do acoplamento excitação-contração (Domenighetti *et al.*, 2005).

Figura 2: Cascata do Sistema Renina Angiotensina. O SRA convencional, incluindo os efeitos opostos da Ang II e da Ang (1-7) na fisiopatologia cardiovascular.



Nota: adaptado de Melo e colaboradores  
Fonte: De Mello, 2017

## 2.5 Efeitos cardiovasculares da alta ingestão de frutose

Puro, branco e mortal, assim vem sendo descrito o lado prejudicial do açúcar com ações deletérias descritas há muitos anos, quando uma associação entre o consumo de açúcar e as doenças coronárias foi estabelecida (Yudkin, 1963). A frutose, além de contribuir para metade do teor total do açúcar de mesa, também pode ser encontrada como uma hexose em frutas e mel. Mais recentemente, os edulcorantes começaram a ser produzidos a partir do milho através do isolamento do amido e hidrólise para glicose, seguido por isomerização enzimática de parte da glicose em frutose (Wolf *et al.*, 2008).

A mistura resultante, conhecida como xarope de milho rico em frutose, tem várias vantagens industriais sobre o açúcar, o mais importante é que devido ao seu baixo preço, ele tem substituído progressivamente o consumo de açúcar na América do Norte nos últimos 30 anos. O metabolismo da frutose será brevemente delineado aqui. No intestino, a frutose é transportada por transportadores específicos, GLUT5, localizado na membrana do enterócito com borda em escova do intestino delgado (Douard e Ferraris, 2008). Atinge a circulação sanguínea porta-hepática através de outro transportador o GLUT2 presente na membrana baso-lateral do enterócito; em seguida a frutose entra rapidamente no hepatócito também pelo transportador GLUT 2, não sendo necessário a hidrólise de ATP (Cheeseman, 1993; Colville *et al.*, 1993).

A frutose é fosforilada de imediato no carbono 1 resultando em frutose-1-fostato (P), pela enzima frutoquinase altamente específica para frutose. A frutose também pode ser fosforilada no carbono 6, frutose-6-P, pela enzima hexoquinase, porém essa possui maior afinidade pela glicose, ocorrendo esta reação em menor quantidade (Hallfrisch, 1990). A frutose-1-P é metabolizada em duas trioses-P, a diidroxicetona e o gliceraldeído-3-P, através da enzima aldolase-B. Estas poderão seguir três caminhos diferentes: a via glicolítica, para produzir energia através do piruvato; a via da lipogênese *de novo* realizando síntese de lipídeos e a via da glicogênese para produzir glicose para ser estocada na forma de glicogênio (BARREIROS *et al.*, 2005). Simultaneamente, a frutose inibe a oxidação de lipídios hepáticos, assim favorecendo a reesterificação dos ácidos graxos e síntese de lipoproteína de muito baixa densidade – triglicerídeos (*very low density lipoprotein VLDL*) (Topping e Mayes, 1972).



Uma vez que o metabolismo da frutose não depende da secreção de insulina, pelo menos para os seus passos iniciais, e porque a ingestão de frutose provoca apenas um aumento limitado da glicemia, a frutose foi inicialmente proposta como um substituto natural da sacarose para diabéticos. Contudo, tornou-se rapidamente evidente que uma maior ingestão dietética de frutose possui efeitos metabólicos adversos graves tanto em roedores quanto em seres humanos (Tappy e Le, 2010). Assim, foi reconhecido que uma ingestão alta de frutose está associada a concentrações aumentadas de triglicérides plasmáticos, esteatose hepática, tolerância à glicose diminuída e resistência à insulina, e pressão arterial elevada (Havel, 2005).

Os efeitos adversos da frutose sobre o metabolismo da glicose estão intimamente ligados às alterações do metabolismo lipídico. Em ratos, o teor de gordura intra-hepática e as concentrações de VLDL aumentaram após 6 semanas de ingestão de uma dieta alta em frutose, enquanto que o teor de gordura intramuscular aumenta em cerca de 3 meses. De modo interessante, a resistência à insulina hepática é observada logo após a mudança para uma dieta com alto teor de frutose (Bizeau e Pagliassotti, 2005). Isto sugere que a resistência à insulina induzida pela frutose está intimamente ligada à deposição ectópica de lípidos (Unger, 2003). Além disso, a frutose também é conhecida por aumentar o ácido úrico plasmático, que pode estar envolvido no desenvolvimento da resistência à insulina. Em ratos, a hiperuricemia induzida pela frutose resulta na inibição da óxido nítrico sintase (OS) e foi proposto que a inibição dos efeitos vasculares da OS pelo ácido úrico estavam envolvidos na resistência a insulina induzida por frutose (Nakagawa *et al.*, 2006).

Estudos prévios demonstraram que dietas ricas em açúcares simples (> 20% kcal) podem resultar em triglicérides elevados, um fator de risco conhecido para doença cardiovascular (Aeberli *et al.*, 2011). Por essa razão, o American Heart Association preconiza evitar o excesso de frutose como um mecanismo nutricional para a prevenção da hipertrigliceridemia (Miller *et al.*, 2011).

Foram relatados efeitos variáveis relacionados ao consumo de açúcar e à pressão arterial. Johnson e colaboradores propuseram um mecanismo pelo qual o metabolismo da frutose pode resultar em níveis aumentados de ácido úrico, que subsequentemente provoca uma redução nas concentrações de óxido nítrico endotelial, que está ligado à hipertensão (Johnson *et al.*, 2007).

Outro mecanismo que explica a relação da frutose com a hipertensão é de que o excesso de frutose leva ao aumento da expressão de AT1-R em roedores (Giacchetti *et al.*, 2000); o terceiro mecanismo, sugere que a presença de carboidratos na dieta levaria a elevadas concentrações de insulina circulante, que pode atuar centralmente para estimular a atividade neural simpática no coração, resultando em aumento da frequência cardíaca e do débito cardíaco (Charriere *et al.*, 2016).

## 2.6 Efeitos da dieta hiperlipídica na doença cardiovascular

Gordura, carboidratos e proteínas são a fonte de energia primária fornecida pelos macronutrientes consumidos em uma base rotineira por seres humanos. Entre os macronutrientes, a gordura contém a maior quantidade de energia por grama (9kcal/g). Neste contexto, a qualidade, e não a quantidade, de carboidrato e gordura tem se tornado uma questão relevante nas origens nutricionais e condições cardiometabólicas (Mozaffarian *et al.*, 2011). O interesse na relação entre gordura dietética e doença cardiovascular (DCV) surgiu a partir de estudos em animais indicando que o colesterol dietético causa lesões, em grande parte mediadas por uma elevação do colesterol plasmático. Desde então, a relação entre gordura dietética e risco de DCV tem sido alvo de intensas pesquisas (Willett, 2012). Além disso, dietas ricas em gordura, notadamente aquelas ricas em ácidos graxos saturados, podem causar inflamação sistêmica de baixo grau, resistência à insulina e obesidade (Erridge *et al.*, 2007).

O consumo de dieta rica em lipídios é o principal fator de risco causador de desordens metabólicas ligadas à obesidade e na alteração do metabolismo lipídico e da sensibilidade à insulina (Bessesen, 2008; Mirza, 2011), aumentando o risco de desenvolvimento do diabetes do tipo II (Hu *et al.*, 2001). Efeitos adversos da dieta hiperlipídica na homeostase metabólica são ligados à fisiologia do tecido adiposo (Macotela *et al.*, 2009). O desequilíbrio entre a ingestão e o gasto de calorías leva a hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos (Funaki, 2009). Além do risco para desenvolver DCV, na última década o foco na composição dos ácidos graxos da dieta deve-se à indução da esteatose hepática, prevalente nos dias atuais e correlaciona-

se com o aumento dos ácidos graxos livres, especialmente os saturados (Leamy *et al.*, 2013),

A "hipótese lipídica" da DCV originou-se das investigações de Ancel Keys na década de 1950 (Keys, 1953) e tornou-se exacerbada após o seu estudo na década de 1970. Keys alegou que havia uma correlação entre o alto teor de gordura na dieta, particularmente os ácidos graxos saturados (AGS), tanto o colesterol total sérico quanto o LDL-C elevados. Desde então, a gordura e, especialmente, o consumo de AGS, tem sido consistentemente considerados prejudiciais (Keys, 1980).

É universalmente aceito que os ácidos graxos trans aumentam o risco de DCV, provavelmente através de suas propriedades pró-inflamatórias. As gorduras trans são encontradas de origem natural, porém o grande vilão está presente na gordura trans produzida industrialmente, encontrado entre outros, em *fast-foods*, produtos de panificação, margarinas e sorvetes. Uma meta-análise de estudos observacionais mostrou que a substituição de 2% de energia proveniente dos carboidratos por 2% de energia proveniente da gordura trans produzida industrialmente corresponde a 20-30% maior risco de infarto do miocárdio e mortalidade por DCV (Brouwer *et al.*, 2010).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Animais e desenho experimental

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética local (CEUA / 013/2016). Os animais foram mantidos em caixas sob condições adequadas de temperatura ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e umidade ( $60 \pm 10\%$ ), com acesso livre a ração e água. O ambiente foi submetido a ciclos de luz, claro-escuro de 12h e troca de ar (15min/h) em prateleiras ventiladas (sistema EcoFlo, Allentown, EUA) de acordo com o “*Guide for the use of laboratory animal care*” (NIH Publication No. 85-23, revised in 1996, USA). Sessenta camundongos machos C57BL/6 com 12 semanas de idade foram divididos aleatoriamente em três grupos de acordo com as dietas consumidas (dieta padrão, dieta rica em gorduras e dieta com alto teor de frutose) e foram monitorados durante 8 semanas antes do período de treinamento HIIT. As dietas padrão e alto teor de frutose foram isocalóricas, diferindo apenas na quantidade de frutose e a dieta rica em gordura com maior teor de gordura saturada proveniente da banha de porco, como visto na tabela 1. As dietas foram preparadas seguindo as diretrizes AIN-93 M (Reeves *et al.*, 1993) e foram produzidas pela PragSoluções (Jau, SP, Brasil). Após o período de indução das alterações metabólicas (8 semanas), os camundongos foram subdivididos aleatoriamente em seis grupos ( $n = 10$  cada grupo) para o período de treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) de 12 semanas ou não, conforme o esquema abaixo:

A) C-NT: dieta controle antes e depois do HIIT e não treinado por doze semanas adicionais;

B) C-T: dieta controle antes e depois do HIIT e treinado durante doze semanas adicionais;

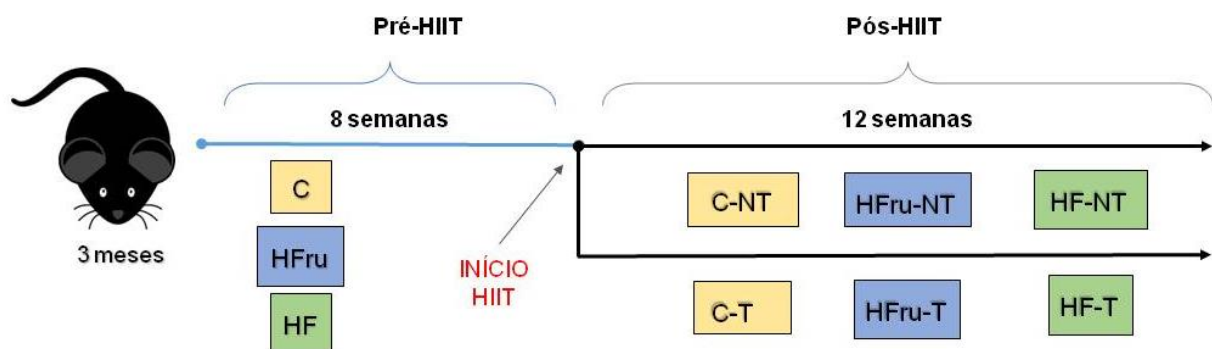
C) HF-NT: dieta rica em gordura antes e depois do HIIT e não treinado por mais doze semanas adicionais;

D) HF-T: Dieta rica em gordura antes e depois do HIIT e treinado por doze semanas adicionais;

E) HFRU-NT: Dieta rica em frutose antes e depois do HIIT e não treinado por mais doze semanas adicionais;

F) HFRU-T: Dieta rica em frutose antes e depois do HIIT e não treinado por doze semanas adicionais.

Figura 3 – Linha do tempo, ilustrando a divisão dos grupos em períodos pré e pós-HIIT.



Legenda: Controle não treinado (C-NT); Controle treinado (CT); Dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); Dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); Dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado (HF-T).

Fonte: o Autor, 2017

Tabela 1- Composição das dietas

Nutrientes	DIETAS		
	Controle	HFRU	HF
Caseína	140,0	140,0	175,0
Amido de milho	620,7	296,8	347,7
Sacarose	100,0	100,0	100,0
Banha de porco	---	---	238,0
Frutose	---	323,85	---
Óleo de soja	40,0	40,0	40,0
Fibra	50,0	50,0	50,0
Mix de vitamina	10,0	10,0	10,0
Mix de Minerais	35,0	35,0	35,0
Cisteína	1,8	1,8	1,8
Colina	2,5	2,5	2,5
Antioxidante	0,008	0,008	0,008
<b>Total (g)</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>
<b>Energia</b>	<b>3802,8</b>	<b>3802,8</b>	<b>5000</b>
<b>Carboidrato (% , energia)</b>	<b>76</b>	<b>76</b>	<b>36</b>
<b>Frutose (% , energia)</b>	<b>---</b>	<b>34</b>	<b>---</b>
<b>Proteína (% , energia)</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>14</b>
<b>Lipídios (% , energia)</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>50</b>

Legenda: HFRU – rica em frutose; HF- hiperlipídica  
 Fonte: Pimenta et al (2015); Schultz et al (2015)

### 3.1.1 Protocolo de Exercício

Todos os camundongos atribuídos ao grupo de treinamento de exercícios HIIT foram familiarizados com uma esteira rolante (Treadmill Control LE 8710 – Panlab Havard Apparatus) em 3 ocasiões (10m/min, grau 0%, 10-15 min). Os protocolos de exercícios foram desenvolvidos e adaptados com base na experiência anterior de treinamento de roedores em nossa instituição (Pimenta *et al.*, 2015). Para avaliar melhorias no

desempenho do exercício com o treinamento, foi realizado um teste de capacidade de exercício no início, no meio e no final, antes de cada estágio do protocolo de treinamento, para observar e ajustar a intensidade de acordo com a evolução dos animais. O teste de esforço foi baseado em incrementos de velocidade a cada 2 minutos a partir de uma velocidade mínima de 10m/min (Borges *et al.*, 2014). Os grupos HIIT também treinaram durante 3 dias/semana durante 12 semanas com variações de intensidade durante os treinamentos em ciclos de 3 minutos, 1 minuto de baixa intensidade (30%) e 2 minutos de alta intensidade (80%) até a exaustão, duração diária total em minutos de acordo com o teste de esforço. A exaustão foi definida como o ponto em que, em vez de correr na esteira, os camundongos permaneciam sobre os dispositivos de choques, que visam incentivar a execução de mais 10s adicionais no treino. Nas primeiras duas semanas, 80% da intensidade máxima do exercício foi utilizada, na terceira semana o valor foi aumentado para 85% e na quarta semana para 90%, quando foi realizado o último teste de esforço. Durante o período do HIIT, os grupos não treinados permaneceram em suas gaiolas com água e dietas *ad libitum*.

### 3.1.2 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e índice quantitativo de verificação da sensibilidade à insulina (QUICKI)

Após 6 horas de jejum, os camundongos receberam via gavagem orogástrica 1,0 g/kg de glicose para o TOTG. As amostras de sangue em série foram obtidas através de um entalhe de cauda uma única vez e nos tempos 0, 15, 30, 60, 90, 120 minutos, e o nível de glicose foi avaliado utilizando Accu-Chek (Accu-Chek, Roche Diagnostic, Mannheim, Alemanha). A leitura da glicose em cada ponto de tempo foi utilizada para calcular a área sob a curva e foram comparadas entre os grupos experimentais. Foi utilizado o índice quantitativo de verificação da sensibilidade à insulina (QUICKI) para a medição da sensibilidade à insulina (Katz *et al.*, 2000), determinado pela seguinte equação matemática:

$$\text{QUICKI} = 1 / [\log (\text{fasting insulin}) + \log (\text{fasting glycemia})]$$

### 3.1.3 Calorimetria Indireta

Duas determinações de troca gasosa (consumo de oxigênio [O<sub>2</sub>] e produção de dióxido de carbono [CO<sub>2</sub>]) foram realizadas utilizando um equipamento de respirometria em circuito aberto (Metabolism Oxylet System, Panlab / Harvard, Barcelona, Espanha). As medições iniciaram-se 24 h após a última sessão de exercício para evitar quaisquer efeitos pós-exercício. Os animais foram colocados individualmente durante 72 h (com um período de 48 h de aclimatização às gaiolas, sendo considerados para análise as últimas 24 h) em uma jaula isolada de policarbonato, com acesso livre a alimentos e água. O sistema permite monitorar a quantidade de volume de oxigênio (V:O<sub>2</sub>) e o volume de dióxido de carbono (V:CO<sub>2</sub>) produzido sequencialmente para cada gaiola (a cada 15 min, por 3 min em cada gaiola), onde o quociente respiratório (RQ) é dado pela Equação conhecida:  $RQ = V:CO_2 / V:O_2$  e gasto energético (EE) pela equação de Weir:  $EE = [3.815 + (1.232 \times RQ)] \times VO_2 \times 1.44$ ; Com as unidades em kcal/dia kg<sup>0,75</sup>. A calibração dos analisadores de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> foi realizada antes e após cada experimento, e foi determinada como O<sub>2</sub> = 20%, CO<sub>2</sub> = 0% e O<sub>2</sub> = 50%, CO<sub>2</sub> = 2%.

### 3.1.4 Pressão arterial sistólica (PAS)

As medições das PAS foram sempre realizadas pela manhã no mesmo horário, utilizando um sistema aferição calibrado de cauda (LE 5002 storage pressure meter – Panlab Harvard Apparatus). Os camundongos foram mantidos aquecidos utilizando uma plataforma de aquecimento e foram aclimatados e treinados pelo menos 3 semanas antes das medidas reais tomadas para serem utilizadas para a análise de dados. Utilizou-se a média de 3 medições por animal para a medida da pressão sanguínea final, utilizadas para a análise dos dados.



### 3.1.5 Eutanásia

Os animais ficaram em jejum por 6h no dia da eutanásia. Em seguida, foram anestesiados profundamente (pentobarbital de sódio intraperitoneal, 100 mg / kg-1) e as amostras de sangue foram obtidas rapidamente através de punção cardíaca.

### 3.1.6 Análise do coração

O coração foi removido, o ventrículo esquerdo (VE) foi dissecado, e suas massas foram aferidas através do método Scherle. O comprimento da tibia esquerda também foi medido para normalizar a massa do VE (Yin *et al.*, 1982). O VE foi rapidamente fixado por imersão em fixador (1,27 mol/L de formaldeído em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2) durante 48 h à temperatura ambiente. Em seguida, o VE foi incorporado em Paraplast plus (Sigma-Aldrich Chemical Co), seccionado com 5 µm e corado com hematoxilina e eosina. A porção compacta da espessura da parede do VE foi medida no plano valvar. A análise utilizou um microscópio Leica DMRBE (Wetzlar, Alemanha) e Lumenera Infinity 1-5c (Ottawa, Canadá) através do software Image Pro Plus v. 7.01 para Windows (Media Cybernetics, Silver Spring, EUA).

### 3.1.7 Análise bioquímica

O plasma foi separado por centrifugação (120g por 15 min) à temperatura ambiente e utilizado para a medição de colesterol total, triglicerídeos utilizando um espectrofotômetro semiautomático e kits comerciais apropriados (Bioclin, Quibasa, Belo Horizonte, MG). A concentração plasmática de insulina foi analisada em duplicata utilizando o kit de ensaio de imunoabsorção ligado a enzima (kit Rat/Mouse Insulin ELISA Cat. # EZRMI-13K, Millipore, Missouri, EUA), utilizando o equipamento TPREADER Thermoplate (Bio Tek Instruments, Inc Highland Park, EUA).

### 3.1.8 Ácido úrico

A urina foi coletada durante 48 horas com a ajuda de gaiolas metabólicas para animais individualizados; e foi armazenada a -20°C até ao momento da análise. Utilizou-se uma alíquota de urina de 4 ml para a determinação enzimática do ácido úrico por método colorimétrico enzimático utilizando um espectrofotómetro automatizado e kits comerciais. A intensidade da cor de tonalidade cereja formada é diretamente proporcional à concentração de ácido úrico na amostra (Sistema Bioclin II, Quibasa Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil).

### 3.1.9 Western blot

As amostras do tecido miocárdico do VE foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C. As proteínas totais foram extraídas num tampão homogeneizador com inibidores de protease e fosfatase. As proteínas foram separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida, transferidas para uma membrana de nitrocelulose, bloqueadas à temperatura ambiente durante 2h, e incubadas durante a noite a 4°C com os anticorpos primários, Renina (anti-mouse, SC137252; Santa Cruz Biotechnology; 1:1000), ECA (anti-mouse, ab11734; Abcam; 1:500), AT1R (anti-rabbit, SC579; Santa Cruz Biotechnology; 1:1000) e AT2R (anti-goat, SC48452; Santa Cruz Biotechnology; 1:1000) . Após incubação com o anticorpo primário, as transferências foram incubadas com anticorpos secundários apropriados durante 1 hora e depois incubadas com reagentes de detecção Clarity Western ECL Substate. As imagens das transferências foram obtidas utilizando os Sistema *ChemiDoc de Imaging Molecular* (Bio-Rad, CA). A beta-actina (anti-mouse, Sigma Aldrich; 1:5000) foi utilizada como um controle de carga para proteínas.

### 3.2 RT-qPCR

O RNA foi isolado a partir das amostras ventriculares utilizando o reagente Trizol (Invitrogen, CA). O RNA total foi tratado com Dnase (Invitrogen, CA, USA) e o DNA complementar de primeira cadeia foi sintetizado utilizando oligonucleótidos e RT Superscript III (Invitrogen, CA). A PCR em tempo real foi realizada utilizando o termociclador Bio-Rad CFX96 e o mix SYBRGreen(Invitrogen, CA). O controle endógeno beta-actina foi utilizado para normalizar a expressão dos genes selecionados. As eficiência da RT-qPCR para o gene alvo e o controle foram aproximadamente iguais e foram calculadas através de sequências de diluição de cDNA. As reações de RT-qPCR foram conduzidas da seguinte forma: após um programa de pré-desnaturação e ativação da polimerase (4 min a 95°C), 44 ciclos, cada um consistindo de 95°C por 10 s e 60°C por 15 s foram seguidos por aquecimento (60 a 95°C com uma taxa de aquecimento de 0,1°C / s). Os controles negativos consistiram em poços nos quais o cDNA foi substituído por água deionizada. A razão de expressão relativa (RQ) do mRNA foi calculada pela equação  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , na qual  $-\Delta Ct$  expressa a diferença entre o número de ciclos (CT) dos genes alvo e o controle endógeno. As sequências dos iniciadores direto e reverso que foram utilizados para amplificação estão descritas abaixo:

- a) Renina,(5'-3')ACCTTGCTTGTGGGATTCAC,  
(3'-5') CTGATCCGTAGTGGATGGT;
- b) ACE,(5'-3') GTGGCTGGAAGAGCAGAATC,  
(3'-5') GCCTTGGCTTCATCAGTCTC;
- c) ACE2,(5'- 3') CAACAGAAGCCAGACAACA ,  
(3'-5') GCCTTGGCTTCATCAGTCTC;
- d) AT1R,(5'-3')CCCTGGCTGACTTATGCTTT,  
(3'-5') ACATAGGTGATTGCCGAAGG;
- e) AT2R,(5'-3')GAAGCTCCGCAGTGTGTTTA,  
(3'-5') TGGCTAGGCTGATTACATGC;
- f) MASr,(5'-3') TTCTCCACCATCAACAGCAG ,  
(3'-5') CCTGGGTTGCATTTTCATCTT;

g) B-ACTIN,(5'-3')TGTTACCAACTGGGACGACA,  
(3'-5') GGGGTGTTGAAGGTCTCAA

### 3.3 Análise Estatística

Os dados foram testados quanto à normalidade e homocedasticidade das variâncias e expressos como média e desvio padrão (DP). As diferenças entre os grupos no período pré-HIIT (grupos C, HF e HFRU) foram testadas utilizando one-way ANOVA seguido de pós-teste de *Holm-Sidak*. No período pós-HIIT, utilizou-se two-way ANOVA seguido de pós-teste de *Holm-Sidak* para analisar a contribuição de cada fator individualmente, dieta, HIIT e a interação entre esses fatores (GraphPad Prism versão 7.0 para Windows, Software GraphPad, La Jolla, CA, EUA). Os valores de  $P < 0,05$  foram aceitos como estatisticamente significativos.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Pré-HIIT

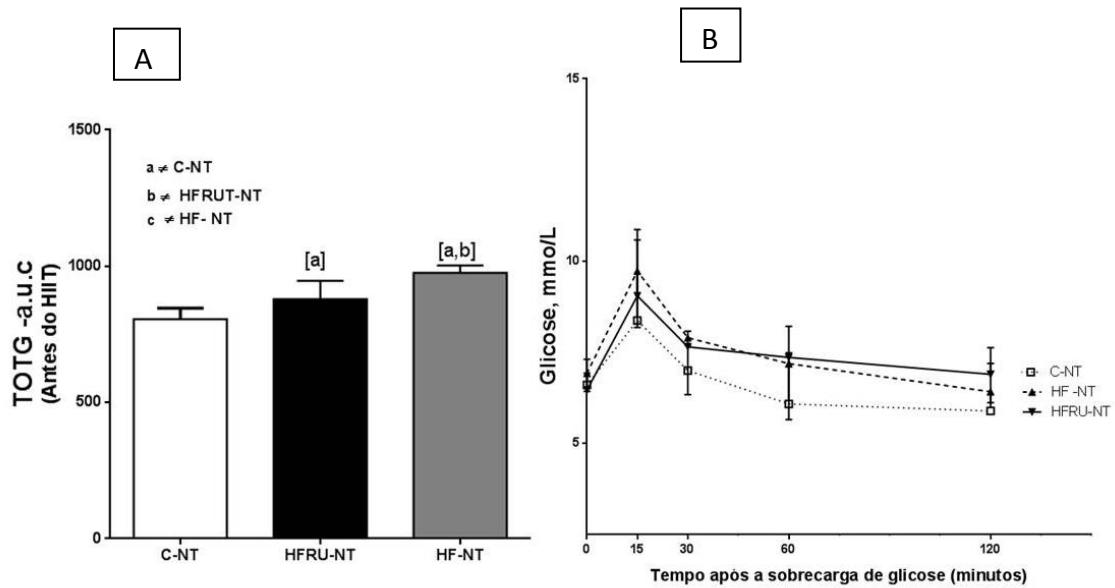
#### 4.1.1 Massa Corporal (MC)

Os animais iniciaram o experimento sem diferença significativa na massa corporal. As dietas ricas em gordura ou frutose elevada foram administradas durante 8 semanas antes de iniciar o protocolo HIIT, a fim de causar alterações na massa corporal e consequentes alterações metabólicas. Desta forma, no final de 8 semanas de administração das respectivas dietas, a MC do grupo HF-NT foi 15% maior que o grupo C-NT e 22% maior em comparação ao grupo HFRU ( $P < 0,0001$ ). Resultados na tabela 2.

#### 4.1.2 Teste Oral de Tolerância à Glicose - TOTG

O TOTG foi realizado para avaliar a homeostase da glicose e a análise da área sob a curva (AUC) correspondente. A intolerância à glicose expressiva foi observada nos grupos HF-NT e HFRU-NT. O grupo HF-NT apresentou AUC aproximadamente 21% maior do que o grupo C-NT ( $P < 0,0010$ ), de modo semelhante o grupo HFRU-NT, também demonstrou um aumento na AUC cerca de 9% maior em comparação com o grupo C-NT ( $P < 0,0375$ ); Assim, os grupos HF-NT e HFRU-NT apresentaram um quadro intolerância à glicose instalado antes de iniciar o HIIT. (Figura 4)

Figura 4- TOTG 8 semanas antes de iniciar o HIIT.



Legenda: controle não treinado (C-NT); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NRT)

Nota: em A, gráfico da área sob a curva. Em B, evolução da glicemia durante os 120 minutos após a sobrecarga de glicose. As diferenças são mostradas de acordo com a legenda interna ( $P < 0,05$ , one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak), quando: [a] diferente de C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017

## 4.2 Pós-HIIT

### HIIT reduz a massa corporal, aumenta o gasto de energia e melhora a tolerância à glicose

#### 4.2.1 Massa corporal (MC)

Ao final da sessão de treinamento de 12 semanas, a MC do grupo HF-T apresentou uma redução significativa de - 6,5% quando comparado ao grupo HF-NT ( $P = 0,03$ ), diferenças semelhantes não foram observadas nos grupos C-NT e HFRU-NT em comparação aos seus respectivos homólogos, uma vez que tais grupos não

apresentaram aumento significativo na massa corporal. (Tabela 3). Apenas a dieta influenciou independentemente a massa corporal final, respondendo por 79,28% de sua variância total (two-way ANOVA,  $P < 0,0001$ ). Além disso, houve uma interação significativa entre a dieta e o HIIT para determinar este parâmetro (two-way ANOVA,  $P = 0,0380$ ).

#### 4.2.2 Calorimetria indireta

Quanto ao quociente respiratório (QR), o grupo HFRU-NT apresentou QR maior que os demais grupos não treinados, C-NT e HF-NT ( $P < 0,0001$ ); e após o HIIT os grupos treinados não apresentaram alterações significativas. Já em relação ao gasto energético (GE), o grupo HF-T apresentou significativamente GE mais elevado em comparação com o grupo HF-NT ( $P = 0,03$ ), o que ajuda a justificar a redução da massa corporal observada neste grupo. Tabela 4.

Tabela 2 – calorimetria indireta.

Data	C-NT	C-T	HFRU-NT	HFRU-T	HF-NT	HF-T
Quociente respiratório	0,92±0,09	0,95±0,09[a]	0,98±0,08[a]	1,09±0,09	0,83±0,02[a,b]	0,89±0,08[c]
Gasto energético (kcal/dia/kg/ <sup>0.75</sup> )	147±17,9	155±18	158±14.4[a]	164,9±18	184,9±20[a]	195,1±11[c]

Legenda: Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NRT); dieta hiperlipídica treinado.

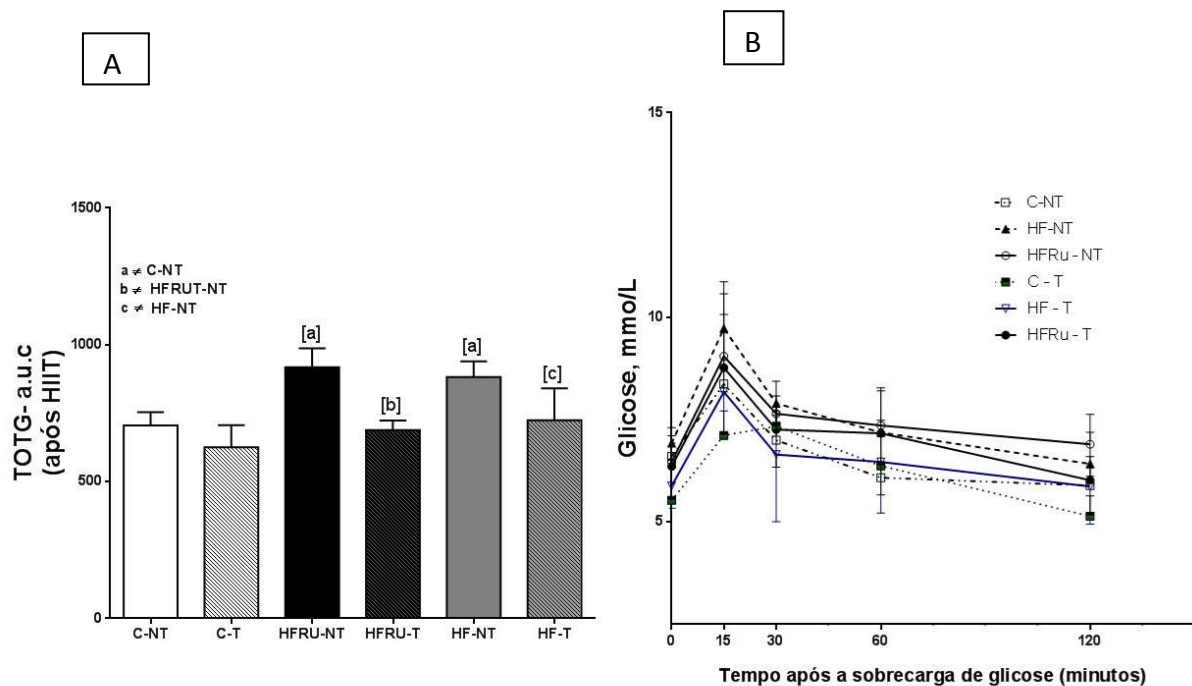
Nota: Os dados são apresentados como média e desvio padrão da média. Nos casos sinalizados o  $P < 0,05$ , (one-way ANOVA com pós teste de Holm-Sidak), então: [a] diferente de C-NT; [b] HFRU-NT, [c] HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017

#### 4.2.3 Teste Oral de tolerância à glicose - área sob a curva (AUC)

De modo geral, os valores de glicose e a AUC para o TOTG foram significativamente maiores nos grupos HF-NT e HFRU-NT do que em seus respectivos homólogos. A AUC do grupo HF-T diminuiu significativamente em comparação com o grupo HF-NT ( $P = 0,04$ ), similarmente, o grupo HFRU-T mostrou uma redução significativa na AUC quando comparado com o HFRU-NT ( $P = 0,005$ ). A análise de two-way ANOVA revelou que tanto a dieta quanto o HIIT exerceram influências isoladas na AUC para o TOTG, sem interagir significativamente. O HIIT respondeu por 39,13% da variância total com relação a este parâmetro ( $P < 0,0001$ ), enquanto que a dieta representou 27,38% de sua variância total ( $P = 0,0003$ ), figura 5.

Figura 5- TOTG 12 semanas após o HIIT.



Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: em A, gráfico da área sob a curva. Em B, evolução da glicemia durante os 120 minutos após a sobrecarga de glicose. As diferenças são mostradas de acordo com a legenda interna ( $P < 0,05$ , one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak), quando: [a] diferente de C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017



HIIT melhora a sensibilidade à insulina nos grupos alimentados com dieta hiperlipídica ou rica em frutose

#### 4.2.4 Índice quantitativo de verificação da sensibilidade à insulina (QUICKI)

A resistência à insulina tem sido descrita como um dos fatores para as complicações cardiovasculares. Como esperado, os animais alimentados com dieta hiperlipídica ou frutose desenvolveram um quadro de sensibilidade à insulina reduzida, que é caracterizada por hiperinsulinemia e glicemia de jejum prejudicada. Notavelmente, o grupo HF-NT apresentou sensibilidade à insulina reduzida associada à obesidade, enquanto o grupo HFRU-NT desenvolveu quadro semelhante, porém sem associação com a obesidade. Entretanto, após o HIIT, a sensibilidade à insulina foi melhor no grupo HF-T, + 14%, quando comparado ao grupo HF-NT ( $P < 0,0001$ ). Curiosamente, o HIIT foi capaz de melhorar a sensibilidade à insulina no grupo HFRU-T, + 7%, em comparação com o grupo HFRU-NT ( $P < 0,0001$ ), tabela 3.

Eficácia do HIIT e alterações bioquímicas

Dados apresentados na tabela 3

#### 4.2.5 Colesterol total (CT)

O colesterol total foi significativamente maior nos grupos HFRU-NT e HF-NT em comparação com o grupo C-NT ( $P = 0,0003$  e  $0,0005$ , respectivamente). Em relação ao efeito do HIIT sobre este parâmetro, observou-se uma redução significativa

no CT em torno de 18,5% no grupo HF-T comparado ao grupo HF-NT ( $P = 0,02$ ). No entanto, não foi observada redução semelhante no grupo HFRU-T quando comparado ao grupo HFRU-NT ( $P = 0,74$ ).

#### 4.2.6 Triglicerídeos

Quanto aos triglicérides, tanto a ingestão de dieta hiperlipídica quanto a dieta rica em frutose foram capazes de alterar este parâmetro nos grupos HF-NT e HFRU-NT em comparação ao grupo C-NT ( $P < 0,0001$ ;  $P = 0,007$ , respectivamente). Por outro lado, os grupos treinados HF-T e HFRU-T não apresentaram redução significativa em relação aos seus homólogos.

#### 4.2.7 Ácido úrico

A alta ingestão de frutose é conhecida por aumentar o risco de hiperuricemia, dessa forma, o grupo HFRU-NT mostrou um aumento significativo no ácido úrico em relação ao grupo C-NT ( $P=0,004$ ); Entretanto, quando comparado ao seu homólogo HFRU-T, não foi observada redução significativa ( $P=0,83$ ). Com relação ao consumo elevado de gordura, o grupo HF-T apresentou redução de - 11% no ácido úrico quando comparado ao grupo HF-NT ( $P = 0,02$ ). Apenas a dieta exerceu uma influência única significativa sobre os níveis de colesterol total e ácido úrico (ANOVA de dois fatores,  $P = 0,0008$  e  $P < 0,0001$ ).

HIIT não é capaz de reduzir a PAS após o consumo de dieta rica em frutose

#### 4.2.8 Pressão arterial Sistólica - inicia

Os grupos iniciaram o experimento sem diferença na pressão arterial sistólica. Após 8 semanas de ingestão das respectivas dietas experimentais, o grupo HF-NT apresentou aumento significativo da PAS em torno de +16,8% ( $P = 0,0002$ ) e HFRU-NT de +21% em comparação com o grupo C-NT ( $P = 0,0001$ ), tabela 3.

#### 4.2.9 Pressão arterial Sistólica – final

A PAS no final do período de treinamento e a ingestão concomitante de dietas HFRU e HF se comportaram de diferentes maneiras ao final do experimento. Em primeiro lugar, HFRU-NT e HF-NT apresentaram PAS cerca de + 22% elevada em comparação com o grupo C-NT ( $P < 0,0001$ ). No entanto, após o treinamento do grupo HF-T quando comparado ao seu homólogo HF-NT foi observada redução significativa de - 6,5% ( $P = 0,04$ ). Por outro lado, o grupo HFRU-T apresentou redução em torno de - 4% da PAS, porém sem relevância estatística ( $P = 0,39$ ). Tanto a dieta quanto o HIIT influenciaram significativamente os valores da pressão arterial sistólica (ANOVA de dois fatores,  $P < 0,0001$  para dieta e  $P = 0,0137$  para HIIT). Contudo, a dieta HFRU exerceu uma influência mais significativa sobre este parâmetro, uma vez que representou 77,21% da variância total, enquanto apenas 4,5% da variância total foi associada ao HIIT, tabela 3.

HIIT melhora a hipertrofia ventricular esquerda

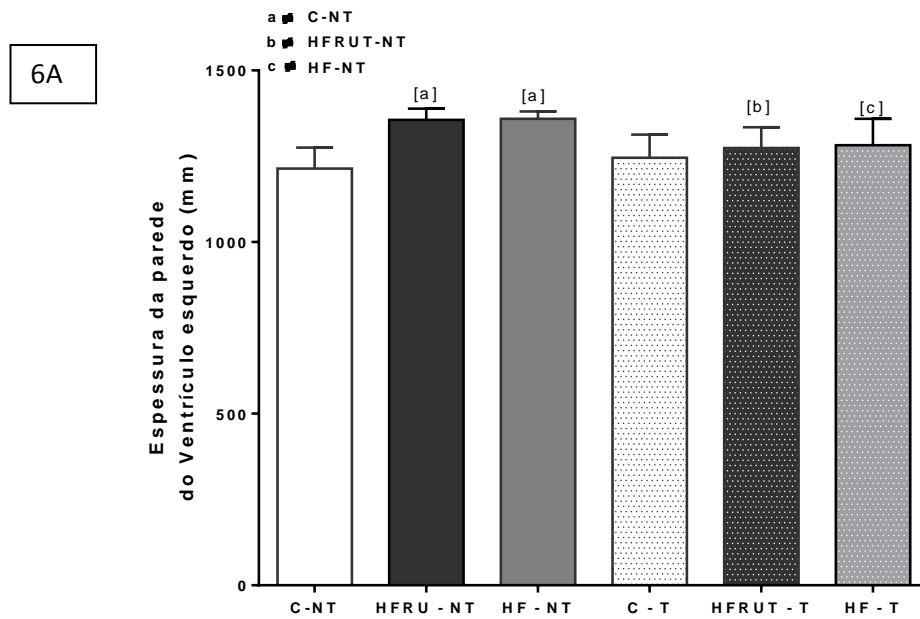
### 4.3 Massa ventricular esquerda (VE)

As alterações morfológicas também apresentaram-se de forma microscópica. O consumo de dietas HF e HFRU induziu a hipertrofia cardíaca após 20 semanas de ingestão de dietas, demonstrando a capacidade das dietas iniciarem o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca. As massas dos VEs dos grupos HF-NT e HFRU-NT foram significativamente maiores quando comparadas ao grupo C-NT (+ 27% e + 13%,  $P = 0,0001$  e  $0,016$ , respectivamente); O grupo HF-NT apresentou maior massa do VE do que os outros grupos não treinados. No entanto, após o HIIT, observou-se uma redução significativa da massa do VE do grupo HF-T em relação ao grupo HF-NT ( $P = 0,016$ ) em torno de -8,5%. O grupo HFRU-T teve uma redução significativa de cerca de - 13% na massa do VE, quando comparado ao seu grupo homólogo não treinado ( $P = 0,01$ ), tabela 3.

#### 4.3.1 Espessura da parede do ventrículo esquerdo

Corroborando com a massa do VE, os grupos HF-NT e HFRU-NT apresentaram espessura da parede ventricular esquerda maior do que o grupo C-NT (+ 10% e 11%, respectivamente;  $P < 0,0001$ ). A hipertrofia cardíaca observada no modelo experimental do presente estudo pode ser devido à deposição de gordura no miocárdio. Comparando o grupo HF-T com o grupo HF-NT, a espessura da parede do VE após o HIIT foi -6,5% menor ( $P = 0,02$ ). O grupo HFRU-T também apresentou redução da espessura da parede do VE, cerca de -6% em comparação com o grupo HFRU-NT ( $P = 0,030$ ). De acordo com o ANOVA de dois fatores, a dieta exerceu uma influência significativa na relação VE/tíbia ( $P < 0,0001$ ), e na espessura do VE ( $P = 0,0043$ ). Houve uma interação significativa entre a dieta e o HIIT apenas em relação ao VE/tíbia ( $P = 0,002$ ), figura 6.

Figura 6- espessura da parede do ventrículo esquerdo (mm)

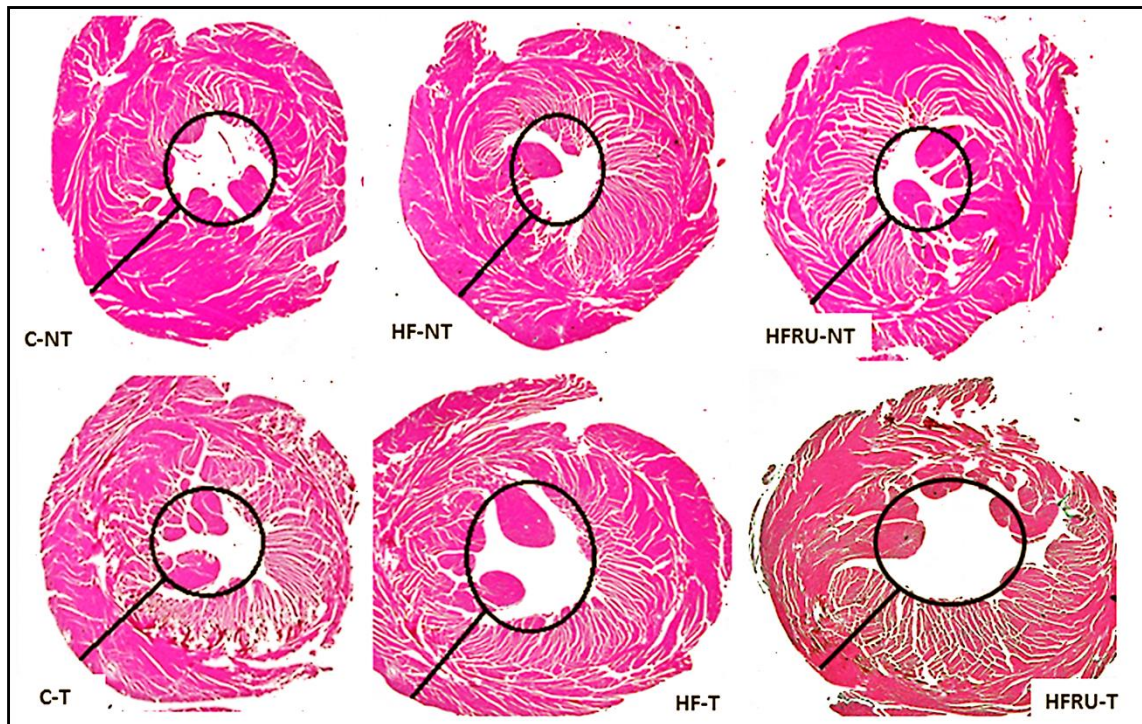


Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado.

Note: as diferenças são mostradas nas barras de acordo com a legenda interna (P <0,05, one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak), quando: [a] diferente de C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017

6B



Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: fotomicrografia do ventrículo esquerdo: vista caudal em corte transversal no plano valvar mostrando as diferenças na espessura da parede, todas em mesmo aumento (x4).

Fonte: o Autor, 2017

Tabela 3 – Parâmetros: Massa corporal, Massa do Ventrículo esquerdo, Pressão arterial, Triglicerídeos, Colesterol total, Ácido úrico, QUICKI.

Dados	C-NT	C-T	HFRU-NT	HFRU-T	HF-NT	HF-T
Massa corporal inicial (antes do HIIT) (g)	27,2±1,8	-	26,3±1,2	-	31,3±1,4[a,b]	-
Massa corporal final (após o HIIT) (g)	28,6±1,7	29,6±1,4	26,5 ±0,5	26,8±0,8	31,3±1,4[a,b]	32,1±1,0[c]
Massa do ventrículo esquerdo/comprimento da tibia	0,037±0,002	0,041±0,002	0,043±0,003[a]	0,037±0,002[b]	0,047±0,001[a,b]	0,043±0,002[c]
Pressão arterial sistólica antes do HIIT (mm/Hg)	124 ±4,5	-	151±5,3	-	145±6,5	-
Pressão arterial sistólica após HIIT (mm/Hg)	126±3,1	123±4,7	155±1,2[a]	149±4,7	152±3,8[a]	144±3,01[c]
QUICKI	0,30±0,003	0,30±0,004	0,28±0,001[a]	0,30±0,006[b]	0,27±0,005[a]	0,31±0,003[c]
Colesterol total (mg/dl)	59,8±7,1	65,8±7,6	81,6±9,1[a]	76,3±4,4	80,5±6,04[a]	65,8±6,6[c]
Triglicerídeos (mg/dl)	41,2±4,8	46,8±1,4	61,8±8,7[a]	59,8±6,3	55,2±2,5[a]	55,6±5,8
Ácido úrico (mg/dl)	22,6±,6	22,9±0,6	25,4±0,4[a]	26,3±0,9	23,5±0,5[b]	22,4±0,5

Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NRT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: os dados são apresentados como média e desvio padrão da média. Nos casos sinalizados P <0.05, (one-way ANOVA e pós teste de Holm-Sidak), quando: [a]≠deC-NT; [b]≠HFRU-NT, [c] ≠ HF-NT.

Fonte : o Autor, 2017

O HIIT induz alterações na expressão proteica e gênica do sistema renina - angiotensina no ventrículo esquerdo

#### 4.4 Western blot

Todos os dados do Western blot foram normalizados utilizando a beta-actina.

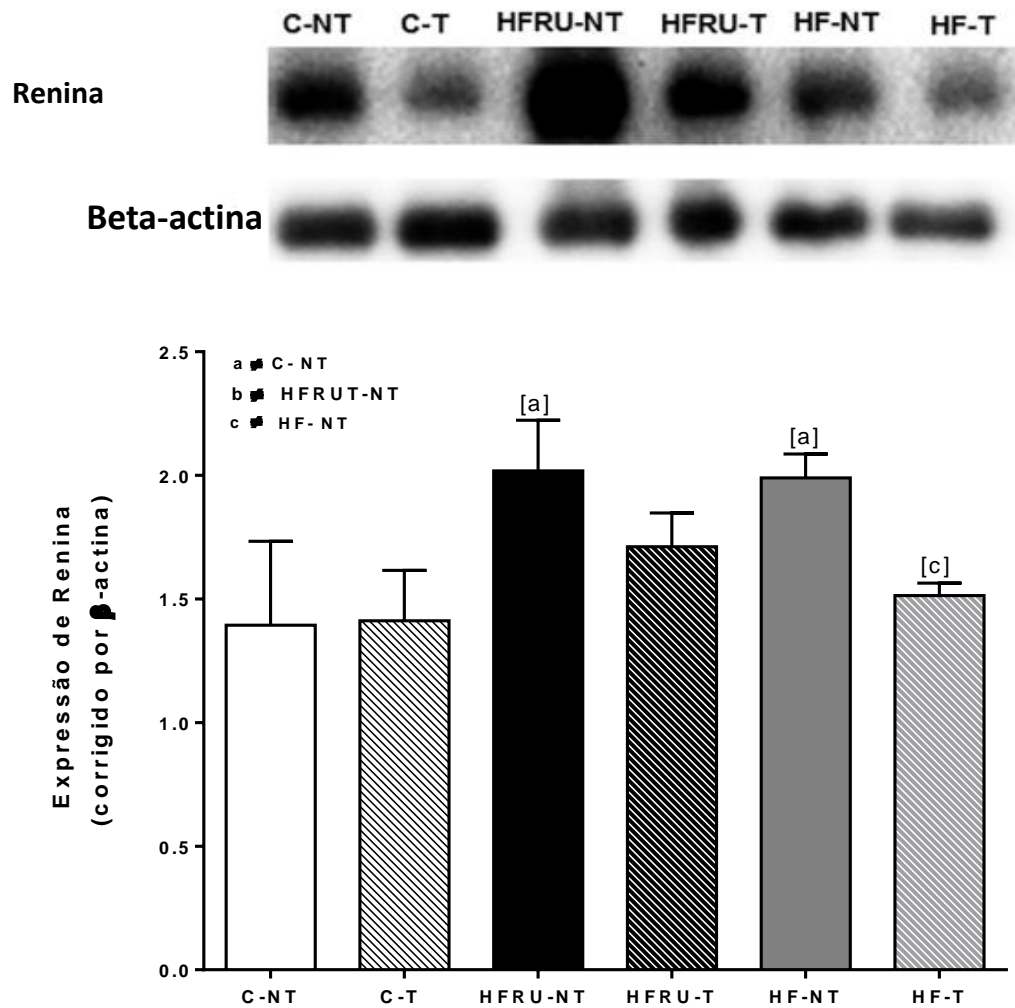
O sistema renina-angiotensina (SRA) está relacionado às adaptações fisiológicas induzidas pelo exercício, e o SRA cardiovascular pode ser afetado pelo regime alimentar. No tocante à expressão da renina (figura 7), foi significativamente aumentada nos grupos HF-NT e HFRU-NT em comparação ao grupo C-NT (+46%, +54%,  $P=0,001$ , respectivamente). Após o HIIT, o grupo HF-T apresentou redução significativa da expressão de renina quando comparado ao HF-NT (-21%,  $P=0,009$ ), em contraste, o grupo HFRU-T apresentou redução, porém sem diferença significativa quando comparado ao HFRU-NT ( $P=0,18$ ). A expressão proteica da renina foi predominantemente influenciada pela dieta (40,25% da variância total,  $P < 0,0001$ ), mas o HIIT e a interação entre ambos os fatores (dieta e exercício) também influenciaram significativamente os resultados (ANOVA de dois fatores,  $P = 0,0288$ ). Quanto à enzima conversora de angiotensina (ECA), o grupo HF-NT apresentou maior expressão da proteína da ECA (figura 8) do que o grupo HF-T (+23%,  $P = 0,009$ ). Do mesmo modo, a expressão proteica da ECA foi maior no grupo HFRU-NT do que no grupo HFRU-T (+25%,  $P=0,001$ ). Além disso, ambos HF-NT e HFRU-NT apresentaram maior expressão de ECA do que o grupo C-NT ( $P = 0,02$  e  $0,002$ , respectivamente). A expressão proteica da ECA foi apenas influenciada pela dieta e pelo HIIT independentemente (ANOVA de dois fatores,  $P < 0,0001$ ). Os receptores de angiotensina desempenham um papel importante na resposta a alterações metabólicas. Assim, observou-se uma expressão aumentada de AT1R (figura 9) nos grupos HF-NT e HFRU-NT quando comparada com o grupo C-NT ( $P < 0,0001$ ). A expressão de AT1R foi reduzida no grupo HF-T em comparação com o grupo HF-NT (-60%,  $P=0,004$ ). Inversamente, a expressão de AT1R do grupo HFRU-T não apresentou redução significativa em comparação com HFRU-NT ( $P= 0,07$ ).

A expressão de AT2R (figura 10) foi reduzida em todos os grupos HIIT quando comparados com os seus homólogos. HF-T apresentou expressão reduzida de AT2R quando comparada com o HF-NT ( $P = 0,004$ ) assim como, o grupo HFRU-T em



comparação com HFRU-NT ( $P = 0,003$ ). As expressões das proteínas AT1R e AT2R também foram influenciadas pela dieta e HIIT (ANOVA de dois fatores,  $P < 0,0001$ ), além de serem influenciadas por uma interação significativa entre ambos os fatores ( $P = 0,0173$ ). Vale ressaltar que AT1R foi predominantemente influenciado por uma interação entre dieta e HIIT (46,38% da variância total), enquanto que AT2R foi predominantemente influenciado pelo HIIT (83,46% da variância total).

Figura 7-Expressão proteica de Renina, corrigida pela beta-actina

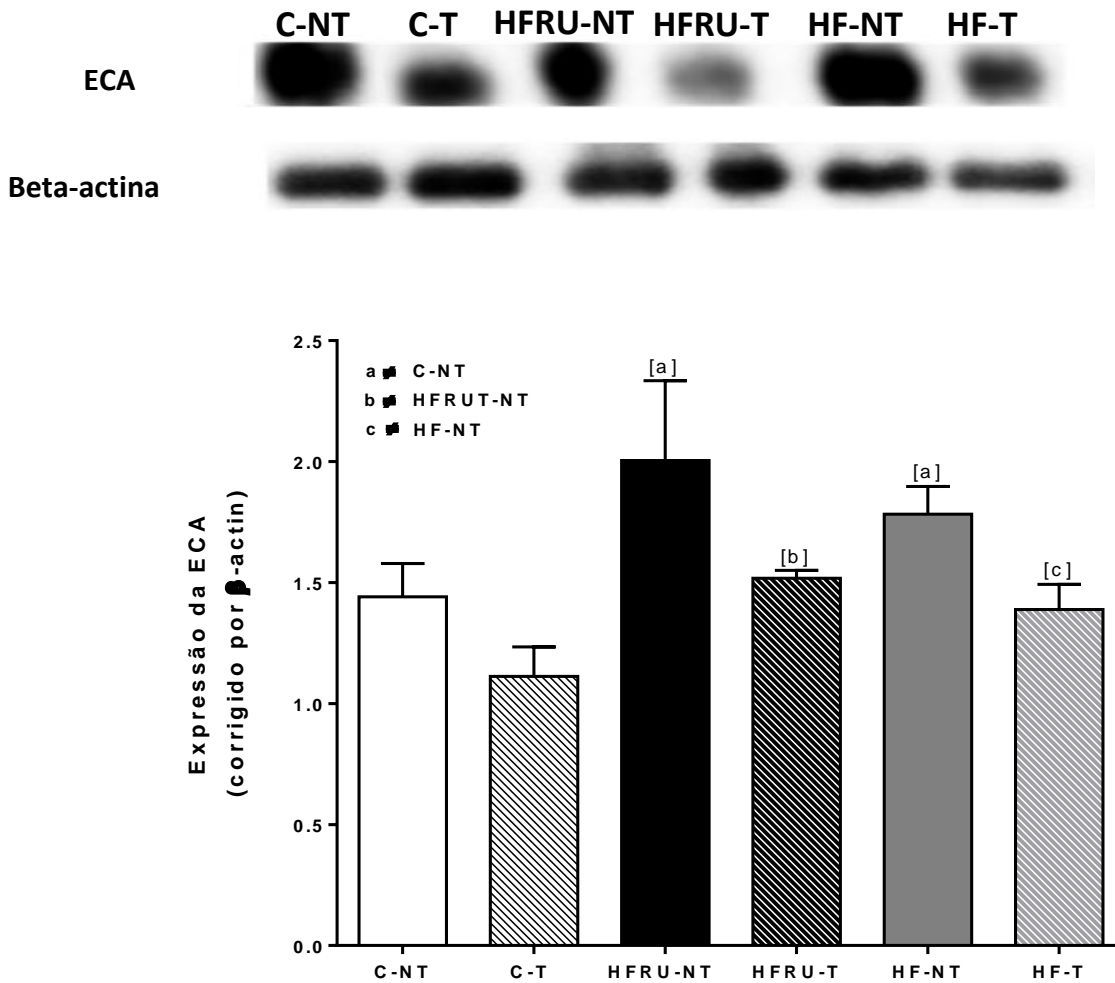


Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: os dados são apresentados como média  $\pm$  DP, as diferenças significativas entre os grupos são indicadas por símbolos P < 0,05, one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak: [a] em comparação com C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017

Figura 8 - Expressão proteica da ECA, corrigida pela beta-actina.

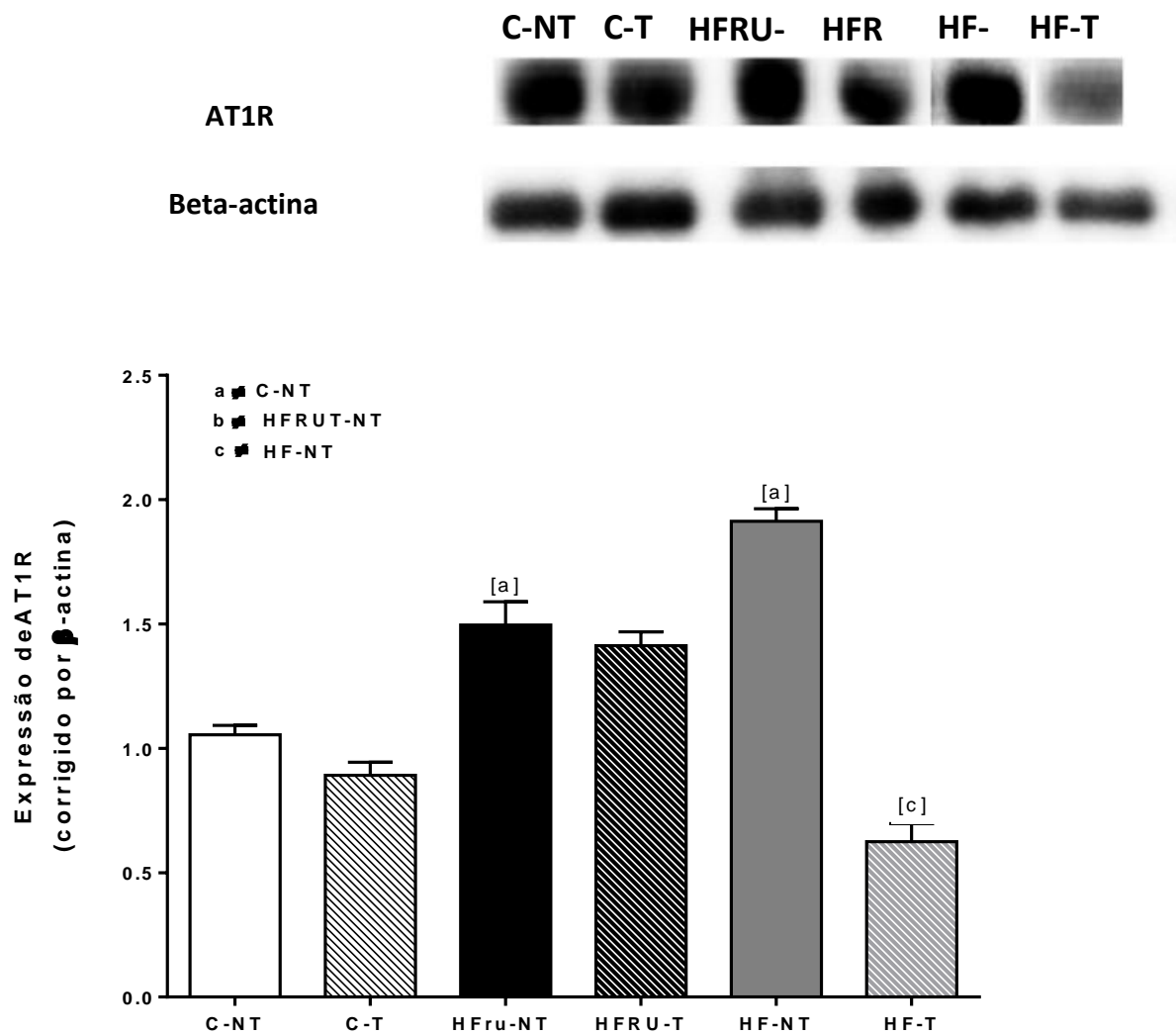


Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: os dados são apresentados como média  $\pm$  DP, as diferenças significativas entre os grupos são indicadas por símbolos  $P < 0,05$ , one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak: [a] em comparação com C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017

Figura 9 - Expressão proteica de AT1R, corrigida pela beta-actina.

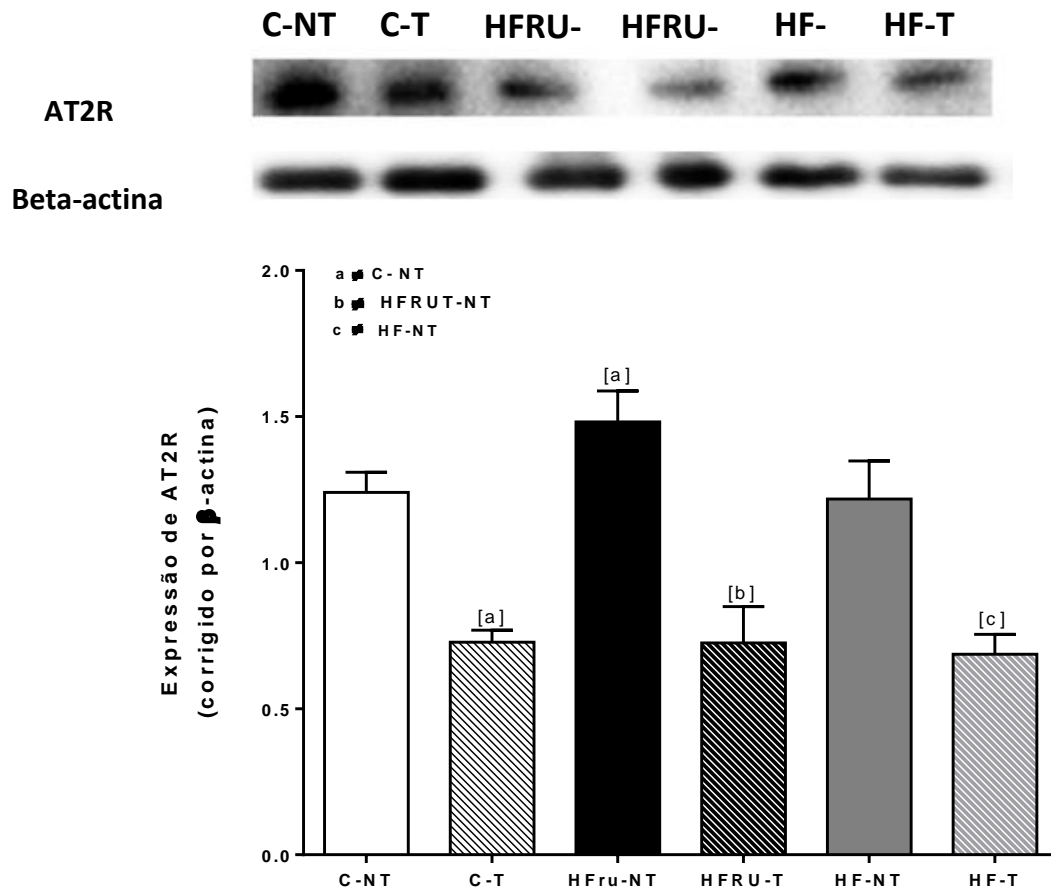


Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: Os dados são apresentados como média  $\pm$  DP, as diferenças significativas entre os grupos são indicadas por símbolos P < 0,05, one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak: [a] em comparação com C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Autor: o Autor, 2017

Figura 10 - Expressão proteica de AT2R, corrigida pela beta-actina.



Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: Os dados são apresentados como média  $\pm$  DP, as diferenças significativas entre os grupos são indicadas por símbolos.  $P < 0,05$ , one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak: [a] em comparação com C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fone: o Autor, 2017

#### 4.5 Análise de mRNA - RT-qPCR

As alterações do RNAm do sistema-renina angiotensina no ventrículo esquerdo foram medidas por RT-qPCR. Os resultados da expressão gênica do eixo SRA foram semelhantes aos descritos acima no WB. A expressão gênica de renina (figura 11) foi reduzida no grupo HF-T em comparação com o grupo HF-NT ( $P = 0,003$ ), redução semelhante foi observada em HFRU-T em comparação com ao seu homólogo ( $P=0,02$ ). A renina foi significativamente influenciada pela dieta ( $P= 0,0186$ ), e também pelo HIIT ( $P = 0,0002$ ) e pela interação significativa entre os dois fatores ( $P= 0,0005$  e  $P <0,0001$ ).

Dietas com alto teor de gordura e frutose significativamente superregulam a expressão gênica do AT1R (figura 12) nos grupos HF-NT e HFRU-NT em comparação com os seus homólogos. Por outro lado, a expressão gênica de AT1R após o HIIT foi reduzida no grupo HF-T quando comparado com o HF-NT ( $P = 0,004$ ). Similarmente ao WB, o HFRU-T também não mostrou redução significativa na expressão do gene AT1R em comparação com o HFRU-NT ( $P = 0,86$ ).

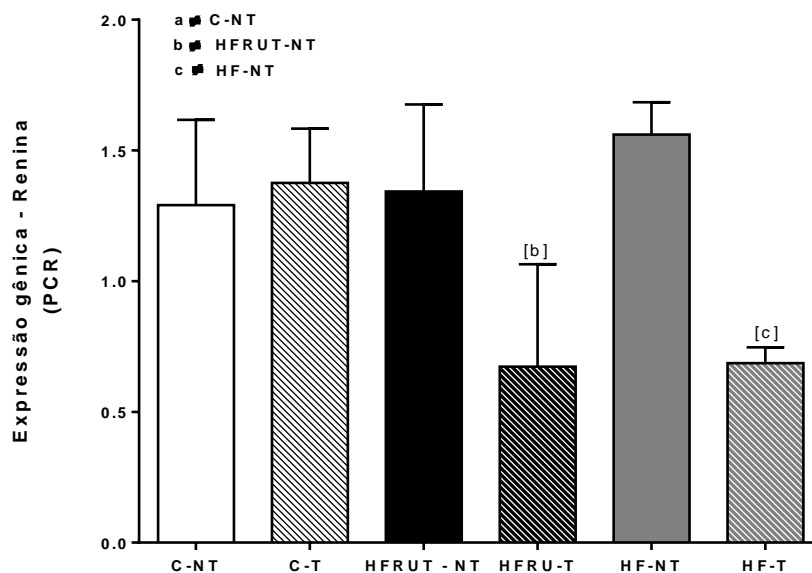
Além disso, expressão gênica do AT2R (figura 13) apresentou expressão reduzida após o HIIT no grupo HF-T em comparação com o grupo HF-NT ( $P=0,004$ ). O grupo HFRU-T apresentou também expressão gênica do AT2R menor do que o grupo HFRU-T ( $P=0,003$ ). A expressão gênica de AT1R foi influenciada pela dieta, pelo HIIT e pela interação com eles (ANOVA de dois fatores,  $P <0,0001$ ). Vale ressaltar que o HIIT respondeu por 54,45% da variância total em relação à expressão gênica do AT1R. Da mesma forma, a expressão gênica de AT2R foi influenciada pela dieta e pelo HIIT (ANOVA de dois fatores,  $P <0,0001$ ) e por uma interação entre ambos os fatores ( $P = 0,0033$ ).

Os grupos HIIT exibiram uma expressão gênica de ECA reduzida (figura14), como observado no grupo HF-T em comparação com o grupo HF-NT ( $P = 0,0005$ ). Do mesmo modo, a expressão gênica de ECA no grupo HFRU-T foi menor quando comparada ao grupo HFRU-NT ( $P = 0,02$ ). Por outro lado, no que se refere a expressão gênica da ECA2 (figura 15), enzima importante no eixo ECA2/ANG1-7/rMAS, a referida enzima foi marcadamente aumentada no grupo HF-T quando comparado com HF-NT ( $P=0,007$ ), bem como no grupo HFRU-T em comparação ao grupo HFRU-NT ( $P = 0,04$ ), demonstrando papel benéfico do HIIT sobre esta

importante enzima. A expressão gênica de ECA e ECA2 foi influenciada significativamente pela dieta (ANOVA de dois fatores,  $P < 0,0001$  para ambos), HIIT ( $P < 0,0001$  e  $P = 0,0008$ ) e pela interação significativa entre ambos os fatores ( $P < 0,0001$  e  $P < 0,0125$ ). Digno de nota, a expressão gênica de ECA2 foi influenciada predominantemente pela dieta (46,54% da variância total) e HIIT (16,04% da variância total).

Uma peça importante no eixo SRA é o receptor Mas (rMAS) que foi descrito como um receptor funcional para o fragmento cardioprotetor do SRAA. Nossos resultados mostraram que após o HIIT, ocorre uma elevação marcada da expressão gênica do rMAS no grupo HF-T quando comparado com o grupo HF-NT ( $P = 0,0004$ ) e um aumento mais suave, porém significativo, na expressão gênica do rMAS no grupo HFRU-T em comparação com o grupo HFRU-NT ( $P = 0,02$ ). Somente a dieta e o HIIT, como fatores isolados, influenciaram significativamente a expressão do gene rMAS, sem interação significativa entre eles (ANOVA de dois fatores,  $P < 0,0001$ , figura 16).

Figura 11- Expressão gênica da Renina.

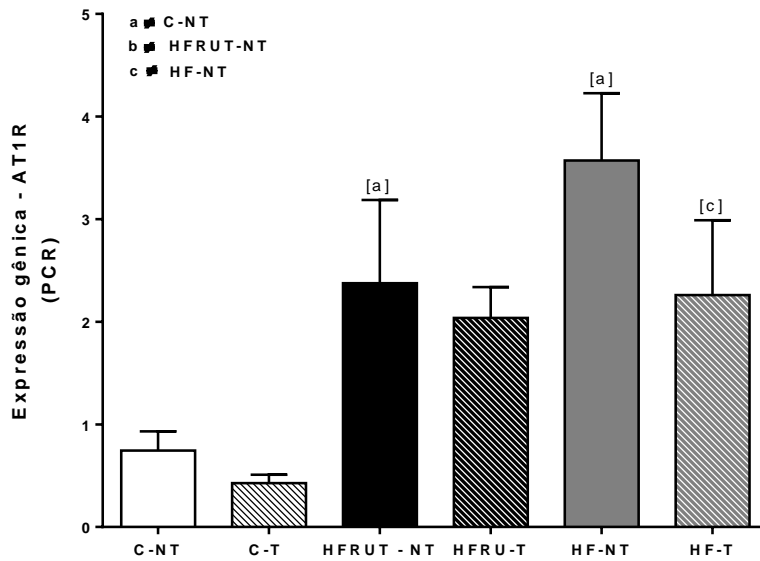


Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: os dados são apresentados como médias  $\pm$  DP, as diferenças significativas entre os grupos são indicadas por símbolos acima das barras;  $P < 0,05$ , one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak: [a] em comparação com C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017.

Figura 12- Expressão gênica de AT1R.



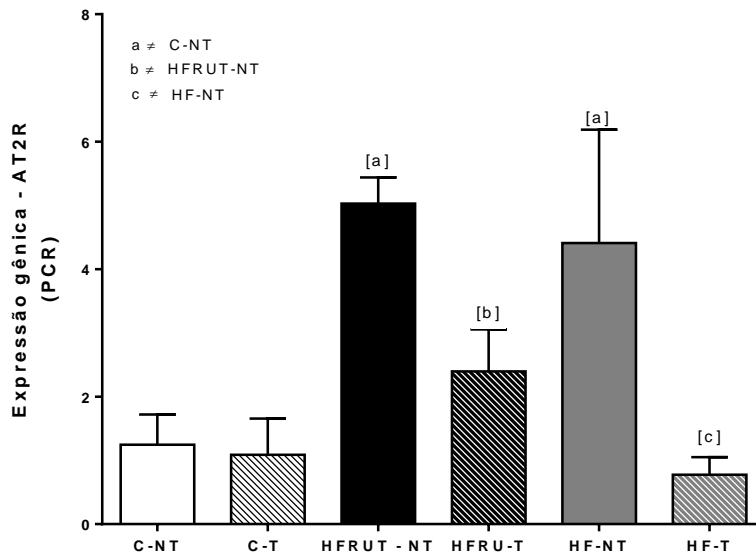
Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: Os dados são apresentados como médias  $\pm$  DP, as diferenças significativas entre os grupos são indicadas por símbolos acima das barras;  $P < 0,05$ , one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak: [a] em comparação com C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017



Figura 13- Expressão gênica de AT2R.

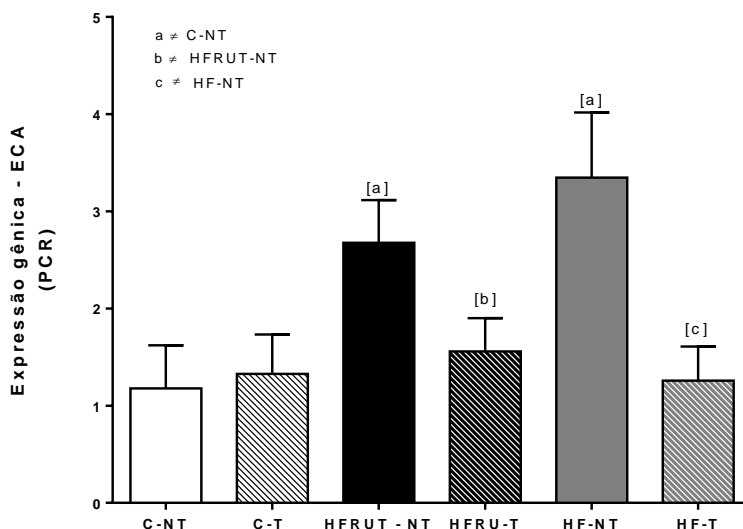


Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NRT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: os dados são apresentados como médias  $\pm$  DP, as diferenças significativas entre os grupos são indicadas por símbolos acima das barras;  $P < 0,05$ , one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak: [a] em comparação com C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017

Figura 14- Expressão gênica da ECA.

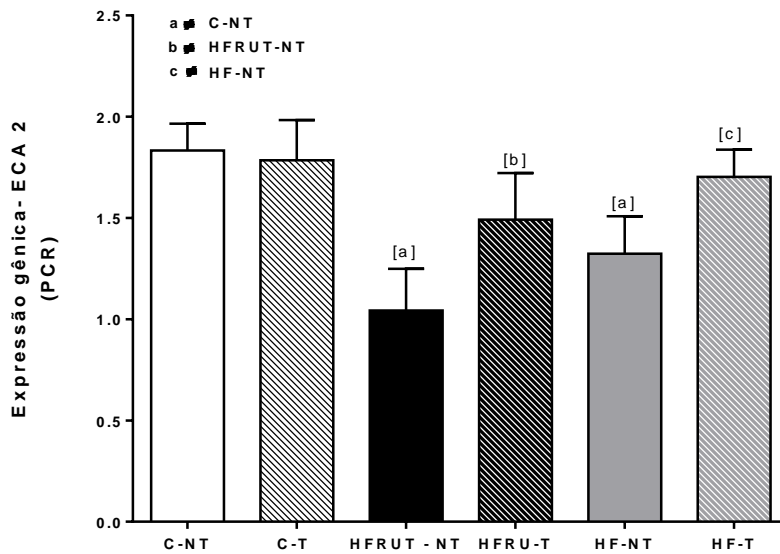


Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NRT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: os dados são apresentados como médias  $\pm$  DP, as diferenças significativas entre os grupos são indicadas por símbolos acima das barras;  $P < 0,05$ , one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak: [a] em comparação com C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017.

Figura 15- Expressão gênica da ECA2.

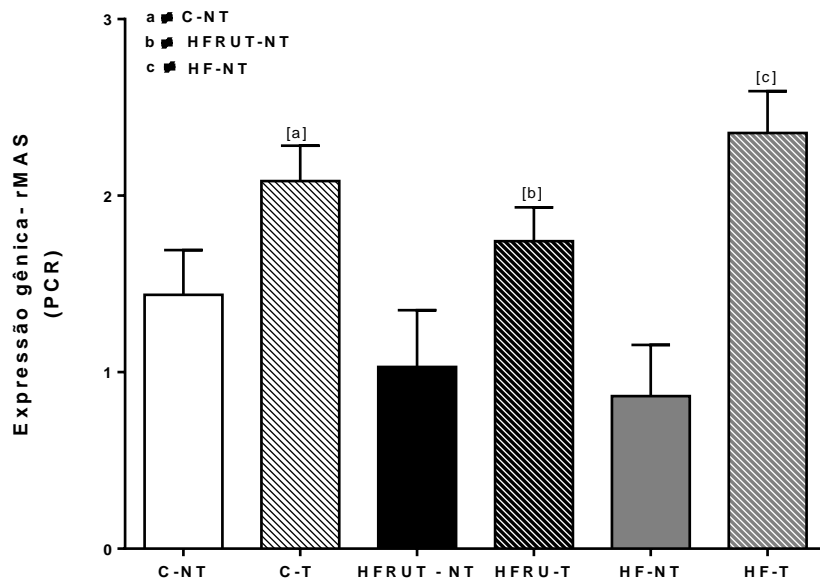


Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: os dados são apresentados como médias  $\pm$  DP, as diferenças significativas entre os grupos são indicadas por símbolos acima das barras;  $P < 0,05$ , one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak: [a] em comparação com C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017.

Figura 16- Expressão gênica da rMAS.



Legenda: controle não treinado (C-NT); controle treinado (C-T); dieta rica em frutose não treinado (HFRU-NT); dieta rica em frutose treinado (HFRU-T); dieta hiperlipídica não treinado (HF-NT); dieta hiperlipídica treinado.

Nota: os dados são apresentados como médias  $\pm$  DP, as diferenças significativas entre os grupos são indicadas por símbolos acima das barras;  $P < 0,05$ , one-way ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak: [a] em comparação com C-NT; [b] diferente de HFRU-NT, [c] diferente de HF-NT.

Fonte: o Autor, 2017

## 5 DISCUSSÃO

O presente estudo utilizou dietas ricas em gordura ou alto teor de frutose para induzir alterações cardiometabólicas em modelo experimental de camundongos e os submeteu a um protocolo HIIT para investigar como o remodelamento ventricular esquerdo se adapta com ou sem obesidade. Os resultados do presente estudo demonstraram que a ingestão de dietas ricas em gordura ou ricas em frutose são prejudiciais à sensibilidade a insulina, levando à intolerância à glicose, pressão arterial, hipertrofia ventricular esquerda e alteração no eixo SRA do VE.

Por outro lado, o HIIT mostrou efeitos cardiovasculares benéficos. Os principais achados foram: (I) a PAS foi reduzida com o HIIT em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica, no entanto, isso não foi observado em camundongos alimentados com dieta alta em frutose. (II) A hipertrofia ventricular esquerda em ambos os grupos foi melhor após as 12 semanas de sessões de HIIT; (III) Os componentes do eixo SRA do ventrículo esquerdo mostraram resultados influenciados tanto pela dieta quanto pelo HIIT. Por exemplo, a expressão proteica de AT1R foi predominantemente influenciada por uma interação entre a dieta e o HIIT, enquanto que a expressão proteica de AT2R foi predominantemente influenciada pelo HIIT. Já a expressão proteica de ECA foi apenas influenciada pela dieta e pelo HIIT independentemente.

A literatura descreve que o HIIT induz a perda de peso moderada (redução de 0,5-4 kg) em adultos com doenças metabólicas comuns (Tjonna *et al.*, 2008; Madsen *et al.*, 2015). Tal afirmação está de acordo com os nossos resultados, pois o grupo HF-T apresentou perda de peso moderada em comparação com o grupo HF-NT, o que pode ser explicado porque se postula que o HIIT aumenta a densidade e capacidade mitocondrial levando ao aumento da oxidação de gordura. Esses achados são importantes, pois esses depósitos de gordura aumentam o risco de doença cardiovascular (Talanian *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2016) e de disfunção metabólica (Lee *et al.*, 2016b). Além disso, o quociente respiratório (QR) foi significativamente maior no grupo HFRU-NT do que em todos os outros grupos. O QR varia com o substrato sendo predominantemente oxidado, sendo assim utilizado para determinar a contribuição relativa de glicose, lípidos e proteínas na produção de energia. Enquanto que o gasto energético foi maior no grupo HF-T, justificando a redução da massa corporal neste grupo e o efeito benéfico do HIIT neste parâmetro.

Em relação à tolerância à glicose, os animais alimentados com dietas hiperlipídica ou rica em frutose são modelos bem estabelecidos utilizados para estudar as alterações da tolerância à glicose e a resistência à insulina, descritos em estudos prévios do nosso grupo (Fraulob *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2014; Franssens *et al.*, 2016). No presente estudo, 12 semanas de protocolo do HIIT reduziram a área sob a curva no tempo de 2 horas, após a sobrecarga de exercício nos grupos HF-T e HFRU-T. Essas melhorias no metabolismo da glicose nos grupos HIIT têm sido associadas à captação de glicose no músculo esquelético aumentada e melhora da sensibilidade à insulina (Schultz *et al.*, 2015). Além disso, é descrito que o HIIT reduz a área sob a curva de glicose naqueles com intolerância a glicose (Marquis-Gravel *et al.*, 2015; Batacan *et al.*, 2016) ou diabetes tipo 2 (Little *et al.*, 2014). O controle da tolerância a glicose é muito importante porque as alterações de glicose pós-prandial são fortes preditores de doença cardiovascular (Terada *et al.*, 2016), o que pode ser devido a possíveis induções causadas via estresse oxidativo.

Além disso, o HIIT também mostrou melhorar a sensibilidade periférica à insulina em pessoas com alterações metabólicas; no presente estudo o protocolo de HIIT mostrou resposta positiva na sensibilidade à insulina nos grupos HF-T, e HFRU-T. A ingestão crônica de dieta hiperlipídica, assim como ingestão excessiva de frutose (Rebolledo e Actis Dato, 2005; Cavalot *et al.*, 2011), conduz à hiperglicemia e como consequência instalação da resistência à insulina (Balakumar *et al.*, 2016). A literatura descreve que as melhorias na sensibilidade à insulina com o HIIT são comparáveis às melhorias obtidas pelo exercício de resistência contínua de intensidade moderada (MCIT) (Nybo *et al.*, 2010; Mitranun *et al.*, 2014; Marcinko *et al.*, 2015). É importante destacar que vários estudos demonstraram que o HIIT pode melhorar a sensibilidade à insulina, independentemente da perda de peso e da adiposidade, em adultos sedentários (Tjonna *et al.*, 2008), obesos (Cocks *et al.*, 2016) ou com diabetes tipo 2 (Shaban *et al.*, 2014).

O exercício físico tem potencial para reduzir fatores de risco cardiometabólicos, incluindo melhorias na pressão arterial (Pimenta *et al.*, 2015; Batacan *et al.*, 2016). No estudo atual, os efeitos da intervenção do HIIT na redução da PAS foram observados no grupo HF-T. Entretanto, o grupo HFRU-T não apresentou os mesmos efeitos benéficos após o protocolo do HIIT. Vários mecanismos podem potencialmente explicar os efeitos hipertensivos da frutose; há evidências para apoiar que a hipertensão induzida pela sobrecarga de frutose leva ao aumento da expressão de

AT1-R em roedores (Hollekim-Strand *et al.*, 2014). Também foi demonstrado o aumento da expressão de AT1-R e da angiotensina II em roedores alimentados com uma dieta rica em frutose (Giacchetti *et al.*, 2000). Segundo outra teoria, associando a dieta à regulação da PA (Shinozaki *et al.*, 2004), a presença de carboidratos na dieta levaria a concentrações de insulina circulante aumentadas, que pode atuar centralmente para estimular a atividade neural simpática do coração, resultando em aumento da frequência cardíaca e do débito cardíaco (Landsberg e Young, 1985).

O terceiro fator que pode explicar a elevação da PAS nos grupos HFRU-NT e HFRU-T, envolvendo a ingestão de frutose é o ácido úrico; o aumento na ingestão dietética de frutose está associado a elevações moderadas, porém altamente significativas, das concentrações de ácido úrico (Charriere *et al.*, 2016). A ingestão de frutose pode estimular a síntese endógena do ácido úrico (Wang *et al.*, 2012) e a concentração elevada de ácido úrico também pode prejudicar a função endotelial normal e contribuir para o desenvolvimento de hipertensão ou resistência à insulina (Hasenfuss, 1998). Esse efeito é observado em dietas com alto teor de frutose quando, a frutose substitui iso-energeticamente o amido ou a gordura, da mesma forma que a dieta do presente estudo. Nossos resultados de ácido úrico após a ingestão de frutose corroboram com os resultados da PAS, os grupos HFRU-NT e HFRU-T apresentaram ácido úrico elevado e sem redução após o HIIT, em concordância com estudo recente que também não encontrou redução significativa no ácido úrico após o HIIT em modelo experimental (Kanbay *et al.*, 2013).

Outro achado importante deste estudo é sobre a hipertrofia ventricular esquerda. Os animais alimentados com dietas ricas em gordura e dietas ricas em frutose são modelos bem estabelecidos utilizados para estudar a hipertrofia cardíaca (Wang *et al.*, 2015; de Araujo *et al.*, 2016), e os estudos indicaram que, a longo prazo, 12 semanas de alta ingestão de frutose é capaz de induzir a hipertrofia ventricular (Bouchard-Thomassin *et al.*, 2011). Em nosso estudo, os animais foram alimentados com dietas hiperlipídica ou rica em frutose por 20 semanas e exibiram tanto aumento da massa quanto a hipertrofia significativa do VE nos grupos HFRU-NT e HF-NT, porém após o HIIT esta hipertrofia foi atenuada nos grupos treinados. Estudos atuais descobriram que os mecanismos-chave da hipertrofia cardíaca induzida por alto teor de gordura e ou frutose são a hipertensão (Mellor *et al.*, 2010), a resistência à insulina (Frantz *et al.*, 2013), e a disfunção das mitocôndrias (Raheer *et al.*, 2008; Bouchard-Thomassin *et al.*, 2011). Um consumo elevado de gordura na dieta (Dong *et al.*, 2007)

e a frutose dietética a longo prazo induzem a desregulação sistêmica da glicose e resposta hipertrófica cardíaca, incluindo o coração marcadamente aumentado, e cardiomiócitos abundantemente inchados.

A hipertrofia cardíaca ocorre em resposta a vários estímulos como o treinamento físico crônico (sobrecarga de volume) e a hipertensão (sobrecarga de pressão). Por outro lado, a literatura indica que o HIIT fornece estímulo para induzir melhorias miocárdicas e conseqüentemente confirmam o impacto benéfico do HIIT sobre a aptidão vascular e cardiorrespiratória. Isso sugere que o benefício cardiovascular do HIIT supera seus benefícios metabólicos. Os efeitos de diferentes intensidades de exercício no músculo cardíaco doente são incompletamente compreendidos e, além disso, o número de estudos que investigam a estrutura cardíaca após HIIT é pequeno. Entretanto, há evidências de que o HIIT induz a hipertrofia fisiológica (Sverdlov *et al.*, 2016).

Em relação à expressão proteica, o HIIT mostrou efeitos benéficos em alguns componentes do eixo SRA, como a expressão reduzida de ECA e AT2R nos grupos HF-T e HFRU-T. No entanto, a expressão proteica do AT1R no grupo HFRU-T não reduziu; isso pode ser explicado porque a hipertensão induzida pela sobrecarga de frutose leva ao aumento da expressão de AT1-R em roedores (Wang *et al.*, 2012).

Referente à expressão gênica, vale a pena mencionar o eixo ECA2/Ang 1-7/rMAS. A expressão gênica de ECA2 foi maior nos grupos HF-T e HFRU-T, que foi seguido por uma resposta benéfica na expressão gênica do rMAS após o HIIT nos grupos HF-T e HFRU-T. Esses achados nos levaram à hipótese de que o eixo Ang-(1-7)/rMAS pode desempenhar um papel no remodelamento cardíaco fisiológico induzido por dietas ricas em gordura ou frutose e amenizados após o HIIT (Manrique *et al.*, 2009; De Mello, 2017).

Estudos recentes indicaram que a ECA2 é a principal enzima envolvida na via da síntese da Ang-(1-7) em órgãos vitais como o coração (Baker *et al.*, 1990). A maioria das ações Ang-(1-7) são mediadas pelo receptor, MAS, que está presente no coração e tem um papel importante na melhoria da função cardíaca (Fernandes *et al.*, 2011), desencadeando vias de sinalização que levam à vasodilatação e efeitos anti-fibróticos, anti-hipertróficos e antiarrítmicos (Pereira *et al.*, 2009). Além disso, estudo recente demonstrou que o exercício físico reduz a ECA cardíaca e a AngII aumenta a ECA2 cardíaca e Ang-(1-7) (Fernandes *et al.*, 2011).

Em suma, nossos resultados confirmam que tanto a dieta hiperlipídica quanto a frutose são capazes de causar intolerância à glicose, hipertensão e remodelamento cardíaco adverso, independente da presença de obesidade ou não em modelo experimental. Além disso, o HIIT obteve efeitos benéficos, combatendo a resistência à insulina e atenuando a hipertrofia do VE, embora a hipertensão fosse controlada apenas nos animais do grupo hiperlipídico submetidos ao protocolo HIIT. O SRA cardíaco medeia estas descobertas e o receptor MAS parece desempenhar um papel crucial quando se trata de melhorar o remodelamento estrutural e funcional cardíaco devido ao HIIT.



## REFERÊNCIAS

- Aeberli I, Gerber PA, Hochuli M, Kohler S, Haile SR, Gouni-Berthold I *et al.* Low to moderate sugar-sweetened beverage consumption impairs glucose and lipid metabolism and promotes inflammation in healthy young men: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2011; 94:479-485.
- Alwahsh SM, Gebhardt R. Dietary fructose as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Arch Toxicol* 2017; 91:1545-1563.
- Anderson E, Shivakumar G. Effects of exercise and physical activity on anxiety. *Front Psychiatry* 2013; 4:27.
- Anversa P, Ricci R, Olivetti G. Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: a review. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7:1140-1149.
- Bader M. Role of the local renin-angiotensin system in cardiac damage: a minireview focussing on transgenic animal models. *J Mol Cell Cardiol* 2002; 34:1455-1462.
- Baker KM, Chernin MI, Wixson SK, Aceto JF. Renin-angiotensin system involvement in pressure-overload cardiac hypertrophy in rats. *Am J Physiol* 1990; 259:H324-332.
- Balakumar M, Raji L, Prabhu D, Sathishkumar C, Prabu P, Mohan V *et al.* High-fructose diet is as detrimental as high-fat diet in the induction of insulin resistance and diabetes mediated by hepatic/pancreatic endoplasmic reticulum (ER) stress. *Mol Cell Biochem* 2016; 423:93-104.
- BARREIROS RC, BOSSOLAN G, TRINDADE CEP. Fructose in humans: metabolic effects, clinical utilization, and associated inherent errors. *Rev. Nutr., Campinas* 2005.
- Barsukov AV, Glukhovskoy DV, Zobnina MP, Mirokhina MA, Dydyshko VT, Vasiliev VN *et al.* Left Ventricular Hypertrophy as a Marker of Adverse Cardiovascular Risk in Persons of Different Age Groups. *Advances in Gerontology* 2015; 5:99-106.
- Bassuk SS, Manson JE. Epidemiological evidence for the role of physical activity in reducing risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease. *J Appl Physiol (1985)* 2005; 99:1193-1204.
- Batacan RB, Jr., Duncan MJ, Dalbo VJ, Connolly KJ, Fenning AS. Light-intensity and high-intensity interval training improve cardiometabolic health in rats. *Appl Physiol Nutr Metab* 2016; 41:945-952.
- Bessesen DH. Update on obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:2027-2034.
- Bidwell AJ, Fairchild TJ, Redmond J, Wang L, Keslacy S, Kanaley JA. Physical activity offsets the negative effects of a high-fructose diet. *Med Sci Sports Exerc* 2014; 46:2091-2098.
- Bizeau ME, Pagliassotti MJ. Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metabolism* 2005; 54:1189-1201.
- Borges JP, Masson GS, Tibirica E, Lessa MA. Aerobic interval exercise training induces greater reduction in cardiac workload in the recovery period in rats. *Arq Bras Cardiol* 2014; 102:47-53.
- Bouchard-Thomassin AA, Lachance D, Drolet MC, Couet J, Arsenault M. A high-fructose diet worsens eccentric left ventricular hypertrophy in experimental volume overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 300:H125-134.

- Boudet G, Walther G, Courteix D, Obert P, Lesourd B, Pereira B *et al.* Paradoxical dissociation between heart rate and heart rate variability following different modalities of exercise in individuals with metabolic syndrome: The RESOLVE study. *Eur J Prev Cardiol* 2016; 10.1177/2047487316679523.
- Brouwer IA, Wanders AJ, Katan MB. Effect of animal and industrial trans fatty acids on HDL and LDL cholesterol levels in humans--a quantitative review. *PLoS One* 2010; 5:e9434.
- Burgomaster KA, Howarth KR, Phillips SM, Rakobowchuk M, Macdonald MJ, McGee SL *et al.* Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *J Physiol* 2008; 586:151-160.
- Burgomaster KA, Hughes SC, Heigenhauser GJ, Bradwell SN, Gibala MJ. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *J Appl Physiol (1985)* 2005; 98:1985-1990.
- Cassidy S, Thoma C, Hallsworth K, Parikh J, Hollingsworth KG, Taylor R *et al.* High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia* 2016; 59:56-66.
- Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia* 2017; 60:7-23.
- Cavalot F, Pagliarino A, Valle M, Di Martino L, Bonomo K, Massucco P *et al.* Postprandial blood glucose predicts cardiovascular events and all-cause mortality in type 2 diabetes in a 14-year follow-up: lessons from the San Luigi Gonzaga Diabetes Study. *Diabetes Care* 2011; 34:2237-2243.
- Charriere N, Loonam C, Montani JP, Dulloo AG, Grasser EK. Cardiovascular responses to sugary drinks in humans: galactose presents milder cardiac effects than glucose or fructose. *Eur J Nutr* 2016; 10.1007/s00394-016-1250-9.
- Cheeseman CI. GLUT2 is the transporter for fructose across the rat intestinal basolateral membrane. *Gastroenterology* 1993; 105:1050-1056.
- Chinnaiyan KM, Alexander D, McCullough PA. Role of angiotensin II in the evolution of diastolic heart failure. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2005; 7:740-747.
- Cocks M, Shaw CS, Shepherd SO, Fisher JP, Ranasinghe A, Barker TA *et al.* Sprint interval and moderate-intensity continuous training have equal benefits on aerobic capacity, insulin sensitivity, muscle capillarisation and endothelial eNOS/NAD(P)H oxidase protein ratio in obese men. *J Physiol* 2016; 594:2307-2321.
- Colville CA, Seatter MJ, Jess TJ, Gould GW, Thomas HM. Kinetic analysis of the liver-type (GLUT2) and brain-type (GLUT3) glucose transporters in *Xenopus* oocytes: substrate specificities and effects of transport inhibitors. *Biochem J* 1993; 290 ( Pt 3):701-706.
- de Araujo GG, Papoti M, Dos Reis IG, de Mello MA, Gobatto CA. Short and Long Term Effects of High-Intensity Interval Training on Hormones, Metabolites, Antioxidant System, Glycogen Concentration, and Aerobic Performance Adaptations in Rats. *Front Physiol* 2016; 7:505.
- De Mello WC. Local Renin Angiotensin Aldosterone Systems and Cardiovascular Diseases. *Med Clin North Am* 2017; 101:117-127.

- Domenighetti AA, Wang Q, Egger M, Richards SM, Pedrazzini T, Delbridge LM. Angiotensin II-mediated phenotypic cardiomyocyte remodeling leads to age-dependent cardiac dysfunction and failure. *Hypertension* 2005; 46:426-432.
- Dong F, Li Q, Sreejayan N, Nunn JM, Ren J. Metallothionein prevents high-fat diet induced cardiac contractile dysfunction: role of peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1alpha and mitochondrial biogenesis. *Diabetes* 2007; 56:2201-2212.
- Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N *et al.* A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res* 2000; 87:E1-9.
- Douard V, Ferraris RP. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295:E227-237.
- Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am J Clin Nutr* 2007; 86:1286-1292.
- Fernandes T, Hashimoto NY, Magalhaes FC, Fernandes FB, Casarini DE, Carmona AK *et al.* Aerobic exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves regulatory MicroRNAs, decreased angiotensin-converting enzyme-angiotensin ii, and synergistic regulation of angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin (1-7). *Hypertension* 2011; 58:182-189.
- Fex A, Leduc-Gaudet JP, Filion ME, Karelis AD, Aubertin-Leheudre M. Effect of Elliptical High Intensity Interval Training on Metabolic Risk Factor in Pre- and Type 2 Diabetes Patients: A Pilot Study. *J Phys Act Health* 2015; 12:942-946.
- Fisher G, Brown AW, Bohan Brown MM, Alcorn A, Noles C, Winwood L *et al.* High Intensity Interval- vs Moderate Intensity- Training for Improving Cardiometabolic Health in Overweight or Obese Males: A Randomized Controlled Trial. *PLoS One* 2015; 10:e0138853.
- Flores-Munoz M, Godinho BM, Almalik A, Nicklin SA. Adenoviral delivery of angiotensin-(1-7) or angiotensin-(1-9) inhibits cardiomyocyte hypertrophy via the mas or angiotensin type 2 receptor. *PLoS One* 2012; 7:e45564.
- Franchini KG. Hipertrofia cardíaca: mecanismos moleculares. *Rivista brasileira de hipertensão* 2001; 8:125-141.
- Franssens BT, Westerink J, van der Graaf Y, Nathoe HM, Visseren FL, group Ss. Metabolic consequences of adipose tissue dysfunction and not adiposity per se increase the risk of cardiovascular events and mortality in patients with type 2 diabetes. *Int J Cardiol* 2016; 222:72-77.
- Frantz ED, Crespo-Mascarenhas C, Barreto-Vianna AR, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Renin-angiotensin system blockers protect pancreatic islets against diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *PLoS One* 2013; 8:e67192.
- Fraulob JC, Ogg-Diamantino R, Fernandes-Santos C, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. A Mouse Model of Metabolic Syndrome: Insulin Resistance, Fatty Liver and Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) in C57BL/6 Mice Fed a High Fat Diet. *J Clin Biochem Nutr* 2010; 46:212-223.
- Frey N, Katus HA, Olson EN, Hill JA. Hypertrophy of the heart: a new therapeutic target? *Circulation* 2004; 109:1580-1589.
- Funaki M. Saturated fatty acids and insulin resistance. *J Med Invest* 2009; 56:88-92.
- Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee IM *et al.* American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of

- exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2011; 43:1334-1359.
- Giacchetti G, Sechi LA, Griffin CA, Don BR, Mantero F, Schambelan M. The tissue renin-angiotensin system in rats with fructose-induced hypertension: overexpression of type 1 angiotensin II receptor in adipose tissue. *J Hypertens* 2000; 18:695-702.
- Gibala MJ, Little JP, Macdonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *J Physiol* 2012; 590:1077-1084.
- Giles TD. Renin-angiotensin system modulation for treatment and prevention of cardiovascular diseases: toward an optimal therapeutic strategy. *Rev Cardiovasc Med* 2007; 8 Suppl 2:S14-21.
- Hall JE, Guyton AC, Mizelle HL. Role of the renin-angiotensin system in control of sodium excretion and arterial pressure. *Acta Physiol Scand Suppl* 1990; 591:48-62.
- Hallfrisch J. Metabolic effects of dietary fructose. *FASEB J* 1990; 4:2652-2660.
- Hasenfuss G. Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy. *Cardiovasc Res* 1998; 39:60-76.
- Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev* 2005; 63:133-157.
- Hein L, Meinel L, Pratt RE, Dzau VJ, Kobilka BK. Intracellular trafficking of angiotensin II and its AT1 and AT2 receptors: evidence for selective sorting of receptor and ligand. *Mol Endocrinol* 1997; 11:1266-1277.
- Hollekim-Strand SM, Bjorgaas MR, Albrektsen G, Tjonna AE, Wisloff U, Ingul CB. High-intensity interval exercise effectively improves cardiac function in patients with type 2 diabetes mellitus and diastolic dysfunction: a randomized controlled trial. *J Am Coll Cardiol* 2014; 64:1758-1760.
- Hu FB, van Dam RM, Liu S. Diet and risk of Type II diabetes: the role of types of fat and carbohydrate. *Diabetologia* 2001; 44:805-817.
- Huang JP, Cheng ML, Wang CH, Shiao MS, Chen JK, Hung LM. High-fructose and high-fat feeding correspondingly lead to the development of lysoPC-associated apoptotic cardiomyopathy and adrenergic signaling-related cardiac hypertrophy. *Int J Cardiol* 2016; 215:65-76.
- Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI, Kang DH *et al*. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2007; 86:899-906.
- Kalla M, Herring N, Paterson DJ. Cardiac sympatho-vagal balance and ventricular arrhythmia. *Auton Neurosci* 2016; 199:29-37.
- Kanbay M, Segal M, Afsar B, Kang DH, Rodriguez-Iturbe B, Johnson RJ. The role of uric acid in the pathogenesis of human cardiovascular disease. *Heart* 2013; 99:759-766.
- Kanuri G, Spruss A, Wagnerberger S, Bischoff SC, Bergheim I. Role of tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) in the onset of fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. *J Nutr Biochem* 2011; 22:527-534.
- Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G *et al*. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2402-2410.

- Katz AM, Rolett EL. Heart failure: when form fails to follow function. *Eur Heart J* 2016; 37:449-454.
- Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes JB, Skomedal T, Wisloff U *et al.* Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovasc Res* 2005; 67:161-172.
- Keys A. Atherosclerosis: a problem in newer public health. *J Mt Sinai Hosp N Y* 1953; 20:118-139.
- Keys A. Coronary heart disease, serum cholesterol, and the diet. *Acta Med Scand* 1980; 207:153-160.
- Ko M, Kim MT, Nam JJ. Assessing risk factors of coronary heart disease and its risk prediction among Korean adults: the 2001 Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Int J Cardiol* 2006; 110:184-190.
- Lakka TA, Laaksonen DE, Lakka HM, Mannikko N, Niskanen LK, Rauramaa R *et al.* Sedentary lifestyle, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35:1279-1286.
- Landsberg L, Young JB. Insulin-mediated glucose metabolism in the relationship between dietary intake and sympathetic nervous system activity. *Int J Obes* 1985; 9 Suppl 2:63-68.
- Leamy AK, Egnatchik RA, Young JD. Molecular mechanisms and the role of saturated fatty acids in the progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Prog Lipid Res* 2013; 52:165-174.
- Lee J, Kim Y, Jeon JY. Association between physical activity and the prevalence of metabolic syndrome: from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2012. *Springerplus* 2016a; 5:1870.
- Lee JJ, Pedley A, Hoffmann U, Massaro JM, Fox CS. Association of Changes in Abdominal Fat Quantity and Quality With Incident Cardiovascular Disease Risk Factors. *J Am Coll Cardiol* 2016b; 68:1509-1521.
- Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med* 1990; 322:1561-1566.
- Liang Y, Huang B, Song E, Bai B, Wang Y. Constitutive activation of AMPK alpha1 in vascular endothelium promotes high-fat diet-induced fatty liver injury: role of COX-2 induction. *Br J Pharmacol* 2014; 171:498-508.
- Little JP, Jung ME, Wright AE, Wright W, Manders RJ. Effects of high-intensity interval exercise versus continuous moderate-intensity exercise on postprandial glycemic control assessed by continuous glucose monitoring in obese adults. *Appl Physiol Nutr Metab* 2014; 39:835-841.
- Macotela Y, Boucher J, Tran TT, Kahn CR. Sex and depot differences in adipocyte insulin sensitivity and glucose metabolism. *Diabetes* 2009; 58:803-812.
- Madsen SM, Thorup AC, Overgaard K, Jeppesen PB. High Intensity Interval Training Improves Glycaemic Control and Pancreatic beta Cell Function of Type 2 Diabetes Patients. *PLoS One* 2015; 10:e0133286.
- Mangold S, Kramer U, Franzen E, Erz G, Bretschneider C, Seeger A *et al.* Detection of cardiovascular disease in elite athletes using cardiac magnetic resonance imaging. *Rofo* 2013; 185:1167-1174.
- Manrique C, Lastra G, Gardner M, Sowers JR. The renin angiotensin aldosterone system in hypertension: roles of insulin resistance and oxidative stress. *Med Clin North Am* 2009; 93:569-582.

- Mansur AP, Favarato D. Mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e na região metropolitana de São Paulo: atualização 2011. *arquivos brasileiros de cardiologia* 2012; 99:755/761.
- Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Mol Metab* 2015; 4:903-915.
- Marquis-Gravel G, Hayami D, Juneau M, Nigam A, Guilbeault V, Latour E *et al*. Intensive lifestyle intervention including high-intensity interval training program improves insulin resistance and fasting plasma glucose in obese patients. *Prev Med Rep* 2015; 2:314-318.
- Matos-Souza JR, Franchini KG, Nadruz Junior W. Left ventricular hypertrophy: pathway to heart failure. *Revista brasileira de hipertensão* 2008; 15:71-74.
- Mellor K, Ritchie RH, Meredith G, Woodman OL, Morris MJ, Delbridge LM. High-fructose diet elevates myocardial superoxide generation in mice in the absence of cardiac hypertrophy. *Nutrition* 2010; 26:842-848.
- Mihl C, Dassen WR, Kuipers H. Cardiac remodelling: concentric versus eccentric hypertrophy in strength and endurance athletes. *Neth Heart J* 2008; 16:129-133.
- Mill JG, Vassallo DV. Hipertrofia cardíaca. *Revista brasileira de hipertensão* 2001; 8:63-75.
- Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN *et al*. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2011; 123:2292-2333.
- Mirza MS. Obesity, Visceral Fat, and NAFLD: Querying the Role of Adipokines in the Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *ISRN Gastroenterol* 2011; 2011:592404.
- Mitranun W, Deerochanawong C, Tanaka H, Suksom D. Continuous vs interval training on glycemic control and macro- and microvascular reactivity in type 2 diabetic patients. *Scand J Med Sci Sports* 2014; 24:e69-76.
- Mochcovitch MD, Deslandes AC, Freire RC, Garcia RF, Nardi AE. The effects of regular physical activity on anxiety symptoms in healthy older adults: a systematic review. *revista brasileira de psiquiatria* 2016; 38:45-51.
- Molmen-Hansen HE, Stolen T, Tjonna AE, Aamot IL, Ekeberg IS, Tyldum GA *et al*. Aerobic interval training reduces blood pressure and improves myocardial function in hypertensive patients. *Eur J Prev Cardiol* 2012; 19:151-160.
- Mozaffarian D, Appel LJ, Van Horn L. Components of a cardioprotective diet: new insights. *Circulation* 2011; 123:2870-2891.
- MS. Hipertensão arterial. *Ministério da saúde: Caderno de atenção básica* 2006; 1:7-51.
- Nadruz W. Myocardial remodeling in hypertension. *J Hum Hypertens* 2015; 29:1-6.
- Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Glushakova O *et al*. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290:F625-631.
- Nicolo A, Girardi M. The physiology of interval training: a new target to HIIT. *J Physiol* 2016; 594:7169-7170.
- Nybo L, Sundstrup E, Jakobsen MD, Mohr M, Hornstrup T, Simonsen L *et al*. High-intensity training versus traditional exercise interventions for promoting health. *Med Sci Sports Exerc* 2010; 42:1951-1958.

- Oliveira LS, Santos DA, Barbosa-da-Silva S, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguila MB. The inflammatory profile and liver damage of a sucrose-rich diet in mice. *J Nutr Biochem* 2014; 25:193-200.
- Passos-Silva DG, Brandan E, Santos RA. Angiotensins as therapeutic targets beyond heart disease. *Trends Pharmacol Sci* 2015; 36:310-320.
- Pereira MG, Ferreira JC, Bueno CR, Jr., Mattos KC, Rosa KT, Irigoyen MC *et al.* Exercise training reduces cardiac angiotensin II levels and prevents cardiac dysfunction in a genetic model of sympathetic hyperactivity-induced heart failure in mice. *Eur J Appl Physiol* 2009; 105:843-850.
- Pierard M, Conotte S, Tassin A, Boutry S, Uzureau P, Boudjeltia KZ *et al.* Interactions of exercise training and high-fat diet on adiponectin forms and muscle receptors in mice. *Nutr Metab (Lond)* 2016; 13:75.
- Pimenta M, Brighenti I, Souza-Mello V, Dos Santos Mendes IK, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. High-intensity interval training beneficial effects on body mass, blood pressure, and oxidative stress in diet-induced obesity in ovariectomized mice. *Life Sci* 2015; 139:75-82.
- Pinto JR VC, Daher CV, Sallum FS, Jatene MB, Croti UA. The situation of congenital heart surgeries in Brazil: Pediatric Cardiovascular Surgery Department (PCVSD) of the Brazilian Society of Cardiovascular Surgery (BSCVS) *Revista brasileira de cirurgia cardiovascular* 2004; 19:III-VI.
- Radovits T, Olah A, Lux A, Nemeth BT, Hidi L, Birtalan E *et al.* Rat model of exercise-induced cardiac hypertrophy: hemodynamic characterization using left ventricular pressure-volume analysis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2013; 305:H124-134.
- Rafiq N, Bai C, Fang Y, Srishord M, McCullough A, Gramlich T *et al.* Long-term follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7:234-238.
- Raher MJ, Thibault HB, Buys ES, Kuruppu D, Shimizu N, Brownell AL *et al.* A short duration of high-fat diet induces insulin resistance and predisposes to adverse left ventricular remodeling after pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295:H2495-2502.
- Rebolledo OR, Actis Dato SM. Postprandial hyperglycemia and hyperlipidemia-generated glycoxidative stress: its contribution to the pathogenesis of diabetes complications. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2005; 9:191-208.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC, Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993; 123:1939-1951.
- Rice GI, Thomas DA, Grant PJ, Turner AJ, Hooper NM. Evaluation of angiotensin-converting enzyme (ACE), its homologue ACE2 and neprilysin in angiotensin peptide metabolism. *Biochem J* 2004; 383:45-51.
- Rippe JM, Angelopoulos TJ. Added sugars and risk factors for obesity, diabetes and heart disease. *Int J Obes (Lond)* 2016a; 40 Suppl 1:S22-27.
- Rippe JM, Angelopoulos TJ. Sugars, obesity, and cardiovascular disease: results from recent randomized control trials. *Eur J Nutr* 2016b; 55:45-53.
- Sacks FM, Lichtenstein AH, Wu JHY, Appel LJ, Creager MA, Kris-Etherton PM *et al.* Dietary Fats and Cardiovascular Disease: A Presidential Advisory From the American Heart Association. *Circulation* 2017; 136:e1-e23.

- Samir N, Mahmud S, Khuwaja AK. Prevalence of physical inactivity and barriers to physical activity among obese attendants at a community health-care center in Karachi, Pakistan. *BMC Res Notes* 2011; 4:174.
- Santos RA, Simoes e Silva AC, Maric C, Silva DM, Machado RP, de Buhr I *et al.* Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100:8258-8263.
- SBC. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arquivos brasileiros de cardiologia* 2010; 95:1-51.
- SBC. 2015. *Cardiômetro*. In: *Cardiômetro: morte por doenças cardiovasculares no Brasil*. <http://www.cardiometro.com.br/antecedentes.asp>: sociedade brasileira de cardiologia.
- SBC. VII diretriz brasileira de hipertensão arterial. *Arquivos brasileiros de cardiologia* 2016; 103:1-82.
- Scharf M, Brem MH, Wilhelm M, Schoepf UJ, Uder M, Lell MM. Atrial and ventricular functional and structural adaptations of the heart in elite triathletes assessed with cardiac MR imaging. *Radiology* 2010; 257:71-79.
- Schultz A, Barbosa-da-Silva S, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Differences and similarities in hepatic lipogenesis, gluconeogenesis and oxidative imbalance in mice fed diets rich in fructose or sucrose. *Food Funct* 2015; 6:1684-1691.
- Sciarretta S, Paneni F, Ciavarella GM, De Biase L, Palano F, Baldini R *et al.* Evaluation of systolic properties in hypertensive patients with different degrees of diastolic dysfunction and normal ejection fraction. *Am J Hypertens* 2009; 22:437-443.
- Sernerl GG, Boddi M, Cecioni I, Vanni S, Coppo M, Papa ML *et al.* Cardiac angiotensin II formation in the clinical course of heart failure and its relationship with left ventricular function. *Circ Res* 2001; 88:961-968.
- Shaban N, Kenno KA, Milne KJ. The effects of a 2 week modified high intensity interval training program on the homeostatic model of insulin resistance (HOMA-IR) in adults with type 2 diabetes. *J Sports Med Phys Fitness* 2014; 54:203-209.
- Shinozaki K, Ayajiki K, Nishio Y, Sugaya T, Kashiwagi A, Okamura T. Evidence for a causal role of the renin-angiotensin system in vascular dysfunction associated with insulin resistance. *Hypertension* 2004; 43:255-262.
- SIGN. Risk estimation and the prevention of cardiovascular disease: A national clinical guideline. *Scottish Intercollegiate Guidelines Network* 2007; 1:1-71.
- Simoes e Silva AC, Silveira KD, Ferreira AJ, Teixeira MM. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. *Br J Pharmacol* 2013; 169:477-492.
- Steckelings UM, Rompe F, Kaschina E, Unger T. The evolving story of the RAAS in hypertension, diabetes and CV disease: moving from macrovascular to microvascular targets. *Fundam Clin Pharmacol* 2009; 23:693-703.
- Stolen TO, Hoydal MA, Kemi OJ, Catalucci D, Ceci M, Aasum E *et al.* Interval training normalizes cardiomyocyte function, diastolic Ca<sup>2+</sup> control, and SR Ca<sup>2+</sup> release synchronicity in a mouse model of diabetic cardiomyopathy. *Circ Res* 2009; 105:527-536.
- Sverdlov AL, Elezaby A, Qin F, Behring JB, Luptak I, Calamaras TD *et al.* Mitochondrial Reactive Oxygen Species Mediate Cardiac Structural, Functional, and Mitochondrial Consequences of Diet-Induced Metabolic Heart Disease. *J Am Heart Assoc* 2016; 5.



- Talanian JL, Galloway SD, Heigenhauser GJ, Bonen A, Spriet LL. Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. *J Appl Physiol (1985)* 2007; 102:1439-1447.
- Tappy L, Le KA. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev* 2010; 90:23-46.
- Terada T, Wilson BJ, Myette-Comicronte E, Kuzik N, Bell GJ, McCargar LJ *et al*. Targeting specific interstitial glycemic parameters with high-intensity interval exercise and fasted-state exercise in type 2 diabetes. *Metabolism* 2016; 65:599-608.
- Tjonna AE, Lee SJ, Rognmo O, Stolen TO, Bye A, Haram PM *et al*. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. *Circulation* 2008; 118:346-354.
- Topping DL, Mayes PA. The immediate effects of insulin and fructose on the metabolism of the perfused liver. Changes in lipoprotein secretion, fatty acid oxidation and esterification, lipogenesis and carbohydrate metabolism. *Biochem J* 1972; 126:295-311.
- Touyz RM, Berry C. Recent advances in angiotensin II signaling. *Braz J Med Biol Res* 2002; 35:1001-1015.
- Unger RH. Minireview: weapons of lean body mass destruction: the role of ectopic lipids in the metabolic syndrome. *Endocrinology* 2003; 144:5159-5165.
- van Kats JP, Danser AH, van Meegen JR, Sassen LM, Verdouw PD, Schalekamp MA. Angiotensin production by the heart: a quantitative study in pigs with the use of radiolabeled angiotensin infusions. *Circulation* 1998; 98:73-81.
- Vehi C, Falces C, Sarlat MA, Gonzalo A, Andrea R, Sitges M. Nordic walking for cardiovascular prevention in patients with ischaemic heart disease or metabolic syndrome. *Med Clin (Barc)* 2016; 147:537-539.
- Vickers C, Hales P, Kaushik V, Dick L, Gavin J, Tang J *et al*. Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase. *J Biol Chem* 2002; 277:14838-14843.
- Wang DD, Sievenpiper JL, de Souza RJ, Chiavaroli L, Ha V, Cozma AI *et al*. The effects of fructose intake on serum uric acid vary among controlled dietary trials. *J Nutr* 2012; 142:916-923.
- Wang Z, Li L, Zhao H, Peng S, Zuo Z. Chronic high fat diet induces cardiac hypertrophy and fibrosis in mice. *Metabolism* 2015; 64:917-925.
- Whalley GA, Doughty RN, Gamble GD, Oxenham HC, Walsh HJ, Reid IR *et al*. Association of fat-free mass and training status with left ventricular size and mass in endurance-trained athletes. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44:892-896.
- Willett WC. Dietary fats and coronary heart disease. *J Intern Med* 2012; 272:13-24.
- Wisloff U, Loennechen JP, Currie S, Smith GL, Ellingsen O. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca<sup>2+</sup> sensitivity and SERCA-2 in rat after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2002; 54:162-174.
- Wisloff U, Stoylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Rognmo O, Haram PM *et al*. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients: a randomized study. *Circulation* 2007; 115:3086-3094.
- Wolf A, Bray GA, Popkin BM. A short history of beverages and how our body treats them. *Obes Rev* 2008; 9:151-164.

- Wu FZ, Wu CC, Kuo PL, Wu MT. Differential impacts of cardiac and abdominal ectopic fat deposits on cardiometabolic risk stratification. *BMC Cardiovasc Disord* 2016; 16:20.
- Xu J, Carretero OA, Liao TD, Peng H, Shesely EG, Liu TS *et al.* Local angiotensin II aggravates cardiac remodeling in hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299:H1328-1338.
- Yin FC, Spurgeon HA, Rakusan K, Weisfeldt ML, Lakatta EG. Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: application in the aging rat. *Am J Physiol* 1982; 243:H941-947.
- Yudkin J. Dietary Carbohydrate and Ischemic Heart Disease. *Am Heart J* 1963; 66:835-836.
- Zile MR, Gottdiener JS, Hetzel SJ, McMurray JJ, Komajda M, McKelvie R *et al.* Prevalence and significance of alterations in cardiac structure and function in patients with heart failure and a preserved ejection fraction. *Circulation* 2011; 124:2491-2501.

**Anexo A – Certificado da Comissão de Ética para o cuidado e uso de animais experimentais**



**COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO  
DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS (CEUA)**



**CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº CEUA/013/2016 sobre "Efeito do treinamento de alta intensidade no estresse oxidativo e alterações metabólicas e estruturais cardiovasculares em modelo de dieta rica em frutose e rica em lipídio" sob a responsabilidade de Sandra Barbosa da Silva, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (CEUA), em 29/03/2016. Este certificado expira em 29/03/2020.

Rio de Janeiro, 29 de Março de 2016.

Prof. Dr. Alex C. Manhães  
Coordenador  
CEUA/IBRAG/UERJ

Profa. Dra. Patricia C. Lisboa  
Vice-Coordenadora  
CEUA/IBRAG/UERJ

## Anexo B – Submissão do artigo

EJON-D-17-00051 - Submission Notification to co-author

Entrada x



Editorial Office (EJON) <em@editorialmanager.com>

16:34 (Há 7 horas) ☆



para mim ▾



inglês



português

[Traduzir mensagem](#)

[Desativar para: inglês x](#)

Re: "High-intensity interval training has beneficial effects on cardiac remodeling through local renin-angiotensin system modulation in mice fed high-fat or high-fructose diets"  
Full author list: Guilherme de Oliveira Sá, MSc; Vivian dos Santos Neves; Shyrlei R.de Oliveira Fraga; Vanessa Souza-Mello, PhD; Sandra Barbosa-da-Silva, Ph.D

Dear Mr Sá,

We have received the submission entitled: "High-intensity interval training has beneficial effects on cardiac remodeling through local renin-angiotensin system modulation in mice fed high-fat or high-fructose diets" for possible publication in European Journal of Nutrition, and you are listed as one of the co-authors.

The manuscript has been submitted to the journal by Dr. Dr Sandra Barbosa-da-Silva who will be able to track the status of the paper through his/her login.

If you have any objections, please contact the editorial office as soon as possible. If we do not hear back from you, we will assume you agree with your co-authorship.

Thank you very much.

With kind regards,

Springer Journals Editorial Office  
European Journal of Nutrition