
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODINÂMICA DA MOTRICIDADE HUMANA

Exercício Físico, Dieta Rica em Frutose e Marcadores da Síndrome Metabólica em Ratos

JOSÉ DIEGO BOTEZELLI

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodinâmica da Motricidade Humana.

Junho- 2009

José Diego Botezelli

Exercício Físico, Dieta Rica em Frutose e Marcadores da Síndrome Metabólica em Ratos

Orientador: Maria Alice Rostom de Mello

Dissertação para Defesa de Nível Mestrado em
Ciências da Motricidade Humana apresentado ao
Instituto de Biociências da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Rio
Claro.

**Rio Claro
Junho de 2009**

*“Dedico este trabalho a meus pais, que colocaram a educação acima de tudo em
nossa família”.*

Agradecimentos:

Além da dedicatória os primeiros agradecimentos irão para meus pais José Archimedes e Eneide que sempre estiveram ao meu lado e tornaram não só essa, mas diversas realizações possíveis na minha vida. Não é possível colocar no papel tamanha dedicação, carinho e amor que eles proporcionaram ao longo da minha vida, esse trabalho foi realizado, primeiramente, graças a vocês. Agradeço também a minha namorada Míriam por estar presente durante este tempo de pós graduação me apoiando muito, além de todo o carinho e amor oferecidos por ela. Aos meus irmãos Zé Pedro (2cx), Marcela e Heloísa pela amizade, cumplicidade, amor e que proporcionaram momentos especiais durante toda a minha vida, obrigado por existirem.

Queria agradecer muito a minha orientadora Maria Alice que me proporcionou uma chance em seu laboratório e com sua experiência e inteligência me guiou durante toda a minha estadia no laboratório de fisiologia (vai ter que me agüentar mais um pouco ok??), não tenho como agradecer todas as oportunidades que você me proporcionou, todo o conhecimento que adquiri durante esse tempo, toda a paciência que teve durante a pós graduação e todos os momentos bons que passamos nos diversos eventos que participamos.. Às minhas avós que com muito carinho influenciaram muito na minha vida e com especial agradecimento a Teresinha que confeccionou alguns materiais para esse projeto. A todos os meus tios, tias primos e primas por acreditarem em mim. A família da minha namorada, Mauro, Elizabete, Monica e Daniela, por me aceitarem tão bem durante todo esse tempo. Gostaria de agradecer todos os membros da banca avaliadora, Eduardo Kokubun, Camila Aparecida Machado de Oliveira, Maria Alice Rostom de Mello, assim como os suplentes, Eliete Luciano, Cláudio Alexandre Gobatto, Ricardo Gomes e Fabrício Azevedo Voltarelli por aceitarem o meu pedido, essa indicação foi feita por conhecer esses excelentes profissionais e saber que as críticas e comentários me ajudarão a crescer muito.

Gostaria de agradecer a todos os companheiros de moradia: Buda, Cesão, Fábio, Big, Vitor, Lucas, Will, Marcelo, Mauricio, Cleiton, Samurai, Leandro, Michel, Fabrício, Franz, Zé Mário, Caio, Lucas, Kiki, muito obrigado por todos esses anos de convivência. A todo o pessoal do laboratório e da pós graduação, Chinês (minha pretinha), Beto, Clarisse, Rodrigo, Lu, Ivan Barrão, Ricardo, Carla, Clarisse, Camila, Clécia, Gustavão, Fabrício, Michel, Leandro novamente, Carol, Rodrigo, Fúlvia, Gustavo Rogato, Ricadro, José Alexandre, essa equipe me ajudou muito durante todo esse tempo em que estive vinculado ao laboratório. A todos os companheiros de universidade que conheci nesse tempo. A minha classe, BEF 2004, nunca me esquecerei de vocês, senti muita saudades nesse tempo de pós graduação, ainda bem que ainda conversamos bastante, aquela, com certeza, foi a melhor época da minha vida e agradeço muito por poder compartilhar desse momento com todos vocês. Aos amigos que fiz em Rio Claro, Blau, Gustavão , Gustavinho, Zanão, Paulão, Marcelo, Diego, Thiago (capaceteman), Bruno, Danilão, Humberto, Gabriel, Guar, Tiago(desculpe me se esqueci de alguém). Gostaria de agradecer meus amigos de Araras, Tiago (dubar), Gustavo, Irina, Estevão, Vitor, Henrique, Dan (fury), Diego Borba, Marcão (du bar father), Maguila e família. As repúblicas Pandora, Sofia, Amanda, Fer, Gabi, etc.... muito obrigado pela amizade, ainda bem que temos contato ainda, Rep X Carol (que virou cunhada), Dani que está passando frio no Canadá, Mila que foi pra campinas, Vuco- Vuco, valeu galera! Gostaria de deixar uma menção a todos os animais que participarem desse estudo, tentamos descrever sua utilidade em palavras nos diversos trabalhos em que eles exercem papel fundamental, mas o que eles nos proporcionam vai muito além disso.

Enfim muito obrigado a todos que passaram por minha vida nesses mais de 5 anos que se passaram.

Resumo

O presente estudo visou analisar os efeitos do exercício de caráter aeróbio sobre marcadores de esteatose hepática não alcoólica (EHNA), tolerância à glicose, sensibilidade à insulina e capacidade aeróbia de ratos mantidos em dieta rica em frutose. Foram utilizados ratos da linhagem Wistar que foram separados em dois grupos, conforme a dieta recebida: controle (dieta balanceada AIN-93 G) e frutose (dieta com 60% de frutose). Esses animais foram submetidos a testes de máximo estado estável de lactato (MEEL) para a identificação da transição metabólica aeróbia/anaeróbia durante exercício de natação aos 28, 90 e 120 dias de idade. Um terço dos animais de cada grupo foi submetido ao treinamento por natação, em intensidade equivalente ao MEEL, 1 h/dia, 5 dias/semana dos 28 aos 120 dias (protocolo precoce), outro terço foi submetido ao mesmo treinamento dos 90 aos 120 dias (protocolo tardio) e os restantes, permaneceram sedentários. As principais análises efetuadas foram: capacidade aeróbia (MEEL), tolerância à glicose (oGTT); sensibilidade periférica à insulina (ITT); marcadores de EHNA (concentrações séricas de alanina aminotransferase [ALT], aspartato aminotransferase [AST], fosfatase alcalina e as concentrações hepáticas de lipídios [totais] e concentração de triglicerídeos séricos [TG]). O treinamento precoce reduziu a carga de trabalho no MEEL do lactato dos animais alimentados com ambas as dietas. Já o treinamento tardio aumentou essa carga de trabalho nos ratos alimentados com dieta controle. O treinamento tardio, também reduziu a área sob a curva de glicose durante GTT nos ratos controle. A dieta rica em frutose diminuiu a sensibilidade à insulina dos animais. No entanto, o protocolo de exercício tardio foi eficiente em melhorar esse aspecto. Não houve diferença entre os grupos nas concentrações de ALT séricas, no entanto as concentrações de AST aumentaram no grupo frutose sedentário se comparado aos demais grupos. Houve um aumento dos lipídios hepáticos dos animais alimentados com dieta rica em frutose e sedentários, já os animais exercitados não apresentaram essa condição. As concentrações séricas de triglicerídeos apresentaram-se elevadas nos grupos frutose treinados tanto precoce quanto tardiamente em comparação com os respectivos controles. A partir desses resultados, pode-se concluir que o treinamento precoce comprometeu a capacidade aeróbia dos animais. Em contrapartida, o treinamento tardio melhorou esse aspecto. A dieta rica em frutose atenuou os efeitos do treinamento tardio sobre a tolerância à glicose, além de provocar alterações no metabolismo lipídico que resultaram em esteatose hepática.

Palavras Chave: síndrome metabólica, esteatose hepática não alcoólica, exercício físico, frutose, ratos.

Abstract

This study aimed to analyze the effects of aerobic exercise on markers of non alcoholic steatohepatitis (EHNA), glucose tolerance, insulin sensitivity and aerobic capacity of rats kept on a fructose rich diet. We used rats of Wistar strain which were separated into two groups according to diet: control (balanced diet AIN-93 G) and fructose (diet with 60% fructose). These animals were tested for maximum lactate steady state (MEEL) to identify the aerobic / anaerobic metabolic transition exercise during swimming at 28, 90 and 120 days of age. One third of the animals in each group was subjected to swimming training at intensity equivalent to MEEL, 1 h / day, 5 days / week from 28 to 120 days (early protocol), another third was submitted to the training from 90 to 120 days (late Protocol) and the others remained sedentary. The main tests performed were: aerobic capacity (MEEL), glucose tolerance (oGTT) peripheral sensitivity to insulin (ITT), markers of EHNA (serum alanine aminotransferase [ALT], aspartate aminotransferase [AST], alkaline phosphatase and hepatic concentrations of lipids [total], and concentration of serum triglycerides [TG]). The early protocol reduced the workload on MEEL in animals fed both diets. On the other hand, the later training increased work load in rats fed control diet. The later training, also reduced the areas under the glucose curve during oGTT in control rats. The fructose rich diet decreased sensitivity to insulin in these animals. However, the later exercise protocol was efficient in improving this. There was no difference between groups in concentrations of serum ALT, but the concentrations of AST increased in the fructose sedentary group compared to other groups. There was an increase in liver lipids of animals fed with fructose rich diet and sedentary. Serum concentrations of triglycerides were increased in high fructose trained groups compared with their controls. From these results, it can be concluded that the early training has reduced the aerobic capacity of the animals. However, the later training improved it. A fructose rich diet attenuated the effects of later training on glucose tolerance, and cause changes in lipid metabolism resulting in hepatic steatosis.

Keywords: metabolic syndrome, non-alcoholic steatosis, physical activity, fructose, rats.

Sumário

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS:	10
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	12
1.INTRODUÇÃO.....	13
2. JUSTIFICATIVA	15
3.OBJETIVOS	16
3.1. Objetivo geral	16
3.2. Objetivos específicos	16
4. REVISÃO DE LITERATURA	17
4.1. Tolerância à glicose, sensibilidade à insulina e exercício	17
4.2. Esteatose hepática não alcoólica e síndrome metabólica	19
4.3 Frutose e Síndrome Metabólica	20
4.4. Transição metabólica aeróbia /anaeróbia no exercício	23
5. MATERIAIS E MÉTODO	25
5.1 Animais e seu tratamento	25
5.2 Dietas.....	26
5.3 Delineamento e grupos experimentais	26
5.4 Adaptação ao meio líquido.....	29
5.5 Transição metabólica aeróbia/anaeróbia e avaliação do condicionamento aeróbio	30
5.6 Treinamento físico	31
5.7 Teste de tolerância à glicose - GTTo	31
5.8 Sensibilidade à insulina.....	32
5.9 Marcadores de Esteatose Hepática.....	32
5.10 Obtenção de material biológico	32
5.11 Estatística.....	33
6. RESULTADOS	33
7. DISCUSSÃO	60
7.1 Principais Achados.....	61
7.2 Peso corporal, ingestão alimentar e hídrica.	61
7.3 Tolerância Oral a Glicose e Sensibilidade à Insulina	63
7.4 Capacidade Aeróbia	67
7.5 Parâmetros Sanguíneos	69
7.5.1. Glicose	69

7.5.2 Triglicérides Totais Séricos	69
7.5.3 AGL.....	71
7.5.4 Colesterol Total.....	72
7.5.5 AST, ALT e Fosfatase Alcalina	73
7.6 Lipídeos Totais e Peso do Tecido Adiposo, Fígado e Coração.	75
8. CONCLUSÕES.....	77
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.

Lista de Abreviaturas:

EHNA: Esteatose Hepática Não Alcoólica.

AST: Aspartato Aminotransferase.

ALT: Alanina Aminotransferase

ALK: Fosfatase Alcalina

MEEL: máximo estado estável de lactato.

LAN: Limiar Anaeróbio.

OBLA: Onset Blood Lactate Accumulation.

GTT: Teste de Tolerância à Glicose.

ITT: Teste de Tolerância à Insulina.

Kitt: Constante de decaimento da glicose durante teste de tolerância à insulina.

GLUT5: Transportador de glicose 5.

ApoB: apolipoproteína B.

JNK: Proteína Quinase N terminal.

PKC: Proteína quinase C.

IGF-1: Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1.

Lista de Tabelas

Quadro 1. Composição das dietas AIN-93 e Frutose.	p.26
Tabela 1. Área sob a curva do peso corporal dos animais (g*12) e ganho de peso corporal	p.39
Tabela 2. Área sob a curva de ingestão alimentar e hídrica dos animais (g/100g*12 de peso corporal) durante as 12 semanas de experimento.	p.41
Tabela 3. Glicose Sérica (mg/dl) e área sob a curva de glicose sérica (mg/dl.120min) durante teste de tolerância à glicose.	p.43
Tabela 4. Cinética da Glicose Sérica (mg/dL) e taxa de redução da glicose (Kitt) durante teste de tolerância à insulina.	p.45
Tabela 5. Lactato sanguíneo (mM) de um animal de cada grupo, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação da máximo estado estável de lactato aos 28 dias	p.47
Tabela 6. Lactato sanguíneo (mM) de um animal de cada grupo, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação da máximo estado estável de lactato aos 90 dias.	p.48
Tabela 7. Lactato sanguíneo (mM) de um animal de cada grupo, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação da máximo estado estável de lactato aos 120 dias.	p.50
Tabela 8. Concentrações séricas de Glicose (mg/dl), Colesterol (mg/dl), Triglicerídeos (mg/dl) e AGL (μ Eq/L), sérico ao final do experimento.	p.52
Tabela 9. Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT) e Fosfatase Alcalina em U/L.	p.54
Tabela 10. Lipídios totais no tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitoneal, subcutânea posterior, no fígado e no coração (mg/100mg)	p.56
Tabela 11. Peso do tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitoneal e subcutânea (g/100g) dos animais.	p.58

Lista de Figuras

Diagrama 1. Mecanismo da resistência à insulina em consequência do excesso de consumo de frutose.	p.23
	p.29
Diagrama 2. Delineamento dos grupos experimentais no transcorrer do experimento.	
Figura1. Área sob a curva do peso corporal dos animais (g*12) e ganho de peso corporal	p.40
Figura2. Área sob a curva de ingestão alimentar e hídrica dos animais (g/100g*12 de peso corporal) durante as 12 semanas de experimento.	p.42
Figura3. Glicose Sérica (mg/dl) e área sob a curva de glicose sérica (mg/dl.120min) durante teste de tolerância à glicose.	p.44
	p.46
Figura4. Glicose sérica (mg/dl) e taxa de redução da glicose sérica (Kitt) durante teste de tolerância à insulina aos 120 dias de idade.	
Figura5. Lactato sanguíneo (mM) de um animal de cada grupo, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação da máximo estado estável de lactato aos 28 dias	p.47
Figura6. Lactato sanguíneo (mM) de um animal de cada grupo, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação da máximo estado estável de lactato aos 90 dias.	p.49
Figura7. Lactato sanguíneo (mM) de um animal de cada grupo, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação da máximo estado estável de lactato aos 120 dias.	p.51
Figura8. Concentrações séricas de Glicose (mg/dl), Colesterol (mg/dl), Triglicerídeos (mg/dl) e AGL (μ Eq/L), sérico ao final do experimento.	p.53
Figura9. Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT) e Fosfatase Alcalina em U/L.	p.55
Figura 10. Lipídios totais no tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitoneal, subcutânea posterior, no fígado e no coração (mg/100mg)	p.57
Figura 11. Peso do tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitoneal e subcutânea (g/100g) dos animais.	p.59

1.Introdução

Clinicamente, a síndrome metabólica, também conhecida como síndrome X ou síndrome de resistência à insulina, compreende um espectro de distúrbios, com a intolerância à glicose representando um dos mais importantes. Essas alterações incluem resistência à insulina, com ou sem diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, obesidade, dislipidemia, disfunção endotelial, entre outras (ZECCHIN et al., 2004).

Estima-se que a prevalência da síndrome metabólica seja de 24% na população adulta e entre 50-60% na população acima de 60 anos nos Estados Unidos (FORD et al., 2004).. Projeções estimam que somente neste país, no ano de 2010 existirão 50 a 75 milhões de pessoas com manifestação dessa síndrome (SAMAD et al., 1999).

Na identificação da síndrome metabólica, existem controvérsias, pois não há um único critério internacional com a descrição definitiva. Reaven (1988) sugeriu a forte associação existente entre indivíduos com os mesmos fatores de risco e designou de síndrome "X". Seu

denominador comum era representado pela resistência à insulina. Na ocasião, propôs cinco causas, todas com grande risco de doença cardiovascular: intolerância à glicose, hiperinsulinemia, aumento de triglicérides, diminuição do colesterol HDL e hipertensão arterial. A obesidade e a inatividade física aumentavam a resistência à insulina e, portanto, agravavam a síndrome. Entretanto, essa síndrome pode ser encontrada em indivíduos saudáveis, com peso e tolerância à glicose normais (ZAVARONI et al., 1989). De acordo com Duncan e Schimdt (2001), a síndrome metabólica caracteriza-se por um agrupamento, em populações, de fatores de risco para doenças cardiovasculares e diabetes, geralmente ligados à resistência à insulina e à obesidade central.

Recentemente, a Associação Européia para o Estudo do Diabetes (EASD), em conjunto com a Associação Americana de Diabetes publicou posicionamentos a respeito da síndrome metabólica. De acordo com essas associações, a síndrome metabólica, que é considerada como preditor de doenças cardiovasculares, é definida inadequadamente, usada de maneira inconsistente, sendo necessárias mais pesquisas para ajudar na compreensão da maneira pela qual deve ser tratada (KAHN et al., 2005).

Ainda segundo as associações citadas, a síndrome metabólica é geralmente definida pela presença de três ou mais das seguintes características: alta circunferência da cintura, concentrações sanguíneas elevadas de triglicérides, pressão alta, colesterol HDL circulante reduzido e altas concentrações de glicose sanguínea (KAHN et al., 2005).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) oferece uma definição um pouco diferente, incluindo qualquer um que tenha diabetes ou resistência à insulina e duas das seguintes características: elevada razão cintura/quadril, concentrações elevadas de triglicérides ou baixa concentração de colesterol HDL, pressão alta e alta excreção urinária de albumina (OMS, 1991).

Tomadas individualmente, cada uma das condições citadas é considerada como fator de risco para doença cardiovascular e deveria ser tratada como tal, afirma o autor (KAHN et al., 2005). As definições nem se quer são concordantes sobre o quão baixas as concentrações de HDL devem ser para serem consideradas “baixas” ou quão alta a pressão arterial deve ser para ser considerada “alta”, notam os mesmos autores. O conjunto dessas observações denota a urgência na ampliação dos estudos referentes a esta síndrome.

Esteatose hepática não alcoólica (EHNA) está emergindo como componente da síndrome metabólica e marcadores dessa condição, como elevação nas concentrações séricas das transaminases hepáticas aspartato amionotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) bem como da fosfatase alcalina (ALK), podem ser considerados preditores confiáveis do desenvolvimento da síndrome (HANLEY et al., 2005)

No tratamento da síndrome metabólica, o exercício físico tem sido considerado de grande importância (CIOLAC ; GUIMARÃES, 2002). Tal intervenção, comprovadamente, melhora a tolerância à glicose e reduz a resistência à insulina. Uma vez que existem limitações nas pesquisas com seres humanos, modelos animais oferecem condições mais adequadas ao estudo dessa questão.

Hipertensão moderada, intolerância à glicose, resistência à insulina, hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia, que são sinais da síndrome metabólica, foram induzidas em ratos pela alimentação prolongada com dieta contendo elevado teor de frutose (HWANG et al., 1987; BEZERRA et al., 2001). Por essa razão, ratos alimentados com esse tipo de dieta têm sido utilizados como modelo experimental da síndrome metabólica humana (OKADA et al., 2000, NAGAI et al., 2002; LEE et al., 2006).

2. Justificativa

Estima-se que a síndrome metabólica acomete 25% da população adulta e 60% da população acima de 60 anos, somente nos Estados Unidos (FORD et al., 2004), consistindo em grave problema de saúde pública. Assim, é de grande interesse a implementação de procedimentos mais eficazes para prevenção e tratamento da doença. Uma vez que existem limitações nas pesquisas com seres humanos, torna-se necessário a utilização de modelos experimentais apropriados para o estudo dessa doença. Por sua vez, o aumento do consumo de frutose na dieta tem sido associado ao aumento da incidência da síndrome metabólica. Existem evidências dos efeitos benéficos do exercício, na atenuação da manifestação da mesma. Assim sendo, a análise dos efeitos secundários do exercício sobre marcadores da síndrome em modelo animal é de grande interesse.

3.Objetivos

3.1. Objetivo geral

O presente estudo visa analisar os efeitos do exercício de caráter aeróbio sobre marcadores de esteatose hepática não alcoólica (EHNA), marcadores da síndrome metabólica e capacidade aeróbia de ratos mantidos com dieta rica em frutose do desmame à idade adulta, que têm sido empregados como modelo experimental da síndrome metabólica humana. Foi adotado o critério da OMS para o diagnóstico da síndrome metabólica, tendo como características a intolerância à glicose ou redução da sensibilidade à insulina somado a pelo menos dois dentre os seguintes fatores: hipertrigliceridemia, dislipidemia, pressão arterial elevada, aterosclerose, alta relação cintura quadril, excreção de albumina elevada.

3.2. Objetivos específicos

1. Analisar a tolerância à glicose, pelo teste de tolerância à glicose oral e a sensibilidade periférica à insulina pelo teste de tolerância à insulina;
2. Avaliar as concentrações hepáticas de lipídios totais e as concentrações séricas de aspartato amionotransferase (AST) alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (ALK), como marcadores de EHNA.
3. Determinar a transição metabólica aeróbia/anaeróbia individual desses animais durante exercício de natação em diferentes idades: após desmame (28 dias), jovem (60 dias) e adulta (90 e 120 dias), pelo protocolo da máximo estado estável de lactato;
4. Avaliar os efeitos do treinamento físico na intensidade da transição metabólica aeróbia/anaeróbia iniciado precocemente (28 dias de idade, protocolo precoce) e tardiamente (90 dias de idade, protocolo tardio) sobre o condicionamento aeróbio dos animais, os aspectos metabólicos e os marcadores de EHNA acima relacionados.

4. Revisão de Literatura

4.1. Tolerância à glicose, sensibilidade à insulina e exercício

A resistência à ação da insulina prejudica a captação de glicose no músculo e no tecido adiposo e aumenta a produção hepática de glicose. Ambas as deficiências contribuem para a hiperglicemia e evidências indicam que a resistência à insulina é a anormalidade mais precocemente detectada num quadro diabético, precedendo o início da hiperglicemia (MELLO ; LUCIANO, 2003).

Diferentes estudos têm demonstrado relação direta entre nível de atividade física e sensibilidade à insulina (RENNIE et al., 2003; LAKKA et al., 2003; HOLLOSZY et al.,

1986; SCHNEIDER et al., 1995). Evidenciou-se menor concentração circulante de insulina e maior sensibilidade ao hormônio em atletas, quando comparados a indivíduos sedentários (EBELING et al., 1993; NUUTILA et al., 1994). Atletas másteres apresentam maior proteção contra o comprometimento da tolerância à glicose associada ao envelhecimento (SEALS et al., 1984, ROGERS et al., 1990).

Demonstrou-se que uma única sessão de exercício físico aumenta a utilização de glicose mediada pela insulina em sujeitos normais, indivíduos com resistência à insulina com histórico familiar de diabetes tipo 2, obesos com resistência à insulina, bem como em portadores de diabetes tipo 2. O treinamento físico melhora a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina em indivíduos saudáveis, em obesos não-diabéticos e em portadores de diabetes tipo 1 e 2 (ERICSSON et al., 1997, KHAN et al., 2005; MILLER et al., 1994). Contudo, existem casos em que o exercício agudo não melhora a sensibilidade à insulina e pode até comprometê-la. A sensibilidade à insulina acha-se diminuída após corrida de maratona (TUOMINEM et al., 1996) e exercício extenuante e excêntrico, como correr numa ladeira (KIRWAN et al., 1992). O principal contribuinte para o mesmo são as microlesões musculares causadas por esses tipos de exercício (alto volume, e impacto) que lançam sinalizadores pró-inflamatórios na corrente sanguínea que diminuem a sensibilidade à insulina.

O efeito do exercício físico sobre a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina tem sido constatado de 12 à 48 horas após a sessão, porém volta aos níveis basais de repouso de três a cinco dias após a última sessão de exercício físico (ERICSSON et al., 1997). Isso reforça a necessidade da prática freqüente e regular da atividade física.

O fato de que apenas uma sessão de exercício melhora a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina e que o efeito do treinamento regride em poucos dias de inatividade, conduziram à hipótese de que o efeito do exercício físico sobre tolerância à glicose e sensibilidade à insulina fosse meramente agudo. Contudo, demonstrou-se que indivíduos com

resistência à insulina melhoram a sensibilidade ao hormônio em 22% após a primeira sessão de exercício e em 42% após seis semanas de treinamento (PERSGHIN et al., 1996). Isso mostra que o exercício físico apresenta tanto efeito agudo, quanto crônico sobre a sensibilidade à insulina. Dustan et al (2002) apontaram que a intervenção com exercícios resistidos durante 26 semanas, melhorou a sensibilidade à insulina, aferida através do método de hemoglobina glicosilada.

Verifica-se efeito benéfico sobre a sensibilidade à insulina tanto com exercícios aeróbios quanto com exercícios de força (PERSGHIN et al., 1996; POLLOCK et al., 2000; IVY et al., 1997; CIOLAC 2002). Os mecanismos pelos quais essas modalidades de exercício melhoram a sensibilidade à insulina parecem distintos (POLLOCK et al., 2000), o que sugere que a combinação das duas modalidades de exercício pode ser aditiva.

4.2. Esteatose hepática não alcoólica e síndrome metabólica

Entre as doenças hepáticas não virais, a esteatose hepática parece ser a mais freqüente na população em geral. Suas causas mais comuns incluem obesidade, diabetes mellitus, desnutrição, ingestão de álcool e toxicidade em consequência de drogas. Sugeriu-se também que comprometimento do metabolismo lipídico, especialmente hipertrigliceridemia, causa esteatose hepática (RODEN et al., 1996). A esteatose hepática parece acometer pessoas com idade mais avançada. Enquanto 2,6% da população de crianças são portadores da desordem, 26% dos adultos entre 40 e 59 anos possuem a EHNA (GUPTE et al., 2004). Além disso, o seu aparecimento está correlacionado a presença de diabetes tipo 2 (50%), obesidade (76%) ou obesos mórbidos com diabetes tipo 2 (95%) (DEL GAUDIO et al., 2002).

Esteatose hepática não alcoólica (EHNA) refere-se a um espectro de alterações, variando desde esteatose hepática simples até manifestações mais severas, incluindo esteato-hepatite, que pode evoluir para fibrose, cirrose e falência hepática (MULHALL et al., 2002). EHNA é diagnosticada na clínica através de biópsia hepática, técnica que não pode ser aplicada em estudos epidemiológicos. Contudo, indivíduos portadores de EHNA tipicamente apresentam concentrações séricas elevadas de marcadores de lesão hepática, incluindo aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) (MUKAI et al., 2002) e sugeriu-se que EHNA seja a causa mais comum da elevação crônica das concentrações séricas das transaminases hepáticas (CLARK ; DIEHR, 2003a). Essas observações indicam que marcadores de lesão hepática podem ser também marcadores confiáveis de EHNA em estudos epidemiológicos (MUKAI et al., 2002)

Foi relatado que portadores da síndrome metabólica apresentam elevada prevalência de EHNA (MARCHESINI et al., 2001). Além disso, marcadores hepáticos mostraram-se correlacionados à síndrome metabólica em grandes amostras representativas da população em geral (CLARK ; BRANCATI ; DIEHR, 2003b) e existem evidências de que ALT e a razão AST/ALT predizem, de maneira significativa, a incidência da síndrome metabólica (HANLEY et al., 2005)

Ratos diabéticos por administração de estreptozotocina (DOMINGO et al., 1992, WAKAME, 1999) ou aloxana (AWADALLAH ; EL-DESSOUKEY, 1977; KIM et al., 2006) apresentam aumento na atividade sérica das enzimas AST e ALT. Por outro lado, a alimentação de ratos com dieta rica em sacarose não alterou a atividade dessas enzimas no fígado (YAMINI et al., 1991)

4.3 Frutose e Síndrome Metabólica

Denominado “açúcar das frutas”, a frutose sempre foi ingerida pelo ser humano desde a antiguidade. Nas últimas décadas seu emprego se disseminou em refrigerantes, bolos, massas, entre outros alimentos. Isso gerou um aumento no consumo de frutose de aproximadamente 500% entre as décadas de 70 e 90 (RUMESSEN, 1992). Existem diversas fontes desse nutriente. Entre as mais usadas pela indústria estão a sacarose, obtida da cana de açúcar no Brasil e o HCFS (high corn fructose syrup) obtido a partir do milho principalmente nos EUA.

Na década de 70 seu consumo foi estimulado embasado em diversos estudos que apontavam que esse nutriente não induzia a secreção e produção de insulina, o que em tese seria altamente recomendável para diabéticos do tipo 2, intolerantes à glicose ou com a sensibilidade à insulina alterada. Com o avanço das pesquisas, o papel da frutose como alimento para diabéticos foi desmistificado, uma vez que diversos estudos apontaram que o consumo continuado de altas doses do nutriente acarretava aumento dos triglicérides hepáticos, conforme mostra o diagrama 1. Isso implica na alteração da sensibilidade à insulina, além de gerar aumento das concentrações de ácido úrico circulantes, hipercolestromeia e dislipidemias. (BASCIANO et al., 2005)

Ao ser ingerida, a frutose é absorvida pelo intestino e é liberada na corrente sanguínea onde é transportada pelo sangue ao sistema porta hepático. Já no fígado, o processo de absorção da mesma no hepatócito se deve aos transportadores de glicose GLUT 2. Dentro da célula ela é transformada em frutose 1-fosfato (FRUTOSE 1-P), reação essa modulada pela frutoquinase. A frutose 1-P por sua vez pode ser convertida em gliceraldeído ou diidroxicetonafosfato. O gliceraldeído é então transformado em gliceraldeído 3-fosfato (GLICERALDEÍDO 3-P), que por sua vez irá se transformar em piruvato. Este, entrará na cadeia de respiração celular ou então produzir acetil-Coa, que fornecerá esqueletos de carbono para a síntese acil-Coa (ACILCOENZIMA A). Já a diidroxicetonafosfato será convertida em glicerol 3-P, que se ligará às moléculas de acil-Coa, convertendo-se em acil-glicerol que será utilizado na síntese de

triglicerídeos ou, pela adição de uma molécula de ApoB, na produção do VLDL (BASCIANO et al., 2005).

A produção de energia através da frutose aumenta os níveis de citrato na mitocôndria. O citrato é um potente inibidor da PFK (fosfofrutoquinase) que funciona como modulador alostérico da glicólise. Esse fenômeno gera uma inibição da glicólise, e conseqüentemente uma diminuição da participação da glicose na produção de energia. O hepatócito passa então a aumentar sua produção de energia baseada nos TG estocados, esse fenômeno por si só contribui para a resistência hepática à ação da insulina. Além disso, o aumento da oxidação de lipídeos aumenta a beta oxidação, que é uma potente produtora de EROS (espécies reativas de oxigênio) e com isso aumenta o estresse oxidativo hepático. O aumento do estresse oxidativo gera então um processo inflamatório que pode culminar, a longo prazo, em apoptose do hepatócito e necrose hepática. Além disso, importantes sinalizadores de inflamação como o TNF- α são liberados na corrente sanguínea. O TNF- α é um potente inibidor da ação da insulina bem como potente inibidor da produção e da ação da adiponectina, hormônio muito importante para a sensibilidade à insulina (BASCHIANO et al., 2005).

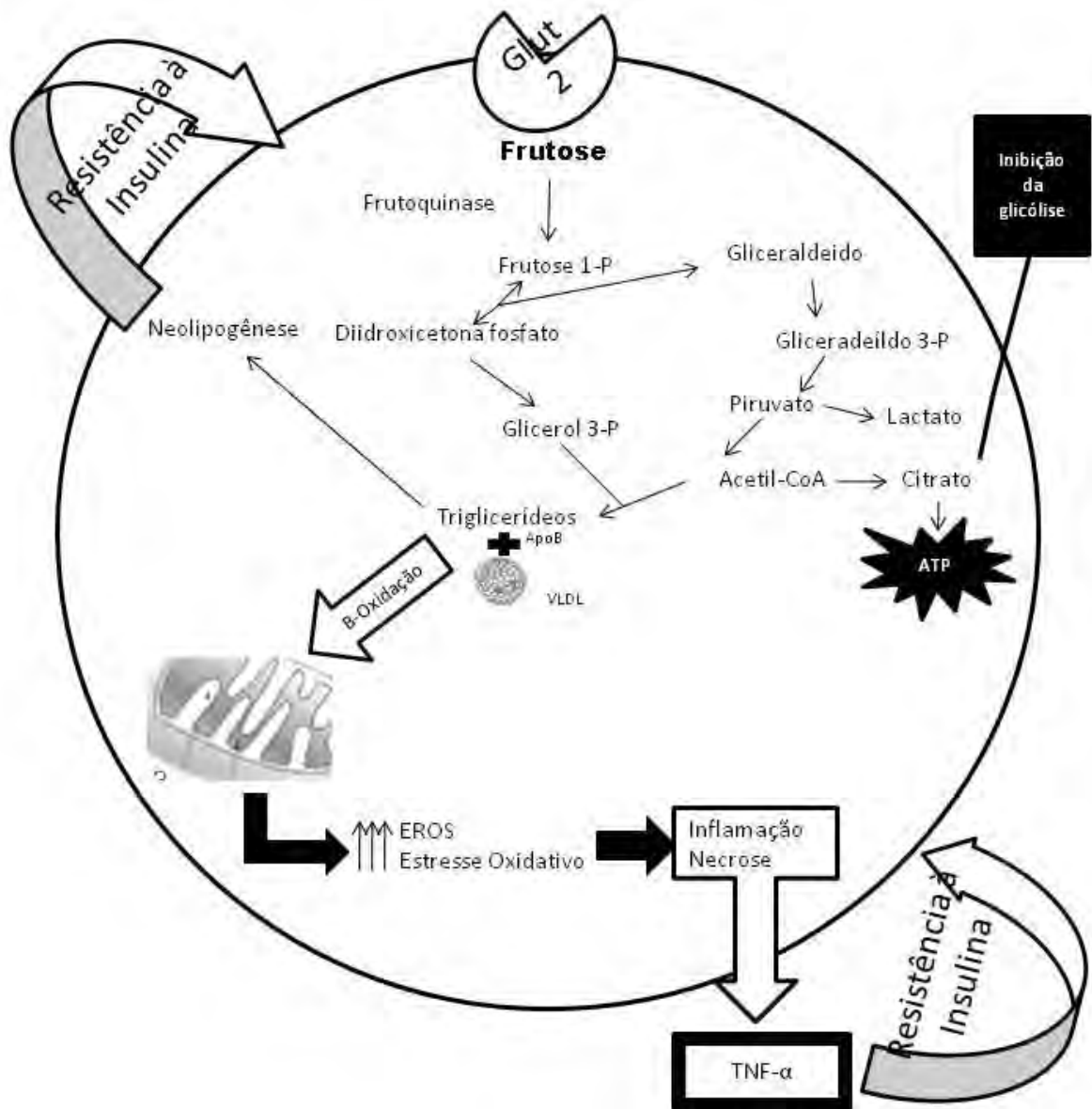


Diagrama 1. Mecanismo da resistência à insulina em consequência do excesso de consumo de frutose.

Como sabido, a resistência à insulina é um importante fator de risco para a síndrome metabólica. Com isso o consumo em excesso da frutose pode aumentar significativamente a evolução do quadro para a síndrome metabólica.

4.4. Transição metabólica aeróbia /anaeróbia no exercício

O fornecimento de adenosina trifosfato (ATP) para a manutenção do exercício pode ser proveniente dos metabolismos aeróbio e anaeróbio. Durante o exercício moderado, as respostas fisiológicas estabilizam-se rapidamente e o oxigênio supre de maneira satisfatória a demanda energética. Em intensidades mais elevadas, a via metabólica predominante é a anaeróbia, o que resulta na redução abrupta do pH muscular em consequência da produção de lactato. Isso dificulta a manutenção do exercício por tempo prolongado, já que ocorre a inibição da atividade enzimática responsável pela ligação do cálcio a troponina, sistema esse que possibilita a exposição do filamento de actina, aonde a miosina irá se ligar gerando assim a contração. (McARDLE et al.. 1998).

Existe uma zona de transição a partir da qual ocorre a mudança da predominância aeróbia para a anaeróbia, sendo essa zona de exercício extremamente importante para o condicionamento físico, treinamento e rendimento desportivo. Por essa razão, diversas investigações a cerca dessa zona de transição vêm sendo realizadas nas últimas décadas, resultando em diferentes protocolos de avaliação. Dentre os mais utilizados, destacam-se o limiar ventilatório observado por WASSERMAN ; McILROY (1964), a concentração de lactato sanguíneo para identificar o limiar anaeróbio (LAN), proposto por KINDERMAN e colaboradores (1979), o limiar anaeróbio obtido pela concentração fixa de 4,0 mM de lactato sanguíneo (OBLA), inicialmente sugerido por SJODIN ; JACOBS (1981), o modelo de potência crítica não invasivo e exaustivo proposto por MONOD e SCHERER (1969), entre outros.

Grande parte desses protocolos de avaliação utiliza a resposta do lactato sanguíneo devido à fidedignidade dessa variável sanguínea na mensuração da intensidade do exercício bem como excelente resposta ao treinamento físico, permitindo além da caracterização do esforço, acompanhamento da eficiência do treinamento.

O limiar anaeróbio (LAN) foi definido como a carga de trabalho na qual o lactato sanguíneo começa a acumular desproporcionalmente durante o exercício, com cargas progressivas (WASSERMAN ; McILROY, 1964) e, teoricamente, indica o “máximo estado estável de lactato” (MEEL) (MADER ; HECK, 1986). O MEEL equivale à mais alta concentração sanguínea de lactato onde sua entrada na circulação é recuperada pela remoção durante o exercício com carga constante (HECK et al., 1985). O pressuposto de que o LAN coincide com o MEEL mostrou-se verdadeiro em diferentes tipos de exercício, como corrida em esteira rolante e cicloergometria (STEGGMAN ; KINDERMAN, 1982; HECK et al., 1985), entretanto a carga de exercício MEEL parece diferir do LAN na ergometria de braço (KRUGER et al., 1990) e no remo (BENEKE, 1995).

O MEEL também já foi utilizado para determinação da transição metabólica em ratos. Há algum tempo, nosso grupo de pesquisa (GOBATTO et al., 2001) desenvolveu um estudo para a determinação do MEEL de ratos durante o exercício de natação. Nesse estudo, o MEEL foi obtido na carga de 6% do peso corporal à concentração sanguínea de lactato de 5.5 mmol/l. Mais recentemente, nosso grupo descreveu, também, um protocolo para determinação do MEEL de ratos durante exercício de corrida em esteira rolante. Neste caso, o MEEL foi obtido na velocidade de 20m/min, à concentração de lactato sanguíneo 3,9 mmol/l.(MANCHADO et al., 2005).

5. Materiais e Método

5.1 Animais e seu tratamento

O estudo utilizou ratos da linhagem Wistar, recém desmamados, que foram mantidos em gaiolas coletivas, a temperatura de $25 \pm 1^\circ \text{C}$ e em ciclo claro/escuro de 12/12 horas, com livre acesso a água e ao alimento. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Nutrição, Metabolismo e Exercício, Área de Biodinâmica do Departamento de Educação Física da UNESP Campus de Rio Claro, SP. Os animais tiveram peso corporal, ingestão alimentar e hídrica registrados uma vez por semana ao longo do experimento. Todos os experimentos realizados com os animais foram avaliados e aprovados pelo comitê de ética da Fundação Hermínio Ometto (UNIARARAS) processo número: 068/2008.

5.2 Dietas

Durante o experimento, o alimento constituiu-se de dietas semi-purificadas balanceada ou rica em frutose, conforme composição descrita no quadro 1.

Quadro 1. Composição das dietas isocalóricas:

Componentes (g/Kg)	Balanceada ¹	Rica em frutose (60%)
Caseína ²	202	202
Amido	397	-
Dextrina	130,5	-
Sacarose	100	27,5
Frutose	-	600
L-cistina	3	3
Óleo de soja	70	70
Mistura de sais (AIN-93GMX) ¹	35	35
Mistura de vitaminas (AIN-93GVX) ¹	10	10
Fibra	50	50
Cloridrato de colina	2,5	2,5

1. De acordo com American Institute of Nutrition (AIN-93G) J.Nutr. v.123, p.1939-1951, 1993.

2. Valores corrigidos em função do conteúdo de proteína na caseína.

5.3 Delineamento e grupos experimentais

Após o desmame (28 dias) até a idade adulta (120 dias), os animais foram separados em dois grupos de acordo com a dieta:

- *Controle (C)*: alimentados com a dieta balanceada (AIN-93) ;
- *Frutose (F)*, alimentados com a dieta rica em frutose.

Após adaptação ao meio líquido, um terço dos animais dos grupos C e F foram submetidos a testes de máximo estado estável de lactato (MEEL) para a identificação da transição metabólica aeróbia/anaeróbia durante exercício de natação aos 28, e posteriormente aos 90 dias de idade. Esses animais passaram a compor os grupos controle e frutose treinados precocemente (CTP e FTP). Os dois terços restantes, permaneceram sedentários (C e F) (Diagrama2). O treinamento foi feito por natação, em intensidade equivalente à transição metabólica individual, precocemente (dos 28 aos 120 dias), visando avaliar o impacto do treinamento sobre a prevenção da instalação das alterações metabólicas impostas pela dieta rica em frutose (protocolo precoce).

Aos 90 dias foi executado, um novo teste para o ajuste das cargas de trabalho dos animais, já que, estudos prévios (GOBATTO et al., 2001) demonstraram alterações nas sobrecargas com o aumento da idade dos animais. Outro terço dos ratos do grupo C e F, realizou teste de MEEL somente aos 90 dias, sendo submetidos ao treinamento tardiamente (dos 90 aos 120 dias), compondo os grupos controle treinado tardio (CTT) e frutose treinado tardio (FTT), para verificar os efeitos do treinamento no tratamento de alterações já instaladas impostas pela dieta rica em frutose (protocolo tardio). O terço restante permaneceu inativo até o final do estudo, grupos controle sedentário (C) e frutose sedentário (F) (Diagrama2). Em resumo, 6 subgrupos experimentais foram compostos com 8 ratos em cada um, na dependência da atividade física realizada:

- *Controle (C)*: alimentados com dieta balanceada (AIN-93 G), mantidos sedentários;
- *Controle treinado precocemente (CTP)*: alimentados com dieta balanceada e submetidos ao treinamento por natação em intensidade equivalente ao MEEL a partir dos 28 dias de idade;
- *Controle treinado tardiamente (CTT)* alimentados com dieta balanceada e submetidos ao treinamento por natação em intensidade equivalente ao MEEL a partir dos 90 dias de idade;
- *Frutose (F)*: alimentados com a dieta rica em frutose, mantidos sedentários;
- *Frutose treinado precocemente (FTP)*: alimentados com dieta rica em frutose e submetidos ao treinamento por natação em intensidade equivalente ao MEEL a partir dos 28 dias de idade (protocolo precoce);
- *Frutose treinado tardiamente (FTT)*: alimentados com dieta rica em frutose e submetidos ao treinamento por natação em intensidade equivalente ao MEEL a partir dos 90 dias de idade (protocolo tardio).

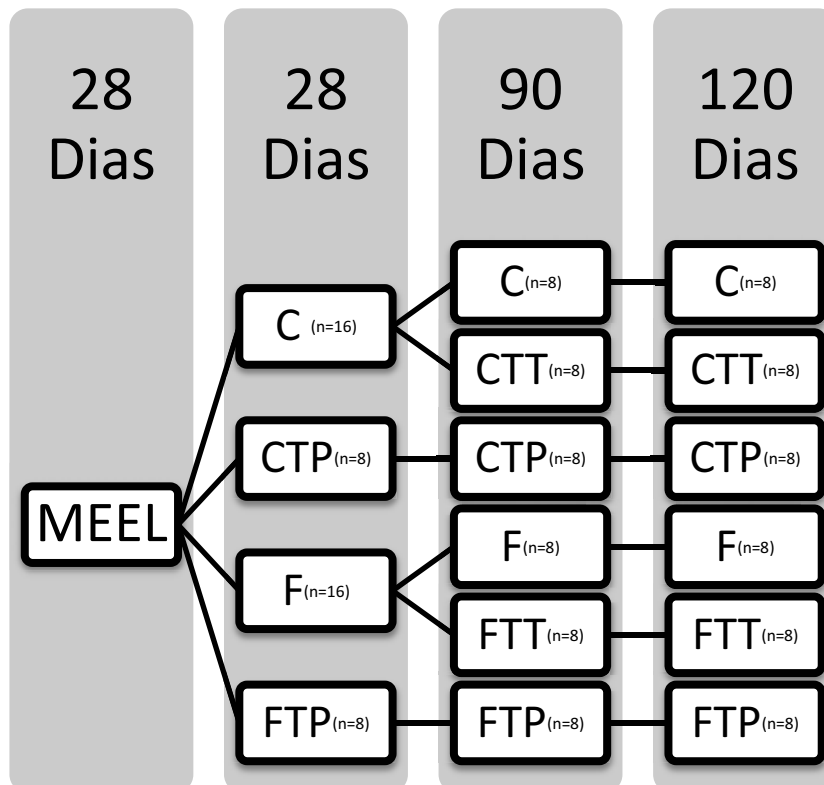


Diagrama2. Delineamento dos grupos experimentais no transcorrer do experimento. MEEL: máximo estado estável de lactato; C: Controle; CTP: Controle Treinado Precocemente; CTT: Controle Treinado Tardiamente; F: Frutose; FTP: Frutose Treinado Precocemente; FTT Frutose treinado Tardiamente.

5.4 Adaptação ao meio líquido

A adaptação foi realizada durante 15 dias ininterruptos, no mesmo tanque em que o treinamento dos animais foi posteriormente realizado, com a temperatura da água mantida a $31 \pm 1^\circ\text{C}$ (GOBATTO et al., 2001). O propósito da adaptação é de reduzir o estresse do animal sem, entretanto, promover adaptações fisiológicas decorrentes do treinamento físico. Inicialmente, os ratos foram inseridos em água rasa por três dias durante 15 minutos. Posteriormente, o nível da água foi aumentado, bem como o tempo de duração do esforço e a carga sustentada pelo animal. Assim, no quarto dia, os ratos nadaram em água profunda por

dois minutos, com acréscimo de dois minutos a cada dia até o décimo dia de adaptação. No 11o dia, os animais foram submetidos ao exercício de natação por cinco minutos suportando uma carga de 3% de seu peso corporal, com acréscimos de cinco minutos a cada dia, e, no 15o dia, encerrou-se a adaptação.

5.5 Transição metabólica aeróbia/anaeróbia e avaliação do condicionamento aeróbio

A identificação da transição metabólica aeróbia/anaeróbia durante a natação bem como a avaliação do condicionamento aeróbio dos animais foram efetuadas pelo protocolo de máximo estado estável de lactato (MEEL). O MEEL equivale à mais alta concentração de lactato sanguíneo onde sua entrada na circulação é compensada pela remoção durante exercícios com cargas constantes. (HECK et al., 1985) e sua determinação tem se mostrado útil na prescrição de exercícios e na avaliação do condicionamento aeróbio. Recentemente, nosso grupo de pesquisa descreveu um protocolo para a determinação do MEEL para ratos durante exercício de natação (GOBATTO et al., 2001), que foi utilizado no presente estudo.

Resumidamente, os animais foram submetidos a vários testes de natação suportando sobrecargas constantes e alteradas em cada dia de teste (crescente ou decrescente) em relação ao peso corporal, com intervalos de 48 horas entre eles, até que não fosse mais possível estabilização das concentrações de lactato sanguíneo durante a sessão de exercício. Cada teste consistiu de 25 minutos de natação contínua suportando uma carga, com coleta de sangue, por pequeno corte na extremidade da cauda, a cada 5 minutos para a determinação das concentrações de lactato. Uma única incisão foi suficiente para obtenção de todas as amostras. As concentrações de lactato sanguíneo foram então, determinadas em analisador de lactato

(modelo YSI 1500 Sport, YellowSprings, OH, EUA). O critério de estabilização empregado, foi diferença igual ou inferior a 1,0mM de lactato sanguíneo entre 10 e 25 minutos de exercício. Os testes para a identificação do MEEL foram repetidos após o período de treinamento, para verificação de possível melhoria no condicionamento aeróbio.

5.6 Treinamento físico

Os animais dos grupos treinados foram submetidos ao exercício de natação, em tanques coletivos, contendo água a 31 ± 1 graus, 1 hora por dia, 5 dias por semana, suportando sobrecargas de chumbo atadas ao tórax, equivalentes à transição metabólica aeróbia/anaeróbia individual, identificada pela máximo estado estável de lactato.

5.7 Teste de tolerância à glicose - GTTo

O GTTo foi realizado, aos 120 dias de idade dos animais, após 15 horas de jejum. Uma primeira coleta de sangue foi feita através de pequeno corte na extremidade da cauda do animal (tempo 0). Em seguida, uma solução de glicose a 20% (2 g/Kg de peso) foi administrada aos ratos através de sonda gástrica de polietileno. Amostras de sangue, foram coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25 μ L, visando a determinação das concentrações de glicose e insulina. Uma única incisão na cauda foi suficiente para obtenção de todas as amostras. As concentrações de glicose sanguínea foram então, determinadas pelo método glicose-oxidase (NOGUEIRA et al., 1990) e as de insulina, pelo radioensaio (HERBERT et al., 1965). Os resultados foram analisados através da determinação das áreas

sob as curvas de glicose e de insulina séricas durante o teste pelo método trapezoidal (MATHEWS et al., 1990), utilizando-se o software ORIGIN 8.0 (2007).

5.8 Sensibilidade à insulina

A sensibilidade à insulina foi avaliada, aos 120 dias de idade, através do teste subcutâneo de tolerância à insulina. O teste de tolerância à insulina constituiu de administração subcutânea da mesma (300 mU/kg de peso corporal), seguido por coletas de sangue nos tempos 0, 30, 60 e 120 minutos. O Kitt (taxa de desaparecimento da glicose) foi calculado através da equação $0,693/t_{1/2}$, onde $t_{1/2}$ é a meia vida. A meia vida da glicose foi calculada através de análise q-quadrado das concentrações de glicose entre 0-60 min após a injeção subcutânea de insulina, onde a glicemia reduziu-se linearmente (LUNDBAECK 1962).

5.9 Marcadores de Esteatose Hepática

Concentração hepática de lipídios totais e concentrações séricas das transaminases hepáticas AST e ALT e da fosfatase alcalina foram avaliadas ao final do experimento (120 dias), como marcadores de esteatose hepática. A análise foi realizada através do método cinético de espectrofotometria e o kit utilizado foi kit comercial da *LABORLAB*®.

5.10 Obtenção de material biológico

Ao final do experimento, os animais foram mortos por decaptação, 48 horas depois da última avaliação "in vivo", em repouso, sendo o sangue coletado para a separação do soro e dosagem das transaminases hepáticas AST e ALT, da fosfatase alcalina (kits comerciais Laborlab ®), de glicose, de triglicerídios (NOGUEIRA et al., 1990) e de insulina (HERBERT et al., 1965). O fígado foi então extirpado para pesagem e uma alíquota (500 mg) utilizada para a determinação da concentração de lipídios totais (NOGUEIRA et al., 1990). Além disso o coração e os tecidos adiposos (subcutâneo, retroperitoneal e mesentérico) foram pesado em sua totalidade e uma alíquota foi retirada para a dosagem de lipídios totais.

5.11 Estatística

Foi utilizado o teste Shapiro Wilk's *W* para verificação da normalidade das amostras. Em seguida os resultados foram analisados estatisticamente através de Análise de Variância (ANOVA de duas entradas). Quando necessário foi utilizado o teste Post Hoc de *LSD*. Em todos os casos, o nível de significância foi pré-estabelecido em 5%. O programa utilizado foi o Statistica 7.0.

6. Resultados

Na tabela 1 e na figura 1 estão expressos os valores de área sob a curva da evolução do peso corporal dos animais. A ANOVA de duas entradas apontou efeito do exercício físico nos valores de área sob a curva dos animais. Não foi observado efeito da dieta ou interação dieta e

exercício físico. Os grupos treinados precocemente (CTP e FTP) apresentaram menor área sob a curva de peso corporal se comparados aos respectivos controles sedentários (C e F).

A tabela 2 e a figura 2 mostram os valores da área sob a curva de da ingestão alimentar e hídrica dos animais. Houve efeito tanto da dieta quando do treinamento nos valores achados. Porém não houve interação entre os dois fatores. O grupo FTP apresentou maior ingesta hídrica e alimentar se comparados aos grupos CTP, F, FTT. O CTP apresentou maior ingesta tanto hídrica quanto alimentar, se comparado aos grupos CTT e C. Já o grupo FTT apresentou maior ingesta tanto líquida quanto alimentar se comparado ao grupo CTT. Por último o grupo F apresentou maior ingestão alimentar e hídrica se comparado ao grupo C.

A tabela e a figura 3 mostram os valores da glicemia dos animais durante teste de tolerância à glicose e valores da área sob a curva glicêmica no mesmo teste. A ANOVA de duas entradas não apontou efeitos da dieta, do exercício ou da interação entre os dois fatores.

A tabela 4 e a figura 4 apresentam os valores da cinética glicose sérica durante o teste de tolerância à insulina e a taxa de redução da glicose (kitt). A ANOVA de duas entradas apontou efeitos da dieta e da interação entre dieta exercício, mas não do treinamento isoladamente. Sobre o Kitt, o treinamento físico diminuiu os valores de Kitt nos grupos controle (CTP e CTT). O inverso, no entanto, foi observado nos animais treinados (FTP e FTT) e alimentados com dieta rica em frutose. O grupo frutose sedentário (F) apresentou valores de kitt aproximadamente 9 vezes menor se comparado ao grupo controle sedentário (C), o que corresponde a uma enorme redução na sensibilidade à insulina. O grupo FTP apresentou menor valor de Kitt se comparado ao grupo FTT e CTP. No entanto o grupo FTT apresentou maiores valores de Kitt se comparado ao grupo CTT.

A tabela 5 e a figura 5 apresentam a cinética do lactato sanguíneo em um animal, aos 28 dias, a título de exemplo, durante um teste para diagnosticar a máximo estado estável de lactato (MEEL), utilizando o exercício de natação. Para o animal em destaque o MEEL foi obtida na

carga de 9% com concentração média de $5,2 \pm 2,3$ mM. A maioria dos animais (44%) apresentou o MEEL na carga de 9% do peso corporal com concentração média de lactato em $4,0 \pm 0,2$ mM.

A tabela e a figura 6 apresentam a cinética do lactato sanguíneo em um animal de cada grupo, aos 90 dias a título de exemplo, durante um teste para diagnosticar a máximo estado estável de lactato (MEEL), utilizando o exercício de natação. Para o animal do grupo C o MEEL ocorreu na carga de 5% do peso corporal e a concentração média de lactato foi de $4,9 \pm 0,3$ mM. Para o animal do grupo CTP o MEEL ocorreu na carga de 5,5% do peso corporal e à concentração média de lactato de $3,3 \pm 0,4$ mM. Para o animal do grupo F o MEEL ocorreu na carga de 5% do peso corporal e à concentração de lactato foi de $3,3 \pm 0,0$ mM. Para o animal do grupo FTP o MEEL ocorreu na carga de 5,5% do peso corporal e à concentração média de lactato foi de $3,3 \pm 0,4$ mM. Considerando todo o lote de animais, o grupo C apresentou concentração média de lactato de estabilização em $2,6 \pm 1,8$ mM e a carga de exercício no MEEL para a maioria dos animais (55%) foi de 5,5% do peso corporal. Para os animais do Grupo CTP, a lactacidemia média de estabilização foi de $3,1 \pm 0,8$ mM e a carga de exercício no MEEL para a maioria dos animais (50%) foi de 4% do peso corporal. O grupo F apresentou lactacidemia média de estabilização de $5,9 \pm 1,7$ mM e carga de exercício no MEEL para a maioria dos animais (44%) foi de 5% do peso corporal. O Grupo FTP apresentou lactacidemia média de estabilização no MEEL de $1,8 \pm 1,0$ mM e a carga de exercício no MEEL para a maioria dos animais (44%) 5% do peso corporal. Os valores de sobrecarga equivalente ao MEEL sugerem que o treinamento precoce comprometeu a capacidade aeróbia dos animais no grupo controle.

A tabela e a figura 7 apresentam a cinética do lactato sanguíneo em um animal de cada grupo, aos 120 dias à título de exemplo, durante um teste para diagnosticar a máximo estado estável de lactato (MEEL), utilizando o exercício de natação. Para o animal do grupo C o MEEL ocorreu na carga de 5,5% do peso corporal e à concentração média de lactato de $4,7 \pm 0,2$

mM. Para o animal do grupo CTP o MEEL ocorreu na carga de 5,5% do peso corporal e à concentração média de lactato de $2,8 \pm 0,5$ mM. Para o animal do grupo F o MEEL ocorreu na carga de 6,5% do peso corporal e à concentração de lactato média de $3,5 \pm 0,4$ mM. Para o animal do grupo FTP o MEEL ocorreu na carga de 4% do peso corporal e à concentração média de lactato foi de $4,1 \pm 0,2$ mM. Para o animal do grupo CTT a MEEL ocorreu na carga de 5% do peso corporal e à concentração média de lactato foi de $3,9 \pm 0,5$ mM. Para o animal do grupo FTT o MEEL ocorreu na carga de 5% do peso corporal e à concentração de lactato de $4,9 \pm 0,4$ mM. Considerando todo o lote de animais, no grupo controle (C), a média de lactacidemia de estabilização no MEEL foi de $5,0 \pm 1,1$ mM e a maioria dos animais (57%) mostraram o MEEL na carga de 5,5% de peso corporal. Para os animais do grupo CTP, a lactacidemia média de estabilização foi de $3,2 \pm 1,1$ mM e a carga de exercício do MEEL para a maioria dos animais (44%) foi de 4% do peso corporal. O grupo CTT apresentou concentração média de lactato de estabilização de $3,6 \pm 1,4$ mM e carga de exercício do MEEL para a maioria dos animais (50%) foi de 6,5% do peso corporal. O grupo F apresentou lactacidemia de estabilização na concentração de $3,1 \pm 1,7$ mM durante o teste de MEEL e a carga de exercício para a maioria dos animais (44%) foi de 6% do peso corporal durante o teste de MEEL. O grupo FTP apresentou lactacidemia média de estabilização de $4,1 \pm 0,2$ mM e a carga de exercício para a maioria dos animais (62%) 4,5% do peso corporal. O grupo FTT apresentou lactacidemia média de estabilização de $3,0 \pm 2,6$ mM durante o teste de MEEL e a carga de exercício para a maioria dos animais (44%) foi de 6,5% do peso corporal. Os valores de sobrecarga equivalente ao MEEL sugerem que o treinamento tardio melhorou a capacidade aeróbia dos animais, enquanto o protocolo de exercício precoce e a dieta rica em frutose comprometeu a mesma.

A tabela 8 e a figura 8 apresentam os valores de glicose, colesterol, triglicerídeos e AGL séricos dos animais ao final do experimento. Houve influencia das dietas e dos protocolos de

treinamento quando analisados pela ANOVA de duas entradas, mas não houve interação entre dieta e treinamento para esse parâmetro. Os grupos frutose treinados (FTP e FTT) apresentaram maiores valores de triglicerídeos se comparados aos controles correspondentes (CTP e CTT).

Tanto a dieta quanto o exercício físico interferiram nos valores de AGL de forma independente, não havendo interação entre os mesmos. Foi observada uma concentração de AGL maior no grupo CTT se comparado ao grupo C, CTP e FTT.

A tabela 9 e a figura 9 apresentam os valores de AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase) e fosfatase alcalina sanguíneas. A ANOVA de duas entradas apontou o efeito do treinamento físico tanto precoce quanto tardio sobre as concentrações de AST circulantes, e também, apontou a interação da dieta com o exercício, onde, os valores de AST foram maiores nos animais do grupo F se comparados ao grupo C. Ainda, os animais do grupo CTT apresentaram menores concentrações de AST se comparados ao grupo C. Os animais do grupo FTT e FTP apresentaram menores concentrações de AST se comparados ao grupo F.

A ANOVA de duas entradas não apontou efeitos da dieta, do treinamento e nem da interação entre os dois fatores para os valores de ALT.

A ANOVA de duas entradas apontou efeito do treinamento físico e da dieta sobre os valores de ALK, no entanto, não foi observado efeito de interação. Os animais treinados tardiamente (CTT e FTT) apresentaram maiores valores de ALK se comparados aos seus respectivos sedentários (C e F) e treinados precocemente (CTP e FTP).

A tabela e a figura 10 mostram as concentrações de lipídios do tecido adiposo subcutâneo, mesentérico, retroperitoneal, do coração e do fígado. De acordo com a ANOVA de duas entradas o exercício físico influenciou os níveis de lipídios do tecido adiposo retroperitoneal, mas nenhum efeito foi observado quanto à dieta e a interação entre dieta e

exercício físico. O grupo CTP apresentou maiores concentrações de lipídios na gordura retroperitoneal se comparado ao grupo CTT.

A ANOVA de duas entradas não apontou efeito da dieta, do exercício ou da interação dieta/exercício nos lipídios do tecido adiposo mesentérico.

A ANOVA de duas entradas apontou diferença entre os protocolos de treinamento dos animais quanto aos lipídios hepáticos. Não houve influência da dieta ou interação dieta/exercício físico. Os animais treinados precocemente (CTP e FTP) apresentaram menores valores de lipídios hepáticos se comparados aos seus respectivos grupos sedentários (C e F) e treinados tardiamente (CTT e FTT). Ainda, o grupo F apresentou maiores concentrações de lipídios no fígado se comparado ao grupo C.

A tabela 11 e a figura 11 mostram os valores dos pesos do tecido adiposo subcutâneo, retroperitoneal e mesentérico. Não houve efeito da dieta isoladamente nem da interação dieta e exercício. Contudo, a ANOVA de duas entradas apontou efeito do exercício nesse parâmetro. Ocorreu redução no peso do tecido adiposo retroperitoneal dos animais treinados precocemente (CTP e FTP) se comparados aos animais treinados tardiamente (CTT e FTT). O grupo CTT apresentou maior peso do tecido adiposo retroperitoneal se comparado ao grupo CTP.

A ANOVA de duas entradas apontou uma redução do peso da gordura mesentérica nos grupos treinados precocemente (CTP e FTP) se comparados aos treinados tardiamente. Não foram achados efeitos da dieta ou interação dieta/exercício. Ainda, o grupo CTP apresentou menor peso do tecido adiposo mesentérico se comparado ao grupo C e CTT.

Resultados:**Tabela1.** Área sob a curva do peso corporal (g.12semanas) e ganho de peso dos animais (g).

Área Sob a Curva de Peso Corporal	GRUPOS					
	C	CTP	CTT	F	FTP	FTT
	3975	3395	3741	3751	3172	3319
	±	±	±	±	±	±
	302	343*	313	312	209 [#]	257
Ganho de Peso dos Animais	389	305	352	363	298	287
	±	±	±	±	±	±
	50	37*	53	46	27 [#]	28 [#]

Resultados expressos como média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado Tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hoc de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. ANOVA de duas entradas apontou efeito do exercício físico nos valores de área sob a curva dos animais.

*≠C

#≠F

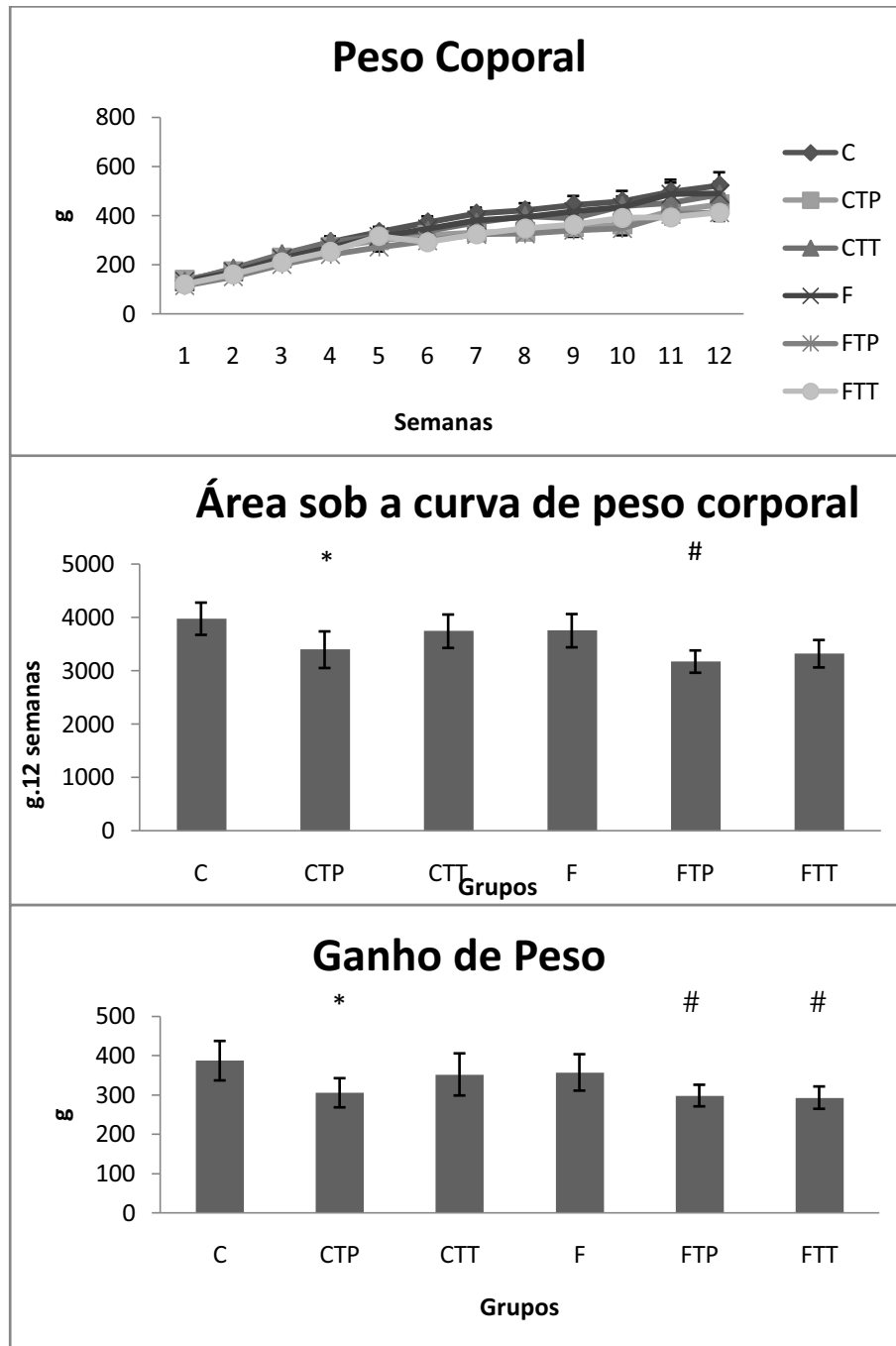


Figura 1. Evolução do peso corporal, área sob a curva do peso corporal e ganho de peso dos animais durante as semanas de experimento. Resultados expressos com média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= Frutose Treinado Tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hock de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. A ANOVA de duas entradas apontou efeito do exercício físico nos valores de área sob a curva dos animais.

*≠C

##F

Tabela 2. Área sob a curva de ingestão alimentar e hídrica em g/100g*12 durante as doze semanas de experimento:

Ingestão	Grupos					
	C	CTP	CTT	F	FTP	FTT
Alimentar	55,9± 3,2	72,9± 2,7*	55,8± 3,4 ^l	65,3±4,2*	91,2± 9,7 ^{#j}	67,1± 4,0 [¥]
Hídrica	84,5± 4,4	122,5± 9*	85,5± 4,6 ^l	104,8±9,9*	155,5± 7,4 ^{#j}	117,9± 6,5 ^{#¥}

Resultados expressos como média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Previamente, FTT= frutose Treinado tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hoc *LSD test* e grau de significância de 5%. ANOVA de duas entradas apontou efeito da dieta e do treinamento sobre ambos os parâmetros avaliados. *≠C ; ^l≠CTP ; [¥]≠CTT ; [#]≠F ; [£]≠FTP ; ^Ω≠FTT

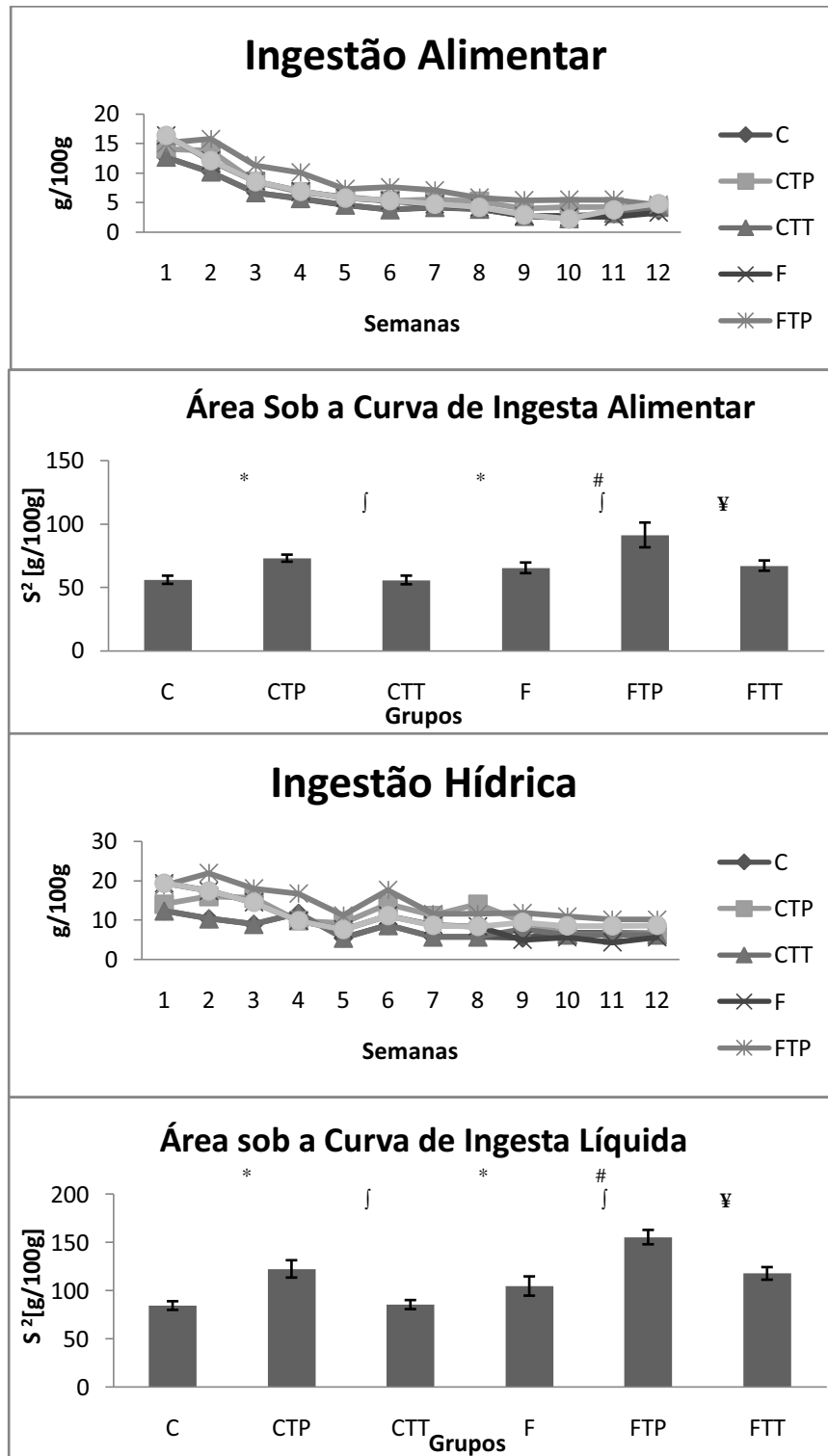


Figura 2. Ingestão alimentar e hídrica e área sob a curva da ingestão alimentar e hídrica dos animais durante as 12 semanas de experimento. Resultados expressos como média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Previamente, FTT= frutose Treinado tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hoc *LSD test* e grau de significância de 5%. ANOVA de duas entradas apontou efeito da dieta e do treinamento sobre ambos os parâmetros avaliados.

*≠C ; ∫≠CTP ; ¥≠CTT ; #≠F ; £≠FTP ; Ω≠FTT

Tabela3. Glicose sérica (mg/dl) e área sob a curva de glicose sérica (mg/dl.120min) durante teste de tolerância à glicose aos 120 dias de idade:

Grupos	TEMPO					Área sob a curva
	0	30	60	120		
C	61,75±15,39	105,53±8,43	98,89±8,29	81,56±8,93		10989,58± 751,6
CTP	82,98±9,12	98,37±25,79	112,55±18,19	78,1±13,54		11465,8±1962,1
CTT	49,51±12	88,92±14	92,42±10,71	70,17±18,76		9225,97±1407,4
F	67,21±15,18	96,65±14,73	107,31±18,74	74,91±12,54		10780,28±1391,7
FTP	74,19±6,28	109,3±13,25	103,72±8,59	69,12±7,48		11133,55±503,9
FTT	57±8,47	114,52±27,9	104,23±19,42	78,61±9,28		10767,1±2037

Resultados expressos como média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hoc de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. Nenhum efeito foi observado quanto a dieta, o exercício físico ou da interação entre ambos.

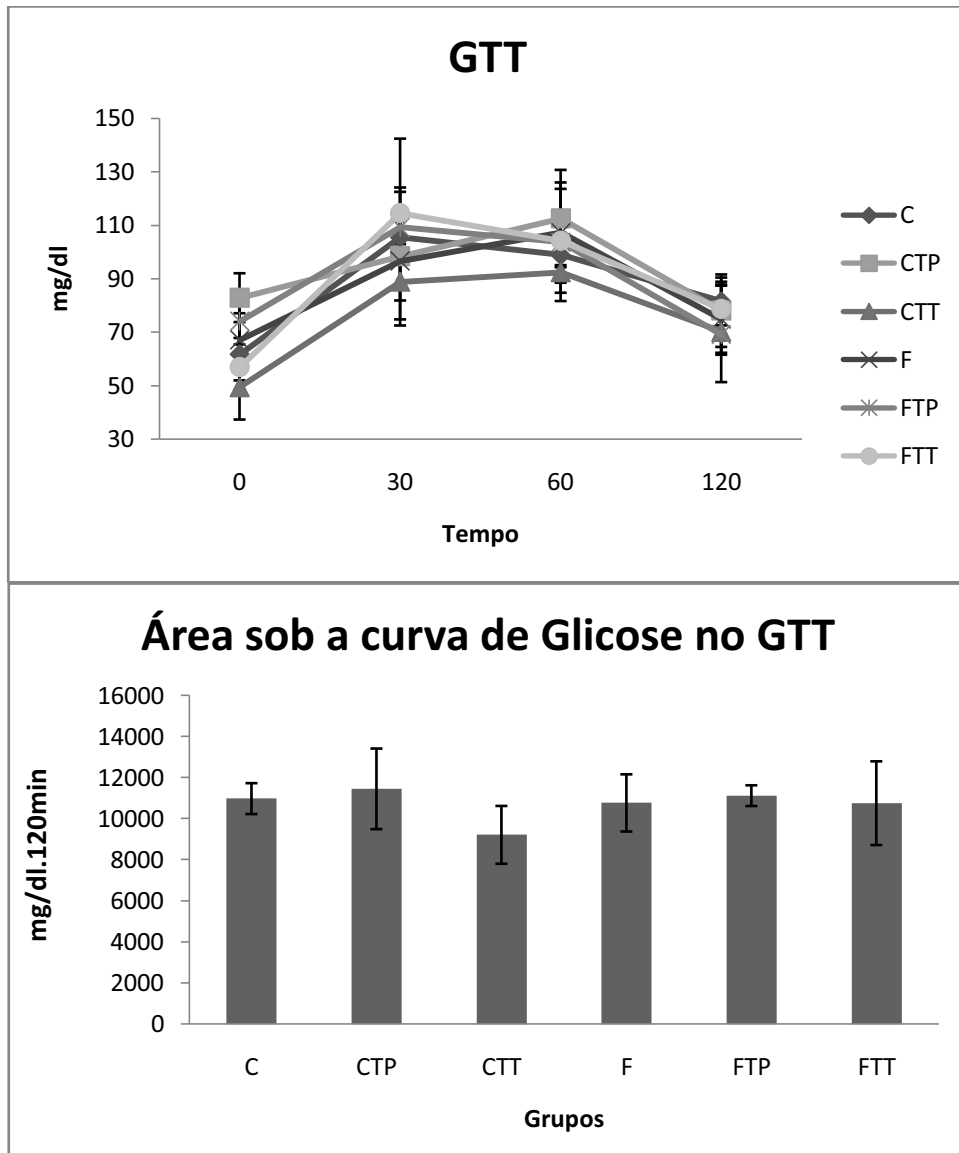


Fig3. Glicose sérica. Área sob a curva de glicose sérica durante teste de tolerância oral a glicose. Resultados expressos com média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado tardiamente Análise estatística usada: Anova two way com post hock de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. Nenhum efeito foi observado quanto a dieta, o exercício físico ou da interação entre ambos.

Tabela 4. Glicose sérica (mg/dl) e taxa de redução da glicose sérica (Kitt) durante teste de tolerância à insulina aos 120 dias de idade:

Grupos	TEMPO				
	0	30	60	120	Kitt
C	80.4±7.8	69.4±8.7	64.2±3.2	75.5±6.9	1.4±0.31
CTP	79.5±11.6	68.0±10.2	66.3±14.0	84.0±15.5	1.1±0.08*
CTT	68.9±5.4	67.9±4.5	62.7±6.6	74.5±9.3	0.67±0.05 ^{*j}
F	59.8±8.5	62.0±14.7	66.8±16.9	73.9±17.1	0.14±0.06*
FTP	64.9±5.2	65.7±7.0	63.9±6.3	72.4±9.0	0.38±0.03 ^{#j}
FTT	78.4±18.0	64.2±1.7	71.6±6.9	91.3±24.4	1.01±0.02 ^{#¥}

Resultados expressos como média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hoc de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. A ANOVA de duas entradas apontou efeitos da dieta e da interação entre dieta exercício.

*≠C ; j≠CTP ; ¥≠CTT ; #≠F ; £≠FTP ; Ω≠FTT

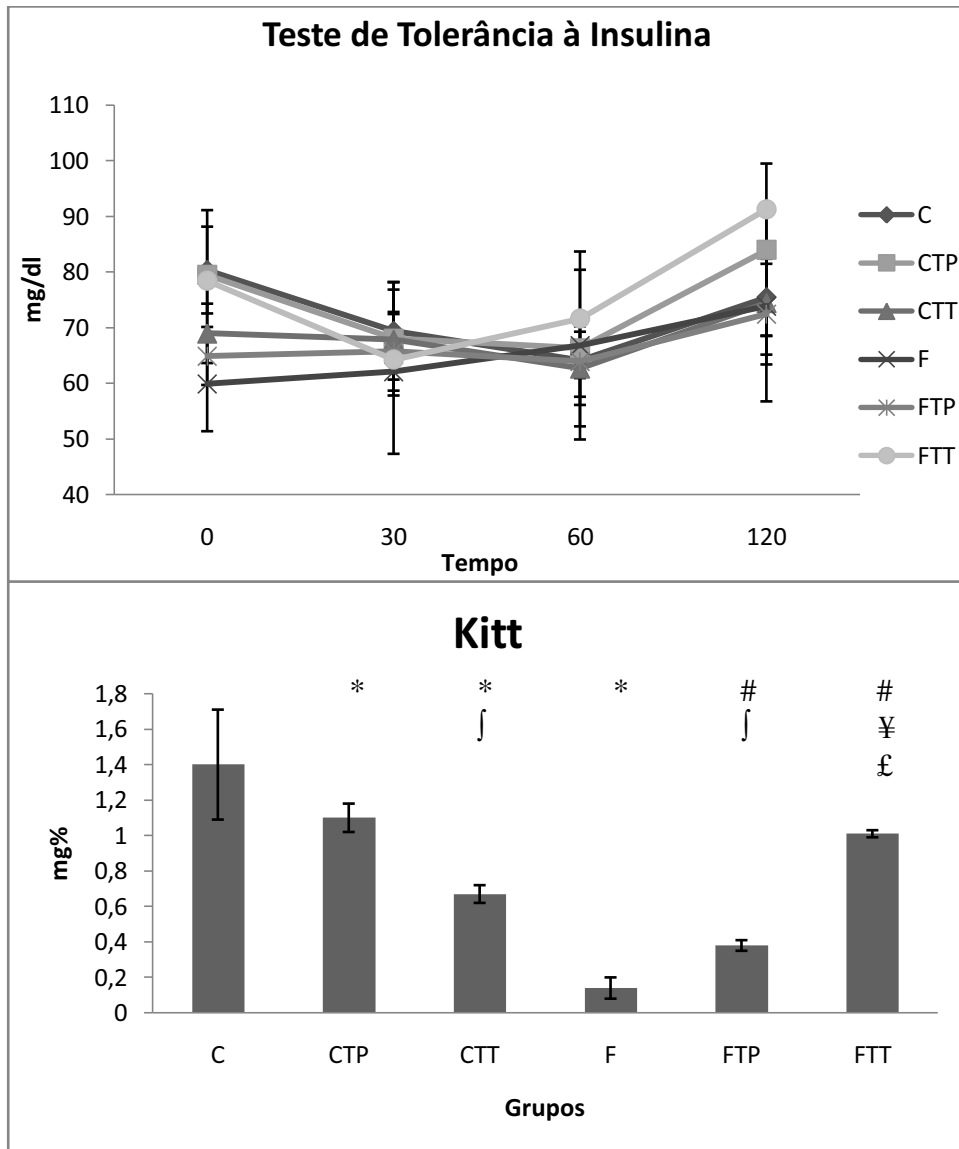


Fig4. Cinética da glicose sérica e taxa de redução da glicose (kitt) durante teste de tolerância à insulina. Resultados expressos com média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado Tardiamente Análise estatística usada: Anova two way com post hock de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. A ANOVA de duas entradas apontou efeitos da dieta e da interação entre dieta exercício *≠C ; ∫≠CTP ; ¥≠CTT ; #≠F ; £≠FTP ; Ω≠FTT

Tabela 5. Lactato sanguíneo (mM) de um animal, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação do máximo estado estável de lactato aos 28 dias. Para o animal do teste em destaque a MEEL foi obtida na carga de 9% com concentração média de $5,17 \pm 2,3$ mM.

Sobrecarga	Tempo de Exercício (min)					
	T0	T5	T10	T15	T20	T25
8,5%	2,25	3,75	3,43	3,99	3,07	4,25
9%	0,57	5,48	5,71	6,49	6,7	6,07
9,5%	2,37	4,08	6,77			

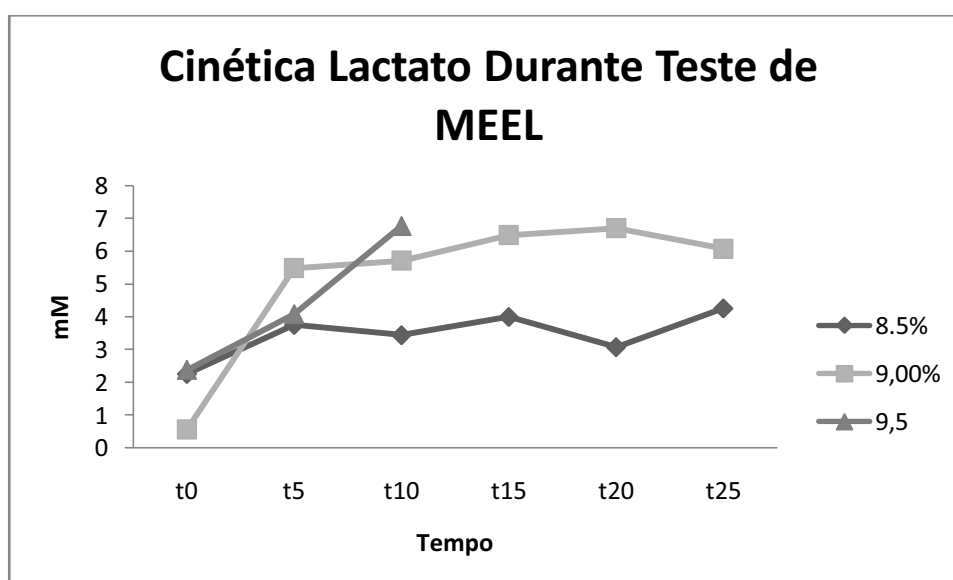


Fig5. Lactato sanguíneo (mM) de um animal, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação do máximo estado estável de lactato aos 28 dias. Para o animal do teste em destaque a MEEL foi obtida na carga de 9% com concentração média de $5,17 \pm 2,3$ mM.

Tabela6. Lactato sanguíneo (mM) de um animal de cada grupo, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação da máximo estado estável de lactato aos 90 dias. Para o animal do grupo C o MEEL ocorreu na carga de 5,5% do peso corporal e à concentração média de lactato foi de $3,1\pm 0,3$ mM. Para o animal do grupo F o MEEL ocorreu na carga de 5% do peso corporal e à concentração de lactato foi de $5,5\pm 0,3$ mM. Para o animal do grupo CTP o MEEL ocorreu na carga de 4% do peso corporal e à concentração média de lactato de $3,1\pm 0,2$ mM. Para o animal do grupo FTP o MEEL ocorreu na carga de 5% do peso corporal e à concentração média de lactato foi de $1,9\pm 0,1$ mM.

Sobrecarga	Tempo de exercício (min)					
	0	5	10	15	20	25
C						
5%	0,96	2,31	2,69	2,94	3,11	2,6
5,5%	2,18	3,41	3,08	3,55	2,70	2,96
6%	1,95	3,83	4,26	4,34	4,18	5,64
CTP						
4,5%	0,23	1,99	2,45	3,34	4,62	5,31
4%	0,65	2,44	2,81	3,37	3,08	3,27
3,5%	0,31	0,94	1,02	1,28	2,03	1,77
F						
5,5%	1,14	4,67	5,69	6,62	-	-
5%	2,29	3,24	5,22	5,46	5,89	5,44
4,5%	1,27	3,19	3,44	4,62	4,31	3,92
FTP						
5,5%	0,84	3,4	4,9	3,97	4,68	5,84
5%	0,67	2,08	1,98	1,81	2,01	1,84
4,5%	0,92	1,04	1,82	1,07	0,98	1,01

Cinética do Lactato Durante Teste de MEEL

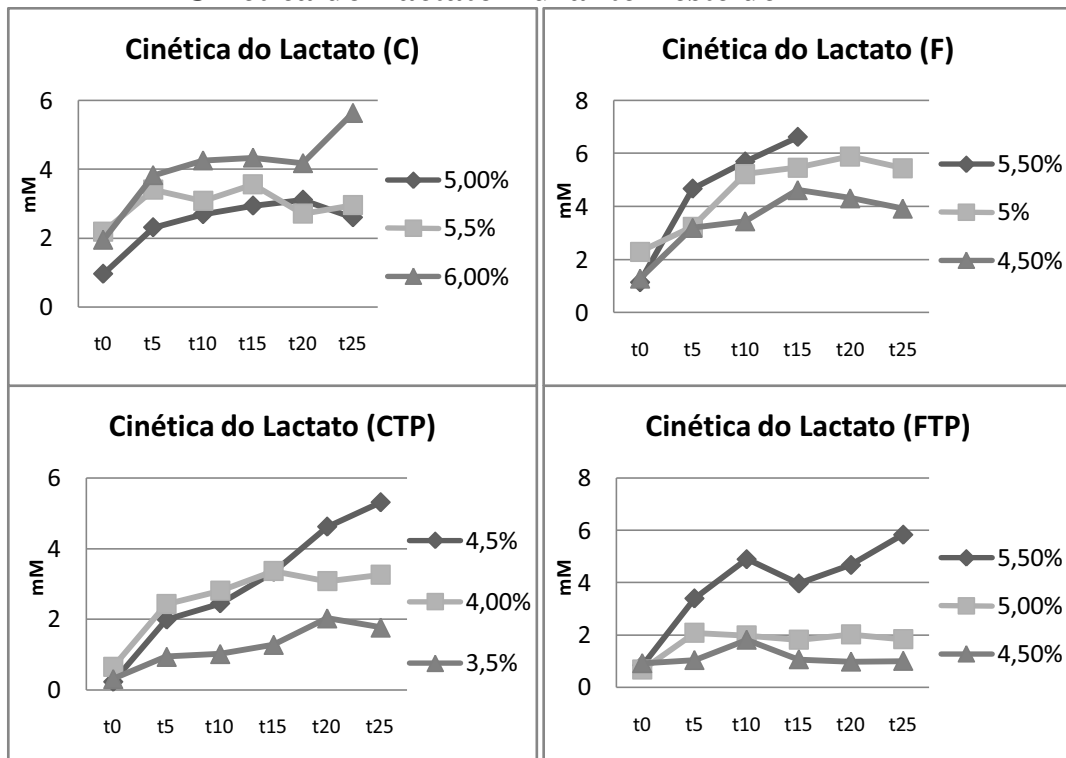


Fig6. Cinética do Lactato (mM) sanguíneo de um animal de cada grupo, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação do máximo estado estável de lactato aos 90 dias. Para o animal do grupo C o MEEL ocorreu na carga de 5,5% do peso corporal e à concentração média de lactato foi de $3,1 \pm 0,3$ mM. Para o animal do grupo F o MEEL ocorreu na carga de 5% do peso corporal e à concentração de lactato foi de $5,5 \pm 0,3$ mM. Para o animal do grupo CTP o MEEL ocorreu na carga de 4% do peso corporal e à concentração média de lactato de $3,1 \pm 0,2$ mM. Para o animal do grupo FTP o MEEL ocorreu na carga de 5% do peso corporal e à concentração média de lactato foi de $1,9 \pm 0,1$ mM.

Tabela7. Lactato sanguíneo (mM) de um animal de cada grupo, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação do máximo estado estável de lactato aos 120 dias. Para o animal do grupo C a MEEL ocorreu na carga de 5,5% do peso corporal e à concentração média de lactato de $4,6\pm 0,2$ mM. Para o animal do grupo CTP a MEEL ocorreu na carga de 4% do peso corporal e à concentração média de lactato de $3,0\pm 0,2$ mM. Para o animal do grupo CTT a MEEL ocorreu na carga de 6,5% do peso corporal e à concentração média de lactato foi de $3,8\pm 0,2$ mM. Para o animal do grupo F a MEEL ocorreu na carga de 6% do peso corporal e à concentração média de lactato em $3,3\pm 0,2$. Para o animal do grupo FTP a MEEL ocorreu na carga de 4,5% do peso corporal e à concentração média de lactato foi de $4,1\pm 0,2$ mM. Para o animal do grupo FTT a MEEL ocorreu na carga de 6,5% do peso corporal e à concentração de lactato foi de $3,2\pm 0,2$ mM.

Sobrecarga	Tempo de Exercício (min)					
	0	5	10	15	20	25
C						
6%	2,31	5,9	5,83	6,47	-	-
5,5%	0,55	4,49	4,44	4,75	4,82	4,6
5%	2,04	2,47	1,9	1,78	1,62	1,98
CTP						
4,5%	0,23	2,19	2,45	3,35	4,82	5,61
4%	0,65	2,31	2,67	3,14	3,18	3,07
3,5%	0,27	1,01	1,3	1,18	1,14	1,21
CTT						
7%	0,91	3,12	3,88	4,72	5,09	5,83
6,5%	0,85	2,5	3,61	3,81	4,08	3,92
6%	0,96	1,83	2,09	2,12	1,89	1,95
F						
6,5%	0,55	5,52	5,01	6,34	6,5	-
6%	0,6	3,73	3,16	3,54	3,11	3,45
5,5%	0,91	1,83	2,01	2,18	2,43	2,35
FTP						
5%	0,84	3,4	4,9	3,97	4,68	5,84
4,5%	0,67	3,3	3,82	4,29	4,08	4,24
4%	0,92	2,2	1,82	2,14	1,94	2,34
FTT						
6%	0,94	3,45	5,31	6,88	-	-
6,5%	1,19	3,24	3,26	3,22	3,41	2,98
7%	0,86	1,92	2,41	2,01	2,13	1,88

Cinética do Lactato Durante Teste de MEEL

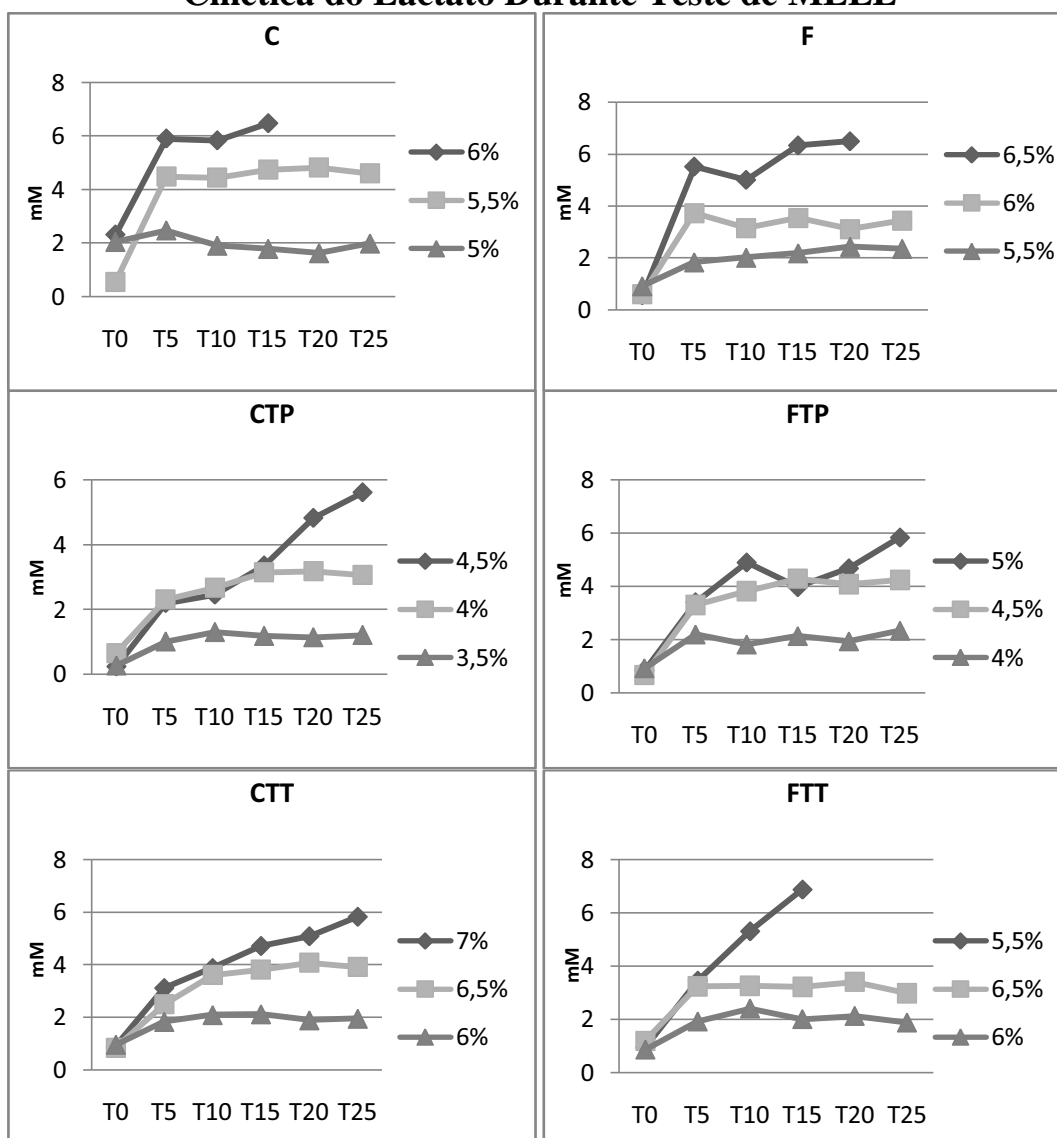


Fig7. Cinética do Lactato (mM) sanguíneo de um animal de cada grupo, a título de exemplo, escolhido aleatoriamente durante teste para a determinação do máximo estado estável de lactato aos 120 dias. Para o animal do grupo C a MEEL ocorreu na carga de 5,5% do peso corporal e à concentração média de lactato de $4,6 \pm 0,2$ mM. Para o animal do grupo CTP a MEEL ocorreu na carga de 4% do peso corporal e à concentração média de lactato de $3,0 \pm 0,2$ mM. Para o animal do grupo CTT a MEEL ocorreu na carga de 6,5% do peso corporal e à concentração média de lactato foi de $3,8 \pm 0,2$ mM. Para o animal do grupo F a MEEL ocorreu na carga de 6% do peso corporal e à concentração média de lactato em $3,3 \pm 0,2$. Para o animal do grupo FTP a MEEL ocorreu na carga de 4,5% do peso corporal e à concentração média de lactato foi de $4,1 \pm 0,2$ mM. Para o animal do grupo FTT a MEEL ocorreu na carga de 6,5% do peso corporal e à concentração de lactato foi de $3,2 \pm 0,2$ mM.

Tabela8. Concentrações séricas de Glicose (mg/dl), Colesterol (mg/dl), Triglicerídeos (mg/dl) e AGL (μ Eq/l) ao final do experimento.

Grupos/ Dosagens	C	CTP	CTT	F	FTP	FTT
Glicose	112,9 \pm 27,5	100,6 \pm 36,5	96,3 \pm 13,8	107,0 \pm 24,6	88,1 \pm 18,0	101,3 \pm 16,6
Colesterol Total	90,4 \pm 17,3	83,7 \pm 13,2	92,7 \pm 19,1	99,3 \pm 24,3	83,7 \pm 10,9	91,4 \pm 16,5
Trigliceríd eos	150,4 \pm 35,1	179,6 \pm 32,6	145,9 \pm 40,3	173,0 \pm 32,9	213,2 \pm 40,2 [†]	192,1 \pm 36,3 [‡]
AGL	1518,0 \pm 368,4	1753,9 \pm 359,5	2203,9 \pm 262,0 ^{*†}	1335,7 \pm 472,5	1592,2 \pm 558,4	1725,8 \pm 3,0 [‡]

Resultados expressos com média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hock de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. Quanto as concentrações de triglicerídeos, houve influencia das dietas e dos protocolos de treinamento. Tanto a dieta quanto o exercício físico interferiram nos valores de AGL de forma independente, não havendo interação entre os mesmos.

* \neq C

† \neq CTP

‡ \neq CTT

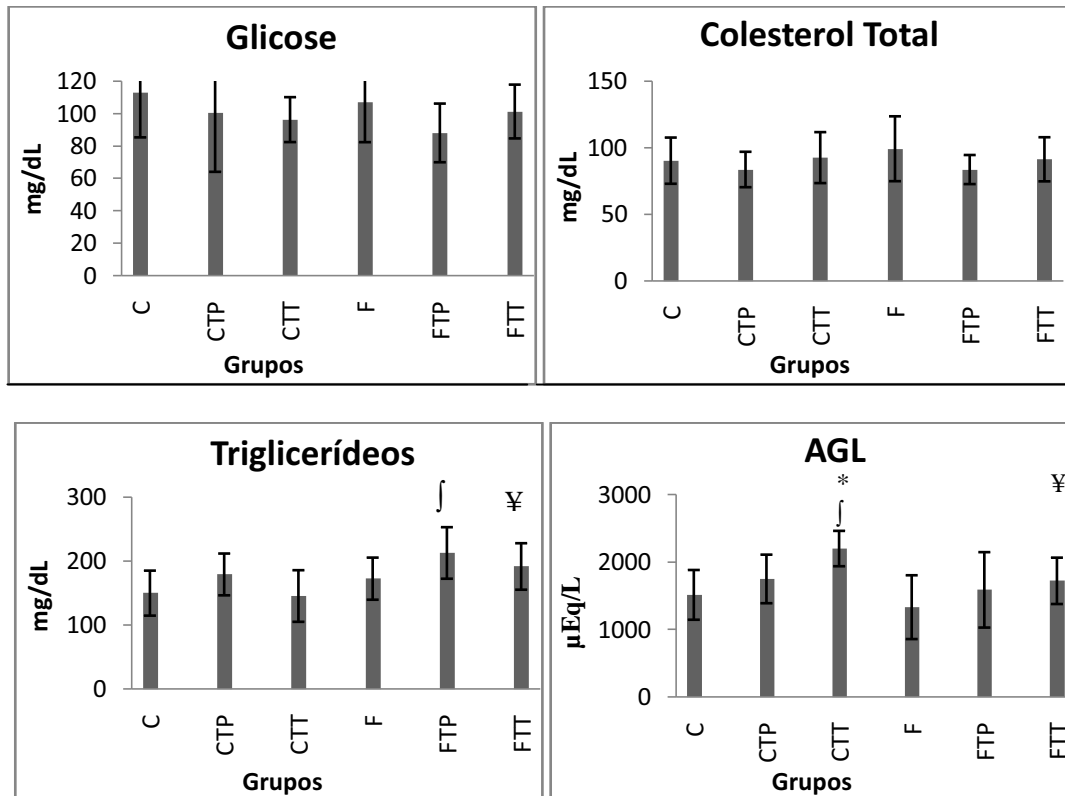


Fig8. Concentrações séricas de Glicose, Colesterol e Triglicerídeos ao final do experimento. Resultados expressos com média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hock de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. Quanto as concentrações de triglicerídeos, houve influencia das dietas e dos protocolos de treinamento. Tanto a dieta quanto o exercício físico interferiram nos valores de AGL de forma independente, não havendo interação entre os mesmos

*≠C

]≠CTP

¥ ≠ CTT

Tabela 9. Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT) e Fosfatase Alcalina em U/L.

Grupos/Dosagens	C	CTP	CTT	F	FTP	FTT
AST	169,5±	187,2±	152,3±	223,1±	155,5±	175,1±
	19,3	30,8	34,3	20,9*	18,8 [#]	22,9 [#]
ALT	9,1±	8,6±	10,8±	6,5±	7,8±	10,4±
	8,0	6,6	3,8	2,5	3,2	1,1
Fosfatase Alcalina	60,7±	45,4±	79,2±	38,5±	29,8± 9,1	54,3±
	21,6	15,9	33,4 ^l	6,2		17,2 [£]

Resultados expressos como média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hock de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. A ANOVA de duas entradas apontou o efeito do treinamento físico e da interação entre dieta e exercício, sobre os valores de AST. Sobre a fosfatase alcalina a ANOVA de duas entradas apontou efeito do treinamento físico e da dieta.

*≠C

l≠CTP

#≠ F

£≠ FTP

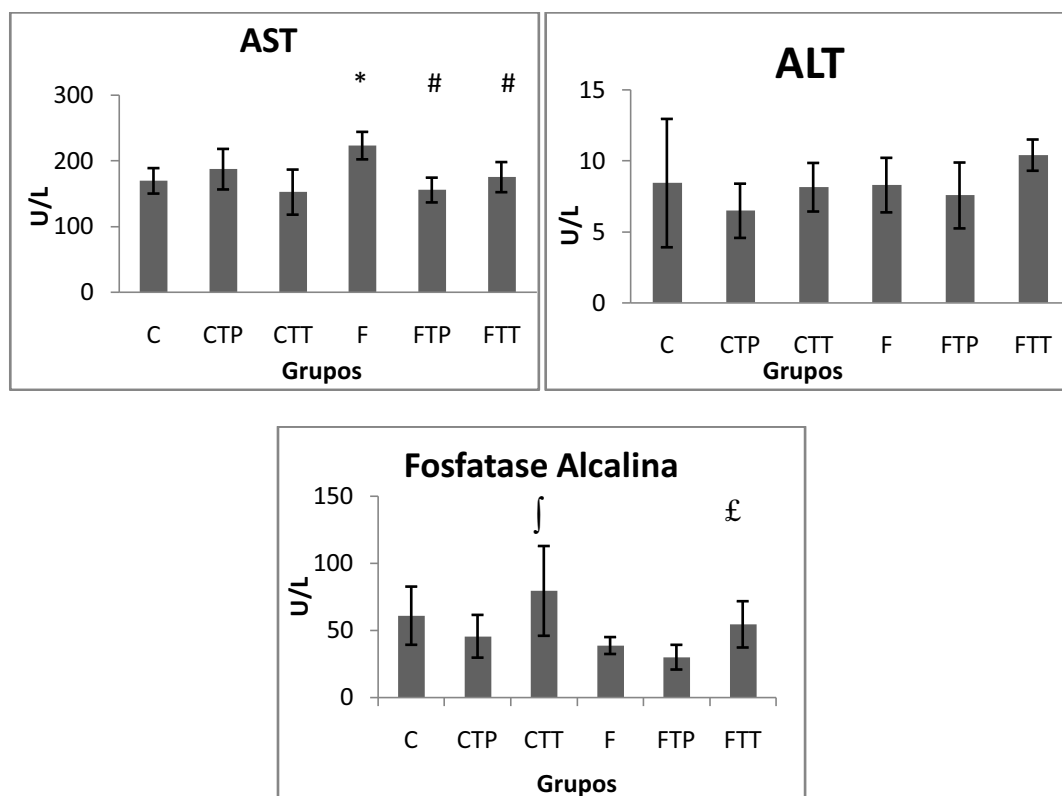


Fig9. Concentrações séricas de Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT) e Fosfatase Alcalina em U/L, ao final do experimento. Resultados expressos como média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hock de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. A ANOVA de duas entradas apontou o efeito do treinamento físico e da interação entre dieta e exercício, sobre os valores de AST. Sobre a fosfatase alcalina a ANOVA de duas entradas apontou efeito do treinamento físico e da dieta.

*≠C

]≠CTP

#≠ F

£≠ FTP

Tabela10. Lipídios totais no tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitoneal, subcutânea posterior, no fígado e no coração (mg/100mg).

Grupos/Dosagens	C	CTP	CTT	F	FTP	FTT
Tec. Adiposo Mesentérico	18,0± 4,1	21,2± 6,0	23,1± 5,0*	20,0± 3,6	26,5± 5,7 [#]	19,0± 2,6 [£]
Tec. Adiposo Retroperitoneal	39,3± 5,1	47,7± 7,1	39,8± 4,5 [†]	45,0± 9,5	41,7± 2,9	42,7± 6,1
Tec. Adiposo Subcutâneo	35,8± 4,4	31,4± 5,9	35,3± 6,2	34,6± 3,9	31,3± 4,9	34,8± 2,7
Fígado	5,9± 1,2	4,6± 0,3*	6,0± 1,8	7,7± 0,5*	5,5± 1,6 [#]	5,9± 1,7 [#]
Coração	7,7± 1,4	8,6± 1,2	7,9± 1,3	8,3± 1,6	9,3± 1,5	8,7± 1,8

Resultados expressos como média e desvio padrão de 8 animais por grupo. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hock de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. A ANOVA de duas entradas não apontou efeito da dieta, do exercício ou da interação dieta/exercício nos lipídios no coração e nos tecidos adiposos mesentérico, retroperitoneal e subcutâneo. A ANOVA de duas entradas apontou diferença nos lipídios do fígado entre os protocolos de treinamento dos animais.

*≠C

#≠ F

£≠ FTP

Lipídeos Totais

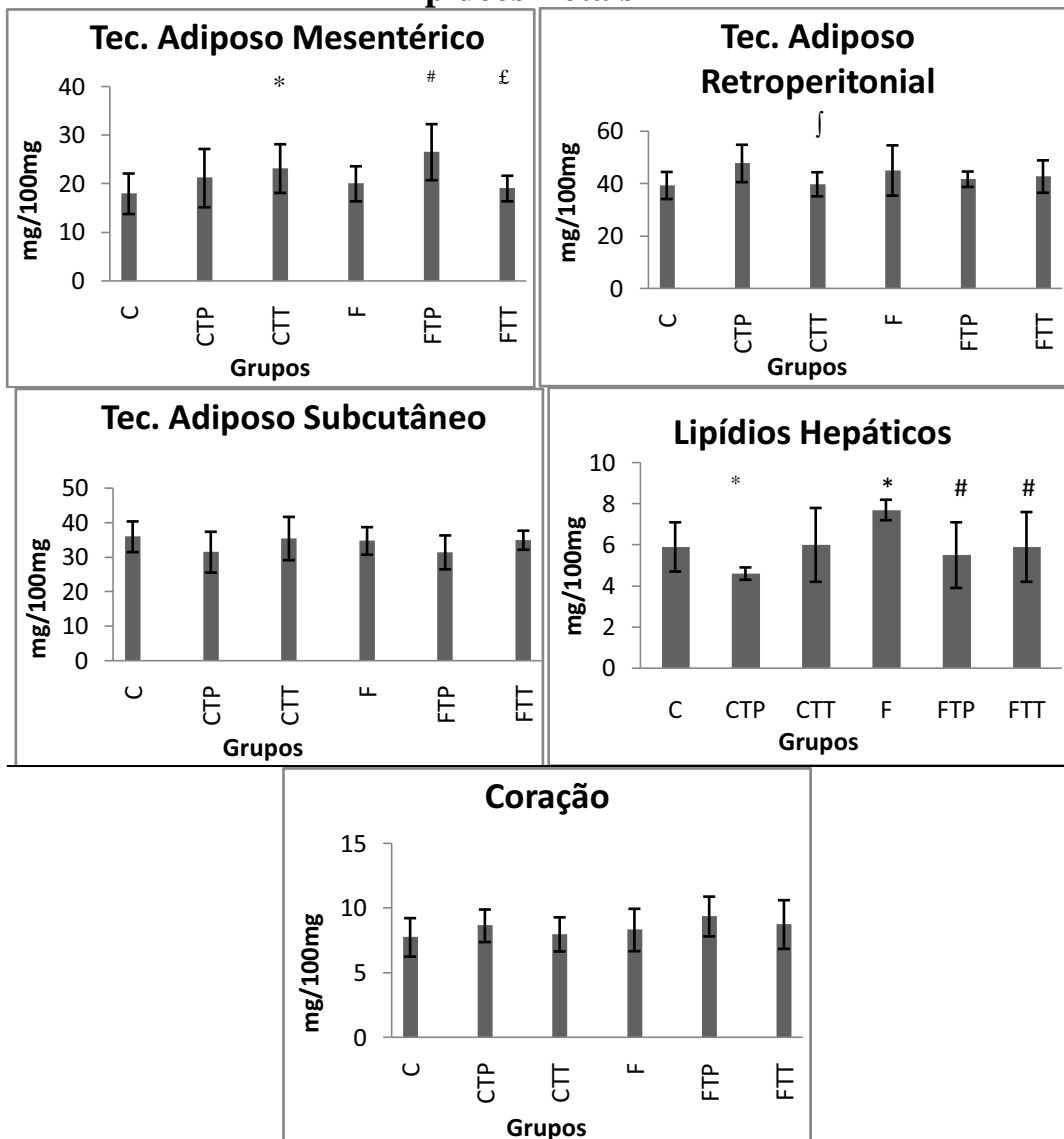


Fig10. Lipídios totais no tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitoneal, subcutânea, fígado e no coração. Resultados expressos como média e desvio padrão de 8 animais por grupos. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado tardiamente Análise estatística usada: Anova two way com post hock de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. A ANOVA de duas entradas não apontou efeito da dieta, do exercício ou da interação dieta/exercício nos lipídios no coração e nos tecidos adiposos mesentérico, retroperitoneal e subcutâneo. A ANOVA de duas entradas apontou diferença nos lipídios do fígado entre os protocolos de treinamento dos animais.

*≠ C

]≠ CTP

#≠ F

Tabela 11. Peso do tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitoneal e subcutânea (g/100g) dos animais.

Grupos/Dosagens	C	CTP	CTT	F	FTP	FTT
Tec. Adiposo Mesentérico	1,2± 0,3	0,9± 0,2	1,4± 0,5	1,1± 0,3	1,0± 0,3	1,4± 0,5
Tec. Adiposo Retroperitoneal	1,2± 0,4	0,9± 0,1	1,4± 0,8	1,2± 0,4	1,0± 0,2	1,3± 0,4
Tec. Adiposo Subcutâneo	0,8± 0,1	0,7± 0,2	0,8± 0,3	1,0± 0,3	0,8± 0,2	0,9± 0,3

Resultados expressos como média e desvio padrão de 8 animais por grupos. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado Precocemente, FTT= frutose Treinado tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hock de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. A ANOVA de duas entradas não apontou efeito da dieta, do exercício ou da interação dieta/exercício nos pesos dos tecidos adiposos mesentérico, retroperitoneal e subcutâneo.

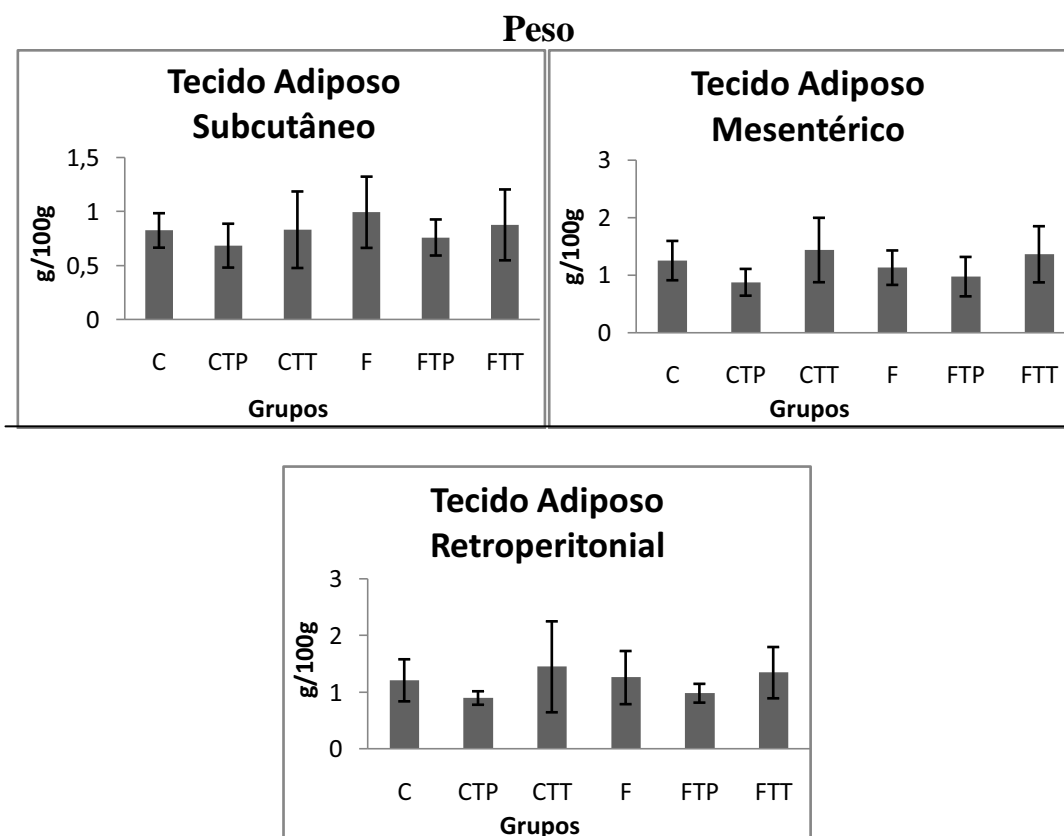


Figura11. Peso do tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitoneal e subcutânea g/100g. Resultados expressos como média e desvio padrão de 8 animais por grupos. C= Controle, CTP= Controle Treinado Precocemente, CTT= Controle Treinado Tardiamente, F= Frutose, FTP= Frutose Treinado precocemente, FTT= frutose Treinado tardiamente. Análise estatística usada: Anova two way com post hock de *LSD-TEST* e nível de significância de 5%. A ANOVA de duas entradas não apontou efeito da dieta, do exercício ou da interação dieta/exercício nos pesos dos tecidos adiposos mesentérico, retroperitoneal e subcutâneo.

7. Discussão

7.1 Principais Achados

Diversos estudos apontam para o aumento crescente do número de casos de doenças metabólicas ligadas ao sedentarismo e à dieta ocidental. Nas últimas duas décadas o número de obesos e portadores da síndrome metabólica em países desenvolvidos cresceu muito, e esse quadro vem se reproduzindo nos países em desenvolvimento na última década (TSUNG, 2003). Esse fenômeno acarreta prejuízo tanto para a população que tem de conviver com essas desordens, reduzindo-se assim sua qualidade de vida, quanto para as nações que desembolsam bilhões com o sistema de saúde (HILL ; HOLLY, 2005). Nesse estudo procura-se detectar os efeitos da frutose, nutriente muito presente na dieta de hoje e do exercício, sobre marcadores da síndrome metabólica em modelo experimental com ratos.

A dieta rica em frutose obteve sucesso em reduzir a sensibilidade à insulina e induzir ao quadro de estatose hepática nos ratos. A ANOVA apontou efeito da interação entre dieta e exercício físico sobre a sensibilidade à insulina. Os animais alimentados com dieta controle apresentaram uma redução na sensibilidade à insulina, esse fato pode ter sido causado pela alta relação intensidade/volume do exercício em questão. Estudos de Tuominen e colaboradores (1996) e Kirwan et al (1992) apontam que exercícios de intensidade e ou volume elevados podem induzir a respostas inflamatórias musculares, entre elas o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6). Esses sinalizadores inflamatórios são potentes redutores da sensibilidade à insulina. Inversamente a esse achado, os animais treinados e alimentados com dieta rica em frutose apresentaram uma melhora da sensibilidade à insulina. Esse achado se torna interessante ao apontar que o exercício, mesmo que aplicado em alta intensidade e volume, proporciona efeitos benéficos para os animais quando estes apresentam um comprometimento acentuado da sensibilidade à insulina. Dunstan e colaboradores apontaram o

exercício físico resistido de alta intensidade como potente regulador glicêmico em portadores de diabetes tipo 2.

Além disso, nos animais alimentados com dieta rica em frutose ambos os protocolos de exercício (FTP e FTT) reduziram as concentrações de lipídios hepáticos reduzidas em comparação com grupo frutose sedentário. Outro importante achado está relacionado as concentrações de aspartato aminotransferase circulante. No presente estudo os animais sedentários e alimentados com dieta rica em frutose apresentaram elevadas concentrações dessa enzima. Por outro lado, os animais exercitados e alimentados com a dieta rica em frutose, apresentaram concentrações compatíveis aos respectivos controles. Esse achado torna-se interessante, pois aponta o exercício físico como potente inibidor do acúmulo de gordura no fígado e também assume papel de prevenção no quadro inflamatório do mesmo. Baba e colaboradores (2006) apontam o exercício físico como importante arma na redução nas concentrações de ALT e AST circulantes. Em sua pesquisa envolvendo humanos, o exercício de intensidade moderada conseguiu reduzir os valores dos marcadores de estatose hepática em indivíduos obesos ou portadores de síndrome metabólica.

A redução dos lipídios hepáticos proporcionada pelo exercício físico parece estar totalmente associada ao aumento da sensibilidade à insulina. Em ambos os casos houve interação entre o exercício físico e a dieta administrada. Além disso, em ambos os protocolos de treinamento, os dois parâmetros apareceram melhorados nos animais treinados.

7.2 Peso corporal, ingestão alimentar e hídrica

O aumento no consumo de frutose de gorduras saturadas, aliado ao aumento no consumo calórico em humanos e diminuição da atividade física vêm sendo apontado como um dos principais fatores da crescente onda de obesidade e sobrepeso que atinge diversos países no

mundo (McLELLAN, 2002; MOKDAD et al., 1999; SHARON et al., 2002; BRAY; NIELSEN ; POPKIN, 2004). Modelos experimentais vêm sendo amplamente utilizados para analisar os efeitos desse tipo de dieta sobre o ganho de peso corporal.

No presente estudo os animais treinados precocemente (CTP e FTP) apresentaram menor área sob a curva de peso corporal se comparados aos seus respectivos controles (C e F). Esses resultados são concordantes com diversos estudos utilizando modelo experimental e dieta de frutose para induzir sobrepeso ou obesidade em ratos (SHIVA et al. 1999; HWANG et al., 1987; NAIM et al., 1985; KANAREK ; ORTHEN-GAMBILL, 1982). O exercício físico altera o gasto energético dos animais. McArdle e Ketch (1998) mostram que o exercício físico é responsável por 20% do gasto energético em indivíduos sedentários e pode chegar a 40% em indivíduos treinados. Além disso, o músculo esquelético pode aumentar seu gasto energético em até 100 vezes durante o exercício físico (McARDLE et al., 1998). Isso nos leva a concluir que os animais treinados precocemente apresentaram menor área sob a curva de peso corporal em função do treinamento físico, fato esse comprovado pela ANOVA de duas entradas. O grupo treinado tardiamente não apresentou redução na área sob a curva de peso corporal. Esse achado é interessante e pode estar relacionado ao curto período da administração do exercício físico e pela idade mais avançada dos animais no início do treinamento.

A similaridade do ganho de peso dos animais entre os grupos F e C, pode ser explicada pelo curto período de duração da dieta (90 dias) e também pelo início precoce da administração da dieta rica em frutose (28 dias). Estudos realizados por Kasim-Karakas et al. (1996), apontaram ganho excessivo de peso em *golden Syrian hamsters* submetidos à dieta rica em frutose por período de 120 dias a partir da idade de 60 dias. Estes achados sugerem que uma modificação no peso corporal dos animais pela ingestão de frutose, necessita de maior tempo de manutenção da dieta assim como uma modificação na idade para início da mesma (idade mais avançada).

Quanto à ingestão alimentar e hídrica foi encontrado um padrão similar na área sob a curva dos mesmos. Em ambos os casos, foi observado o efeito da dieta e do exercício. Os grupos treinados precocemente apresentaram maior ingestão tanto alimentar quanto hídrica em relação aos demais grupos. Esse achado corrobora diversos outros estudos, que apontam o exercício físico como potente regulador do mecanismo da fome (EBAL et al., 2007; LEVIN ; MEYNELL, 2006). O mecanismo da fome vem sendo cada vez mais estudados nos últimos anos. Kanarek; Orthen-Gambill (1982) realizaram um estudo onde animais eram alimentados com dieta contendo 32% das calorias provenientes da glicose, frutose ou sacarose. Nesse estudo os animais alimentados com dieta rica em frutose apresentaram maior ingestão alimentar e peso corporal se comparados aos demais grupos. Teff e colaboradores (2004) analisaram a diferença entre uma dieta contendo 30% de glicose ou de frutose. Os animais alimentados com dieta contendo frutose apresentaram elevação nas concentrações de insulina e leptina circulantes, que diversos estudos apontam como potentes reguladores anorexígenos. Além disso, apresentaram redução nas concentrações de grelina circulantes, um potente sinalizador orexígeno se comparado aos animais alimentados com dieta contendo 30% de frutose.

A literatura não traz informações sobre a influência da dieta rica em frutose ou do exercício físico sobre a ingestão hídrica dos animais. Richter (1977) avaliou a diferença no ganho de peso, e ingestão de soluções de glicose, sacarose, maltose e frutose e apontou que os animais ingeriram menores quantidades de solução de frutose se comparados aos demais adoçantes. Esse estudo justificou que a diferença na palatabilidade dos açúcares em questão causaram a alteração em questão.

7.3 Tolerância Oral a Glicose e Sensibilidade à Insulina

A frutose é um nutriente que não induz, em curto prazo, a secreção de insulina pelas células β do pâncreas, conseqüentemente o teste de tolerância oral não apontou diferenças entre os dois tipos de dietas. Esse achado corrobora estudos prévios que mostraram que a resposta ao teste de tolerância a glicose não se altera frente à administração de algumas dietas ricas em frutose ou lipídios (SHARON et al., 2002; BASCHIANO et al. 2005).

Os animais treinados tanto do grupo controle quanto dos alimentados com dieta rica em frutose não apresentaram redução na área sob a curva glicêmica. Esses resultados corroboram estudos prévios de nosso laboratório (MOURA et al., 2008). Por outro lado, Rogers e Marc (1989) demonstraram que exercícios agudos (7 dias) aumentaram a sensibilidade à insulina e a secreção da mesma em pacientes diabéticos do tipo 2.

Alguns mecanismos propostos apontam uma resistência à ação da insulina em longo prazo em ratos Zucker obesos. Esse fato estaria relacionado aos prováveis transportadores de frutose GLUT5, que possuiriam níveis de expressão gênica alterados nesses animais obesos se comparado aos magros (BASCHIANO et al. 2005 ; LITHERLAND et al., 2004). Catena et al. (2003) apontaram que dieta enriquecida com 66% de frutose reduziu os níveis de RNAm dos receptores de insulina e conseqüentemente o número dos receptores de insulina nas células do músculo esquelético e no hepatócito se comparado a dietas balanceadas. Contudo, no presente estudo não foram analisados os níveis plasmáticos de insulina e nenhuma alteração foi observada na glicemia dos animais. Assim como Fields e Lewis e Lure (1996) também não acharam diferenças significativas quanto aos mesmos parâmetros entre ratos alimentados com dieta rica em frutose (62%) durante duas semanas e ratos controle. Blakely et al. (1981) acharam forte correlação entre picos de insulina e glicose sanguínea durante oGTT em animais tratados com dieta enriquecida em frutose (15%) durante 15 meses. Esse achado aponta para um maior efeito deletério na sensibilidade e secreção de insulina em longo prazo.

Em contraste com esses achados, Takagawa et al. (2001) apontaram maiores concentrações de glicose e insulina plasmáticas durante oGTT em ratos alimentados com dieta composta de 66% da energia total proveniente da frutose por 2 semanas, se comparados ao grupo controle. Esse resultado aponta para uma redução da tolerância à glicose em curto prazo de tempo (BLAKELY et al., 1981).

A sensibilidade periférica à insulina foi analisada através do Kitt (constante de desaparecimento da glicose sérica após sobrecarga exógena de insulina). Como esperado, o grupo alimentado com dieta rica em frutose apresentou uma enorme redução na sensibilidade a insulina. O protocolo de exercício físico tardio foi mais eficiente em melhorar a sensibilidade à insulina nos animais alimentados com dieta rica em frutose se comparado ao protocolo de exercício precoce.

O primeiro achado concorda com vários estudos que mostram uma redução abrupta da sensibilidade à insulina tanto em humanos quanto em animais quando alimentados com dieta rica em frutose (ZAVARONI et al., 1980, HALLFRISCHI et al., 1983). Ueno et al. (2000) demonstraram que 2 semanas após a ingestão alimentar de dieta composta por 66% das calorias provenientes da frutose não induziram diferença nos níveis de RNAm e conseqüentemente no número de receptores de insulina IRS (1/2) dos animais, porém o mecanismo de autofosforilação do receptor apresentava uma redução de 72% em sua funcionalidade nos hepatócitos e fibras musculares dos animais. Além disso, outros estudos (ZIEGLER et al., 2001; VARMAN et al. 2004) apontam que o aumento dos níveis de triglicédeos, tanto hepático quando sérico, observados também no presente estudo, aumentam a beta oxidação mitocondrial e estimulam o aparecimento de um quadro inflamatório tecidual. Esse por sua vez atua na sensibilidade à insulina por aumentar as concentrações de TNF- α e reduzir as concentrações de adiponectina.

Por sua vez, nas células β , o intenso influxo dos triglicerídeos circulantes em excesso, acarreta grande aumento da β oxidação e conseqüentemente um quadro de lipotoxicidade celular. Somado ao quadro de hiperinsulinemia provocado pela resistência periférica à insulina causam efeitos deletérios na função das células β . (BERGMAN ; ADER, 2000).

Os animais dos grupos CTP e CTT apresentaram redução nos valores de Kitt se comparados ao grupo C. Esse achado é contraditório com a literatura que aponta o exercício físico como potente arma no combate a resistência à insulina (QUIN et al, 2007; RECTOR et al, 2008; MOTA et al, 2008). Especulamos que o volume de treino (5 horas semanais), em uma intensidade que se situa na transição entre os domínios intenso e severo pode ter acarretado supertreinamento nos animais. O quadro de supertreinamento acarreta um aumento das proteínas inflamatórias que conduzem a resistência à insulina (SMITH, 2000). Os animais do grupo frutose sedentário (F) apresentaram valores de Kitt extremamente baixos. Mesmo se trabalharmos com a hipótese de que os animais alimentados com dieta rica em frutose também estivessem apresentando um quadro de supertreinamento, já que o protocolo de exercício foi igual ao dos animais controles, o exercício físico conseguiu aumentar os valores do Kitt, mesmo que não alcançando os valores dos animais controle sedentários.

No presente estudo os sinalizadores de supertreinamento tais como creatina quinase (CK) substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARs), e interleucina 6 (IL-6), não foram dosados. Esse é um caminho interessante a se seguir em estudos futuros, onde a avaliação das mesmas poderá fornecer respostas mais concretas sobre a diminuição dos valores de Kitt. Além disso a análise da insulina circulantes poderia fornecer a conexão entre a tolerância normal à glicose e a resistência à insulina encontrada no presente estudo.

7.4 Capacidade Aeróbia

Foi utilizado o máximo estado estável de lactato (MEEL) como protocolo padrão para a avaliação da capacidade aeróbia e para estabelecimento da intensidade do esforço do treinamento dos animais. Esse protocolo consiste na realização de vários testes com cargas distintas, fixas a cada teste e realizados em dias alternados (48 horas de intervalo) associados à avaliação da cinética do lactato. O MEEL corresponde à mais alta concentração de lactato sanguíneo que pode ser mantida constante durante o exercício e sua intensidade indica a transição entre o metabolismo aeróbio e anaeróbio, possuindo componentes de ambas as partes. O critério utilizado para a obtenção desse ponto de estabilização foi a variação do lactato em ± 1 mM de lactato a partir do décimo minuto, sendo este aferido de cinco em cinco minutos, até o término do teste aos 25 minutos de exercício. Para a confirmação da carga onde o MEEL ocorre, são necessários no mínimo três testes, com curvas lactacidemicas diferentes para cada intensidade utilizada, seja essa na forma de sobrecarga para natação ou velocidade para esteira (BILAT et al., 2003; GOBATTO et al., 2001).

É importante ressaltar que estudos realizados por Gobatto e colaboradores (2001), apontaram que esse tipo de diagnóstico é protocolo dependente para ratos. Isso acarreta adaptações do treinamento para cada tipo de exercício, sendo que as concentrações de lactato no MEEL podem variar com o tipo de exercício utilizado (GOBATTO et al., 2001).

A figura 4 mostra a cinética do lactato de um animal escolhido aleatoriamente como exemplo. Os animais foram submetidos a teste de MEEL aos 28 dias para identificar a carga de treinamento que utilizariam durante o experimento (grupos treinados precocemente). Contudo o ganho de peso acelerado dos animais muito jovens, somado à carga extremamente alta durante a natação dificultou a obtenção do MEEL em alguns ratos, e impediu a utilização dessa carga

durante a parte do treinamento precoce (28 aos 90 dias). Uma vez que não foi possível identificar a MEEL de todos os ratos e utilizar a carga da mesma, nesse período foi utilizada uma carga fixa de 5% do peso corporal, à qual, sabidamente animais jovens apresentam boa adaptação (GALDINO, 2000). Aos 90 dias, um novo teste foi realizado sendo possível a identificação da MEEL para todos os animais. A partir de então, o treinamento passou a ser efetuado na carga do MEEL.

Na figura 6 e 7, os resultados são descritos na forma do gráfico da cinética do lactato de um animal por grupo aos 90 e 120 dias de idade respectivamente durante teste para identificar o MEEL. Ao serem observadas as cargas de trabalho equivalente ao MEEL, menores no animal do grupo CTP do que no animal do grupo C, constata-se que o treinamento precoce comprometeu a capacidade aeróbia dos animais. Através das análises aqui efetuadas, não se pode estabelecer ao certo as razões para esse achado. Talvez o protocolo de treinamento nesse momento tenha ocasionado supertreinamento nos animais. Outra hipótese é a de que os animais treinados possam ter se adaptado aos lipídios como substrato energético. Essa adaptação poderia comprometer o teste de MEEL, que ocorre entre os domínios intenso e severo, onde principal substrato energético é a glicose (MCARDLE ; KETCH, 1998). Contudo, para se afirmar sobre esse aspecto, análises adicionais precisariam ser feitas. Por outro lado, o treinamento tardio melhorou a capacidade aeróbia do animal controle e alimentado com dieta rica em frutose, uma vez que a sobrecarga equivalente ao MEEL foi maior nos grupos treinados (CTT e FTT) do que nos sedentários (C e F) equivalentes. Os resultados referentes ao protocolo tardio aplicado a ratos controle confirmam os resultados prévios de nosso laboratório, mostrando melhoria na capacidade aeróbia de ratos adultos, treinados por natação na intensidade do MEEL (GOBATTO et al. 2001).

7.5 Parâmetros Sanguíneos

7.5.1.Glicose

As concentrações de glicose encontradas ao final do estudo foram similares para os seis grupos utilizados do experimento. A glicose pode ser utilizada para a produção de glicogênio, lactato ou até mesmo lipídios. Já a frutose não possui essas propriedades e sua metabolização ocorre no fígado, onde pode produzir energia na cadeia oxidativa ou oferecer esqueletos de carbono para a síntese de lipídios que extravasam para a corrente sanguínea. Essa propriedade da frutose a torna um nutriente altamente lipogênico, pois só pode ser estocada na forma de triglicerídeos (BASCHIANO et al. 2005). Os triglicerídeos gerados pela frutose têm papel fundamental na resistência à insulina e posteriormente no aumento das concentrações de glicose circulante, porém o curto tempo de administração da dieta do presente estudo não produziu alterações na glicemia dos animais. Esse achado corrobora estudos prévios de Fields et al. (1996) e Catena et al. (2003), onde nenhuma diferença na glicemia dos animais foi observada ao final do experimento.

7.5.2 Triglicerídeos Totais Séricos

A ANOVA de duas entradas revelou o efeito tanto da dieta rica em frutose quanto do exercício físico nas concentrações de triglicerídeos séricos. Esse achado mostra que a dieta utilizada no presente estudo obteve sucesso em induzir desbalanço nos triglicerídeos circulantes.

A concentração de triglicerídeos circulantes foi significativamente maior no grupo FTP se comparado ao grupo CTP e no grupo FTT se comparado ao grupo CTT. Esse efeito é extremamente importante se quisermos entender toda a regulação dos processos de resistência à

insulina, acúmulo de gordura e lesão hepática causados pela frutose. A absorção da frutose ocorre rapidamente no intestino por mecanismos ainda obscuros. Ao atingir a corrente sanguínea, esse carboidrato, diferentemente da glicose, não estimula a produção de insulina pelas células beta do pâncreas (BASCHIANO et al., 2005). Ainda na circulação, chega ao fígado através da veia porta e é absorvido pelo hepatócito através dos transportadores de glicose 5 (GLUT5), em um mecanismo independente da insulina (BASCHIANO, 2005). O aumento da concentração de frutose no hepatócito é seguido por uma utilização da mesma como fonte energética ou então para o fornecimento de esqueletos de carbono para a lipogênese. Em contraste com a glicose, a frutose não pode ser estocada na forma de glicogênio, então ela fornece esqueletos de carbono para a produção de lipídios através do processo de liponeogênese. A chave na produção está na conversão da glicose-6fosfato para frutose-1-6fosfato, enquanto na glicose essa conversão é modulada pela fosfofrutoquinase (inibida por altos níveis de citrato), a frutose pode entrar continuamente na via glicolítica, sem destino e não podendo ser convertida em glicogênio (reação irreversível) a frutose é transformada em triglicerídeos que serão lançados na corrente sanguínea, estocados no fígado ou em tecidos periféricos ou ainda ligar-se a apolipoproteína B (apoB) produzindo assim VLDL (BASCHIANO, 2005; KOK ; ROBERFROID ; DELZENNE, 1996; BROWN ; GOLDSTEIN, 1997; BENNETT et al., 1995).

A manutenção de elevados níveis de triglicerídeos circulantes causa um desbalanço na oxidação de lípidos e carboidratos (HILL, 1992). Esse fenômeno pode acarretar maiores concentrações de glicose plasmática e, conseqüentemente, maior produção e secreção de insulina pelo pâncreas. A resistência hepática à insulina se dá por problemas nos substratos do receptor de insulina 1 (IRS-1) e substrato do receptor de insulina 2 (IRS-2), a proteína quinase N-terminal (JNK) fosforila o IRS em serina, inibindo sua fosforilação em tirosina, interrompendo assim todo o processo de captação de glicose. Esses efeitos resultam da ativação

da proteína quinase C (PKC) e Proteína quinase N terminal (JNK-1) que estão intimamente relacionados a resistência a insulina hepática, estando ou não associada a resistência periférica à insulina. (VARMAN et al., 2004; KRAEGEN et al., 1999)

Como visto alterações nas concentrações de triglicerídeos circulantes é o primeiro e talvez principal mecanismo de indução da esteatose hepática tanto em modelo experimental como em humanos. A infiltração lipídica, em longo prazo, pode acarretar problemas adversos para o fígado, assim como a manutenção de elevados níveis de triglicerídeos circulantes pode causar leve resistência à insulina que posteriormente poderá evoluir para diabetes tipo 2, dislipidemias, aterosclerose, obesidade central entre outras alterações (BASCHIANO et al., 2005).

7.5.3 AGL

As concentrações de ácidos graxos livres não foram diferentes entre as dietas, porém o grupo CTP e o grupo CTT apresentaram concentrações elevadas em relação ao grupo controle. Uma hipótese plausível para justificar esse achado, é a de que o treinamento na intensidade do máximo estado estável de lactato poderia acarretar uma adaptação à oxidação de lipídios assim como afirmado por Hill (1992). Essa adaptação causaria leve aumento dos lipídios circulantes o que implica em leve alteração nos ácidos graxos livres circulantes. O mesmo não foi observado na dieta enriquecida com frutose. Esses dados corroboram estudo de Roglans e colaboradores (2002), que constataram alterações nas concentrações de triglicerídeos em dieta de frutose, sem alteração nos níveis de ácidos graxos livres circulantes. Ainda nesse estudo, o processo de alteração das concentrações de TG circulantes foi associado a fatores descritos a seguir: 1- Lipólise das lipoproteínas circulantes; 2- taxa de liberação de ácidos graxos livres pelo tecido

adiposo; 3- taxa de transformação dos AGL em triglicerídeos; 4-Ação da lipase lipoprotéica no tecido adiposo e na corrente sanguínea.

7.5.4 Colesterol Total

Não foi observada nenhuma diferença nas concentrações de colesterol total circulantes entre os grupos ao final do experimento. Tanto o exercício quanto o tipo de dieta não foram eficientes em causar alterações nesse parâmetro.

Hellerstein et al. (1991) desenvolveram uma técnica de análise com glicose marcada para desvendar a qual quantidade desse nutriente era utilizada na produção de colesterol de baixíssima densidade (VLDL) pelo fígado. Verificou-se que somente 0,91% dos carboidratos dos animais tratados com dieta pobre em carboidratos e 1,97% dos carboidratos em animais tratados com dieta rica em carboidratos eram transformados em VLDL pela liponeogênese hepática. Esse efeito não foi observado quando o carboidrato em questão foi substituído pela frutose marcada, que desencadeou um processo exacerbado de liponeogênese principalmente hepática tanto em indivíduos hiperinsulinêmicos, como em obesos e magros (FAEH et al., 2005). No presente estudo não foi avaliada a concentração de VLDL hepática, porém, o nível de TG circulantes foi maior no grupo alimentado com frutose, o que indica que a dieta exerceu efeitos na produção do VLDL. Poucos estudos tiveram êxito em mostrar o exercício físico como recurso para melhoras nos níveis de HDL e LDL em indivíduos saudáveis (SHIEKEN et al. 1991). Em contrapartida indivíduos obesos, que obtêm uma redução do peso corporal através de dietas, possuem alterações significantes nessas lipoproteínas (BAR OR et al. 1998). As dosagens dessas lipoproteínas não foram realizadas neste estudo, conseqüentemente a causa exata da ausência de modificações no colesterol total pelo exercício físico não pode ser

adequadamente estabelecida. Contudo, semelhança entre os pesos dos animais concorre para a suposição de que tanto o HDL quanto o LDL sofram pequenas alterações, de acordo com estudos de Bar Or (1998).

7.5.5 AST, ALT e Fosfatase Alcalina

As alterações nos níveis séricos de AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase) são importantes marcadores de lesão hepática tanto em animais, quanto em humanos (MARCHESINI et al., 2003). Tendo como um dos focos a presença da esteatose hepática na síndrome metabólica, essas enzimas foram analisadas no presente estudo. Os níveis de AST se apresentaram elevados no grupo Frutose (F) se comparados ao grupo frutose controle sedentário (C) e frutose treinado precoce e tardio. Esse achado foi também observado pela ANOVA de duas entradas, que apontou efeitos do exercício físico e da interação entre ambos nas concentrações de AST. Esse achado é interessante por revelar o papel importante do exercício físico na prevenção de lesões hepáticas, seja esse implantado precocemente ou tardiamente.

Os níveis de ALT, porém, não apresentaram diferença significativa entre os 6 grupos estudados. Bruns et al. (1981) apontaram valores de AST até 20 vezes maiores do que ALT no tecido cardíaco e sangue. Os valores de AST sanguíneos no grupo F mesmo estando elevados em relação aos demais, ainda estão dentro dos valores normais (100-200 U/L para AST, 10-20 para ALT), o que por si só não indica a presença de esteatose hepática (HESSEL ; SANTI ; COLLARES, 1996). Porém, o protocolo ouro para o diagnóstico da esteatose consiste basicamente nas concentrações elevadas de lipídios hepáticos. Esses resultados estão de acordo com estudos prévios que não mostraram alterações nas transaminases de animais que não possuíam alterações de curto prazo na sensibilidade à insulina (LEWIS et al., 2002; AZZOUT-

MARNICHE et al., 2000; FROMENTY et al., 2004; PARADIS et al., 2003). Os estoques de triglicerídeos hepáticos acarretam resistência local à insulina em curto prazo, essa resistência induz apoptose, como descrito por Hotamisligil (2003). Esse mecanismo leva a um aumento da resposta inflamatória local responsável por alterações nas concentrações de AST e ALT circulantes (DONGCHENG et al., 2004). O curto período de aplicação da dieta pode ter concorrido para o não aparecimento dessa alteração. Ackerman e colaboradores (1999) também não encontraram alterações nos níveis de AST e ALT circulantes em ratos alimentados com dieta rica em frutose por 5 semanas, e supôs que o curto período da dieta não foi suficiente para induzir apoptose celular que acarretariam na elevação dessas transaminases.

O exercício físico crônico emerge como importante ferramenta na prevenção e no tratamento da esteatose hepática, assim como da resistência à insulina e regulação nos níveis de lipídeos circulantes (LANGE, 2004; FELDSTEIN et al., 2003). O mecanismo principal da ação do exercício físico sobre os hepatócitos se dá através da liberação dos ácidos graxos estocados para a corrente sanguínea e utilização dos mesmos para a produção de energia. Esse fenômeno reduz os níveis de TG estocados aumenta a sensibilidade a insulina e a secreção do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), que é um potente ativador do mecanismo de anabolismo e regeneração hepática (LANGE, 2004; FELDSTEIN et al., 2003; UENO et al., 2000; SIEBLER ; GALLE, 2006). Como observado no presente estudo, o exercício físico tanto tardio quanto precoce revelou-se extremamente útil quanto a redução dos níveis de AST circulantes.

A fosfatase alcalina por sua vez associa-se a atividade celular. Bowers e McComb (1975), apontam os valores de referência para a fosfatase alcalina entre 60 e 260 U/L para adultos. Alguns valores apresentaram-se reduzidos em relação ao mínimo recomendado. As concentrações de fosfatase alcalina foram menores nos grupos preventivamente treinados se comparados aos grupos terapeuticamente treinados em ambas as dietas. Esse resultado pode

trazer a tona o papel protetor do exercício físico instalado precocemente. Fagundes et al. (2004) estabelecem que aumentos de 150% nos níveis de fosfatase alcalina por 6 meses ou mais estão diretamente relacionados a fibrose cística. Esse aumento não foi observado em nenhum dos grupos relacionados.

7.6 Lipídeos Totais e Peso do Tecido Adiposo, Fígado e Coração.

Diversas alterações nos lipídeos teciduais são encontradas em portadores da síndrome metabólica. A obesidade e o acúmulo de gordura intra visceral estão altamente correlacionados com o aparecimento da síndrome metabólica e a esteatose hepática. Estudos mostram que a ocorrência de fibrose hepática (evolução do quadro de esteato hepate) está altamente correlacionada com a presença de índice de massa corpórea elevado (ANGULO et al., 1999; ADLER ; SHAFNER, 1979). Esses achados levam em consideração o aumento na quantidade de lipídios circulantes como sua concentração no tecido adiposo. O presente estudo encontrou aumento nos lipídios hepáticos, retroperitoneal e mesentérico dos animais.

Esse achado torna-se crucial, pois a ANOVA de duas entradas revelou o papel do exercício físico tanto precoce quanto tardio na redução das concentrações de lipídeos no fígado e conseqüentemente, inibiu o aparecimento da esteatose hepática. Além disso, se relacionarmos as concentrações de lipídeos hepáticos e de AST circulantes, podemos observar o papel do exercício físico como potente regulador dos mesmos. Em ambos os casos os animais exercitados e alimentados com dieta rica em frutose apresentaram valores equivalentes aos controles. Já o grupo frutose sedentário apresentou valores elevados em ambos os parâmetros. Essa pode ser uma justificativa para o aumento dos triglicerídeos séricos elevados nos grupos frutose treinados (FTP e FTT) se comparados aos respectivos controles. Esse achado pode indicar uma adaptação do metabolismo lipídico ao exercício físico, que ao invés de ser estocado

nos hepatócitos, seriam mobilizados como fonte substrato energético para o músculo durante o exercício e na recuperação.

A ANOVA não apontou diferença dos tecidos adiposos avaliados (subcutâneo, retroperitoneal e mesentérico). Esse achado aponta que nem o exercício físico nem a dieta rica em frutose modificaram a distribuição de gordura corporal dos animais.

Em contraste, Elliot e colaboradores (2002) apontaram que dieta rica em frutose não induz a secreção de insulina, portanto não atua no mecanismo de saciedade da fome, concorrendo para uma maior ingesta alimentar e conseqüentemente um aumento no peso e nos teores de lipídios do tecido adiposo. Jurgens (2005) e colaboradores acharam grande aumento de peso em ratos que consumiam refrigerante como fonte de líquidos. Esse achado pode estar relacionado ao alto poder palatável dos refrigerantes, que causou um aumento na ingestão líquida dos animais durante o experimento. Estudo não publicado de nosso laboratório também apontou para um grande aumento na ingesta de líquidos correlacionada ao aumento de peso corporal e do tecido adiposo de animais tratados com refrigerantes *ad libitum* durante 8 semanas.

Poucos estudos apontam para um aumento nas concentrações de lipídios no coração de animais submetidos a dieta rica em frutose. Várias pesquisas mostram o papel do exercício físico nas concentrações de lipídios no coração (TAYLOR et al., 2004; FONTANA et al., 2007). Contudo nenhuma alteração foi observada entre os diferentes protocolos de exercício e dietas.

8. Conclusões

1. A alimentação com dieta rica em frutose não alterou a tolerância à glicose, mas reduziu a sensibilidade à insulina dos animais do presente estudo.

2. A alimentação com dieta rica em frutose também acarretou alterações no metabolismo lipídico: aumento das concentrações séricas de triglicerídeos, que conduziram a esteatose hepática. Essa condição foi adequadamente refletida nos valores séricos de aspartato aminotransferase (AST) que apareceram elevados no grupo frutose sedentário.

3. Foi possível identificar o máximo estado estável de lactato individual para os ratos de todos os grupos somente a partir da idade adulta (90 dias) e o protocolo de treinamento tardio induziu melhoras na capacidade aeróbia dos animais durante o período dos 90 aos 120 dias.

4. O treinamento tardio melhorou a sensibilidade à insulina comprometida pela dieta rica em frutose.

5. O treinamento físico tanto precoce quanto tardio, impediu o desenvolvimento da esteatose hepática induzido pela ingestão de dieta rica em frutose.

9. Referências Bibliográficas

1. ACKERMAN, Z. et al. Fructose-Induced fatty liver disease: Hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. **Hypertension**, v. 45, p.1012-1018, 2005.
2. ADLER, M.; SHAFNER, F. Fatty liver hepatitis and cirrhosis in obese patients. **American Journal of Medicine**, v. 67, p. 811-816, 1979.
3. ANGULO, P. et al. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. **Hepatology**, v.30, n.6, p. 1356- 1362, 1999.
4. AWADALLAH, R.; EL-DESSOUKEY, E.A. Serum enzyme changes in experimental diabetes before and after treatment with some hypoglycaemic drugs. **Zeitschrift für Ernährungswissenschaft**, v.16, n.4, 235-40, 1978.
5. AZZOUT-MARNICHE, D. et al. Insulin effects on sterol regulatory-element-binding protein-1c (SREBP-1c) transcriptional activity in rat hepatocytes. **Biochemical Journal**, v.350, n.2, p.389-93, 2000.
6. BABA, C.S. et al. Effects of physical exercise and dietary modifications on serum aminotransferase levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v.21, n.1, p.191-198, 2006.
7. BAR-OR, O. et. al. Physical activity, genetic, and nutritional considerations in childhood weight management. **Medicine Science Sports Exercise**, v.30, n.1, p. 2-10, 1998.
8. BASCHIANO, H.; FEDERICO, L.; KHOSROW, A. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. **Nutrition & Metabolism**, v. 2, p.5-19, 2005.

9. BEZERRA, R.M.N. et al. A high-fructose diet induces insulin resistance but not blood pressure changes in normotensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p. 1155-1160, 2001.
10. BENEKE, R. Anaerobic threshold individual anaerobic threshold and maximal lactate steady state in running. **Medicine Science Sports Exercise**, v. 27, p.863-671, 1995.
11. BENNETT, M.K. et al. Sterol regulation of fatty acid synthase promoter.Coordinate feedback regulation of two major lipid pathways. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, p.25578-25583, 1995.
12. BERGMAN, R.N.; ADER, M. Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Trends Endocrinology and Metabology**, v.11, p. 351-356, 2000.
13. BLAKELY, S.R. et al. Long-term effects of moderate fructose feeding on glucose tolerance parameters in rats. **Journal of Nutrition**, v.111, p.307-14, 1981.
14. BILAT, V. et al. The concept of maximal lactate steady state. A bridge between biochemistry, physiology and sport science. **Sports Medicine**, v. 33, p.407-426, 2003.
15. BOWERS, Jr., G.N.; McCOMB, R.B. Measurement of total alkaline phosphatase activity in human serum. **Clinical Chemistry**, v.26, p.1988-95, 1975.
16. BRAY, G.A.; NIELSEN, S.J.; POPKIN, B.M. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.537- 43, 2004.
17. BROWN, M.S.; GOLDSTEIN, J.L. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membranebound transcription factor. **Cell**, v.89, p.331-340, 1997.
18. BRUNS, D. et al. Evaluation of the IFCC-recommended procedure for serum a spartate aminotransferase as modified for use with the centrifugal analyzer. **Clinical Chemistry**, v.27, p. 156-9, 1981
19. CATENA, C. et al. Cellular mechanisms of insulin resistance in rats with fructose- induced hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 16, p.973-978, 2003.
20. CIOLAC, E.G.; GUIMARÃES, G.V. Importância do exercício resistido para o idoso. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v.12, p.S15-26, 2002.
21. CLARK, J.M.; DIEHL, A.M. Nonalcoholic fatty liver disease: an underrecognized cause of cryptogenic cirrhosis. **Journal of American Medicine Associate**, v.289, p.3000 -3004, 2003a.
22. CLARK, J.M.; BRANCATI, F.L.; DIEHL, A.M. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. **American Journal of Gastroenterology** v.98, p.960- 967, 2003b.
23. DEL GAUDIO, A. et al. Liver damage in obese patients. **Obesity Surgery**, v. 12, p. 802-4, 2002.
24. DOMINGO, J.L.; GOMEZ M.; SANCHEZ, D.J.; LLOBET J.M.; KEEN C.L. Tiron administration minimizes the toxicity of vanadate but not its insulin mimetic properties in diabetic rats. **Life Sciences** v.50, n.18, p.1311-1317, 1992
25. DONGSHENG, C. et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK- β and NF- κ B. **Nature Medicine**, v. 11, n.2, p.183-190, 2005.
26. DUNCAN, B.B.; SCHIMIDT, M.A. Chronic ativation of th innate immune sistem may ,underlie the metabolic sindrome. **São Paulo Medicine Jorunal**, v. 119, n.3, p. 122-7, 2001.
27. DUNSTAN, D.W. et al. High intensity resistance training improves glycemc

- control in older patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v.25, p. 1729-1736, 2002.
28. EBAL, E. et al. Effect of a moderate exercise on the regulatory hormones of food intake in rats. **Appetite**, v. 49, p. 521-524.
29. EBELING, P. et al. Mechanisms of enhanced insulin sensitivity in athletes: increased blood flow, muscle glucose transport protein (GLUT-4) concentration and glycogen synthase activity. **Journal of Clinical Investigation**, v. 92, p.1623-31, 1993.
30. ELLIOT, S.S. et al. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, p.2963-2972, 2004.
31. ERIKSSON, J.; TAIMELA, S.; KOIVISTO, V.A. Exercise and the metabolic syndrome. **Diabetologia**, v. 40, p. 125-35, 1997.
32. FAGUNDES, E.D.T. et al. Validação do escore ultra-sonográfico de Willians para o diagnóstico da hepatopatia da fibrose cística. **Jornal de Pediatria**, v.80, p.380-6, 2004.
33. FELDSTEIN, A.E. et al. Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. **Gastroenterology**, v.125, p. 437-443, 2003.
34. FIELDS, M.; LEWIS, C.G., LURE, M.D. Responses of insulin to oral glucose and fructose loads in marginally copper-deficient rats fed starch or fructose. **Nutrition** v.12, p.524-8, 1996.
35. FONTANA L. et al. Calorie restriction or exercise: effects on coronary heart disease risk factors. A randomized, controlled trial. **American Journal of Physiology Endocrinology & Metabolism**, v. 293, p. E197-E202, 2007.
36. FORD, E.S.; GILES, W.H.; MOKDAD, A. H. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among US adults. **Diabetes Care**, v. 27, p. 2444-49, 2004.
37. FROMENTY, B. et al. The ins and outs of mitochondrial dysfunction in NASH. **Diabetes & Metabolism**, v.30, p.121-38, 2004.
38. GALDINO, R.S. et al. Protein calorie malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to physical exercise. **Nutrition Research**, v.20, p.257-535, 2000.
39. GOBATTO, C.A. et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.130, p.21-7, 2001.
40. GUPTE, P. et al. Non-alcoholic steatohepatitis in type 2diabetes mellitus. **Journal of Gastroenterology Hepatology**, v.19, p. 854-8, 2004.
41. HALLFRISCH, J. et al. Effects of dietary fructose on plasma glucose and hormone responses in normal and hyperinsulinemic man, **Journal of Nutrition**, v. 113, p. 1819-26, 1983.
42. HANLEY, A.J.G. et al. Liver Markers and Development of the Metabolic Syndrome. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. **Diabetes**, v.54, p.3140-3147, 2005.
43. HECK, H. et al. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **International Journal of Sports Medicine**, v.6, p. 117-130, 1985.
44. HELLERSTEIN, M.K. et al. Measurement of de novo lipogenesis in humans using stable isotopes. **Journal of Clinical Investigation**, v. 87, p. 1841-52, 1991.
45. HERBERT, V. et al. Coated Charcoals immunoassay of insulin. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 25, p. 1375-84, 1965.
46. HESSEL, G.; DE SANTI, N.D.; COLLARES, E.F. Correlation between the severity of acute hepatic necrosis induced by acetaminophen and serum aminotransferase levels in rats fasted and sucrose-fed rats. **Brazilian Journal of**

Medical and Biological Research, v.29, p.793-6, 1996.

47. HILL, J.O.; HOLLY, R.W. Role of physical activity in preventing and treatment of obesity. **Journal of Applied Physiology**, v. 99, p. 765-770, 2005.
48. HILL, J.O. et al. Development of dietary obesity in rats: influence of amount and composition of dietary fat. **International Journal of Obesity**, v.16, p.321–33, 1992.
49. HOLLOSZY, J.O. et al. Effects of exercise on glucose tolerance and insulin resistance. **Acta Medica Scandinavica**, v. 711, p. 55-65, 1986.
50. HOTAMISLIGIL, G.S. Inflammatory pathways and insulin action. **International Journal of Obesity**, v.27, n.3, p.S53–S55, 2003.
51. HWANG, I.S. et al. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. **Hypertension**, v.10, p.512-6, 1987.
52. IVY, J.L. Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Sports Medicine**, v. 24, p. 321-36, 1997.
53. JURGENS, H. et al. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. **Obesity Research**, v. 13, p.1146–56, 2005.
54. KAHN, R. et al. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal. **Diabetologia**, v. 48, n.9, p.1679-83, 2005.
55. KANAREK, RB; ORTHEN-GAMBILL, N. Differential effects of sucrose, fructose and glucose on carbohydrate-induced obesity in rats. **Journal of Nutrition**, v.112, p.1546–54, 1982.
56. KASIM-KARAKAS, S.E. et al. Effects of dietary carbohydrates on glucose and lipid metabolism in golden Syrian hamsters. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v.128, p.208–13, 1996.
57. KIM, J.S. et al. Hypoglycemic and antihyperlipemic effect of four Korean medicinal plants in alloxan induced diabetic rats. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v.2, p.154-160, 2006.
58. KINDERMAN, W.; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic / anaerobic transition of the determination of the work load intensity during endurance training. **European Journal of Applied Physiology**, v.42, p. 25-34, 1979
59. KIRWAN, J.P. et al. Eccentric exercise induces transient insulin resistance in healthy individuals. **Journal of Applied Physiology**, v. 72, p. 2197-202, 1992.
60. KOK, N.; ROBERFROID, M.; DELZENNE, N. Dietary oligofructose modifies the impact of fructose on hepatic triacylglycerol metabolism. **Metabolism**, v.45, p.1547-1550, 1996.
61. KRAEGEN, E.W. et al. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. **Diabetes**, v.48, n.6, p. 1270-74, 1999.
62. KRUGER, J.; SCHNETTLER, S.; HECK, H. Relationship between rectangular triangular increasing work blood and maximal lactato steady state on the crank ergometer. **Sports Medicine and Health**, p 685-690, 1990.
63. LAKKA, T.A. et al. Sedentary life style, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. **Medicine Science Sports Exercise**, v. 35, p.1279-86, 2003.
64. LANGE, K.H. Fat metabolism in exercise – with special reference to training and growth hormone administration. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 14, n.2, p.74-99, 2004.
65. LEE, Y.C. et al. Plasma leptin response to oral glucose tolerance and

- fasting/re-feeding tests in rats with fructose-induced metabolic derangements **Life Sciences**, v.78, p.1155-1162, 2006.
66. LEVIN, B.; DUNN-MEYNELL, A.A. Reduced central leptin sensitivity in rats with diet-induced obesity. **American Journal of Physiology- Regulatory, integrative and Comparative Physiology**, v. 283, p. R941-R948, 2002.
67. LEWIS, G.F. et al. Fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. **Endocrine Reviews**, v.23, p.201-29, 2002.
68. LITHERLAND, G.J. et al. Fructose transport and metabolism in adipose tissue of Zucker rats: diminished GLUT5 activity during obesity and insulin resistance. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.261, p.23-33, 2004.
69. LUNDBAECK, K. Intravenous glucose tolerance test as a tool in definition and diagnosis of diabetes mellitus. **British Medical Journal**, v2, p. 1507-1513, 1962.
70. MADER, A.; HECK, H. A theory of metabolic origin of the anaerobic threshold. **International Journal of Sports Medicine**, v.7, p. 45-46, 1986.
71. MANCHADO, F.B. et al. Maximal lactate steady in running rats. **Journal of Exercise Physiology Online**, v.8, p. 4, 2005
72. MARCHESINI, G. et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. **Diabetes**, v.50, p.1844 –1850, 2001
73. MARCHESINI, G. Nonalcoholic Fatty Liver, Steatohepatitis, and the Metabolic Syndrome. **Hepatology**, v.37, n.4 p. 917-923, 2003.
74. MATHEWS, J.N.S. et al. Analysis of serial measurements in medical research. **Brazilian Medicine Journal**, v. 27, p. 230-5, 1990.
75. MCARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano. 4a ed. Rio de Janeiro: **Ed. Guanabara Koogan**, 1998.
76. MCLELLAN, F. Obesity rising to alarming levels around the world . **The Lancet**, v.359, n.9315, p. 1412 - 1412 F, 2002.
77. MELLO, M.A.R.; LUCIANO, E. Obesidade e Desnutrição **In: Obesidade. 1ed. Rio de Janeiro: Medicine Science** ,v.1, p.153-169, 2003.
78. MILLER, J.P. et al. Strength training increases insulin action in healthy 50- to 65-yr- old men. **Journal of Applied Physiology**, v. 77, p. 1122-7, 1994.
79. MOKDAD, A.H. et al. The spread of the obesity epidemic in the United States, 1991– 1998. **Journal of American Medical Association**, v.282, p.1519-1522, 1999.
80. MONOD, H.; SCHERER, J. The work capacity of a synergic muscular group. **Ergonomics**, v.24, p. 339-350, 1965.
81. MOURA, R. et al. Metabolic Characteristics of Wistar Rats Submitted to High Fructose Ingestion by Different Protocols. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.40, n.5, p.S455, 2008.
82. MUKAI, M. et al. Liver disorder and related physical conditions and life style. **Digestive Disorders and Sciences**, v.47, p. 549-555, 2002.
83. MULHALL, B.P.; ONG, J.P.; YOUNOSSI, Z.M. Non-alcoholic fatty liver disease: an overview. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v.17, p.1136 – 1143, 2002.
84. NAGAI, Y. et al. Amelioration of high fructose-induced metabolic derangements by activation of PPAR α . **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 282, p. E 1180-E 1190, 2002
85. NAIM, M. et al. Energy Intake, Weight Gain and Fat Deposition in Rats Fed

- Flavored, Nutritionally Controlled Diets in a Multichoice ("Cafeteria") Design. **Journal of Nutrition**, v.115, p.1447-1458, 1985.
86. NOGUEIRA, D.M. et al. Métodos de Bioquímica Clínica. Técnica e Interpretação. **São Paulo: Pancast**, p. 468; 1990.
87. NUUTILA, P. et al. Different alterations in the insulin-stimulated glucose uptake in the athlete's heart and skeletal muscle. **Journal of Clinical Investigation**, v.93, p.2267-74, 1994.
88. OKADA, Y. et al. Effects of the K⁺ Channel Opener KRN4884 on the Cardiovascular Metabolic Syndrome Model in Rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v.35, n.2, p.287-293, 2000
89. OMS, Organização Mundial de Saúde. WHO consultation: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. **WHO/NCD/NCS/99**, v.2, p.31-33, 1991.
90. PARADIS, V. et al. High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. **Hepatology**, v.34, p.738-44, 2001.
91. PERSGHIN, G. et al. Increased glucose transport-phosphorylation and muscle glycogen synthesis after exercise training in insulin-resistant subjects. **New England Journal of Medicine**, v. 335, p. 1357-62, 1996.
92. POLLOCK, M.L. et al. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: an advisory from the committee on exercise, rehabilitation, and prevention, council on clinical cardiology, **American Heart Association. Circulation**, v. 101, p. 828-33, 2000.
93. REAVEN, G. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v. 37, p. 1595-1607, 1988.
94. RICHTER E.A. et al. Metabolic responses to exercise. Effects of endurance training and implications for diabetes. **Diabetes Care**, v. 15, p. 1767-76, 1992.
95. RODEN, M. et al. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. **Journal of Clinical Investigation**, v.97, p. 2859-2865, 1996.
96. ROGERS, M.A. et al. Effect of 10 days of physical inactivity on glucose tolerance in master athletes. **Journal of Applied Physiology**, v. 68, p. 1833-7, 1990.
97. ROGERS, M.A. Acute effects of exercise on glucose tolerance in non-insulin-dependent diabetes. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.21, n.4, p.362-368, 1989.
98. ROGLANS, N. et al. Atorvastatin Treatment Induced Peroxisome Proliferator- Activated Receptor _ Expression and Decreased Plasma Nonesterified Fatty Acids and Liver Triglyceride in Fructose- Fed Rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 302, n.1, p. 232-239, 2002.
99. RUMESSEN, J.J. Fructose and related food carbohydrates. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 27, p. 819-28, 1992.
100. SAMAD, F. et al. Tumor necrosis factor alpha is a key component in the obesity - linked elevation of plasminogen activator inhibitor 1. **Proceedings of National Academy of Sciences USA**, v. 96, p. 6902-7, 1999.
101. SEALS, D.R. et al. Glucose tolerance in young and older athletes and sedentary men. **Journal of Applied Physiology**, v.56, p.1521-25, 1984.
102. SCHNEIDER, S.H.; RUDERMAN, N.B.; Exercise and NIDDM (technical review). **Diabetes Care**, v.13, p. 785-9, 1990.
103. SMITH, L.L. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.32, n. 2, p.317, 2000.

104. FAEH, D. et al. Effect of Fructose Overfeeding and fish Oil Administration on Hepatic De Novo Lipogenesis and Insulin Sensivity in Healthy Men. **Diabetes**, v. 54, n. 7, p. 1907-13, 2005.
105. SHARON, S.E. et al. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, p.911–22, 2002.
106. SHIEKEN, R. M. Effects of exercise on lipids. **Annals of the New York Academy of Sciences**, , p. 269-274, 1991.
107. SHIVA M. et al. Western-Type diets induce insulin resistance and hyperinsulinemia in LDL receptor- deficient mice but do not increase aortic atherosclerosis compared with normoinsulinemica mice in wich similar plasma cholesterol levels are archieved by a fructose-rich diet. **Arteriosclerosis, Thrombosis and vascular Biology**, v. 19, p. 1223-1230, 1999.
108. SIEBLER, J.; GALLE, R.P. Treatment of nonalcoholic fatty liver disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, n.14, p.2161-2167, 2006.
109. SJODIN, B.; JACOBS, I. Onset of blood lactate accumulation and marathon performance. **International Journal of Sports Medicine**. v. 2, p. 23-6, 1981.
110. STEGGMAN, H.; KINDERMAN, N. Comparison of prolonged exercise tests at the individual anaerobic threshold and the hxed threshold of 4.0 mmol/l lactate . **International Journal of Sports Medicine**, v.3, p.105-110, 1982.
111. TAKAGAWA, Y. et al. Long-termfructose feeding impairs vascular relaxation in rat mesenteric arteries. **American Journal of Hypertension**, v.14, p.811–7, 2001
112. TAYLOR R.S. et al. Exercise-based rehabilitation for patients with coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials . **The American Journal of Medicine**, v.116, n.10, p.682 – 692, 2004.
113. TEFF, K.L. et al. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuate postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in woman. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.89, p.2963-2972, 2004.
114. TSUNG, O.C. Fast food and obesity in China. **American Journal of Cardiology**, v.42, p.773, 2003.
115. TUOMINEM, J.A. et al. Postmarathon paradox: insulin resistance in face of glycogen depletion. **American Journal of Physiology**, v. 270, p. E336-43, 1996.
116. UENO, T. et al. Therapeutic effects of restricted diet and exercise in obese patients with fatty liver. **Journal of Hepatology**, v.27, p. 103-107, 1997.
117. VARMAN, T.S. et al. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. **The journal of biological chemistry**. 2004.
118. WASSERMAN, K.; McILROY, M.B. Detecting the threshold of anaerobic threshold in cardiac patients during exercise. **Pediatric Cardiology**, v.20, p.12-15, 1964.
119. WAKAME, K. Protective Effects of Active Hexose Correlated Compound (AHCC) on the Onset of Diabetes Induced by Streptozotocin in the Rat. **Biomedical Research**, v.20, n.3, p.145-152, 1999
120. YAMINI, S. et al. Effect of dietary carbohydrate on liver and kidney enzyme-activities and plasma amino-acids in the la/n-cp rat **International Journal Of Obesity**, v.15, n.3, p.189-203, 1991
121. ZAVARONI, I.; BONORA, E.; PAGLIARA, M. Risk factors for coronary artery disease in healthy persons with hyperinsulinemia and normal glucosa tolerance. **New England Journal Medicine**, v. 320, p. 702-706, 1989.
122. ZECHHIN, H.G.; CARVALHEIRA, J.B.C.; SAAD, M.J.A. Mecanismos moleculares da resistência à insulina na síndrome metabólica. **Revista da Sociedade**

de Cardiologia do Estado de São Paulo v. 14, p. 574-89, 2004.

123. ZIEGLER, O. et al. Macronutrients, fat mass, fat acid flux and insulin sensitivity. **Diabetes and Metabolism**, v. 27, p.261-270, 2001.