



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - RIO CLARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE
BIODINÂMICA DA MOTRICIDADE HUMANA

LUCIELI TERESA CAMBRI

**IMPACTO DA DESNUTRIÇÃO INTRAUTERINA NA
HOMEOSTASE GLICÊMICA E NA CAPACIDADE AERÓBIA
DE RATOS**

*Tese apresentada
ao Instituto de Biociências do
Campus de Rio Claro,
Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor em
Ciências da Motricidade - Área de
Biodinâmica da Motricidade
Humana.*

2011



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS-RIO CLARO**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE
BIODINÂMICA DA MOTRICIDADE HUMANA**

LUCIELI TERESA CAMBRI

**IMPACTO DA DESNUTRIÇÃO INTRAUTERINA NA
HOMEOSTASE GLICÊMICA E NA CAPACIDADE AERÓBIA
DE RATOS**

Orientadora: Prof.^a Dr^a Maria Alice Rostom de Mello

*Tese apresentada ao
Instituto de Biociências do Campus de
Rio Claro, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em
Ciências da Motricidade - Área de
Biodinâmica da Motricidade Humana.*

2011

611.4 Cambri, Lucieli Teresa
C178i Impacto da desnutrição intrauterina na homeostase
glicêmica e na capacidade aeróbia de ratos / Lucieli Teresa
Cambri. - Rio Claro : [s.n.], 2011
174 f. : il., figs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Maria Alice Rostom de Mello

1. Endocrinologia 2. Fisiologia. 3. Desnutrição. 4. Dieta.
5. Síndrome Metabólica. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

Este trabalho foi financiado pela
“FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO
PAULO”

FAPESP

(Processo nº: 08/53255-8)

Mensagem

O dia mais belo? Hoje
A coisa mais fácil? Errar
O maior obstáculo? O medo
O maior erro? O abandono
A raiz de todos os males? O egoísmo
A distração mais bela? O trabalho
A pior derrota? O desânimo
Os melhores professores? As crianças
A primeira necessidade? Comunicar-se
O que mais lhe faz feliz? Ser útil aos demais
O maior mistério? A morte
O pior defeito? O mau humor
A pessoa mais perigosa? A mentirosa
O sentimento mais ruim? O rancor
O presente mais belo? O perdão
O mais imprescindível? O lar
A rota mais rápida? O caminho certo
A sensação mais agradável? A paz interior
A proteção efetiva? O sorriso
O melhor remédio? O otimismo
A maior satisfação? O dever cumprido
A força mais potente do mundo? A fé
As pessoas mais necessárias? Os pais
A mais bela de todas as coisas? **O amor**

Madre Teresa de Calcutá

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Marli e Luiz Cambri, meu irmão Everton e minha madrinha Marisa Sá

AGRADECIMENTOS

Finalizar uma etapa é ocasião de mostra-se grato a todos que nos auxiliaram a trilhar este caminho. Com isso, deixo meus mais sinceros agradecimentos a todos que se fizeram presentes durante esta etapa.

À DEUS, por sempre me dar forças, coragem e determinação e, principalmente, por me mostrar que o melhor caminho a seguir, nem sempre é o mais fácil.

Aos meus pais, pela onipresença e pelo amor incondicional, doutores na arte de ensinar virtudes, que pela firmeza de caráter sempre foram exemplos de como seguir caminhos dignos. Obrigada por sempre acreditarem em mim e entenderem minhas ausências.

Everton Cambri e Micheli Cattelan, meu irmão que sempre foi um incentivador nato, e meu exemplo de determinação, e minha cunhada pela sua amizade e carinho e, principalmente, por me darem uma afilhada linda.

Aos meus padrinhos, Luiz e Marisa Sá, pelo seu amor e incentivo, em especial, a minha madrinha, pelo exemplo de fé e coragem, ao lutar todos os dias pela vida.

Aos meus demais familiares, tios e primos, que mesmo a distância, de uma forma ou de outra, sempre se fazem presentes.

Aos amigos, Camila Bittencourt, Karina Friederich, Fernanda Stoffels, Martin Maldonado, Ricardo Dable, Fernanda Piasecki, Adriana Masiero, Juliana Decimo, Lenise Fronchetti, Michele de Souza, amizades conquistadas no decorrer da vida acadêmica e que ultrapassaram os tempos, apesar dos diferentes caminhos que cada um trilhou na vida.

Ao Felipe Carpes, amigo dos tempos da graduação, que sempre me incentivou e dividiu comigo os anseios e incertezas da vida acadêmica. Que aos nossos 17 anos era apenas um sonho, que tínhamos como meta distante.

À Rayra Rocha, pela sua generosidade e disponibilidade, que sem me conhecer hospedou-me nos dias iniciais da chegada a Rio Claro.

À Cristiane Michelin (Cris), pelo convívio diário em Rio Claro, pelo carinho e amizade e, sobretudo, por suportar meus estresses diários. Tenho-te como uma irmã e saibas que torço muito pelo teu sucesso pessoal e profissional.

À Ana Carolina Ghezzi (Carol), minha irmãzinha caçula, pelo convívio diário em Rio Claro, pelo carinho e amizade, que com certeza perpetuará. Fico orgulhosa de ver que trilhas caminhos dignos. Obrigada também, por toda colaboração e dedicação nos experimentos, e por suportar meu “metodismo” exagerado.

À Carla Ribeiro, pela colaboração nas diversas etapas da parte experimental, por ter me guiado no laboratório durante as fases iniciais dos experimentos. Espero ter retribuído à altura

quando precisaste. Só mesmo duas “metódicas chatas” para trabalharem juntas.

Ao Rodrigo Dalia, pela colaboração nas diversas etapas da parte experimental. E por ter cuidado dos meus ratos num dos experimentos que minha sobrinha nasceu. Serei eternamente grata, pois só assim pude ir conhecê-la. Espero ter retribuído a altura quando precisaste.

Ao amigo Gustavo Gomes de Araujo, que sempre esteve disponível a auxiliar nos meus experimentos, com sua dedicação e competência.

Aos demais amigos e colegas do laboratório: José Diego Botezelli, Ivan Masseli dos Reis, Michel Araújo, Rodrigo Moura, Leandro Pereira, José Alexandre Curiacos Leme, pelo convívio e colaboração em diversos momentos.

Ao amigo Daniel Moreira Gonçalves, pelo seu carinho e paciência nos meses em Portugal. Aos demais amigos portugueses, Maria Tereza Baltazar, Helder Fonseca, Norberto Rodrigues, Antônio Quintela dos Santos, Eduardo Teixeira e D. Celeste, pelos bons momentos partilhados durante minha temporada na Europa.

Aos técnicos do laboratório, em especial José Roberto R. Silva (Beto), pela sua amizade, dedicação, competência e exemplo de profissional.

Um agradecimento especial aos meus orientadores de todas as etapas acadêmicas, principalmente, pelas oportunidades concedidas, por acreditarem em mim e por darem-se a liberdade necessária para o crescimento e amadurecimento acadêmico:

Ao professor Ms. Valdeci Foza, orientador da monografia de graduação e incentivador inicial.

À professora Dr^a Daniela Lopes dos Santos, minha orientadora de especialização e sempre conselheira em momentos difíceis.

À professora Dr^a Monique da Silva Gevaerd, minha orientadora de mestrado, sempre paciente e aberta a discussões.

Ao professor Dr. Fernando Roberto de Oliveira, quem me deu a oportunidade de estagiar ainda na graduação na UDESC, o que mais tarde abriu as portas para o mestrado e depois novamente para o doutorado. Obrigada pela amizade e conselhos nos momentos oportunos.

À professora Dr^a Maria Alice Rostom de Mello, pela oportunidade concedida de realizar este sonho. Pela confiança, competência, disponibilidade e exemplo de profissional dedicada e qualificada. Obrigada por dar-me a liberdade necessária para o êxito deste trabalho e meu crescimento pessoal e profissional.

Ao professor Dr. José Alberto Ramos Duarte, pela oportunidade de realizar o estágio de doutorado no seu laboratório em Portugal.

Aos professores, constituintes da banca examinadora no processo de qualificação e de defesa final, Dr^a Maria Cristina Cintra Gomes, Dr^a Eliete Luciano, Dr. Fernando Roberto de Oliveira e Dr. Sebastião Gobbi, pelas críticas e sugestões que engrandeceram este trabalho.

Ao professor Dr. Fábio Yuzo Nakamura, que mesmo não podendo participar fisicamente da banca de defesa, contribuiu com suas sugestões, e principalmente pelo contato inicial com a professora Maria Alice, que auxiliou meu ingresso neste programa de pós-graduação.

Aos demais professores doutores do Programa de Pós Graduação em Ciências da Motricidade, em especial, Sebastião Gobbi, Cláudio Gobatto, Eliete Luciano e Angelina Zanesco, pelos ensinamentos, os quais foram fundamentais durante mais esta etapa acadêmica.

Às funcionárias da Pós-Graduação, Rose, Marcela e Ivana, pela competência e disponibilidade.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo 2008/53255-08) pela concessão da bolsa de doutorado no país.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Processo 0037-10-9) pela concessão da bolsa de estágio no exterior.

RESUMO

Este estudo teve por objetivo analisar as alterações que a desnutrição fetal provoca na homeostase glicêmica e na capacidade aeróbia, e quais alterações persistem na idade adulta, mesmo após a realimentação, em modelo experimental utilizando ratos. Adicionalmente, visou verificar a susceptibilidade de animais precocemente desnutridos aos efeitos metabólicos da sobrecarga de frutose. Ratas Wistar adultas (90 dias) foram alimentadas durante a prenhez com dieta balanceada (B) - 17% proteína ou hipoproteica (H) - 6% proteína. Imediatamente após o nascimento, as crias do sexo masculino foram distribuídas em grupos de acordo com o regime alimentar até o final do experimento: Balanceada: dieta B durante todo o período experimental; Balanceada/Frutose: dieta B até o nascimento e dieta rica em frutose (F) - 60% frutose até o final do experimento; Hipoproteica/Balanceada: dieta H até o nascimento e dieta B até o final do experimento; Hipoproteica/Frutose: dieta H até o nascimento e dieta F até o final do experimento. Realizou-se duas séries de experimentos, a primeira observando os animais até a idade adulta (90 dias) e a segunda até a idade jovem (60 dias). Os animais foram avaliados quanto a: tolerância à glicose (teste de tolerância à glicose); sensibilidade à insulina (teste de tolerância à insulina) e capacidade aeróbia (teste da máxima fase estável de lactato - MFEL). Foram também analisadas concentrações séricas de glicose, triglicerídeos, colesterol total, LDL-C, HDL-C, ácidos graxos livres, proteínas totais, albumina, concentrações de glicogênio e lipídios totais no fígado; peso e concentração de lipídios totais do tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitonal e subcutânea e metabolismo da glicose pelo músculo sóleo (captação e oxidação da glicose, síntese e concentração de glicogênio), em duas condições: repouso e imediatamente após sessão única de exercício na intensidade da MFEL. Os resultados obtidos na primeira série de experimentos demonstram que, o excesso de frutose na dieta causou prejuízo no crescimento somático dos animais, independente do estado nutricional durante a vida fetal, com redução no peso do tecido adiposo de algumas regiões e no ganho de peso corporal. As elevadas concentrações séricas de triglicerídeos e colesterol total, constatadas nos animais que ingeriram excesso de frutose, são indicadores do desenvolvimento da síndrome metabólica. Na segunda série de experimentos, os resultados obtidos demonstraram que a habilidade de realizar exercício, determinada pela carga no teste de MFEL, não foi influenciada pelas diferentes dietas, assim como, as concentrações do lactato em animais jovens não foi alterada pela desnutrição intrauterina. Contudo, a dieta rica em frutose administrada após dieta balanceada na fase fetal aumentou a concentração de lactato durante exercício de natação.

Quanto ao efeito do exercício físico agudo, a maioria das respostas metabólicas foi similar nos diferentes grupos, independente da desnutrição prévia e da sobrecarga de frutose. Não houve diferença entre os grupos nos valores em repouso e nem quanto ao efeito agudo do exercício para captação e oxidação da glicose pelo músculo sóleo isolado. Entretanto, a síntese de glicogênio em repouso foi maior no grupo HF do que nos demais. O exercício físico agudo incrementou a síntese de glicogênio em todos os grupos, e mais uma vez, com os maiores valores no grupo HF. Esses resultados indicam que a dieta rica em frutose administrada após desnutrição fetal altera alguns parâmetros do metabolismo muscular da glicose em ratos jovens. Em resumo, o excesso de frutose prejudicou o ganho de peso, alterou os lipídios sanguíneos e alguns aspectos do metabolismo da glicose em ratos. Contudo, a desnutrição intrauterina parece, em curto prazo, não exercer significativas influências maléficas, pois alguns parâmetros que foram alterados aos 90 dias de recuperação nutricional com dieta rica em frutose, aos 60 dias estavam normalizados. Com isto, o ideal seria conduzir estudos com análises destes parâmetros em diferentes idades, ratos jovens, ratos adultos e ratos adultos maduros.

Palavras-chaves: desnutrição, dieta rica em frutose, recuperação nutricional, síndrome metabólica, perfil lipídico, capacidade aeróbia, metabolismo da glicose.

ABSTRACT

This study aimed to analyze the alterations that the fetal malnutrition causes in the glycemic homeostasis and in the aerobic capacity, and if this changes persist into adulthood, after the nutritional recovery in an experimental model using rats. Additionally, it aimed to verify the susceptibility of early malnourished animals metabolic effects of fructose overload. Pregnant Wistar rats were fed with a balanced (B) diet or a low-protein (L) diet. After birth and until the end of the experiment, the male offspring were distributed into four groups according to the diet received: B: B diet during the whole experiment; balanced/fructose (BF): B diet until birth and fructose-rich (F) diet afterwards; low protein/balanced (LB): L diet until birth and B diet afterwards; low protein/fructose (LF): L diet until birth and F diet afterwards. Two series of experiments were performed, in the first the animals were observed until adulthood (90 days) and in the second, until young age (60 days). The animals were evaluated for: glucose tolerance (glucose tolerance test), insulin sensitivity (insulin tolerance test) and aerobic capacity (maximal lactate steady state - MLSS). Serum concentration of glucose, triglycerides, total cholesterol, LDL-C, HDL-C, free fatty acids, total proteins and albumin, liver glycogen and liver total lipids, weight and total lipids in adipose tissue in mesenteric, retroperitoneal and subcutaneous regions, and glucose metabolism by *soleous* muscle (glucose uptake and oxidation, glycogen concentration and synthesis) were analyzed in two conditions: rest and after acute physical exercise in the intensity of MLSS. The results of the first series of experiments show that early high fructose consumption impaired body weight gain and reduced adipose tissue weight of some regions, independently of the nutritional state during fetal life. Furthermore, high fructose ingestion from birth increased markers of metabolic syndrome, such as serum triglycerides and total cholesterol concentrations. The results of the second series of experiments show that the ability to performance exercise, indicated by the load corresponding to the MLSS, was not altered by the different diets, because the lactate kinetics in young rats was not altered by intra-uterine malnutrition. However, the fructose-rich diet administered after a balanced diet during pregnancy increased the blood lactate concentrations during swimming exercise. Regarding the effects of acute physical exercise, most of the metabolic responses were similar for all groups, regardless of the early protein malnutrition and the high fructose diet. The acute physical exercise reduced the muscle glycogen concentrations in all groups, although the LF group showed higher concentrations at rest. There was no difference among the groups in the values neither at rest nor on the effect of acute physical exercise on glucose uptake and oxidation by the isolated

soleus muscle. However, glycogen synthesis at rest was higher in the LF muscle than in the others. Acute physical exercise increased the glycogen synthesis in all the groups, with the highest values in the LF group. These results indicated that the fructose-rich diet administered in rats after fetal protein malnutrition alters the muscle glucose metabolism in young rats. In summary, excess fructose impaired body weight gain, altered blood lipids and some aspects of glucose metabolism in rats. However, in short time, the intrauterine malnutrition does not have significant negative influences, because the parameters that were changed after 90 days of nutritional recovery with high-fructose diet at 60 days were standard. With this, the ideal would be to conduct studies with analysis of these parameters at different ages, young rats, adult rats and mature adults rats.

Key-words: malnutrition, fructose-rich diet, nutritional recovery, metabolic syndrome, lipid profile, aerobic capacity, glucose metabolism.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
Lista de Abreviaturas	xiii
Lista de Figuras	xiv
Lista de Tabelas	xv
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivos.....	3
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	4
2.1 Animais	4
2.2 Dietas.....	4
2.3 Grupos experimentais.....	5
2.4 Avaliações prévias à morte dos animais.....	6
2.4.1 Avaliações gerais.....	6
2.4.2 Teste de tolerância à glicose - GTT.....	6
2.4.3 Teste de tolerância à insulina - ITT.....	6
2.4.4 Capacidade aeróbia - Teste da máxima fase estável de lactato - MFEL	7
2.5 Morte dos animais e obtenção de material biológico.....	7
2.5.1 Sangue.....	7
2.5.2 Tecido Adiposo	8
2.5.3 Fígado	8
2.5.4 Músculo sóleo	8
2.6. Análise Estatística.....	9
3. RESULTADOS	12
3.1 CAPÍTULO 1.....	13
Resumo.....	13
Introdução.....	14
Desnutrição protéico-calórica.....	16
Desnutrição em modelo experimental	17
Síndrome metabólica	19
Síndrome metabólica em modelo experimental	22
Transição metabólica em animais experimentais	24
Considerações Finais	26
Referências	26

3.2 CAPÍTULO 2.....	33
Resumo.....	33
Introdução.....	34
Material e Métodos	35
Resultados	39
Discussão.....	42
Referências	46
3.3 CAPÍTULO 3.....	50
Resumo.....	50
Introdução.....	51
Material e Métodos	52
Resultados	55
Discussão.....	58
Referências	61
3.4 CAPÍTULO 4.....	66
Resumo.....	66
Introdução.....	67
Material e Métodos	68
Resultados	71
Discussão.....	74
Referências	78
3.5 CAPÍTULO 5.....	84
Resumo.....	84
Introdução.....	85
Material e Métodos	87
Resultados	91
Discussão.....	93
Referências	97
4. CONCLUSÕES GERAIS	102
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS	103
6. ANEXOS	117
6.1 ANEXO 1: Artigo publicado na <i>Revista da Educação Física/UEM</i>	118
6.2 ANEXO 2: Artigo publicado na <i>Nutrition Research</i>	120
6.3 ANEXO 3: Artigo publicado na <i>Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism</i>	139

6.4 ANEXO 4: Artigo publicado na <i>Lipids in Health and Disease</i>	148
--	-----

Lista de Abreviaturas

B: balanceada;

BF: balanceada/frutose;

GTT: teste de tolerância à glicose;

H: hipoproteica;

HB: hipoproteica/balanceada;

HDL-C: lipoproteína de alta intensidade;

HF: hipoproteica/frutose;

HFCS: high fructose corn syrup;

IMC: índice de massa corporal;

ITT: teste de tolerância à insulina;

KITT: constante de remoção da glicose sérica;

LDL-C: lipoproteína de baixa intensidade;

MFEL: máxima fase estável de lactato;

RCQ: razão cintura quadril;

TCA: ácido tricloroacético;

VLDL: lipoproteína de muito baixa intensidade

Lista de Figuras

Capítulo 2

Figura 1: A: Ingestão alimentar. B: Peso corporal (linhas) e ganho de peso corporal (barras) C: Comprimento corporal naso-anal (linhas) e ganho de comprimento corporal (barras) dos animais do desmame (21 dias) ao final do experimento (90 dias) 40

Figura 2: A – Glicose sérica (linhas) e área sob a curva de glicose sérica (barras) durante o Teste de Tolerância à Glicose. B: Glicose sérica (linhas) e taxa de remoção da glicose - KITT (barras) durante o Teste de Tolerância à Insulina ao final do experimento (90 dias) 41

Capítulo 3

Figura 1: Peso corporal (linhas) e ganho de peso corporal (barras) dos animais do desmame (21 dias) ao final do experimento (60 dias) 56

Figura 2: Concentração de lactato sanguíneo de um animal de cada grupo, a título de exemplo, durante teste para a determinação da máxima fase estável de lactato aos 60 dias..... 56

Figura 3: Concentração de lactato (mmol.L^{-1}) durante exercício de natação na carga correspondente a máxima fase estável de lactato (MFEL) aos 60 dias 57

Capítulo 4

Figura 1: Variáveis teciduais ($\text{mg}/100\text{g}$) em repouso e após exercício físico agudo ao final do experimento (60 dias)..... 74

Lista de Tabelas

Tabela 1: Composição das dietas.....	5
---	----------

Capítulo 1

Tabela 1: Valores de referência para diagnóstico da Síndrome Metabólica segundo as definições abordadas.....	20
---	-----------

Capítulo 2

Tabela 1: Composição das dietas.....	36
Tabela 2: Peso corporal, parâmetros séricos e teciduais dos recém-nascidos	39
Tabela 3: Peso do tecido adiposo (mg/100mg) de diferentes regiões ao final do experimento (90 dias).....	41
Tabela 4: Variáveis séricas e teciduais ao final do experimento (90 dias)	42
Tabela 5: Captação e oxidação de glicose ($\mu\text{mol/g.h}$), síntese ($\mu\text{mol/g.h}$) e concentração (mg/100mg) de glicogênio pelo músculo sóleo isolado dos animais durante processo de incubação ao final do experimento (90 dias).....	42

Capítulo 3

Tabela 1: Composição das dietas.....	53
Tabela 2: Peso corporal e parâmetros séricos e teciduais dos recém-nascidos.....	55
Tabela 3: Parâmetros séricos e teciduais dos animais ao final do experimento (60 dias).....	58

Capítulo 4

Tabela 1: Composição das dietas.....	69
Tabela 2: Ganho de peso corporal do desmame (21 dias) ao final do experimento e peso e concentrações de lipídios totais do tecido adiposo de diferentes regiões anatômicas ao final do experimento (60 dias)	71
Tabela 3: Parâmetros séricos em repouso (R) e após exercício físico agudo (E) ao final do experimento (60 dias).....	73

Capítulo 5

Tabela 1: Composição das dietas.....	87
Tabela 2: Área sob a curva de peso corporal (g.60 dias), área sob a curva de glicose (mg/dL.120 min) no Teste de Tolerância à Glicose e taxa de remoção da glicose - KITT (%/min) no teste de tolerância a insulina ao final do experimento (60 dias)	91
Tabela 3: Glicose sérica e glicogênio no músculo sóleo em repouso (R) e após exercício agudo (A) ao final do experimento (60 dias)	92
Tabela 4: Metabolismo da glicose no músculo sóleo isolado de ratos em repouso (R) e após exercício agudo (A) ao final do experimento (60 dias).	93

1. INTRODUÇÃO

A desnutrição, direta ou indiretamente, continua sendo o mais importante fator isolado que afeta a saúde e a produtividade de grande parte da população. A transição demográfica e o processo de desenvolvimento atual trouxeram uma mudança no perfil da desnutrição, sobretudo na segunda metade do século 20. Isto foi especialmente acentuado nos países em desenvolvimento (GOPALAN, 2000). Mais recentemente, a incidência mundial da desnutrição grave vem reduzindo. Contudo, a desnutrição considerada “leve” ou “moderada”, o nanismo infantil e as anemias gestacionais associadas ao baixo peso ao nascer ainda são bastante prevalentes nos países do terceiro mundo. Assim, em 2000 cerca de 15,5% das crianças do mundo nasceram com baixo peso, com o maior índice (27,1%) no o sul da Ásia. Nos países em desenvolvimento nascem mais de 20 milhões de crianças por ano com baixo peso (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2008).

Dados de 2004 mostram que a média nacional com relação ao baixo peso ao nascer é de 8,2% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). Já os dados de 2002-2003, de déficit ponderal para a idade, demonstram que a média brasileira, em crianças menores de 5 anos, é de 7,0% com maior prevalência (14,9%) na região Norte rural (IBGE, 2008). Após o Norte rural, as maiores prevalências são observadas no Norte urbano (9,9%) e tanto no Nordeste rural (8,7%) quanto no urbano (7,7%). Prevalências mais baixas, entre 5 e 7%, são verificadas entre as crianças que vivem nas áreas urbanas ou rurais das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (INSTITUTO BRASIELIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2008).

Embora a desnutrição continue sendo um problema das populações pobres, especialmente entre mulheres e crianças dos países em desenvolvimento, houve um incremento na ocorrência de doenças crônicas relacionadas à alimentação em adultos das camadas sociais relativamente ‘afluentes’ nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Como resultado, sobretudo, os países em desenvolvimento enfrentam um duplo desafio, tendo a desnutrição entre mulheres e crianças pobres num extremo e a má alimentação entre adultos “afluentes” no outro (UAUY et al., 1994).

Há evidências de que as manifestações da má nutrição nos dois extremos do espectro socioeconômico podem ter correlação etiológica e metabólica. Estudos indicam que a desnutrição intrauterina pode “programar” os tecidos fetais tornando-os mais vulneráveis a desordens associadas à alimentação, tais como diabetes tipo 2, síndrome metabólica e demais doenças crônico-degenerativas na idade adulta (HALES; BARKER, 1992; BERTRAM;

HANSON, 2001; GLUCKMAN; HANSON, 2004; FERNANDEZ-TWINN et al., 2005; STOCKER et al., 2005). Igualmente, o excesso de ingestão de frutose nos hábitos alimentares da sociedade contemporânea tem despertado interesse de pesquisadores da área da saúde. Existem evidências clínicas e epidemiológicas que sugerem associação progressiva entre consumo de frutose, largamente empregada como adoçante em refrigerantes e outros alimentos industrializados e o desenvolvimento da síndrome metabólica (ELLIOTT et al., 2002; BASCIANO et al., 2005; NAKAGAWA et al., 2005, DHINGRA et al., 2007; DOUARD; FERRARIS, 2008; RIZKALLA, 2010; HUANG et al., 2011). Dentre as fontes de frutose mais utilizadas pela indústria estão a sacarose, obtida da cana de açúcar no Brasil, e o HCFS (high corn fructose syrup) obtido do milho, principalmente nos EUA. O HCFS contém entre 55-90% de frutose e seu consumo aumentou 1000% entre 1970 e 1990 (BASCIANO et al., 2005). Assim, torna-se interessante verificar se organismos submetidos à desnutrição precoce seriam mais susceptíveis aos efeitos metabólicos deletérios da sobrecarga de frutose na alimentação.

Por outro lado, alguns trabalhos mostraram efeitos favoráveis do exercício crônico sobre o crescimento linear de crianças (TORUN; VITERI, 1994) e de ratos (GALDINO et al., 2000) desnutridos. Isso sugere que o exercício físico possa exercer efeitos benéficos no processo de recuperação nutricional. Entretanto, faltam informações quanto à aptidão física de organismos desnutridos para a realização de exercícios físicos. Esse aspecto pode ser facilmente verificado pela avaliação da capacidade aeróbia, ferramenta comumente empregada na clínica e na avaliação de esportistas (HECK et al., 1985).

A avaliação da capacidade aeróbia é realizada por meio de procedimentos que procuram identificar uma zona de transição durante o exercício físico a partir da qual há mudança de predominância do metabolismo aeróbio para o anaeróbio no fornecimento de adenosina trifosfato para a manutenção da atividade. Parte desses procedimentos utiliza a resposta das concentrações sanguíneas de lactato durante o exercício físico, devido à fidedignidade desse parâmetro bioquímico na mensuração da transição de predominância metabólica, permitindo além da caracterização do esforço, um acompanhamento da eficiência do treinamento crônico (BILLAT et al., 2003). Apesar da importância do tema, são raros os estudos que se ocuparam da avaliação da capacidade aeróbia na desnutrição (PAPOTI et al., 2003; VOLTARELLI et al., 2007) ou sobrecarga de frutose (MOURA et al., 2008).

Apesar das evidências epidemiológicas da associação entre desnutrição precoce e doenças metabólicas/crônico-degenerativas na vida adulta, estudos longitudinais envolvendo variáveis endócrinas e bioquímicas em seres humanos apresentam limitações devido aos

fatores interferentes e ao caráter invasivo de algumas análises. Modelos animais, utilizando condições controladas, podem auxiliar na investigação dessa questão. Para isto, manipulações dietéticas para desencadear carência proteica experimental, incluindo emprego de dietas isocalóricas de baixo teor proteico são utilizadas visando explorar os mecanismos pelos quais o metabolismo das proteínas afeta os órgãos em desenvolvimento (BERTRAM; HANSON, 2001).

A maioria dos trabalhos com modelos animais analisa a influência da desnutrição precoce somente sobre variáveis de repouso, geralmente após o nascimento ou desmame, e em poucos casos é feito o acompanhamento até a idade adulta. Igualmente, a recuperação nutricional é frequentemente realizada com dietas balanceadas e na ausência de exercícios físicos (OKITOLONDA et al., 1987; LATORRACA et al., 1999; SILVA et al., 1999; ALMEIDA; MELLO, 2004). Por outro lado, sinais da síndrome metabólica são desencadeados em roedores adultos pela administração de dietas ricas em frutose, tais como, hipertensão, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e resistência à insulina (HWANG et al., 1987; MOURA et al., 2008; RIZKALLA, 2010; GHEZZI et al., 2011). Assim, as interações entre recuperação nutricional, dieta rica em frutose, capacidade aeróbia e exercício físico compõem um interessante campo de investigação.

1.1 Objetivos

Objetivo Geral

Uma vez que ainda são escassos estudos associando desnutrição, recuperação nutricional e exercício físico, o presente estudo teve por objetivo analisar as alterações que a desnutrição proteica fetal provoca na homeostase glicêmica, na capacidade aeróbia e na resposta aguda ao exercício físico e quais alterações persistem na idade adulta, mesmo após a realimentação, em modelo experimental utilizando ratos. Adicionalmente, visa verificar a susceptibilidade de animais precocemente desnutridos aos efeitos metabólicos da sobrecarga de frutose.

Objetivos específicos

Em ratos submetidos à restrição proteica intrauterina e à realimentação com dieta balanceada ou rica em frutose do nascimento à vida adulta, avaliar:

1. Tolerância à glicose e sensibilidade à insulina;
2. Capacidade aeróbia;

3. Concentrações séricas de glicose, ácidos graxos livres, triglicerídeos, colesterol total, LDL-C, HDL-C, proteínas totais e albumina;
4. Concentrações de glicogênio e lipídios totais no fígado;
5. Peso e concentração de lipídios totais do tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitoneal e subcutânea posterior;
6. Captação e oxidação de glicose, síntese e concentração de glicogênio no músculo sóleo isolado.
7. Respostas ao exercício físico agudo de natação das variáveis citadas nos itens 3 a 6.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram utilizadas ratas adultas (90 dias), da linhagem Wistar, prenhez, mantidas em sala com temperatura ambiente de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro, com as luzes acesas das 06:00 às 18:00 h e com livre acesso à água e ao alimento durante todo o experimento. Todos os procedimentos adotados com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal/CEEA da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)*, sob o protocolo nº 1487-1.

2.2 Dietas

Foram empregadas dietas isocalóricas balanceada (17% proteína), hipoproteica (6% proteína) e rica em frutose (60% frutose), conforme composição descrita na Tabela 1.

* O presente projeto foi submetido à Comissão de Ética na Experimentação Animal da UNICAMP devido à ausência da referida comissão na unidade da UNESP (Instituto de Biociências – Rio Claro), onde o trabalho foi desenvolvido. A Comissão de Ética para o uso de Animais em Pesquisa do referido Instituto foi instalada posteriormente à implementação do projeto.

Tabela 1: Composição das dietas.

Componentes (g/kg)	Balanceada (17%)	Hipoproteica (6%)	Frutose (60%)
Caseína²	202	71,5	202
Amido	397	480	-
Dextrina	130,5	159	-
Sacarose	100	121	27,6
Frutose	-	-	600
L-cistina	3	1	3
Óleo de soja	70	70	70
Mistura de sais (AIN-93GMX)¹	35	35	35
Mistura de vitaminas (AIN-93GVX)¹	10	10	10
Fibra	50	50	50
Cloridrato de colina	2,5	2,5	2,5

¹De acordo com American Institute of Nutrition (AIN-93G) – (REEVES et al., 1993).

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

2.3 Grupos experimentais

De acordo com a dieta recebida durante a prenhez, as ratas foram separadas em dois grupos:

- Balanceada (B): dieta contendo 17% de proteína.
- Hipoproteica (H): dieta contendo 6% de proteína.

Imediatamente após o nascimento, 8 neonatos B e 8 neonatos H, foram pesados e mortos para a determinação das concentrações séricas de glicose, proteínas totais, e albumina (NOGUEIRA et al., 1990) e concentrações hepáticas de glicogênio (DUBOIS et al., 1956) e lipídios totais (NOGUEIRA et al., 1990), visando constatar a instalação da desnutrição no grupo H. As crias do sexo masculino remanescentes foram distribuídas em quatro grupos (n=20 por grupo) de acordo com o regime alimentar adotado até a idade adulta (90 dias). As ninhadas foram ajustadas para que cada mãe amamentasse somente 8 filhotes. No período de amamentação (nascimento aos 21 dias), foram as mães que receberam as dietas correspondentes:

- Balanceada (B): dieta contendo 17% de proteína durante todo o período experimental;
- Balanceada/frutose (BF): dieta contendo 17% de proteína até o nascimento e dieta rica em frutose do nascimento até o final do experimento;

- Hipoproteica/Balanceada (HB): dieta contendo 6% de proteína até o nascimento e dieta com 17% de proteína do nascimento o final do experimento;
- Hipoproteica/Fructose (HF): dieta contendo 6% de proteína até o nascimento e dieta rica em frutose do nascimento até o final do experimento.

O projeto foi desenvolvido em duas séries de experimentos. Na primeira, os animais foram mantidos até a idade adulta (90 dias) e na segunda até a idade jovem (60 dias). As avaliações realizadas em cada série de experimentos estão apresentadas no desenho experimental nas figuras 1 e 2.

2.4 Avaliações prévias à morte dos animais

2.4.1 Avaliações gerais

Todos os animais tiveram peso corporal, comprimento corporal (naso-anal) e ingestão alimentar registrados uma vez por semana, a partir do desmame (21 dias).

2.4.2 Teste de tolerância à glicose - GTT

O GTT foi realizado com os animais ao final do período experimental, após 12 horas de jejum. Uma primeira coleta de sangue foi feita por meio 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 por meio de sonda gástrica de polietileno. Amostras de sangue foram coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25 µL, visando à determinação das concentrações de glicose e de insulina.

As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase-peroxidase, usando kits comerciais (LABORLAB[®]) e aquelas de insulina por radiomunoensaio, também empregando kits comerciais (SIGMA[®]). As áreas sob as curva de glicose durante o teste foram calculadas (MATHEWS et al., 1990), utilizando-se o software ORIGIN 3.5. O índice HOMA (Glicose X insulina/22,5), que avalia a sensibilidade à insulina, foi calculado utilizando os valores de glicose e insulina em jejum.

2.4.3 Teste de tolerância à insulina - ITT

O ITT foi realizado com os animais no estado alimentado, 48 horas após o GTT. Uma primeira coleta de sangue foi feita por meio de pequeno corte na extremidade da cauda do animal (tempo 0). Em seguida, uma solução de insulina (LILLY[®]) na dose de 30 UI/100g de peso corporal foi administrada via subcutânea. Amostras de sangue foram coletadas após 30,

60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25 µL, visando à determinação das concentrações de glicose.

As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase-peroxidase, com kit comercial. A constante de remoção da glicose sérica (KITT) durante o teste foi calculada (LUNDBAECK, 1962) utilizando-se o software ORIGIN 3.5.

2.4.4 Capacidade aeróbia - Teste da máxima fase estável de lactato - MFEL

Quarenta e oito horas após o ITT, todos os ratos foram submetidos a testes de esforço para a identificação do limiar de transição de predominância dos metabolismos aeróbio e anaeróbio no exercício de natação, pelo protocolo da MFEL. Com esse fim, os ratos foram submetidos aos testes de natação de característica retangular após 10 dias de adaptação ao meio líquido, com o objetivo de reduzir o estresse frente ao exercício físico realizado na água.

Em dias alternados, com intervalo mínimo de 48 horas, foram aplicadas sobrecargas, por meio de pequenas bolsas com chumbo atadas ao tórax, variando entre 6,5 a 8,5% do peso corporal. A duração dos testes foi de 25 minutos, com coletas de 25 µl de sangue da extremidade da cauda a cada 5 minutos, para dosagem de lactato pelo método enzimático (ENGEL; JONES, 1978).

O critério para determinação da MFEL foi a maior carga de trabalho em que a diferença das concentrações sanguíneas de lactato, entre o 25º e o 10º minutos de exercício foi igual ou inferior a 1 mmol.l⁻¹ (GOBATTO et al., 2001).

2.5 Morte dos animais e obtenção de material biológico

Ao final do experimento, metade dos animais de cada grupo foi morta em repouso por decapitação, 48 horas após a última avaliação “in vivo”. Os demais foram submetidos, imediatamente antes da morte, a sessão única de exercício de natação, por 20 minutos, suportando sobrecarga equivalente à MFEL.

2.5.1 Sangue

O sangue foi coletado, no momento da morte dos animais, para a separação do soro visando dosagens de glicose, triglicerídeos, colesterol total, LDL-C, HDL-C, ácidos graxos livres, proteínas totais e albumina por métodos colorimétricos utilizando kits comerciais (LABORLAB®).

2.5.2 Tecido Adiposo

O tecido adiposo, das regiões mesentérica, retroperitoneal e subcutânea posterior, foi removido para pesagem e determinação das concentrações de lipídios totais. A excisão dos diferentes depósitos de gordura foi realizada de acordo com a descrição de Cinti (2005). As concentrações de lipídios nesses depósitos foram determinadas pelo procedimento descrito por Nogueira et al. (1990).

2.5.3 Fígado

Amostras do fígado foram retiradas para a determinação das concentrações de glicogênio (DUBOIS et al., 1956) e de lipídios totais (NOGUEIRA et al., 1990).

2.5.4 Músculo sóleo

O músculo sóleo da pata esquerda foi excisado com o mínimo de lesão para avaliação do metabolismo da glicose. Fatias longitudinais do músculo (25-35mg) foram colocadas em frascos de cintilação com capacidade de 20 ml siliconizados, contendo 1,5 ml de tampão Krebs-Ringer bicarbonato. Os frascos foram fechados com tampas de borracha, selados com anel plástico e submetidos a 30 minutos de pré-incubação sob agitação em banho tipo Dubnoff a 60 rpm e contínuo gaseamento com O₂/CO₂ (95%/5%). Após esse período, as fatias do músculo foram transferidas para novos frascos de cintilação (frasco externo) em cujo interior foram instalados pequenos tubos em forma de concha (frasco interno) com uma haste reta de aproximadamente 3 cm de comprimento que se insere nas tampas de borracha do frasco externo.

Cada frasco externo continha 1,5 ml de tampão Krebs-ringer e cada frasco interno, 700µl de hiamina10x. Após 60 minutos de incubação nesse sistema, com gaseamento durante os 15 primeiros minutos, foram adicionados 100µl de ácido tricloroacético (TCA) 25% ao frasco externo, visando à liberação de CO₂. A preparação foi mantida por mais 3 horas no sistema, porém com a fatia do músculo fora do alcance da solução com TCA. Decorrido esse tempo, 200µl do líquido contido no frasco interno foram retirados para a determinação do CO₂ produzido. A fatia de músculo imediatamente digerida em 0,5 ml de KOH para extração (SJÖRGREEN et al., 1938) e dosagem (DUBOIS et al., 1956) do glicogênio muscular. A temperatura na pré-incubação e incubação foi de 37° C.

O tampão Krebs-Ringer, base dos meios de pré-incubação e incubação, foi constituído de: NaCl 0,6%, NaHCO₃ 0,19%, HEPES 6,64mM, KCl 0,032%, CaCl₂ 1,14nM, KH₂PO₄

0,015%, MgSO_4 0,03%. A solução assim preparada foi gaseada durante 20 a 30 minutos em O_2/CO_2 (95%/5%) e o pH ajustado a 7,4. A esta solução foram adicionados 20 volumes de albumina sérica bovina livre de gordura. Ao meio de pré-incubação foi adicionado piruvato de sódio para concentração de 5mM. Ao meio de incubação, foi adicionada glicose (5,5mM) contendo $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ glicose (0,25 $\mu\text{Ci/ml}$), $[\text{H}^3]$ 2-deoxiglicose (2DG=0,5 $\mu\text{Ci/ml}$) e insulina (100 $\mu\text{UI/ml}$). Feitas às adições, o pH foi ajustado a 7,4 e os meios transferidos para os frascos que foram selados e equilibrados no banho a 37° C sob gaseamento em O_2/CO_2 (95%/5%) durante pelo menos 15 minutos. Fatias do mesmo músculo foram utilizadas, com peso semelhante às aquelas incubadas, para determinação da concentração controle de glicogênio.

Foram avaliadas captação de glicose, utilizando-se a 2 DG como marcador, e incorporação do ^{14}C a glicogênio (síntese), medindo-se a radioatividade do ^3H da 2 DG e do ^{14}C da glicose, respectivamente, pelo contador de partícula beta. Para a estimativa da glicose oxidada (produção de CO_2), foi determinada a radioatividade do ^{14}C presente no líquido (hiamina) coletado do frasco interno do sistema de incubação, com o auxílio de um contador de partículas beta.

2.6. Análise Estatística

Para as comparações entre recém-nascidos utilizou-se teste t de Student's e para as comparações dos animais ao final do experimento utilizou-se Anova Two-Way, seguida de Post-Hoc de Newman-Keuls quando necessário. Para as comparações intra-grupo quanto ao efeito agudo do exercício físico utilizou-se teste t de Student's. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

Figura1: Desenho experimental até os 90 dias (idade adulta)

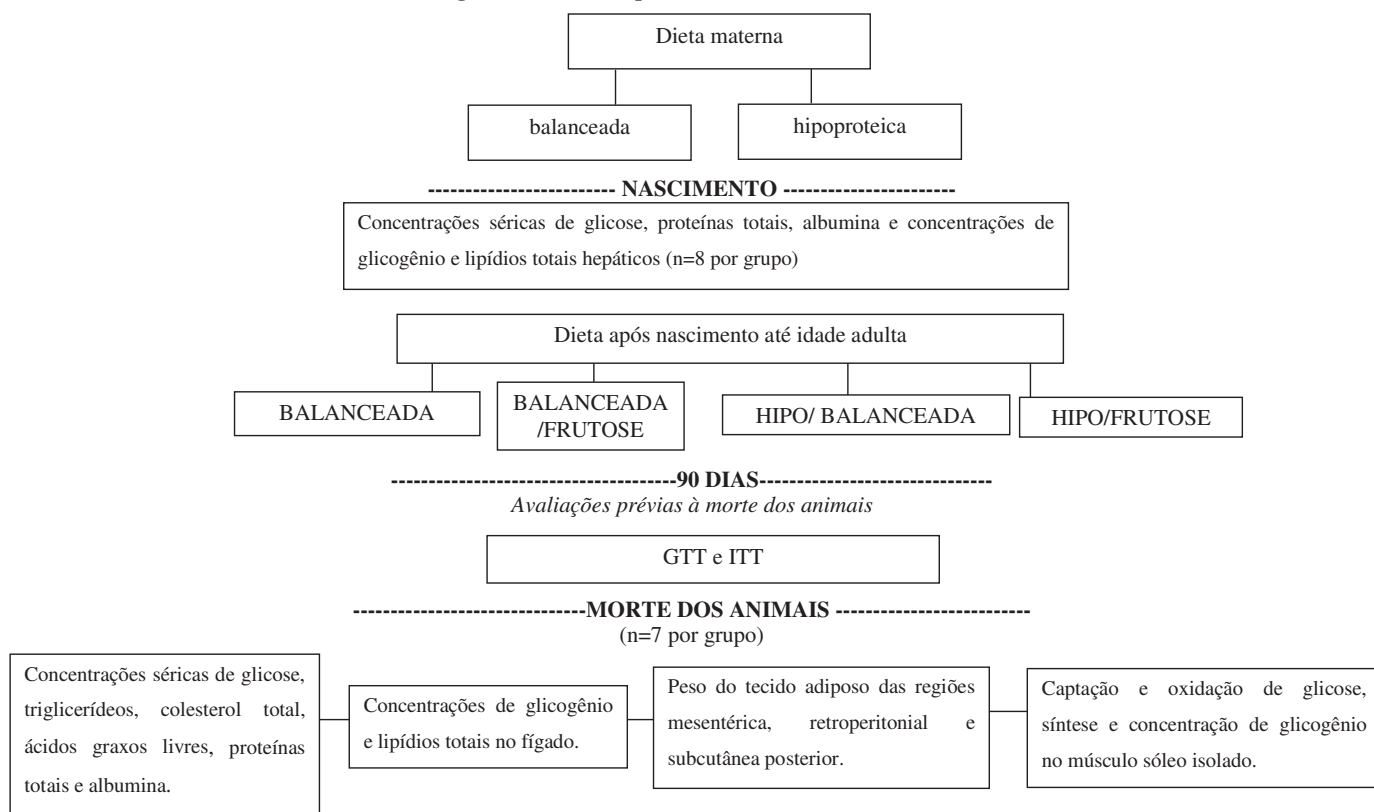
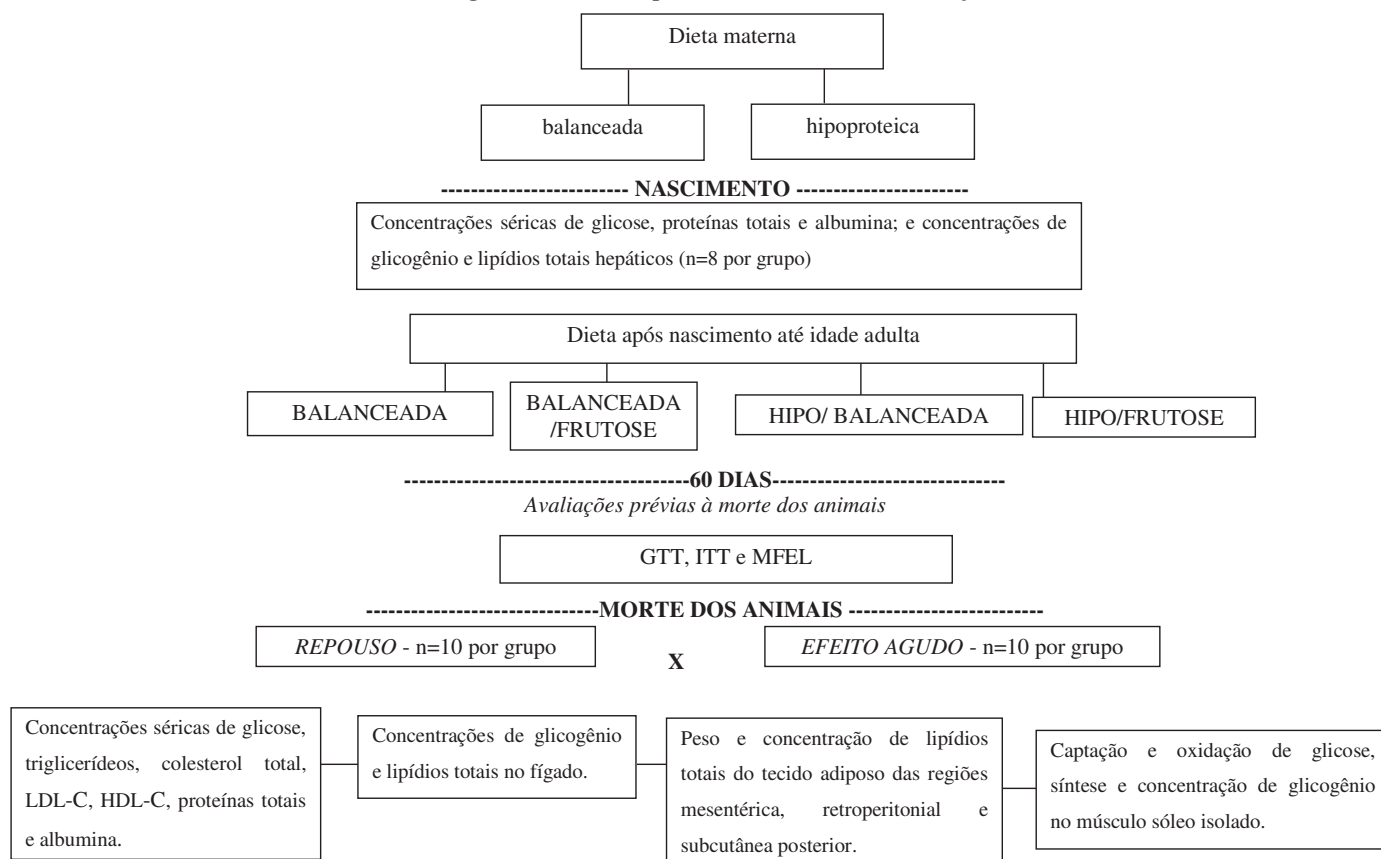


Figura 2: Desenho experimental até os 60 dias (idade jovem)



3. RESULTADOS

Os resultados obtidos encontram-se apresentados na forma de cinco Artigos Científicos (um de Revisão da Literatura). Estes artigos compõem os cinco capítulos seguintes desta tese.

Capítulo 1: Desnutrição, síndrome metabólica e exercício físico em modelos experimentais utilizando ratos. **Revista da Educação Física/UEM**, vol. 21, n.4, p. 709-720, 2010.

Capítulo 2: Crescimento somático e perfil lipídico de ratos adultos recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose. **Nutrition Research**, vol. 30, n.2, p. 156-162, 2010.

Capítulo 3: Capacidade aeróbia de ratos recuperados de desnutrição fetal com dieta rica em frutose. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, vol. 35, n.4, p. 490-497, 2010.

Capítulo 4: Respostas metabólicas ao exercício físico agudo em ratos jovens recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose. **Lipids in Health and Disease**, vol. 10, p. 164, 2011.

Capítulo 5: Metabolismo muscular da glicose em ratos jovens recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose: efeitos do exercício físico (submetido).

3.1 CAPÍTULO 1

=====

Desnutrição, síndrome metabólica e exercício físico em modelos experimentais utilizando ratos. **Revista da Educação Física/UEM**, v.21, n.4, p. 709-720, 2010. (publicado/ANEXO 1).

Resumo

A desnutrição intrauterina pode tornar os tecidos fetais mais vulneráveis a doenças crônicas. Igualmente, o excesso de frutose está associado ao desenvolvimento da síndrome metabólica. Modelos animais podem auxiliar na investigação destas questões, já que o estudo em humanos apresenta limitações. Com isto, esta revisão abordou os temas desnutrição, síndrome metabólica, exercício físico e capacidade aeróbia em modelos animais. A partir da presente revisão pode-se concluir que, a maioria dos trabalhos verifica a influência da desnutrição apenas em parâmetros de repouso, após o nascimento ou desmame, sendo escasso o acompanhamento até a idade adulta. Igualmente, a recuperação nutricional é realizada com dietas balanceadas. Devido ao crescente aumento da frutose na alimentação humana, dietas ricas em frutose têm sido utilizadas para mimetizar a síndrome metabólica em modelos animais. Com isto, interações entre desnutrição, recuperação nutricional, dieta rica em frutose, exercício físico e capacidade aeróbia constituem um interessante campo de investigação.

Palavras chaves: desnutrição, síndrome metabólica, fatores de risco, aptidão física.

Introdução

Atualmente, a desnutrição, direta ou indiretamente, continua sendo o fator isolado mais importante que compromete a saúde e a produtividade de enorme parte da população. A transição demográfica e o processo de desenvolvimento atual causaram uma transformação no perfil da desnutrição, especialmente na segunda metade do século 20. Isto foi notadamente marcante nos países em desenvolvimento (GOPALAN, 2000). Mais recentemente, houve uma queda na incidência mundial da desnutrição grave. Entretanto, a desnutrição considerada “leve” ou “moderada”, o nanismo infantil e as anemias gestacionais associadas ao baixo peso ao nascer ainda são bastante prevalentes nos países do terceiro mundo. Assim, em 2000 aproximadamente 15,5% das crianças do mundo nasceram com baixo peso, com o maior índice (27,1%) no sul da Ásia. Nos países em desenvolvimento, por ano, mais de 20 milhões de crianças nascem com baixo peso (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2008).

Dados de 2004 apontam que a média nacional com relação ao baixo peso ao nascer é de 8,2% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). Igualmente, os dados de 2002-2003 sobre déficit ponderal para a idade, de crianças menores de 5 anos, comprovam que a média brasileira para este parâmetro é de 7,0%, com maior prevalência (14,9%) na região Norte rural (IBGE, 2008). Em seguida, as maiores prevalências são verificadas no Norte urbano (9,9%), Nordeste rural (8,7%) e Nordeste urbano (7,7%). As menores prevalências (entre 5 e 7%) são constatadas entre as crianças que residem nas áreas urbanas ou rurais das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (IBGE, 2008).

Ainda que a desnutrição continue sendo um problema das populações pobres, sobretudo, entre mulheres e crianças dos países em desenvolvimento, houve um acréscimo no acontecimento de doenças crônicas relacionadas à alimentação em adultos das camadas sociais ‘afluentes’ nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Como consequência, principalmente, os países em desenvolvimento enfrentam um duplo desafio, tendo a desnutrição, sobretudo entre mulheres e crianças pobres num extremo e a síndrome metabólica entre adultos no outro (UAUY et al., 1994).

Há evidências de que as manifestações da má nutrição nos dois extremos do espectro socioeconômico podem ter correlação etiológica e metabólica. Estudos sugerem que a desnutrição intrauterina pode “programar” os tecidos fetais tornando-os mais propícios a desordens associadas à alimentação, tais como diabetes tipo 2, síndrome metabólica e demais doenças crônico-degenerativas na idade adulta (BERTRAM; HANSON, 2001; GLUCKMAN; HANSON, 2004). Igualmente, o excesso de ingestão de frutose nos hábitos

alimentares da sociedade contemporânea ocidental tem despertado interesse por parte de pesquisadores da área da saúde. Existem evidências clínicas e epidemiológicas que sugerem crescente associação entre consumo de frutose, largamente empregada como adoçante em refrigerantes e diversos alimentos e o desenvolvimento da síndrome metabólica (ELLIOTT et al., 2002; DHINGRA et al., 2007).

Devido ao caráter invasivo de algumas análises, estudos longitudinais em seres humanos apresentam restrições. Nesse sentido, modelos animais, empregando condições controladas, podem auxiliar na investigação sobre aspectos metabólicos envolvendo a desnutrição e a síndrome metabólica. Muitas pesquisas utilizam manipulações dietéticas em roedores para desencadear os dois fenômenos. São exemplos destas manipulações: administração de dietas isocalóricas de baixo teor proteico, visando compreender os mecanismos pelos quais a restrição proteica compromete os órgãos em desenvolvimento (BERTRAM; HANSON, 2001) e administração de dieta rica em frutose, visando induzir hipertensão, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e resistência à insulina, que fazem parte do quadro da síndrome metabólica (HWANG et al., 1987).

Uma vez que, a desnutrição pode desencadear desordens metabólicas na idade adulta e que a sobrecarga de frutose na alimentação tende a ocasionar sinais da síndrome metabólica, a interação dos temas suscita a hipótese de que indivíduos submetidos à desnutrição precoce seriam mais susceptíveis aos efeitos metabólicos deletérios da sobrecarga de frutose.

Baseando-se nos efeitos benéficos do exercício físico para a saúde, alguns trabalhos obtiveram efeitos favoráveis do papel do exercício crônico sobre o crescimento corporal de crianças (TORUN; VITERI, 1994) e de ratos (GALDINO et al., 2000) desnutridos. Isso sugere que o exercício físico, complementando a realimentação, exerce efeito benéfico, no processo de recuperação nutricional. Entretanto, faltam informações quanto à aptidão física de organismos desnutridos para a realização de exercícios físicos. Esse aspecto pode ser facilmente verificado pela avaliação da capacidade aeróbia, ferramenta comumente empregada na clínica e na avaliação de esportistas (HECK et al., 1985). Apesar da importância do tema, são raros os estudos que se ocuparam da avaliação da capacidade aeróbia na desnutrição (PAPOTI et al., 2003; VOLTARELLI et al., 2007) ou em casos de sobrecarga de frutose (MOURA et al., 2008). Isso seria de fundamental importância, pois a partir da determinação da capacidade aeróbia, ter-se-ia uma ferramenta adequada para a prescrição de exercícios nestas enfermidades. Dessa forma, é de interesse estudar uma forma adequada de prescrição de exercício físico por meio dos limiares de transição da

predominância metabólica, para posteriormente estudar as possíveis alterações advindas do treinamento físico.

Com isto, este trabalho teve por objetivo revisar os temas desnutrição, síndrome metabólica, exercício físico e capacidade aeróbia em modelos animais. A busca dos artigos foi realizada pelas bases de dados PUBMED e LILACS utilizando os seguintes termos: *malnutrition, metabolic syndrome, risk factors, physical fitness*. Foram selecionados artigos entre os anos de 1979 e 2009. Em algumas situações, utilizou-se a lista de referências bibliográficas dos artigos escolhidos. A seleção inicial foi realizada a partir dos títulos e resumos encontrados, sendo selecionados os artigos que atendiam ao objetivo do estudo, associando os temas: desnutrição, síndrome metabólica, exercício físico e capacidade aeróbia.

Desnutrição proteico-calórica

Apesar da prevalência mundial de desnutrição ter diminuído nas últimas décadas, ainda permanece elevada. Mais de um bilhão de pessoas no terceiro mundo são afetadas, tornando essa carência, um grave problema médico-social nesses lugares (GALDINO et al., 2001). Entre as diversas deficiências que a desnutrição pode apresentar, as carências proteicas e energéticas geralmente ocorrem juntas, ainda que possa haver a predominância de uma sobre outra. Quando se manifestam de forma severa podem desencadear síndromes clínicas denominadas “kwashiorkor” ou “marasmo”.

A classificação quantitativa mais empregada para avaliar o estado nutricional de crianças de 1 a 4 anos é a proposta por Gomez, que prevê três graus de desnutrição, conforme o déficit ponderal em relação a crianças eutróficas: primeiro grau ou leve - de 10 a 24%, segundo grau ou moderada - 25 a 40% e terceiro grau ou grave - acima de 40%. O marasmo e o kwashiorkor correspondem à desnutrição extrema de terceiro grau (GALDINO et al., 2001). O kwashiorkor resulta da ingestão insuficiente de proteínas, mesmo quando carboidratos e gorduras estão disponíveis em quantidades apropriadas. O marasmo decorre principalmente da deficiência energética (GALDINO et al., 2001).

Na criança (GLUCKMAN; HANSON, 2004) e em modelos animais (LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; LATORRACA et al., 1999; GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO, 2004; OLIVEIRA et al., 2008) a desnutrição repercute imediatamente na dinâmica do crescimento e do desenvolvimento. Com isso, a partir do momento em que as fontes proteicas alimentares deixam de suprir as necessidades estruturais e funcionais, desencadeia-se no organismo uma sequência de mecanismos de adaptação, com o intuito de

conservar a homeostase bioquímica intra e extracelular. A permanência das condições de carência acaba desordenando tais mecanismos (TORUN; CHEW, 1994).

A desnutrição proteico-calórica, em crianças, causa hipoglicemia em jejum, tanto no kwashiorkor quanto no marasmo; intolerância à glicose, sobretudo no kwashiorkor; redução do teor de glicogênio hepático e muscular, assim como, alterações nos processos glicogenolítico, glicolítico, e gliconeogênico hepáticos. O kwashiorkor humano é caracterizado pela esteatose hepática, devido ao deficiente transporte de gorduras para fora do fígado, assim como, pela elevação dos ácidos graxos livres e pela redução da proteína total plasmática, especialmente à custa da albumina. Estas alterações são menos evidentes no marasmo (GALDINO et al., 2001).

Alguns estudos indicam que o exercício físico desempenha efeito benéfico no processo de recuperação nutricional. Uma vez que, crianças ativas, entre dois e quatro anos de idade, que participavam de jogos, envolvendo gasto energético moderado, recuperadas de desnutrição em hospitais apresentaram maior massa magra e crescimento linear do que quando realizavam apenas a rotina dos hospitais, composta de jogos sedentários (TORUN; VITERI, 1994). Igualmente, após 10 semanas de treinamento de natação (cinco dias na semana, com sobrecarga de 5% do peso corporal), ratos desnutridos obtiveram melhorias no peso corporal, glicose, insulina, proteínas totais e albumina séricas, assim como, na captação de glicose e produção de glicogênio pelo músculo sóleo, quando comparados com os correspondentes sedentários (GALDINO et al., 2000).

Desnutrição em modelo experimental

A literatura apresenta inúmeros estudos que investigaram a desnutrição no período pós-desmame (DIXIT; KUANG, 1985; OKITOLONDA et al., 1987; PAPOTI et al., 2003; VOLTARELLI et al., 2007). Alguns trabalhos verificaram a influência da desnutrição intrauterina (DAHRI et al., 1995; SHEPARD et al., 1997; LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; LATORRACA et al., 1999; GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO, 2004), no entanto, apenas poucos destes acompanharam os efeitos desta intervenção até a idade adulta (LATORRACA et al., 1998b; SILVA et al., 1999; GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO, 2004).

A influência da desnutrição materna na homeostase glicêmica da prole, ao longo da vida, tem sido explorada experimentalmente em ratas prenhez e suas crias alimentadas no decorrer do ciclo reprodutivo (gestação, lactação e desmame) com dietas

hipoproteicas/normocalóricas. Filhotes de mães nutridas com dietas hipoproteicas, ao nascer apresentam baixo peso (MELLO et al., 1987; LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; GALDINO et al., 2000, ALMEIDA; MELLO, 2004; OLIVEIRA et al., 2008), hipoglicemia (MELLO et al., 1987; LATORRACA et al., 1998a; SILVA et al., 1999; ALMEIDA; MELLO, 2004), hipoinsulinemia (MELLO et al., 1987; SILVA et al., 1999; GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO, 2004), hipoproteinemia SILVA et al., 1999; GALDINO et al., 2000, ALMEIDA; MELLO, 2004), hipoalbuminemia (GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO, 2004) e elevados teores séricos de ácidos graxos livres (LATORRACA et al., 1998a, LATORRACA et al., 1998b). A resposta insulínica de fetos deficientes em proteína é reduzida quando ilhotas pancreáticas isoladas são estimuladas “*in vitro*” com secretagogos como glicose, leucina e arginina (DAHRI et al., 1991). Do mesmo modo, ocorre redução na secreção da insulina induzida por glicose “*in vivo*” (LATORRACA et al., 1999), hiperinsulinemia e hipoalbuminemia (OLIVEIRA et al., 2008) em filhotes recém-desmamados, cujas mães suportaram restrição proteica dietética durante a gestação e a lactação. A secreção de insulina, também é significativamente menor, quando suas ilhotas são estimuladas “*in vitro*” com glicose, leucina e arginina, comparada a ilhotas controles (LATORRACA et al., 1999).

A desnutrição intrauterina e pós-natal modifica o crescimento e a função dos principais sítios de ação da insulina - fígado, tecido adiposo e muscular. A atividade das enzimas hepáticas envolvidas no metabolismo da glicose, igualmente, é alterada pela restrição proteica. Essa mudança consiste na redução da atividade da glicoquinase e no aumento da atividade da fosfoenolpiruvato-carboxiquinase, ocasionando aumento na produção e comprometimento na utilização da glicose (GLUCKMAN; HANSON, 2004).

Outras alterações habituais devido à desnutrição intrauterina são: redução no tamanho e número dos adipócitos e aumento no número de receptores de insulina (SHEPHERD et al., 1997). O músculo estriado esquelético apresenta hipersensibilidade à insulina associada a aumento nas etapas iniciais da sinalização intracelular do hormônio, como fosforilação do complexo IRS e Akt (LATORRACA et al., 1998a) e da translocação de GLUT-4 (GAVETE et al., 2005).

A recuperação nutricional por dieta balanceada do nascimento ou desmame até a vida adulta não é hábil em reverter integralmente as alterações prévias (OKITOLONDA et al., 1987; DAHRI et al., 1995; SHEPHERD et al., 1997; LATORRACA et al., 1998b; SILVA et al., 1999). Alguns trabalhos observaram normalização nos parâmetros: insulina (DAHRI et

al., 1995; LATORRACA et al., 1998b), albumina sérica, ácidos graxos livres e glicogênio hepático (LATORRACA et al., 1998b).

A partir do abordado, observa-se que a maioria dos trabalhos analisa os efeitos da desnutrição em parâmetros em repouso. Igualmente, a recuperação nutricional é comumente realizada com dietas balanceadas, o que torna instigante verificar os efeitos de outras composições dietéticas na recuperação nutricional após desnutrição.

Síndrome metabólica

Reaven (1988) sugeriu uma intensa associação entre indivíduos com os mesmos fatores de risco para doenças cardiovasculares e nomeou a anormalidade de síndrome "X". Seu denominador comum era representado pela resistência à insulina. Na ocasião, propôs cinco características, todas com elevado risco de doença cardiovascular: intolerância à glicose, hiperinsulinemia, aumento de triglicerídeos, diminuição do HDL-C e hipertensão arterial. Entre as causas dessa doença destacam-se distúrbios metabólicos, desnutrição na infância, dificuldade de acesso à alimentação adequada, vida sedentária, entre outros. Dados epidemiológicos indicam que a síndrome metabólica está relacionada ao acréscimo da mortalidade por problemas cardiovasculares em 30 a 400%, dependendo da população estudada, da definição de síndrome adotada e do tipo de estudo (KAHN et al., 2005).

Estima-se que a prevalência da síndrome metabólica, nos Estados Unidos, seja de 25 a 29% da população adulta e de 50-60% na população acima de 60 anos. Em 2000, quase 47 milhões de residentes neste país apresentavam síndrome metabólica (FORD et al., 2002).

Existem contestações na identificação da síndrome metabólica, pois não há um único critério internacional com sua descrição, originando contradições nos estudos associados ao tema. A Organização Mundial da Saúde (WHO, 1999) propôs como definição de síndrome metabólica, o indivíduo que tenha diabetes mellitus ou intolerância à glicose ou resistência à insulina e mais dois dos critérios: razão cintura/quadril, concentrações de triglicerídeos, pressão arterial e excreção urinária de albumina elevadas ou baixa concentração de HDL-C.

Outra definição existente é a do "National Cholesterol Evaluation Program for Adult Treatment Panel III" (NCEP-ATP III, 2001). Para a NCEP-ATP III, a síndrome metabólica é caracterizada pela presença de três ou mais dos seguintes fatores: circunferência da cintura, concentrações sanguíneas de triglicerídeos e glicose, pressão arterial elevados e HDL-C reduzido. Uma terceira definição, proferida pela *American Association of Clinical*

Endocrinologists (AACE), considera alguns aspectos da definição do NCEP-ATP III e outros da Organização Mundial da Saúde.

A definição mais atual é da Federação Internacional de Diabetes (2005), que considera como critérios: obesidade central e mais dois dos seguintes fatores de risco - diabetes ou pré-diabetes, baixo nível de HDL-C, triglicerídeos elevados e hipertensão. Na Tabela 1 acham-se os valores de referência para o diagnóstico da síndrome metabólica segundo as definições anteriormente abordadas.

Tabela 1: Valores de referência para diagnóstico da Síndrome Metabólica segundo as definições abordadas.

	OMS (1999) ¹	NCEP-ATP (2001) ²	AACE ³	FID (2005) ⁴
IMC (kg/m²)	>30	-	≥25	≥30
Obesidade				
RCQ	Homens>0,90 Mulheres>0,85	-	-	-
Circunferência abdominal (cm)	-	Homens≥102 Mulheres≥88	Homens≥100 Mulheres≥87,5	Homens≥90 Mulheres≥80
Triglicerídeos (mg/dl)	≥150	≥150	≥150	≥150
HDL Colesterol (mg/dl)	Homens<35 Mulheres<39	Homens<40 Mulheres<50	Homens<40 Mulheres<50	Homens<40 Mulheres<50
Pressão Arterial (mmHg)	≥140 ou 90	≥130 ou 85	≥130 ou 85	≥130 ou 85
Glicemia de jejum (mg/dl)	≥110	≥110	≥110	≥100
Microalbuminúria (µg/min)	≥20	-	-	-

¹ Organização Mundial da Saúde

² National Cholesterol Evaluation Program for Adult Treatment Panel III

³ American Association of Clinical Endocrinologists

⁴ Federação Internacional de Diabetes

IMC: índice de massa corporal; RCQ: razão cintura quadril

Embora, ainda não haja consenso quanto aos efeitos do exercício físico na síndrome metabólica, são claros os efeitos do mesmo nas patologias isoladas que compõem esta síndrome, como obesidade, diabetes mellitus, dislipidemias e hipertensão.

Os exercícios físicos podem aumentar cronicamente o dispêndio energético, independentemente do custo energético direto do programa de treinamento, uma vez que,

pode ocorrer um aumento da taxa metabólica de repouso (POEHLMAN et al., 2002). Isto, sabidamente, é útil para redução e controle de peso corporal em obesos.

Alguns estudos verificaram redução do percentual de gordura corporal semelhante entre exercícios aeróbios e exercícios resistidos com pesos com programas de 12 a 16 semanas de treinamento (BRYNER et al., 1999; RICE et al., 1999). Contudo, o metabolismo de repouso, também reduziu significativamente no grupo que realizou exercícios físicos aeróbios (BRYNER et al., 1999).

Outro aspecto bem estabelecido é que, o risco de desenvolvimento de diabetes mellitus está inversamente associado à capacidade cardiorrespiratória, com isto, quanto menor a capacidade cardiorrespiratória maior o risco (WEI et al., 1999). Os benefícios decorrentes da prática regular de exercício físico no diabetes mellitus podem ser agudos ou crônicos. O principal efeito consiste na redução da glicemia, em função do aumento da captação e do metabolismo da glicose pelo organismo. Além disso, contribui na redução da massa corporal, do percentual de gordura corporal e dos níveis de colesterol total e triglicerídeos, aumentando a sensibilidade do organismo à insulina (KRISKA, 2000).

A glicose plasmática diminuiu significativamente em diabéticos obesos durante exercício em cicloergômetro (45 minutos a 50% do $VO_{2máx}$) e permaneceu reduzida durante a recuperação, ao passo que não sofreu alterações em relação aos níveis basais dos controles obesos, e com massa corporal adequada (GIACCA et al., 1998). Esta redução da glicemia pode ocorrer devido ao aumento da permeabilidade da fibra muscular à glicose, mesmo na ausência de insulina, em virtude do processo de contração (DUNSTAN et al., 1998).

Os aumentos nas concentrações de LDL-C e colesterol total estão relacionados ao risco aumentado de doenças cardiovasculares, ao contrário das concentrações de HDL-C, que atuam como um fator de proteção para estas doenças (BEMBEN; BEMBEN, 2000). Em geral, 1% de diminuição nos níveis de LDL-C, está associado com uma redução de 2-3% no risco de desenvolvimento de doenças cardíacas (LEON; SANCHES, 2001).

A prática regular de exercícios físicos pode promover efeitos crônicos no perfil lipídico, com diminuição na concentração de triglicerídeos, LDL-C e colesterol total (HALLE et al., 1999), e concomitante aumento nos níveis de HDL-C (BEMBEN; BEMBEN, 2000). Outros estudos demonstraram melhoras nos níveis de HDL-C, triglicerídeos e LDL-C, como resposta do efeito agudo do exercício físico (FERGUSON et al., 1998). Estas alterações foram observadas em indivíduos sedentários (BEMBEN; BEMBEN, 2000), fisicamente ativos (FERGUSON et al. 1998) e pacientes diabéticos (HALLE et al., 1999).

Existe forte associação entre os valores de pressão arterial e o gasto de energia habitual (WAREHAN et al., 2000). Um aumento de 1 ml/kg/min no $VO_{2\text{pico}}$ e uma redução de 1 cm na circunferência da cintura, ocasionou a redução da pressão arterial sistólica em 1 mmHg em exercício físico (BARONE et al., 2009). Do mesmo modo, o treinamento aeróbio a 50 ou a 70% do $VO_{2\text{máx}}$ durante 10 semanas foi igualmente eficaz na prevenção de eventos cardiovasculares ligados à hipertensão arterial (MARCEAU et al., 1993).

Síndrome metabólica em modelo experimental

Uma vez que existem entraves nas pesquisas com seres humanos, modelos animais proporcionam condições mais adequadas ao estudo da síndrome metabólica. O modelo desta síndrome, em ratos, induzido pela ingestão de frutose, comumente, causa hipertensão, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e resistência à insulina (HWANG et al., 1987).

Diversos estudos demonstram que o peso corporal não difere entre os animais que consumiram dieta balanceada ou rica em frutose (UENO et al., 2000; HUANG et al., 2004; KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006; RAJASEKAR; ANURADHA, 2007; ROGLANS et al., 2007; SANCHEZ et al., 2007; SHARABI et al., 2007; MOURA et al., 2008; ORON-HERMAN et al., 2008). Em compensação poucas investigações mostram o incremento no peso corporal (JÜRGENS et al., 2005; WANG et al., 2007).

Pesquisas anteriores relatam que a elevada ingestão de frutose ocasionou intolerância à glicose (THORBURN et al., 1989; SHARABI et al., 2007; MOURA et al., 2008) e hiperinsulinemia (HWANG et al., 1987, THORBURN et al., 1989; HUANG et al., 2004; GIRARD et al., 2006, RAJASEKAR; ANURADHA; 2007; SHARABI et al., 2007; ORON-HERMAN et al., 2008).

A literatura atual discorda quanto às alterações na glicemia, uma vez que em diversas intervenções com frutose, esta variável não apresentou modificações (UENO et al., 2000; JÜRGENS et al., 2005; ROGLANS et al., 2007; SANCHEZ et al., 2007; MOURA et al., 2008). No entanto, isto contrasta com outros experimentos (THORBURN et al., 1989; KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006; RAJASEKAR; ANURADHA, 2007; SHARABI et al., 2007).

Altos níveis de triglicérides plasmáticos são bem conhecidos como decorrência da ingestão de frutose (HWANG et al., 1987; THORBURN et al., 1989; UENO et al., 2000; HUANG et al., 2004; KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006; SANCHEZ et al., 2007; RAJASEKAR; ANURADHA, 2007; ROGLANS et al., 2007; SHARABI et al.,

2007; WANG et al., 2007; MOURA et al., 2008; ORON-HERMAN et al., 2008), uma vez que, esta é mais lipogênica que a glicose (SANCHEZ et al., 2007). Inúmeros mecanismos têm sido propostos para explicar este fenômeno, como aumento da lipogênese hepática e elevada produção de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) (ELLIOTT et al., 2002). Contudo, os efeitos da frutose no metabolismo do colesterol total não estão bem investigados (GIRARDI et al., 2006). A partir disso, a maior parte dos estudos indica que esta manipulação dietética incrementa os triglicerídeos, ao passo que, as alterações no colesterol total não estão bem elucidadas, com isto, alguns estudos evidenciaram aumento no colesterol total (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006) e outros não (MOURA et al., 2008).

O incremento na pressão arterial sistólica em experimentos com dieta rica em frutose é frequentemente relatado (SANCHEZ et al., 2007; SHARABI et al., 2007; WANG et al., 2007; ORON-HERMAN et al., 2008), o qual está associado a mudanças metabólicas, tais como, hiperinsulinemia, resistência à insulina e hipertrigliceridemia (HWANG et al., 1987).

A fisiopatologia dos distúrbios metabólicos induzidos por sobrecarga de frutose deve-se especialmente à inibição da enzima fosfofrutoquinase, o que leva à inibição da via glicolítica (ELLIOTT et al., 2002). O incremento do consumo de frutose tem coincidido com a crescente prevalência de obesidade e síndrome metabólica nas últimas duas décadas (ELLIOTT et al., 2002). Este padrão alimentar causa uma resposta estressante ao fígado e outros tecidos que respondem com resistência a insulina e desregulação no metabolismo de lipídios (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004). Sanchez et al. (2007) averiguaram relação direta entre o incremento calórico da ingestão de frutose (controle < frutose 10% < frutose 60%) e o agravamento nas características da síndrome metabólica.

As discrepâncias com outros estudos relacionadas à indução de obesidade (JURGENS et al., 2005; WANG et al., 2007) podem estar relacionadas à linhagem dos animais utilizados e ao tempo de exposição à dieta. Os períodos de administração da dieta propostos na literatura variaram de duas a 13 semanas (HWANG et al., 1987; KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; SANCHEZ-LOZADA et al., 2007; WANG et al., 2007); muitos desses estudos utilizaram ratos da linhagem *Sprague-Dawley* (HWANG et al., 1987; KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; SANCHEZ-LOZADA et al., 2007; WANG et al., 2007) ou cepa SHR – ratos espontaneamente hipertensos (GIRARD et al., 2006), sendo que os ratos Wistar parecem ter menor susceptibilidade a este modelo experimental (CESARETTI; KOHLMANN-JR, 2005).

A análise dos artigos anteriormente citados deixa claro que ainda não estão bem estabelecidas quais as alterações necessárias para caracterizar a síndrome metabólica em

modelos experimentais. Contudo, as alterações mais frequentemente observadas são hipertrigliceridemia, hipertensão, hiperinsulinemia e resistência à insulina. Sendo menos comuns, alterações no peso corporal, tecidos adiposo, glicemia e HDL-C.

A partir da exposição dos temas desnutrição e síndrome metabólica, sendo este último induzido pela sobrecarga de frutose na dieta, torna-se interessante verificar se organismos submetidos à desnutrição precoce seriam mais susceptíveis aos efeitos metabólicos deletérios da sobrecarga de frutose na alimentação. Assim como, posteriormente tentar elucidar os mecanismos envolvidos neste processo.

Transição da predominância metabólica em animais experimentais

Como abordado anteriormente, diversos trabalhos verificaram efeitos favoráveis do exercício crônico no crescimento linear de crianças e de ratos desnutridos, assim como nos diversos componentes da síndrome metabólica. Contudo, poucas são as informações quanto à aptidão física de organismos desnutridos e portadores de síndrome metabólica para a prática de exercícios físicos. Esse fato pode ser prontamente apurado pela avaliação da capacidade aeróbia, ferramenta frequentemente utilizada na prática clínica e na avaliação de esportistas (HECK et al., 1985).

Durante o exercício físico, a avaliação da capacidade aeróbia é realizada por meio de procedimentos que procuram identificar uma intensidade, que representa uma zona de transição, a partir da qual há mudança de predominância do metabolismo aeróbio para o anaeróbio no fornecimento de adenosina trifosfato para a manutenção da atividade. Parte desses procedimentos utiliza a resposta das concentrações sanguíneas de lactato, devido à fidedignidade desse parâmetro bioquímico na mensuração da transição da predominância metabólica, permitindo além da caracterização do esforço, um acompanhamento da eficiência do treinamento crônico (BILLAT et al., 2003).

A transição da predominância do metabolismo aeróbio/anaeróbio em animais experimentais pode ser determinada pela máxima fase estável de lactato – MFEL (GOBATTO et al., 2001) e pelo teste de lactato mínimo (VOLTARELLI et al., 2002; PRADA et al., 2004). A MFEL é definida como a concentração de lactato e a carga de trabalho mais elevadas que podem ser sustentadas, durante sessões de exercício com cargas fixas, sem acúmulo contínuo do lactato sanguíneo (HECK et al., 1985; BENEKE, 2003). A carga associada à MFEL é comumente utilizada para a prescrição de treinamento aeróbio em atletas (KINDERMANN; SIMON; KEUL, 1979). A determinação do lactato mínimo abrange a realização de exercícios físicos intensos por curto período de tempo para indução da

hiperlactacidemia previamente à exercícios com cargas progressivas. Uma curva em forma de “U” é conseguida com os valores de lactato e carga de trabalho durante o exercício incremental. O lactato mínimo é equivalente ao menor valor de lactato obtido durante o exercício incremental (TEGTBUR et al., 1993; JONES; DOUST, 1998), sendo este considerado como ponto de equilíbrio entre a produção e remoção de lactato.

Gobatto et al. (2001) demonstraram que, em ratos submetidos a protocolos de natação, a MFEL ocorreu quando os animais exercitavam-se suportando sobrecargas equivalentes a 5-6% do peso corporal e concentração de lactato média de 5,5 mmol/L.

Ao estimar a transição da predominância metabólica aeróbia/anaeróbia na natação pelo teste de lactato mínimo em ratos sedentários, Voltarelli et al. (2002) e Prada et al. (2004) averiguaram cargas e concentrações de lactato de 4,9 e 4,9% do peso corporal e 7,2 e 7,3 mmol/L, respectivamente. A maior concentração de lactato constatada neste protocolo de teste indica que o tipo de exercício físico empregado influencia a concentração deste parâmetro. Porém, durante 20 minutos de exercício na carga análoga ao limiar anaeróbio, o lactato estabilizou-se após 5 minutos à concentração de 5,6 mmol/L (PRADA et al., 2004), o que se assemelha aos valores encontrados em testes de MFEL.

Em um estudo sobre a desnutrição proteica em ratos, a transição da predominância metabólica, em exercício de natação, estimada pelo teste de lactato mínimo, ocorreu na carga de 4,9% do peso corporal, tanto no grupo controle quanto no desnutrido e à uma concentração de 6,2 mmol/L de lactato sanguíneo no grupo controle e de 4,2 mmol/L no grupo desnutrido (VOLTARELLI et al., 2007). Em outro estudo, a MFEL durante a natação foi obtida na carga de 5,5%, a uma concentração média de 5,5 mmol/L em ratos controles e 4,7 mmol/L em ratos recuperados de desnutrição (PAPOTI et al., 2003). Os valores de lactato circulante verificados para os ratos desnutridos (VOLTARELLI et al., 2007) e recuperados (PAPOTI et al., 2003) foram inferiores aos dos controles, o que sugere que a restrição proteica altera as concentrações de lactato durante o exercício de natação e que a recuperação nutricional não repara esta condição.

Em recente trabalho, com ratos alimentados com dieta rica em frutose Moura et al. (2008) constataram que as concentrações de lactato sanguíneo do grupo experimental não diferiu do controle; durante exercício na intensidade da MFEL. Os dados abordados salientam a escassez na literatura envolvendo capacidade aeróbia, tanto em organismos desnutridos, quanto naqueles expostos à dieta rica em frutose, o que aponta para a necessidade do estudo destas questões.

Considerações Finais

A partir do exposto nesta revisão, pode-se constatar que, a maioria dos trabalhos analisa a influência da desnutrição somente em parâmetros de repouso, geralmente após o nascimento ou desmame, sendo restrito o acompanhamento até a idade adulta. Igualmente, a recuperação nutricional é realizada com dietas balanceadas e que, muitas vezes, estas não são hábeis em reverter integralmente as alterações prévias. Assim, seria interessante analisar a relação entre desnutrição precoce e posterior sobrecarga de frutose na alimentação. Igualmente verificou-se que são raros os estudos que se ocuparam da avaliação da capacidade aeróbia na desnutrição ou em casos de sobrecarga de frutose. Com isso, as interações entre desnutrição, recuperação nutricional, dieta rica em frutose, exercício físico e capacidade aeróbia compõem um interessante campo de investigação.

Referências

1. BARONE, B. B.; WANG, N. Y.; BACHER, A. C.; STEWART, K. J. Decreased exercise blood pressure in older adults after exercise training: contributions. **British Journal of Sports Medicine**, v. 43, p. 52-56, 2009.
2. BEMBEN, D. A.; BEMBEN, M. G. Effects of resistance exercise and body mass index on lipoprotein-lipid patterns of postmenopausal women. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v.14, n. 1, p. 80-85, 2000.
3. BENEKE, R. Methodological aspects of maximal lactate steady state-implications for performance testing. **European Journal of Applied Physiology**, v. 89, p. 95-99, 2003.
4. BERTRAM, E. C.; HANSON, M. A. Animal models and programming of the metabolic syndrome. **British Medical Bulletin**, v. 60, p. 103-121, 2001.
5. BILLAT, V.; SIVERNET, P.; PY, G.; KORALLSZTEIN, J-P.; MERCIER, J. The concept of maximal lactate steady state. A bridge between biochemistry, physiology and sport science. **Sports Medicine**, Auckland, v. 33, n. 6, p. 407-426, 2003.
6. BRYNER, R. W.; ULLRICH, I. H.; SAUERS, J.; DONLEY, D.; HORNSBY, G.; KOLAR, M.; YEATER, R. Effects of resistance vs. aerobic training combined with an 800 calorie liquid diet on lean body mass and resting metabolic rate. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 18, n.1, p. 115-121, 1999.

7. CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN-JR, O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 50, p. 190-197, 2006.
8. DAHRI, S.; SNOECK, A.; REUSENS, B.; REMACLE, C.; HOET, J. J. Islet function in offspring of mothers on low-protein diet during gestation. **Diabetes**, Philadelphia, v. 40, n. 2, p. 115-120, 1991.
9. DHINGRA, R.; SULLIVAN, L.; JACQUES, P. F.; WANG, T. J.; FOX, C. S.; MEIGS, J. B.; et al. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. **Circulation**; v. 116, p. 480-488, 2007
10. DIXIT, P. K.; KAUNG, H. L. C. Rat pancreatic β cell in protein deficiency: a study involving morphometric analysis and alloxan effect. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 115, p. 375-381, 1985.
11. DUNSTAN, D. W.; PUDDEY, I. B.; BEILIN, L. J.; BURKE, V.; MORTON A. R.; STANTON, K. G. Effects of a short-term circuit weight training program on glycaemic control in NIDDM. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 40, p. 53-61, 1998.
12. ELLIOTT, S. S.; KEIM, N. L.; STERN, J. S.; TEFF, K.; HAVEL, P. J. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **American Journal Clinical of Nutrition**, Bethesda, v. 76, p. 911-922, 2002.
13. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). **The Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 285, p. 2486-2497, 2001
14. FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE DIABETES. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome, 1º Congresso Internacional de Pré-Diabetes e Síndrome Metabólica. Berlim: 2005.
15. FERGUSON, M. A.; ALDERSON, N. L.; TROST, S. G.; ESSIG, D. A.; BURKE, J. R.; DURSTINE, J. L. Effects of four different single exercise sessions on lipids, lipoproteins, and lipoprotein lipase. **Journal of Applied Physiology**, v. 85, n. 3, p.1169-1174, 1998.
16. FORD, E. S.; GILES, W. H.; DIETZ, W. H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. **The Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 287, n. 3, p. 356-359, 2002.

17. GALDINO, R.; ALMEIDA, C. C. S.; LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. **Nutrition Research**, Nova York, v. 20, n. 4, p. 527-535, 2000.
18. GALDINO, Rozinaldo; MELLO, Maria Alice Rostom de; ALMEIDA, Roberto Lopes de; ALMEIDA, Carla Cássia de Souza. Desnutrição protéica calórica. In DÂMASO, Ana. **Nutrição e exercícios na prevenção de doenças**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001. cap 10, p. 255-275.
19. GAVETE, M. L.; MARTÍN, M. A.; ALVAREZ, C.; ESCRIV, F. Maternal food restriction enhances insulin-induced GLUT-4 translocation and insulin signaling pathway in skeletal muscle from suckling rats. **Endocrinology**, v. 146, p. 3368-3378, 2005.
20. GIACCA, A.; GROENEWOUD, Y.; TSUI, E.; MCCLEAN, P.; ZINMAN, B. Glucose production, utilization, and cycling in response to moderate exercise in obese subjects with type 2 diabetes and mild hyperglycemia. **Diabetes**, v. 47, p. 1763-1770, 1998.
21. GIRARD, A.; MADANI, S.; BOUKORTT, F.; CHERKAOUI-MALKI, M.; BELLEVILLE, J.; PROST, J. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. **Nutrition**, v. 22, p. 758-766, 2006.
22. GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. The developmental origins of the metabolic syndrome. **Endocrinology and Metabolism**, v. 15, n. 4, p. 183-187, 2004.
23. GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry Physiology - Molecular & Integrative Physiology**, v. 130A, p. 21-27, 2001.
24. GOPALAN, S. Malnutrition; causes and consequences. **Nutrition**, v. 16, n. 7/8, p. 556-558, 2000.
25. HALLE, M.; BERG, A.; GARWERS, U.; BAUMSTARK M. W.; KNISE, L. W.; GRATHWOHL, D.; et al. Influence of 4 weeks' intervention by exercise and diet on low-density lipoprotein subfractions in obese men with type 2 diabetes. **Metabolism**, v. 48, n. 5, p. 641-644, 1999.
26. HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MUCKE, S.; MULLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **International Journal of Sports Medicine**, New York, v. 6, p. 117-130, 1985.
27. HUANG, B. W.; CHIANG, M. T.; YAO, H. T.; CHIANG, W. The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 6, p. 120-126, 2004.

28. HWANG, I. S.; HO, H.; HOFFMAN, B. B.; REAVEN, G. M. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. **Hypertension**; Dallas, v. 10, p. 512-516, 1987.
29. IBGE - Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística. Medidas Antropométricas de Crianças e Adolescentes 2002/2003, Available from: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2003medidas/pof2003medidas.pdf> [2008 fev 18].
30. JONES, A. M.; DOUST, J. H. The validity of the lactate minimum test for determination of the maximal lactate steady state and physiological correlates to 8 Km running performance. **Medicine Science and Sports Exercise**; Madison, v. 30, n. 8, p. 1304-1313, 1998.
31. JÜRGENS, H.; HAASS, W.; CASTAÑEDA, T. R.; SCHÜRMANN, A.; KOEBNICK, C.; DOMBROWSKI, F.; OTTO, B.; NAWROCKI, A. R.; SCHERER, P. E.; SPRANGER, J.; RISTOW, M.; JOOST, H.; HAVEL, P. J.; TSCHO, M. H. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. **Obesity Research**; v. 13, n. 7, p. 1146-1156, 2005.
32. KAHN, R.; BUSE, J.; FERRANNINI, E.; STERN, M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal. **Diabetologia**, v. 48, p. 1684-1699, 2005
33. KELLEY, G. L.; ALLAN, G.; AZHAR, S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. **Endocrinology**, v. 145, p. 548-555, 2004.
34. KINDERMANN, W.; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, Berlin, v. 42, n. 1, p. 25-34, 1979.
35. KRISKA, A. Physical activity and the prevention of type 2 diabetes mellitus. how much for how long? **Sports Medicine**, v. 29, n. 3, p. 147-151, 2000.
36. LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C.; MELLO, M. A. R. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 80, n. 3, p. 291-297, 1998a.
37. LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C. Reduced insulin secretion in response to nutrients in islets from malnourished young rats is associated with diminished calcium uptake. **Journal Nutrition Biochemistry**, Lexington, v. 10, p. 37-43, 1999.

38. LATORRACA, M. Q.; REIS, M. A. B.; CARNEIRO, E. M.; MELLO, M. A. R.; VELLOSO, L. A.; SAAD, M. J. A.; et al. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 128, n. 10, p. 1643-1649, 1998b.
39. LEON, A. S.; SANCHEZ, O. A. Response of blood lipids to exercise training alone or combined with dietary intervention. **Medicine Science Sports Exercise**, v. 33, n. 6, p. S502-S515, 2001.
40. MARCEAU, M.; KOUAME, N.; LACOURCIERE, Y.; CLEROUX, J. Effects of different training intensities on 24-hour blood pressure in hypertensive subjects. **Circulation**, v. 88, p. 2803-2811, 1993.
41. MELLO, M. A. R.; CURY, L.; VALLE, L. B. S.; OLIVEIRA-FILHO, R. M. Protein-calorie malnutrition in the young pregnant rat; factors involved in fetal growth impairment. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, São Paulo, v. 20, p. 575-577, 1987.
42. MINISTÉRIO Da SAÚDE. Indicadores e Dados Básicos para Saúde – IDB 2004. Available from <<http://ministerio.saude.bvs.br/html/pt/indicadores.html>> [2008 fev 18].
43. MOURA, R. F.; CAMBRI, L. T.; QUADROS JUNIOR, A. C.; NASCIMENTO, C. M. C.; ARANTES, L. M.; SEBASTIÃO, E.; et al. Capacidade aeróbia de ratos alimentados com dieta rica em frutose. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 14, n. 5, p. 422-426, 2008.
44. OLIVEIRA, E. A.; CHEIM, L. M. G.; VELOSO, R. V.; ARANTES, V. C.; REIS, M. A. B.; CARNEIRO, E. M.; et al. Nutritional recovery with a soybean flour diet improves the insulin response to a glucose load without modifying glucose homeostasis. **Nutrition**, v. 24, p. 76-83, 2008.
45. ORON-HERMAN, M.; KAMARI, Y.; GROSSMAN, E.; YEGER, G.; PELEG, E.; SHABTAY, Z.; SHAMISS, A.; SHARABI, Y. Metabolic syndrome: Comparison of the two commonly used animal models. **American Journal of Hypertension**, v. 21, p. 1018-1022, 2008.
46. PAPOTI, M.; ALMEIDA, P. B.; PRADA, F. J. A.; ELENIO, T. G.; HERMINI, H. A.; GOBATO, C. A.; et al. Máxima fase estável de lactato durante a natação em ratos recuperados de desnutrição protéica. **Motriz**, Rio Claro, v. 9, n. 2, p. 103-110, 2003.
47. POEHLMAN, E. T.; DVORAK, R. V.; DENINO, W. F.; BROCHU, M.; ADES, P. A. Effects of endurance and resistance training on total daily energy expenditure in young women: in young women: a controlled randomized trial. **The Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, v. 87, n. 3, p. 1004-1009, 2002.

48. PRADA, F. J. A.; VOLTARELLI, F. A.; OLIVEIRA, C. A. M.; GOBATTO, C. A.; MACEDO, D. V.; MELLO, M. A. R. Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, Brasília, v. 12, n. 2, p. 29-34, 2004.
49. RAJASEKAR, P.; ANURADHA, C. V. Fructose-induced hepatic gluconeogenesis: Effect of L-carnitine. **Life Sciences**, v. 80, p. 1176-1183, 2007.
50. REAVEN, G. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, Philadelphia, v. 37, p. 1595-1607, 1998.
51. RICE, B.; JANSSEN, I.; HUDSON, R.; ROSS, R. Effects of aerobic or resistance exercise and/or diet on glucose tolerance and plasma insulin levels in obese men. **Diabetes Care**, v. 22, n. 5, p. 684-691, 1999.
52. ROGLANS, R.; VILA, L.; FARRÉ, M.; ALEGRET, M.; SÁNCHEZ, R. M.; VÁZQUEZ-CARRERA, M.; LAGUNA, J. C. Impairment of hepatic stat-3 activation and reduction of PPAR_α activity in fructose-fed rats. **Hepatology**, v. 45, p. 778-788, 2007.
53. SANCHEZ-LOZADA, L. G.; TAPIA, E.; JIMENEZ, A.; BAUTISTA, P.; CRISTÓBAL, M.; NEPOMUCENO, et al. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 292, p. F423-F429, 2007.
54. SHARABI, Y.; ORON-HERMAN, M.; KAMARI, Y.; AVNI, I.; PELEG, E.; SHABTAY, Z.; GROSSMAN, E.; SHAMISS, A. Effect of PPAR- γ agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. **American Journal of Hypertension**; v. 20, n. 2, p. 206-210, 2007.
55. SHEPHERD, B. P. R.; CROWTHER, N. J.; DESAI, M.; HALES, C. N.; OZANNET, S. E. Altered adipocyte properties in the offspring of protein malnourished rats. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 78, p. 121-129, 1997.
56. SILVA, M. P.; STEVANATO, E.; MOREIRA, V. M.; PORTO, M.; MELLO, M. A. R. Efeitos da desnutrição intra-uterina e da recuperação nutricional sobre respostas metabólicas ao exercício crônico em ratos jovens. **Motriz**, Rio Claro, v. 5, n. 2, p. 152-159, 1999.
57. TEGTBUR, U.; BUSSE, M. W.; BRAUMANN, K. M. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. **Medicine Science and Sports Exercise**, Madison, v. 25, n. 5, p. 620-627, 1993.
58. THORBURN, A. W.; STORLIEN, L. H.; JENKINS, A. B.; KHOURI, S.; KRAEGEN, E. W. Fructose-induced in vivo insulin resistance and elevated plasma

- triglyceride levels in rats. **American Journal of Clinical Nutrition**; v. 49, p. 1155-1163, 1989.
59. TORUN, B.; VITERI, F. E. Influence of exercise on linear growth. **European Journal of Clinical Nutrition**, Southampton, v. 48, n. 1, p. S186-190, 1994.
 60. UAUY, R.; ALBALA, C.; KAIN, J. Obesity trends in Latin America: transiting from under to overweight. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 131, n. 3, p. 893S-899S, 2001.
 61. UENO, M.; BEZERRA, R. M. N.; SILVA, M. S.; TAVARES, D. Q.; CARVALHO, C. R.; SAAD, M. J. A.; A high-fructose diet induces changes in pp185 phosphorylation in muscle and liver of rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 1421-1427, 2000.
 62. VOLTARELLI, F. A.; GOBATO, C. A.; MELLO, M. A. R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, São Paulo, v. 35, p. 1389-1394, 2002.
 63. VOLTARELLI, F. A.; GOBATO, G. A.; MELLO, M. A. R. Determinação da transição metabólica através do teste do lactato mínimo em ratos desnutridos durante exercício de natação. **Revista da Educação Física/UEM**, Maringá, v. 18, n. 1, p. 33-39, 2007.
 64. WANG, X.; HATTORI, Y.; SATOH, H.; IWATA, C.; BANBA, N.; MONDEN, T.; et al. Tetrahydrobiopterin prevents endothelial dysfunction and restores adiponectin levels in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 555, p. 48-53, 2007.
 65. WAREHAN, N. J.; WONG, M. Y.; HENNINS, S.; MITCHELL, J.; RENNIE, K.; CRUICKSHANK, K.; DAY, N.E. Quantifying the association between habitual energy expenditure and blood pressure. **International Journal of Epidemiology**, Oxford, v. 29, p. 655-60, 2000.
 66. WEI, M.; GIBBONS, L. W.; MITCHELL, T. L.; KAMPERT, J. B.; LEE, C. D.; BLAIR, S. N. The association between cardiorespiratory fitness and impaired fasting glucose and type 2 diabetes mellitus in men. **Annals of Internal Medicine**, v.130, n. 2, p. 89-96, 1999.
 67. WHO - World Health Organization. Core Health Indicators. **Available from:** http://www.who.int/whosis/database/core/core_select_process.cfm?countries=all&indicators=child_undernutrition [2008 fev 18].
 68. WHO - World Health Organization: Diabetes mellitus: Report of a WHO study group. Geneva, WHO, 1999.

3.2 CAPÍTULO 2

=====

Crescimento somático e perfil lipídico de ratos adultos recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose. **Nutrition Research**, vol. 30, n.2, p. 156-162, 2010. (publicado/ANEXO 2).

Resumo

O objetivo deste trabalho foi analisar o crescimento somático e aspectos metabólicos em modelo experimental utilizando ratos submetidos à desnutrição fetal e posteriormente recuperados com dieta rica em frutose até a idade adulta. Foram utilizadas ratas Wistar adultas (90 dias), alimentadas durante a prenhez com dieta balanceada (B- 17% proteína) ou hipoproteica (H- 6% proteína). Imediatamente após o nascimento, as crias do sexo masculino foram distribuídas em grupos de acordo com o regime alimentar até a idade adulta (90 dias): Balanceada: dieta B durante todo o período experimental; Balanceada/Frutose: dieta B até o nascimento e dieta rica em frutose (F- 60% frutose) até a idade adulta; Hipoproteica/Balanceada: dieta H até o nascimento e dieta B até a idade adulta; Hipoproteica/Frutose: dieta H até o nascimento e dieta F até a idade adulta. Após o período de recuperação nutricional, houve restauração das concentrações séricas de glicose, proteínas totais e albumina, que foram reduzidas pela desnutrição fetal, e restauração do glicogênio e lipídios hepáticos, que foram aumentados pela desnutrição. Esta restauração foi independente da dieta adotada após o nascimento. Constatou-se que o excesso de frutose na dieta causou prejuízo no crescimento somático dos animais, independente do estado nutricional durante a vida fetal, com redução do peso do tecido adiposo de algumas regiões e, consequentemente, do ganho de peso corporal. Além disso, as concentrações séricas de triglicerídeos e colesterol total elevaram-se nos animais que ingeriram excesso de frutose, sendo importantes indicadores do desenvolvimento da síndrome metabólica. Em resumo, o elevado consumo de frutose prejudicou o crescimento corporal e alterou os lipídeos sanguíneos, independente da desnutrição intrauterina.

Palavras chaves: desnutrição, recuperação nutricional, frutose, crescimento, síndrome metabólica.

Introdução

A desnutrição continua sendo o fator isolado mais importante que, direta ou indiretamente, afeta a saúde de grande parte da população. O processo de desenvolvimento atual e a transição demográfica acarretaram uma mudança no perfil da desnutrição, especialmente na segunda metade do século 20. Isto foi notadamente marcante nos países em desenvolvimento (GOPALAN, 2000). Ultimamente, a incidência mundial da desnutrição grave vem reduzindo. Entretanto, nos países do terceiro mundo, a desnutrição considerada “leve” ou “moderada”, o nanismo infantil e as anemias gestacionais associadas ao baixo peso ao nascer ainda são bastante prevalentes. Assim, em 2000, a incidência mundial de baixo peso ao nascer era de aproximadamente 15,5%, com o maior índice (27,1%) no o sul da Ásia. Nos países em desenvolvimento nascem mais de 20 milhões de crianças por ano com baixo peso (OMS, 2008).

Ainda que a desnutrição persista como um problema das populações pobres, sobretudo, entre mulheres e crianças dos países em desenvolvimento, houve um incremento na ocorrência de doenças crônicas relacionadas à alimentação em adultos das camadas sociais relativamente ‘afluentes’ nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Como consequência, principalmente os países em desenvolvimento encaram um duplo desafio, tendo a desnutrição entre mulheres e crianças pobres numa extremidade e a má alimentação entre adultos “afluentes” na outra (UAUY et al., 1994).

Há indícios de que as manifestações da má nutrição nos dois extremos do espectro socioeconômico podem ter ligação etiológica e metabólica. Estudos demonstram que a desnutrição intrauterina pode “programar” os tecidos fetais tornando-os mais susceptíveis a desordens associadas à alimentação, tais como diabetes tipo 2, síndrome metabólica e demais doenças crônico-degenerativas na idade adulta (HALES; BARKER, 1992; BERTRAM; HANSON, 2001; GLUCKMAN; HANSON, 2004).

Do mesmo modo, o abuso na ingestão de frutose nos hábitos alimentares da sociedade contemporânea tem instigado os pesquisadores da área da saúde. Existem evidências clínicas e epidemiológicas que sugerem associação progressiva entre consumo de frutose, amplamente utilizada como adoçante em refrigerantes e outros alimentos e o desenvolvimento da síndrome metabólica (ELLIOTT et al., 2002; NAKAGAWA et al., 2005, DHINGRA et al., 2007). Assim, torna-se interessante investigar se organismos submetidos à desnutrição precoce

seriam mais vulneráveis aos efeitos metabólicos deletérios da sobrecarga de frutose na alimentação.

Apesar das evidências epidemiológicas da associação entre desnutrição precoce e doenças crônico-degenerativas na idade adulta, estudos longitudinais envolvendo variáveis endócrinas e bioquímicas em seres humanos apresentam limitações devido aos fatores interferentes e ao caráter invasivo de diversas análises. Com isso, modelos animais, utilizando condições controladas, podem contribuir na investigação dessa questão. Para isto, manipulações dietéticas com dietas isocalóricas de baixo teor proteico são utilizadas para desencadear carência proteica experimental, com o intuito de explorar os mecanismos pelos quais o metabolismo das proteínas afeta os órgãos em desenvolvimento (BERTRAM; HANSON, 2001).

A maioria dos estudos com modelos animais analisa a influência da desnutrição precoce somente após o nascimento ou desmame, sendo restrito o acompanhamento até a idade adulta. Ao mesmo tempo, a recuperação nutricional é comumente realizada com dietas balanceadas (OKITOLONDA et al., 1987; LATORRACA et al., 1999; SILVA et al., 1999; ALMEIDA; MELLO, 2004). Por outro lado, sinais da síndrome metabólica (hiperinsulinemia, hipertensão, hipertrigliceridemia e resistência à insulina) são desencadeados em roedores adultos pela administração de dietas ricas em frutose (HWANG et al., 1987; MOURA et al., 2008).

Assim, as interações entre recuperação nutricional e dieta rica em frutose compõem um interessante campo de investigação. Com isto, o presente estudo tem por objetivo analisar o crescimento somático e aspectos metabólicos em modelo experimental utilizando ratos submetidos à desnutrição fetal e posteriormente recuperados com dieta rica em frutose até a idade adulta.

Material e Métodos

Animais

Foram utilizadas ratas adultas (90 dias), da linhagem Wistar, prenhez, mantidas em sala com temperatura ambiente de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro, com as luzes acesas das 06:00 às 18:00 h e com livre acesso à água e ao alimento durante todo o experimento. Todos os procedimentos adotados com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), sob o protocolo nº 1487-1.

Dietas

Foram empregadas dietas isocalóricas balanceada (17% proteína), hipoproteica (6% proteína) e rica em frutose (60% frutose), conforme composição descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Composição das dietas.

Componentes (g/kg)	Balanceada (17%) ¹	Hipoproteica (6%) ²	Frutose (60%) ³
Caseína ⁴	202	71,5	202
Amido	397	480	-
Dextrina	130,5	159	-
Sacarose	100	121	27,6
Frutose	-	-	600
L-cistina	3	1	3
Óleo de soja	70	70	70
Mistura de sais (AIN-93GMX) ¹	35	35	35
Mistura de vitaminas (AIN-93GVX) ¹	10	10	10
Fibra	50	50	50
Cloridrato de colina	2,5	2,5	2,5

¹ De acordo com American Institute of Nutrition (AIN-93G) – (REEVES et al., 1993).

² De acordo com Latorraca et al. (1998).

³ De acordo com Moura et al. (2008).

⁴ Valores corrigidos em função do conteúdo de proteína na caseína.

Delineamento e grupos experimentais

De acordo com a dieta recebida durante a prenhez, as ratas foram separadas em dois grupos: Balanceada (B) e Hipoproteica (H).

Imediatamente após o nascimento, 8 neonatos B machos e 8 neonatos H machos foram pesados e mortos para a determinação das concentrações séricas de glicose, proteínas totais, albumina (métodos colorimétricos, utilizando kits comerciais LABORLAB[®]) e hepáticas de glicogênio (DUBOIS et al., 1956) e lipídios totais (NOGUEIRA et al., 1990), visando constatar a instalação da desnutrição no grupo H. As crias do sexo masculino restantes (n=7 por grupo) foram distribuídas em quatro grupos de acordo com o regime alimentar adotado até a idade adulta (90 dias). No período de amamentação (nascimento aos 21 dias), as mães que receberam as dietas correspondentes:

- Balanceada (B): dieta contendo 17% de proteína durante todo o período experimental;

- Balanceada/frutose (BF): dieta contendo 17% de proteína até o nascimento e dieta rica em frutose (60%) do nascimento até a idade adulta;
- Hipoproteica/Balanceada (HB): dieta contendo 6% de proteína até o nascimento e dieta com 17% de proteína do nascimento até a idade adulta;
- Hipoproteica/Frutose (HF): dieta contendo 6% de proteína até o nascimento e dieta rica em frutose (60%) do nascimento até a idade adulta.

Avaliações prévias à morte dos animais

Todos os animais tiveram peso e comprimento corporal (naso-anal) e ingestão alimentar registrados uma vez por semana do desmame (21 dias) ao final do experimento.

Teste de tolerância à glicose – GTT

O GTT foi realizado com os animais aos 90 dias, após 12 horas de jejum. Uma primeira coleta de sangue foi feita por meio 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 por meio de sonda gástrica de polietileno. Amostras de sangue foram coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25 µL, visando à determinação das concentrações de glicose e de insulina.

As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase-peroxidase, usando kits comerciais (LABORLAB[®]) e as de insulina por radiomunoensaio, também empregando kits comerciais (SIGMA[®]). As áreas sob as curva de glicose durante o teste foi calculada (MATHEWS et al., 1990), utilizando-se o software ORIGIN 3.5. O índice HOMA (Glicose X insulina/22,5) que avalia a sensibilidade a insulina, foi calculado utilizando os valores de glicose e insulina em jejum.

Teste de tolerância à insulina – ITT

O ITT foi realizado com os animais no estado alimentado, 48 horas após o GTT. Uma primeira coleta de sangue foi feita por meio de pequeno corte na extremidade da cauda do animal (tempo 0). Em seguida, uma solução de insulina (LILLY[®]) na dose de 30 UI/100g de peso corporal foi administrada via subcutânea. Amostras de sangue foram coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25 µL, visando à determinação das concentrações de glicose. A constante de remoção da glicose sérica (KITT) durante o teste foi calculada (LUNDBAECK, 1962) utilizando-se o software ORIGIN 3.5.

Morte dos animais e obtenção de material biológico

Ao final do experimento, os animais foram mortos em repouso por decapitação, 48 horas após a última avaliação “in vivo”. O sangue foi coletado, imediatamente após a morte dos animais, para a separação do soro visando dosagens de glicose, triglicerídeos, colesterol total, proteínas totais e albumina por métodos colorimétricos, utilizando kits comerciais (LABORLAB[®]).

O tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitoneal e subcutânea posterior foi removido para pesagem. A excisão dos diferentes depósitos de gordura foi realizada de acordo com a descrição de Cinti (2005). Amostras do fígado foram retiradas para a determinação das concentrações de lipídios totais (NOGUEIRA et al., 1990).

O músculo sóleo foi excisado com o mínimo de lesão para avaliação do metabolismo da glicose. Fatias longitudinais do músculo (25-35mg) foram colocadas em frascos de cintilação siliconizados, contendo 1,5 ml de tampão Krebs-Ringer bicarbonato. Os frascos foram fechados com tampas de borracha, selados com anel plástico e submetidos a 30 minutos de pré-incubação sob agitação em banho tipo Dubnoff a 60 rpm e contínuo gaseamento com O₂/CO₂ (95%/5%). Após esse período, as fatias do músculo foram transferidas para novos frascos de cintilação (frasco externo) em cujo interior foram instalados pequenos tubos em forma de concha (frasco interno) com uma haste reta de aproximadamente 3 cm de comprimento que se insere nas tampas de borracha do frasco externo. Cada frasco externo continha 1,5 ml de tampão Krebs-Ringer e cada frasco interno, 700µl de hiamina10x. Após 60 minutos de incubação nesse sistema, com gaseamento durante os 15 primeiros minutos, foram adicionados 100µl de ácido tricloroacético (TCA) 25% ao frasco externo, visando à liberação de CO₂. A preparação foi mantida por mais 3 horas no sistema, porém com a fatia do músculo fora do alcance da solução com TCA. Decorrido esse tempo, 200µl do líquido contido no frasco interno foram retirados para a determinação do CO₂ produzido. A fatia de músculo imediatamente digerida em 0,5 ml de KOH para extração (SJÖRGREEN et al., 1938) e dosagem (DUBOIS et al., 1956) do glicogênio muscular. A temperatura na pré-incubação e incubação foi de 37° C.

Foram avaliadas a captação de glicose, utilizando-se a 2 DG como marcador, e incorporação do ¹⁴C a glicogênio (síntese), medindo-se a radioatividade do ³H da 2 DG e do ¹⁴C da glicose, respectivamente. Para a estimativa da glicose oxidada (produção de CO₂), foi determinada a radioatividade do ¹⁴C presente no líquido (hiamina) coletado do frasco interno do sistema de incubação, com o auxílio de um contador de partículas beta.

Analise estatística

Para as comparações entre recém-nascidos utilizou-se teste t de Student's e para as comparações dos animais aos 90 dias utilizou-se Anova Two-Way, seguida de Post-Hoc de Newman-Keuls quando necessário. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

A Tabela 2 apresenta os dados referentes às avaliações dos animais recém-nascidos, nos quais a dieta hipoproteica causou redução do peso corporal, dos valores de glicose, proteínas totais e albumina plasmática, e incremento nos níveis de lipídios e glicogênio hepáticos.

Tabela 2: Peso corporal, parâmetros séricos e teciduais dos recém-nascidos.

	B	H
Peso corporal (g)	6,5±0,8	5,3±0,8*
Glicose (mg/dL)	81±11	68±17*
Proteínas totais (g/dL)	7,6±1,8	3,7±1,3*
Albumina (g/dL)	3,36±0,19	1,31±0,19*
Glicogênio hepático (mg/100mg)	1,99±0,56	2,50±0,26*
Lipídios hepáticos (mg/100mg)	7,79±2,48	16,67±5,74*

Resultados expressos como média±desvio padrão de 8 animais por grupo.

B: balanceada; H: hipoproteica.

*diferença significativa entre grupos pelo Test-t de Student ($p < 0,05$)

A ingestão de alimento (Figura 1A) e o ganho de comprimento corporal (Figura 1 C) não sofreram influência das interações entre as dietas no período fetal e após o nascimento. O ganho de peso corporal (Figura 1B) apresentou diferença significativa, associado à dieta adotada no período de recuperação nutricional, pois os grupos alimentados com dieta balanceada (B - 219,8±40,0 e HB - 237,4±45,7g) apresentaram ganho de peso similar entre si, mas diferiram significativamente (mostrando maior ganho de peso) dos grupos que ingeriram dieta rica em frutose após o nascimento (BF - 162,0±60,5 e HF - 145,3±52,3g).

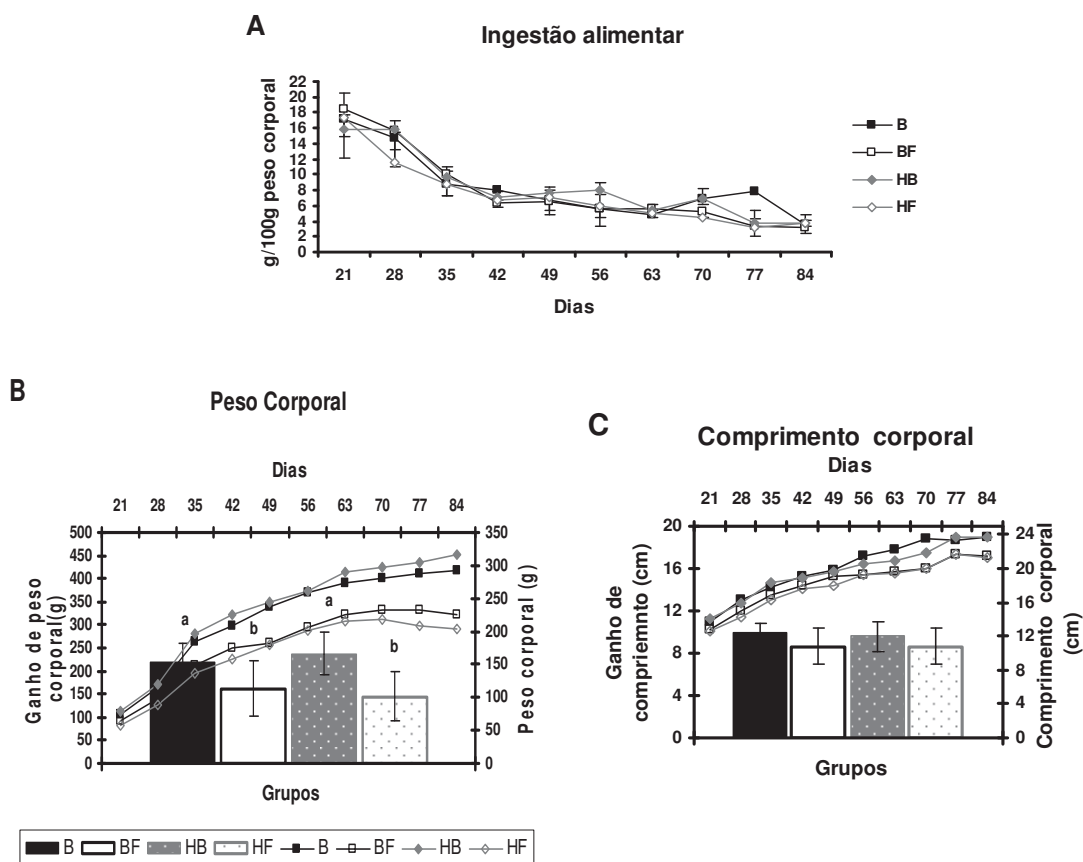


Figura 1: A: Ingestão alimentar. B: Peso corporal (linhas) e ganho de peso corporal (barras) C: Comprimento corporal naso-anal (linhas) e ganho de comprimento corporal (barras) dos animais do desmame (21 dias) ao final do experimento (90 dias).

Resultados expressos como média±desvio padrão de 7 animais por grupo. B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa para ganho de peso(g) pela Anova Two-Way e Post-Hoc de Newman-Keuls ($p < 0,05$).

A desnutrição e a dieta após o nascimento não afetaram a tolerância a glicose, uma vez que não houve diferença entre os grupos na área sob a curva de glicose (Figura 2A) durante o GTT. Da mesma forma, o índice HOMA também não apresentou diferenças entre os grupos (B – $11,1 \pm 7,5$; BF – $11,7 \pm 6,8$; HB – $9,3 \pm 4,2$; HF – $6,4 \pm 4,0$), mostrando que não houve resistência à insulina.

A Figura 2B apresenta dados de glicose e suas respectivas taxas de remoção de glicose durante o ITT, mostrando que não houve diferença significativa entre os grupos.

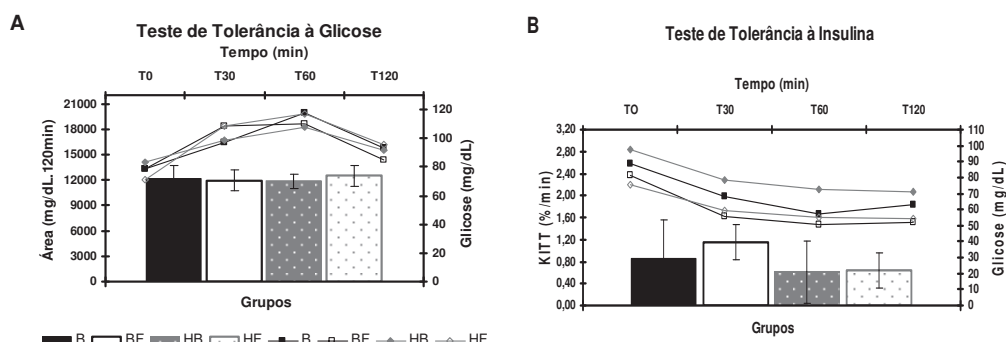


Figura 2: A – Glicose sérica (linhas) e área sob a curva de glicose sérica (barras) durante o Teste de Tolerância à Glicose. B: Glicose sérica (linhas) e taxa de remoção da glicose - KITT (barras) durante o Teste de Tolerância à Insulina ao final do experimento (90 dias).

Resultados expressos como média±desvio padrão de 7 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Nota: Não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

A Tabela 3 apresenta o peso do tecido adiposo de diferentes regiões, onde se verifica que o peso do tecido da região retroperitoneal foi influenciado pela dieta adotada após o nascimento, uma vez que os grupos que ingeriram dieta rica em frutose (BF e HF) apresentaram menores pesos de tecido adiposo nesta região. O peso do tecido da região subcutânea foi menor nos grupos que ingeriram dieta rica em frutose, comparado somente com o grupo HB.

Tabela 3: Peso do tecido adiposo (mg/100mg) de diferentes regiões anatômicas ao final do experimento (90 dias).

	B	BF	HB	HF
Mesentérica	0,47±0,25	0,50±0,34	0,63±0,19	0,32±0,24
Retroperitoneal	0,42±0,12 ^a	0,25±0,13 ^b	0,48±0,17 ^a	0,18±0,10 ^b
Subcutânea	0,31±0,05 ^{ab}	0,30±0,10 ^a	0,40±0,11 ^b	0,23±0,08 ^a

Resultados expressos como média±desvio padrão de 7 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos. Anova Two-Way e Post-Hoc de Newman-Keuls ($p < 0,05$).

Como se verifica na Tabela 4 houve diferença significativa apenas para as concentrações de triglicerídeos e colesterol total entre os grupos que ingeriram dieta balanceada após o nascimento (B e HB) e os que ingeriram dieta rica em frutose (BF e HF), sendo que os últimos apresentaram valores superiores aos dos primeiros.

Tabela 4: Variáveis séricas e teciduais ao final do experimento (90 dias).

	B	BF	HB	HF
Glicose (mg/dL)	85±14	100±20	92±17	97±18
Triglicerídeos (mg/dL)	42±10 ^a	71±18 ^b	48±11 ^a	69±20 ^b
Colesterol total (mg/dL)	53±2 ^a	68±17 ^b	57±6 ^{ab}	69±15 ^b
Proteínas totais (g/dL)	5,2±0,2	4,8±0,4	4,9±0,3	5,0±0,3
Albumina (g/dL)	3,3±0,6	3,3±0,6	3,3±0,5	3,4±0,3
Ácidos graxos livres (μEq/l)	1493 ± 231	1444 ± 194	1379 ± 226	1390 ± 147
Lipídios hepáticos (mg/100mg)	4,79±1,02	5,02±1,63	5,03±0,96	4,26±0,76

Resultados expressos como média±desvio padrão de 7 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos. Anova Two-Way e Post-Hoc de Newman-Keuls (p<0,05).

A Tabela 5 apresenta os dados do metabolismo da glicose no músculo sóleo isolado, no qual foram analisadas captação e oxidação da glicose, assim como síntese e concentração de glicogênio. Não houve diferença entre os grupos para nenhuma das variáveis analisadas.

Tabela 5: Captação e oxidação de glicose (μmol/g.h), síntese (μmol/g.h) e concentração (mg/100mg) de glicogênio pelo músculo sóleo isolado dos animais durante processo de incubação ao final do experimento (90 dias).

	B	BF	HB	HF
Captação de glicose	2,48±0,24	2,91±0,43	2,46±0,52	2,42±0,64
Oxidação de glicose	4,19±0,89	4,39±0,80	3,49±1,21	4,75±0,37
Síntese de glicogênio	0,84±0,22	0,83±0,20	0,92±0,24	0,84±0,17
Concentração de glicogênio	0,13±0,04	0,10±0,03	0,13±0,04	0,13±0,03

Resultados expressos como média±desvio padrão de 6 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Nota: Não houve diferença estatisticamente significativa (p<0,05).

Discussão

A desnutrição repercute imediatamente na dinâmica do crescimento e do desenvolvimento do organismo (LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; LATORRACA et al., 1999; GALDINO et al., 2000, ALMEIDA; MELLO, 2004; OLIVEIRA et al., 2008). Aliado a isto, o incremento do consumo de frutose coincide com a crescente

prevalência de obesidade e síndrome metabólica nas duas últimas décadas (ELLIOTT et al., 2002). Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi analisar o crescimento somático e os aspectos metabólicos de ratos adultos submetidos à desnutrição fetal e recuperados com dieta rica em frutose.

Os dados do presente estudo mostram a eficiência da dieta no período fetal em induzir a desnutrição, uma vez que reduziu valores de peso corporal, glicemia e proteínas totais, assim como aumentou valores de lipídios e glicogênio hepáticos. Estes dados são similares a inúmeros estudos, nos quais filhotes de mães alimentadas com dietas hipoproteicas, ao nascer apresentam baixo peso (MELLO et al., 1987; LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; GALDINO et al., 2000, ALMEIDA; MELLO, 2004; OLIVEIRA et al., 2008), hipoglicemia (MELLO et al., 1987; LATORRACA et al., 1998a; SILVA et al., 1999; ALMEIDA; MELLO, 2004) e hipoproteinemia (SILVA et al., 1999; GALDINO et al., 2000, ALMEIDA; MELLO, 2004).

A dieta rica em frutose imposta logo após o nascimento não influenciou a quantidade de alimento ingerido, assim como não interferiu no crescimento linear dos animais, uma vez que comprimento focinho-ânus apresentou aumento similar para todos os grupos ao longo do experimento. Estes resultados são similares aos de Moura et al. (2008).

Contudo, os animais que ingeriram a dieta rica em frutose, independente da dieta adotada no período fetal, apresentaram menor ganho de peso corporal, assim como peso do tecido adiposo das regiões subcutânea e retroperitoneal. Isto contrasta com achados anteriores, pois geralmente não se observam diferenças entre este grupo e o controle (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006; ROGLANS et al., 2007; SANCHEZ et al., 2007; SHARABI et al., 2007). Em poucas investigações constatou-se o incremento no peso corporal nos ratos mantidos com dieta rica em frutose (JÜRGENS et al., 2005). Esta redução do peso de tecido adiposo e consequente redução no ritmo de ganho de peso podem ser reflexo da intolerância à frutose, devido ao excesso deste nutriente na dieta, administrado precocemente (fase neonatal).

Um aspecto que merece ênfase é que na ocasião da morte dos animais, observou-se que aqueles com grandes comprometimentos no ganho de peso apresentavam o estômago e os intestinos bastante dilatados, aparentando conter grande quantidade de gases. Sintomas como aumento do diâmetro da área abdominal, dores abdominais e gases, além de vômitos e diarreia são sinais de intolerância à frutose (CHOI et al., 2003; RAO et al., 2007), sendo que, a ocorrência destes sintomas esta associada à quantidade de frutose ingerida (RAO et al., 2007). Em seres humanos, há relatos de retardo no crescimento devido a intolerância a frutose

(MOCK et al., 1983). Nestes casos, a restrição da frutose na dieta é aconselhável, o que consequentemente reduz seus sintomas adversos (SHEPHERD et al., 2006). Contudo, não se tem dados sobre prejuízo no crescimento em animais, até mesmo porque não há estudos com excesso da ingestão de frutose administrada desde o nascimento, como no presente estudo. Com isto, estudos adicionais sobre esta questão são necessários.

A desnutrição fetal e posteriormente a elevada ingestão de frutose não ocasionaram intolerância a glicose nem resistência periférica à insulina, não havendo alteração na resposta glicêmica após sobrecarga de glicose e nem na captação periférica de glicose em resposta à insulina, respectivamente. Da mesma forma não alterou a sensibilidade à insulina, conforme determinada pelo índice HOMA. Estes achados contrariam alguns estudos anteriores (JOYEUX-FAURE et al. 2006; SHARABI et al., 2007).

Quanto à recuperação nutricional, constata-se que ocorreu a restauração das variáveis séricas, glicose, proteínas totais e albumina, assim como, dos lipídios hepáticos. Esta recuperação foi independente da dieta adotada após o nascimento, uma vez que não houve diferenças entre os grupos. Isto está de acordo com alguns trabalhos que utilizaram dieta balanceada e observaram normalização nos parâmetros: glicose (OKITOLONDA et al., 1987; DAHRI et al., 1995; LATORRACA et al., 1998b; SILVA et al., 1999), insulina (DAHRI et al., 1995; SILVA et al., 1999), proteínas totais (SILVA et al., 1999), albumina sérica, ácidos graxos livres (LATORRACA et al., 1998b; SILVA et al., 1999) e glicogênio hepático (OKITOLONDA et al., 1987; LATORRACA et al., 1998b; SILVA et al., 1999). Por outro lado, em alguns destes mesmos trabalhos a recuperação nutricional não foi eficiente em restaurar integralmente as concentrações de insulina (OKITOLONDA et al., 1987; LATORRACA et al., 1998b) e proteínas totais séricas (OKITOLONDA et al., 1987).

Quando as demais variáveis bioquímicas são analisadas, verifica-se que os valores de triglicerídeos e colesterol total foram elevados nos grupos que ingeriram dieta rica em frutose, independente de desnutrição prévia.

A literatura tem evidenciado que a dieta rica em frutose, em seres humanos e animais de laboratório, induz uma resposta estressante ao fígado e outros tecidos, e com isso pode comprometer o metabolismo de carboidratos e lipídios (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004). Por essa razão, induz alguns sinais da síndrome metabólica. Sanchez et al (2007) verificaram relação direta entre o incremento calórico da ingestão de frutose (controle < frutose 10% < frutose 60%) e a acentuação nas características da síndrome metabólica. O risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2, aterosclerose e demais doenças cardiovasculares são

maiores com o aumento dos vários componentes desta síndrome (REAVEN et al., 1988; SANCHEZ et al., 2007).

O modelo experimental de síndrome metabólica em ratos induzido pela ingestão de elevado teor de frutose apresenta hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, resistência à insulina e hipertensão (HWANG et al., 1987), independente da administração de frutose ser efetuada na água ou na ração (SANCHEZ et al., 2007). Dessa forma, o modelo desenvolve a síndrome de resistência à insulina com perfil metabólico muito similar ao da síndrome metabólica humana (HWANG et al., 1987).

As modificações na glicemia basal causadas pela sobrecarga de frutose são bastante divergentes na literatura atual, uma vez que em diversos experimentos, esta variável não apresentou alterações (JÜRGENS et al., 2005; JOYEUX-FAURE et al., 2006; ROGLANS et al., 2007; SANCHEZ et al., 2007), enquanto que em outras intervenções, mostrou-se elevada (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; SHARABI et al., 2007).

A elevação nas concentrações de triglicerídeos, determinada pelo excesso de frutose, constatada neste trabalho é quase unanimidade, nos mais diferentes estudos descritos na literatura (HWANG et al., 1987, KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006; ROGLANS et al., 2007, SANCHEZ et al., 2007; SHARABI et al., 2007). Em alguns destes, modificações nas concentrações de triglicerídeos também foram observadas no fígado (GIRARDI et al., 2006; ROGLANS et al., 2007). Isto se deve ao fato da frutose ser mais lipogênica que a glicose (SANCHEZ et al., 2007). O aumento da lipogênese hepática e elevada produção de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) são alguns dos mecanismos apontados para explicar este fenômeno (ELLIOTT et al., 2002).

Igualmente ao presente experimento, além dos triglicerídeos, tem-se evidenciado incremento no colesterol total em consequência da ingestão excessiva de frutose (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARDI et al., 2006). Entretanto, os efeitos da frutose no metabolismo do colesterol total não estão bem conhecidos (GIRARD et al., 2006).

A fisiopatologia dos distúrbios metabólicos induzidos por sobrecarga de frutose na dieta deve-se principalmente à inibição da enzima fosfofrutoquinase, o que leva à inibição da via glicolítica. Contudo, ratos Wistar parecem ser menos susceptíveis a este agravo do que animais da cepa SHR - ratos espontaneamente hipertensos (ELLIOTT et al., 2002).

As contradições constatadas entre o presente estudo e os experimentos citados na literatura podem ser devidas aos períodos de suplementação que oscilam de 2 a 13 semanas. Além disto, nenhum destes trabalhos administrou frutose desde o nascimento e/ou após desnutrição intrauterina, fato que destaca a relevância do presente estudo.

A partir dos dados obtidos, pode-se constatar que o excesso de frutose na dieta causou prejuízo no crescimento somático dos animais, independente do estado nutricional durante a vida fetal, com redução no peso do tecido adiposo de algumas regiões e no ganho de peso corporal. Além disso, as elevadas concentrações séricas de triglicerídeos e colesterol total, constatadas nos animais que ingeriram excesso de frutose, são indicadores do desenvolvimento da síndrome metabólica. Esses dados apontam a necessidade de novos experimentos, visando elucidar questões ainda obscuras sobre os efeitos da sobrecarga de frutose como determinante da intolerância à mesma e de sinais da síndrome metabólica em ratos Wistar, em diferentes idades e períodos de administração.

Referências

1. BERTRAM, E. C.; HANSON, M. A. Animal models and programming of the metabolic syndrome. **British Medical Bulletin**, v. 60, p. 103-121, 2001.
2. CHOI, Y. K.; JOHLIN, J. R. F. C.; SUMMERS, R. W.; JACKSON, M.; RAO, S. S. C. Fructose intolerance: an under-recognized problem. **American Journal of Gastroenterology**, v. 9, n. 6, p. 1348-1353, 2003
3. CINTI, S. The adipose organ. prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids, v. 73:9-15, 2005.
4. DHINGRA, R.; SULLIVAN, L.; JACQUES, P. F.; WANG, T. J.; FOX, C. S.; MEIGS, J. B.; D'AGOSTINO, R. B.; GAZIAN, M. J.; VASAN, R. S. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. **Circulation**; v. 116, p. 480-488, 2007.
5. DUBOIS, B.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A. Colorimetric method for determination of sugar and relate substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
6. ELLIOTT, S. S.; KEIM, N. L.; STERN, J. S.; TEFF, K.; HAVEL, P. J. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **American Journal Clinical of Nutrition**, v. 76, p. 911-922, 2002.
7. GALDINO, R. S.; ALMEIDA, C. C. S.; LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. **Nutrition Research**, v. 20, n. 4, p. 527-535, 2000.

8. GIRARD, A.; MADANI, S.; BOUKORTT, F.; CHERKAOUI-MALKI, M.; BELLEVILLE, J.; PROST, J. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. **Nutrition**, v. 22, p. 758-766, 2006.
9. GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. The developmental origins of the metabolic syndrome. **Endocrinology and Metabolism**, v. 15, n. 4, p. 183-187, 2004.
10. GOPALAN, S. Malnutrition; causes and consequences. **Nutrition**, v. 16, n. 7/8, p. 556-558, 2000.
11. HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, v. 35, p. 595-601, 1992.
12. HWANG, I. S.; HO, H.; HOFFMAN, B. B.; REAVEN, G. M. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. **Hypertension**, v. 10, p. 512-516, 1987.
13. JÜRGENS, H.; HAASS, W.; CASTAÑEDA, T. R.; SCHÜRMANN, A.; KOEBNICK, C.; DOMBROWSKI, F.; OTTO, B.; NAWROCKI, A. R.; SCHERER, P. E.; SPRANGER, J.; RISTOW, M.; JOOST, H.; HAVEL, P. J.; TSCHO, M. H. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. **Obesity Research**, v. 13, n. 7, p. 1146-1156, 2005.
14. KELLEY, G. L.; ALLAN, G.; AZHAR, S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. **Endocrinology**, v. 145, n. 548-555, 2004.
15. LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C.; MELLO, M. A. R. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. **British Journal of Nutrition**, v. 80, n. 3, p. 291-297, 1998a.
16. LATORRACA, M. Q.; REIS, M. A. B.; CARNEIRO, E. M.; MELLO, M. A. R.; VELLOSO, L. A.; SAAD, M. J. A.; BOSCHERO, A. C. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 10, p. 1643-1649, 1998b.
17. LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C. Reduced insulin secretion in response to nutrients in islets from malnourished young rats is associated with diminished calcium uptake. **Journal Nutrition Biochemistry**, v. 10, p. 37-43, 1999.
18. LUNDBAECK, K. Intravenous glucose tolerance as a tool in definition in diagnosis of diabetes mellitus. **British Medical Journal**, v. 3, p. 1057-1063, 1962.

19. MATHEWS, J. N. S.; ALTMAN, D. G.; CAPBELL, M. J.; ROYSTON, P. Analysis of serial measurements in medical research. **British Medical Journal**, v. 27, p. 230-235, 1990.
20. MELLO, M. A. R.; CURY, L.; VALLE, L. B. S.; OLIVEIRA-FILHO, R. M. Protein-calorie malnutrition in the young pregnant rat; factors involved in fetal growth impairment. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, v. 20, p. 575-577, 1987.
21. MOCK, D. M.; PERMAN, J. A.; THALER, M.; MORRIS-Jr, R. C.. Chronic fructose intoxication after infancy in children with hereditary fructose intolerance. A cause of growth retardation. **The New England Journal of Medicine**, v. 309, n. 13, p. 764-770, 1983.
22. MOURA, R. F.; CAMBRI, L. T.; QUADROS JUNIOR, A. C.; NASCIMENTO, C. M. C; ARANTES, L. M.; SEBASTIÃO, E.; TANAKA, K.; PAPINI, C. B.; OLIANI, M. M.; MOTA, C. S. A.; RIBEIRO, C.; MELLO, M. A. R. Aerobic capacity of rats fed with fructose rich diet. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 5, p. 422-426, 2008.
23. NAKAGAWA, T.; TUTTLE, K. R.; SHORT, R. A.; JOHNSON, R. J. Hypothesis: fructose induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. **Nature Clinical Practice Nephrology**, v. 1, p. 80-86, 2005.
24. NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S. P.; HIRATA, R. D. C. Sangue-parte I: Glicídios. In: NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S.; HIRATA, R. D. C. **Métodos de bioquímica clínica**, p. 153-168, 1990.
25. OKITOLONDA, W.; BRICHARD, S. M.; HENKIN, J. C. Repercussions of chronic protein-calorie malnutrition on glucose homeostasis in the rat. **Diabetologia**, v. 30, p. 946-951, 1987.
26. OLIVEIRA, E. A.; CHEIM, L. M. G.; VELOSO, R. V.; ARANTES, V. C.; REIS, M. A. B.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C.; LATORRACA, M. Q. Nutritional recovery with a soybean flour diet improves the insulin response to a glucose load without modifying glucose homeostasis. **Nutrition**, v. 24, p. 76-83, 2008.
27. RAO, S. S. C.; ATTALURI, A.; ANDERSON, L.; STUMBO, P. The ability of the normal human small intestine to absorb fructose: evaluation by breath testing. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 5, n. 8, p. 959-963, 2007.
28. REAVEN, G. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v. 37, p. 1595-1607, 1988.

29. REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY-JR, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of AIN-76A. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 5, n. 8, p. 959-963, 2007.
30. SHARABI, Y.; ORON-HERMAN, M.; KAMARI, Y.; AVNI, I.; PELEG, E.; SHABTAY, Z.; GROSSMAN, E.; SHAMISS, A. Effect of PPAR- γ agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. **American Journal of Hypertension**, v. 20, n. 2, p. 206-210, 2007.
31. SHEPHERD, B. P. R.; CROWTHER, N. J.; DESAI, M.; HALES, C. N.; OZANNET, S. E. Altered adipocyte properties in the offspring of protein malnourished rats. **British Journal of Nutrition**, v. 78, p. 121-129, 1997.
32. SILVA, M. P.; STEVANATO, E.; MOREIRA, V. M.; PORTO, M.; MELLO, M. A. R. Efeitos da desnutrição intra-uterina e da recuperação nutricional sobre respostas metabólicas ao exercício crônico em ratos jovens. **Motriz**, v. 5, n. 2, p. 152-159, 1999.
33. SJÖRGREEN, B.; NORDENSKJOLD, D. T.; HOLMGREN, H.; WOLLERSTROM, J. **Bertrag zur Kentnin des le birrhythmik**. Pfluger Arch. Gesante Physiol. Menschen Tierre. v. 240, p. 247, 1938.
34. UAUY, R.; ALBALA, C.; KAIN, J. Obesity trends in Latin America: transiting from under to overweight. **Journal of Nutrition**, v. 131, n. 3, p. 893S-899S, 2001.

3.3 CAPÍTULO 3

=====

Capacidade aeróbia de ratos recuperados de desnutrição fetal com dieta rica em frutose. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism** vol. 35, n.4, p. 490-497, 2010. (publicado/ANEXO 3).

Resumo

O objetivo deste trabalho foi analisar a capacidade aeróbia de ratos jovens submetidos à desnutrição fetal e recuperados com dieta rica em frutose. Foram utilizadas ratas Wistar adultas, alimentadas durante a gestação com dieta balanceada (B- 17% proteína) ou hipoproteica (H- 6% proteína). Após o nascimento, as crias foram distribuídas em grupos de acordo com o regime alimentar até os 60 dias: balanceada (B): dieta B durante todo o período experimental; balanceada/frutose (BF): dieta B até o nascimento e dieta rica em frutose (F) - 60% frutose - até os 60 dias; hipoproteica/balanceada (HB): dieta H até o nascimento e dieta B até os 60 dias; hipoproteica/frutose (HF): dieta H até o nascimento e dieta F até os 60 dias. Os animais foram avaliados quanto ao: peso corporal, capacidade aeróbia pela determinação da máxima fase estável de lactato (MFEL), concentrações séricas de glicose, proteínas totais, albumina, concentrações de glicogênio e lipídios totais no fígado. Ao nascimento, confirmou-se o quadro de desnutrição com baixos valores de peso corporal, glicose e proteínas totais e altos níveis de glicogênio e lipídios hepáticos, os quais foram restabelecidos ao final do experimento, independentemente da dieta adotada. Constatou-se que o excesso de frutose causou prejuízo no crescimento somático dos animais, sobretudo no grupo BF. Não houve diferenças entre os grupos na carga referente à MFEL (B - $7,5 \pm 0,5$; BF - $7,4 \pm 0,6$; HB - $7,7 \pm 0,4$ e HF - $7,7 \pm 0,6$ % em relação ao peso corporal). Contudo, o grupo BF ($4,8 \pm 0,9$ mmol.l⁻¹) apresentou maiores concentrações de lactato na carga correspondente a MFEL (B - $3,2 \pm 0,9$; HB - $3,4 \pm 0,9$ e HF - $3,2 \pm 1,0$ mmol.l⁻¹). A partir disto, os resultados indicam que o desempenho em ratos jovens durante exercício não foi alterado pela desnutrição intrauterina, contudo a elevada ingestão de frutose após dieta balanceada na fase fetal incrementou a concentração de lactato sanguíneo durante o exercício de natação em ratos.

Palavras chaves: desnutrição, recuperação nutricional, frutose, capacidade aeróbia, lactato sanguíneo, máxima fase estável de lactato.

Introdução

A transição demográfica e o processo de desenvolvimento econômico atual trouxeram uma mudança no perfil da desnutrição, sobretudo na segunda metade do século 20. Isto foi especialmente acentuado nos países em desenvolvimento (GOPALAN, 2000). Mais recentemente, a incidência mundial da desnutrição grave vem reduzindo. Contudo, a desnutrição considerada “leve” ou “moderada”, o nanismo infantil e as anemias gestacionais associadas ao baixo peso ao nascer ainda são bastante prevalentes nos países do terceiro mundo. Nos países em desenvolvimento nascem mais de 20 milhões de crianças por ano com baixo peso. Em 2000 cerca de 15,5% das crianças do mundo nasceram com baixo peso, com o maior índice (27,1%) no o sul da Ásia (WHO, 2008).

A desnutrição intrauterina pode “programar” os tecidos fetais tornando-os mais vulneráveis a desordens associadas à alimentação, tais como diabetes tipo 2, síndrome metabólica e demais doenças crônico-degenerativas na idade adulta (HALES; BARKER, 1992; BERTRAM; HANSON, 2001; GLUCKMAN; HANSON, 2004; FERNANDEZ-TWINN et al., 2005). Há evidências clínicas e epidemiológicas que indicam a crescente associação entre consumo de frutose, largamente empregada como adoçante em refrigerantes e outros alimentos e o desenvolvimento da síndrome metabólica (ELLIOTT et al., 2002; NAKAGAWA et al., 2005, DHINGRA et al., 2007). Com isto, torna-se interessante verificar se a sobrecarga de frutose na alimentação pode ser mais prejudicial para organismos submetidos à desnutrição precoce.

Por outro lado, alguns trabalhos mostraram efeitos favoráveis do exercício crônico sobre o crescimento linear de crianças (TORUN; VITERI, 1994) e de ratos (GALDINO et al., 2000) desnutridos. Isso sugere que o exercício físico pode exercer efeitos benéficos no processo de recuperação nutricional. Entretanto, faltam informações quanto à aptidão física de organismos desnutridos para a realização de exercícios físicos. Esse aspecto pode ser facilmente verificado pela avaliação da capacidade aeróbia, ferramenta comumente empregada na clínica e na avaliação de esportistas (HECK et al., 1985).

A avaliação da capacidade aeróbia é realizada por meio de procedimentos que procuram identificar uma zona de transição durante o exercício a partir da qual há mudança de predominância do metabolismo aeróbio para o anaeróbio no fornecimento de adenosina trifosfato para a manutenção da atividade. Parte desses procedimentos utiliza-se a resposta das concentrações sanguíneas de lactato durante o exercício, devido à fidedignidade desse parâmetro bioquímico na mensuração da transição metabólica, permitindo além da

caracterização do esforço, um acompanhamento da eficiência do treinamento crônico (BILLAT et al., 2003). Apesar da importância do tema, são raros os estudos que se ocuparam da avaliação da capacidade aeróbia na desnutrição (PAPOTI et al., 2003; VOLTARELLI et al., 2007) ou sobrecarga de frutose (MOURA et al., 2008). A determinação da capacidade aeróbia pode providenciar uma adequada ferramenta para prescrição de exercício na desnutrição e na síndrome metabólica. Com isto, é interessante estudar uma prescrição apropriada pela determinação dos limiares de transição metabólica, com o objetivo de determinar os possíveis efeitos benéficos do treinamento físico durante a reabilitação nutricional.

Apesar das evidências epidemiológicas da associação entre desnutrição precoce e doenças metabólicas/crônico-degenerativas na vida adulta, estudos longitudinais em seres humanos que analisam variáveis endócrinas e bioquímicas apresentam limitações devido aos fatores interferentes e ao caráter invasivo de alguns procedimentos. Modelos animais, utilizando condições controladas, podem auxiliar na investigação dessa questão. Para isto, dietas isocalóricas de baixo teor proteico são utilizadas para ocasionar carência proteica experimental (LATORRACA et al., 1998b; GALDINO et al., 2000), visando explorar os mecanismos pelos quais o metabolismo das proteínas afeta os órgãos em desenvolvimento (BERTRAM; HANSON, 2001).

A maioria dos trabalhos com modelos animais avalia a influência da desnutrição precoce somente sobre variáveis de repouso, geralmente após o nascimento ou desmame. Igualmente, a recuperação nutricional é frequentemente realizada com dietas balanceadas e na ausência de exercícios físicos (OKITOLONDA et al., 1987; LATORRACA et al., 1999). Por outro lado, sinais da síndrome metabólica são desencadeados em roedores adultos pela administração de dietas ricas em frutose (HWANG et al., 1987, MOURA et al., 2008). A partir disso, as interações entre recuperação nutricional, dieta rica em frutose e capacidade aeróbia compõem um interessante campo de investigação. Com isto, este estudo teve por objetivo avaliar a capacidade aeróbia de ratos submetidos à desnutrição fetal e posteriormente recuperados com dieta rica em frutose até os 60 dias.

Material e Métodos

Animais

Foram utilizadas ratas adultas (90 dias), da linhagem Wistar, prenhez, mantidas em sala com temperatura ambiente de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de

escuro, com as luzes acesas das 06:00 às 18:00h e com livre acesso à água e ao alimento durante todo o experimento. Todos os animais tiveram peso corporal registrado uma vez por semana. Os procedimentos adotados com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), sob o protocolo nº 1487-1.

Dietas

Foram empregadas dietas isocalóricas balanceada (17% proteína), hipoproteica (6% proteína) e rica em frutose (60% frutose), conforme composição descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Composição das dietas.

Componentes (g/kg)	Balanceada (17%) ¹	Hipoproteica (6%) ²	Frutose (60%)
Caseína ³	202	71,5	202
Amido	397	480	-
Dextrina	130,5	159	-
Sacarose	100	121	27,6
Frutose	-	-	600
L-cistina	3	1	3
Óleo de soja	70	70	70
Mistura de sais (AIN-93GMX) ¹	35	35	35
Mistura de vitaminas (AIN-93GVX) ¹	10	10	10
Fibra	50	50	50
Cloridrato de colina	2,5	2,5	2,5

¹De acordo com American Institute of Nutrition (AIN-93G) – (REEVES et al., 1993).

²De acordo com Latorraca et al. (1998b).

³Valores corrigidos em função do conteúdo de proteína na caseína.

Delineamento e grupos experimentais

De acordo com a dieta recebida durante a gestação, as ratas foram separadas em dois grupos: Balanceada (B) e Hipoproteica (H).

Imediatamente após o nascimento, 7 neonatos B machos e 7 neonatos H machos, foram pesados e mortos para a determinação das concentrações séricas de glicose, proteínas totais, albumina (métodos colorimétricos, utilizando kits comerciais LABORLAB[®], Guarulhos, Brasil) e hepáticas de glicogênio (DUBOIS et al., 1956) e lipídios totais (NOGUEIRA et al.,

1990), visando constatar a instalação da desnutrição no grupo H. Este modelo experimental frequentemente causa desnutrição severa (LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; GALDINO et al., 2000). As crias do sexo masculino restantes foram distribuídas em quatro grupos (n=10 por grupo) de acordo com o regime alimentar adotado até o final do experimento (60 dias). No período de amamentação (nascimento aos 21 dias), as mães que receberam as dietas correspondentes:

- Balanceada (B): dieta contendo 17% de proteína durante todo o período experimental;
- Balanceada/frutose (BF): dieta contendo 17% de proteína até o nascimento e dieta rica em frutose (60%) do nascimento até os 60 dias;
- Hipoproteica/Balanceada (HB): dieta contendo 6% de proteína até o nascimento e dieta com 17% de proteína do nascimento até os 60 dias;
- Hipoproteica/Frutose (HF): dieta contendo 6% de proteína até o nascimento e dieta rica em frutose (60%) do nascimento até os 60 dias.

Avaliação da capacidade aeróbia – Teste da Máxima Fase Estável de Lactato – MFEL

Inicialmente os animais foram adaptados ao meio líquido, durante 10 dias, com o objetivo de reduzir o estresse frente ao exercício físico realizado na água. A adaptação começou com 5, 10 e 15 minutos em água rasa, passando a 5, 10, 15 minutos em água profunda, e posteriormente 5 minutos com bolsinha atada ao tórax e 5, 10 e 15 minutos com bolsinha atada ao tórax e sobrecarga de 3% do peso corporal. A temperatura da água foi sempre mantida à $31 \pm 1^\circ\text{C}$.

Todos os ratos foram submetidos a testes de esforço para a identificação do limiar de transição de predominância metabólica entre os metabolismos aeróbio e anaeróbio no exercício de natação, pelo protocolo da MFEL. Com esse fim, os ratos foram submetidos aos testes de natação de característica retangular. Em dias alternados, com intervalo mínimo de 48 horas, foram aplicadas sobrecargas, por meio de pequenas bolsinhas com chumbo atadas ao tórax que variaram entre 6,5 a 8,5% do peso corporal. A duração dos testes foi de 25 minutos, com coletas de 25 μl de sangue da extremidade da cauda a cada 5 minutos, para dosagem de lactato pelo método enzimático (ENGEL; JONES, 1978).

O critério para determinação da MFEL foi a maior carga de trabalho em que a diferença das concentrações sanguíneas de lactato, entre o 25º e o 10º minutos de exercício foi igual ou inferior a 1 mmol.l^{-1} (GOBATTO et al., 2001).

Morte dos animais e obtenção de material biológico

Ao final do experimento, os ratos foram mortos em repouso por decapitação, 48 horas após a última avaliação “in vivo”. O sangue foi coletado, imediatamente após à morte dos animais, para a separação do soro visando dosagens de glicose, proteínas totais e albumina por métodos colorimétricos, utilizando kits comerciais (LABORLAB[®], Guarulhos, Brasil). Amostras do fígado foram retiradas para a determinação das concentrações de glicogênio (DUBOIS et al., 1956) e de lipídios totais (NOGUEIRA et al., 1990).

Analise estatística

Para as comparações entre recém-nascidos utilizou-se teste t de Student's e para as comparações dos animais aos 60 dias utilizou-se ANOVA Two-Way, seguida de post-hoc de Newman-Keuls, quando necessário. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

A Tabela 2 apresenta os dados referentes às avaliações dos animais recém-nascidos, nos quais a dieta hipoproteica reduziu o peso corporal, os valores de glicose, proteínas totais e albumina sérica, e aumentou os níveis de lipídios e glicogênio hepáticos.

Tabela 2: Peso corporal e parâmetros séricos e teciduais dos recém-nascidos.

	B	H
Peso corporal (g)	6,48±0,83	5,30±0,79*
Glicose (mg/dL)	83±10	70±17*
Proteínas Totais (g/dL)	7,8±1,9	4,2±1,8*
Albumina (g/dL)	3,37±0,19	1,33±0,19*
Glicogênio hepático (mg/100mg)	2,02 ± 0,59	2,46 ± 0,22*
Lipídios hepáticos (mg/100mg)	7,12 ± 1,69	17,74 ± 5,46*

Resultados expressos como média±desvio padrão de 7 animais por grupo.

B: balanceada; H: hipoproteica.

*diferença significativa entre grupos pelo Test-t de Student ($p < 0,05$)

O ganho de peso corporal (Figura 1) apresentou diferença significativa, associado à dieta adotada no período fetal e na recuperação nutricional, pois todos os grupos apresentaram diferenças significativas entre si. Contudo, a interação entre dieta balanceada no período fetal e rica em frutose após o nascimento parece ser a mais prejudicial, uma vez que o grupo BF apresentou menor ganho de peso (BF - 103,4±28,8g) comparado aos demais grupos (B - 162,3±26,1; HB - 186,1±27,8 e HF - 134,2±21,4g).

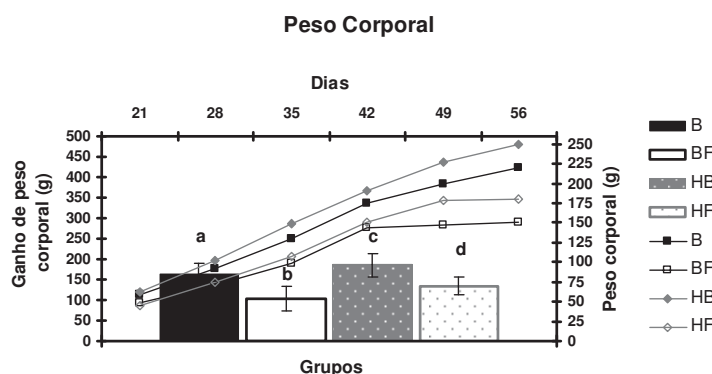


Figura 1: Peso corporal (linhas) e ganho de peso corporal (barras) dos animais do desmame (21 dias) ao final do experimento (60 dias).

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão de 10 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa. Anova Two-Way e Post-Hoc de Newman-Keuls ($p < 0,05$).

A Figura 2 exemplifica as concentrações de lactato sanguíneo durante teste para a determinação da MFEL em um animal de cada grupo estudado. Neste exemplo, os animais dos grupos B e BF obtiveram a MFEL na carga de 7%, e os animais dos grupos HB e HF na carga de 7,5% em relação ao peso corporal.

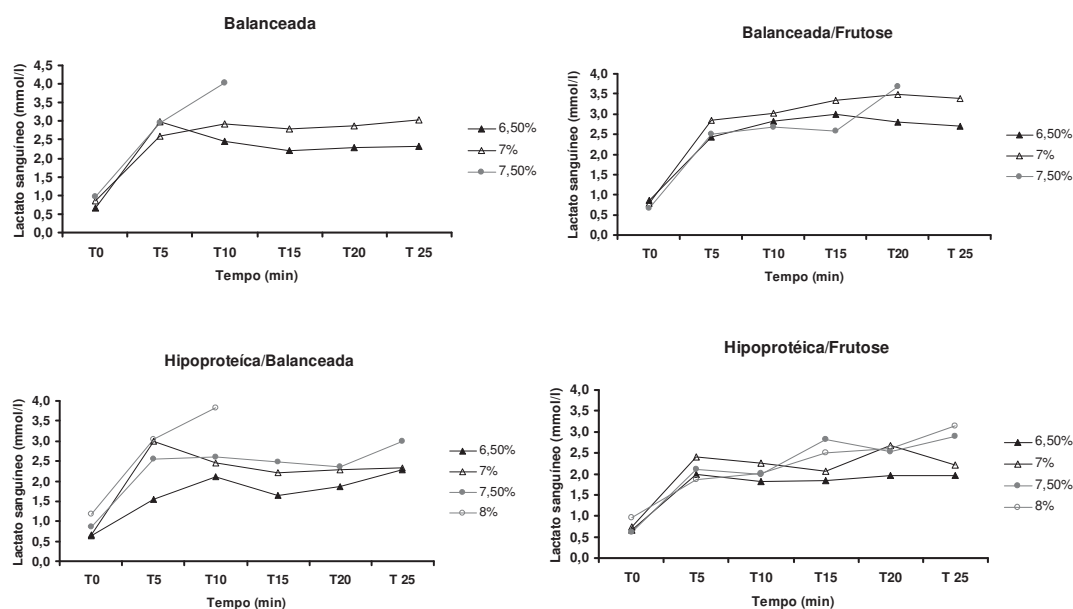


Figura 2: Concentração de lactato sanguíneo de um animal de cada grupo, a título de exemplo, durante teste para a determinação da máxima fase estável de lactato aos 60 dias. B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Não houve diferença estatisticamente significativa na carga (B - $7,5 \pm 0,5$; BF - $7,4 \pm 0,6$; HB - $7,7 \pm 0,4$ e HF - $7,7 \pm 0,6$ % em relação ao peso corporal) correspondente a máxima fase estável de lactato.

A Figura 3 mostra a concentração do lactato durante exercício de natação na carga correspondente à máxima fase estável de lactato, onde se observa diferença estatisticamente significativa entre o grupo BF (valores maiores) e os demais aos 10, 15, 20 e 25 minutos na lactemia de estabilização do teste.

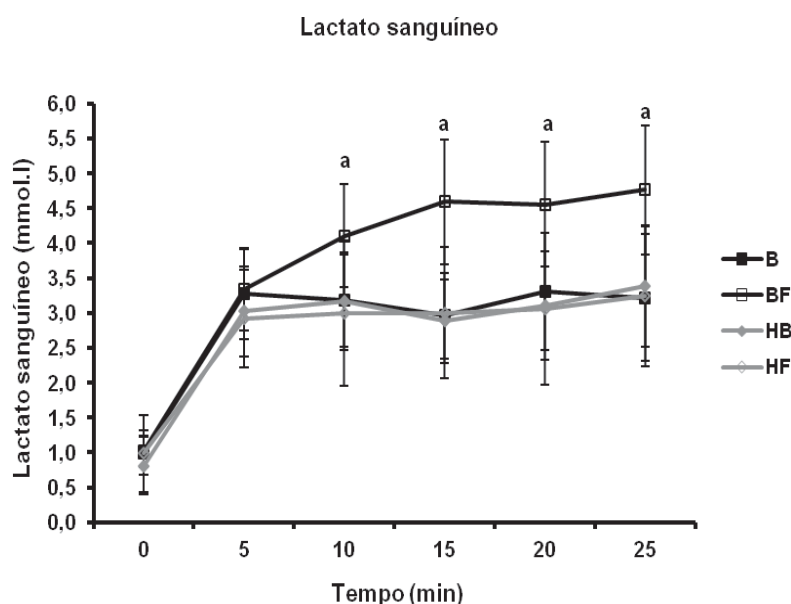


Figura 3: Concentração do lactato (mmol.L^{-1}) durante exercício de natação na carga correspondente a máxima fase estável de lactato (MFEL) aos 60 dias.

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão de 10 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

a: diferença significativa ($p < 0,05$) entre BF e demais grupos.

A Tabela 3 apresenta os parâmetros séricos e teciduais dos animais ao final do experimento, na qual se verifica que houve diferença estatisticamente significativa apenas para as concentrações de glicose no grupo que ingeriu dieta rica em frutose após desnutrição intrauterina (HF), comparada com os que ingeriram dieta balanceada na fase pré-natal (B e BF), com os últimos apresentando valores superiores ao primeiro.

Tabela 3: Parâmetros séricos e teciduais dos animais ao final do experimento (60 dias).

	B	BF	HB	HF
Glicose (mg/dL)	107±15 ^a	110±9 ^a	106±19 ^{ab}	83±25 ^b
Proteínas Totais (g/dL)	5,5±0,1 ^a	5,6±0,1 ^a	5,5±0,3 ^a	5,8±0,2 ^b
Albumina (g/dL)	3,9±0,3	3,8±0,2	4,2±0,3	4,1±0,6
Glicogênio hepático (mg/100mg)	5,60±1,50	5,28±1,63	5,26±0,99	5,94±1,44
Lipídios hepáticos (mg/100mg)	5,48±1,39	7,89±2,99	6,71±1,36	6,28±2,28

Resultados expressos como média±desvio padrão de 10 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos. Anova Two-Way e Post-Hoc de Newman-Keuls (p<0,05).

Discussão

Os dados deste estudo demonstram a eficácia da dieta hipoproteica no período fetal em ocasionar desnutrição, pois reduziu o peso corporal, glicemia, albumina e proteínas totais, da mesma forma que, aumentou os lipídios e glicogênio hepáticos. Estes dados são semelhantes a diversos estudos, nos quais filhotes de mães mantidas com dieta hipoproteica, ao nascer apresentam baixo peso (MELLO et al., 1987; LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; GALDINO et al., 2000), hipoglicemia (MELLO et al., 1987; LATORRACA et al., 1998a) e hipoproteinemia (GALDINO et al., 2000).

Os animais que ingeriram a dieta rica em frutose, sobretudo, os que receberam dieta balanceada no período fetal (BF), apresentaram menor ganho de peso corporal. Isto contrasta com achados anteriores, pois geralmente não se observam diferenças entre este grupo e o controle (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004, GIRARD et al., 2006, ROGLANS et al., 2007, SANCHEZ et al., 2007, SHARABI et al., 2007). Esta redução no ritmo de ganho de peso pode ser reflexo de intolerância à frutose, devido ao excesso deste nutriente na dieta, administrado precocemente (fase neonatal).

Um fato que merece destaque é que no momento da morte, verificou-se que os animais com maiores comprometimentos no ganho de peso estavam com o estômago e os intestinos dilatados, contendo grande quantidade de gases. Sintomas como, aumento do diâmetro da área abdominal, dores abdominais e gases, além de vômitos e diarreia são sinais de intolerância à frutose (CHOI et al., 2003; RAO et al., 2007), sendo que, a ocorrência destes sintomas esta relacionada à quantidade de frutose consumida (RAO et al., 2007). Há relatos de retardo no

crescimento, em seres humanos, devido a intolerância a frutose (MOCK et al., 1983). Nestas ocasiões, os sintomas adversos são amenizados pela restrição da frutose na dieta (SHEPHERD et al., 2006). No entanto, não se tem dados sobre prejuízo no crescimento em animais, uma vez que não há estudos com excesso da ingestão de frutose administrada desde o nascimento, como no presente estudo. Desta forma, são necessários estudos adicionais sobre este tema.

No que se refere à recuperação nutricional, não houve diferenças entre os grupos em grande parte dos parâmetros analisados. Ocorreu recuperação das variáveis séricas albumina e proteínas totais, assim como das variáveis teciduais, glicogênio e lipídios hepáticos, tanto no grupo que consumiu dieta balanceada, quanto no que ingeriu excesso de frutose. Estes dados vão ao encontro de alguns trabalhos que utilizaram dieta balanceada e obtiveram normalização nos parâmetros: glicose (OKITOLONDA et al., 1987; DAHRI et al., 1995; LATORRACA et al., 1998b), proteínas totais (SILVA et al., 1999), albumina sérica, ácidos graxos livres (LATORRACA et al., 1998b), insulina (DAHRI et al., 1995) e glicogênio hepático (OKITOLONDA et al., 1987; LATORRACA et al., 1998b). Contudo, a glicose sérica normalizou apenas no grupo HB, comparada com controle, sendo menor no grupo HF. Isto demonstra a eficiência parcial na capacidade de recuperação da desnutrição pela dieta rica em frutose.

Durante o exercício físico, existe uma intensidade na qual ocorre a transição da predominância do metabolismo aeróbio para o anaeróbio. Esta intensidade é utilizada como índice que reflete satisfatoriamente a aptidão física, sendo empregado tanto na prática clínica como na avaliação e no treinamento de atletas (WASSERMAN; MCILROY, 1964; HOLLMANN, 1985).

A transição da predominância do metabolismo aeróbio/anaeróbio em animais experimentais pode ser determinada pela MFEL (GOBATTO et al., 2001) e pelo teste de lactato mínimo (VOLTARELLI et al., 2002). A MFEL é considerada o padrão-ouro, sendo definida como a concentração de lactato e a carga de trabalho mais elevadas que podem ser mantidas, durante sessões de exercício com cargas fixas, sem acúmulo contínuo do lactato sanguíneo (HECK et al., 1985).

No presente trabalho, nem a desnutrição intrauterina e nem o excesso de frutose na dieta afetaram a capacidade de exercício dos animais, uma vez que todos os grupos apresentaram carga correspondente a MFEL semelhante. Entretanto, o grupo que recebeu dieta rica em frutose após dieta balanceada no período fetal (BF) apresentou maior concentração de lactato durante exercício de natação.

Utilizando protocolos de natação para determinação da MFEL em ratos adultos, Gobatto et al. (2001) encontraram concentração de lactato média de 5,5 mmol/L em sobrecargas equivalentes a 5-6% do peso corporal. Os menores valores de lactato observado no presente trabalho, assim como a maior carga correspondente a MFEL podem ser explicados devido à menor idade dos animais.

Ao determinar a transição da predominância metabólica em animais adultos submetidos à desnutrição proteica, durante exercício de natação, estimada pelo teste de lactato mínimo, observou-se carga de 4,9% do peso corporal, e concentração de 6,2 mmol/L de lactato sanguíneo no grupo controle e de 4,2 mmol/L no grupo desnutrido (VOLTARELLI et al., 2007). A maior concentração de lactato observada neste protocolo de teste sugere que o tipo de exercício utilizado influencia a concentração deste parâmetro. Em outro estudo, a MFEL durante a natação foi obtida na carga de 5,5%, a uma concentração média de 5,5 mmol/L em ratos controles e 4,7 mmol/L em ratos recuperados de desnutrição (PAPOTI et al., 2003). Os valores de lactato circulante obtidos para os ratos desnutridos (VOLTARELLI et al., 2007) e recuperados (PAPOTI et al., 2003) foram inferiores aos dos controles, o que indica que a restrição proteica altera as concentrações de lactato durante o exercício de natação e que a recuperação nutricional não restaura esta condição.

No presente estudo, os grupos previamente desnutridos não apresentaram alterações nas concentrações do lactato comparados com o controle, possivelmente, devido à fase (intrauterina) em que ocorreu a desnutrição. Uma vez que, nos trabalhos mencionados, os animais foram desnutridos após o desmame e mantidos sob o quadro de desnutrição (VOLTARELLI et al., 2007) ou recuperados (PAPOTI et al., 2003) até a idade adulta.

Os maiores valores de lactato encontrados no grupo que consumiu frutose após dieta balanceada na vida pré-natal, são reportados na literatura, contudo estes estudos não analisam esta variável durante exercício físico (RAJASEKAR; ANURADHA, 2007). Em um estudo prévio de nosso laboratório (MOURA et al., 2008), não verificamos diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo alimentado com dieta rica em frutose nem para carga da MFEL e nem nas concentrações de lactato, mas neste estudo os ratos começaram a consumir dieta rica em frutose somente após o desmame.

Na metabolização da frutose ingerida, a maior parte é extraída pelos tecidos hepáticos, nos quais pode ser convertida em glicose, lipídios ou lactato (MAYES, 1993). Níveis circulantes elevados de piruvato e glicerol, assim como níveis hepáticos de lactato, piruvato, glicerol, frutose e alanina são verificados em animais alimentados com frutose (RAJASEKAR; ANURADHA, 2007). Adicionalmente, Wallis et al. (2008) observaram

maiores concentrações de lactato no período de recuperação após exercício exaustivo, quando administrado solução de glicose aliada à frutose pós-exercício comparada com solução de glicose isolada.

O metabolismo da frutose ultrapassa a etapa regulatória da glicólise, catalisada pela fosfofrutoquinase. Com isto, a frutose entra continuamente na via glicolítica ao nível de gliceraldeído e diidroxiacetona fosfato, produzindo glicose, lactato e piruvato em excesso (MAYES, 1993). Elevados níveis circulantes de substratos gliconeogênicos como piruvato, lactato e glicerol em animais alimentados com frutose confirmam o prejuízo na glicólise. E pode ser a principal causa da hiperglicemia em jejum constatada em alguns experimentos com animais alimentados com dieta a base de frutose (RAJASEKAR; ANURADHA, 2007).

O grupo que ingeriu frutose após a desnutrição intrauterina não apresentou alteração no lactato sanguíneo durante o exercício comparado com o controle. Com isto, pode-se inferir que os mecanismos de produção, principalmente associados com a atividade de enzimas da via glicolítica, de alguma forma foram contrabalanceados pela desnutrição prévia, pois a desnutrição pode reduzir a atividade das enzimas glicolíticas, reduzindo a concentração de lactato (PAPOTI et al., 2003; VOLTARELLI et al., 2007).

A partir dos dados apresentados, constata-se que a habilidade de realizar exercício físico, determinada pela carga no teste de MFEL não foi influenciada pelas diferentes dietas, assim como, as concentrações de lactato em animais jovens não foi alterada pela desnutrição intrauterina. Contudo, a dieta rica em frutose administrada após dieta balanceada na fase fetal aumentou a concentração de lactato durante exercício de natação. Com isto, são necessários mais estudos para elucidar as reais causas da maior concentração de lactato sanguíneo, durante exercício de natação, em animais jovens mantidos com dieta rica em frutose desde o nascimento, e o porquê esta resposta é diferente em animais mantidos com a mesma dieta após o nascimento, porém submetidos à desnutrição prévia.

Referências

1. BERTRAM, E. C; HANSON, M. A. Animal models and programming of the metabolic syndrome. **British Medical Bulletin**, v. 60, p. 103-121, 2001.
2. BILLAT, V.; SIVERNET, P.; PY, G.; KORALLSZTEIN, J-P.; MERCIER, J. The concept of maximal lactate steady state. A bridge between biochemistry, physiology and sport science. **Sports Medicine**, v. 33, n. 6, p. 407-426, 2003.

3. CHOI, Y. K.; JOHLIN, JR F. C.; SUMMERS, R. W.; JACKSON, M.; RAO, S. S. C. Fructose intolerance: an under-recognized problem. **American Journal of Gastroenterology**, v. 9, n. 6, p. 1348-1353, 2003.
4. DAHRI, S.; REUSENS, B.; REMACLE, C.; HOET, J. J. Nutritional influences on pancreatic development and potential links with non-insulin-dependent diabetes. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 54, p. 345-356, 1995.
5. DHINGRA, R.; SULLIVAN, L.; JACQUES, P. F.; WANG, T. J.; FOX, C. S.; MEIGS, J. B.; D'AGOSTINO, R. B.; GAZIAN, M. J.; VASAN, R. S. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community **Circulation**; v. 116, p. 480-488, 2007.
6. DUBOIS, B.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A. Colorimetric method for determination of sugar and relate substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
7. ELLIOTT, S. S.; KEIM, N. L.; STERN, J. S.; TEFF, K.; HAVEL, P. J. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **American Journal Clinical of Nutrition**, v. 76, p. 911-922, 2002.
8. ENGEL, R. C.; JONES, J. B. Causes and elimination of erratic blanc in enzymatic metabolic assays involving the use of NAD in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for assay of L-glutamate, L-lactate and other metabolites. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v. 88, p. 475-484, 1978.
9. GALDINO, R. S.; ALMEIDA, C. C. S.; LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. **Nutrition Research**, v. 20, n. 4, p. 527-535, 2000.
10. GIRARD, A.; MADANI S.; BOUKORTT, F.; CHERKAOUI-MALKI, M.; BELLEVILLE, J.; PROST, J. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. **Nutrition**, v. 22, p. 758-766, 2006.
11. GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. The developmental origins of the metabolic syndrome. **Endocrinology and Metabolism**, v. 15, n. 4, p. 183-187, 2004.
12. GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry Physiology-Molecular & Integrative Physiology**, v. 130A, p. 21-27, 2001.
13. GOPALAN, S. Malnutrition; causes and consequences. **Nutrition**, v. 16, n. 7/8, p. 556-558, 2000.

14. HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, v. 35, p. 595-601, 1992.
15. HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MUCKE, S.; MULLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **International Journal of Sports Medicine**, v. 6, p. 117-130, 1985.
16. HOLLMANN, W. Historical remarks on the development of the aerobic-anaerobic threshold up to 1966. **International Journal of Sports Medicine**, v. 6, p. 109-116, 1985.
17. HWANG, I. S.; HO, H.; HOFFMAN, B. B.; REAVEN, G. M. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. **Hypertension**, v. 10, p. 512-516, 1987.
18. KELLEY, G. L.; ALLAN, G.; AZHAR, S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. **Endocrinology**, v. 145, n. 548-555, 2004.
19. LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C.; MELLO, M. A. R. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. **British Journal of Nutrition**, v. 80, n. 3, p. 291-297, 1998a.
20. LATORRACA, M. Q.; REIS, M. A. B.; CARNEIRO, E. M.; MELLO, M. A. R.; VELLOSO, L. A.; SAAD, M. J. A.; BOSCHERO, A. C. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 10, p. 1643-1649, 1998(b).
21. LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C. Reduced insulin secretion in response to nutrients in islets from malnourished young rats is associated with diminished calcium uptake. **Journal Nutrition Biochemistry**, v. 10, p. 37-43, 1999.
22. MAYES, P. A. Intermediary metabolism of fructose. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 58, p. 754S-755S, 1993.
23. MELLO, M. A. R.; CURY, L.; VALLE, L. B. S.; OLIVEIRA-FILHO, R. M. Protein-calorie malnutrition in the young pregnant rat; factors involved in fetal growth impairment. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, v. 20, p. 575-577, 1987.
24. MOCK, D. M.; PERMAN, J. A.; THALER, M.; MORRIS-Jr, R. C. Chronic fructose intoxication after infancy in children with hereditary fructose intolerance. A cause of growth retardation. **The New England Journal of Medicine**, v. 309, n. 13, p. 764-770, 1983.
25. NAKAGAWA, T.; TUTTLE, K. R.; SHORT, R. A.; JOHNSON, R. J. Hypothesis: fructose induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. **Nature Clinical Practice Nephrology**, v. 1, p. 80-86, 2005.

26. NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S. P.; HIRATA, R. D. C. Sangue-parte I: Glicídios. In: NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S.; HIRATA, R. D. C. **Métodos de bioquímica clínica**, p. 153-168, 1990.
27. OKITOLONDA, W.; BRICHARD, S. M.; HENKIN, J. C. Repercussions of chronic protein-calorie malnutrition on glucose homeostasis in the rat. **Diabetologia**, v. 30, p. 946-951, 1987.
28. PAPOTI, M.; ALMEIDA, P. B.; PRADA, F. J. A.; ELENIO, T. G.; HERMINI, H. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Maximal lactate steady-state during swimming in rats recovered from protein malnutrition. **Motriz**, v. 9, n. 2, p. 103-110, 2003.
29. RAJASEKAR, P.; ANURADHA, C. V. Fructose-induced hepatic gluconeogenesis: Effect of L-carnitine. **Life Sciences**, v. 80, p. 1176-1183, 2007.
30. RAO, S. S. C.; ATTALURI, A.; ANDERSON, L.; STUMBO, P. The ability of the normal human small intestine to absorb fructose: evaluation by breath testing. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 5, n. 8, p. 959-963, 2007.
31. REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY-JR, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of AIN-76A. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.
32. ROGLANS, R.; VILA, L.; FARRÉ, M.; ALEGRET, M.; SÁNCHEZ, R. M.; VÁZQUEZ-CARRERA, M.; LAGUNA, J. C. Impairment of hepatic stat-3 activation and reduction of PPAR_α activity in fructose-fed rats. **Hepatology**, v. 45, p. 778-788, 2007.
33. SANCHEZ-LOZADA, L. G.; TAPIA, E.; JIMÉNEZ, A.; BAUTISTA, P.; CRISTÓBAL, M.; NEPOMUCENO, T.; SOTO, V.; AVILA-CASADO, C.; NAKAGAWA, T.; JOHNSON, R. J.; HERRERA-ACOSTA, J.; FRANCO, M. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 292, p. F423-F429, 2007.
34. SHARABI, Y.; ORON-HERMAN, M.; KAMARI, Y.; AVNI, I.; PELEG, E.; SHABTAY, Z.; GROSSMAN, E.; SHAMISS, A. Effect of PPAR- γ agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. **American Journal of Hypertension**, v. 20, n. 2, p. 206-210, 2007.
35. SHEPHERD, S. J.; GIBSON, P. R. Fructose malabsorption and symptoms of irritable bowel syndrome: Guidelines for effective dietary management. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 106, p. 1631-1639, 2006.

36. SILVA, M. P.; STEVANATO, E.; MOREIRA, V. M.; PORTO, M.; MELLO, M. A. R. Efeitos da desnutrição intra-uterina e da recuperação nutricional sobre respostas metabólicas ao exercício crônico em ratos jovens. **Motriz**, v. 5, n. 2, p. 152-159, 1999.
37. TORUN, B.; VITERI, F. E. Influence of exercise on linear growth. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, n. 1, p. S186-190, 1994.
38. VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p 1389-1394, 2002.
39. VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Determination of metabolic transition by lactate minimum test in malnourished rats during swimming exercise. **Revista da Educação Física/UEM**, v. 18, n. 1, p. 33-39, 2007.
40. WALLIS, G. A.; HULSTON, C. J.; MANN, C. H.; ROPER, H. P.; TIPTON, K. D.; JEUKENDRUP, A. R. Postexercise muscle glycogen synthesis with combined glucose and fructose ingestion. **Medicine Science Sports Exercise**, v. 40, n. 10, p. 1789-1794. 2008
41. WASSERMANN, K.; MCILROY, M. B. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. **American Journal of Cardiology**, v. 14, p. 844-52, 1964.
42. WHO - World Health Organization. Core Health Indicators. Available from: <http://www.who.int/whosis/database/core/core_select_process.cfm?countries=all&indicators=child_overnutrition> [2008 fev 18].

3.4 CAPÍTULO 4

=====

Respostas metabólicas ao exercício físico agudo em ratos jovens recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose. **Lipids in Health and Disease**, vol. 10, p. 164, 2011 (publicado/ANEXO 4).

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar aspectos metabólicos e a resposta ao exercício físico agudo de ratos recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose. Ratas Wistar foram alimentadas durante a gestação com dieta balanceada (B) ou hipoproteica (H). Após o nascimento, as crias foram divididas em quatro grupos até os 60 dias, de acordo com as dietas recebidas: balanceada (B): dieta B durante todo o experimento; balanceada/frutose (BF): dieta B até o nascimento e depois dieta rica em frutose (F); hipoproteica/balanceada (HB): dieta H até o nascimento e depois dieta B; hipoproteica/frutose (HF): dieta H até o nascimento e depois dieta F. Ao nascimento, confirmou-se a desnutrição pelos baixos valores de glicose, albumina e proteínas totais séricas e altos níveis de glicogênio e lipídios hepáticos, que foram restabelecidos, independentemente da dieta adotada. O excesso de frutose reduziu o ganho de peso corporal, sobretudo no grupo BF. Além disso, o colesterol total e LDL colesterol foram superiores neste grupo. No grupo HF, o colesterol total e o glicogênio muscular aumentaram. O exercício físico agudo aumentou as concentrações séricas de glicose, triglicerídeos, HDL colesterol e os lipídios hepáticos, assim como reduziu as concentrações de glicogênio muscular em todos os grupos. Assim, o excesso de frutose induziu alguns sinais da síndrome metabólica e a maioria das respostas ao exercício físico agudo não foi influenciada pela desnutrição prévia e/ou pela sobrecarga de frutose.

Palavras chaves: desnutrição, recuperação nutricional, síndrome metabólica, metabolismo, exercício físico, máxima fase estável de lactato.

Introdução

A incidência mundial da desnutrição grave vem reduzindo. Porém, a desnutrição considerada “leve” ou “moderada”, o nanismo infantil e as anemias gestacionais associadas ao baixo peso ao nascer ainda são fortemente prevalentes nos países do terceiro mundo. Em 2000, a incidência de crianças nascidas com baixo peso em termos mundiais foi de cerca de 15,5%, sendo o maior índice (27,1%) observado no sul da Ásia. Por ano, nascem mais de 20 milhões de crianças com baixo peso, nos países em desenvolvimento (WHO, 2008).

A desnutrição intrauterina pode “programar” os tecidos fetais tornando-os mais vulneráveis a distúrbios associados à alimentação, tais como diabetes tipo 2, síndrome metabólica e demais doenças crônico-degenerativas na idade adulta (HALES; BARKER, 1992; BERTRAM; HANSON, 2001). Do mesmo modo, o excesso no consumo de frutose nos hábitos alimentares da sociedade contemporânea tem interessado os pesquisadores da área da saúde. Existem evidências clínicas e epidemiológicas que indicam associação entre consumo excessivo de frutose, amplamente utilizada como adoçante em refrigerantes e outros alimentos industrializados e o desenvolvimento da síndrome metabólica (ELLIOTT et al., 2002; NAKAGAWA et al., 2005). Assim, torna-se relevante verificar se organismos submetidos à desnutrição precoce são mais susceptíveis aos efeitos metabólicos deletérios da sobrecarga de frutose na alimentação.

A maior parte dos trabalhos com modelos animais analisa a influência da desnutrição precoce unicamente sobre variáveis de repouso, geralmente após o nascimento ou desmame. Igualmente, a recuperação nutricional é frequentemente realizada com dietas balanceadas e na ausência de exercícios físicos (OKITOLONDA et al., 1987; LATORRACA et al., 1998b). Por outro lado, sinais da síndrome metabólica são desencadeados em ratos adultos pela administração de dietas ricas em frutose, tais como, hipertensão, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e resistência à insulina (HWANG et al., 1987; GIRARDI et al., 2006; MOURA et al., 2008; CAMBRI et al., 2010). Deste modo, as interações entre recuperação nutricional, dieta rica em frutose, efeito do exercício físico se tornam um interessante tema de pesquisa.

Alguns estudos demonstraram efeitos benéficos do exercício físico crônico no crescimento crianças (TORUN; VITERI, 1994) e de ratos (GALDINO et al., 2000) desnutridos, indicando que o exercício físico pode influenciar favoravelmente na recuperação nutricional. Do mesmo modo, embora, ainda não haja consenso quanto aos efeitos crônicos do exercício físico sobre a síndrome metabólica, são evidentes os benefícios do mesmo nas

patologias que a compõem, como obesidade (RICE et al., 1999; RECTOR et al., 2008), diabetes mellitus (KRISKA, 2000; RECTOR et al., 2008), dislipidemias (HALLE et al., 1999; RECTOR et al., 2008) e hipertensão (BARONE et al., 2009). No entanto, faltam informações quanto ao efeito agudo de exercícios físicos em organismos recuperados de desnutrição e/ou alimentados com dieta rica em frutose. Com isto, é importante avaliar alguns parâmetros metabólicos após exercício realizado na máxima fase estável de lactato, uma vez que esta intensidade pode constituir-se numa prescrição de exercício apropriada e poderá posteriormente ser utilizada no treinamento físico em longo prazo visando melhorar os parâmetros metabólicos associados à síndrome metabólica, assim como, para determinar os possíveis efeitos benéficos do treinamento físico durante a reabilitação nutricional.

Portanto, o objetivo deste trabalho é avaliar aspectos metabólicos em ratos jovens recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose, assim como analisar a resposta aguda ao exercício de natação realizado na intensidade de máxima fase estável de lactato nestes animais.

Material e Métodos

Animais e dietas

Foram utilizadas ratas adultas (90 dias), da linhagem Wistar, prenhez, mantidas em sala com temperatura ambiente de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro, com as luzes acesas das 06:00 às 18:00 h e com livre acesso à água e ao alimento durante todo o experimento. Todos os procedimentos adotados com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), sob o protocolo nº 1487-1.

Foram empregadas dietas isocalóricas (3,766 kcal/g) balanceada (17% proteína), hipoproteica (6% proteína) e rica em frutose (60% frutose), conforme composição descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Composição das dietas.

Componentes (g/kg)	Balanceada (17%)¹	Hipoproteica (6%)²	Frutose (60%)³
Caseína⁴	202	71,5	202
Amido	397	480	-
Dextrina	130,5	159	-
Sacarose	100	121	27,6
Frutose	-	-	600
L-cistina	3	1	3
Óleo de soja	70	70	70
Mistura de sais (AIN-93GMX)¹	35	35	35
Mistura de vitaminas (AIN-93GVX)¹	10	10	10
Fibra	50	50	50
Cloridrato de colina	2,5	2,5	2,5

¹De acordo com American Institute of Nutrition (AIN-93G) – (REEVES et al., 1993). Dieta contendo 17% de proteína,

²De acordo com Latorraca et al. (1998). Dieta contendo 6% de proteína,

³De acordo com Moura et al. (2008). Dieta contendo 17% de proteína e 60% de frutose.

⁴Valores corrigidos em função do conteúdo de proteína na caseína.

Grupos experimentais

De acordo com a dieta recebida durante a prenhez, as ratas foram separadas em dois grupos: balanceada (B) - dieta contendo 17% de proteína e hipoproteica (H) - dieta contendo 6% de proteína.

Imediatamente após o nascimento, oito neonatos machos B e oito neonatos machos H, foram pesados e mortos para a determinação das concentrações séricas de glicose, proteínas totais e albumina (NOGUEIRA et al., 1990) e hepáticas de glicogênio (DUBOIS et al., 1956) e lipídios totais (NOGUEIRA et al., 1990), visando constatar a instalação da desnutrição no grupo H. As crias do sexo masculino remanescentes foram distribuídas em quatro grupos (n=20 por grupo) de acordo com o regime alimentar adotado até os 60 dias. As ninhadas foram ajustadas para que cada mãe amamentasse apenas 8 filhotes. No período de amamentação (nascimento aos 21 dias), foram as mães que receberam as dietas correspondentes:

- Balanceada (B): dieta contendo 17% de proteína durante todo o período experimental;

- Balanceada/frutose (BF): dieta contendo 17% de proteína até o nascimento e dieta rica em frutose do nascimento até os 60 dias;
- Hipoproteica/Balanceada (HB): dieta contendo 6% de proteína até o nascimento e dieta com 17% de proteína do nascimento até os 60 dias;
- Hipoproteica/Frutose (HF): dieta contendo 6% de proteína até o nascimento e dieta rica em frutose do nascimento até os 60 dias.

Todos os ratos tiveram peso corporal registrado uma vez por semana, do desmame (21 dias) até os 60 dias.

Obtenção de material biológico

Ao final do experimento, metade dos ratos de cada grupo foi morta em repouso por decapitação, 48 horas após a última avaliação “in vivo”. Os demais foram submetidos, imediatamente antes da eutanásia, a sessão única de exercício de natação, por 20 minutos, suportando sobrecarga equivalente à máxima fase estável de lactato, determinada conforme Gobatto et al. (2001). A máxima fase estável de lactato é definida como a concentração de lactato e a carga de trabalho mais elevadas que podem ser sustentadas, durante sessões de exercício físico com cargas fixas, sem acúmulo contínuo do lactato sanguíneo (HECK et al., 1985). A carga associada à máxima fase estável de lactato é frequentemente utilizada para a prescrição de treinamento e avaliação do condicionamento aeróbio (KINDERMANN; SIMON; KEUL, 1979). No presente estudo, a média da carga correspondente à máxima fase estável de lactato variou entre 7,4 e 7,7 % em relação ao peso corporal, não tendo diferenças significativas entre os grupos.

Os ratos estavam adaptados ao meio líquido, uma vez que anteriormente aos testes de natação para determinação da capacidade aeróbia pela máxima fase estável de lactato, os ratos foram adaptados ao meio líquido durante 10 dias, com o objetivo de reduzir o estresse frente ao exercício físico realizado na água.

O sangue foi coletado, imediatamente após a morte dos animais, para a separação do soro visando dosagens de glicose, triglicerídeos, colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol, proteínas totais e albumina por métodos colorimétricos (LABORLAB[®], Guarulhos, São Paulo/Brasil).

O tecido adiposo das regiões mesentérica, retroperitonal e subcutânea posterior foi removido para pesagem e determinação das concentrações de lipídios totais. A excisão dos diferentes depósitos de gordura foi realizada de acordo com a descrição de Cinti (2005). As concentrações de lipídios nesses depósitos foram determinadas pelo procedimento descrito

por Nogueira et al. (1990). Amostras do fígado e do músculo sóleo foram retiradas para a determinação das concentrações de glicogênio (DUBOIS et al., 1956) e amostras do fígado para determinação de lipídios totais (NOGUEIRA et al., 1990).

Análise Estatística

Para as comparações entre recém-nascidos utilizou-se teste t de Student's. Para as comparações entre os grupos (intergrupo), tanto em repouso, quanto após exercício físico agudo, ao final do experimento utilizou-se Anova Two-Way, seguida de Post-Hoc de Newman-Keuls quando necessário. Para as comparações entre repouso vs exercício físico agudo utilizou-se teste t de Student's. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

A dieta hipoproteica causou, ao nascimento, redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) do peso corporal (B: $6,66 \pm 0,79$; H: $5,32 \pm 0,85$ g), dos valores de glicemia (B: 80 ± 10 ; H: 67 ± 18 mg/dl), albuminemia (B: $3,37 \pm 0,20$; H: $1,29 \pm 0,19$ mg/dl), proteinemia (B: $7,43 \pm 1,83$; H: $3,95 \pm 1,83$ mg/dl), e incremento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) nas concentrações de lipídios (B: $7,12 \pm 1,69$; H: $17,74 \pm 5,46$ mg/100g) e glicogênio hepáticos (B: $2,02 \pm 0,59$; H: $2,46 \pm 0,22$ mg/100g).

A Tabela 2 apresenta o ganho de peso corporal do desmame ao final do experimento e peso do tecido adiposo de diferentes regiões anatômicas ao final do experimento, onde se observa que o ganho de peso corporal foi influenciado pela desnutrição e pelo excesso de frutose consumido, pois todos os grupos apresentaram diferenças significativas entre si ($p < 0,05$). O grupo que recebeu dieta rica em frutose após o nascimento (BF) teve o menor ganho de peso corporal comparado aos demais, seguido pelo grupo que também recebeu dieta rica em frutose após o nascimento, mas foi desnutrido no período fetal (HF). Igualmente, o peso do tecido adiposo da região subcutânea foi influenciado pela desnutrição e pelo excesso de frutose na dieta, uma vez que todos os grupos apresentaram menores pesos de tecido adiposo nesta região do que o controle (B).

Quanto à concentração de lipídios totais no tecido adiposo ao final do experimento (Tabela 2), somente o grupo BF apresentou valores superiores, comparado ao controle (B), para a região retroperitoneal.

Tabela 2: Ganho de peso corporal do desmame ao final do experimento (21 dias) e peso e concentração de lipídios totais do tecido adiposo de diferentes regiões anatômicas ao final do experimento (60 dias).

	B	BF	HB	HF
Ganho de peso corporal (g)	161,4±25,2 ^a	103,4±29,6 ^b	186,1±29,8 ^c	134,5±22,9 ^d
Peso do tecido adiposo mesentérico (mg/100mg)	0,57±0,14	0,45±0,17	0,48±0,10	0,55±0,11
Peso do tecido adiposo retroperitoneal (mg/100mg)	0,35±0,13	0,25±0,06	0,38±0,13	0,37±0,09
Peso do tecido adiposo subcutâneo (mg/100mg)	0,55±0,08 ^a	0,40±0,10 ^b	0,42±0,07 ^b	0,39±0,13 ^b
Lipídios do tecido adiposo mesentérico (mg/100mg)	70,23±15,60	59,57±13,90	64,32±17,09	75,42±17,73
Lipídios do tecido adiposo retroperitoneal (mg/100mg)	21,35±8,72 ^a	35,59±9,78 ^b	31,36±8,78 ^{ab}	28,67±6,68 ^{ab}
Lipídios do tecido adiposo subcutâneo posterior (mg/100mg)	38,74±9,77	37,32±5,24	33,67±7,25	31,26±3,38

Resultados expressos como média±desvio padrão de 10 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos. Anova Two-Way e Post-Hoc de Newman-Keuls ($p<0,05$).

Na tabela 3 e figura 1, verifica-se que aos 60 dias as proteínas totais e albumina sérica, e glicogênio e lipídeos hepáticos, que estavam alteradas ao nascimento devido à desnutrição fetal, foram restauradas, independente da dieta administrada, durante a recuperação nutricional. Contudo, as concentrações de glicose sérica não foram completamente restabelecidas com a dieta rica em frutose após desnutrição fetal (HF). Com relação ao perfil lipídico, este foi alterado no grupo BF, pois o colesterol total e LDL colesterol foram superiores nesse grupo ($p<0,05$) comparado ao grupo B. Entretanto, no grupo HF, houve incremento estatisticamente significativo ($p<0,05$) apenas do colesterol total. Os triglicerídeos foram mais elevados ($p<0,05$) no grupo BF comparado ao HF.

O exercício físico agudo aumentou ($p<0,05$) as concentrações de glicose, triglicerídeos e HDL colesterol séricos em todos os grupos, comparado ao repouso (intra-grupo), contudo este incremento não foi diferente entre os mesmos (intergrupos). O colesterol total modificou-

se ($p<0,05$) após o exercício físico somente nos grupos que ingeriram dieta B na fase intrauterina (B e BF) e o LDL colesterol reduziu ($p<0,05$) apenas no grupo BF.

Tabela 3: Parâmetros séricos em repouso (R) e após exercício físico agudo (E) ao final do experimento (60 dias).

		B	BF	HB	HF
Glicose (mg/dL)	R	107±15 ^a	110±9 ^a	106±19 ^a	83±25 ^b
	E	126±31*	134±26*	148±35*	152±26*
Triglicerídeos (mg/dL)	R	61±13 ^{ab}	79±12 ^a	66±28 ^{ab}	53±23 ^b
	E	95±25*	106±30*	110±22*	104±29*
Colesterol total (mg/dL)	R	67±14 ^a	124±21 ^b	89±26 ^a	119±27 ^b
	E	81±13 ^{a*}	105±14 ^{b*}	82±16 ^a	97±26 ^{ab}
HDL colesterol (mg/dL)	R	39±6 ^a	47±4 ^b	36±4 ^a	39±8 ^a
	E	50±5 ^{ab*}	54±6 ^{a*}	45±4 ^{b*}	50±7 ^{ab*}
LDL colesterol (mg/dL)	R	59±14 ^a	75±14 ^b	53±15 ^a	50±16 ^a
	E	58±9	57±11*	49±12	53±10
Proteínas totais (g/dL)	R	5,5±0,1 ^a	5,6±0,1 ^a	5,5±0,3 ^a	5,8±0,2 ^b
	E	5,6±0,1*	5,7±0,1	5,7±0,1	5,7±0,1
Albumina (g/dL)	R	3,9±0,3 ^a	3,8±0,2 ^a	4,2±0,3 ^b	4,1±0,6 ^b
	E	3,9±0,2	3,9±0,2	3,9±0,2*	3,9±0,3

Resultados expressos como média±desvio padrão de 10 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos. Anova Two-Way e Post-Hoc de Newman-Keuls ($p<0,05$).

*diferença entre repouso vs exercício físico agudo pelo teste T de Student's

Não houve diferenças entre os grupos nas concentrações de glicogênio hepático em repouso, assim como, o exercício físico não alterou esta variável. Contudo, no grupo BF o exercício físico parece ter impedido a degradação do glicogênio e/ou estimulado a sua síntese, o qual apresentou maiores valores ($p<0,05$) que os grupos que ingeriram dieta balanceada após o nascimento (B e HB).

Os lipídios totais do fígado não apresentam diferenças entre os grupos, tanto na situação em repouso quanto após exercício físico agudo. Entretanto, o exercício físico agudo incrementou significativamente ($p<0,05$) as concentrações de lipídios em todos os grupos, comparado com o repouso.

A dieta rica em frutose após desnutrição fetal (HF) incrementou ($p<0,05$) as concentrações de glicogênio no músculo sóleo. No entanto, o exercício físico reduziu ($p<0,05$) as concentrações de glicogênio muscular em todos os grupos, as quais não foram diferentes entre os mesmos após o exercício.

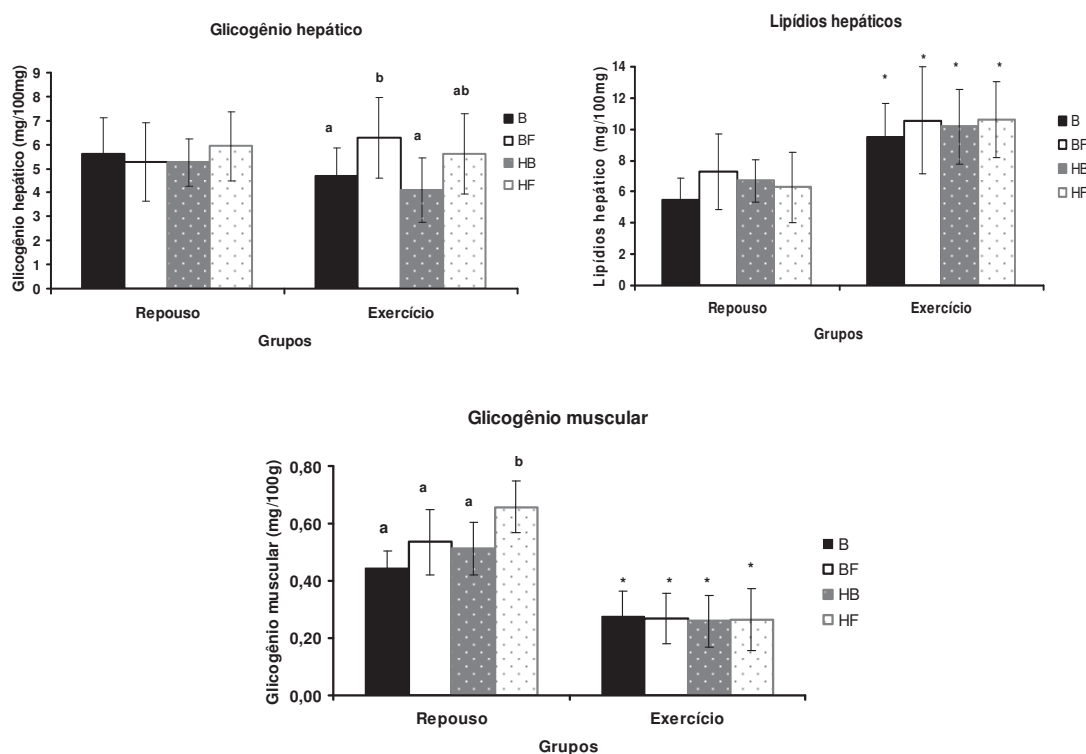


Figura 1: Variáveis teciduais (mg/100g) em repouso e após exercício físico agudo ao final do experimento (60 dias).

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão de 10 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos. Anova Two-Way e Post-Hoc de Newman-Keuls ($p<0,05$).

*diferença entre repouso vs exercício físico agudo pelo teste T de Student's.

Discussão

O objetivo deste trabalho foi avaliar aspectos metabólicos em modelo experimental com ratos jovens recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose, assim como analisar a resposta metabólica aguda a uma sessão de exercício físico realizado na intensidade de máxima fase estável de lactato. Isto porque, muitas vezes os estudos sobre efeitos metabólicos dos exercícios físicos em modelos animais são criticados devido à falta de

informação sobre a intensidade de esforço realizada durante o exercício físico. A dieta utilizada no presente estudo mostrou-se eficiente em induzir a desnutrição no período fetal, pois reduziu peso corporal, glicemia, albumina e proteínas totais, e aumentou lipídios e glicogênio hepáticos nos ratos recém-nascidos, o que se assemelha a vários estudos que empregaram metodologia similar (MELLO et al., 1987; LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; GALDINO et al., 2000).

De forma semelhante a alguns trabalhos reportados na literatura, os quais utilizaram dieta balanceada na recuperação nutricional (OKITOLONDA et al., 1987; DAHRI et al., 1995; LATORRACA et al., 1998b), no presente estudo, houve o restabelecimento das variáveis séricas proteínas totais e albumina, assim como as variáveis teciduais, glicogênio e lipídios hepáticos, independente da dieta adotada na recuperação nutricional. Porém, a glicose sérica não normalizou no grupo HF, o que aponta uma eficiência parcial da dieta rica em frutose na habilidade de recuperação da desnutrição.

Os ratos que consumiram dieta rica em frutose apresentaram menor ganho de peso corporal, sobretudo, os que não foram desnutridos no período fetal (BF). A partir disso, pode-se inferir que a desnutrição intrauterina amenizou o prejuízo no ganho de peso corporal, causado pela frutose. Diversos estudos demonstram que o peso corporal não difere entre os animais que consomem dieta balanceada ou rica em frutose (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006; RAJASEKAR; ANURADHA, 2007; SANCHEZ-LOZADA et al., 2007; MOURA et al., 2008). Esta redução no ganho de peso pode ser devida à intolerância à frutose, pelo excesso deste componente na dieta, administrado numa fase primordial (neonatal). Recentemente, foi mostrado que, sob condições normais, em ratos no período de amamentação e desmame, os níveis intestinais de GLUT-5 (o transportador de frutose na membrana celular) e as taxas de transporte de glicose são muito baixos. Contudo, após o desmame a expressão e a atividade d GLUT-5 são incrementadas e parecem ser normalizadas (DOUARD; FERRARIS, 2008).

Nestes casos, retirar a frutose da dieta é essencial para reduzir os danos causados pela mesma (SHEPHERD et al., 2006). Em estudo prévio, com idêntico modelo experimental (CAMBRI et al., 2010), exceto pelo maior tempo de exposição a dieta (até a idade adulta), verificou-se este mesmo comprometimento no ganho de peso nos ratos que ingeriram dieta rica em frutose. Todavia, além deste estudo mencionado, não há outros dados na literatura sobre danos no crescimento em animais imposto pelo consumo precoce de frutose, pois os estudos que utilizam dieta rica em frutose administram a dieta a partir do desmame ou na fase

adulta e nunca desde o nascimento. Dessa forma, estudos complementares sobre este tema são de extrema importância.

A frutose é considerada mais lipogênica que a glicose (SANCHEZ-LOZADA et al., 2007). Por isto, sua elevada ingestão é aceita como responsável pelos elevados níveis de triglicerídeos plasmáticos (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006; RAJASEKAR; ANURADHA, 2007; MOURA et al., 2008; CAMBRI et al., 2010). Alguns mecanismos têm sido sugeridos para elucidar este acontecimento, dentre estes, aumento da lipogênese hepática e elevada produção de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) (ELLIOTT et al., 2002). O metabolismo de frutose no fígado ultrapassa a etapa reguladora da glicólise catalisada pela enzima fosfofrutoquinase. Com isto, a frutose entra continuamente na via glicolítica a gliceraldeído-3-fosfato e dihidroxiacetona fosfato de nível. Ambos são intermediários na síntese de triglicerídeos (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; RAJASEKAR; ANURADHA, 2007).

Por outro lado, os efeitos da frutose no metabolismo do colesterol total são contraditórios, pois alguns estudos evidenciaram aumento no colesterol total (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006; CAMBRI et al., 2010) ao passo que outros não (MOURA et al., 2008). No grupo HF, os triglicerídeos e o LDL colesterol podem não ter aumentado devido ao tempo de exposição à dieta, pois em experimento anterior realizado pelo nosso grupo de pesquisa até os 90 dias, os triglicerídeos apresentaram-se elevados, tanto no grupo BF quanto no HF (CAMBRI et al., 2010). Podendo-se inferir que a desnutrição proteica exerce um efeito protetor contra o desenvolvimento de alguns sinais da síndrome metabólica em curto prazo. Uma explicação é que, como nós estudamos animais jovens (60 dias de idade), provavelmente, eles ainda estavam num estágio de recuperação da desnutrição, ou seja, primeiramente há a estabilização dos parâmetros afetados pela desnutrição intrauterina, em relação ao grupo controle, e depois disto a elevação destes parâmetros. Com isto, o ideal seria conduzir estudos com análises destes parâmetros em diferentes idades, ratos jovens, ratos adultos e ratos adultos maduros. De forma análoga a alguns dos resultados do presente estudo, as concentrações de glicose, ácidos graxos livres (AFONSO et al., 2003; ROGATTO et al., 2004), colesterol total (AFONSO et al., 2003), HDL colesterol (GORDON et al., 1998) e cortiscoterona (AFONSO et al., 2003; ROGATTO et al., 2004) aumentaram e a insulina e o glicogênio muscular reduziram (AFONSO et al., 2003; ROGATTO et al., 2004), após sessão única de exercício de natação em ratos (AFONSO et al., 2003; ROGATTO et al., 2004) e esteira rolante em humanos (GORDON et al., 1998). A resposta hiperglicêmica observada provavelmente está associada ao aumento da glicogenólise hepática pelo incremento da

atividade simpática ou devido à maior gliconeogênese pelo aumento na secreção de hormônios glicocorticóides, como corticosterona nos animais (AFONSO et al., 2003; ROGATTO et al., 2004) e cortisol em humanos (HORTON et al., 2006). Essa resposta pode, também, estar relacionada à maior secreção de hormônios contra-regulatórios, como hormônio do crescimento, catecolaminas e glucagon após exercício físico agudo (RAMEL et al., 2004, HORTON et al., 2006, KOH et al., 2007) os quais são responsáveis por uma maior disponibilidade de glicose à musculatura ativa.

Alguns estudos não observaram aumento na glicemia (MAGKOS et al. 2009), nos triglicerídeos (GRANDJEAN et al., 2000; MAGKOS et al. 2007; MAGKOS et al. 2008; MAGKOS et al. 2009), colesterol total e HDL colesterol (GRANDJEAN et al., 2000; MAGKOS et al. 2008) após sessão única de exercício. As divergências entre os resultados destes estudos podem estar ligadas aos diferentes protocolos experimentais e as características dos grupos avaliados, o que inclui modalidade, intensidade e duração da sessão aguda de exercício físico, idade, níveis basais de perfil lipídico e condicionamento físico dos avaliados.

A redução nas concentrações de glicogênio muscular está associada com o incremento da glicogenólise muscular pelo aumento agudo dos hormônios catabólicos (AFONSO et al., 2003; ROGATTO et al., 2004, RAMEL et al., 2004, KOH et al., 2007). Depende, também, da intensidade do exercício físico, uma vez que, estudos mostram que a redução do glicogênio muscular é maior a 76% do que a 48% $VO_{2máx}$ (HARVEY et al., 2007). No presente estudo, os dados obtidos sugerem maior utilização do glicogênio muscular preferencialmente aos lipídios, corroborando com a ideia de que uma maior intensidade de exercício físico esta relacionada à maior depleção do glicogênio muscular, pois o exercício físico agudo foi realizado na intensidade referente à máxima fase estável de lactato. O tempo de exercício do presente estudo (20 minutos) igualmente explica a maior utilização de carboidratos, pois conforme Schrauwen-Hinderling et al. (2003), este metabolismo foi predominante aos 30 minutos de exercício físico a 55% $VO_{2máx}$. Neste estudo, os lipídios intramusculares incrementam na musculatura inativa comparada a musculatura ativa durante exercício físico devido à maior disponibilidade nos ácidos graxos livres plasmáticos, com concomitante aumento na captação de ácidos graxos livres pelo tecido muscular (SCHRAUWEN-HINDERLING et al., 2003). Tal fato pode explicar a elevação dos lipídios hepáticos após exercício físico verificado no presente estudo. Uma vez que, a liberação de ácidos graxos livres por lipólise do tecido adiposo excede a capacidade de oxidação da musculatura ativa durante exercício físico prolongado (MAGKOS et al., 2007), o restante pode ser reesterificado

no tecido adiposo, musculatura esquelética ativa ou inativa e fígado (SCHRAUWEN-HINDERLING, 2003).

A partir dos dados obtidos, pode-se verificar que o excesso de frutose na dieta reduziu o ganho de peso corporal dos ratos, sobretudo nos que não foram desnutridos durante a fase fetal (BF). Além disso, as elevadas concentrações séricas de colesterol total e LDL colesterol, constatadas neste grupo (BF), são indicadores do desenvolvimento de alguns sinais da síndrome metabólica, diferentemente do grupo que consumiu frutose após desnutrição proteica (HF), no qual somente concentrações séricas de colesterol total aumentaram. Com isto, a desnutrição proteica pareceu exercer uma proteção contra os efeitos da frutose em curto prazo. Essas observações contrariam a hipótese de que organismos desnutridos precocemente seriam mais susceptíveis aos efeitos metabólicos deletérios do excesso de frutose na dieta.

Quanto ao efeito do exercício físico agudo, a maioria das respostas metabólicas foi similar nos diferentes grupos, independente da desnutrição prévia e da sobrecarga de frutose. Esses dados indicam a importância de novas pesquisas, objetivando esclarecer questões ainda obscuras sobre os efeitos do consumo excessivo de frutose na intolerância à mesma e de sinais da síndrome metabólica em ratos Wistar, em diferentes idades e períodos de administração e as respostas tanto aguda quanto crônica, ao exercício físico.

Um fato importante, é que a exposição dos animais desnutridos recuperados com diferentes dietas a uma seção de exercício físico aguda na intensidade da máxima fase estável de lactato, não causa sérias alterações metabólicas comparadas ao grupo controle, sugerindo que esta intensidade de exercício físico é segura do ponto de vista metabólico e pode ser utilizada no treinamento físico em longo prazo visando melhorar os parâmetros metabólicos inicialmente alterados pelo modelo experimental em questão.

Referências

1. AFONSO, M.; SOUZA, C. N.; ZAGATTO, A. M.; LUCIANO, E. Respostas metabólicas agudas ao exercício físico moderado em ratos Wistar. **Motriz**, v. 9, n. 2, p. 83-88, 2003.
2. BARONE, B. B.; WANG, N. Y.; BACHER, A. C.; STEWART, K. J. Decreased exercise blood pressure in older adults after exercise training: contributions. **British Journal of Sports Medicine**, v. 43: p. 52-56, 2009.
3. BERTRAM, E. C.; HANSON, M. A. Animal models and programming of the metabolic syndrome. **British Medical Bulletin**, v. 60, p. 103-121, 2001.

4. CAMBRI, L. T.; GHEZZI, A. C.; RIBEIRO, C.; DALIA, R. A.; MELLO, M. A. R. Recovery of rat growth and lipid profiles in adult rats subjected to fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet. **Nutrition Research**, v. 30, n. 2, p. 156-162, 2010.
5. CINTI, S. The adipose organ. prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids v. 73, p. 9-15, 2005.
6. DAHRI, S.; REUSENS, B.; REMACLE, C.; HOET, J. J. Nutritional influences on pancreatic development and potential links with non-insulin-dependent diabetes. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 54, p. 345-356, 1995.
7. DOUARD, V.; FERRARIS, R.P. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. **American Journal of Physiology and Endocrinology Metabolism**, v. 295, p. E227-E237, 2008.
8. DUBOIS, B.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A. Colorimetric method for determination of sugar and relate substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
9. ELLIOTT, S. S.; KEIM, N. L.; STERN, J. S.; TEFF, K.; HAVEL, P. J. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **American Journal Clinical of Nutrition**, v. 76, p. 911-922, 2002.
10. GALDINO, R. S.; ALMEIDA, C. C. S.; LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. **Nutrition Research**, v. 20, n. 4, p. 527-535, 2000.
11. GHEZZI, A. C.; CAMBRI, L. T.; RIBEIRO, C.; BOTEZELLI, J. D.; MELLO, M. A. R. Impact of early fructose intake on metabolic profile and aerobic capacity of rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, p. 3, 2011.
12. GIRARD, A.; MADANI, S.; BOUKORTT, F.; CHERKAOUI-MALKI, M.; BELLEVILLE, J.; PROST, J. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. **Nutrition**, v. 22, p. 758-766, 2006.
13. GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry Physiology - Molecular & Integrative Physiology**, v. 130A, p. 21-27, 2001.
14. GORDON, P M.; FOWLER, S.; WARTY, V.; DANDUURAN, M.; VISICH, P.; KETAYIAN, S. Effects of acute exercise on high density lipoprotein cholesterol and high density lipoprotein subfractions in moderately trained females. **British Journal of Sports Medicine**, v. 32, p. 63-67, 1998.

15. GRANDJEAN, P. W.; CROUSE, S. F.; ROHACK, J. J. Influence of cholesterol status on blood lipid and lipoprotein enzyme responses to aerobic exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 89, p. 472-480, 2000.
16. HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, v. 35, p. 595-601, 1992.
17. HALLE, M.; BERG, A.; GARWERS, U.; BAUMSTARK, M. W.; KNISE, L. W.; GRATHWOHL, D.; et al. Influence of 4 weeks' intervention by exercise and diet on low-density lipoprotein subfractions in obese men with type 2 diabetes. **Metabolism**, v. 48, n. 5, 641-644, 1999.
18. HARVEY, C. R.; FREW, R.; MASSICOTTE, D.; PÉRONNET, F.; REHRER, N. J. Muscle glycogen oxidation during prolonged exercise measured with oral [13C] glucose: comparison with changes in muscle glycogen content. **Journal of Applied Physiology**, v. 102, p. 1773-1779, 2007.
19. HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MUCKE, S.; MULLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **International Journal of Sports Medicine**, v. 6, p. 117-130, 1985.
20. HORTON, T. J.; GRUNWALD, G. K.; LAVELY, J.; DONAHOO, W. T. Glucose kinetics differ between women and men, during and after exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 100, p. 1883-1894, 2006.
21. HWANG, I. S.; HO, H.; HOFFMAN, B. B.; REAVEN, G. M. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. **Hypertension**; Dallas, v. 10, p. 512-516, 1987.
22. KELLEY, G. L.; ALLAN, G.; AZHAR, S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. **Endocrinology**; v. 145, n. 548-555, 2004.
23. KINDERMANN, W.; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, Berlin, v. 42, n. 1, p. 25-34, 1979.
24. KOH, H. J.; HIRSHMAN, M. F.; HE, H.; LI, Y.; MANABE, Y.; BALSCHI, J. A.; GOODYEAR, L. J. Adrenaline is a critical mediator of acute exercise-induced AMP-activated protein kinase activation in adipocytes. **Biochemistry Journal**, v. 403, p. 473-481, 2007.
25. KRISKA, A. Physical activity and the prevention of type 2 diabetes mellitus. how much for how long? **Sports Medicine**, v. 29, n. 3, p. 147-151, 2000.

26. LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C.; MELLO, M. A. R. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. **British Journal of Nutrition**, v. 80, n. 3, p. 291-297, 1998a.
27. LATORRACA, M. Q.; REIS, M. A. B.; CARNEIRO, E. M.; MELLO, M. A. R.; VELLOSO, L. A.; SAAD, M. J. A.; BOSCHERO, A. C. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 10, p. 1643-1649, 1998b.
28. MAGKOS, F.; PATTERSON, B. W.; MOHAMMED, B. S.; MITTENDORFER, B. A. single 1-h bout of evening exercise increases basal FFA flux without affecting VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics in untrained lean men. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 292, p. E1568-E1574, 2007.
29. MAGKOS, F.; TSEKOURAS, Y. E.; PRENTZAS, K. I.; BASIOUKAS, K. N.; MATSAMA, S. G.; YANNI, A. E.; KAVOURAS, S. A.; SIDOSSIS, L. S. Acute exercise induced changes in basal VLDL-triglyceride kinetics leading to hypotriglyceridemia manifest more readily after resistance than endurance exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 105, p. 1228-1236, 2008.
30. MAGKOS, F.; PATTERSON, B. W.; MOHAMMED, B. S.; MITTENDORFER, B. Basal adipose tissue and hepatic lipid kinetics are not affected by a single exercise bout of moderate duration and intensity in sedentary women. **Clinical Science**, v. 116, p. 327-334, 2009.
31. MELLO, M. A. R.; CURY, L.; VALLE, L. B. S.; OLIVEIRA-FILHO, R. M. Protein-calorie malnutrition in the young pregnant rat; factors involved in fetal growth impairment. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, v. 20, p. 575-577, 1987.
32. MOURA, R. F.; CAMBRI, L. T.; QUADROS JUNIOR, A. C.; NASCIMENTO, C. M. C.; ARANTES, L. M.; SEBASTIÃO, E.; TANAKA, K.; PAPINI, C. B.; OLIANI, M. M.; MOTA, C. S. A.; RIBEIRO, C.; MELLO, M. A. R. Aerobic capacity of rats fed with fructose rich diet. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.14, n. 5, p. 422-426, 2008.
33. NAKAGAWA, T.; TUTTLE, K. R.; SHORT, R. A.; JOHNSON, R. J. Hypothesis: fructose induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. **Nature Clinical Practice Nephrology**, v. 1, p. 80-86, 2005.
34. NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S. P.; HIRATA, R. D. C. 1990. Sangue-parte I: Glicídios. In: Métodos de bioquímica clínica. Edited by D. M. Nogueira, B. Strufaldi, M.H. Hirata, D.S Abdalla, R. D. C Hirata. pp. 153-168.

35. OKITOLONDA, W.; BRICHARD, S. M.; HENKIN, J. C. Repercussions of chronic protein-calorie malnutrition on glucose homeostasis in the rat. **Diabetologia**, v. 30, p. 946-951, 1987.
36. RAJASEKAR, P.; ANURADHA, C. V. Fructose-induced hepatic gluconeogenesis: Effect of L-carnitine. **Life Sciences**, v. 80, p. 1176-1183, 2007.
37. RAMEL, A.; WAGNER, K-H; ELMADFA, I. Correlations between plasma noradrenaline concentrations, antioxidants, and neutrophil counts after submaximal resistance exercise in men. **British Journal of Sports Medicine**, v. 38, p. 1-3, 2004.
38. RECTOR, R. S; THYFAULT, J. P.; MORRIS, R. P.; LAYE, M. J.; BORENGASSER, S. J.; BOOTH, F. W.; IBDAH, J. A. Daily exercise increases hepatic fatty acid oxidation and prevents steatosis in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rats. **American Journal Physiology of Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 294, p. 619-626, 2008.
39. REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY-JR, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of AIN-76A. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.
40. RICE, B.; JANSSEN, I.; HUDSON, R.; ROSS, R. Effects of aerobic or resistance exercise and/or diet on glucose tolerance and plasma insulin levels in obese men. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 22, n. 5, p. 684-691, 1999.
41. ROGATTO, G. P.; OLIVEIRA, C. A.; FARIA, M. C.; LUCIANO, E. Respostas metabólicas agudas de ratos Wistar ao exercício intermitente de saltos. **Motriz**, v. 10, n. 2, p. 61-66, 2004.
42. SANCHEZ-LOZADA, L. G.; TAPIA, E.; JIMENEZ, A.; BAUTISTA, P.; CRISTÓBAL, M.; NEPOMUCENO, T.; SOTO, V.; AVILA-CASADO, C.; NAKAGAWA, T.; JOHNSON, R. J.; HERRERA-ACOSTA, J.; FRANCO, M. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 292, p. F423-F429, 2007.
43. SHARABI, Y.; ORON-HERMAN, M.; KAMARI, Y.; AVNI, I.; PELEG, E.; SHABTAY, Z.; GROSSMAN, E.; SHAMISS, A. Effect of PPAR- γ agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. **American Journal of Hypertension**, v. 20, n. 2, p. 206-210, 2007.
44. SCHRAUWEN-HINDERLING, V. B.; VAN LOON, L. J. C.; KOOPMAN, R.; NICOLAY, K.; SARIS, W. H. M.; KOOI M. E. Intramyocellular lipid content is increased

after exercise in nonexercising human skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 95, p. 2328-2332, 2003.

45. SHEPHERD, B. P. R.; CROWTHER, N. J.; DESAI, M.; HALES, C. N.; OZANNET, S. E. Altered adipocyte properties in the offspring of protein malnourished rats. **British Journal of Nutrition**, v. 78, p. 121-129, 1997.

46. TORUN, B.; VITERI, F. E. Influence of exercise on linear growth. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, n. 1, p. S186-190, 1994.

47. WHO - World Health Organization. Core Health Indicators. Available from: http://www.who.int/whosis/database/core/core_select_process.cfm?countries=all&indicators=child_overnutrition [2008 fev 18].

3.5 CAPÍTULO 5

=====

Metabolismo muscular da glicose em ratos jovens recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose: efeitos do exercício físico.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o metabolismo muscular da glicose em ratos recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose, em repouso e após exercício físico agudo. Ratas Wistar foram alimentadas durante gestação com dieta balanceada (B) - 17% proteína - ou hipoproteica (H) - 6% proteína. Imediatamente após o nascimento, as crias do sexo masculino foram divididas em grupos conforme a dieta até os 60 dias: Balanceada (B): dieta B durante todo o período experimental; Balanceada/Frutose (BF): dieta B até o nascimento e dieta rica em frutose (F) até 60 dias; Hipoproteica/Balanceada (HB): dieta H até o nascimento e dieta B até 60 dias; Hipoproteica/Frutose (HF): dieta H até o nascimento e dieta F até 60 dias. Ao nascimento, confirmou-se a desnutrição pelos baixos valores de peso corporal e de concentrações séricas de glicose, albumina e proteínas totais. A dieta F recuperou parcialmente o peso corporal e a glicemia. Os demais parâmetros foram restabelecidos ao final do experimento, independentemente da dieta. Nenhum dos grupos apresentou intolerância à glicose, contudo, o grupo HB apresentou maior sensibilidade à insulina. O exercício físico agudo reduziu as concentrações de glicogênio muscular em todos os grupos, embora o grupo HF apresentasse maiores concentrações em repouso. Não houve diferença entre os grupos nos valores em repouso e nem quanto ao efeito agudo do exercício para captação e oxidação da glicose pelo músculo sóleo isolado. Entretanto, a síntese de glicogênio foi maior no grupo HF do que nos demais em repouso. O exercício agudo incrementou a síntese de glicogênio em todos os grupos, e mais uma vez, o grupo HF mostrou os maiores valores. Esses resultados indicam que a dieta rica em frutose administrada em ratos após desnutrição proteica fetal altera alguns aspectos do metabolismo muscular da glicose.

Palavras chaves: desnutrição, recuperação nutricional, frutose, metabolismo da glicose, glicogênio, exercício físico, máxima fase estável de lactato.

Introdução

Existe uma intensa associação entre indivíduos com os mesmos fatores de risco para doenças cardiovasculares. Esta anormalidade foi nomeada por Reaven (1988) de síndrome "X". Seu denominador comum foi representado pela resistência à insulina. Na ocasião, foram propostas cinco características com elevado risco de doença cardiovascular: intolerância à glicose, hiperinsulinemia, aumento de triglicerídeos, diminuição do HDL-C e hipertensão arterial. Entre as causas dessa doença destacam-se distúrbios metabólicos, desnutrição na infância, dificuldade de acesso à alimentação adequada e sedentarismo (REAVEN, 1988). Há controvérsias na identificação da síndrome metabólica em humanos, pois não há um único critério internacional com sua descrição, isto consequentemente origina contradições nos estudos que abordam o tema. Dentre as definições existentes temos a da Organização Mundial da Saúde (WHO, 1999), a do "National Cholesterol Evaluation Program for Adult Treatment Panel III" (NCEP-ATP III, 2001), a proferida pela *American Association of Clinical Endocrinologists* (AACE) e a definição da Federação Internacional de Diabetes (2005), que é a mais recente. Esta considera como critérios: obesidade central e mais dois dos seguintes fatores de risco - diabetes ou pré-diabetes, baixo nível de HDL-C, triglicerídeos elevados e hipertensão.

Segundo dados epidemiológicos, a síndrome metabólica está relacionada ao acréscimo da mortalidade por problemas cardiovasculares em 30 a 400%, dependendo da população estudada, da definição de síndrome adotada e do tipo de estudo (KAHN et al., 2005). Estima-se que a prevalência da síndrome metabólica, nos Estados Unidos, seja de 25 a 29% da população adulta e de 50-60% na população acima de 60 anos. Em 2000, quase 47 milhões de residentes neste país apresentavam síndrome metabólica (FORD et al., 2002). Existem evidências clínicas e epidemiológicas mostrando associação entre a ingestão de frutose, vastamente empregada como adoçante em refrigerantes e outros alimentos e o desenvolvimento da síndrome metabólica (ELLIOTT et al., 2002; NAKAGAWA et al., 2005, DHINGRA et al., 2007). Dentre as fontes de frutose mais utilizadas pela indústria estão a sacarose, obtida da cana de açúcar no Brasil, e o HCFS (high corn fructose syrup) obtido do milho, principalmente nos EUA. O HCFS contém entre 55-90% de frutose e seu consumo aumentou 1000% entre 1970 e 1990 (BASCIANO et al., 2005). Experimentalmente, sinais da síndrome metabólica, como, hipertensão, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e resistência à insulina são desencadeados em roedores adultos pela administração de dietas ricas em frutose (HWANG et al., 1987; MOURA et al., 2008; CAMBRI et al., 2010, GHEZZI et al., 2011).

Por outro lado, há indicativos de que a desnutrição intrauterina pode “programar” os tecidos fetais tornando-os mais vulneráveis a desordens ligadas à alimentação, como diabetes tipo 2, síndrome metabólica e demais doenças crônico-degenerativas na idade adulta (HALES; BARKER, 1992; BERTRAM; HANSON, 2001; GLUCKMAN; HANSON, 2004). Deste modo, é importante averiguar se organismos submetidos à desnutrição precoce são mais susceptíveis aos efeitos metabólicos negativos do excesso de frutose na alimentação (CAMBRI; DALIA; MELLO, 2010).

Embora haja evidências epidemiológicas associando desnutrição precoce e doenças metabólicas na vida adulta, estudos longitudinais analisando variáveis endócrinas e bioquímicas em seres humanos apresentam limitações devido à característica invasiva de algumas análises e aos fatores interferentes. Para isto, modelos animais, utilizando condições controladas, podem colaborar na investigação dessa questão. Para desencadear carência proteica experimental, dietas isocalóricas de baixo teor proteico são comumente utilizadas (LATORRACA et al., 1998b; GALDINO et al., 2000).

Grande parte dos trabalhos com modelos animais avalia a repercussão da desnutrição precoce exclusivamente sobre parâmetros de repouso. Do mesmo modo, a recuperação nutricional é frequentemente realizada com dietas balanceadas e não associada à realização de exercícios físicos (OKITOLONDA et al., 1987; LATORRACA et al., 1999). Alguns estudos demonstraram efeitos favoráveis do exercício físico crônico na recuperação nutricional de crianças (TORUN; VITERI, 1994) e de ratos (GALDINO et al., 2000) desnutridos. Da mesma forma, apesar de não haver um consenso sobre os efeitos crônicos do exercício físico na síndrome metabólica, são claros os benefícios do mesmo nas suas patologias isoladas, como obesidade (RICE et al., 1999), diabetes mellitus (KRISKA, 2000), dislipidemias (HALLE et al., 1999) e hipertensão (BARONE et al., 2009). Contudo, as informações sobre o efeito agudo de exercícios físicos em organismos recuperados de desnutrição e/ou alimentados com dieta rica em frutose são limitadas. Com isto, o objetivo deste trabalho é avaliar o metabolismo muscular da glicose em ratos jovens recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose, em repouso e após seção aguda de exercício físico realizado na intensidade de máxima fase estável de lactato.

Material e Métodos

Animais e dietas

Foram utilizadas ratas adultas (90 dias), da linhagem Wistar, prenhez, mantidas em sala com temperatura ambiente de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro, com as luzes acesas das 06:00 às 18:00 h e com livre acesso à água e ao alimento durante todo o experimento. Todos os procedimentos adotados com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), sob o protocolo nº 1487-1.

Foram empregadas dietas isocalóricas balanceada (17% proteína), hipoproteica (6% proteína) e rica em frutose (60% frutose), conforme composição descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Composição das dietas.

Componentes (g/kg)	Balanceada (17%)¹	Hipoproteica (6%)²	Frutose (60%)³
Caseína⁴	202	71,5	202
Amido	397	480	-
Dextrina	130,5	159	-
Sacarose	100	121	27,6
Frutose	-	-	600
L-cistina	3	1	3
Óleo de soja	70	70	70
Mistura de sais (AIN-93GMX)¹	35	35	35
Mistura de vitaminas (AIN-93GVX)¹	10	10	10
Fibra	50	50	50
Cloridrato de colina	2,5	2,5	2,5

¹De acordo com American Institute of Nutrition (AIN-93G) – (REEVES et al., 1993). Dieta contendo 17% de proteína,

²De acordo com Latorraca et al. (1998). Dieta contendo 6% de proteína,

³De acordo com Moura et al. (2008). Dieta contendo 17% de proteína e 60% de frutose.

⁴Valores corrigidos em função do conteúdo de proteína na caseína.

Grupos experimentais

As ratas foram separadas em dois grupos, conforme a dieta recebida durante a prenhez: balanceada (B) - dieta contendo 17% de proteína e hipoproteica (H) - dieta contendo 6% de proteína.

Imediatamente após o nascimento, sete neonatos machos B e sete neonatos machos H, foram pesados e mortos para a determinação das concentrações séricas de glicose, proteínas totais e albumina (NOGUEIRA et al., 1990), visando averiguar a instalação da desnutrição no grupo H. As crias do sexo masculino restantes foram distribuídas em quatro grupos (n=20 por grupo) conforme as dietas recebidas até os 60 dias. As ninhadas foram ajustadas para que cada mãe amamentasse apenas 8 filhotes. No período de amamentação (nascimento aos 21 dias), foram as mães que receberam as dietas correspondentes:

- Balanceada (B): dieta contendo 17% de proteína durante todo o período experimental;
- Balanceada/frutose (BF): dieta contendo 17% de proteína até o nascimento e dieta rica em frutose do nascimento até os 60 dias;
- Hipoproteica/balanceada (HB): dieta contendo 6% de proteína até o nascimento e dieta com 17% de proteína do nascimento até os 60 dias;
- Hipoproteica/frutose (HF): dieta contendo 6% de proteína até o nascimento e dieta rica em frutose do nascimento até os 60 dias.

Todos os ratos tiveram peso corporal registrado uma vez por semana, do desmame (21 dias) até os 60 dias. Com estes dados, a área sob a curva de peso corporal foi calculada pelo método trapezoidal, utilizando o software Microsoft Excel 2007®.

Teste de tolerância à glicose - GTT

O GTT foi realizado com os animais aos 60 dias, após 12 horas de jejum. Uma solução de glicose a 20% (2 g/kg de peso) foi administrada aos ratos por meio de sonda gástrica de polietileno. Amostras de sangue foram coletadas 0, 30, 60 e 120 minutos após administração de glicose, por meio de pequeno corte na extremidade da cauda do rato, visando a determinação das concentrações de glicose.

As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase-peroxidase, usando kits comerciais (LABORLAB®, Guarulhos, São Paulo/Brasil). As áreas sob as curvas de glicose durante o teste foram calculadas (MATHEWS et al., 1990), utilizando-se o software ORIGIN 3.5.

Teste de tolerância à insulina - ITT

O ITT foi realizado com os ratos no estado alimentado, 48 horas após o GTT. Uma solução de insulina (LILLY®, São Paulo/Brasil) na dose de 30 UI/100g de peso corporal foi administrada via subcutânea. Amostras de sangue foram coletadas 0, 30, 60 e 120 minutos

após a injeção de insulina, por meio de pequeno corte na extremidade da cauda do rato, visando à determinação das concentrações de glicose.

As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas da mesma forma que no GTT. A constante de remoção da glicose sérica (KITT) durante o teste foi calculada (LUNDBAECK, 1962) utilizando-se o software ORIGIN 3.5.

Obtenção de material biológico

Ao final do experimento, metade dos ratos de cada grupo foi morta em repouso por decapitação, 48 horas após a última avaliação “in vivo”. Os demais foram submetidos, imediatamente antes da eutanásia, a sessão única de exercício de natação, por 20 minutos, suportando sobrecarga equivalente à máxima fase estável de lactato. A máxima fase estável de lactato foi determinada previamente, pela aplicação de sobrecargas, variando entre 6,5 a 8,5% do peso corporal durante 25 minutos, em dias alternados, com coletas de sangue da extremidade da cauda a cada 5 minutos, para dosagem de lactato pelo método enzimático (ENGEL; JONES, 1978). A máxima fase estável de lactato L foi considerada a maior carga de trabalho em que a diferença das concentrações sanguíneas de lactato, entre o 25º e o 10º minutos de exercício foi igual ou inferior a 1 mmol.l⁻¹ (GOBATTO et al., 2001).

A máxima fase estável de lactato é definida como a concentração de lactato e a carga de trabalho mais elevadas que podem ser sustentadas, durante sessões de exercício físico com cargas fixas, sem acúmulo contínuo do lactato sanguíneo (HECK et al., 1985). A carga associada à máxima fase estável de lactato é frequentemente utilizada para a prescrição de treinamento e avaliação do condicionamento aeróbio (KINDERMANN; SIMON; KEUL, 1979).

Os ratos estavam adaptados ao meio líquido, pois anteriormente aos testes de natação para determinação da capacidade aeróbia pela máxima fase estável de lactato L, os ratos foram adaptados ao meio líquido durante 10 dias, com o objetivo de reduzir o estresse frente ao exercício físico realizado na água.

O sangue foi coletado, imediatamente após a morte dos animais, para a separação do soro visando dosagens de glicose, proteínas totais e albumina por métodos colorimétricos (LABORLAB[®], Guarulhos, São Paulo/Brasil).

O músculo sóleo da pata esquerda foi excisado com o mínimo de lesão para avaliação do metabolismo da glicose. Fatias longitudinais do músculo (25-35mg) foram colocadas em frascos de cintilação com capacidade de 20ml siliconizados, contendo 1,5 ml de tampão Krebs-Ringer bicarbonato. Os frascos foram fechados com tampas de borracha, selados com

anel plástico e submetidos a 30 minutos de pré-incubação sob agitação em banho tipo Dubnoff a 60 rpm e contínuo gaseamento com O₂/CO₂ (95%/5%). Após esse período, as fatias do músculo foram transferidas para novos frascos de cintilação (frasco externo) em cujo interior foram instalados pequenos tubos em forma de concha (frasco interno) com uma haste reta de aproximadamente 3 cm de comprimento que se insere nas tampas de borracha do frasco externo.

Cada frasco externo continha 1,5 ml de tampão Krebs-ringer e cada frasco interno, 700µl de hiamina10x. Após 60 minutos de incubação nesse sistema, com gaseamento durante os 15 primeiros minutos, foram adicionados 100µl de ácido tricloroacético (TCA) 25% ao frasco externo, visando à liberação de CO₂. A preparação foi mantida por mais 3 horas no sistema, porém com a fatia do músculo fora do alcance da solução com TCA. Decorrido esse tempo, 200µl do líquido contido no frasco interno foram retirados para a determinação do CO₂ produzido. A fatia de músculo imediatamente digerida em 0,5 ml de KOH para extração (SJÖRGREEN et al., 1938) e dosagem (DUBOIS et al., 1956) do glicogênio muscular. A temperatura na pré-incubação e incubação foi de 37° C.

O tampão Krebs-Ringer, base dos meios de pré-incubação e incubação, foi constituído de: NaCl 0,6%, NaHCO₃ 0,19%, HEPES 6,64mM, KCl 0,032%, CaCl₂ 1,14nM, KH₂PO₄ 0,015%, MgSO₄ 0,03%. A solução assim preparada foi gaseada durante 20 a 30 minutos em O₂/CO₂ (95%/5%) e o pH ajustado a 7,4. A esta solução foram adicionados 20 volumes de albumina sérica bovina livre de gordura. Ao meio de pré-incubação foi adicionado piruvato de sódio para concentração de 5mM. Ao meio de incubação, foi adicionada glicose (5,5mM) contendo [U-¹⁴C] glicose (0,25 µCi/ml), [³H] 2-deoxiglicose (2DG=0,5µCi/ml) e insulina (100µUI/ml). Feitas às adições, o pH foi ajustado a 7,4 e os meios transferidos para os frascos que foram selados e equilibrados no banho a 37° C sob gaseamento em O₂/CO₂ (95%/5%) durante pelo menos 15 minutos. Fatias não incubadas do mesmo músculo foram utilizadas, com peso semelhante às aquelas incubadas, para determinação da concentração de glicogênio (DUBOIS et al., 1956).

Foram avaliadas captação de glicose, utilizando-se a 2 DG como marcador, e incorporação do ¹⁴C a glicogênio (síntese), medindo-se a radioatividade do ³H da 2 DG e do ¹⁴C da glicose, respectivamente, pelo contador de partícula beta. Para a estimativa da glicose oxidada (produção de CO₂), foi determinada a radioatividade do ¹⁴C presente no líquido (hiamina) coletado do frasco interno do sistema de incubação, com o auxílio de um contador de partículas beta.

Análise Estatística

Para as comparações entre recém-nascidos utilizou-se teste t de Student's. Para as comparações entre os grupos (intergrupo), tanto em repouso, quanto após exercício físico agudo, ao final do experimento utilizou-se Anova Two-Way, seguida de Post-Hoc de Newman-Keuls quando necessário. Para as comparações intra-grupo quanto ao efeito agudo do exercício físico utilizou-se teste t de Student's. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

Ao nascimento, a dieta hipoproteica provocou redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) do peso corporal (B: $6,49 \pm 0,83$; H: $5,31 \pm 0,79$ g), da glicemia (B: 81 ± 11 ; H: 65 ± 16 mg/dl), albuminemia (B: $3,36 \pm 0,19$; H: $1,29 \pm 0,19$ mg/dl) e proteinemia (B: $7,45 \pm 1,82$; H: $3,94 \pm 1,81$ mg/dl).

A área sob a curva do peso corporal (Tabela 2) foi menor nos grupos que após o nascimento receberam dieta rica em frutose (BF e HF), do que os aqueles que receberam dieta balanceada no mesmo período (B e HB).

A área sob a curva de glicose determinada pelos valores de glicose durante o teste oral de tolerância à glicose foi similar em todos os grupos (Tabela 2). Por outro lado, a taxa de remoção de glicose durante o teste de tolerância à insulina, no qual o grupo HB apresentou maiores valores, o que demonstra maior sensibilidade à insulina.

Tabela 2: Área sob a curva de peso corporal (g.60dias), área sob a curva de glicose (mg/dL.120 min) durante o teste oral de tolerância a glicose e KITT - taxa de remoção de glicose (%/min) durante o teste de tolerância à insulina ao final do experimento (60 dias).

	B	BF	HB	HF
Área sob a curva do peso	5160±529 ^a	3904±578 ^b	5776±650 ^c	4361±355 ^b
Área sob a curva de glicose	15034±1149	15008±1033	14086±517	14470±968
KITT	0,45±0,17 ^a	0,50±0,37 ^a	2,44±0,78 ^b	0,57±0,31 ^a

Resultados expressos como média±desvio padrão de 10 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa. Anova Two-Way e Post-Hoc de Newman-Keuls ($p < 0,05$).

Ao final do experimento os parâmetros séricos albumina (B: $3,86 \pm 0,25$; BF: $3,84 \pm 0,23$; HB: $4,19 \pm 0,27$; HF: $4,01 \pm 0,58$ mg/dl) e proteínas totais (B: $5,51 \pm 0,12$; BF: $5,59 \pm 0,08$; HB: $5,51 \pm 0,28$; HF: $5,78 \pm 0,16$ mg/dl), alterados ao nascimento pela desnutrição proteica fetal, foram restabelecidos, independente da dieta adotada na recuperação nutricional. Com isto, não houve diferença entre os grupos para estes parâmetros. Entretanto, as concentrações de glicose sérica (Tabela 3) no grupo recuperado com dieta rica em frutose após desnutrição fetal (HF) apresentam valores significativamente menores ($p < 0,05$) dos demais grupos. O exercício físico agudo aumentou ($p < 0,05$) as concentrações de glicose em todos os grupos.

O excesso de frutose após desnutrição proteica fetal (HF) aumentou ($p < 0,05$) os estoques de glicogênio muscular. Contudo, a seção aguda de exercício diminuiu ($p < 0,05$) as concentrações de glicogênio muscular em todos os grupos, as quais não diferiram entre si após a seção de exercício físico (Tabela 3).

Tabela 3: Glicose sérica e glicogênio no músculo sóleo em repouso (R) e após exercício agudo (A) ao final do experimento (60 dias).

		B	BF	HB	HF
Glicose sérica (mg/dL)	R	107 ± 15^a	110 ± 9^a	106 ± 19^a	83 ± 25^b
	A	$126 \pm 31^*$	$134 \pm 26^*$	$148 \pm 35^*$	$152 \pm 26^*$
Glicogênio muscular (mg/100mg)	R	$0,44 \pm 0,06^a$	$0,53 \pm 0,11^a$	$0,51 \pm 0,09^a$	$0,65 \pm 0,17^b$
	A	$0,28 \pm 0,09^*$	$0,27 \pm 0,09^*$	$0,26 \pm 0,09^*$	$0,29 \pm 0,15^*$

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão de 10 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos. Anova Two-Way e Post-Hoc de Newman-Keuls ($p < 0,05$).

*diferença intra-grupo (repouso vs exercício agudo).

Os dados do metabolismo da glicose no músculo sóleo isolado estão apresentados na tabela 4. Foram analisadas captação e oxidação da glicose, assim como síntese de glicogênio. A dieta rica em frutose após desnutrição fetal (HF) aumentou a síntese de glicogênio no músculo sóleo. O exercício físico agudo incrementou a síntese de glicogênio muscular em todos os grupos, as quais permaneceram maiores no grupo HF. As demais variáveis não diferiram entre os grupos e nem entre si após o exercício físico agudo.

Tabela 4: Metabolismo da glicose no músculo sóleo isolado de ratos em repouso (R) e após exercício agudo (A) ao final do experimento (60 dias).

		B	BF	HB	HF
Captação de glicose ($\mu\text{mol/g.h}$)	R	2,60 $\pm$ 0,17	2,80 $\pm$ 0,42	2,38 $\pm$ 0,47	2,22 $\pm$ 0,65
	A	2,26 $\pm$ 0,41	2,50 $\pm$ 0,38	2,19 $\pm$ 0,32	2,27 $\pm$ 0,47
Oxidação de glicose ($\mu\text{mol/g.h}$)	R	4,09 $\pm$ 0,72	3,58 $\pm$ 1,64	3,40 $\pm$ 1,12	3,41 $\pm$ 1,95
	A	3,91 $\pm$ 1,20	4,08 $\pm$ 1,60	3,18 $\pm$ 0,47	3,33 $\pm$ 1,70
Síntese de glicogênio ($\mu\text{mol/g.h}$)	R	0,03 $\pm$ 0,01 ^a	0,04 $\pm$ 0,02 ^a	0,04 $\pm$ 0,03 ^a	0,07 $\pm$ 0,01 ^b
	A	0,08 $\pm$ 0,02 ^{a*}	0,06 $\pm$ 0,04 ^a	0,08 $\pm$ 0,04 ^{a*}	0,18 $\pm$ 0,13 ^{b*}

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão de 10 animais por grupo.

B: balanceada; BF: balanceada/frutose; HB: hipoproteica/balanceada; HF: hipoproteica/frutose.

Letras diferentes indicam diferença significativa entre grupos. Anova Two-Way e Post-Hoc de Newman-Keuls ($p<0,05$).

*diferença intra-grupo (repouso vs exercício agudo).

Discussão

O objetivo deste trabalho foi avaliar o metabolismo muscular da glicose em modelo experimental com ratos jovens recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose, em repouso e após uma sessão de exercício físico realizado na intensidade de máxima fase estável de lactato.

A eficiência da dieta hipoproteica no período fetal em induzir a desnutrição foi comprovada por reduzidos valores de peso corporal, glicemia, proteínas totais e albumina, corroborando os estudos que utilizaram a mesma dieta (LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; GALDINO et al., 2000; CAMBRI et al., 2010). Do mesmo modo, as dietas empregadas na recuperação nutricional restabeleceram as variáveis séricas proteínas totais e albumina, de maneira semelhante àquela relatada na literatura, onde dieta balanceada foi empregada neste processo (OKITOLONDA et al., 1987; DAHRI et al., 1995; LATORRACA et al., 1998b).

Os ratos que receberam dieta rica em frutose, independente da dieta ingerida na fase intrauterina, tiveram menor área sob a curva de peso corporal. Isto contrasta com estudos

prévios, pois comumente não há diferenças entre este grupo e o controle (GIRARD et al., 2006; SANCHEZ et al., 2007; SHARABI et al., 2007). Esta menor área sob a curva de peso corporal pode ser devida à intolerância à frutose, desenvolvida pelo excesso deste nutriente na dieta, administrado precocemente. A ocorrência de sintomas oriundos da intolerância a frutose está associada à quantidade de frutose consumida (RAO et al., 2007). Em seres humanos, há relatos de que a intolerância a frutose causa atraso no crescimento (MOCK et al., 1983). Com isto, a eliminação da frutose na dieta é imprescindível para amenizar os efeitos maléficos (SHEPHERD et al., 2006).

Em estudo anterior, com modelo experimental análogo (CAMBRI et al., 2010), exceto pelo maior tempo de exposição à dieta (até a idade adulta), também verificou-se o comprometimento no peso corporal nos ratos alimentados com dieta rica em frutose. Estudos complementares sobre este tema são de extrema importância, uma vez que, exceto o estudo mencionado, não há outras informações na literatura sobre prejuízo no crescimento em animais causado pelo consumo precoce de frutose. Os estudos que utilizam dieta rica em frutose nunca a administram desde o nascimento, mas somente a partir do desmame (BEZERRA et al., 2000; UENO et al., 2000; GIRARD et al., 2006; MOURA et al., 2008) ou idade adulta (JÜRGENS et al., 2005).

A desnutrição proteica fetal seguida de elevada ingestão de frutose não ocasionou intolerância a glicose, pois não houve alteração na resposta glicêmica após sobrecarga de glicose. Estes dados corroboram os de Cambri et al. (2010), utilizando o mesmo modelo experimental, contudo, observado até a idade adulta. Ao mesmo tempo, contrariam Sharabi et al. (2007) e Moura et al. (2008), os quais detectaram intolerância a glicose após dieta rica em frutose.

Quanto à sensibilidade periférica à insulina, a desnutrição proteica influenciou este parâmetro, aumentando a remoção da glicose circulante em resposta à insulina somente no grupo HB. De alguma forma, a dieta rica em frutose após desnutrição prévia pode ter contrabalanceado esta resposta no grupo HF. Maior sensibilidade à insulina (maiores valores de KITT) foi bem descrita por Lattoraca et al. (1998a) e Galdino et al. (2000), após desnutrição intrauterina e pós-natal. Lattoraca et al. (1998b) verificaram maiores valores de KITT após desnutrição, porém valores similares ao controle após recuperação nutricional. Os dados do presente estudo contrapõem-se a alguns que constataram menor sensibilidade à insulina pelo KITT (BEZERRA et al., 2000; UENO et al., 2000) e pelo clamp euglicêmico (JOYEUX-FAURE et al., 2006), em ratos alimentados com dieta rica em frutose, pois os

grupos que ingeriram excesso de frutose (BF e HF) não apresentaram diferença no KITT, comparados com o controle (B).

Alterações na glicemia devidas à dieta rica em frutose não são uniformes, pois em inúmeros experimentos esta variável não apresentou modificações (UENO et al., 2000; JÜRGENS et al., 2005; SANCHEZ et al., 2007; MOURA et al., 2008; CAMBRI et al., 2010) ao passo que em outros estudos sim (GIRARD et al., 2006; RAJASEKAR; ANURADHA, 2007; SHARABI et al., 2007).

Quanto à influência da dieta rica em frutose sobre o metabolismo do glicogênio, estudos constataram maiores concentrações de glicogênio hepático e muscular após 12 semanas de ingestão de dieta rica em frutose (MURAKAMI et al., 1997). Os autores justificam este aumento devido à inibição da enzima glicogênio fosforilase pela frutose-1-fostatase. Isto foi comprovado por Youn et al. (1987) que estudaram a cinética do metabolismo do glicogênio e sugeriram que o acúmulo de glicogênio hepático é sensivelmente aumentado com a presença de frutose, principalmente pela inibição da degradação do glicogênio em vez do aumento da síntese, devido à inibição da enzima glicogênio fosforilase pela frutose-1-fostatase. Entretanto, no presente estudo, o glicogênio muscular incrementou apenas no grupo que ingeriu excesso de frutose após desnutrição proteica fetal (HF). Pelas análises realizadas, não é possível esclarecer as razões pelas quais tal fenômeno não foi observado no grupo BF.

Corroborando o presente estudo, as concentrações de glicose aumentaram (AFONSO et al., 2003; ROGATTO et al., 2004) e as de glicogênio muscular reduziram, após sessão única de exercício de natação (BRUCE et al., 2001; AFONSO et al., 2003; BRUCE et al., 2004; ROGATTO et al., 2004) ou esteira rolante (DUBOCHAUD et al., 1999) em ratos e cicloergômetro em humanos (KRANIOU et al., 2006). A resposta hiperglicêmica observada provavelmente deve-se ao aumento da glicogenólise hepática como consequência do incremento da atividade simpática ou da maior gliconeogênese pelo aumento na secreção de hormônios glicocorticóides, como corticosterona em ratos (AFONSO et al., 2003; ROGATTO et al., 2004).

A redução nas concentrações de glicogênio muscular deve-se ao aumento da glicogenólise muscular devido ao incremento agudo dos hormônios catabólicos (CONLEE et al., 1978; AFONSO et al., 2003; RAMEL et al., 2004, ROGATTO et al., 2004, KOH et al., 2007). A intensidade do exercício físico também interfere no processo glicogenolítico, pois estudos indicam maior depleção do glicogênio muscular a 76-80% do que a 40-48% $\text{VO}_{2\text{máx}}$ (KRANIOU et al., 2006; HARVEY et al., 2007). No presente estudo, os dados obtidos sugerem maior utilização do glicogênio muscular preferencialmente aos lipídios, apoiando a

hipótese de que uma maior intensidade de exercício físico esta associada à maior depleção do glicogênio muscular, uma vez que o exercício físico agudo foi realizado na intensidade relativa à máxima fase estável de lactato. Outro determinante é o tempo de exercício, uma vez que o metabolismo dos carboidratos predomina aos 30 minutos de exercício a 55% $\text{VO}_{2\text{máx}}$ (SCHRAUWEN-HINDERLING et al., 2003). Com isto, o tempo de exercício utilizado (20 minutos) no presente estudo favorece uma maior utilização de carboidratos.

Quanto aos dados do metabolismo da glicose pelo músculo sóleo, Galdino et al. (2000) observaram alterações no metabolismo da glicose devido à desnutrição, com menores valores na síntese de glicogênio no músculo sóleo de ratos desnutridos comparado com os controles. No presente estudo, não houve diferenças entre os grupos e nem quanto ao efeito agudo do exercício físico para as variáveis captação e oxidação de glicose pelo músculo sóleo isolado. Dados similares para estes parâmetros foram observados em ratos recuperados de desnutrição pós-desmame e grupo controle (SANTHIAGO et al., 2006), mostrando que a desnutrição fetal não interferiu nestes parâmetros do metabolismo muscular da glicose após recuperação nutricional.

Devido à depleção do glicogênio muscular pelo exercício físico agudo, acredita-se que haja um maior estímulo a síntese de glicogênio no período pós-exercício, verificado no presente estudo pelo processo de incubação do músculo sóleo. A maior síntese de glicogênio devido à dieta rica em frutose no grupo HF, ocorreu tanto em repouso quanto após a seção aguda de exercício físico.

Estudos mostraram uma correlação inversa entre os valores de glicogênio muscular após exercício físico agudo e a enzima glicogênio sintase (CONLEE et al., 1978). Bruce et al. (2001) verificam incremento na atividade total da enzima glicogênio sintase imediatamente após seção aguda de exercício de natação em ratos. Da mesma forma que, Kraniou et al. (2006) observaram incremento na expressão do gene do GLUT4 e no GLUT4 total, o que pode contribuir para a síntese de glicogênio pós-exercício. Estas respostas foram semelhantes a 40 e a 80% $\text{VO}_{2\text{máx}}$, independentemente da diferenças de intensidade e duração do físico (KRANIOU et al., 2006).

A partir dos resultados pode-se perceber que não houve diferença entre os grupos quanto à tolerância a glicose, porém, o grupo HB apresentou maior sensibilidade à insulina. O exercício físico agudo reduziu as concentrações de glicogênio muscular em todos os grupos, embora o grupo HF apresentasse maiores concentrações em repouso. Não houve diferença entre os grupos e nem quanto ao efeito agudo do exercício para captação e oxidação da glicose pelo músculo sóleo isolado. A síntese de glicogênio foi maior no grupo HF em

repouso e o exercício físico agudo incrementou a síntese em todos os grupos, mantendo valores mais altos no grupo HF. Com isto, observa-se que a dieta rica em frutose administrada em ratos jovens após desnutrição fetal altera alguns parâmetros do metabolismo muscular da glicose.

Referências

1. AFONSO, M.; SOUZA, C. N.; ZAGATTO, A. M.; LUCIANO E. Respostas metabólicas agudas ao exercício físico moderado em ratos Wistar. **Motriz**, v. 9, n. 2, p. 83-88, 2003.
2. BARONE, B. B.; WANG, N. Y.; BACHER, A. C.; STEWART, K. J. Decreased exercise blood pressure in older adults after exercise training: contributions. **British Journal Sports Medicine**, v. 43, p. 52-56, 2009.
3. BERTRAM, E. C.; HANSON, M. A. Animal models and programming of the metabolic syndrome. **British Medical Bulletin**, v. 60, p. 103-121, 2001.
4. BEZERRA, R. M. N.; UENO, M.; SILVA, M. S.; TAVARES, D. Q.; CARVALHO, C. R. O.; SAAD, M. A. A high fructose diet affects the early steps of insulin action in muscle and liver of rats. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1531-1535, 2000.
5. BRUCE, C. R.; LEE, J. S.; HAWLEY, J. A. Postexercise muscle glycogen resynthesis in obese insulin-resistant Zucker rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, p. 1512-1519, 2001.
6. BRUCE, C. R.; LEE, J. S.; KIENS, B.; HAWLEY, J. A. Postexercise muscle triacylglycerol and glycogen metabolism in obese insulin-resistant Zucker rats. **Obesity Research**, v. 12, p. 1158-1165, 2004.
7. CAMBRI, L. T.; DALIA, R. A.; MELLO, M. A. R. Desnutrição, síndrome metabólica e exercício físico em modelos experimentais utilizando ratos. **Revista da Educação Física/UEM**, v.21, n.4, p. 709-720, 2010
8. CAMBRI, L. T.; GHEZZI, A. C.; RIBEIRO, C.; DALIA, R. A.; MELLO, M. A. R.. Recovery of rat growth and lipid profiles in adult rats subjected to fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet. **Nutrition Research**, v. 30, n. 2, p. 156-162, 2010.
9. CONLEE, R. K.; HICKSON, R. C.; WINDER, W. W.; HAGBERG, J. M.; HOLLOSZY, J. O. Regulation of glycogen resynthesis in muscles of rats following exercise. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology** v. 235, p. 145-150, 1978.

10. DAHRI, S.; REUSENS, B.; REMACLE, C.; HOET, J. J. Nutritional influences on pancreatic development and potential links with non-insulin-dependent diabetes. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 54, p. 345-356, 1995.
11. DHINGRA, R.; SULLIVAN, L.; JACQUES, P. F.; WANG, T. J.; FOX, C. S.; MEIGS, J. B.; D'AGOSTINO, R. B.; GAZIAN, M. J.; VASAN, R. S. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. **Circulation**, v. 116, p. 480-488, 2007.
12. DUBOIS, B.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A. Colorimetric method for determination of sugar and relate substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
13. ELLIOTT, S. S.; KEIM, N. L.; STERN, J. S.; TEFF, K.; HAVEL, P. J. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **American Journal Clinical of Nutrition**, v.76, p. 911-922, 2002.
14. ENGEL, R. C.; JONES, J. B. Causes and elimination of erratic blanc in enzymatic metabolic assays involving the use of NAD in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for assay of L-glutamate, L-lactate and other metabolites. **Analytical Biochemistry**, v. 88, p. 475-484, 1978.
15. FORD, E. S.; GILES, W. H.; DIETZ, W. H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. **The Journal of the American Medical Association**, v. 287, n. 3, p. 356-359, 2002.
16. GALDINO, R. S.; ALMEIDA, C. C. S.; LUCIANO, E; MELLO, M. A. R. Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. **Nutrition Research**, v. 20, n. 4, p. 527-535, 2000.
17. GHEZZI, A. C.; CAMBRI, L. T.; RIBEIRO, C.; BOTEZELLI, J. D.; MELLO, M. A. R. Impact of early fructose intake on metabolic profile and aerobic capacity of rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, n. 3, 2011.
18. GIRARD, A.; MADANI, S., BOUKORTT, F.; CHERKAOUI-MALKI, M.; BELLEVILLE, J.; PROST, J. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. **Nutrition**, v. 22, p. 758-766, 2006.
19. GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. The developmental origins of the metabolic syndrome. **Endocrinology and Metabolism**, v. 15, n. 4, p. 183-187, 2004.
20. GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming

exercise. **Comparative Biochemistry Physiology - Molecular & Integrative Physiology**, v. 130A, p. 21-27, 2001.

21. HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, v. 35, p. 595-601, 1992.

22. HALLE, M.; BERG, A.; GARWERS, U.; BAUMSTARK, M. W.; KNISE, L. W.; GRATHWOHL, D.; et al. Influence of 4 weeks' intervention by exercise and diet on low-density lipoprotein subfractions in obese men with type 2 diabetes. **Metabolism**, v. 48, n. 5, p. 641-644, 1999.

23. HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MUCKE, S.; MULLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **International Journal of Sports Medicine**, v. 6, p. 117-130, 1985.

24. HWANG, I.; HO, H.; HOFFMAN, B. B.; REAVEN, G. M. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. **Hypertension**, v. 10, p. 512-516, 1987.

25. JOYEUX-FAURE, M.; ROSSINI, E.; RIBUOT, C.; FAURE, P. Fructose-fed rat hearts are protected against ischemia-reperfusion injury. **Experimental Biology and Medicine**, v. 231, p. 456-462, 2006.

26. KAHN, R.; BUSE, J.; FERRANNINI, E.; STERN, M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal. **Diabetologia**, v. 48, p. 1684-1699, 2005.

27. KRISKA, A. Physical activity and the prevention of type 2 diabetes mellitus. how much for how long? **Sports Medicine**, v. 29, n. 3, p. 147-151, 2000.

28. KINDERMANN, W.; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, Berlin, v. 42, n. 1, p. 25-34, 1979.

29. KRANIOU, G. N.; CAMERON-SMITH, D.; HARGREAVES, M. Acute exercise and GLUT4 expression in human skeletal muscle: influence of exercise intensity. **Journal of Applied Physiology**, v. 101, p. 934-937, 2006.

30. LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C.; MELLO, M. A. R. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. **British Journal of Nutrition**, v. 80, n. 3, p. 291-297, 1998a.

31. LATORRACA, M. Q.; REIS, M. A. B.; CARNEIRO, E. M.; MELLO, M. A. R.; VELLOSO, L. A.; SAAD, M. J. A.; BOSCHERO, A. C. Protein deficiency and nutritional

recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 10, p. 1643-1649, 1998b.

32. MOCK, D. M.; PERMAN, J. A.; THALER, M.; MORRIS-Jr, R. C. Chronic fructose intoxication after infancy in children with hereditary fructose intolerance. A cause of growth retardation. **The New England Journal of Medicine**, v. 309, n. 13, p. 764-770, 1983.

33. MOURA, R. F.; CAMBRI, L. T.; QUADROS JUNIOR, A. C.; NASCIMENTO, C. M. C.; ARANTES, L. M.; SEBASTIÃO, E.; TANAKA, K.; PAPINI, C. B.; OLIANI, M. M.; MOTA, C. S. A.; RIBEIRO, C.; MELLO, M. A. R. Aerobic capacity of rats fed with fructose rich diet. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.14, n. 5, p. 422-426, 2008.

34. MURAKAMI, T.; SHIMOMURA, Y.; FUJITSUKA, N.; SOKABE, M.; OKAMURA, K.; SAKAMOTO, S. Enlargement of glycogen store in rat liver and muscle by fructose-diet intake and exercise training. **Journal of Applied Physiology**, v. 82, n. 3, p. 772-775, 1997.

35. NAKAGAWA, T.; TUTTLE, K. R.; SHORT, R. A.; JOHNSON, R. J. Hypothesis: fructose induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. **Nature Clinical Practice Nephrology**, v. 1, p. 80-86, 2005.

36. NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S. P.; HIRATA, R. D. C. Sangue-parte I: Glicídios. In: NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M H; ABDALLA, D S; HIRATA, R D C. **Métodos de bioquímica clínica**, p. 153-168, 1990.

37. OKITOLONDA, W.; BRICHARD, S. M.; HENKIN, J. C. Repercussions of chronic protein-calorie malnutrition on glucose homeostasis in the rat. **Diabetologia**, v. 30, p. 946-951, 1987.

38. RAJASEKAR, P.; ANURADHA, C. V. Fructose-induced hepatic gluconeogenesis: Effect of L-carnitine. **Life Sciences**, v. 80, p. 1176-1183, 2007.

39. RAO, S. S. C.; ATTALURI, A.; ANDERSON, L.; STUMBO, P. The ability of the normal human small intestine to absorb fructose: evaluation by breath testing. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 5. n. 8, p. 959-963, 2007.

40. REAVEN, G. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v. 37, p. 1595-1607, 1988.

41. RICE, B.; JANSSEN, I.; HUDSON, R.; ROSS, R. Effects of aerobic or resistance exercise and/or diet on glucose tolerance and plasma insulin levels in obese men. **Diabetes Care**, v. 22, n. 5, p. 684-691, 1999.

42. ROGATTO, G. P.; OLIVEIRA, C. A.; FARIA, M. C.; LUCIANO, E. Respostas metabólicas agudas de ratos Wistar ao exercício intermitente de saltos. **Motriz**, v. 10, n. 2, p. 61-66, 2004.
43. SANCHEZ-LOZADA, L. G.; TAPIA, E.; JIMENEZ, A.; BAUTISTA, P.; CRISTÓBAL, M.; NEPOMUCENO, T.; SOTO, V.; AVILA-CASADO, C.; NAKAGAWA, T.; JOHNSON, R. J.; HERRERA-ACOSTA, J.; FRANCO, M. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 292, p. F423-F429, 2007.
44. SANTHIAGO, V.; DA SILVA, A. S. R.; GOBATO, C. A.; MELLO, M. A. R. Treinamento físico durante a recuperação nutricional não afeta o metabolismo muscular da glicose de ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 12, n. 2, p. 76-80, 2006.
45. SCHRAUWEN-HINDERLING, V. B.; VAN LOON, L. J. C.; KOOPMAN, R.; NICOLAY, K.; SARIS, W. H. M.; KOOI M. E. Intramyocellular lipid content is increased after exercise in nonexercising human skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. n. 95, p. 2328-2332, 2003.
46. SHARABI, Y.; ORON-HERMAN, M.; KAMARI, Y.; AVNI, I.; PELEG, E.; SHABTAY, Z.; GROSSMAN, E.; SHAMISS, A. Effect of PPAR- γ agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. **American Journal of Hypertension**, v. 20, n. 2, p. 206-210, 2007.
47. TORUN, B.; VITERI, F. E. Influence of exercise on linear growth. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, n. 1, p. S186-190, 1994.
48. UENO, M.; BEZERRA, R. M. N.; SILVA M. S.; TAVARES, D. Q.; CARVALHO, C. R.; SAAD, M. J. A. A high-fructose diet induces changes in pp185 phosphorylation in muscle and liver of rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 1421-1427, 2000.
49. YOUN, J. H.; KASLOW, H. R.; BERGMANS, R. N. Fructose effect to suppress hepatic glycogen degradation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 262, n. 24, p. 11470-11477, 1987.

4. CONCLUSÕES GERAIS

A partir dos dados apresentados na presente tese, pode-se constatar que:

Na primeira série de experimentos, na qual os ratos foram recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose até a idade adulta (90 dias):

O excesso de frutose na dieta causou prejuízo no crescimento somático dos animais, independente do estado nutricional durante a vida fetal, com redução no peso do tecido adiposo de algumas regiões e no ganho de peso corporal.

A homeostase glicêmica não foi alterada pela desnutrição e nem pela ingestão de dieta rica em frutose.

As elevadas concentrações séricas de triglicerídeos e colesterol total, constatadas nos animais que ingeriram excesso de frutose, são alguns indicadores do desenvolvimento da síndrome metabólica.

Na segunda série de experimentos, na qual os ratos foram recuperados de desnutrição proteica fetal com dieta rica em frutose até a idade jovem (60 dias):

A habilidade de realizar exercício físico, determinada pela carga no teste de máxima fase estável de lactato não foi influenciada pelas diferentes dietas, assim como, as concentrações de lactato em animais jovens não foi alterada pela desnutrição intrauterina. Contudo, a dieta rica em frutose administrada após dieta balanceada na fase fetal aumentou a concentração de lactato durante exercício de natação.

Quanto ao efeito do exercício físico agudo, a maioria das respostas metabólicas foi similar nos diferentes grupos, independente da desnutrição prévia e da sobrecarga de frutose. Não houve diferença entre os grupos nos valores em repouso e nem quanto ao efeito agudo do exercício para captação e oxidação da glicose pelo músculo sóleo isolado. Entretanto, a síntese de glicogênio em repouso foi maior no grupo HF do que nos demais. O exercício físico agudo incrementou a síntese de glicogênio em todos os grupos, e mais uma vez, o grupo HF mostrou os maiores valores. Esses resultados indicam que a dieta rica em frutose administrada em após desnutrição fetal altera alguns parâmetros do metabolismo muscular da glicose em ratos jovens.

Em resumo, o excesso de frutose prejudicou o ganho de peso, alterou os lipídios sanguíneos e alguns aspectos do metabolismo da glicose. Contudo, a desnutrição intrauterina parece, em curto prazo, não exercer significativas influências maléficas, pois alguns parâmetros que foram alterados aos 90 dias de recuperação nutricional com dieta rica em frutose, aos 60 dias estavam normalizados. Com isto, o ideal seria conduzir estudos com análises destes parâmetros em diferentes idades, ratos jovens, adultos e ratos adultos maduros.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

AFONSO, M.; SOUZA, C. N.; ZAGATTO, A. M.; LUCIANO E. Respostas metabólicas agudas ao exercício físico moderado em ratos Wistar. **Motriz**, v. 9, n. 2, p. 83-88, 2003.

ALMEIDA, P. B. L.; MELLO, M. A. R. Desnutrição protéica fetal/neonatal, ação da insulina e homeostase glicêmica na vida adulta: efeitos do jejum e do exercício agudo. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 18, n. 1, p. 17-30, 2004.

AMENT, W.; VERKERKE, G. J. Exercise and fatigue. **Sports Medicine**, v. 39, n. 5, p. 389-422, 2009.

ARAUJO, G. G.; PAPOTI, M.; MANCHADO, F. B.; MELLO, M. A.R.; GOBATTO, C. A. Protocols for hyperlactatemia induction in the lactate minimum test adapted to swimming rats. **Comparative Biochemistry and Physiology - Molecular & Integrative Physiology**, v. 148: p. 888-892, 2007.

BARONE, B. B.; WANG, N. Y.; BACHER, A. C.; STEWART, K. J. Decreased exercise blood pressure in older adults after exercise training: contributions. **British Journal Sports Medicine**, v. 43: p. 52-56, 2009.

BASCIANO, H.; FEDERICO, L.; KHOSROW, A. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. **Nutrition & Metabolism**, v. 2, p. 5, 2005

BEMBEN, D. A.; BEMBEN, M. G. Effects of resistance exercise and body mass index on lipoprotein–lipid patterns of postmenopausal women. **Journal of Strength and Conditioning Research**, Colorado Springs, v. 14, n. 1, p. 80-85, 2000.

BENEKE, R. Methodological aspects of maximal lactate steady state-implications for performance testing. **European Journal of Applied Physiology**, v. 89, p. 95-99, 2003.

BERTRAM, E. C.; HANSON, M. A. Animal models and programming of the metabolic syndrome. **British Medical Bulletin**, v. 60, p. 103-121, 2001.

BEZERRA, R. M. N.; UENO, M.; SILVA, M. S.; TAVARES, D. Q.; CARVALHO, C. R. O.; SAAD, M. A. A high fructose diet affects the early steps of insulin action in muscle and liver of rats. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1531-1535, 2000.

BILLAT, V.; SIVERNET, P.; PY, G.; KORALLSZTEIN, J-P.; MERCIER, J. The concept of maximal lactate steady state. A bridge between biochemistry, physiology and sport science. **Sports Medicine**, v. 33, n. 6, p. 407-426, 2003.

BRUCE, C. R.; LEE, J. S.; HAWLEY, J. A. Postexercise muscle glycogen resynthesis in obese insulin-resistant Zucker rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, p. 1512-1519, 2001.

BRUCE, C. R.; LEE, J. S.; KIENS, B.; HAWLEY, J. A. Postexercise muscle triacylglycerol and glycogen metabolism in obese insulin-resistant Zucker rats. **Obesity Research**, v. 12, p. 1158-1165, 2004

BRYNER, R. W.; ULLRICH, I. H.; SAUERS, J.; DONLEY, D.; HORNSBY, G.; KOLAR, M.; YEATER, R. Effects of resistance vs. aerobic training combined with an 800 calorie liquid diet on lean body mass and resting metabolic rate. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 18, n.1, p.115-121, 1999.

CAMBRI, L. T.; DALIA, R. A.; MELLO, M. A. R. Desnutrição, síndrome metabólica e exercício físico em modelos experimentais utilizando ratos. **Revista da Educação Física/UEM**, v. 21, n. 4, p. 709-720, 2010.

CAMBRI, L. T.; GHEZZI, A. C.; RIBEIRO, C.; DALIA, R. A.; MELLO, M. A. R.. Recovery of rat growth and lipid profiles in adult rats subjected to fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet. **Nutrition Research**, v. 30, n. 2, p. 156-162, 2010.

CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN-JR, O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 50, p. 190-197, 2006.

CHOI, Y. K.; JOHLIN, J. R. F. C.; SUMMERS, R. W.; JACKSON, M.; RAO, S. S. C. Fructose intolerance: an under-recognized problem. **American Journal of Gastroenterology**, v. 9, n.6, p. 1348-1353, 2003.

CINTI, S. The adipose organ. Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids, v. 73, p. 9-15, 2005.

CONLEE, R. K.; HICKSON, R. C.; WINDER, W. W.; HAGBERG, J. M.; HOLLOSZY, J. O. Regulation of glycogen resynthesis in muscles of rats following exercise. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 235, p. 145-150, 1978.

DAHRI, S.; SNOECK, A.; REUSENS, B.; REMACLE, C.; HOET, J. J. Islet function in offspring of mothers on low-protein diet during gestation. **Diabetes**, v. 40 (supp.2), p. 115-120, 1991.

DAHRI, S.; REUSENS, B.; REMACLE, C.; HOET, J. J. Nutritional influences on pancreatic development and potential links with non-insulin-dependent diabetes. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 54, p. 345-356, 1995.

DELGHINGARO-AUGUSTO, V.; FERREIRA, F.; BORDIN, S.; AMARAL, M. E. C.; TOYAMA, M. H.; BOSCHERO, A. C.; CARNEIRO, E. M. A low protein diet alters gene expression in rat pancreatic islets. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 321-327, 2004.

DHINGRA, R.; SULLIVAN, L.; JACQUES, P. F.; WANG, T. J.; FOX, C. S.; MEIGS, J. B.; D'AGOSTINO, R. B.; GAZIAN, M. J.; VASAN, R. S. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. **Circulation**, v. 116, p. 480-488, 2007.

DIXIT, P. K.; KUANG, H. L. C. Rat pancreatic β cell in protein deficiency: a study involving morphometric analysis and alloxan effect. **Journal of Nutrition**, v. 115, p. 375-381, 1985.

DOUARD, V.; FERRARIS, R. P. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 295. p. E227-E237, 2008.

DUBOIS, B.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A. Colorimetric method for determination of sugar and relate substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

DUBOUCHAUD, H., EYDOUX, N.; GRANIER, P.; PREFAUT, C.; MERCIER, J. Lactate transport activity in rat skeletal muscle sarcolemmal vesicles after acute exhaustive exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 87, n. 3, p. 955-961, 1999.

DUNSTAN, D. W.; PUDDEY, I. B.; BEILIN, L. J.; BURKE, V.; MORTON A. R.; STANTON, K. G. Effects of a short-term circuit weight training program on glycaemic control in NIDDM. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 40, p. 53-61, 1998.

ELLIOTT, S. S.; KEIM, N. L.; STERN, J. S.; TEFF, K.; HAVEL, P. J. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **American Journal Clinical of Nutrition**, v.76, p. 911-922, 2002.

ENGEL, R. C.; JONES, J. B. Causes and elimination of erratic blanc in enzymatic metabolic assays involving the use of NAD in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for assay of L-glutamate, L-lactate and other metabolites. **Analytical Biochemistry**, v. 88, p. 475-484, 1978.

Executive Summary of the Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). **The Journal of the American Medical Association**, v. 285, p. 2486-2497, 2001.

FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE DIABETES. **The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome**, 1º Congresso Internacional de Pré-Diabetes e Síndrome Metabólica, Berlim, 2005.

FERGUSON, M. A.; ALDERSON, N. L.; TROST, S. G.; ESSIG, D. A.; BURKE, J. R.; DURSTINE, J. L. Effects of four different single exercise sessions on lipids, lipoproteins, and lipoprotein lipase. **Journal of Applied Physiology**, v. 85, n. 3, p. 1169-1174, 1998.

FERNANDEZ-TWINN, D. S.; WAYMAN, A.; EKIZOGLU, S.; MARTIN, M. S.; HALES, C. N.; OZANNE, S. E. Maternal protein restriction leads to hyperinsulinemia and reduced insulin-signaling protein expression in 21-mo-old female rat offspring. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, p. R368-R373, 2005.

FORD, E. S.; GILES, W. H.; DIETZ, W. H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. **The Journal of the American Medical Association**, v. 287, n. 3, p. 356-359, 2002.

GALDINO, R. S.; ALMEIDA, C. C. S.; LUCIANO, E; MELLO, M. A. R. Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. **Nutrition Research**, v. 20, n. 4, p. 527-535, 2000.

GALDINO, Rozinaldo; MELLO, Maria Alice Rostom de; ALMEIDA, Roberto Lopes de; ALMEIDA, Carla Cássia de Souza. Desnutrição protéica calórica. In DÂMASO, Ana. **Nutrição e exercícios na prevenção de doenças**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001. cap 10, p. 255-275.

GIACCA, A.; GROENEWOUD, Y.; TSUI, E.; MCCLEAN, P.; ZINMAN, B. Glucose production, utilization, and cycling in response to moderate exercise in obese subjects with type 2 diabetes and mild hyperglycemia. **Diabetes**, v. 47, p. 1763-1770, 1998.

GIRARD, A.; MADANI, S., BOUKORTT, F.; CHERKAOUI-MALKI, M.; BELLEVILLE, J.; PROST, J. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. **Nutrition**, v. 22, p. 758-766, 2006.

GHEZZI, A. C.; CAMBRI, L. T.; RIBEIRO, C.; BOTEZELLI, J. D.; MELLO, M. A. R. Impact of early fructose intake on metabolic profile and aerobic capacity of rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, n. 3, 2011.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. The developmental origins of the metabolic syndrome. **Endocrinology and Metabolism**, v. 15, n. 4, p. 183-187, 2004.

GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry Physiology, A, Molecular & Integrative Physiology**, v. 130A, p. 21-27, 2001.

GOPALAN, S. Malnutrition; causes and consequences. **Nutrition**, v. 16, n. 7/8, p. 556-558, 2000.

GORDON, P. M.; FOWLER, S.; WARTY, V.; DANDUURAN, M.; VISICH, P.; KETEYIAN, S. Effects of acute exercise on high density lipoprotein cholesterol and high

density lipoprotein subfractions in moderately trained females. **British Journal of Sports Medicine**, v. 32, p. 63-67, 1998.

GRANDJEAN, P. W.; CROUSE, S. F.; ROHACK, J. J. Influence of cholesterol status on blood lipid and lipoprotein enzyme responses to aerobic exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 89, p. 472-480, 2000.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, v. 35, p. 595-601, 1992.

HALLE, M.; BERG, A.; GARWERS, U.; BAUMSTARK, M. W.; KNISE, L. W.; GRATHWOHL, D.; et al. Influence of 4 weeks' intervention by exercise and diet on low-density lipoprotein subfractions in obese men with type 2 diabetes. **Metabolism**, v. 48, n. 5, 641-644, 1999.

HARGREAVES, M.; MCKENNA, M. J.; JENKINS, D. G.; WARMINGTON, S. A.; LI, J. L.; SNOW, R. J.; FEBBRAIO, M. A. Muscle metabolites and performance during high-intensity, intermittent exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 84, n. 5, p. 1687-1691, 1998.

HARVEY, C. R.; FREW, R.; MASSICOTTE, D.; PÉRONNET, F.; REHRER, N. J. Muscle glycogen oxidation during prolonged exercise measured with oral [^{13}C] glucose: comparison with changes in muscle glycogen content. **Journal of Applied Physiology**, v. 102, p. 1773-1779, 2007.

HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MUCKE, S.; MULLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **International Journal of Sports Medicine**, v. 6, p. 117-130, 1985.

HOLLMANN, W. Historical remarks on the development of the aerobic-anaerobic threshold up to 1966. **International Journal of Sports Medicine**, v. 6, p. 109-116, 1985.

HORTON, T. J.; GRUNWALD, G. K.; LAVELY, J.; DONAHOO, W. T. Glucose kinetics differ between women and men, during and after exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 100, p. 1883-1894, 2006.

HUANG, B.W.; CHIANG, M. T; YAO, H. T.; CHIANG, W. The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 6, p. 120-126, 2004.

HUANG, D.; DHAWAN, T.; YOUNG, S.; YONG, W. H.; BOROS, L. J.; HEANEY, A. P. Fructose impairs glucose-induced hepatic triglyceride synthesis. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, p. 20, 2011.

HWANG, I. S.; HO, H.; HOFFMAN, B. B.; REAVEN, G. M. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. **Hypertension**, v. 10, p. 512-516, 1987.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Medidas Antropométricas de Crianças e Adolescentes 2002/2003. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2003medidas/pof2003medidas.pdf>> Acesso em: 18 fev. 2008.

JONES, A. M.; DOUST, J. H. The validity of the lactate minimum test for determination of the maximal lactate steady state and physiological correlates to 8 Km running performance. **Medicine Science and Sports Exercise**, v. 30, n. 8, p. 1304-1313, 1998.

JÜRGENS, H.; HAASS, W.; CASTAÑEDA, T. R.; SCHÜRMANN, A.; KOEBNICK, C.; DOMBROWSKI, F.; OTTO, B.; NAWROCKI, A. R.; SCHERER, P. E.; SPRANGER, J.; RISTOW, M.; JOOST, H.; HAVEL, P. J.; TSCHO, M. H. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. **Obesity Research**, v. 13, n. 7, p. 1146-1156, 2005.

KAHN, R.; BUSE, J.; FERRANNINI, E.; STERN, M. The metabolic syndrome: time for acritical appraisal. **Diabetologia**, v. 48, p. 1684-1699, 2005.

KOH, H. J.; HIRSHMAN, M. F.; HE, H.; LI, Y.; MANABE, Y.; BALSCHI, J. A.; GOODYEAR, L. J. Adrenaline is a critical mediator of acute exercise-induced AMP-activated protein kinase activation in adipocytes. **Biochemistry Journal**, v. 403, p. 473-481, 2007.

KRANIOU, G. N.; CAMERON-SMITH, D.; HARGREAVES, M. Acute exercise and GLUT4 expression in human skeletal muscle: influence of exercise intensity. **Journal of Applied Physiology**, v. 101, p. 934-937, 2006.

KELLEY, G. L.; ALLAN, G.; AZHAR, S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. **Endocrinology**; v. 145, n. 2, 548-555, 2004.

KINDERMANN, W.; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v. 42, n. 1, p. 25-34, 1979.

KRISKA, A. Physical activity and the prevention of type 2 diabetes mellitus. how much for how long? **Sports Medicine**, v. 29, n. 3. p. 147-151, 2000.

LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C.; MELLO, M. A. R. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. **British Journal of Nutrition**, v. 80, n. 3, p. 291-297, 1998a.

LATORRACA, M. Q.; REIS, M. A. B.; CARNEIRO, E. M.; MELLO, M. A. R.; VELLOSO, L. A.; SAAD, M. J. A.; BOSCHERO, A. C. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 10, p. 1643-1649, 1998b.

LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C. Reduced insulin secretion in response to nutrients in islets from malnourished young rats is associated with diminished calcium uptake. **Journal Nutrition Biochemistry**, v. 10, p. 37-43, 1999.

LEON, A. S.; SANCHEZ, O. A. Response of blood lipids to exercise training alone or combined with dietary intervention. **Medicine Science Sports Exercise**, v. 33, n. 6, p. S502-S515, 2001.

LUNDBAECK, K. Intravenous glucose tolerance as a tool in definition in diagnosis of diabetes mellitus. **British Medical Journal**, v. 3, p. 1057-1063, 1962.

MAGKOS, F.; PATTERSON, B. W.; MOHAMMED, B. S.; MITTENDORFER, B. A. single 1-h bout of evening exercise increases basal FFA flux without affecting VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics in untrained lean men. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 292, p. E1568-E1574, 2007.

MAGKOS, F.; TSEKOURAS, Y. E.; PRENTZAS, K. I.; BASIOUKAS, K. N.; MATSAMA, S. G.; YANNI, A. E.; KAVOURAS, S. A.; SIDOSSIS, L. S. Acute exercise induced changes in basal VLDL-triglyceride kinetics leading to hypotriglyceridemia manifest more readily after resistance than endurance exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 105, p. 1228-1236, 2008.

MAGKOS, F.; PATTERSON, B. W.; MOHAMMED, B. S.; MITTENDORFER, B. Basal adipose tissue and hepatic lipid kinetics are not affected by a single exercise bout of moderate duration and intensity in sedentary women. **Clinical Science**, v. 116, p. 327-334, 2009.

MARCEAU, M.; KOUAME, N.; LACOURCIERE, Y.; CLEROUX, J. Effects of different training intensities on 24-hour blood pressure in hypertensive subjects. **Circulation**, v. 88, p. 2803-2811, 1993.

MATHEWS, J. N. S.; ALTMAN, D. G.; CAPBELL, M. J.; ROYSTON, P. Analysis of serial measurements in medical research. **British Medical Journal**, v. 27, p. 230-235, 1990.

MAYES, P. A. Intermediary metabolism of fructose. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 58, p. 754S-755S, 1993.

MELLO, M. A. R.; CURY, L.; VALLE, L. B. S.; OLIVEIRA-FILHO, R. M. Protein-calorie malnutrition in the young pregnant rat; factors involved in fetal growth impairment. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, v. 20, p. 575-577, 1987.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Indicadores e Dados Básicos para Saúde – IDB 2004**. Disponível em <<http://ministerio.saude.bvs.br/html/pt/indicadores.html>> Acesso em: 18 fev. 2008.

MOCK, D. M.; PERMAN, J. A.; THALER, M.; MORRIS-Jr, R. C. Chronic fructose intoxication after infancy in children with hereditary fructose intolerance. A cause of growth retardation. **The New England Journal of Medicine**, v. 309, n. 13, p. 764-770, 1983.

MOURA, R. F.; CAMBRI, L. T.; QUADROS JUNIOR, A. C.; NASCIMENTO, C. M. C.; ARANTES, L. M.; SEBASTIÃO, E.; TANAKA, K.; PAPINI, C. B.; OLIANI, M. M.; MOTA, C. S. A.; RIBEIRO, C.; MELLO, M. A. R. Aerobic capacity of rats fed with fructose rich diet. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.14, n. 5, p. 422-426, 2008.

MURAKAMI, T.; SHIMOMURA, Y.; FUJITSUKA, N.; SOKABE, M.; OKAMURA, K.; SAKAMOTO, S. Enlargement of glycogen store in rat liver and muscle by fructose-diet intake and exercise training. **Journal of Applied Physiology**, v. 82, n. 3, p. 772-775, 1997.

NAKAGAWA, T.; TUTTLE, K. R.; SHORT, R. A.; JOHNSON, R. J. Hypothesis: fructose induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. **Nature Clinical Practice Nephrology**, v. 1, p. 80-86, 2005.

NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S. P.; HIRATA, R. D. C. Sangue-parte I: Glicídios. In: NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S.; HIRATA, R. D. C. **Métodos de bioquímica clínica**, p. 153-168, 1990.

OKITOLONDA, W.; BRICHARD, S. M.; HENKIN, J. C. Repercussions of chronic protein-calorie malnutrition on glucose homeostasis in the rat. **Diabetologia**, v. 30, p. 946-951, 1987.

OLIVEIRA, E. A.; CHEIM, L. M. G.; VELOSO, R. V.; ARANTES, V. C.; REIS, M. A. B.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C.; LATORRACA, M. Q. Nutritional recovery with a soybean flour diet improves the insulin response to a glucose load without modifying glucose homeostasis. **Nutrition**, v. 24, p. 76-83, 2008.

ORON-HERMAN, M.; KAMARI, Y.; GROSSMAN, E.; YEGER, G.; PELEG, E.; SHABTAY, Z.; SHAMISS, A.; SHARABI, Y. Metabolic syndrome: Comparison of the two commonly used animal models. **American Journal of Hypertension**, v. 21, p. 1018-1022, 2008.

PAPOTI, M.; ALMEIDA, P. B.; PRADA, F. J. A.; ELENIO, T. G.; HERMINI, H. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Máxima fase estável de lactato durante a natação em ratos recuperados de desnutrição protéica. **Motriz**, v. 9, n. 2, p. 103-110, 2003.

POEHLMAN, E. T.; DVORAK, R. V.; DENINO, W. F.; BROCHU, M.; ADES, P. A. Effects of endurance and resistance training on total daily energy expenditure in young women: in young women: a controlled randomized trial. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 87, n. 3, p. 1004-1009, 2002.

PRADA, F. J. A.; VOLTARELLI, F. A.; OLIVEIRA, C. A. M.; GOBATTO, C. A.; MACEDO, D. V.; MELLO, M. A. R. Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 12, n. 2, p. 29-34, 2004.

RAJASEKAR, P.; ANURADHA, C. V. Fructose-induced hepatic gluconeogenesis: Effect of L-carnitine. **Life Sciences**, v. 80, p. 1176-1183, 2007.

RAMEL, A.; WAGNER, K-H. ELMADFA, I. Correlations between plasma noradrenaline concentrations, antioxidants, and neutrophil counts after submaximal resistance exercise in men. **British Journal Sports Medicine**, v. 38, p. 1-3, 2004.

RAO, S. S. C.; ATTALURI, A.; ANDERSON, L.; STUMBO, P. The ability of the normal human small intestine to absorb fructose: evaluation by breath testing. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 5, n. 8, p. 959-963, 2007.

REAVEN, G. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v. 37, p. 1595-1607, 1988.

RECTOR, R. S.; THYFAULT, J. P.; MORRIS, R. P.; LAYE, M. J.; BORENGASSER, S. J.; BOOTH, F. W.; IBDAH, J. A. Daily exercise increases hepatic fatty acid oxidation and prevents steatosis in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rats. **American Journal Physiology of Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 294, p. 619-626, 2008.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY-JR, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of AIN-76A. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.

RICE, B.; JANSSEN, I.; HUDSON, R.; ROSS, R. Effects of aerobic or resistance exercise and/or diet on glucose tolerance and plasma insulin levels in obese men. **Diabetes Care**, v. 22, n. 5, p. 684-691, 1999.

RIZKALLA, S. W. Health implications of fructose consumption: A review of recent data. **Nutrition & Metabolism**, v. 7, p. 82, 2010.

ROGATTO, G. P.; OLIVEIRA, C. A.; FARIA, M. C.; LUCIANO, E. Respostas metabólicas agudas de ratos Wistar ao exercício intermitente de saltos. **Motriz**, v. 10, n. 2, p.61-66, 2004.

ROGLANS, R.; VILA, L.; FARRÉ, M.; ALEGRET, M.; SÁNCHEZ, R. M.; VÁZQUEZ-CARRERA, M.; LAGUNA, J. C. Impairment of hepatic stat-3 activation and reduction of PPAR_α activity in fructose-fed rats. **Hepatology**, v. 45, p. 778-788, 2007.

SANCHEZ-LOZADA, L. G.; TAPIA, E.; JIMÉNEZ, A.; BAUTISTA, P.; CRISTÓBAL, M.; NEPOMUCENO, T.; SOTO, V.; AVILA-CASADO, C.; NAKAGAWA, T.; JOHNSON, R. J.; HERRERA-ACOSTA, J.; FRANCO, M. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 292, p. F423-F429, 2007.

SANTHIAGO, V.; DA SILVA, A. S. R.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Treinamento físico durante a recuperação nutricional não afeta o metabolismo muscular da glicose de ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 12, n. 2, p. 76-80, 2006.

SCHRAUWEN-HINDERLING, V. B.; VAN LOON, L. J. C.; KOOPMAN, R.; NICOLAY, K.; SARIS, W. H. M.; KOOI M. E. Intramyocellular lipid content is increased after exercise in nonexercising human skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 95, p. 2328-2332, 2003.

SHARABI, Y.; ORON-HERMAN, M.; KAMARI, Y.; AVNI, I.; PELEG, E.; SHABTAY, Z.; GROSSMAN, E.; SHAMISS, A. Effect of PPAR- γ agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. **American Journal of Hypertension**, v. 20, n. 2, p. 206-210, 2007.

SHEPHERD, B. P. R.; CROWTHER, N. J.; DESAI, M.; HALES, C. N.; OZANNET, S. E. Altered adipocyte properties in the offspring of protein malnourished rats. **British Journal of Nutrition**, v. 78, p. 121-129, 1997.

SILVA, M. P.; STEVANATO, E.; MOREIRA, V. M.; PORTO, M.; MELLO, M. A. R. Efeitos da desnutrição intra-uterina e da recuperação nutricional sobre respostas metabólicas ao exercício crônico em ratos jovens. **Motriz**, v. 5, n. 2, p. 152-159, 1999.

SJÖRGREEN, B.; NORDENSKJOLD, D. T.; HOLMGREN, H.; WOLLERSTROM, J. **Bertrag zur Kentnin des le birrhythmik**. Pfluger Arch. Gesante Physiol. Menschen Tierre. v. 240, p. 247, 1938.

STOCKER, C. J.; ARCH, J. R. S.; CAWTHORNE, M. A. Fetal origins of insulin resistance and obesity. **Proceedings of the Nutrition Society**, v., 64, p. 143-151, 2005.

TEGTBUR, U.; BUSSE, M. W.; BRAUMANN, K. M. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. **Medicine Science and Sports Exercise**, v. 25, n. 5, p. 620-627, 1993.

THORBURN, A. W.; STORLIEN, L. H.; JENKINS, A. B.; KHOURI, S.; KRAEGEN, E. W. Fructose-induced in vivo insulin resistance and elevated plasma triglyceride levels in rats. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 49, p. 1155-1163, 1989.

TORUN, B.; VITERI, F. E. Influence of exercise on linear growth. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, n. 1, p. S186-190, 1994.

UAUY, R.; ALBALA, C.; KAIN, J. Obesity trends in Latin America: transiting form under to overweight. **Journal of Nutrition**, v. 131, n. 3, p. 893S-899S, 2001.

UENO, M.; BEZERRA, R. M. N.; SILVA, M. S.; TAVARES, D. Q.; CARVALHO, C. R.; SAAD, M. J. A. A high-fructose diet induces changes in pp185 phosphorylation in muscle and liver of rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 1421-1427, 2000.

VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 1389-1394, 2002.

VOLTARELLI, F. A.; GOBATO, C. A.; MELLO, M. A. R. Determinação da transição metabólica através do teste do lactato mínimo em ratos desnutridos durante exercício de natação. **Revista da Educação Física/UEM**, v. 18, n. 1, p. 33-39, 2007.

WALLIS, G. A.; HULSTON, C. J.; MANN, C. H.; ROPER, H. P.; TIPTON, K. D.; JEUKENDRUP, A. R. Postexercise muscle glycogen synthesis with combined glucose and fructose ingestion. **Medicine Science Sports Exercise**, v.40, n. 10, p. 1789-1794. 2008

WANG, X.; HATTORI, Y.; SATOH, H.; IWATA, C.; BANBA, N.; MONDEN, T.; UCHIDA, K.; KAMIKAWA, Y.; KASAI, K. Tetrahydrobiopterin prevents endothelial dysfunction and restores adiponectin levels in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 555, p. 48-53, 2007.

WAREHAN, N. J.; WONG, M. Y.; HENNINS, S.; MITCHELL, J.; RENNIE, K.; CRUICKSHANK, K.; DAY, N. E. Quantifying the association between habitual energy expenditure and blood pressure. **International Journal of Epidemiology**, Oxford, v. 29, p. 655-660, 2000.

WASSERMANN, K.; MCILROY, M. B. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. **American Journal of Cardiology**, v. 14, p. 844-852, 1964.

WEI, M.; GIBBONS, L. W.; MITCHELL, T. L.; KAMPERT, J. B.; LEE, C. D.; BLAIR, S. N. The association between cardiorespiratory fitness and impaired fasting glucose and type 2 diabetes mellitus in men. **Annals of Internal Medicine**, v.130, n. 2, p. 89-96, 1999.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION: **Diabetes mellitus: Report of a WHO Study Group**. Geneva, WHO, 1999.

WHO - World Health Organization. Core Health Indicators. Available from: http://www.who.int/whosis/database/core/core_select_process.cfm?countries=all&indicators=child_undernutrition [2008 fev 18].

YOUN, J H.; KASLOW, H. R.; BERGMANS, R. N. Fructose effect to suppress hepatic glycogen degradation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 262, n. 24, p. 11470-11477, 1987.

6. ANEXOS

6.1 ANEXO 1: Artigo publicado na *Revista da Educação Física/UEM*

ARTIGOS DE REVISÃO

DESNUTRIÇÃO, SÍNDROME METABÓLICA E EXERCÍCIO FÍSICO EM MODELOS EXPERIMENTAIS UTILIZANDO RATOS¹**MALNUTRITION, METABOLIC SYNDROME AND PHYSICAL EXERCISE IN EXPERIMENTAL MODELS USING RATS**

Lucieli Teresa Cambri*
Rodrigo Augusto Dalia**
Maria Alice Rostom de Mello***

RESUMO

A desnutrição intrauterina pode tornar os tecidos fetais mais vulneráveis a doenças crônicas. Igualmente, o excesso de frutose está associado ao desenvolvimento da síndrome metabólica. Modelos animais podem auxiliar na investigação destas questões, já que o estudo em humanos apresenta limitações. Com isto, esta revisão abordou os temas desnutrição, síndrome metabólica, exercício físico e capacidade aeróbia em modelos animais. A partir da presente revisão pode-se concluir que a maioria dos trabalhos verifica a influência da desnutrição apenas em parâmetros de repouso, após o nascimento ou desmame, sendo escasso o acompanhamento até a idade adulta. Igualmente, a recuperação nutricional é realizada com dietas balanceadas. Devido ao crescente aumento da frutose na alimentação humana, dietas ricas em frutose têm sido utilizadas para mimetizar a síndrome metabólica em modelos animais. Com isto, interações entre desnutrição, recuperação nutricional, dieta rica em frutose, exercício físico e capacidade aeróbia constituem um interessante campo de investigação.

Palavras-chave: Desnutrição. Síndrome metabólica. Fatores de risco. Aptidão física.

INTRODUÇÃO

Atualmente a desnutrição, direta ou indiretamente, continua sendo o fator isolado que mais compromete a saúde e a produtividade de enorme parte da população. A transição demográfica e o atual processo de desenvolvimento causaram uma transformação no perfil da desnutrição, especialmente na segunda metade do século 20. Isto foi notadamente marcante nos países em desenvolvimento (GOPALAN, 2000). Mais recentemente, houve uma queda na incidência mundial da desnutrição grave, mas a desnutrição considerada “leve” ou “moderada”, o nanismo infantil e as anemias gestacionais associadas ao baixo peso ao nascer ainda são bastante

frequentes nos países do Terceiro Mundo. Assim, em 2000, aproximadamente 15,5% das crianças do mundo nasceram com baixo peso, com o maior índice (27,1%) no Sul da Ásia. Nos países em desenvolvimento, por ano, mais de 20 milhões de crianças nascem com baixo peso (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008).

Dados de 2004 apontam que a média nacional com relação ao baixo peso ao nascer é de 8,2% (BRASIL, 2004). Igualmente, os dados de 2002-2003 sobre déficit ponderal para a idade, de crianças menores de 05 anos, comprovam que a média brasileira para este parâmetro é de 7,0%, com maior incidência (14,9%) na Região Norte rural (IBGE, 2008). Em seguida, as maiores incidências são verificadas no Norte urbano (9,9%), no Nordeste

¹ Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - processo 08/53255-8).

* Doutoranda em Ciências da Motricidade, Universidade Estadual Paulista-UNESP, Bolsita FAPESP.

** Mestrando em Ciências da Motricidade - UNESP, Bolsista CNPQ.

*** Doutora. Professora do Departamento de Educação Física - UNESP.

rural (8,7%) e no Nordeste urbano (7,7%). As menores incidências (entre 5 e 7%) são constatadas entre as crianças que residem nas áreas urbanas ou rurais das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (IBGE, 2008).

Embora a desnutrição continue sendo um problema das populações pobres, sobretudo entre mulheres e crianças dos países em desenvolvimento, houve um acréscimo no acontecimento de doenças crônicas relacionadas à alimentação em adultos das camadas sociais 'afluentas' nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Como consequência, principalmente os países em desenvolvimento enfrentam um duplo desafio, tendo a desnutrição, sobretudo entre mulheres e crianças pobres num extremo e a síndrome metabólica entre adultos no outro (UAUY; ALBALA; KAIN, 2001).

Há evidências de que as manifestações da má nutrição nos dois extremos do espectro socioeconômico podem ter correlação etiológica e metabólica. Estudos sugerem que a desnutrição intrauterina pode "programar" os tecidos fetais, tornando-os mais propícios a desordens associadas à alimentação, tais como diabetes tipo 2, síndrome metabólica e demais doenças crônico-degenerativas na idade adulta (BERTRAM; HANSON, 2001; GLUCKMAN; HANSON, 2004). Igualmente, o excesso de ingestão de frutose nos hábitos alimentares da sociedade contemporânea ocidental tem despertado interesse de pesquisadores da área da saúde. Existem evidências clínicas e epidemiológicas que sugerem crescente associação entre consumo de frutose, largamente empregada como adoçante em refrigerantes e diversos alimentos, e o desenvolvimento da síndrome metabólica (ELLIOT et al., 2002; DHINGRA et al., 2007).

Devido ao caráter invasivo de algumas análises, estudos longitudinais em seres humanos apresentam restrições. Neste sentido, modelos animais, com o emprego de condições controladas, podem auxiliar na investigação sobre aspectos metabólicos envolvendo a desnutrição e a síndrome metabólica. Muitas pesquisas utilizam manipulações dietéticas em roedores para desencadear os dois fenômenos. São exemplos destas manipulações: administração de dietas isocalóricas de baixo

teor proteico, para compreender os mecanismos pelos quais a restrição proteica compromete os órgãos em desenvolvimento (BERTRAM; HANSON, 2001); e administração de dieta rica em frutose, para induzir hipertensão, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e resistência à insulina, que fazem parte do quadro da síndrome metabólica (HWANG et al., 1987).

Como a desnutrição pode desencadear desordens metabólicas na idade adulta e a sobrecarga de frutose na alimentação tende a ocasionar sinais da síndrome metabólica, a interação dos temas suscita a hipótese de que indivíduos submetidos à desnutrição precoce seriam mais vulneráveis aos efeitos metabólicos deletérios da sobrecarga de frutose.

Baseando-se nos efeitos benéficos do exercício físico para a saúde, alguns trabalhos obtiveram efeitos favoráveis do papel do exercício crônico sobre o crescimento corporal de crianças (TORUN; VITERI, 1994) e de ratos (GALDINO et al., 2000) desnutridos. Isso sugere que o exercício físico, complementando a realimentação, exerce efeito benéfico no processo de recuperação nutricional. Não obstante, faltam informações quanto à aptidão física de organismos desnutridos para a realização de exercícios físicos. Esse aspecto pode ser facilmente verificado pela avaliação da capacidade aeróbia, ferramenta comumente empregada na clínica e na avaliação de esportistas (HECK et al., 1985). A despeito da importância do tema, são raros os estudos que se ocuparam da avaliação da capacidade aeróbia na desnutrição (PAPOTI et al., 2003; VOLTARELLI; GOBATO; MELLO, 2007) ou em casos de sobrecarga de frutose (MOURA et al., 2008). Isso seria de fundamental importância, pois a partir da determinação da capacidade aeróbia ter-se-ia uma ferramenta adequada para a prescrição de exercícios nestas enfermidades. Dessa forma, é de interesse estudar uma forma adequada de prescrição de exercício físico por meio dos limiares de transição metabólica, para posteriormente estudar as possíveis alterações advindas do treinamento físico.

Com isto, este trabalho teve como objetivo revisar os temas desnutrição, síndrome metabólica, exercício físico e capacidade aeróbia em modelos animais. A busca dos

artigos foi realizada pelas bases de dados PUBMED e LILACS com a utilização os seguintes termos: *malnutrition, metabolic syndrome, risk factors, physical fitness*. Foram selecionados artigos entre os anos de 1985 e 2009. Em algumas situações, utilizou-se a lista de referências bibliográficas dos artigos escolhidos. A seleção inicial foi realizada a partir dos títulos e resumos encontrados, sendo selecionados os artigos que atendiam ao objetivo do estudo, associando os temas desnutrição, síndrome metabólica, exercício físico e capacidade aeróbia.

DESNUTRIÇÃO PROTEICO-CALÓRICA

Apesar de a desnutrição ter diminuído nas últimas décadas, ainda permanece elevada. Ela afeta mais de um bilhão de pessoas do Terceiro Mundo, tornando-se um grave problema médico-social nesses lugares (GALDINO et al., 2001). Entre as diversas deficiências que a desnutrição pode apresentar, as carências proteicas e energéticas geralmente ocorrem juntas, ainda que possa haver a predominância de uma sobre outra. Quando se manifestam de forma severa podem desencadear síndromes clínicas denominadas “kwashiorkor” ou “marasmo”.

A classificação quantitativa mais empregada para avaliar o estado nutricional de crianças de 1 a 4 anos é a proposta por Gomez, que prevê três graus de desnutrição, conforme o déficit ponderal em relação a crianças eutróficas: de primeiro grau ou leve - de 10 a 24%; de segundo grau ou moderada - 25 a 40%; e de terceiro grau ou grave - acima de 40%. O marasmo e o *kwashiorkor* correspondem à desnutrição extrema de terceiro grau (GALDINO et al., 2001). O *kwashiorkor* resulta da ingestão insuficiente de proteínas, mesmo quando carboidratos e gorduras estão disponíveis em quantidades apropriadas. O marasmo decorre principalmente da deficiência energética (GALDINO et al., 2001).

Na criança (GLUCKMAN; HANSON, 2004) e em modelos animais (LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; LATORRACA; CARNEIRO; BOSCHERO, 1999; GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO, 2004; OLIVEIRA et al., 2008) a desnutrição repercute imediatamente na

dinâmica do crescimento e do desenvolvimento. Com isso, a partir do momento em que as fontes proteicas alimentares deixam de suprir as necessidades estruturais e funcionais, desencadeia-se no organismo uma sequência de mecanismos de adaptação, com o intuito de conservar a homeostase bioquímica intra e extracelular. A permanência das condições de carência acaba desordenando tais mecanismos (TORUN; VITERI, 1994).

A desnutrição proteico-calórica em crianças traz as seguintes consequências: hipoglicemia em jejum, tanto no *kwashiorkor* quanto no marasmo; intolerância à glicose, sobretudo no *kwashiorkor*; redução do teor de glicogênio hepático e muscular, assim como alterações nos processos glicogenolítico, glicolítico e gliconeogênico hepáticos. O *kwashiorkor* humano é caracterizado pela esteatose hepática, devido ao deficiente transporte de gorduras para fora do fígado, assim como pela elevação dos ácidos graxos livres e pela redução da proteína total plasmática, especialmente à custa da albumina. Estas alterações são menos evidentes no marasmo (GALDINO et al., 2001).

Alguns estudos indicam que o exercício físico desempenha efeito benéfico no processo de recuperação nutricional. Crianças ativas, entre dois e quatro anos de idade, que participavam de jogos que envolviam gasto energético moderado e foram recuperadas de desnutrição em hospitais apresentaram maior massa magra e crescimento linear do que quando realizavam apenas a rotina dos hospitais, composta de jogos sedentários (TORUN; VITERI, 1994). Igualmente, após dez semanas de treinamento de natação (cinco dias na semana, com sobrecarga de 5% do peso corporal), ratos desnutridos obtiveram melhorias no peso corporal, glicemia, insulina, proteínas totais e albuminas séricas, assim como na captação de glicose e produção de glicogênio pelo músculo sóleo, quando comparados com os correspondentes sedentários (GALDINO et al., 2000).

DESNUTRIÇÃO EM MODELO EXPERIMENTAL

A literatura apresenta inúmeros estudos que investigaram a desnutrição no período pós-

desmame (DIXIT, KUANG, 1985; OKITOLONDA et al., 1987; PAPOTTI et al., 2003; VOLTARELLI; GOBATO; MELLO, 2007). Alguns trabalhos verificaram a influência da desnutrição intrauterina (DAHRI et al., 1995; SHEPARD et al., 1997; LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; LATORRACA; CARNEIRO; BOSCHERO, 1999; GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO, 2004), porém poucos deles acompanharam os efeitos desta intervenção até a idade adulta (LATORRACA et al., 1998b; SILVA et al., 1999; GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO, 2004).

A influência da desnutrição materna na homeostase glicêmica da prole ao longo da vida tem sido explorada experimentalmente em ratos prenhes e suas crias alimentadas no decorrer do ciclo reprodutivo (gestação, lactação e desmame) com dietas hipoproteicas/normocalóricas. Filhotes de mães nutridas com dietas hipoproteicas, ao nascer apresentam baixo peso (MELLO et al., 1987; LATORRACA et al., 1998a; LATORRACA et al., 1998b; GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO; OLIVEIRA et al., 2008), hipoglicemia (MELLO et al., 1987; LATORRACA et al., 1998a; SILVA et al., 1999; ALMEIDA; MELLO, 2004), hipoinsulinemia (MELLO et al., 1987; SILVA et al., 1999; GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO, 2004), hipoproteinemia (SILVA et al., 1999; GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO, 2004), hipoalbuminemia (GALDINO et al., 2000; ALMEIDA; MELLO, 2004) e elevados teores séricos de ácidos graxos livres (LATORRACA et al., 1998a, LATORRACA et al., 1998b). A resposta insulínica de fetos deficientes em proteína é reduzida quando ilhotas pancreáticas isoladas são estimuladas "*in vitro*" com secretagogos como glicose, leucina e arginina (DAHRI et al., 1991). Do mesmo modo, ocorre redução na secreção da insulina induzida por glicose "*in vivo*" (LATORRACA; CARNEIRO; BOSCHERO, 1999), hiperinsulinemia e hipoalbuminemia (OLIVEIRA et al., 2008) em filhotes recém-desmamados cujas mães tenham suportado restrição proteica dietética durante a gestação e a lactação. A secreção de insulina também é significativamente menor quando suas ilhotas são estimuladas "*in vitro*" com glicose, leucina e

arginina, se comparadas a ilhotas-controle (LATORRACA; CARNEIRO; BOSCHERO, 1999).

A desnutrição intrauterina e pós-natal modifica o crescimento e a função dos principais sítios de ação da insulina - o fígado e tecidos adiposos e musculares. A atividade das enzimas hepáticas envolvidas no metabolismo da glicose é igualmente alterada pela restrição proteica. Essa mudança consiste na redução da atividade da glicoquinase e no aumento da atividade da fosfoenolpiruvato-carboxiquinase, ocasionando aumento na produção e comprometimento na utilização da glicose (GLUCKMAN; HANSON, 2004).

Outras alterações habituais causadas pela desnutrição intrauterina são redução no tamanho e número dos adipócitos e aumento no número de receptores de insulina (SHEPHERD et al., 1997). O músculo estriado esquelético apresenta hipersensibilidade à insulina, associada a aumento nas etapas iniciais da sinalização intracelular do hormônio, como fosforilação do complexo IRS e Akt (LATORRACA et al., 1998a) e da translocação de GLUT-4 (GAVETE et al., 2005).

A recuperação nutricional por dieta balanceada do nascimento ou desmame até a vida adulta não é capaz de reverter integralmente as alterações anteriores (OKITOLONDA et al., 1987; DAHRI et al., 1995; SHEPHERD et al., 1997; LATORRACA et al., 1998b; SILVA et al., 1999). Alguns trabalhos observaram normalização nos parâmetros insulina (DAHRI et al., 1995; LATORRACA et al., 1998b) e albumina sérica, ácidos graxos livres e glicogênio hepático (LATORRACA et al., 1998b).

A partir do abordado, observa-se que a maioria dos trabalhos analisa os efeitos da desnutrição em parâmetros em repouso. Igualmente, a recuperação nutricional é comumente realizada com dietas balanceadas, o que torna instigante verificar os efeitos de outras composições dietéticas na recuperação nutricional após desnutrição.

SÍNDROME METABÓLICA

Reaven (1988) sugeriu intensa associação entre indivíduos com os mesmos fatores de risco

para doenças cardiovasculares e nomeou a anormalidade de síndrome "X". Seu denominador comum era representado pela resistência à insulina. Na ocasião, propôs cinco características, todas com elevado risco de doença cardiovascular: intolerância à glicose, hiperinsulinemia, aumento de triglicerídeos, diminuição do HDL-C e hipertensão arterial. Entre as causas dessa doença destacam-se distúrbios metabólicos, desnutrição na infância, dificuldade de acesso à alimentação adequada, vida sedentária, entre outros. Dados epidemiológicos indicam que a síndrome metabólica está relacionada ao acréscimo da mortalidade por problemas cardiovasculares em 30 a 400%, dependendo da população estudada, da definição de síndrome adotada e do tipo de estudo (KAHN et al., 2005).

Estima-se que a incidência da síndrome metabólica, nos Estados Unidos, seja de 25 a 29% da população adulta e de 50 a 60% na população acima de 60 anos. Em 2000, quase 47 milhões de residentes naquele país apresentavam síndrome metabólica (FORD; GILES, DIETZ, 2002).

Existem contestações na identificação da síndrome metabólica, pois não há um único critério internacional com sua descrição, originando contradições nos estudos associados ao tema. A Organização Mundial da Saúde

(WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999) propôs como definição de síndrome metabólica o indivíduo ter diabetes mellitus ou intolerância à glicose ou resistência à insulina, e mais dois dos critérios: razão cintura/quadril, concentrações de triglicerídeos, pressão arterial e excreção urinária de albumina elevados ou baixa concentração de HDL-C.

Outra definição existente é a do "National Cholesterol Evaluation Program for Adult Treatment Panel III" (NCEP-ATP III, 2001). Para a NCEP-ATP III, a síndrome metabólica é caracterizada pela presença de três ou mais dos seguintes fatores: circunferência da cintura, concentrações sanguíneas de triglicerídeos e glicose, pressão arterial elevada e HDL-C reduzido. Uma terceira definição – esta proferida pela *American Association of Clinical Endocrinologists* (AACE) – considera alguns aspectos da definição do NCEP-ATP III e outros da Organização Mundial da Saúde.

A definição mais atual é a da Federação Internacional de Diabetes (2005), que considera como critérios: obesidade central e mais dois dos seguintes fatores de risco: diabetes ou pré-diabetes, baixo nível de HDL-C, triglicerídeos elevados e hipertensão. Na Tabela 1 acham-se os valores de referência para o diagnóstico da síndrome metabólica segundo as definições anteriormente abordadas.

Tabela 1 - Valores de referência para diagnóstico da síndrome metabólica segundo as definições abordadas.

		OMS (1999) ¹	NCEP-ATP (2001) ²	AACE ³	FID (2005) ⁴
	IMC (kg/m ²)	>30	-	≥25	≥30
Obesidade	RCQ	Homens>0,90 Mulheres>0,85	-	-	-
	Circunferência abdominal (cm)	-	Homens≥102 Mulheres≥88	Homens≥100 Mulheres≥87,5	Homens≥90 Mulheres≥80
	Triglicerídeos (mg/dl)	≥150	≥150	≥150	≥150
	HDL Colesterol (mg/dl)	Homens<35 Mulheres<39	Homens<40 Mulheres<50	Homens<40 Mulheres<50	Homens<40 Mulheres<50
	Pressão Arterial (mmHg)	≥140 ou 90	≥130 ou 85	≥130 ou 85	≥130 ou 85
	Glicemia de jejum (mg/dl)	≥110	≥110	≥110	≥100
	Microalbuminúria (µg/min)	≥20	-	-	-

¹ Organização Mundial da Saúde

² National Cholesterol Evaluation Program for Adult Treatment Panel III

³ American Association of Clinical Endocrinologists

⁴ Federação Internacional de Diabetes

IMC: índice de massa corporal; RCQ: razão cintura quadril

Embora ainda não haja consenso quanto aos efeitos do exercício físico na síndrome metabólica, são claros os seus efeitos nas patologias isoladas que compõem esta síndrome, como obesidade, diabetes *mellitus*, dislipidemias e hipertensão.

Os exercícios físicos podem aumentar cronicamente o dispêndio energético, independentemente do custo energético direto do programa de treinamento, uma vez que pode ocorrer um aumento da taxa metabólica de repouso (POEHLMAN et al., 2002). Isto, sabidamente, é útil para a redução e controle de peso corporal de obesos.

Alguns estudos verificaram redução do percentual de gordura corporal semelhante entre exercícios aeróbios e exercícios resistidos com pesos com programas de 12 a 16 semanas de treinamento (BRYNER et al., 1999; RICE et al., 1999); contudo, o metabolismo de repouso também reduziu-se significativamente no grupo que realizou exercícios físicos aeróbios (BRYNER et al., 1999).

Outro aspecto bem-establishado é que o risco de desenvolvimento do diabetes *mellitus* está inversamente associado à capacidade cardiorrespiratória, de forma que quanto menor a capacidade cardiorrespiratória maior é o risco (WEI et al., 1999). Os benefícios decorrentes da prática regular de exercício físico no diabetes *mellitus* podem ser agudos ou crônicos. O principal efeito consiste na redução da glicemia, em função do aumento da captação e do metabolismo da glicose pelo organismo. Além disso, contribui na redução da massa corporal, do percentual de gordura corporal e dos níveis de colesterol total e triglicerídeos, aumentando a sensibilidade do organismo à insulina (KRISKA, 2000).

A glicose plasmática diminuiu significativamente em diabéticos obesos durante exercício em cicloergômetro (45 minutos a 50% do VO_{2max}) e permaneceu reduzida durante a recuperação, ao passo que não sofreu alterações em relação aos níveis basais dos controles obesos e com massa corporal adequada (GIACCA et al., 1998). Esta redução da glicemia pode decorrer do aumento da permeabilidade da fibra muscular à glicose, mesmo na ausência de insulina, em virtude do processo de contração (DUNSTAN et al., 1998).

Os aumentos nas concentrações de LDL e colesterol total estão relacionados ao risco aumentado de doenças cardiovasculares, ao contrário das concentrações de HDL, que atuam como um fator de proteção para estas doenças (BEMBEN, D.; BEMBEN, M., 2000). Em geral, 1% de diminuição nos níveis de LDL está associado com uma redução de 2 a 3% no risco de desenvolvimento de doenças cardíacas (LEON; SANCHES, 2001).

A prática regular de exercícios físicos pode promover efeitos crônicos no perfil lipídico, com diminuição na concentração de triglicerídeos, LDL e colesterol total (HALLE et al., 1999) e concomitante aumento nos níveis de HDL (BEMBEN, D.; BEMBEN, M., 2000). Outros estudos demonstraram melhoras nos níveis de HDL, triglicerídeos e LDL, como resposta do efeito agudo do exercício físico (FERGUSON et al., 1998). Estas alterações foram observadas em indivíduos sedentários (BEMBEN, D.; BEMBEN, M., 2000), fisicamente ativos (FERGUSON et al. 1998) e em pacientes diabéticos (HALLE et al., 1999).

Existe forte associação entre os valores de pressão arterial e o gasto de energia habitual (WAREHAN et al., 2000). Um aumento de 1 ml/kg/min no VO_{2pico} e uma redução de 1cm na circunferência da cintura ocasionaram a redução da pressão arterial sistólica em 1 mmHg durante exercício físico (BARONE et al., 2009). Do mesmo modo, o treinamento aeróbio a 50% ou a 70% do VO_{2max} durante 10 semanas foi igualmente eficaz na prevenção de eventos cardiovasculares ligados à hipertensão arterial (MARCEAU et al., 1993).

SÍNDROME METABÓLICA EM MODELO EXPERIMENTAL

Uma vez que existem entraves a pesquisas com seres humanos, modelos animais proporcionam condições mais adequadas ao estudo da síndrome metabólica. O modelo desta síndrome, em ratos, induzido pela ingestão de frutose, comumente causa hipertensão, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e resistência à insulina (HWANG et al., 1987; REAVEN, 1988).

Diversos estudos demonstram que o peso corporal não difere entre os animais que

consumiram dieta balanceada ou rica em frutose (UENO et al., 2000; HUANG et al., 2004; KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006; RAJASEKAR; ANURADHA, 2007; ROGLANS et al., 2007; SANCHEZ-LOZADA et al., 2007; SHARABI et al., 2007; MOURA et al., 2008; ORON-HERMAN et al., 2008). Em compensação, poucas investigações mostram o incremento no peso corporal (JURGENS et al., 2005; WANG et al., 2007).

Pesquisas anteriores relatam que a elevada ingestão de frutose ocasionou intolerância à glicose (THORBURN et al., 1989; SHARABI et al., 2007; MOURA et al., 2008) e hiperinsulinemia (HWANG et al., 1987; THORBURN et al., 1989; HUANG et al., 2004; GIRARD et al., 2006; RAJASEKAR; ANURADHA, 2007; SHARABI et al., 2007; ORON-HERMAN et al., 2008).

Na literatura atual há discordância quanto às alterações na glicemia. Em diversas intervenções com frutose esta variável não sofreu modificações (UENO et al., 2000; JURGENS et al., 2005; ROGLANS et al., 2007; SANCHEZ-LOZADA et al., 2007; MOURA et al., 2008), o que contrasta com os resultados de outros experimentos (THORBURN et al., 1989; KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006; RAJASEKAR; ANURADHA, 2007; SHARABI et al., 2007). Altos níveis de triglicerídeos plasmáticos são conhecidos como decorrentes da ingestão de frutose (HWANG et al., 1987; THORBURN et al., 1989; UENO et al., 2000; HUANG et al., 2004; KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006; SANCHEZ-LOZADA et al., 2007; RAJASEKAR; ANURADHA, 2007; ROGLANS et al., 2007; SHARABI et al., 2007; WANG et al., 2007; MOURA et al., 2008; ORON-HERMAN et al., 2008), uma vez que esta é mais lipogênica que a glicose (SANCHEZ-LOZADA et al., 2007). Inúmeros mecanismos têm sido propostos para explicar este fenômeno, como aumento da lipogênese hepática e elevada produção de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) (ELLIOTT et al., 2002); contudo, os efeitos da frutose no metabolismo do colesterol total ainda não foram suficientemente investigados (GIRARDI et al., 2006). A partir disso, a maior parte dos estudos indica que esta manipulação dietética

incrementa os triglicerídeos, ao passo que as alterações no colesterol total não estão bem elucidadas. Com isto, alguns estudos evidenciaram aumento no colesterol total (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; GIRARD et al., 2006) e outros não (MOURA et al., 2008).

O incremento na pressão arterial sistólica em experimentos com dieta rica em frutose é frequentemente relatado (SANCHEZ-LOZADA et al., 2007; SHARABI et al., 2007; WANG et al., 2007; ORON-HERMAN et al., 2008), e está associado a mudanças metabólicas, tais como hiperinsulinemia, resistência à insulina e hipertrigliceridemia (HWANG et al., 1987).

A fisiopatologia dos distúrbios metabólicos induzidos por sobrecarga de frutose deve-se especialmente à inibição da enzima fosfofrutoquinase, o que leva à inibição da via glicolítica (ELLIOTT et al., 2002). O incremento do consumo de frutose tem coincidido com a crescente incidência de obesidade e síndrome metabólica nas últimas duas décadas (ELLIOTT et al., 2002). Este padrão alimentar causa uma resposta estressante ao fígado e outros tecidos, que respondem com resistência à insulina e desregulação no metabolismo de lipídios (KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004). Sanchez et al. (2007) averiguaram relação direta entre o incremento calórico da ingestão de frutose (controle < frutose 10% < frutose 60%) e o agravamento nas características da síndrome metabólica.

As discrepâncias com outros estudos relacionadas à indução de obesidade (JURGENS et al., 2005; WANG et al., 2007) podem estar relacionadas à linhagem dos animais utilizados e ao tempo de exposição à dieta. Os períodos de administração da dieta propostos na literatura variaram de duas a treze semanas (HWANG et al., 1987; KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; SANCHEZ-LOZADA et al., 2007; WANG et al., 2007). Muitos desses estudos utilizaram ratos da linhagem *Sprague-Dawley* (HWANG et al., 1987; KELLEY; ALLAN; AZHAR, 2004; SANCHEZ-LOZADA et al., 2007; WANG et al., 2007) ou cepa SHR – ratos espontaneamente hipertensos (GIRARD et al., 2006), sendo que os ratos Wistar parecem ter menor susceptibilidade a este modelo experimental (CESARETTI; KOHLMANN-JR, 2005).

A análise dos artigos anteriormente citados deixa claro que ainda não está bem estabelecido quais alterações são necessárias para caracterizar a síndrome metabólica em modelos experimentais; contudo, as alterações mais frequentemente observadas são hipertrigliceridemia, hipertensão, hiperinsulinemia e resistência à insulina, sendo menos comuns alterações no peso corporal, tecido adiposo, glicemia sérica e HDL-C.

A partir da exposição dos temas desnutrição e síndrome metabólica, sendo este último induzido pela sobrecarga de frutose na dieta, torna-se interessante verificar se organismos submetidos a desnutrição precoce seriam mais vulneráveis aos efeitos metabólicos deletérios da sobrecarga de frutose na alimentação, assim como, posteriormente, tentar elucidar os mecanismos envolvidos neste processo.

TRANSIÇÃO METABÓLICA EM ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Como referido anteriormente, diversos trabalhos verificaram efeitos favoráveis do exercício crônico sobre o crescimento linear de crianças e de ratos desnutridos, assim como nos diversos componentes da síndrome metabólica; porém são poucas as informações quanto à aptidão física de organismos desnutridos e portadores de síndrome metabólica para a prática de exercícios físicos. Esse fato pode ser prontamente apurado pela avaliação da capacidade aeróbia, ferramenta frequentemente utilizada na prática clínica e na avaliação de esportistas (HECK et al., 1985).

Durante o exercício físico, a avaliação da capacidade aeróbia é realizada por meio de procedimentos que procuram identificar a intensidade que representa uma zona de transição a partir da qual há mudança de predominância do metabolismo aeróbio para o anaeróbio no fornecimento de adenosina trifosfato para a manutenção da atividade. Parte desses procedimentos utiliza a resposta das concentrações sanguíneas de lactato, devido à fidedignidade desse parâmetro bioquímico na mensuração da transição metabólica, o qual permite, além da caracterização do esforço, um acompanhamento da eficiência do treinamento crônico (BILLAT et al., 2003).

A transição do metabolismo aeróbio/anaeróbio em animais experimentais pode ser determinada pela máxima fase estável de lactato – MFEL (GOBETTO et al., 2001) e, pelo teste de lactato mínimo (VOLTARELLI; GOBETTO; MELLO, 2002; PRADA et al., 2004). A MFEL é definida como a concentração de lactato e a carga de trabalho mais elevadas que podem ser sustentadas durante sessões de exercício com cargas fixas, sem acúmulo contínuo do lactato sanguíneo (HECK et al., 1985; BENEKE, 2003). A carga associada à MFEL é comumente utilizada para a prescrição de treinamento aeróbio em atletas (KINDERMANN; SIMON; KEUL, 1979). A determinação do lactato mínimo abrange a realização de exercícios intensos por curto período de tempo para indução da hiperlactacidemia antes de exercícios com cargas progressivas. Uma curva em forma de “U” é conseguida com os valores de lactato e carga de trabalho durante o exercício incremental. O lactato mínimo é equivalente ao menor valor de lactato obtido durante o exercício incremental (TEGTBUR; BUSSE; BRAUMANN, 1993; JONES; DOUST, 1998), sendo este considerado como ponto de equilíbrio entre a produção e remoção de lactato.

Gobatto et al. (2001) demonstraram que, em ratos submetidos a protocolos de natação, a MFEL ocorreu quando os animais exercitam-se suportando sobrecargas equivalentes a 5 a 6% do peso corporal e concentração média de lactato média de 5,5 mmol/L.

Ao estimar a transição metabólica aeróbia/anaeróbia na natação pelo teste de lactato mínimo em ratos sedentários, Voltarelli, Gobatto e Mello (2002) e Prada et al. (2004) averiguaram cargas e concentrações de lactato de 4,9% do peso corporal e 7,2 e 7,3 mmol/L, respectivamente. A maior concentração de lactato constatada nesse protocolo de teste indica que o tipo de exercício empregado influencia a concentração deste parâmetro. Por outro lado, durante 20 minutos de exercício na carga análoga ao limiar anaeróbio, o lactato estabilizou-se 5 minutos após a concentração de 5,6 mmol/L (PRADA et al., 2004), o que se assemelha aos valores encontrados em testes de MFEL.

Em um estudo sobre a desnutrição proteica em ratos, a transição metabólica, em exercício de natação, estimada pelo teste de lactato mínimo, ocorreu na carga de 4,9% do peso corporal, à concentração de 6,2 mmol/L de lactato sanguíneo no grupo-controle e de 4,2 mmol/L no grupo desnutrido (VOLTARELLI; GOBATO; MELLO, 2007). Em outro estudo, a MFEL durante a natação foi obtida na carga de 5,5%, a uma concentração média de 5,5 mmol/L em ratos-controle e 4,7 mmol/L em ratos recuperados de desnutrição (PAPOTTI et al., 2003). Os valores de lactato circulante verificados para os ratos desnutridos (VOLTARELLI; GOBATO; MELLO, 2007) e recuperados (PAPOTTI et al., 2003) foram inferiores aos dos ratos-controle, o que sugere que a restrição proteica distorce a cinética de lactato durante o exercício de natação e que a recuperação nutricional não repara esta condição.

Em recente trabalho com ratos alimentados com dieta rica em frutose, Moura et al. (2008) constataram que a cinética do lactato sanguíneo do grupo experimental não diferiu da do controle durante exercício, na intensidade da MFEL. Os dados abordados salientam a escassez de literatura sobre capacidade aeróbia,

tanto em organismos desnutridos, quanto naqueles expostos a dieta rica em frutose, o que aponta para a necessidade do estudo destas questões.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do exposto nesta revisão, pode-se constatar que a maioria dos trabalhos analisa a influência da desnutrição somente em parâmetros de repouso, geralmente após o nascimento ou desmame, sendo restrito o acompanhamento até a idade adulta. Igualmente, a recuperação nutricional é realizada com dietas balanceadas, que muitas vezes não são capazes de reverter integralmente as alterações anteriores. Assim, seria interessante analisar a relação entre desnutrição precoce e posterior sobrecarga de frutose na alimentação. Igualmente verificou-se que são raros os estudos que se ocuparam da avaliação da capacidade aeróbia na desnutrição ou em casos de sobrecarga de frutose. Destarte, as interações entre desnutrição, recuperação nutricional, dieta rica em frutose, exercício físico e capacidade aeróbia compõem um interessante campo de investigação.

MALNUTRITION, METABOLIC SYNDROME AND PHYSICAL EXERCISE IN EXPERIMENTAL MODELS USING RATS

ABSTRACT

There is evidence that intrauterine malnutrition may make fetal tissues more vulnerable to chronic diseases. Also, the excessive fructose intake has been associated to the development of metabolic syndrome. Animal models are useful for the study of these questions, since studies in human beings present limitations. Therefore, this work aimed to review topics in malnutrition, metabolic syndrome, physical exercise and aerobic capacity in animal models. The articles analyzed in this review allowed us to conclude that the majority of the studies show the influence of malnutrition on resting variables, after birth or weaning. There are few studies monitoring the animals until adulthood. Also, the nutritional recovery is often performed with balanced diets. Due to the increasingly fructose presence in food, fructose rich diets have been used to induce metabolic syndrome in animal models. Therefore, interactions between malnutrition, nutritional recovery, fructose rich diets, physical exercise and aerobic capacity constitute an interesting field of investigation.

Keywords: Malnutrition. Metabolic syndrome. Risk factors. Physical fitness.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, P. B. L.; MELLO, M. A. R. Desnutrição proteica fetal/neonatal, ação da insulina e homeostase glicêmica na vida adulta: efeitos do jejum e do exercício agudo. *Revista Brasileira de Educação Física e Esporte*, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 17-30, 2004.
- BARONE, B. B.; WANG, N. Y.; BACHER, A. C.; STEWART, K. J. Decreased exercise blood pressure in older adults after exercise training: contributions. *British Journal Sports Medicine*, Baltimore, v. 43, p. 52-56, 2009.
- BEMBEN, D. A.; BEMBEN, M. G. Effects of resistance exercise and body mass index on lipoprotein-lipid patterns of postmenopausal women. *Journal of Strength and Conditioning Research*, Champaign, v. 14, no. 1, p. 80-85, 2000.
- BENEKE, R. Methodological aspects of maximal lactate steady state-implications for performance testing. *European Journal of Applied Physiology*, Berlin, v. 89, p. 95-99, 2003.
- BERTRAM, E. C.; HANSON, M. A. Animal models and programming of the metabolic syndrome. *British Medical Bulletin*, London, v. 60, p. 103-121, 2001.

- BILLAT, V.; SIVERNET, P.; PY, G.; KORALLSZTEIN, J.-P.; MERCIER, J. The concept of maximal lactate steady state. A bridge between biochemistry, physiology and sport science. *Sports Medicine*, Auckland, v. 33, no. 6, p. 407-426, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Indicadores e Dados Básicos para Saúde**. Brasília, DF, 2004. Disponível em: <<http://ministerio.saude.bvs.br/html/pt/indicadores.html>> Acesso em: 18 fev. 2008.
- BRYNER, R. W.; ULLRICH, I. H.; SAUERS, J.; DONLEY, D.; HORNSBY, G.; KOLAR, M.; YEATER, R. Effects of resistance vs. aerobic training combined with an 800 calorie liquid diet on lean body mass and resting metabolic rate. *Journal of the American College of Nutrition*, New York, v. 18, no. 1, p. 115-121, 1999.
- CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN JÚNIOR, O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, São Paulo, v. 50, p. 190-197, 2006.
- DAHRI, S.; REUSENS, B.; REMACLE, C.; HOET, J. J. Nutritional influences on pancreatic development and potential links with non-insulin-dependent diabetes. *Proceedings of the Nutrition Society*, v. 54, p. 345-356, 1995.
- DAHRI, S.; SNOECK, A.; REUSENS, B.; REMACLE, C.; HOET, J. J. Islet function in offspring of mothers on low-protein diet during gestation. *Diabetes*, Philadelphia, v. 40, no. 2, p. 115-120, 1991.
- DHINGRA, R.; SULLIVAN, L.; JACQUES, P. F.; WANG, T. J.; FOX, C. S.; MEIGS, J. B.; et al. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation*, Dallas, v. 116, p. 480-488, 2007.
- DIXIT, P. K.; KAUNG, H. L. C. Rat pancreatic β cell in protein deficiency: a study involving morphometric analysis and alloxan effect. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 115, p. 375-381, 1985.
- DUNSTAN, D. W.; PUDDEY, I. B.; BEILIN, L. J.; BURKE, V.; MORTON, A. R.; STANTON, K. G. Effects of a short-term circuit weight training program on glycaemic control in NIDDM. *Diabetes Research and Clinical Practice*, Amsterdam, v. 40, p. 53-61, 1998.
- ELLIOTT, S. S.; KEIM, N. L.; STERN, J. S.; TEFF, K.; HAVEL, P. J. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *American Journal Clinical of Nutrition*, Bethesda, v. 76, p. 911-922, 2002.
- EXECUTIVE Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *The Journal of the American Medical Association*, Chicago, v. 285, no. 19, p. 2486-2497, 2001.
- FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE DIABETES. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. CONGRESSO INTERNACIONAL DE PRÉ-DIABETES E SÍNDROME METABÓLICA, 1., 2005, Berlim. *Annals...*, Berlim: [s.n.], 2005.
- FERGUSON, M. A.; ALDERSON, N. L.; TROST, S. G.; ESSIG, D. A.; BURKE, J. R.; DURSTINE, J. L. Effects of four different single exercise sessions on lipids, lipoproteins, and lipoprotein lipase. *Journal of Applied Physiology*, Amsterdam, v. 85, no. 3, p. 1169-1174, 1998.
- FORD, E. S.; GILES, W. H.; DIETZ, W. H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. *The Journal of the American Medical Association*, Chicago, v. 287, no. 3, p. 356-359, 2002.
- GALDINO, R.; ALMEIDA, C. C. S.; LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. *Nutrition Research*, New York, v. 20, no. 4, p. 527-535, 2000.
- GALDINO, Rozinaldo; MELLO, Maria Alice Rostom de; ALMEIDA, Roberto Lopes de; ALMEIDA, Carla Cássia de Souza. Desnutrição proteica calórica. In: DÂMASO, Ana. *Nutrição e exercícios na prevenção de doenças*. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. cap 10, p. 255-275.
- GAVETE, M. L.; MARTÍN, M. A.; ALVAREZ, C.; ESCRIV, F. Maternal food restriction enhances insulin-induced GLUT-4 translocation and insulin signaling pathway in skeletal muscle from suckling rats. *Endocrinology*, Springfield, v. 146, p. 3368-3378, 2005.
- GIACCA, A.; GROENEWOUD, Y.; TSUI, E.; MCCLEAN, P.; ZINMAN, B. Glucose production, utilization, and cycling in response to moderate exercise in obese subjects with type 2 diabetes and mild hyperglycemia. *Diabetes*. [S.l.], v. 47, p. 1763-1770, 1998.
- GIRARD, A.; MADANI, S.; BOUKORTT, F.; CHERKAOUI-MALKI, M.; BELLEVILLE, J.; PROST, J. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition*, Burbank, v. 22, p. 758-766, 2006.
- GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. The developmental origins of the metabolic syndrome. *Endocrinology and Metabolism*, London, v. 15, no. 4, p. 183-187, 2004.
- GOBATO, C. A.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comparative Biochemistry Physiology*, London, v. 130A, p. 21-27, 2001.
- GOPALAN, S. Malnutrition: causes and consequences. *Nutrition*, Burbank, v. 16, no. 7/8, p. 556-558, 2000.
- HALLE, M.; BERG, A.; GARWERS, U.; BAUMSTARK, M. W.; KNISE, L. W.; GRATHWOHL, D.; et al. Influence of 4 weeks' intervention by exercise and diet on low-density lipoprotein subfractions in obese men with type 2 diabetes. *Metabolism*, New York, v. 48, no. 5, p. 641-644, 1999.
- HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MÜCKE, S.; MÜLLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. *International Journal of Sports Medicine*, New York, v. 6, p. 117-130, 1985.
- HUANG, B. W.; CHIANG, M. T.; YAO, H. T.; CHIANG, W. The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, Oxford, v. 6, p. 120-126, 2004.
- HWANG, I. S.; HO, H.; HOFFMAN, B. B.; REAVEN, G. M. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension*, Dallas, v. 10, p. 512-516, 1987.
- IBGE. **Medidas antropométricas de crianças e adolescentes 2002/2003**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicao_evid/pof2003medidas/pof2003medidas.pdf>. Acesso em: 18 fev. 2008.

- JONES, A. M.; DOUST, J. H. The validity of the lactate minimum test for determination of the maximal lactate steady state and physiological correlates to 8 Km running performance. *Medicine Science and Sports Exercise*, Madison, v. 30, no. 8, p. 1304-1313, 1998.
- JURGENS, H.; HAASS, W.; CASTAÑEDA, T. R.; SCHURMANN, A.; KOEBNICK, C.; DOMBROWSKI, F.; OTTO, B.; NAWROCKI, A. R.; SCHERER, P. E.; SPRANGER, J.; RISTOW, M.; JOOST, H.; HAVEL, P. J.; TSCHO, M. H. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obesity Research*, Baton Rouge, v. 13, no. 7, p. 1146-1156, 2005.
- KAHN, R.; BUSE, J.; FERRANNINI, E.; STERN, M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal. *Diabetologia*, Berlin, v. 48, p. 1684-1699, 2005.
- KELLEY, G. L.; ALLAN, G.; AZHAR, S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. *Endocrinology*, Springfield, v. 145, p. 548-555, 2004.
- KINDERMANN, W.; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, Berlin, v. 42, no. 1, p. 25-34, 1979.
- KRISKA, A. Physical activity and the prevention of type 2 diabetes mellitus. how much for how long? *The Journal of sports medicine*, Baltimore, v. 29, no. 3, p. 147-151, 2000.
- LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C. Reduced insulin secretion in response to nutrients in islets from malnourished young rats is associated with diminished calcium uptake. *Journal Nutrition Biochemistry*, Lexington, v. 10, p. 37-43, 1999.
- LATORRACA, M. Q.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C.; MELLO, M. A. R. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. *British Journal of Nutrition*, Wallingford, v. 80, n. 3, p. 291-297, 1998a.
- LATORRACA, M. Q.; REIS, M. A. B.; CARNEIRO, E. M.; MELLO, M. A. R.; VELLOSO, L. A.; SAAD, M. J. A. et al. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 128, no. 10, p. 1643-1649, 1998b.
- LEON, A. S.; SANCHEZ, O. A. Response of blood lipids to exercise training alone or combined with dietary intervention. *Medicine Science Sports Exercise*, Madison, v. 33, no. 6, p. S502-S515, 2001.
- MACEDO, D. V.; MELLO, M. A. R. Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*, Brasília, DF, v. 12, n. 2, p. 29-34, 2004.
- MARCEAU, M.; KOUAME, N.; LACOURCIERE, Y.; CLEROUX, J. Effects of different training intensities on 24-hour blood pressure in hypertensive subjects. *Circulation*, Dallas, v. 88, p. 2803-2811, 1993.
- MELLO, M. A. R.; CURY, L.; VALLE, L. B. S.; OLIVEIRA-FILHO, R. M. Protein-calorie malnutrition in the young pregnant rat, factors involved in fetal growth impairment. *Brazilian Journal of Medical and Biology Research*, São Paulo, v. 20, p. 575-577, 1987.
- MOURA, R. F.; CAMBRI, L. T.; QUADROS JUNIOR, A. C.; NASCIMENTO, C. M. C.; ARANTES, L. M.; SEBASTIÃO, E. et al. Capacidade aeróbia de ratos alimentados com dieta rica em frutose. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, São Paulo, v. 14, n. 5, p. 422-426, 2008.
- OKITOLONDA, W.; BRICHARD, S. M.; HENKIN, J. C. Repercussions of chronic protein-calorie malnutrition on glucose homeostasis in the rat. *Diabetologia*, v. 30, p. 946-951, 1987.
- OLIVEIRA, E. A.; CHEIM, L. M. G.; VELOSO, R. V.; ARANTES, V. C.; REIS, M. A. B.; CARNEIRO, E. M.; et al. Nutritional recovery with a soybean flour diet improves the insulin response to a glucose load without modifying glucose homeostasis. *Nutrition*, Burbank, v. 24, p. 76-83, 2008.
- ORON-HERMAN, M.; KAMARI, Y.; GROSSMAN, E.; YEGER, G.; PELEG, E.; SHABTAY, Z.; SHAMISS, A.; SHARABI, Y. Metabolic syndrome: Comparison of the two commonly used animal models. *American Journal of Hypertension*, New York, v. 21, p. 1018-1022, 2008.
- PAPOTI, M.; ALMEIDA, P. B.; PRADA, F. J. A.; ELENO, T. G.; HERMINI, H. A.; GOBATO, C. A. et al. Máxima fase estável de lactato durante a natação em ratos recuperados de desnutrição proteica. *Motriz*, Rio Claro, v. 9, no. 2, p. 103-110, 2003.
- POEHLMAN, E. T.; DVORAK, R. V.; DENINO, W. F.; BROCHU, M.; ADES, P. A. Effects of endurance and resistance training on total daily energy expenditure in young women: in young women: a controlled randomized trial. *The Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism*, Springfield, v. 87, no. 3, p. 1004-1009, 2002.
- PRADA, F. J. A.; VOLTARELLI, F. A.; OLIVEIRA, C. A. M.; GOBATO, C. A.; RAJASEKAR, P.; ANURADHA, C. V. Fructose-induced hepatic gluconeogenesis: effect of L-carnitine. *Life Sciences*, Oxford v. 80, p. 1176-1183, 2007.
- REAVEN, G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, Philadelphia, v. 37, p. 1595-1607, 1988.
- RICE, B.; JANSSEN, I.; HUDSON, R.; ROSS, R. Effects of aerobic or resistance exercise and/or diet on glucose tolerance and plasma insulin levels in obese men. *Diabetes Care*, New York, v. 22, no. 5, p. 684-691, 1999.
- ROGLANS, R.; VILA, L.; FARRÉ, M.; ALEGRET, M.; SÁNCHEZ, R. M.; VÁZQUEZ-CARRERA, M.; LAGUNA, J. C. Impairment of hepatic stat-3 activation and reduction of PPAR γ activity in fructose-fed rats. *Hepatology*, Baltimore, v. 45, p. 778-788, 2007.
- SANCHEZ-LOZADA, L. G.; TAPIA, E.; JIMENEZ, A.; BAUTISTA, P.; CRISTÓBAL, M. et al. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *American Journal of Physiology. Renal physiology*, Bethesda, v. 292, p. F423-F429, 2007.
- SHARABI, Y.; ORON-HERMAN, M.; KAMARI, Y.; AVNI, I.; PELEG, E.; SHABTAY, Z.; GROSSMAN, E.; SHAMISS, A. Effect of PPAR γ agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. *American Journal of Hypertension*, New York, v. 20, no. 2, p. 206-210, 2007.

- SHEPHERD, B. P. R.; CROWTHER, N. J.; DESAI, M.; HALES, C. N.; OZANNET, S. E. Altered adipocyte properties in the offspring of protein malnourished rats. *British Journal of Nutrition*, Wallingford, v. 78, p. 121-129, 1997.
- SILVA, M. P.; STEVANATO, E.; MOREIRA, V. M.; PORTO, M.; MELLO, M. A. R. Efeitos da desnutrição intra-uterina e da recuperação nutricional sobre respostas metabólicas ao exercício crônico em ratos jovens. *Motriz*, Rio Claro, v. 5, n. 2, p. 152-159, 1999.
- TEGTBUR, U.; BUSSE, M. W.; BRAUMANN, K. M. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. *Medicine Science and Sports Exercise*, Madison, v. 25, no. 5, p. 620-627, 1993.
- THORBURN, A. W.; STORLIEN, L. H.; JENKINS, A. B.; KHOURI, S.; KRAEGEN, E. W. Fructose-induced in vivo insulin resistance and elevated plasma triglyceride levels in rats. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v. 49, p. 155-163, 1989.
- TORUN, B.; VITERI, F. E. Influence of exercise on linear growth. *European Journal of Clinical Nutrition*, Southampton, v. 48, no. 1, p. S186-190, 1994.
- UAUY, R.; ALBALA, C.; KAIN, J. Obesity trends in Latin America: transiting from under to overweight. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 131, no. 3, p. 893S-899S, 2001.
- UENO, M.; BEZERRA, R. M. N.; SILVA, M. S.; TAVARES, D. Q.; CARVALHO, C. R.; SAAD, M. J. A.; A high-fructose diet induces changes in pp185 phosphorylation in muscle and liver of rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, São Paulo, v. 33, p. 1421-1427, 2000.
- VOLTARELLI, F. A.; GOBATO, C. A.; MELLO, M. A. R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Brazilian Journal of Medical and Biology Research*, São Paulo, v. 35, p. 1389-1394, 2002.
- VOLTARELLI, F. A.; GOBATO, G. A.; MELLO, M. A. R. Determinação da transição metabólica através do teste do lactato mínimo em ratos desnutridos durante exercício de natação. *Revista da Educação Física/UEM*, Maringá, v. 18, n. 1, p. 33-39, 2007.
- WANG, X.; HATTORI, Y.; SATOH, H.; IWATA, C.; BANBA, N.; MONDEN, T. et al. Tetrahydrobiopterin prevents endothelial dysfunction and restores adiponectin levels in rats. *European Journal of Pharmacology*, Amsterdam, v. 555, p. 48-53, 2007.
- WAREHAN, N. J.; WONG, M. Y.; HENNINS, S.; MITCHELL, J.; RENNIE, K.; CRUICKSHANK, K.; DAY, N. E. Quantifying the association between habitual energy expenditure and blood pressure. *International Journal of Epidemiology*, Oxford, v. 29, p. 655-660, 2000.
- WEI, M.; GIBBONS, L. W.; MITCHELL, T. L.; KAMPERT, J. B.; LEE, C. D.; BLAIR, S. N. The association between cardiorespiratory fitness and impaired fasting glucose and type 2 diabetes mellitus in men. *Annals of Internal Medicine*, Philadelphia, v. 130, no. 2, p. 89-96, 1999.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Core Health Indicators. Disponível em: <http://www.who.int/whosis/database/core/core_select_process.cfm?countries=all&indicators=child_undernutrition>. Disponível em: 18 fev. 2008.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diabetes mellitus: report of a WHO study group. Geneva, 1999.

Recebido em 13/02/09
Revisado em 31/08/09
Aceito em 12/09/09

Endereço para correspondência: Maria Alice Rostom de Mello. UNESP – Instituto de Biociências - Departamento de Educação Física. Avenida 24 A, 1515, Bela Vista, CEP 13506-900, Rio Claro-SP, Brasil. E-mail: mellomar@rc.unesp.br

6.2 ANEXO 2: Artigo publicado na *Nutrition Research*



Recovery of rat growth and lipid profiles in adult rats subjected to fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet

Lucieli T. Cambri*, Ana C. Ghezzi, Carla Ribeiro, Rodrigo A. Dalia, Maria A. Rostom de Mello

Department of Physical Education, São Paulo State University (UNESP), Rio Claro-SP, CEP 13500-900, Brazil

Received 20 September 2009; revised 7 December 2009; accepted 4 January 2010

Abstract

There is evidence suggesting an association between fructose consumption and the development of metabolic syndrome. In turn, protein malnutrition in utero is proposed to “program” the fetal tissues, making them more susceptible to nutritional associated disorders. To test this hypothesis, the present study was designed to analyze body growth and metabolic aspects of rats subjected to fetal protein malnutrition and subsequently fed a fructose-rich diet. Wistar rats were distributed into 4 groups: balanced (B) diet—B diet offered the entire experimental period; balanced diet/fructose—B diet until birth and fructose-rich diet (F-60% fructose) until adulthood; low-protein (L) diet/balanced—L diet until birth and B diet until adulthood; low-protein diet/fructose (F)—L diet until birth and F diet until adulthood. After nutritional recovery, there was a restoration of serum glucose, total protein, and albumin concentrations, which were reduced by fetal malnutrition, and a restoration of the liver glycogen and lipids contents, which were increased by fetal malnutrition. This restoration was independent of the diet adopted after birth. It was verified that the high fructose diet arrested body growth of the rats independently of the nutritional state during fetal life and was associated with weight reduction and decrease of the adipose in some regions of the body ($P < .05$). Moreover, the serum concentrations of triglycerides and total cholesterol, which are indicators of metabolic syndrome, rose in the rats that ingested the fructose-rich diet ($P < .05$). In summary, high consumption of fructose impairs body growth and alters the circulating lipids independently of the protein nutrition in utero.

© 2010 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords:

Rat; Low protein; Nutritional recovery; Development; Fructose; Syndrome metabolic

Abbreviations:

B diet, balanced diet; BF, balanced diet/fructose diet; F diet, fructose diet; KITT, constant for serum glucose removal; L diet, low-protein diet; LB, low-protein diet/balanced diet; LF, low-protein diet/fructose diet.

1. Introduction

Currently, protein-energy malnutrition is still the most important isolated factor that, directly or indirectly, affects health of a large portion of the world population. The current process of economic development and demographic transition has caused a change in the malnutrition profile, especially in the second half of the 20th century. This shift

in malnutrition pattern is most noticeable in developing countries [1]. Lately, the worldwide incidence of severe protein-energy malnutrition has been decreasing. However, in developing countries, “mild” and “moderate” malnutrition, child stunting, and gestational anemia associated with low birth weight are still prevalent. In 2000, the worldwide incidence of low birth weight was approximately 15.5%, with the highest rate (27.1%) in south Asia. In less developed countries, more than 19 million children with low weight are born per year [2].

Although undernutrition persists as a problem of the poor in developing countries, especially among women and

* Corresponding author. Tel.: +55 19 3526 4320; fax: +55 19 3526 4321.

E-mail address: lucambri@yahoo.com.br (L.T. Cambri).

children, there has also been an increase in the occurrence of chronic diet-related diseases, such as obesity and diabetes in adults of relatively “affluent” social groups in developed and developing countries. As a consequence, most developing countries face a double challenge, with undernutrition among women and children on one hand and poor dietary habits on the other hand among affluent adults [3].

There is evidence that malnutrition manifestations in both extremes of the socioeconomic spectrum might have etiological and metabolic links. Studies have demonstrated that undernutrition in utero might “program” the fetal tissues, making them more susceptible to nutrition-associated disorders, such as type 2 diabetes, metabolic syndrome, and other chronic, degenerative diseases in adulthood [4–6].

Similarly, the abuse of fructose ingestion in contemporary society has instigated health researchers to perform more studies on the effects of high-fructose consumption. There is clinical and epidemiologic evidence that suggests a progressive association between fructose consumption, which is widely used as a sweetener in beverages and other food products, and the development of metabolic syndrome [7–9].

Despite the epidemiologic evidence of the association between early undernutrition and chronic degenerative diseases in adulthood, longitudinal studies involving endocrine and biochemical variables in humans present obvious limitations. Therefore, animal models using controlled conditions might be able to contribute to the investigation of this matter. Dietetic manipulations with isocaloric diets of low protein content are used to trigger experimental protein deficiency to explore the mechanisms through which protein restriction affects the developing organs early in life [5].

Most studies with animal models analyze the influence of early protein malnutrition starting after birth or weaning, and few of them follow the animals until adulthood. Simultaneously, nutritional recovery is commonly obtained with balanced diets [10–13]. In contrast, signs of metabolic syndrome (hyperinsulinemia, hypertension, hypertriglyceridemia, and insulin resistance) are triggered in adult rodents by the administration of fructose-rich diets [14–16].

To test the hypothesis that protein malnutrition in utero contributes to the susceptibility of fetal tissues to nutritionally associated disorders, the present study was designed to analyze body growth and metabolic aspects of rats subjected to fetal protein malnutrition. In addition, the rats were subsequently fed a fructose-rich diet until adulthood.

2. Methods and materials

2.1. Animals

Pregnant adult (90 days) Wistar rats obtained from the animal facilities of the UNESP—São Paulo State University, Botucatu, SP, Brazil, were used in this study. The rats were maintained in a room with a temperature of 25°C, with a

Table 1

Ingredient composition of the diets fed to rats

Components (g/kg diet)	Dietary treatments		
	B (17%) ^a	L (6%) ^b	F (60%) ^c
Casein ^d	202	71.5	202
Starch	397	480	—
Dextrin	130.5	159	—
Sucrose	100	121	27.6
Fructose	—	—	600
L-cystine	3	1	3
Soybean oil	70	70	70
Mineral mix (AIN-93GMX) ^a	35	35	35
Vitamin mix (AIN-93GVX) ^a	10	10	10
Fiber	50	50	50
Choline hydrochloride	2.5	2.5	2.5

^a According to the American Institute of Nutrition (AIN-93G) [17].

^b According to Latorraca et al [18].

^c According to Moura et al [16].

^d Values adjusted due to the amount of protein in the casein.

photoperiod of 12 hours of light and 12 hours of darkness, with lights on from 6:00 AM to 6:00 PM. The rats had free access to water and food during the entire experiment. All of the procedures adopted for the rats were approved by the Committee of Ethics in Animal Research, State University of Campinas, under protocol number 1487-1.

2.2. Experimental design and diets

Isocaloric balanced (17% protein), low-protein (6% protein), and fructose-rich (60% fructose) diets were used in this study. Diet ingredient compositions are shown in Table 1. According to the diet received during pregnancy, the female rats were separated into 2 groups: balanced (B) and low protein (L). The experimental design is showed in Fig. 1. Immediately after birth, 8 male B neonates and 8 male L neonates were weighed and euthanized to determine the serum glucose, total protein, and albumin concentrations (colorimetric methods [20], using LABORLAB (Guanulhos, São Paulo, Brazil) commercial kits), as well as the liver glycogen [19] and total lipid content [20]. This baseline data were used to verify malnutrition in the L group. The remaining male offspring were distributed into 4 groups (n =

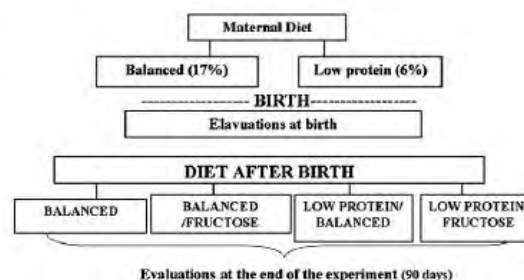


Fig. 1. Experimental design.

7 per group) according to the diet adopted until adulthood (90 days). Until weaning (from birth to 21 days), the mothers received corresponding diets:

- B diet: diet containing 17% protein during the whole experiment;
- Balanced diet/Fructose (BF): diet containing 17% protein until birth and fructose-rich diet (60%) from birth to adulthood;
- Low-protein diet/Balanced (LB): diet containing 6% protein until birth and diet with 17% protein from birth until adulthood;
- Low-protein diet/Fructose (LF): diet containing 6% protein until birth and fructose-rich diet (60%) from birth until adulthood.

2.3. General evaluations

Body weight, body length (nose to anus), and food intake were measured once a week from weaning (21 days) until the end of the experiment (90 days).

2.4. Glucose tolerance test

The glucose tolerance test was performed on the rats at 90 days, after 12 hours of fasting. A first blood sampling was performed through a small cut on the extremity of the tail (time 0). Afterwards, a 20% glucose solution (2 g/kg of weight) was administered to the rats through a polyethylene gastric probe. Blood samples were collected after 30, 60, and 120 minutes with heparinized capillaries and calibrated to 25 μ L for of glucose and insulin determinations. The blood glucose concentrations were determined by the glucose oxidase-peroxidase enzymatic colorimetric method [20] using commercial kits (LABORLAB), and the blood insulin concentrations were determined by enzyme-linked immunosorbent assay, also employing commercial kits (Sigma, St. Louis, MO, USA). The area under the serum glucose curve during the test was calculated [21] using the ORIGIN 3.5 software.

2.5. Insulin tolerance test

Insulin sensitivity was determined by an insulin tolerance test. The test was performed with the rats in the fed state, 48 hours after the glucose tolerance test. A first blood sampling was performed through a small cut on the extremity of the tail (time 0). Next, insulin (Lilly)—30 UI/100 g of weight—was administered subcutaneously. Blood samples were collected after 30, 60, and 120 minutes with heparinized capillaries and calibrated to 25 μ L for glucose determination by the glucose oxidase-peroxidase enzymatic colorimetric method [20] using commercial kits (LABORLAB). A constant for serum glucose removal (KITT) during the insulin tolerance test was calculated [22] using the ORIGIN 3.5 software. The homeostatic model assessment (HOMA) index (fasting serum glucose [mg/dL] $\times$ fasting serum insulin [pmol/L]/22.5) was also calculated to further evaluate insulin sensitivity.

2.6. Tissue sample collection

At the end of the experiment, 48 hours after the last in vivo evaluation, the animals were killed at rest by decapitation, after being anesthetized in a carbon dioxide chamber, for tissue sample collection. Blood samples were collected immediately for serum glucose, triglycerides, total cholesterol, total proteins, albumin, and free fatty acids determinations by calorimetric methods [20] using commercial kits (LABORLAB).

The adipose tissue of the mesenteric, retroperitoneal, and posterior subcutaneous regions was removed for weighing. The excision of the different fat depots was performed according to the Cinti description [23]. Liver samples were removed for glycogen [19] and total lipid [20] determinations.

For measurements of muscle glucose uptake and oxidation, glycogen synthesis and concentration of glycogen, longitudinal soleus muscles strips (25–30 mg) were placed in glass vials containing [U14 C] glucose (0.25 μ Ci/mol glucose), [3H]-2-deoxyglucose (0.1 μ Ci/mol glucose), and nonradioactive glucose to a final concentration of 5.5 mmol/L plus insulin (100 mIU/mL). Glucose uptake and oxidation as well glycogen synthesis and concentration of glycogen were determined as previously described [24,25].

2.7. Statistical analyses

Student *t* test was used for the comparisons between the newborn groups, and 2-way analysis of variance (ANOVA) was used for the comparisons among the groups at 90 days of age, followed by Newman-Keuls' post hoc, when necessary. A 5% ($P < .05$) level of significance was adopted. The statistical tests were performed using the STATISTICA 7.0 program for WINDOWS.

3. Results

The L diet resulted in reduced body weights of rats at birth compared to the B diet (Table 2). Serum glucose, total proteins and albumin were lower, but liver glycogen and liver lipids were higher in the rats on the L diet compared to the B diet. Food intake was not different between the dietary groups for the duration of the study (Table 3).

Table 2
Baseline measurements determined at birth in rats

	B	L
Body weight (g)	6.5 $\pm$ 0.8	5.3 $\pm$ 0.8 *
Serum glucose (mg/dL)	81 $\pm$ 11	68 $\pm$ 17 *
Serum total proteins (g/dL)	7.6 $\pm$ 1.8	3.7 $\pm$ 1.3 *
Serum albumin (g/dL)	3.36 $\pm$ 0.19	1.31 $\pm$ 0.19 *
Liver glycogen (mg/100 mg)	1.99 $\pm$ 0.56	2.50 $\pm$ 0.26 *
Liver lipids (mg/100 mg)	7.79 $\pm$ 2.48	16.67 $\pm$ 5.74 *

Results expressed as means $\pm$ standard deviation of 8 animals per group.

* $P < .05$, significant difference in rows between groups by Student *t* test.

Table 3

Rat weekly food intake from weaning (21 days) until the end of the experiment (90 days)

Days	B	BF	LB	LF
21	17.16 ± 2.16	15.44 ± 2.23	15.90 ± 1.75	17.30 ± 3.19
28	14.74 ± 1.58	13.34 ± 1.46	15.76 ± 1.14	15.45 ± 3.81
35	8.79 ± 1.52	10.10 ± 2.76	9.75 ± 0.74	8.77 ± 2.30
42	8.07 ± 1.29	6.35 ± 0.58	7.08 ± 0.73	6.71 ± 1.10
49	6.62 ± 1.24	6.60 ± 1.66	7.59 ± 0.78	7.00 ± 0.98
56	5.59 ± 2.30	5.68 ± 1.22	8.00 ± 0.87	5.92 ± 1.58
63	4.82 ± 0.29	5.60 ± 0.50	5.37 ± 0.81	4.96 ± 0.41
70	6.96 ± 0.86	5.15 ± 0.70	6.99 ± 1.20	4.39 ± 0.14
77	7.81 ± 1.76	3.35 ± 1.26	3.66 ± 1.80	3.19 ± 1.28
84	3.51 ± 0.07	4.64 ± 0.67	4.01 ± 0.37	3.79 ± 1.09

Results expressed as means ± standard deviation of 7 animals per group. There was no difference ($P < .05$) among groups by 2-way ANOVA.

Body weight after birth (Fig. 2A) was influenced by the diet ingested during the nutrition recovery period; the groups fed the B diet (B, 219.8 ± 40.0 g; LB, 237.4 ± 45.7 g) gained weight similarly, but both groups gained significantly more weight than the corresponding groups that ingested the fructose-rich diet after birth (BF, 162.0 ± 60.5 g; LF, 145.3 ± 52.3 g). However, when the linear regression of the body weight in relation to age of the animals was done, we

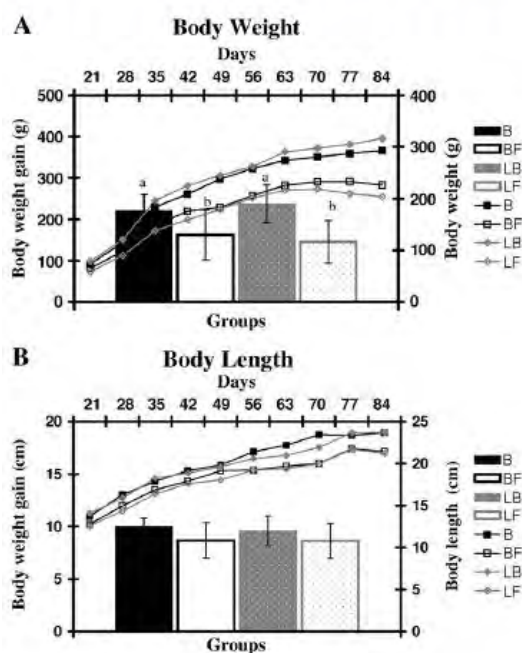


Fig. 2. A, Body weight (lines) and body weight gain (bars). B, Nose-to-anus body length (lines) and body length gain (bars) from weaning (21 days) until the end of the experiment (90 days). Results expressed as means ± standard deviation of 7 animals per group. Values with different letters indicate significant differences for weight gain among groups by 2-way ANOVA and Newman-Keuls' post hoc ($P < .05$).

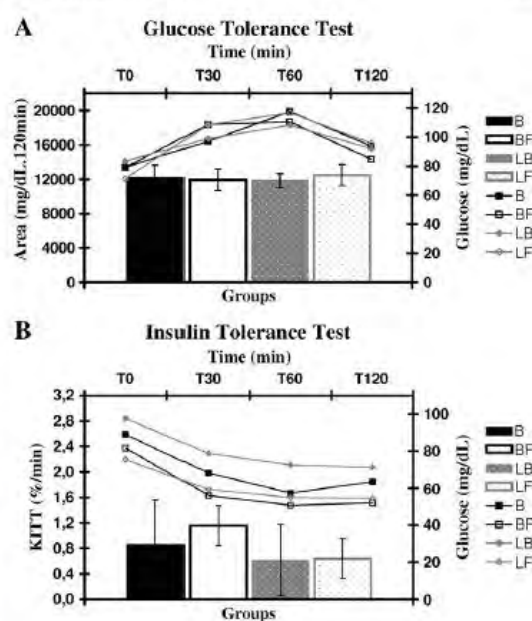


Fig. 3. A, Serum glucose (lines) and area under the serum glucose curve (bars) during the glucose tolerance test. B, Serum glucose (lines) and glucose removal rate-KITT (bars) during the insulin tolerance test at the end of the experiment (90 days). Results expressed as means ± standard deviation of 7 animals per group. There was no significant difference ($P < .05$) among groups by 2-way ANOVA.

observed that body growth rate did not differ among the groups (B, 44.40 ± 35.17 ; BF, 43.09 ± 35.74 ; LB, 45.48 ± 30.90 ; LF, 42.54 ± 28.97). The body length after birth was influenced by the diets received during the fetal period as well as after birth (Fig. 2B).

Glucose tolerance was not affected either by fetal malnutrition or by the type of diet eaten during nutritional recovery because no difference in the area under the glucose curve was observed among the groups (Fig. 3A) during the glucose tolerance test at the end of experiment. Fig. 3B presents the serum glucose levels and the rates of serum glucose removal (KITT) during the insulin tolerance test, which was performed at the end of the experiment. There

Table 4

Rat adipose tissue weight (mg/100 mg) in different anatomical regions at the end of the experiment (90 days)

	B	BF	LB	LF
Mesenteric	0.47 ± 0.25	0.50 ± 0.34	0.63 ± 0.19	0.32 ± 0.24
Retroperitoneal	0.42 ± 0.12 ^a	0.25 ± 0.13 ^b	0.48 ± 0.17 ^a	0.18 ± 0.10 ^b
Posterior subcutaneous	0.31 ± 0.05 ^{ab}	0.30 ± 0.10 ^b	0.40 ± 0.11 ^a	0.23 ± 0.08 ^b

Results expressed as means ± standard deviation of 7 animals per group. Values in rows having different superscript letters indicate a significant difference among groups by 2-way ANOVA and Newman-Keuls' post hoc ($P < .05$).

Table 5
Rat serum and tissue measurements at the end of the experiment (90 days)

	B	BF	LB	LF
Glucose (mg/dL)	85 ± 14	100 ± 20	92 ± 17	97 ± 18
Triglycerides (mg/dL)	42 ± 10 ^b	71 ± 18 ^a	48 ± 11 ^b	69 ± 20 ^a
Total cholesterol (mg/dL)	53 ± 2 ^b	68 ± 17 ^a	57 ± 6 ^{ab}	69 ± 15 ^a
Total proteins (g/dL)	5.2 ± 0.2	4.8 ± 0.4	4.9 ± 0.3	5.0 ± 0.3
Albumin (g/dL)	3.3 ± 0.6	3.3 ± 0.6	3.3 ± 0.5	3.4 ± 0.3
Free fatty acids (μEq/L)	149.3 ± 2.31	144.4 ± 1.94	137.9 ± 2.26	139.0 ± 1.47
Liver glycogen (mg/100 mg)	1.57 ± 1.02	2.25 ± 0.80	2.10 ± 1.10	2.33 ± 0.84
Liver lipids (mg/100 mg)	4.79 ± 1.02	5.02 ± 1.63	5.03 ± 0.96	4.26 ± 0.76

Results expressed as means ± standard deviation of 7 animals per group. Values in rows having different superscript letters indicate a significant difference among groups by 2-way ANOVA and Newman-Keuls' post hoc ($P < .05$).

was no significant difference among the groups. Similarly, the HOMA index did not show differences among the groups (B, 11.1 ± 7.5 ; BF, 11.7 ± 6.8 ; LB, 9.3 ± 4.2 ; LF, 6.4 ± 4.0), indicating the absence of insulin resistance.

The adipose tissue weight for different anatomical regions is presented in Table 4. The tissue weight of the retroperitoneal region was influenced by the diet adopted after birth because the groups that ingested the fructose-rich diet (BF and LF) showed lower adipose tissue weight in this region compared to B and LB groups. The tissue weight of the subcutaneous region was lower in the groups that ingested the fructose-rich diet (BF and LF), compared with group LB.

There was no difference among the groups for serum glucose, total protein, albumin concentrations, and free fatty acids, as well as in the liver glycogen and lipid contents at the end of the experiment (Table 5). As presented in Table 5, the groups that ingested the fructose-rich diet (BF and LF) showed significantly higher serum triglycerides than the groups that ingested the B diet after birth (B and LB).

Table 6
Measurements taken in isolated soleus muscle of rats at the end of the experiment (90 days)

	B	BF	LB	LF
Glucose uptake (μmol/gxh)	2.48 ± 0.24	2.91 ± 0.43	2.46 ± 0.52	2.42 ± 0.64
Glucose oxidation (μmol/gxh)	4.19 ± 0.89	4.39 ± 0.80	3.49 ± 1.21	4.75 ± 0.37
Synthesis of glycogen (μmol/gxh)	0.84 ± 0.22	0.83 ± 0.20	0.92 ± 0.24	0.84 ± 0.17
Concentration of glycogen (mg/100 mg)	0.13 ± 0.04	0.10 ± 0.03	0.13 ± 0.04	0.13 ± 0.03

Results expressed as mean ± standard deviation of 6 animals per group. There was no difference ($P < .05$) among groups by 2-way ANOVA.

Similarly, the groups that ingested the fructose-rich diet (BF and LF) presented significantly higher total cholesterol than the B group.

Table 6 presents the data of the isolated soleus muscle glucose metabolism, in which glucose uptake and oxidation, as well as glycogen synthesis and concentration, were analyzed. There were no differences among the groups for any of these variables.

4. Discussion

Protein malnutrition has an immediate impact on the dynamics of growth and development of the organism [13,18,26–28]. In addition, the rise in the fructose consumption coincides with the growing prevalence of obesity and metabolic syndrome in the last 2 decades [8]. In this context, we hypothesized that when subjected to early protein malnutrition, the body would be more vulnerable to the deleterious metabolic effects of alimentary fructose overload. Thus, the objective of present study was to analyze body growth and metabolic parameters in experiments involving rats subjected to fetal protein malnutrition and subsequent recovery with a fructose-rich diet until adulthood.

The data of the present study demonstrate the ability of an L diet to induce malnutrition during the fetal period because the diet reduced body weight, serum glucose, total protein, and albumin and raised the level of liver lipids and glycogen. These data are in accordance with several previous studies in which the offspring of mothers fed L diets showed low birth weight [13,18,26–29], hypoglycemia [12,13,27,29], and hypoproteinemia [12,13,26].

The fructose-rich diet imposed right after birth did not influence food intake and also did not interfere with the linear growth of the rats because the nose-to-anus length was similar for all the groups at the end of experiment. These results are similar to those reported by Moura et al [16].

Nevertheless, the animals that ingested the fructose-rich diet, independently of the diet adopted in the fetal period, presented a low body weight gain, as well as reduced subcutaneous and retroperitoneal adipose tissue weight. This contrasts with previous findings because, generally, no differences in body weight gain are reported between fructose-fed animals and controls [30–34]. In a small number of investigations, an increase in body weight in rats fed with a fructose-rich diet was described [35]. The reduction in adipose tissue weight and consequent reduction in the body weight gain might be a consequence of fructose intolerance due to the early overload of this nutrient in the diet (neonatal period). It is worthy to notice that, in spite of the low body weight gain, the fructose-rich diet fed to rats, their body growth rate from weaning until the end of the experiment was not altered. This indicates that the impairment in growth occurred between birth and weaning. This is a limitation of the study because we measured the weight only after weaning.

An aspect deserving emphasis is that at the end of the experiment, it was observed that the rats with impairment in weight gain had dilated stomach and the intestines, which appeared to contain significant amount of gas. Symptoms such as an increase in the diameter of the abdominal area, abdominal pain, and gas, as well as vomiting and diarrhea, are signs of fructose intolerance [36,37], and these symptoms are associated with the amount of fructose ingested [37]. In humans, there are reports of growth arrest due to fructose intolerance [38]. In these cases, the restriction of fructose in the diet is advisable, which consequently reduces its adverse symptoms [39]. Nevertheless, to the author's knowledge, the literature lacks data on the body growth of animals fed with excess fructose from birth, as was done in the present study. Therefore, additional investigation is needed to study the fructose effects.

Fetal protein malnutrition and, subsequently, the elevated fructose intake did not cause either intolerance to glucose or peripheral resistance to insulin because we did not observe any alteration in the area under serum glucose curve in the glucose tolerance test, the serum glucose removal rate during the insulin tolerance test, or the HOMA index in the fructose fed animals. These findings disagree with some previous studies [34,40].

After the nutritional recovery, there was restoration of serum glucose, total protein, albumin concentrations, and free fatty acids, as well as a restoration of liver glycogen and lipid. This restoration was independent of the diet adopted after birth. This pattern is in accordance with some studies that used a B diet for nutritional recovery, and a normalization in the same parameters was observed: serum glucose [10,12,18,41], serum insulin [12,41], serum total proteins [12], serum albumin, free fatty acids [12,18], and liver glycogen [10,12,18]. On the other hand, in some of these same studies, the nutritional recovery was not effective in fully restoring the serum insulin concentration [10,18] and serum total proteins [10].

Serum triglycerides appeared elevated in the groups that ingested the fructose-rich diet independently of the previous malnutrition. Similarly, the groups that ingested the fructose-rich diet presented significantly higher total cholesterol than the B diet group. There is evidence in the literature to support that in both humans and laboratory animals, fructose-rich diets induce a stress response in the liver and in other tissues and this response compromises glucose and lipid metabolism [30]. For this reason, fructose overload induces some signs of the metabolic syndrome [16]. Sanchez-Lozada et al [33] reported a direct relationship between the caloric intake from fructose (control < fructose 10% < fructose 60%) and the intensity of the metabolic syndrome. The risk of developing type 2 diabetes, atherosclerosis, and other cardiovascular diseases is higher with the rise of several aspects of this syndrome [15,33].

The rat fed high fructose as a model of metabolic syndrome presents hypertriglyceridemia, hyperinsulinemia, insulin resistance, and hypertension [14,15], independent of

the method of fructose administered, either through water or diet [33]. Therefore, the model develops the insulin resistance syndrome with a metabolic profile very similar to the human metabolic syndrome [14]. The modifications in the basal serum glucose induced by chronic fructose overload are not conclusive because, in several studies, no alteration was reported [32,33,35,40], whereas in others, an elevation was described [30,34].

The rise in serum triglyceride concentration observed by the fructose overload, as verified in this study, is reported in most studies described in the literature [14,30–34]. In some of these reports, an increase in the triglyceride concentrations was also observed in the liver [31,32] because fructose is more lipogenic than glucose [33]. The rise in liver lipogenesis and elevated very low density protein (VLDL) production are some of the mechanisms that can explain this phenomenon [8].

In the present study, an increase of total cholesterol level as a result of the excessive fructose ingestion was observed, which has been reported by others [30,31]. Nevertheless, the effects of fructose on cholesterol metabolism are not well established [31].

The difference between the present study results and previous studies might be due to the period of fructose supplementation that oscillated from 2 to 13 weeks. Furthermore, in none of the previous research was fructose administered from birth or after intrauterine protein restriction, a point that highlights the importance of the present study. New experiments aiming at elucidating issues that are still obscure about the effects of early and long-term fructose overload, such as fructose intolerance, are required.

In summary, early high fructose consumption impaired body weight gain and reduced adipose tissue weight of some regions independently of the nutritional state during fetal life. Furthermore, high fructose ingestion from birth increased markers of metabolic syndrome, such as serum triglycerides and total cholesterol concentrations. Thus, we reject the hypothesis that protein malnutrition in utero results in fetal tissues being more susceptible to nutrition-associated disorders because the groups fed fructose after a B or L diet in utero presented similar results.

Acknowledgment

This research was supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior, the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, and the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (process 08/53255-8). We thank Eduardo Custódio, José Roberto R. Silva, and Clarice Y. Sibuya for technical assistance.

References

- [1] Gopalan S. Malnutrition: causes and consequences. *Nutrition* 2000;16 (7/8):556–8.

- [2] WHO/UNICEF. Low birth weight: country, regional and global estimates. New York: The United Nations Children's Fund and World Health Organization; 2004.
- [3] Uauy R, Albala C, Kain J. Obesity trends in Latin America: transiting from under to overweight. *J Nutr* 2001;131:893S–9S.
- [4] Hales CN, Barker DJP. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia* 1992;35:595–601.
- [5] Bertram MEC, Hanson MA. Animal models and programming of the metabolic syndrome. *Br Med Bull* 2001;60:103–21.
- [6] Gluckman PD, Hanson MA. The developmental origins of the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metabol* 2004;15:183–7.
- [7] Dhirga R, Sullivan L, Jacques PF, Wang TJ, Fox CS, Meigs JB, et al. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation* 2007;116:480–8.
- [8] Elliott SS, Keim NL, Stem JS, Teff K, Havel PJ. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr* 2002;76:911–22.
- [9] Nakagawa T, Tuttle KR, Short RA, Johnson RJ. Hypothesis: fructose induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. *Nat Clin Pract Nephrol* 2005;1:80–6.
- [10] Okitolonda W, Brichard SM, Henkin JC. Repercussions of chronic protein-calorie malnutrition on glucose homeostasis in the rat. *Diabetologia* 1987;30:946–51.
- [11] Latorraca MQ, Carneiro EM, Boschero AC. Reduced insulin secretion in response to nutrients in islets from malnourished young rats is associated with diminished calcium uptake. *J Nutr Biochem* 1999;10:37–43.
- [12] Silva MP, Stevanato E, Moreira VM, Porto M, Mello MAR. Effects of intrauterine malnutrition on metabolic responses to chronic exercise in young rats. *Motriz* 1999;5:152–9.
- [13] Almeida PBL, Mello MAR. Fetal/Neonatal protein restriction, insulin action and glucose homeostasis in adult life: effects on fasting and acute exercise. *Rev Bras Educ Fis Esp* 2004;18(1):17–30.
- [14] Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 1987;10:512–6.
- [15] Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595–607.
- [16] Moura RF, Cambri LT, Quadros Junior AC, Nascimento CMC, Arantes LM, Sebastião E, et al. Aerobic capacity of rats fed with fructose rich diet. *Rev Bras Med Esporte* 2008;14:422–6.
- [17] Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of AIN-76A. *J Nutr* 1993;123:1939–51.
- [18] Latorraca MQ, Reis MAB, Carneiro EM, Mello MAR, Velloso LA, Saad MJA, et al. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats. *J Nutr* 1998;128:1643–9.
- [19] Dubois B, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA. Colorimetric method for determination of sugar and relate substances. *Anal Chem* 1956;28:350–6.
- [20] Nogueira DM, Struifaldi B, Hirata MH, Abdalla DSP, Hirata RDC. Sangue—parte I: glicídios (Blood—part I: glycidies). *Métodos de bioquímica clínica (Methods of clinical biochemistry)*. São Paulo: Pancast; 1990. p. 153–68.
- [21] Mathews JNS, Altman DG, Campbell MJ, Royston P. Analysis of serial measurements in medical research. *Br Med J* 1990;27:230–5.
- [22] Lundbaeck K. Intravenous glucose tolerance as a tool in definition in diagnosis of diabetes mellitus. *Br Med J* 1962;3:1057–63.
- [23] Cinti S. The adipose organ. *Prostaglandins, Leukot Essent Fatty Acids* 2005;73:9–15.
- [24] Sjögren B, Nordenskjöld DT, Holmgren H, Wollerstrom J. Beitrag zur Kenntnis des 1. birhythmik. *Pflüger Arch Gestante Physiol Menschen Tiere* 1938:240–7.
- [25] Nunes WMS, Mello MAR. Glucose metabolism in rats submitted to skeletal muscle denervation. *Braz Arch Biol Technol* 2005;48:541–8.
- [26] Galdino RS, Almeida CCS, Luciano E, Mello MAR. Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. *Nutr Res* 2000;20:527–35.
- [27] Latorraca MQ, Carneiro EM, Boschero AC, Mello MAR. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. *Br J Nutr* 1998;80:291–7.
- [28] Oliveira EA, Cheim LMG, Velloso RV, Arantes VC, Reis MAB, Carneiro EM, et al. Nutritional recovery with a soybean flour diet improves the insulin response to a glucose load without modifying glucose homeostasis. *Nutrition* 2008;24:76–83.
- [29] Mello MAR, Cury L, Valle LBS, Oliveira-Filho RM. Protein-calorie malnutrition in the young pregnant rat; factors involved in fetal growth impairment. *Braz J Med Biol Res* 1987;20:575–7.
- [30] Kelley GL, Allan G, Azhar S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. *Endocrinol* 2004;145:548–55.
- [31] Girard A, Madani S, Boukourt F, Cherkaoui-Malki M, Belleville J, Prost J. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition* 2006;22:758–66.
- [32] Roglans R, Vila L, Farré M, Alegret M, Sánchez RM, Vázquez-Carrera M, et al. Impairment of hepatic stat-3 activation and reduction of PPAR- activity in fructose-fed rats. *Hepatology* 2007;45:778–88.
- [33] Sanchez-Lozada LG, Tapia E, Jimenez A, Bautista P, Cristóbal M, Nepomuceno T, et al. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;292:F423–29.
- [34] Sharabi Y, Oron-Herman M, Kamari Y, Avni I, Peleg E, Shabtay Z, et al. A. Effect of PPAR-γ agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. *Am J Hypertens* 2007;20:206–10.
- [35] Jürgens H, Haass W, Castañeda TR, Schürmann A, Koebnick C, Dombrowski F, et al. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes Res* 2005;13:1146–56.
- [36] Choi YK, Jolin Jr FC, Summers RW, Jackson M, Rao SSC. Fructose intolerance: an under-recognized problem. *Am J Gastroenterol* 2003;9:1348–53.
- [37] Rao SSC, Attaluri A, Anderson L, Stumbo P. The ability of the normal human small intestine to absorb fructose: evaluation by breath testing. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:959–63.
- [38] Mock DM, Perman JA, Thaler M, Morris RC. Chronic fructose intoxication after infancy in children with hereditary fructose intolerance. A cause of growth retardation. *N Engl J Med* 1983;309:764–70.
- [39] Shepherd SJ, Gibson PR. Fructose malabsorption and symptoms of irritable bowel syndrome: guidelines for effective dietary management. *J Am Diet Assoc* 2006;106:1631–9.
- [40] Joyeux-Faure M, Rossini E, Ribaut C, Faure P. Fructose-fed rat hearts are protected against ischemia-reperfusion injury. *Exp Biol Med* 2006;231:456–62.
- [41] Dahri S, Reusens B, Remacle C, Hoet JJ. Nutritional influences on pancreatic development and potential links with non-insulin-dependent diabetes. *Proc Nutr Soc* 1995;54:345–56.

6.3 ANEXO 3: Artigo publicado na *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*

Aerobic capacity of rats recovered from fetal malnutrition with a fructose-rich diet

Lucieli Teresa Cambri, Rodrigo Augusto Dalia, Carla Ribeiro, and Maria Alice Rostom de Mello

Abstract: The objective of this study was to analyze the aerobic capacity, through the maximal lactate steady-state (MLSS) protocol, of rats subjected to fetal protein malnutrition and recovered with a fructose-rich diet. Pregnant adult Wistar rats that were fed a balanced (17% protein) diet or a low-protein (6% protein) diet were used. After birth, the offspring were distributed into groups according to diet until 60 days of age: balanced (B), balanced diet during the whole experimental period; balanced-fructose (BF), balanced diet until birth and fructose-rich diet (60% fructose) until 60 days; low protein-balanced (LB), low-protein diet until birth and balanced diet until 60 days; and low protein-fructose (LF), low protein diet until birth and fructose-rich diet until 60 days. It was verified that the fructose-rich diet reduced body growth, mainly in the BF group. There was no difference among the groups in the load corresponding to the MLSS (B, $7.5 \pm 0.5\%$; BF, $7.4 \pm 0.6\%$; LB, $7.7 \pm 0.4\%$; and LF, $7.7 \pm 0.6\%$ relative to body weight). However, the BF group presented higher blood lactate concentrations ($4.8 \pm 0.9 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) at 25 min in the load corresponding to the MLSS (B, $3.2 \pm 0.9 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$; LB, $3.4 \pm 0.9 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$; and LF, $3.2 \pm 1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Taken together, these results indicate that the ability of young rats to perform exercise was not altered by intrauterine malnutrition or a fructose-rich diet, although the high fructose intake after the balanced diet in utero increased blood lactate during swimming exercises in rats.

Key words: malnutrition, nutritional recovery, fructose, aerobic capacity, blood lactate, maximal lactate steady state.

Résumé : Le but de cette étude est d'analyser la capacité aérobie au moyen du protocole du maximum de lactate en régime stable (MLSS) appliqué chez des rats soumis à une malnutrition protéique fœtale suivie d'une récupération nutritionnelle riche en fructose. On fournit à des rates Wistar adultes et gravides une diète équilibrée contenant 17 % de protéines ou une diète faible en protéines contenant 6 % de protéines. À la naissance, on répartit les rejetons dans des groupes en fonction des diètes prévues, et ce, jusqu'à l'âge de 60 jours : la diète équilibrée (B) durant toute la durée du protocole expérimental; la diète équilibrée-fructose (BF), soit la diète B jusqu'à la naissance suivie de la diète riche en fructose (60 %) jusqu'au 60^e jour; la diète faible en protéines-équilibrée (LB), soit la diète L jusqu'à la naissance suivie de la diète B jusqu'au 60^e jour; et la diète faible en protéines-fructose, soit la diète L jusqu'à la naissance suivie de la diète F jusqu'au 60^e jour. D'après nos observations, la diète riche en fructose diminue la croissance corporelle, principalement chez le groupe BF. On n'observe aucune différence entre les groupes en ce qui concerne la charge de travail suscitant le MLSS (B : $7,5 \pm 0,5 \%$, BF : $7,4 \pm 0,6 \%$, LB : $7,7 \pm 0,4 \%$ et LF : $7,7 \pm 0,6 \%$ de la masse corporelle). Néanmoins, le groupe BF présente la plus forte concentration de lactate ($4,8 \pm 0,9 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) à la 25^e minute de l'effort associé au MLSS (B : $3,2 \pm 0,9$, LB : $3,4 \pm 0,9$ et LF : $3,2 \pm 1,0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Globalement, la malnutrition intra-utérine ou la diète riche en fructose n'affecte pas l'aptitude des jeunes rats à faire de l'exercice physique; néanmoins, la diète riche en fructose faisant suite à la diète équilibrée in utero suscite une augmentation de la concentration sanguine de lactate des rats au cours d'une séance de nage.

Mots-clés : malnutrition, récupération nutritionnelle, fructose, capacité aérobie, lactate sanguin, maximum de lactate en régime stable.

[Traduit par la Rédaction]

Introduction

The demographic transition and the process of economic development have changed the profile of malnutrition, mainly during the second half of the 20th century. This has been especially accentuated in developing countries (Gopalan 2000). More recently, the worldwide incidence of severe malnutrition has been decreasing. However, malnutrition that

is considered to be "mild" or "moderate," child dwarfism, and gestational anemia associated with low birth weights continue to be highly prevalent in Third World countries. In less developed countries, almost 20 million children are born with low weight every year. In the year 2000, about 15.5% of the world's children were born underweight, with the highest rate (27.1%) in South Asia (WHO 2008).

Undernutrition in utero might "program" the fetal tissues,

Received 30 September 2009. Accepted 24 March 2010. Published on the NRC Research Press Web site at apnm.nrc.ca on 9 July 2010.

L.T. Cambri,¹ R.A. Dalia, C. Ribeiro, and M.A. Rostom de Mello. Department of Physical Education, São Paulo State University (UNESP), Rio Claro-SP, Brazil.

¹Corresponding author (e-mail: lucambri@yahoo.com.br).

making them more susceptible to nutrition-associated disorders, such as type 2 diabetes, metabolic syndrome, and other chronic-degenerative diseases, in adulthood (Hales and Barker 1992; Bertram and Hanson 2001; Gluckman and Hanson 2004). In addition, clinical and epidemiologic evidence suggests a progressive association between fructose consumption, widely used as a sweetener in beverages and other foods, and the development of metabolic syndrome (Elliott et al. 2002; Nakagawa et al. 2005; Dhingra et al. 2007). Thus, it is interesting to investigate whether dietary fructose overload would be more deleterious to organisms subjected to early protein malnutrition. Furthermore, some studies have shown beneficial effects of chronic exercise on the linear growth of malnourished children (Torun and Viteri 1994) and rats (Galdino et al. 2000), which suggests that physical exercise may have beneficial effects in the nutritional recovery process. However, data on the physical ability of malnourished organisms for physical exercise are still scarce. This aspect can be verified easily with the evaluation of aerobic capacity, a tool commonly employed in clinics and in the evaluation of athletes (Heck et al. 1985).

The evaluation of aerobic capacity is performed through procedures that identify a transition zone during exercise when there is a change from the predominance of aerobic metabolism to anaerobic metabolism in the supply of adenosine triphosphate for muscle activity. A part of these procedures uses the blood lactate concentration response and because this is a reliable biochemical parameter in metabolic transition measurement, it allows not only the characterization of effort but also the monitoring of chronic training effects (Billat et al. 2003). Despite the importance of the subject, studies on the evaluation of aerobic capacity in cases of malnutrition (Papoti et al. 2003; Voltarelli et al. 2007) or fructose overload (Moura et al. 2008) are scarce. Aerobic capacity determinations would provide an adequate tool for exercise prescriptions in malnutrition and in metabolic syndrome. Thus, it is of interest to study an appropriate exercise prescription through metabolic transition threshold evaluations, with the aim of determining possible beneficial effects of physical training during nutritional rehabilitation.

Although epidemiologic evidence suggests an association between early undernutrition and metabolic-chronic-degenerative diseases in adulthood, longitudinal studies involving endocrine and biochemical variables in human beings present limitations because of interfering factors and the invasive character of some procedures. Animal models, using controlled conditions, might contribute to the investigation of this matter. Isocaloric diets of low protein content are often used to trigger experimental protein deficiency (Latorraca et al. 1998b; Galdino et al. 2000), thereby offering an opportunity to explore the mechanisms through which protein metabolism affects the developing organs (Bertram and Hanson 2001).

Most studies with animal models analyze the influence of early protein malnutrition on resting variables only, usually starting after birth or weaning. Nutritional recovery is commonly obtained with balanced diets and in the absence of physical exercise (Okitolonda et al. 1987; Latorraca et al. 1998b). However, signs of metabolic syndrome are triggered in adult rodents by the administration of fructose-rich diets

containing about 60% of components from fructose (Hwang et al. 1987; Girard et al. 2006; Sharabi et al. 2007; Moura et al. 2008). Therefore, the interactions among nutritional recovery, fructose-rich diets, and aerobic capacity have become an interesting field of investigation. Thus, the present study was designed to evaluate the aerobic capacity of rats subjected to fetal protein malnutrition and subsequent recovery with a fructose-rich diet until 60 days of age.

Materials and methods

Animals

Twelve pregnant adult (90-day-old) Wistar rats were kept in a room with a temperature of 25 °C, with a photoperiod of 12 h light : 12 h dark, with lights on from 0600 to 1800 hours and with free access to water and food during the whole experiment. The environmental conditions for all the studied rats were the same as those described for the pregnant rats. All the rats had their body weights registered once a week after weaning (21 days). The procedures adopted with the animals were approved by the Committee of Ethics in Animal Research, State University of Campinas (UNICAMP; Campinas, São Paulo, Brazil), under protocol no. 1487-1.

Diets

The rats were fed isocaloric-balanced, low-protein, and fructose-rich diets. The balanced diet contained 17% protein, 7% fat, 5% fiber, and 64.50% carbohydrate (with 39.70% starch, 13.05% dextrin, and 11.75% sucrose) in accordance with the American Institute of Nutrition (AIN)-93 (Reeves et al. 1993). The low-protein diet differed from the balanced diet in the contents of protein (6%) and carbohydrate (77.75%, with 48% starch, 15.9% dextrin, and 13.85% sucrose). The fructose-rich diet had the same macronutrient content as the balanced diet except that the carbohydrate composition was 60% fructose and 4.5% sucrose. A detailed composition of the diets is described in Table 1.

Experimental design and groups

The female rats were separated into 2 groups according to the diet received during pregnancy: balanced (B) and low protein (L). The experimental design is shown in Fig. 1.

Immediately after birth, 7 male B neonates and 7 male L neonates were weighed and sacrificed for serum glucose, total protein, and albumin concentrations (colorimetric methods, using LABORLAB commercial kits, Guarulhos, São Paulo, Brazil), as well as liver glycogen (DuBois et al. 1956) and total lipid content determinations (Nogueira et al. 1990), to confirm the installation of malnutrition in the L group. This experimental model often displays severe malnutrition (Latorraca et al. 1998a, 1998b; Galdino et al. 2000). The remaining male offspring were distributed into 4 groups ($n = 10$ per group) according to the diet they received until the end of the experiment (60 days of age). The litters were adjusted until each female fed only 8 offspring. Until weaning (from birth to 21 days), the mothers received corresponding diets:

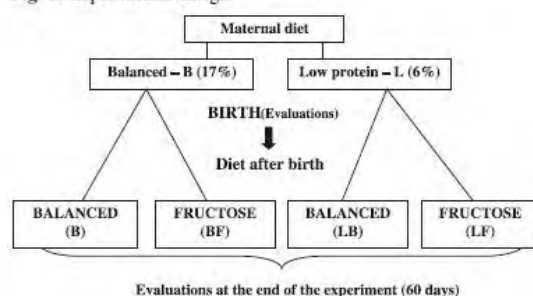
- Balanced (B): a diet containing 17% protein during the whole experiment;
- Balanced-fructose (BF): a diet containing 17% protein

Table 1. Diet composition.

Components	Balanced ^a (g·kg ⁻¹)	Low protein ^b (g·kg ⁻¹)	Fructose rich ^c (g·kg ⁻¹)
Casein (84% protein) ^d	202	71.5	202
Starch	397	480	—
Dextrin	130.5	159	—
Sucrose	100	121	27.6
Fructose	—	—	600
L-cystine	3	1	3
Soybean oil	70	70	70
Salt mixture (AIN-93GMX) ^d	35	35	35
Vitamin mixture (AIN-93GVX) ^d	10	10	10
Fiber	50	50	50
Choline hydrochloride	2.5	2.5	2.5

^aAccording to the American Institute of Nutrition (AIN-93G) (Reeves et al. 1993).^bAccording to Latorraca et al. (1998b).^cAccording to Moura et al. (2008).^dValues corrected because of the amount of protein in the casein.

Fig. 1. Experimental design.



until birth and a fructose-rich diet (60%) from birth until 60 days of age;

- Low protein–balanced (LB): a diet containing 6% protein until birth and a diet with 17% protein from birth until 60 days of age; and
- Low protein–fructose (LF): a diet containing 6% protein until birth and a fructose-rich diet (60%) from birth until 60 days of age.

Evaluation of the aerobic capacity: maximal lactate steady-state test

The rats were initially adapted to the water for 10 days, with the objective of reducing the stress caused by the physical exercise performed in this environment. The adaptation began with 5, 10, and 15 min in shallow water, moving to 5, 10, and 15 min in deep water, and subsequently 5 min with a bag tied to the thorax and 5, 10, and 15 min with a bag tied to the chest containing an overload of 3% of body weight. The water temperature was always kept at 31 ± 1 °C.

All the rats were subjected to effort tests to identify the aerobic–anaerobic metabolic transition in the swimming exercise by the protocol of the maximal lactate steady-state (MLSS) test. For this purpose, the rats were subjected to constant-load swimming tests. On alternate days, with a 48-h minimum interval, different overloads were applied us-

ing small bags with lead tied to the chest, which varied from 6.5% to 8.5% of body weight. The tests lasted 25 min, with sampling of 25 µL of blood from the tail extremity for lactate dosage by the enzymatic method every 5 min (Engel and Jones 1978). The criterion for MLSS determination was the highest working load in which the difference in blood lactate concentrations between the 25th and 10th minute of exercise was equivalent to, or lower than, 1 mmol·L⁻¹ (Go-batto et al. 2001).

Tissue sample collection

At the end of the experiment, the rats were sacrificed at rest by decapitation 48 h after the last *in vivo* evaluation. Blood samples were collected immediately after sacrifice for serum glucose, total protein, and albumin determinations by calorimetric methods using commercial kits (LABORLAB). Liver samples were removed for glycogen (DuBois et al. 1956) and total lipid (Nogueira et al. 1990) concentration determinations.

Statistical analysis

Student's *t* test was used for comparisons between the newborn groups, and 2-way analysis of variance (ANOVA) was used for comparisons among the groups at 60 days of age, followed by Newman–Keuls' post hoc test when necessary. A 5% level of significance was adopted.

Results

Table 2 presents the data from the newborn rats. A low-protein diet reduced the body weight and the serum glucose, albumin, and total protein concentrations and increased the liver glycogen and total lipids contents.

Figure 2 shows body weight evolution from weaning until the end of the experiment, indicating the influences of the diet ingested during the fetal and nutritional recovery periods because all the groups showed significant differences among themselves. The interaction between a balanced diet in the fetal period and a fructose-rich diet after birth seemed the most adverse, because the BF group showed the lowest body weight gain (103.4 ± 28.8 g) when compared with the

Table 2. Body weight, serum, and liver variables measured in the newborns.

Variables	B	L
Body weight (g)	6.48±0.83	5.30±0.79*
Serum glucose (mmol·L ⁻¹)	4.61±0.56	3.89±0.94*
Serum total proteins (g·L ⁻¹)	78.10±19.30	42.10±18.20*
Serum albumin (g·L ⁻¹)	33.70±1.90	13.30±1.90*
Liver glycogen (mg·100 mg ⁻¹)	2.02±0.59	2.46±0.22*
Liver lipids (mg·100 mg ⁻¹)	7.12±1.69	17.74±5.46*

Note: Data are expressed as means ± standard deviation of 7 animals per group. B, balanced; L, low protein.

*Significant difference between groups by Student's *t* test ($p < 0.05$).

others (B, 162.3 ± 26.1 g; LB, 186.1 ± 27.8 g; and LF, 134.2 ± 21.4 g). When analyzing body weight over time from 21 until 42 days, there was no difference among groups that ingested the same diet during the nutritional recovery period. The B and LB groups showed similar body weights, and the BF and LF groups also showed similar body weights. However, after this time (from 49 until 56 days), the body weights were different among all groups, indicating the influence of the malnutrition and the fructose-rich diet (Fig. 2).

Figure 3 exemplifies the blood lactate kinetics during the MLSS determination test in one rat of each studied group. In this example, the rats in the B and BF groups obtained MLSS at a 7% load and the rats in the LB and LF groups obtained MLSS at a 7.5% load relative to body weight.

The mean load, corresponding to the MLSS (B, 7.5 ± 0.5%; BF, 7.4 ± 0.6%; LB, 7.7 ± 0.4%, and LF, 7.7 ± 0.6% in relation to body weight), showed no statistically significant difference among the groups.

Figure 4 shows the lactate kinetics during the swimming exercise at the load corresponding to the MLSS for all groups. There was a statistically significant difference between the BF group (higher values) and the others at 10, 15, 20, and 25 min in blood lactate stabilization concentration.

Table 3 shows data from the rats at the end of the experiment. Serum glucose concentrations were lower in the group that was fed the fructose-rich diet after in utero protein restriction (LF) than in the groups that were fed the balanced diet in utero (B and BF). Serum total protein concentrations in the LF group were higher than those in the other groups.

Discussion

The data from the present study demonstrate the ability of a low-protein diet to induce malnutrition during the fetal period, because it reduces body weight, serum glucose, albumin, and total proteins, and raises the values of liver lipids and glycogen. These data are in accordance with numerous studies in which the offspring of mothers that were fed low-protein diets show low birth weights (Mello et al. 1987; Latorraca et al. 1998a, 1998b; Galdino et al. 2000), hypoglycemia (Mello et al. 1987; Latorraca et al. 1998a), and hypoproteinemia (Galdino et al. 2000).

The rats that ingested the fructose-rich diet, especially the ones that received a balanced diet in the fetal period, presented low body weight gains. This contrasts with previous

findings because generally no differences are reported between fructose groups and control groups (Kelley et al. 2004; Girard et al. 2006; Roglans et al. 2007; Sánchez-Lozada et al. 2007; Sharabi et al. 2007).

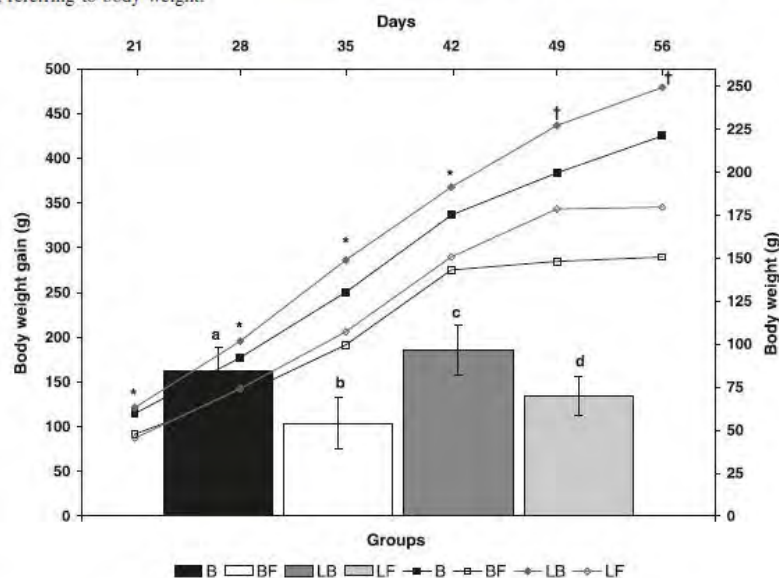
The reduction in body weight gain might be a consequence of fructose intolerance caused by the early overload of this nutrient in the diet (neonatal period). An aspect deserving emphasis is that at the moment of sacrifice, it was observed that the rats with great impairments in weight gain had dilated stomachs and intestines, which appeared to contain great amounts of gas. Symptoms such as an increase in the diameter of the abdominal area, abdominal pain and gas, and vomiting and diarrhea are signs of fructose intolerance (Choi et al. 2003; Rao et al. 2007), and these symptoms are associated with the amount of fructose ingested (Rao et al. 2007). In the present study, however, we did not observe vomiting and diarrhea during the 60 days of treatment. In human beings, there are reports of growth arrest because of fructose intolerance (Mock et al. 1983). In these cases, adverse symptoms are reduced with the restriction of fructose in the diet (Shepherd and Gibson 2006). Nevertheless, the literature lacks data on the body growth of animals that are given an excess of fructose intake from birth, as in the present study. Therefore, additional studies on this issue are required.

During nutritional recovery, few differences between the fructose-rich and the balanced diet groups were observed in most of the analyzed variables. There was as much restoration of serum total protein, albumin and liver glycogen, and lipid contents in the balanced diet group as in the fructose-rich diet group. This pattern is in accordance with some studies that used balanced diets and obtained recovery in several variables, including serum glucose (Okitolonda et al. 1987; Dahri et al. 1995; Latorraca et al. 1998b), serum insulin (Dahri et al. 1995), serum total proteins (Silva et al. 1999), serum albumin, free fatty acids (Latorraca et al. 1998b; Silva et al. 1999), and liver glycogen (Okitolonda et al. 1987; Latorraca et al. 1998b). However, in the present study, serum glucose was normalized only in the LB group and remained low in the LF group, compared with groups that received a balanced diet during pregnancy (B and BF groups). This demonstrates the partial efficiency of the fructose-rich diet for recovery from malnutrition.

During exercise, the transition from aerobic to anaerobic metabolism occurs at a certain intensity. This intensity is used as an indicator of aerobic capacity and is employed in both clinical practice and the evaluation and training of athletes (Wasserman and McIlroy 1964; Hollmann 1985).

The aerobic-anaerobic metabolic transition in experimental animals may be determined by the MLSS (Gobatto et al. 2001) and by the minimum lactate test (Votaw et al. 2002). The MLSS is considered the gold-standard procedure, defined as the highest lactate concentration and workload that can be maintained, during sessions of exercise with fixed loads, without the continuous increase of blood lactate (Heck et al. 1985). In the present study, neither the intrauterine protein malnutrition nor the excess of fructose in the diet affected the workload corresponding to the MLSS. Nevertheless, the group that was fed the fructose-rich diet after a balanced diet in utero (BF) raised blood lactate concentration during the swimming exercise.

Fig. 2. Body weight (lines) and body weight gain (bars) of the rats from weaning (21 days) until the end of the experiment (60 days). Results are expressed as means $\pm$ standard deviation of 10 animals per group. B, balanced; BF, balanced-fructose; LB, low protein-balanced; LF, low protein-fructose. Different letters indicate a statistically significant difference among groups ($p < 0.05$) referring to body weight gain (2-way analysis of variance (ANOVA) and Newman-Keuls' post hoc test), *, Statistically significant difference ($p < 0.05$) for B and LB vs. BF and LF, referring to body weight. †, Statistically significant differences ($p < 0.05$) for B vs. BF, LB, and LF; BF vs. LB and LF; and LB vs. LF, referring to body weight.



Using swimming protocols to determine the MLSS in adult rats, Gobatto et al. (2001) found a 5.5-mmol·L⁻¹ mean lactate concentration with a 5% to 6% body weight overload. The lower lactate values observed in the present study, as well as the higher MLSS load, might be due to the younger age of the animals.

When determining the metabolic transition in adult animals subjected to protein malnutrition using swimming exercises to estimate the lactate minimum test at a 4.9% body weight load, a 6.2-mmol·L⁻¹ blood lactate concentration in the control group and a 4.2-mmol·L⁻¹ blood lactate concentration in the malnourished group were observed (Voltarelli et al. 2007). The higher lactate concentration observed in this test protocol suggests that blood lactate at the metabolic transition is protocol dependent. In another study, the MLSS during swimming exercise that was obtained at a 5.5% load was at a 5.5-mmol·L⁻¹ mean concentration in control rats and a 4.7-mmol·L⁻¹ mean concentration in rats recovered from malnutrition (Papoti et al. 2003). The blood lactate values obtained for malnourished (Voltarelli et al. 2007) and recovered rats (Papoti et al. 2003) were lower than those for the controls, which indicates that protein restriction changes lactate kinetics during swimming exercise and that nutritional recovery does not restore this condition.

In the present study, the previously malnourished groups did not show alterations in lactate kinetics when compared with the controls, possibly because of the period (in utero) in which malnutrition occurred. In the other mentioned studies, the animals became malnourished after weaning and

were kept under that condition (Voltarelli et al. 2007) or were recovered (Papoti et al. 2003) until adulthood.

The higher lactate values found in the group that was fed fructose after birth are in accordance with previous data reported in the literature. However, these studies did not analyze this variable during physical exercise (Rajasekar and Anuradha 2007). In 1 previous study from our laboratory (Moura et al. 2008), we did not find statistical differences between a control group and fructose-rich-fed rats for either MLSS load or lactate concentrations, but in that study the rats began the fructose-rich diet after weaning.

After intestinal absorption, fructose is mostly extracted by hepatic tissue, where it can be converted to glucose, lipids, or lactate (Mayes 1993). High circulating levels of pyruvate and glycerol, as well as high hepatic levels of lactate, pyruvate, glycerol, fructose, and alanine, are observed in animals that are fed fructose (Rajasekar and Anuradha 2007). Additionally, Wallis et al. (2008) observed higher lactate concentrations during recovery after exhaustive exercise when a glucose allied to fructose solution was administered, in comparison with an isolated glucose solution.

Fructose metabolism surpasses the regulatory step of glycolysis catalyzed by the phosphofructokinase. Therefore, fructose continuously enters the glycolytic pathway at the glyceraldehyde and dihydroxyacetone phosphate level, leading to an excess of circulating glucose, lactate, and pyruvate (Mayes 1993). High circulating levels of gluconeogenic substrates, such as pyruvate, lactate, and glycerol, in animals that are fed fructose confirm the impairment to the glycoly-

Fig. 3. Blood lactate kinetics of one animal from each group, as an example, during the maximal lactate steady-state (MLSS) determination test at 60 days. For this test, the rats were subjected to constant-load swimming sessions on alternate days with a 48-h minimum interval, supporting different overloads (from 6.5% to 8.5% of body weight) over 25 min. The criterion for MLSS determination was the highest working load in which the difference in blood lactate concentration between the 25th and 10th minute of exercise was equivalent to, or lower than, 1 mmol·L⁻¹, where the rat tolerated 25 min.

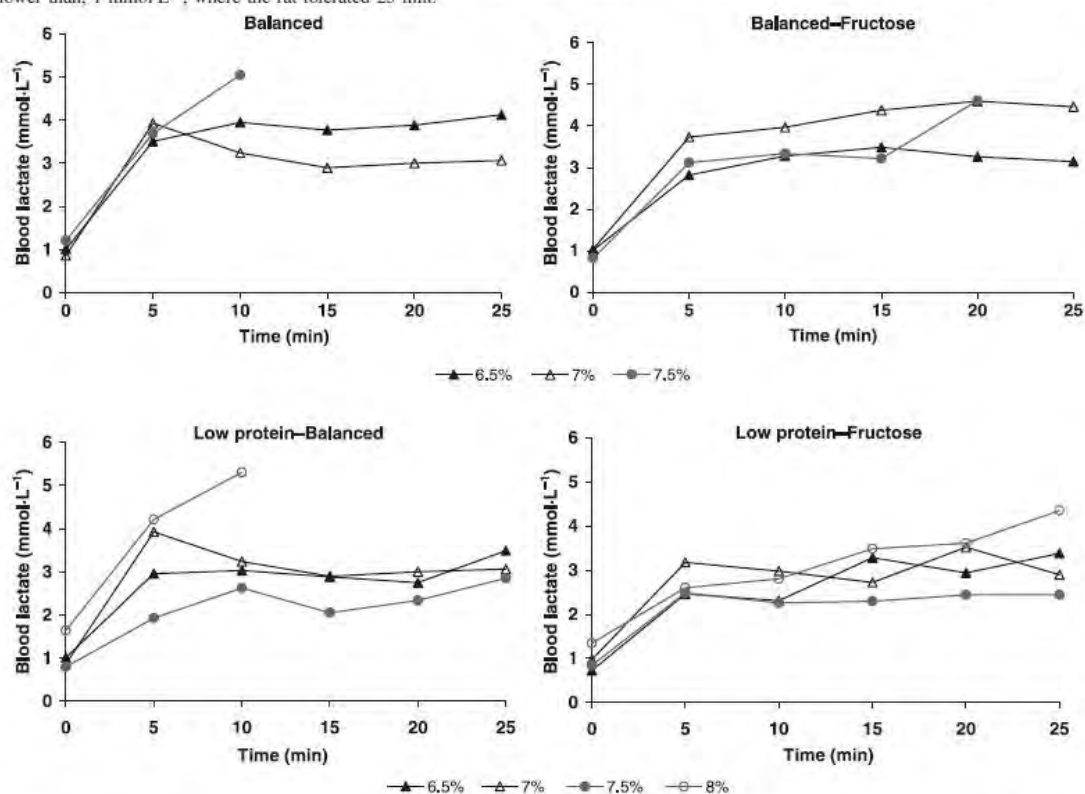


Fig. 4. Lactate kinetics (mmol·L⁻¹) during swimming exercise at the maximal lactate steady-state (MLSS) corresponding load for all groups. Results are expressed as means $\pm$ standard deviation of 10 animals per group. All rats tolerated 25 min of exercise at MLSS. B, balanced; BF, balanced-fructose; LB, low protein-balanced; LF, low protein-fructose. *, Significant difference ($p < 0.05$) between BF and the other groups (2-way analysis of variance (ANOVA) and Newman-Keuls' post hoc test).

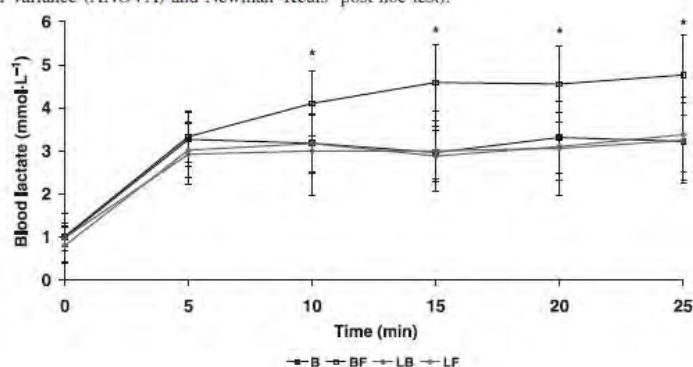


Table 3. Serum and liver variables of the rats at the end of the experiment (60 days).

	B	BF	LB	LF
Serum glucose (mmol·L ⁻¹)	5.96±0.85a	6.13±0.49a	5.87±1.04a	4.62±1.37b
Serum total proteins (g·L ⁻¹)	55.11±1.09a	55.85±0.84a	55.11±2.62a	57.70±1.53b
Serum albumin (g·L ⁻¹)	38.97±2.59	38.45±2.21	41.75±2.57	40.51±5.62
Liver glycogen (mg·100 mg ⁻¹)	5.60±1.50	5.28±1.63	5.26±0.99	5.94±1.44
Liver lipids (mg·100 mg ⁻¹)	5.48±1.39	7.89±2.99	6.71±1.36	6.28±2.28

Note: Data are expressed as means ± standard deviation of 10 animals per group. Different letters indicate different values among groups. Two-way ANOVA and Newman-Keuls' post hoc test were used ($p < 0.05$). B, balanced; BF, balanced-fructose; LB, low protein-balanced; LF, low protein-fructose.

sis. This might be the main cause of the hyperglycemia during fasting found in some experiments involving animals that were fed a fructose-based diet (Rajasekar and Anuradha 2007).

The group that was fed a fructose-rich diet after intrauterine protein malnutrition did not present alterations in blood lactate during the exercise when compared with the controls. Therefore, it can be inferred that the mechanisms of lactate production, mainly associated with the enzymatic activity of the glycolytic pathway, were somehow counterbalanced by the previous malnutrition, because malnutrition may decrease the activity of glycolytic enzymes, reducing blood lactate concentration (Papoti et al. 2003; Voltarelli et al. 2007).

Taken together, the results of the present study show that the ability of young rats to perform exercise, indicated by the load corresponding to the MLSS, was not altered by the different diets, just as the lactate kinetics in young rats was not altered by intrauterine malnutrition. However, the fructose-rich diet administered after a balanced diet during pregnancy increased blood lactate concentrations during the swimming exercise. Additional studies are required to investigate metabolic differences in the response to fructose between eutrophic and protein-deficient newborn rats.

Acknowledgements

This research was supported by the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, process 08/53255-8), the Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior (CAPES), and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). We thank Eduardo Custódio and José Roberto R. Silva for technical assistance, and Dr. Maria Cristina C. G. Marcondes (UNICAMP, State University of Campinas) for suggestions regarding the experimental design. This manuscript was edited by American Journal Experts.

References

- Bertram, C.E., and Hanson, M.A. 2001. Animal models and programming of the metabolic syndrome. *Br. Med. Bull.* 60(1): 103–121. doi:10.1093/bmb/60.1.103. PMID:11809621.
- Billat, V.L., Sirvent, P., Py, G., Koralsstein, J.P., and Mercier, J. 2003. The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. *Sports Med.* 33(6): 407–426. doi:10.2165/00007256-200333060-00003. PMID:12744715.
- Choi, Y.K., Johlin, F.C., Jr., Summers, R.W., Jackson, M., and Rao, S.S. 2003. Fructose intolerance: an under-recognized problem. *Am. J. Gastroenterol.* 98(6): 1348–1353. doi:10.1111/j.1572-0241.2003.07476.x. PMID:12818280.
- Dahri, S., Reusens, B., Remacle, C., and Hoet, J.J. 1995. Nutritional influences on pancreatic development and potential links with non-insulin-dependent diabetes. *Proc. Nutr. Soc.* 54(2): 345–356. doi:10.1079/PNS19950003. PMID:8524881.
- Dhingra, R., Sullivan, L., Jacques, P.F., Wang, T.J., Fox, C.S., Meigs, J.B., et al. 2007. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation*, 116(5): 480–488. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.689935. PMID:17646581.
- DuBois, B., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and relate substances. *Anal. Chem.* 28(3): 350–356. doi:10.1021/ac60111a017.
- Elliott, S.S., Keim, N.L., Stern, J.S., Teff, K., and Havel, P.J. 2002. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.* 76(5): 911–922. PMID:12399260.
- Engel, P.C., and Jones, J.B. 1978. Causes and elimination of erratic blanks in enzymatic metabolite assays involving the use of NAD⁺ in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for the assay of L-glutamate, L-lactate, and other metabolites. *Anal. Biochem.* 88(2): 475–484. doi:10.1016/0003-2697(78)90447-5. PMID:29519.
- Galdino, R., Almeida, C.C.S., Luciano, E., and de Mello, M.A.R. 2000. Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. *Nutr. Res.* 20(4): 527–535. doi:10.1016/S0271-5317(00)00144-5.
- Girard, A., Madani, S., Boukott, F., Cherkaoui-Malki, M., Belleville, J., and Prost, J. 2006. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition*, 22(7–8): 758–766. doi:10.1016/j.nut.2006.05.006. PMID:16815490.
- Gluckman, P.D., and Hanson, M.A. 2004. The developmental origins of the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol. Metab.* 15(4): 183–187. PMID:15109618.
- Gobatto, C.A., de Mello, M.A., Sibuya, C.Y., de Azevedo, J.R., dos Santos, L.A., and Kokubun, E. 2001. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 130(1): 21–27. doi:10.1016/S1095-6433(01)00362-2. PMID:11672680.
- Gopalan, S. 2000. Malnutrition: causes, consequences, and solutions. *Nutrition*, 16(7–8): 556–558. doi:10.1016/S0899-9007(00)00315-4. PMID:10906554.
- Hales, C.N., and Barker, D.J.P. 1992. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*, 35(7): 595–601. doi:10.1007/BF00400248. PMID:1644236.
- Heck, H., Mader, A., Hess, G., Mücke, S., Müller, R., and Hollmann, W. 1985. Justification of the 4-mmol/l lactate thresh-

- old. *Int. J. Sports Med.* 6(3): 117–130. doi:10.1055/s-2008-1025824. PMID:4030186.
- Hollmann, W. 1985. Historical remarks on the development of the aerobic-anaerobic threshold up to 1966. *Int. J. Sports Med.* 6(3): 109–116. doi:10.1055/s-2008-1025823. PMID:3897079.
- Hwang, I.S., Ho, H., Hoffman, B.B., and Reaven, G.M. 1987. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension*, 10(5): 512–516. PMID:3311990.
- Kelley, G.L., Allan, G., and Azhar, S. 2004. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. *Endocrinology*, 145(2): 548–555. doi:10.1210/en.2003-1167. PMID:14576175.
- Latorraca, M.Q., Carneiro, E.M., Boschero, A.C., and Mello, M.A.R. 1998a. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. *Br. J. Nutr.* 80(3): 291–297. PMID:9875069.
- Latorraca, M.Q., Reis, M.A.B., Carneiro, E.M., Mello, M.A.R., Velloso, L.A., Saad, M.J.A., and Boschero, A.C. 1998b. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats. *J. Nutr.* 128(10): 1643–1649. PMID:9772130.
- Mayes, P.A. 1993. Intermediary metabolism of fructose. *Am. J. Clin. Nutr.* 58(Suppl. 5): 754S–765S. PMID:8213607.
- Mello, M.A.R., Cury, L., Valle, L.B.S., and Oliveira-Filho, R.M. 1987. Protein-calorie malnutrition in the young pregnant rat: factors involved in fetal growth impairment. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 20(5): 575–577. PMID:3133007.
- Mock, D.M., Perman, J.A., Thaler, M., and Morris, R.C., Jr. 1983. Chronic fructose intoxication after infancy in children with hereditary fructose intolerance. A cause of growth retardation. *N. Engl. J. Med.* 309(13): 764–770. PMID:6888454.
- Moura, R.F., Cambri, L.T., de Quadros Junior, A.C., Nascimento, C.M.C., Arantes, L.M., Sebastião, E., et al. 2008. Aerobic capacity of rats fed with fructose rich diet. *Rev. Bras. Med. Esporte*, 14(5): 422–426. [In Portuguese.]
- Nakagawa, T., Tuttle, K.R., Short, R.A., and Johnson, R.J. 2005. Hypothesis: fructose-induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* 1(2): 80–86. doi:10.1038/ncpneph0019. PMID:16932373.
- Nogueira, D.M., Strufaldi, B., Hirata, M.H., Abdalla, D.S.P., and Hirata, R.D.C. 1990. Sangue-parte I: Glicídios. In *Métodos de bioquímica clínica*. Edited by D.M. Nogueira, B. Strufaldi, M.H. Hirata, et al. Pancast, São Paulo, pp. 153–168.
- Okitolonda, W., Brichard, S.M., and Henquin, J.C. 1987. Repercussions of chronic protein-calorie malnutrition on glucose homeostasis in the rat. *Diabetologia*, 30(12): 946–951. doi:10.1007/BF00295879. PMID:3125080.
- Papoti, M., Almeida, P.B., Prada, F.J.A., Eleno, T.G., Hermini, H.A., Gobatto, C.A., et al. 2003. Maximal lactate steady-state during swimming in rats recovered from protein malnutrition. *Motriz*, 9(2): 103–110. [In Portuguese.]
- Rajasekar, P., and Anuradha, C.V. 2007. Fructose-induced hepatic gluconeogenesis: effect of L-carnitine. *Life Sci.* 80(13): 1176–1183. doi:10.1016/j.lfs.2006.12.010. PMID:17239403.
- Rao, S.S.C., Attaluri, A., Anderson, L., and Stumbo, P. 2007. Ability of the normal human small intestine to absorb fructose: evaluation by breath testing. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 5(8): 959–963. doi:10.1016/j.cgh.2007.04.008. PMID:17625977.
- Reeves, P.G., Nielsen, F.H., and Fahey, G.C., Jr. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* 123(11): 1939–1951. PMID:8229312.
- Roglans, N., Vilà, L., Farré, M., Alegret, M., Sánchez, R.M., Vázquez-Carrera, M., and Laguna, J.C. 2007. Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPAR α activity in fructose-fed rats. *Hepatology*, 45(3): 778–788. doi:10.1002/hep.21499. PMID:17326204.
- Sánchez-Lozada, L.G., Tapia, E., Jiménez, A., Bautista, P., Cristóbal, M., Nepomuceno, T., et al. 2007. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 292(1): F423–F429. doi:10.1152/ajprenal.00124.2006. PMID:16940562.
- Sharabi, Y., Oron-Herman, M., Kamari, Y., Avni, I., Peleg, E., Shabtay, Z., et al. 2007. Effect of PPAR-gamma agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. *Am. J. Hypertens.* 20(2): 206–210. doi:10.1016/j.amjhyper.2006.08.002. PMID:17261469.
- Shepherd, S.J., and Gibson, P.R. 2006. Fructose malabsorption and symptoms of irritable bowel syndrome: guidelines for effective dietary management. *J. Am. Diet. Assoc.* 106(10): 1631–1639. doi:10.1016/j.jada.2006.07.010. PMID:17000196.
- Silva, M.P., Stevanato, E., Moreira, V.M., Porto, M., and Mello, M.A.R. 1999. Effects of intrauterine malnutrition on metabolic responses to chronic exercise in young rats. *Motriz*, 5(2): 152–159. [In Portuguese.]
- Torun, B., and Viteri, F.E. 1994. Influence of exercise on linear growth. *Eur. J. Clin. Nutr.* 48(1 Suppl. 1): S186–S189. PMID:8005085.
- Voltarelli, F.A., Gobatto, C.A., and de Mello, M.A. 2002. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 35(11): 1389–1394. doi:10.1590/S0100-879X2002001100018. PMID:12426640.
- Voltarelli, F.A., Gobatto, C.A., and Mello, M.A.R. 2007. Determination of metabolic transition by lactate minimum test in malnourished rats during swimming exercise. *Rev. Ed. Fis./UEM.* 18(1): 33–39.
- Wallis, G.A., Hulston, C.J., Mann, C.H., Roper, H.P., Tipton, K.D., and Jeukendrup, A.R. 2008. Postexercise muscle glycogen synthesis with combined glucose and fructose ingestion. *Med. Sci. Sports Exerc.* 40(10): 1789–1794. PMID:18799989.
- Wasserman, K., and McIlroy, M.B. 1964. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. *Am. J. Cardiol.* 14(6): 844–852. doi:10.1016/0002-9149(64)90012-8. PMID:14232808.
- WHO. World Health Organization. Core Health Indicators. Available from http://www.who.int/whosis/database/core/core_select_process.cfm?countries=all&indicators=child_undernutrition. [Accessed 18 February 2008.]

6.4 ANEXO 4: Artigo publicado na *Lipids in Health and Disease*

RESEARCH

Open Access

Metabolic responses to acute physical exercise in young rats recovered from fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet

Lucieli T Cambri*, Gustavo G de Araujo, Ana C Ghezzi, José D Botezelli and Maria AR Mello

Abstract

Background: Malnutrition *in utero* can "program" the fetal tissues, making them more vulnerable to metabolic disturbances. Also there is association between excessive consumption of fructose and the development of metabolic syndrome. However, there is little information regarding the acute effect of physical exercise on subjects recovered from malnutrition and/or fed with a fructose-rich diet. The objective of this study was to evaluate the metabolic aspects and the response to acute physical exercise in rats recovered from fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet.

Methods: Pregnant Wistar rats were fed with a balanced (B) diet or a low-protein (L) diet. After birth and until 60 days of age, the offspring were distributed into four groups according to the diet received: B: B diet during the whole experiment; balanced/fructose (BF): B diet until birth and fructose-rich (F) diet afterwards; low protein/balanced (LB): L diet until birth and B diet afterwards; low protein/fructose (LF): L diet until birth and F diet afterwards.

Results: The excess fructose intake reduced the body weight gain, especially in the BF group. Furthermore, the serum total cholesterol and the LDL cholesterol were elevated in this group. In the LF group, the serum total cholesterol and the muscle glycogen increased. Acute physical exercise increased the serum concentrations of glucose, triglycerides, HDL cholesterol and liver lipids and reduced the concentrations of muscle glycogen in all groups.

Conclusion: An excess fructose intake induced some signs of metabolic syndrome. However, protein malnutrition appeared to protect against the short term effects of fructose. In other hand, most responses to acute physical exercise were not influenced by early malnutrition and/or by the fructose overload.

Keywords: low protein, nutritional recovery, metabolic syndrome, metabolism, physical exercise, maximal lactate steady-state

Background

The worldwide incidence of severe malnutrition has decreased in the last decades. However, malnutrition considered as "mild" or "moderate", associated with anemia of pregnancy, low birth weights and stunted growth in children, is still highly prevalent in third world countries. In 2000, the incidence of children born globally with low birth weight was about 15.5%, with the highest rate (27.1%) observed in South Asia. More than 20 million

underweight children are born every year in developing countries [1].

Malnutrition *in utero* can "program" the fetal tissues, making them more vulnerable to disturbances associated with eating, such as type 2 diabetes, metabolic syndrome and other chronic diseases in adulthood [2,3]. Likewise, the excessive consumption of fructose in the diet of contemporary society has interested researchers in the field of public health. There is clinical and epidemiological evidence indicating an association between the excessive consumption of fructose, a sweetener widely used in soft drinks and other foods, and the development of metabolic

* Correspondence: lucambri@yahoo.com.br
Department of Physical Education, São Paulo State University (UNESP), Rio Claro-SP, Brazil

syndrome [4,5]. Thus, it is relevant to determine whether organisms subjected to early malnutrition are more susceptible to the deleterious metabolic effects of fructose overload in the diet. We hypothesized that fetal protein malnutrition would increase the impact of a fructose-rich diet along metabolic syndrome parameters.

Most studies using animal models examine the influence of early protein malnutrition only on baseline variables, usually after birth or weaning. Likewise, nutritional recovery is often obtained with a balanced diet in the absence of physical exercise [6,7]. In contrast, signs of metabolic syndrome in adult rats, such as hypertension, hyperinsulinemia, hypertriglyceridemia and insulin resistance [8-12] are often triggered by the administration of fructose-rich diets. Therefore, the interactions among nutritional recovery, a fructose-rich diet and the effects of physical exercise are important to elucidate.

Some studies have shown beneficial effects of regular physical exercise on the growth of malnourished children and rats [13,14], indicating that physical exercise can positively impact nutritional recovery. Similarly, although there is still no consensus on the long-term effects of physical exercise on the metabolic syndrome, its benefits are evident in isolated diseases, such as obesity [15], diabetes mellitus [16], dyslipidemia [17] and hypertension [18]. However, there is little information regarding the acute effects of physical exercise on subjects recovering from protein malnutrition and/or being fed a fructose-rich diet. With this, it is important to evaluate some metabolic parameters after acute physical exercise realized in the maximal lactate steady-state, because this intensity can be used to an appropriate exercise prescription in the long-term training, to improve the metabolic parameters associated the metabolic syndrome, so as, to determinate the possible effects of physical training during the nutritional rehabilitation.

Therefore, the objective of this study was to evaluate the metabolic characteristics of young rats recovered from fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet, as well as to examine the acute response to physical exercise performed at the maximal lactate steady-state intensity in these animals.

Materials and methods

Animals and diets

Twenty four pregnant adult (90 days) Wistar rats were kept in individual cages at a room temperature of 25°C with a photoperiod of 12 hours of light and 12 hours of darkness, with lights on from 06:00 to 18:00 h and with free access to water and food during the entire experiment. All procedures involving the animals were approved by the Committee of Ethics in Animal Research of the State University of Campinas (UNICAMP) under protocol n°1487-1.

The rats were fed with isocaloric (3.766 kcal/g) balanced (17% protein) [19], low-protein (6% protein) [7] and fructose-rich (60% fructose) [11] diets, with the compositions described in Table 1. Body weight of the newborn was registered once a week, from weaning (21 days) until 60 days of age.

Experimental groups

According to the diet received during pregnancy (21 days), the mother rats were separated into two groups: a balanced (B) - diet containing 17% protein, and a low protein (L) - diet containing 6% protein.

Immediately after birth, eight male B neonates and eight male L neonates were weighed and killed to determine the serum glucose, total protein, albumin [20], liver glycogen [21] and lipids [20] to confirm the installation of malnutrition in the L group. The remaining male offspring were distributed into four groups (20 rats per group) according

Table 1 Composition of the diets

Components (g/kg)	Balanced (17%) ¹	Low-protein (6%) ²	Fructose (60%) ³
Casein ⁴	202	71.5	202
Starch	397	480	-
Dextrin	130.5	159	-
Sucrose	100	121	27.6
Fructose	-	-	600
L-cystine	3	1	3
Soybean oil	70	70	70
Mineral mix (AIN-93GMX) ¹	35	35	35
Vitamin mix (AIN-93GVX) ¹	10	10	10
Fiber	50	50	50
Choline hydrochloride	2.5	2.5	2.5

¹According to the American Institute of Nutrition (AIN-93G) - [19]. Diet containing 17% protein.

²According to Latorraca et al. [7]. Diet containing 6% protein.

³According to Moura et al. [11]. Diet containing 17% protein and 60% fructose.

⁴Values corrected according to the amount of protein in the casein.

to the diet fed until 60 days of age. The litters were adjusted until each female fed eight offspring. After weaning, the rats were kept in collective cages (five animals per cage). Until weaning (from birth to 21 days), the mothers were fed corresponding diets of the offspring:

- Balanced (B): a diet containing 17% protein during the whole experiment;
- Balanced/Fructose (BF): a diet containing 17% protein until birth and a fructose-rich diet from birth until 60 days of age;
- Low protein/Balanced (LB): a diet containing 6% protein until birth and a diet with 17% protein from birth until 60 days of age;
- Low protein/Fructose (LF): a diet containing 6% protein until birth and a fructose-rich diet from birth until 60 days of age.

Tissue sample collection

At the end of the experiment, half the rats in each group (10 rats per group) were killed at rest by decapitation 48 hours after the last *in vivo* evaluation. The others were subjected to a single swimming exercise session for 20 minutes, just before euthanasia, while supporting a load equivalent to the maximal lactate steady-state, as described by Gobatto et al. [22]. On alternate days, with a 48-hour minimum interval, different overloads were applied using small bags with lead tied to the chest, which varied from 6.5 to 8.5% of body weight. The maximal lactate steady-state is defined as the highest lactate concentration and workload that can be sustained during physical exercise sessions with fixed loads, without continuous accumulation of blood lactate [23]. The load associated with a maximal lactate steady-state is often used for the prescription of training and the evaluation of aerobic capacity [24].

In the present study, the mean load, corresponding to the maximal lactate steady-state, varied between 7.4 and 7.7% in relation to body weight, and there was no statistically significant difference among the groups. Before undergoing the swimming tests to determine aerobic capacity by the maximal lactate steady-state, the rats were adapted to water for 10 days, once a day, in order to reduce the stress caused by the physical exercise performed in the water. The both water level, the water exposure time and the overload sustained by the rats were subsequently increased. The water temperature was always kept at $31 \pm 1^\circ\text{C}$. Blood samples were collected immediately after killing for serum separation to determine levels of glucose, triglycerides, total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, total protein and albumin determinations by colorimetric methods using commercial kits (LABORLAB®, Guarulhos, São Paulo/Brazil).

The adipose tissue from the mesenteric, retroperitoneal and posterior subcutaneous regions was removed to

determine weight and total lipid concentration. Excision of the different fat deposits was carried out according to the description of Cinti [25]. The concentrations of lipids in these deposits were determined by the procedure described by Nogueira et al. [20]. Liver and soleus muscle samples were removed for glycogen concentration determination [21], and liver samples were removed for total lipid determination [20].

Statistical Analysis

A Student's t-test was used for comparisons between the newborns. For comparisons among groups (intergroup), both at rest and after acute exercise, a two-way ANOVA, followed by a post-hoc Newman-Keuls test when necessary, was used at the end of the experiment. For intra-group comparisons on the effects of acute physical exercise, a Student's t-test was used. A 5% ($p < 0.05$) level of significance was adopted.

Results

At birth, the low protein diet caused a statistically significant reduction ($p < 0.05$) in body weight (B: 6.66 ± 0.79 ; L: 5.32 ± 0.85 g), serum glucose levels (B: 80 ± 10 ; L: 67 ± 18 mg/dL), serum albumin (B: 3.37 ± 0.20 ; L: 1.29 ± 0.19 mg/dL) and serum protein (B: 7.43 ± 1.83 ; L: 3.95 ± 1.83 mg/dL) and a statistically significant increase ($p < 0.05$) in the concentrations of liver lipids (B: 7.12 ± 1.69 ; L: 17.74 ± 5.46 mg/100 g) and liver glycogen (B: 2.02 ± 0.59 ; L: 2.46 ± 0.22 mg/100 g).

Table 2 presents the body weight gain from weaning to the end of the experiment and the weight of adipose tissue from different anatomical regions by the end of the experiment. It is evident that the weight gain was influenced by malnutrition and excessive fructose consumption because all other groups showed significant differences among themselves ($p < 0.05$). The group that received the fructose-rich diet after birth (BF) had the lowest body weight gain compared to the others, followed by the group that also received the fructose-rich diet after birth but was malnourished during the fetal period (LF). Similarly, the weight of the subcutaneous adipose tissue was influenced by the malnutrition and by the excess fructose in the diet, because all the groups had lower weights of adipose tissue in this region than did the controls (B).

Regarding the lipid concentrations in the adipose tissue at the end of the experiment (Table 2), only the BF group showed higher values when compared with the controls (B) for the retroperitoneal region.

Table 3 and Figure 1 show that at 60 days, the serum total protein and albumin, liver glycogen and lipids, which were altered at birth due to fetal malnutrition, were restored, regardless of the diet during the nutritional recovery. However, the concentrations of serum glucose were not fully restored with the fructose-rich diet

Table 2 Body weight gain from weaning (21 days) until the end of the experiment (60 days), weight and total lipids concentrations of the adipose tissue from different anatomical regions at the end of the experiment (60 days)

	B	BF	LB	LF
Body weight gain (g)	161.4 ± 25.2 ^b	103.4 ± 29.6 ^a	186.1 ± 29.8 ^a	134.5 ± 22.9 ^c
Weight of the mesenteric adipose tissue (mg/100 mg)	0.57 ± 0.14	0.45 ± 0.17	0.48 ± 0.10	0.55 ± 0.11
Weight of the retroperitoneal adipose tissue (mg/100 mg)	0.35 ± 0.13	0.25 ± 0.06	0.38 ± 0.13	0.37 ± 0.09
Weight of the subcutaneous adipose tissue (mg/100 mg)	0.55 ± 0.08 ^b	0.40 ± 0.10 ^b	0.42 ± 0.07 ^b	0.39 ± 0.13 ^b
Lipids of the mesenteric adipose tissue (mg/100 mg)	70.23 ± 15.60	59.57 ± 13.90	64.32 ± 17.09	75.42 ± 17.73
Lipids of the retroperitoneal adipose tissue (mg/100 mg)	21.35 ± 8.72 ^b	35.59 ± 9.78 ^a	31.36 ± 8.78 ^{ab}	28.67 ± 6.68 ^{ab}
Lipids of the subcutaneous adipose tissue (mg/100 mg)	38.74 ± 9.77	37.32 ± 5.24	33.67 ± 7.25	31.26 ± 3.38

Results expressed as the mean ± standard deviation of 10 rats per group.

B: balanced; BF: balanced/fructose; LB: low protein/balanced; LF: low protein/fructose.

Different letters indicate significant difference among groups. Two-Way ANOVA and Newman-Keuls' Post-Hoc ($p < 0.05$).

after fetal malnutrition (LF). The lipid profile was changed in the BF group because the total cholesterol and LDL cholesterol were higher in this group ($p < 0.05$) in comparison to the B group. However, in the LF group, there was a statistically significant increase ($p < 0.05$) only in total cholesterol. Triglycerides were higher ($p < 0.05$) in the BF group compared to the LF group.

The acute physical exercise increased ($p < 0.05$) the concentrations of serum glucose, triglycerides and HDL cholesterol in all groups (intra-group), but this increase was not different among the groups (intergroup). The total cholesterol changed ($p < 0.05$) after the physical exercise only in the groups that ingested the B diet during pregnancy (B and BF), and the LDL cholesterol decreased ($p < 0.05$) only in the BF group.

There were no differences among the groups in liver glycogen concentrations at rest (Figure 1). Additionally, physical exercise did not alter this variable compared to resting values. However, in the BF group, the physical

exercise increased the liver glycogen values ($p < 0.05$) compared to the groups that ingested the balanced diet after birth (B and LB).

The liver total lipids did not differ among the groups, both at rest and after acute physical exercise. However, acute physical exercise significantly increased ($p < 0.05$) the concentrations of liver lipids in all groups compared with the resting concentrations.

The fructose-rich diet after fetal protein malnutrition (LF) increased ($p < 0.05$) the concentrations of glycogen in the soleus muscle. However, the acute physical exercise reduced ($p < 0.05$) the concentrations of muscle glycogen in all groups, which were otherwise not different among themselves after the exercise regimen.

Discussion

The aim of this study was to evaluate the metabolic aspects of rats recovered from fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet and to analyze the acute

Table 3 Serum variables at rest (R) and after acute exercise (E) at the end of the experiment (60 days)

		B	BF	LB	LF
Glucose (mg/dL)	R	107 ± 15 ^a	110 ± 9 ^a	106 ± 19 ^a	83 ± 25 ^b
	E	126 ± 31 [*]	134 ± 26 [*]	148 ± 35 [*]	152 ± 26 [*]
Triglycerides (mg/dL)	R	61 ± 13 ^{ab}	79 ± 12 ^a	66 ± 28 ^{ab}	53 ± 23 ^b
	E	95 ± 25 [*]	106 ± 30 [*]	110 ± 22 [*]	104 ± 29 [*]
Total cholesterol (mg/dL)	R	67 ± 14 ^b	124 ± 21 ^a	89 ± 26 ^b	119 ± 27 ^a
	E	81 ± 13 ^{ab*}	105 ± 14 ^{ab*}	82 ± 16 ^b	97 ± 26 ^{ab}
HDL cholesterol (mg/dL)	R	39 ± 6 ^b	47 ± 4 ^a	36 ± 4 ^b	39 ± 8 ^b
	E	50 ± 5 ^{ab*}	54 ± 6 ^{a*}	45 ± 4 ^{b*}	50 ± 7 ^{ab*}
LDL cholesterol (mg/dL)	R	59 ± 14 ^a	75 ± 14 ^b	53 ± 15 ^a	50 ± 16 ^a
	E	58 ± 9	57 ± 11 [*]	49 ± 12	53 ± 10
Total Proteins (g/dL)	R	5.5 ± 0.1 ^b	5.6 ± 0.1 ^b	5.5 ± 0.3 ^b	5.8 ± 0.2 ^a
	E	5.6 ± 0.1 [*]	5.7 ± 0.1	5.7 ± 0.1	5.7 ± 0.1
Albumin (g/dL)	R	3.9 ± 0.3 ^b	3.8 ± 0.2 ^b	4.2 ± 0.3 ^a	4.1 ± 0.6 ^a
	E	3.9 ± 0.2	3.9 ± 0.2	3.9 ± 0.2 [*]	3.9 ± 0.3

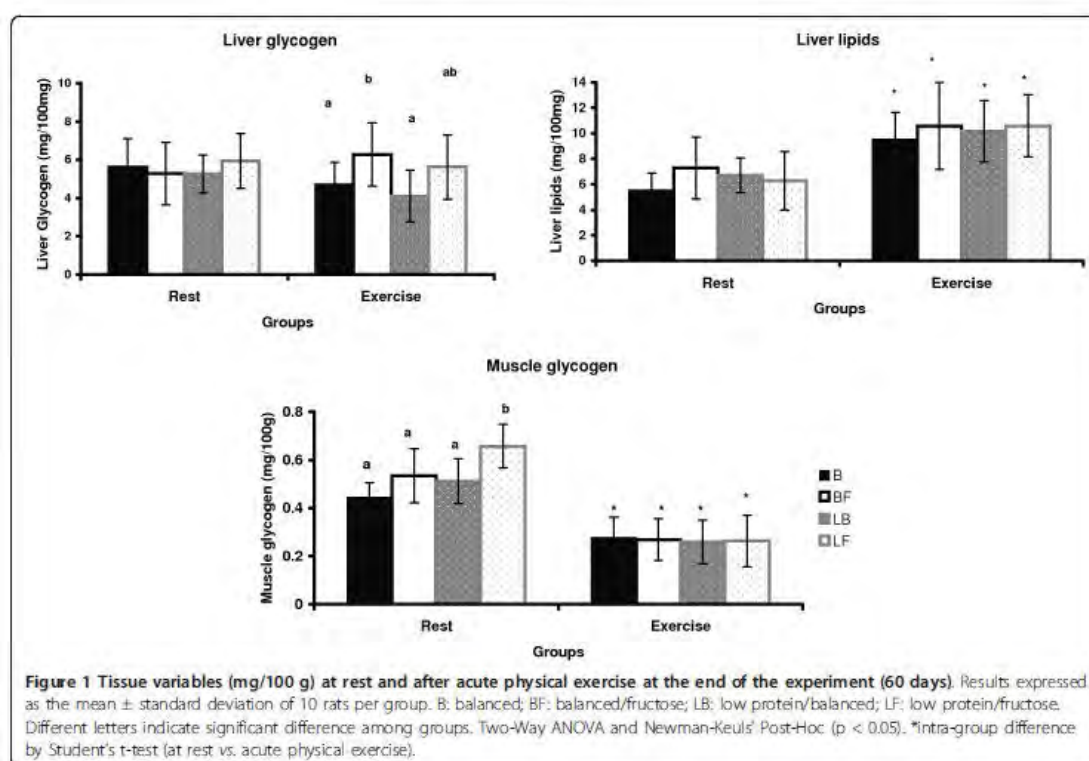
Results expressed as the mean ± standard deviation of 10 rats per group.

B: balanced; BF: balanced/fructose; LB: low protein/balanced; LF: low protein/fructose.

R: at rest; E: after acute physical exercise.

Different letters indicate significant difference among groups. Two-Way ANOVA and Newman-Keuls' Post-Hoc ($p < 0.05$).

*intra-group difference by Student's t-test (at rest vs. acute physical exercise).



metabolic responses to a single episode of swimming exercise performed at the maximal lactate steady-state intensity. This is because, oftentimes the studies on the metabolic effects of physical exercise in animal models are criticized due to the lack of information about the intensity of effort performed during the physical exercise.

The low protein diet used in this study proved effective in inducing protein malnutrition during the fetal period, as it reduced body weight, serum glucose, albumin and total protein and increased liver lipids and glycogen in the newborn rats. These findings are similar to those found in several studies that employed a similar procedure for protein malnutrition induction [7,14,26,27].

In accordance with some studies reported in the literature that used a balanced diet for nutritional recovery [6,7,28], in the present study, restoration of the serum variables (total protein and albumin) as well as the tissue variables (liver glycogen and lipids) was observed independent of the diet employed for the nutritional recovery. In other hand, serum glucose did not normalize in the LF group, indicating only a partial efficacy of the fructose-rich diet in the ability to recover from malnutrition.

The rats that consumed the fructose-rich diet had lower body weight gain, especially those who were not malnourished in the fetal period (BF), suggesting that intrauterine protein malnutrition attenuated the body weight impairment caused by fructose. Several studies show that body weight does not differ between rats that consume a balanced diet or a fructose-rich diet [9,11,29-31]. The reduction in body weight gain observed in this study may be due to fructose intolerance because an excess of this component in the diet was imposed at a crucial stage (neonatal) of life. Recently, it was showed that, under normal conditions, intestinal GLUT5 (the fructose transporter at the apical cell membrane) mRNA levels and fructose transport rates are very low in the suckling periods of rat development [32]. In these cases, removing fructose from the diet seems essential to reduce the damage it has caused [33]. The values of weight of adipose tissue in different regions can did not have altered in according body weight because are relative to body weight and not absolute values.

In a previous study with an identical experimental model [12] (except for a longer exposure to the diet - until adulthood), the same impairment in body weight gain was observed in rats that ingested fructose-rich

diets. However, aside from the study noted, there is no other report in the literature describing animal growth impairment imposed by early consumption of fructose and no studies using fructose-rich diets administered from the weaning period until adulthood or from birth. Therefore, further studies on this subject are of extreme importance.

Fructose was used in the nutritional recovery to verify whether its effect on metabolic syndrome parameters was increased after fetal malnutrition. Fructose is considered to be more lipogenic than glucose [31]. Therefore, its high intake is often implicated in high levels of plasma triglycerides [9,11,12,29,30,34]. Some mechanisms may account for this relationship, including increased hepatic lipogenesis and a high production of very low density lipoprotein (VLDL) [4]. Fructose metabolism in the liver surpasses the regulatory step of glycolysis catalyzed by the phosphofructokinase. Therefore, fructose continuously enters the glycolytic pathway at the glyceraldehyde-3-phosphate and dihydroxyacetone phosphate level. Both are intermediates in triglycerides synthesis [29,30]. So, this can be a cause of dyslipidemia by excess in the fructose consumption.

In other hand, the effects of fructose on the metabolism of total cholesterol are contradictory, with some studies showing an increase in total serum cholesterol [9,12,29] but others not [11]. In the LF group, serum triglycerides and LDL cholesterol probably did not increase due to the short duration of exposure to the diet. By contrast, in a previous experiment conducted by our research group, keeping the rats on the high fructose diet until 90 days led to elevations in serum triglycerides for both the BF and LF groups [12]. This finding raises the hypothesis that protein malnutrition exerts a protective effect against the development of signs of metabolic syndrome in a short-term exposure to a high fructose diet. One explanation is that, as we studied young animals (60 days of age), probably, they were still in a stage of recovery from malnutrition, ie, first there was a stabilization of the parameters affected by intrauterine malnutrition in relation the control group, and after that, the elevation of these parameters. With this, the ideal would be to conduct a study with analysis of these parameters in different ages, young rat, young adult rats and mature adult rats.

Similar to some of the results of this study, serum concentrations of glucose, free fatty acids [35,36], total cholesterol [35], HDL cholesterol [37] and corticosterone [35,36] are increased, and serum insulin and muscle glycogen are decreased [35,36] after a single session of swimming exercise in rats [35,36] and of treadmill exercise in humans [37]. The hyperglycemic response observed is probably associated with increased hepatic glycogenolysis resulting from the increased sympathetic activity or with the increased gluconeogenesis from the increased glucocorticoid secretions such as corticosterone in animals [35,36]

and cortisol in humans [38]. This response may also be related to the increased secretion of the other counter-regulatory hormones such as growth hormone and glucagon after acute physical exercise [38-40], both of which are responsible for the increased availability of glucose to the active muscles.

Differences among the results of some studies may be related to the different experimental protocols and characteristics of the animals and/or subjects evaluated, which include modality, intensity and duration of the acute physical exercise session as well as the age, baseline lipid profile and fitness of the individuals evaluated.

The reduction in the concentrations of muscle glycogen is associated with increased muscle glycogenolysis by the acute increase of catabolic hormones [34,36,39,40]. It also depends on the intensity of the physical exercise because, as other studies show, the reduction of muscle glycogen is sharper at 76 than at 48% $\text{VO}_{2\text{ max}}$ [41]. In the present study, the data suggest an increased use of muscle glycogen and lower lipids utilization, corroborating the idea that high intensity physical activity is related to increased muscle glycogen depletion because the acute physical exercise was performed at the intensity of the maximal lactate steady-state.

Exercise time (20 minutes) in the present study also explains the increased use of carbohydrates because, according to Schrauwen-Hinderling et al. [42], this metabolism is predominant at 30 minutes of physical exercise at 55% $\text{VO}_{2\text{ max}}$. In the latter study, there was an incremental increase in intramuscular lipids in inactive muscles compared to active muscles during physical exercise due to the greater availability of plasma free fatty acids, with a concomitant increase in the uptake of free fatty acids by the muscle tissue [42]. This result may explain the increase in liver lipids after physical exercise observed in this study. Because the release of free fatty acids by lipolysis of the adipose tissue exceeds the oxidation capacity of active muscles during prolonged physical exercise [43], the remaining free fatty acids can be re-esterified in the adipose tissue, in active or inactive skeletal muscle and in the liver [42].

In summary, excess fructose intake reduced the body weight gain in rats, particularly those that were not malnourished during the fetal period (BF). Moreover, the high serum concentrations of total cholesterol and LDL cholesterol observed in this group (BF) are indicators of the development of some signs of metabolic syndrome, unlike the group that consumed fructose after protein malnutrition (LF), in which only serum total cholesterol increased. Therefore, protein malnutrition appeared to protect against the short term effects of fructose. These observations contradict the hypothesis that early malnourished organisms are more susceptible to the deleterious metabolic effects of excess fructose in the diet.

Regarding the effects of acute physical exercise, most of the metabolic responses were similar for all groups, regardless of the early protein malnutrition and the high fructose diet. This suggest that the intensity of physical exercise utilized is secure, from the metabolic point of view and can be used in long-term training to improve the metabolic parameters initially altered by the experimental model used. These data indicate the importance of further research, aiming to clarify questions that are still obscure about the metabolic effects of the early excessive consumption of fructose and of long term physical training.

List of Abbreviations

B: balanced diet; BF: balanced/fructose diet; F: fructose diet; L: low protein diet; LB: low protein/balanced diet; LF: low protein/fructose diet.

Acknowledgements

This research was supported by the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - process 08/53255-8), the Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior (CAPES) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). We thank José Roberto R. Silva, Eduardo Custódio, and Clarice Y. Sibuya for technical assistance. This manuscript was edited by American Journal Experts.

Authors' contributions

LTC was responsible for the experimental design, data collection and preparation of the manuscript. GGA, ACG and JDB were responsible for the data collection and the preparation of the manuscript. MARM was responsible for experimental design, coordination of research and preparation of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript text.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 29 July 2011 Accepted: 21 September 2011
Published: 21 September 2011

References

- World Health Organization: Core Health Indicators. 2008 [http://www.who.int/whosis/database/core/core_select_process.cfm?countries=all&indicators=child_undernutrition].
- Hales CN, Barker DJP: Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia* 1992, **35**:595-601.
- Bertram EC, Hanson MA: Animal models and programming of the metabolic syndrome. *Br Med Bull* 2001, **60**:103-121.
- Elliott SS, Kelm NL, Stern JS, Teff K, Havel PJ: Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr* 2002, **76**:911-922.
- Nakagawa T, Tuttle KR, Short RA, Johnson RJ: Hypothesis: fructose induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. *Nat Clin Pract Nephrol* 2005, **1**:80-86.
- Okitolonda W, Brichard SM, Henkin JC: Repercussions of chronic protein-calorie malnutrition on glucose homeostasis in the rat. *Diabetologia* 1987, **30**:946-951.
- Latorraca MQ, Reis MAB, Carneiro EM, Mello MAR, Velloso LA, Saad MJA, Boschero AC: Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats. *J Nutr* 1998, **128**:1643-1649.
- Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM: Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 1987, **10**:512-516.
- Girard A, Madani S, Boukourt F, Cherkaoui-Malki M, Belleville J, Prost J: Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition* 2006, **22**:758-766.
- Sharabi Y, Oron-Herman M, Kamari Y, Avni I, Peleg E, Shabtay Z, Grossman E, Shamiss A: Effect of PPAR-γ agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. *Am J Hypertens* 2007, **20**:206-210.
- Moura RF, Cambri LT, Quadros AC Jr, Nascimento CMC, Arantes LM, Sebastião E, Tanaka K, Papini CB, Oliani MM, Mota CSA, Ribeiro C, Mello MAR: Aerobic capacity of rats fed with fructose rich diet. *Rev Bras Med Esporte* 2008, **14**:422-426.
- Cambri LT, Ghezzi AC, Ribeiro C, Dalla RA, Mello MAR: Recovery of rat growth and lipid profiles in adult rats subjected to fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet. *Nutr Res* 2010, **30**:156-162.
- Torun B, Viteri FE: Influence of exercise on linear growth. *Eur J Clin Nutr* 1994, **48**:S186-190.
- Galdino RS, Almeida CCS, Luciano E, Mello MAR: Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. *Nutr Res* 2000, **20**:527-535.
- Rice B, Janssen I, Hudson R, Ross R: Effects of aerobic or resistance exercise and/or diet on glucose tolerance and plasma insulin levels in obese men. *Diabetes Care* 1999, **22**:684-691.
- Kriska A: Physical activity and the prevention of type 2 diabetes mellitus. How much for how long? *Sports Med* 2000, **29**:147-151.
- Halle M, Berg A, Ganwers U, Baumstark MW, Knise LW, Grathwohl D, König D, Keul J: Influence of 4 weeks' intervention by exercise and diet on low-density lipoprotein subfractions in obese men with type 2 diabetes. *Metabolism* 1999, **48**:641-644.
- Barone BB, Wang NY, Bacher AC, Stewart KE: Decreased exercise blood pressure in older adults after exercise training: contributions. *Br J Sports Med* 2009, **43**:52-56.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr: AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of AIN-76A. *J Nutr* 1993, **123**:1939-1951.
- Nogueira DM, Strufaldi B, Hirata MH, Abdalla DSP, Hirata RDC: Sangue-parte I: Glicídios. In *Métodos de bioquímica clínica* Edited by: Nogueira DM, Strufaldi B, Hirata MH, Abdalla DS, Hirata RDC. 1990, 153-168.
- Dubois B, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA: Colorimetric method for determination of sugar and relate substances. *Anal Chem* 1956, **350**:356.
- Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokubun E: Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol* 2001, **130a**:21-27.
- Heck H, Mader A, Hess G, Mucke S, Muller R, Hollmann W: Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. *Int J Sports Med* 1985, **6**:117-130.
- Kindermann W, Simon G, Keul J: The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1979, **42**:25-34.
- Cinti S: The adipose organ, prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids. *3rd Throne Holst Foundation Symposium* 2005, **73**:9-15.
- Mello MAR, Cury L, Valle LBS, Oliveira-Filho RM: Protein-calorie malnutrition in the young pregnant rat factors involved in fetal growth impairment. *Braz J Med Biol Res* 1987, **20**:575-577.
- Latorraca MQ, Carneiro EM, Boschero AC, Mello MAR: Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. *Brit J Nutr* 1998, **80**:291-297.
- Dahri S, Reusens B, Remacle C, Hoet JJ: Nutritional influences on pancreatic development and potential links with non-insulin-dependent diabetes. *Proc Nutr Soc* 1995, **54**:345-356.
- Kelley GL, Allan G, Azhar S: High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. *Endocrinology* 2004, **145**:548-555.
- Rajasekar P, Anuradha CV: Fructose-induced hepatic gluconeogenesis: Effect of L-carnitine. *Life Sci* 2007, **80**:1176-1183.
- Sanchez-Lazada LG, Tapia E, Jiménez A, Bautista P, Cristóbal M, Nepomuceno T, Soto V, Avila-Casado C, Nakagawa T, Johnson RJ, Herrera-Acosta J, Franco M: Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol - Ren Physiol* 2007, **292**:F423-F429.
- Douard V, Ferraris RP: Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008, **295**:E27-E237.

33. Shepherd BPR, Crowther NJ, Desai M, Hales CN, Ozannet SE: Altered adipocyte properties in the offspring of protein malnourished rats. *Brit J Nutr* 1997, **78**:121-129.
34. Ghezzi A, Cambri LT, Ribeiro C, Botezelli JD, Mello MAR: Impact of early fructose intake on metabolic profile and aerobic capacity of rats. *Lipids Health Dis* 2011, **10**:3.
35. Afonso M, Souza CN, Zagatto AM, Luciano E: Metabolic response to acute physical exercise in wistar rats. *Motriz* 2003, **9**:83-88.
36. Rogatto GP, Oliveira CA, Faria MC, Luciano E: Acute metabolic responses of Wistar rats to intermittent jump exercise. *Motriz* 2004, **10**:61-66.
37. Gordon PM, Fowler S, Warty V, Danduuran M, Visich P, Keteyian S: Effects of acute exercise on high density lipoprotein cholesterol and high density lipoprotein subfractions in moderately trained females. *Br J Sports Med* 1998, **32**:63-67.
38. Horton TJ, Grunwald GK, Lavelly J, Donahoo WT: Glucose kinetics differ between women and men, during and after exercise. *J Appl Physiol* 2006, **100**:1883-1894.
39. Ramel A, Wagner KH, Elmadfa F: Correlations between plasma noradrenaline concentrations, antioxidants, and neutrophil counts after submaximal resistance exercise in men. *Br J Sports Med* 2004, **38**:1-3.
40. Koh HJ, Hirshman MF, He H, Li Y, Manabe Y, Balschi JA, Goodyear LJ: Adrenaline is a critical mediator of acute exercise-induced AMP-activated protein kinase activation in adipocytes. *Biochem J* 2007, **403**:473-481.
41. Harvey CR, Frew R, Massicotte D, Péronnet F, Rehrer NJ: Muscle glycogen oxidation during prolonged exercise measured with oral [13C] glucose: comparison with changes in muscle glycogen content. *J Appl Physiol* 2007, **102**:1773-1779.
42. Schrauwen-Hinderling VB, Van Loon LJ, Koopman R, Nicolay K, Saris WHM, Kool ME: Intramyocellular lipid content is increased after exercise in nonexercising human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2003, **95**:2328-2332.
43. Magkos F, Patterson BW, Mohammed BS, Mittendorfer BA: Single 1-h bout of evening exercise increases basal FFA flux without affecting VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics in untrained lean men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007, **292**:E1568-E1574.

doi:10.1186/1476-511X-10-164

Cite this article as: Cambri et al: Metabolic responses to acute physical exercise in young rats recovered from fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet. *Lipids in Health and Disease* 2011 **10**:164.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

