

FERNANDO MARTINS

**CARACTERIZAÇÃO METABÓLICA E ESTUDO MORFOLÓGICO  
DO MIOCÁRDIO DE RATOS COM OBESIDADE INDUZIDA POR  
DIETA**

CAMPO GRANDE - MS

2015

FERNANDO MARTINS

**CARACTERIZAÇÃO METABÓLICA E ESTUDO MORFOLÓGICO  
DO MIOCÁRDIO DE RATOS COM OBESIDADE INDUZIDA POR  
DIETA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro- Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Silvio Assis de Oliveira Junior.

CAMPO GRANDE - MS

2015

FOLHA DE APROVAÇÃO

FERNANDO MARTINS

**CARACTERIZAÇÃO METABÓLICA E ESTUDO MORFOLÓGICO  
DO MIOCÁRDIO DE RATOS COM OBESIDADE INDUZIDA POR  
DIETA**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Saúde e  
Desenvolvimento na Região Centro- Oeste  
da Universidade Federal de Mato Grosso do  
Sul, para obtenção do título de Mestre.

Resultado: \_\_\_\_\_

Campo Grande (MS), \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. \_\_\_\_\_  
Instituição: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr.: \_\_\_\_\_  
Instituição: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr.: \_\_\_\_\_  
Instituição: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, primeiramente à memória dos que se foram, meus avós queridos, Maturino, Ieda, Denise, José, além de meu amado pai, José Juarez Martins. Nem o mais alto grau acadêmico que eu possa almejar, poderá me prover sua sabedoria, dedicação e amor incondicionais.

À minha amada mãe, Izamar e meu querido irmão, Richard, verdadeiros exemplos de vida, inspiração, aprendizado e amor.

À minha esposa, Maynara, que Deus colocou em meu caminho, para compartilharmos todos os momentos desta vida, desde então. Você é a metade que faltava em minha vida.

Sei que serão parte de mim por toda a eternidade.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por tudo, principalmente pela força para enfrentar as adversidades desta vida.

À **FUNDECT** - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul e ao **CNPq** – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelos recursos financeiros de auxílio a projetos de pesquisa coordenados pelo Prof. Dr. Silvio Assis de Oliveira Júnior.

A todos os meus professores, colegas de sala e de trabalho com quem convivi até hoje. Esta vitória é compartilhada com vocês.

À minha família e meus grandes amigos Eduardo e Matheus, só vocês sabem o quanto me apoiaram, não apenas neste sonho acadêmico, mas em todo o meu crescimento individual.

Ao meu cunhado Fábio, e meus sogros, Mauro e Lunara, que me mostraram novos horizontes, abriram as portas de suas casas e me acolheram durante o período em que vivi neste maravilhoso Estado de Mato Grosso do Sul.

A todos os meus companheiros de mestrado, grupo de pesquisa, colegas de sala, funcionários e professores do programa de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste, em especial à Vera, Áurea, Rondon e Prof. Dr. Ricardo Dutra Aydos.

À Profa. Dra. Marina Politi Okoshi, Prof. Dr. Katashi Okoshi e Prof. Dr. Antonio Carlos Cicogna, da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (FMB/UNESP), que contribuíram enormemente para o desenvolvimento do presente trabalho.

Finalmente, um agradecimento especial ao meu orientador, Prof. Dr. Silvio Assis de Oliveira Junior, com quem venho aprendendo muito. Meu amadurecimento pessoal e acadêmico perpassa por essa brilhante experiência de aprendizagem e desenvolvimento contínuo.

## EPÍGRAFE

*"Ninguém pode construir em teu lugar as pontes que precisarás passar, para  
atravessar o rio da vida - ninguém, exceto tu, só tu.  
Existem, por certo, atalhos sem números, e pontes, e semideuses que se  
oferecerão para levar-te além do rio; mas isso te custaria a tua própria pessoa; tu  
te hipotecarias e te perderias.  
Existe no mundo um único caminho por onde só tu podes passar.  
Onde leva? Não perguntes, segue-o!"*

Nietzsche

## RESUMO

Dietas hipercalóricas, sedentarismo, aumento da urbanização e estresse psicossocial são alguns dos fatores mais comuns tanto para o aparecimento da obesidade, quanto para a predisposição a outras doenças, tais como diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, síndrome metabólica, aterosclerose, doenças articulares, degenerativas e câncer. Dentre inúmeras comorbidades relacionadas com o excesso de adiposidade corporal, acrescenta-se que a obesidade se associa com a ocorrência de remodelação cardíaca, uma condição precursora para a instalação de doenças cardiovasculares e insuficiência cardíaca. Em geral, frente condições de sobrecarga contínua, o coração tende a desencadear uma série de alterações adaptativas, as quais constituem o processo de remodelação cardíaca. Desta forma, torna-se de suma importância elucidar os efeitos da dieta e suas composições nutricionais, assim como as relações destas com o organismo, sendo possível que a composição da dieta seja um fator que module o fenótipo cardíaco em resposta à obesidade. A hipótese do presente trabalho foi verificar se a dieta hiperlipídica saturada associou-se com a manifestação de obesidade, hiperglicemia, dislipidemia e ocorrência de remodelação cardíaca. Foram utilizados 16 Ratos da linhagem Wistar, distribuídos, randomicamente, em dois grupos: Controle (C), tratado com dieta normocalórica, e Obeso (OB) que recebeu dieta hipercalórica e hiperlipídica. O período de estudo foi de 20 semanas. Posteriormente, foram obtidas a caracterização nutricional e biométrica, análises glicêmicas, perfil bioquímico sérico, pressão arterial sistólica, morfologia macroscópica e microscópica do coração. Os resultados confirmaram, em grande parte a hipótese inicial do estudo, levando-se em conta que a ocorrência de obesidade foi acompanhada de hiperglicemia e indicadores morfométricos de remodelação cardíaca no grupo OB. No entanto, tolerância glicêmica e a morfologia macroscópica do coração mostraram-se inalterados pela dieta. Em conclusão, a dieta hipercalórica e hiperlipídica, com aporte majoritário de ácidos graxos saturados, se associou com instalação de obesidade, distúrbios do metabolismo glicêmico e remodelação cardíaca.

**Palavras-Chave:** obesidade, dieta hiperlipídica, remodelação cardíaca.

## ABSTRACT

High fat diet, sedentary lifestyle, increased urbanization and psychosocial stress are some of the most common factors for both the onset of obesity, and for the predisposition to other diseases such as type 2 diabetes mellitus, hypertension, metabolic syndrome, atherosclerosis, joint diseases, degenerative and cancer. Among numerous comorbidities related to excess body fat, it is added that obesity is associated with the occurrence of cardiac remodeling, a precursor condition for the installation of cardiovascular disease and heart failure. In general, front continuous overload conditions, the heart tends to trigger a series of adaptive changes which comprise the process of cardiac remodeling. Thus, it is of utmost importance to clarify the effects of diet and nutritional their compositions, and their relations to the organism, it being possible for the dietary composition is a factor that modulates the cardiac phenotype in response to obesity. The hypothesis of this study was to verify if the saturated fat diet was associated with obesity demonstration, hyperglycemia, dyslipidemia, and occurrence of cardiac remodeling. 16 rats were used Wistar, distributed randomly into two groups: control (C), treated with normocaloric diet, and Obese (OB) who received high calorie and high fat diet. The study period was 20 weeks. Later, were obtained nutritional characterization and biometrics, glucose analysis, biochemical profile, systolic blood pressure, macroscopic and microscopic morphology. The results confirmed largely the initial hypothesis of the study, taking into account that the prevalence of obesity was accompanied by hyperglycemia and morphometric indicators of cardiac remodeling. However, glucose tolerance and macroscopic morphology of the heart showed unchanged by the diet. In conclusion, the high calorie and high fat diet, with major contribution of saturated fatty acids was associated with obesity installation of glucose metabolism disorders and cardiac remodeling.

**Keywords:** obesity, high fat diet, cardiac remodeling.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Medidas descritivas do comportamento nutricional e biométrico, segundo o grupo.....16

Tabela 2 - Tolerância glicêmica e perfil bioquímico sérico, segundo o grupo .....17

Tabela 3 - Medidas descritivas da pressão arterial sistólica e estimadores morfologia macro e microscópica do coração .....17

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SM: Síndrome Metabólica.

IMC: Índice de Massa Corporal.

OMS: Organização Mundial de Saúde.

WHO: World Health Organization.

kg/m<sup>2</sup>: Quilo, dividido por metro ao quadrado.

VIGITEL: Vigilância de Fatores de Risco por Inquérito Telefônico.

L/g: Quilo, dividido por grama.

SFA: Ácidos Graxos Saturados.

AG: Ácidos Graxos.

UFMS: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

FMB/UNESP: Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

C: Controle.

OB: Obeso.

kcal/g: Quilocaloria, dividido por grama.

CEUA: Comitê de Ética no uso de Animais.

EA: Eficiência Alimentar

G: Grama.

kcal: quilocaloria.

AD: Massa Adiposa.

g/kg: Grama, dividida por quilo.

MG/kg: miligrama, dividido por quilo.

RPM: Rotação por minuto.

HDL: Lipoproteínas de alta intensidade.

LDL: Lipoproteínas de baixa intensidade.

VLDL: Lipoproteínas de muito baixa intensidade.

USA: Estados Unidos da América.

MMA: Massa dos átrios.

MVD: Massa do Ventrículo Direito.

MVE: Massa do Ventrículo Esquerdo.

MCF: Massa Corporal Final.

$\mu\text{m}$ : micrômetro.

HE: Hematoxilina.

PR: Picrossírius Red.

CCBS: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

A: Adiposidade.

ASC: Área sob curva de tolerância Glicêmica.

PAS: pressão arterial Sistólica.

FIC: Fração intersticial de Colágeno.

## LISTA DE SIMBOLOS

°C: Graus Célsius.

%: Porcentagem.

®: Marca Registrada.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 Obesidade .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2 Síndrome Metabólica e Remodelação Cardíaca.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3 Modelo Experimental De Obesidade .....</b>	<b>19</b>
2.3.1 Ácidos Graxos Saturados.....	19
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2 Objetivos Específicos .....</b>	<b>21</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
<b>4.1 Animais e protocolo de experimentação .....</b>	<b>22</b>
<b>4.2 Composição das dietas .....</b>	<b>22</b>
<b>4.3 Caracterização nutricional e biométrica .....</b>	<b>23</b>
<b>4.4 Análises da tolerância glicêmica e do perfil bioquímico .....</b>	<b>24</b>
4.4.1 Teste de tolerância à glicose.....	24
4.4.2 Perfil bioquímico sérico .....	24
<b>4.5 Avaliação da pressão arterial sistólica .....</b>	<b>25</b>
<b>4.6 Caracterização da morfologia macro e microscópica do coração .....</b>	<b>25</b>
4.6.1 Análise morfológica macroscópica.....	25
4.6.2 Análise morfológica microscópica .....	25
<b>4.7 Análise estatística .....</b>	<b>26</b>
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>7. CONCLUSÃO .....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>35</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>46</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>63</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Hipertensão, obesidade e síndrome metabólica são enfermidades altamente prevalentes e importantes problemas de saúde pública em países industrializados (YUSUF et al., 2004). De acordo com McLaren (2007), dietas hipercalóricas, sedentarismo, aumento da urbanização e estresse psicossocial são alguns dos fatores mais comuns tanto para o aparecimento da obesidade, quanto para a predisposição a outras doenças, como diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, síndrome metabólica, aterosclerose, doenças articulares degenerativas e câncer (NGUYEN et al., 2009).

Na década de 90, Ogden e colaboradores (2002) descreveram que a prevalência de síndrome metabólica nos Estados Unidos aumentava, à medida que ocorria a elevação dos índices de obesidade, atingindo cerca de 50% dos jovens americanos. No Brasil, conforme levantamento do Ministério da Saúde em 2006, o percentual da população brasileira que apresentava sobrepeso era de 43% atingindo, em maior proporção, indivíduos do sexo masculino. Já em 2012, este número passou a 51% (BRASIL, 2013).

Cabe ressaltar que a epidemia de obesidade se associa com importantes alterações do perfil de morbimortalidade de populações humanas e consequente impacto sobre a expectativa de vida (WILSON et al., 2002; PARDO et al., 2006). Conforme Wang e colaboradores (2008), as repercussões econômicas provocadas pela obesidade, integrarão gastos de 900 bilhões até o ano de 2030. Dentre inúmeras comorbidades relacionadas com o excesso de adiposidade corporal, Yan et al. (2006) acrescentam a ocorrência de remodelação cardíaca, uma condição precursora para a instalação de doenças cardiovasculares e insuficiência cardíaca (TAVAZZI et al. 2008; KENCHIAH, 2002). Em geral, frente condições de sobrecarga contínua, o coração tende a desencadear uma série de alterações adaptativas que, constituem o processo de remodelação cardíaca, propriamente dito. Estas modificações denotam variações moleculares, celulares e intersticiais, que se manifestam clinicamente através de alterações de tamanho, massa, geometria e função do coração (SWYNGHEDAUWN, 1999; COHN, FERRARI, SHARPE, 2000).

Neste contexto, observa-se a ocorrência de hipertrofia e fibrose

intersticial miocárdica como evidências morfológicas de remodelação cardíaca em inúmeros modelos experimentais de obesidade induzida por dieta (LIMA-LEOPOLDO et al., 2008; OLIVEIRA JR. Et al., 2009; OLIVEIRA JUNIOR et al., 2010; LEOPOLDO et al., 2010; LEOPOLDO et al., 2011; LIMA-LEOPOLDO et al., 2011; OLIVEIRA JUNIOR et al., 2013; OLIVEIRA JUNIOR et al., 2014). Em especial, alguns estudos mostraram que a dieta hipercalórica, *per se*, também se relaciona com ocorrência de remodelação cardíaca (OUWENS et al. 2005; OKERE et al., 2006; FÖLDES et al., 2006; OUWENS et al. 2007; OLIVEIRA JUNIOR et al., 2013).

Em suporte a tanto, Buettner et al. (2007), por meio de revisão bibliográfica, concluíram que, mesmo com intervenções hipercalóricas com alto aporte de lipídeos e/ou carboidratos sejam frequentemente introduzidas para a indução de obesidade em roedores, não há consenso sobre a concentração de macronutrientes utilizada por diferentes autores. Em recente estudo, Oliveira Junior et al. (2013) verificaram, por meio de correlações, que o consumo de ácidos graxos saturados pode ter sido o principal responsável pelos efeitos metabólicos e cardiovasculares descritos em trabalhos prévios de obesidade induzida por dieta hipercalórica (LIMA-LEOPOLDO et al., 2008; OLIVEIRA JR et al., 2009; OLIVEIRA JUNIOR et al., 2010; LEOPOLDO ET AL., 2010; PAULINO et al., 2010; LEOPOLDO et al., 2011; LIMA-LEOPOLDO et al., 2011).

Clinicamente, Abete et al.(2010) e Stanhope (2008) concluíram que a pandemia mundial da síndrome metabólica e, especialmente, obesidade central, é decorrente do consumo de gorduras saturadas associadas a açúcares.

Considerando-se que a obesidade é um dos principais precursores da remodelação cardíaca, torna-se de suma importância elucidar os efeitos das dietas e suas composições nutricionais, assim como as relações destas com o organismo. Sendo assim, é possível que a composição da dieta seja um fator que module o fenótipo cardíaco em resposta à obesidade e, por conseguinte, os desfechos clínicos decorrentes dessa condição biométrica (DAVID et al., 2009). Portanto, a hipótese do presente trabalho é que a dieta hiperlipídica saturada, *per se*, está associada com a manifestação de obesidade, distúrbios metabólicos, incluindo-se hiperglicemia e dislipidemia, além de ocorrência de remodelação cardíaca, representada por hipertrofia miocárdica e fibrose intersticial.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. OBESIDADE

Nas últimas décadas, a população brasileira experimentou intensas transformações nas suas condições de vida, saúde e nutrição. No aspecto epidemiológico, destaca-se a ascensão da obesidade, que tem crescido a taxas alarmantes, principalmente nas áreas urbanas (KLACK, CARVALHO, 2008). A obesidade avança em todas as faixas etárias e classes sociais, com impacto significativo nas mulheres inseridas nos estratos de menor renda. Nota-se, ainda a difusão da obesidade em todas as regiões geográficas, especialmente, no meio urbano.

Em 2012, a Vigitel promoveu uma importante coleta de dados denominada: “Vigitel 2012– Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico”, constatando-se, pela primeira vez no Brasil, que 51% da população acima de 18 anos estava com excesso de peso. O registro de obesidade inteirou mais de 17% das ocorrências. Cabe ressaltar que em 2006, 43% das pessoas entrevistadas estavam acima do peso, enquanto os obesos totalizaram cerca de 11% (BRASIL, 2013). Conforme Ferreira, Magalhães (2006), tais resultados descrevem a magnitude da obesidade nos países em desenvolvimento e ressaltam a complexidade do perfil nutricional dessas populações. O Brasil tem seguido tendência semelhante à verificada nos países latino-americanos. Todas essas transformações têm imposto ao campo da saúde pública inegável desafio na atualidade.

Ainda de acordo com Ferreira, Magalhães (2006), estudos nacionais têm revelado um comportamento pouco uniforme do agravo no país em razão de diferenças regionais e entre grupos populacionais. No estado de Mato Grosso do Sul, por exemplo, a capital Campo Grande apresenta 50,9% da mulheres com excesso de peso, dentre as quais, 20,5% têm obesidade (VIGITEL, 2013).

Sob o contexto clínico, a obesidade é definida como acúmulo excessivo de tecido adiposo no organismo, em nível que pode comprometer a saúde, sendo o indicador preconizado para sua avaliação o índice de massa corporal (IMC = peso/altura<sup>2</sup>) igual ou superior a 30 kg/m<sup>2</sup> (WHO, 1998). Considerada um

problema de saúde pública, a obesidade é um distúrbio crônico de etiologia multifatorial, relacionada com a interação complexa entre inúmeros fatores, como gênero, idade, consumo de dietas hipercalóricas, sedentarismo, atributos genéticos, psicológicos e características socioculturais (WEST, YORK, 1998; TOU, WADE, 2002; MCLAREN, 2007). Além disso, o excesso de adiposidade corporal mostra-se associado a outras doenças crônicas que diminuem a duração e a qualidade de vida do indivíduo, como diabetes mellitus do tipo 2, hipertensão arterial, dislipidemia, síndrome metabólica (SM), aterosclerose, doenças articulares, degenerativas e câncer (NGUYEN, 2009).

Contribuindo para o surgimento e a manutenção da obesidade, vários fatores atuam e interagem na regulação da ingestão de alimentos e de armazenamento de energia (HALPERN, RODRIGUES, DA COSTA, 2004). Sabe-se que o balanço energético positivo, que ocorre quando o valor calórico ingerido é superior ao gasto, é importante contribuinte para o desenvolvimento da obesidade, promovendo aumento nos estoques de energia e peso corporal (PEREIRA, FRANCISCHINI, LANCHI, 2003). A ingestão alimentar e o gasto energético são regulados pela região hipotalâmica do cérebro, que também tem a função de codificar quimicamente a expressão do apetite (WILLIAMS et al., 2001; SAINSBURY et al., 2002; KALRA, 1997). Ainda de acordo com Halpern, Rodrigues, da Costa (2004) o controle da ingestão de nutrientes e o decorrente estado de equilíbrio homeostático dependem de uma série de sinais periféricos que atuam diretamente sobre o sistema nervoso central, levando a respostas adaptativas apropriadas.

No contexto metabólico, de acordo com Prado et al. (2009), o nível circulante de muitas citocinas e proteínas associadas à inflamação apresenta-se elevado em pacientes obesos. As citocinas são hormônios proteicos, que podem ser produzidos e secretados pelos adipócitos, tipicamente conhecidos como mediadores e reguladores de respostas imunes e inflamatórias (KELLY, 2001; PLAYFAIR E LYDYARD, 1999). Dentre todas essas diversas adipocinas relacionadas com processos inflamatórios, situam-se, interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), leptina e adiponectina.

## **2.2 SÍNDROME METABÓLICA E REMODELAÇÃO CARDÍACA**

### **2.2.1 Síndrome metabólica**

Conforme a 1ª Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (SM), (2005), a referida patologia é um transtorno complexo representado por um conjunto de fatores de risco cardiovascular, usualmente relacionados à deposição central de gordura e à resistência à insulina, devendo ser destacada a sua importância do ponto de vista epidemiológico, responsável pelo aumento da mortalidade cardiovascular estimada em 2,5 vezes.

### **2.2.2 Remodelação Cardíaca**

Em resposta a um determinado acometimento ou sobrecarga crônica, o músculo cardíaco pode apresentar diversas alterações adaptativas, visando à manutenção de suas funções primordiais básicas. Essas modificações constituem um conjunto de alterações genéticas, neuro-humorais, variações moleculares, celulares e intersticiais, que se manifestam clinicamente através de alterações de tamanho, massa, geometria e função do coração (LORELL, CARABELLO, 2000; CICOGNA, OKOSHI, OKOSHI, 2000; SWYNGHEDAUWN, 1999; COHN, FERRARI, SHARPE, 2000; JESSUP, 2007; REMME, 2003; OLIVETTI et al., 2008; GONÇALVES et al., 2005)

O objetivo primário da remodelação é manter estável o desempenho contrátil cardíaco, frente a determinadas injúrias, como isquemia, hipertensão arterial, insuficiência mitral ou aórtica, miocardites, infarto agudo do miocárdio, ou expressão de um programa genético que pode levar à miocardiopatia (SWYNGHEDAUW, 1999; SELVETELLA et al., 2004; OPIE et al., 2006). A remodelação pode ser fisiológica ou adaptativa, comum ao processo de desenvolvimento humano normal, e também vista em atletas (SUTTON, 2000; COHN, FERRARI, SHARPE, 2000). No entanto, o termo remodelação cardíaca é, em geral, usado para descrever alterações patológicas comuns a múltiplas agressões ao coração. Em decorrência dessas agressões, começam a ocorrer modificações a níveis moleculares e celulares, entre elas, hipertrofia do miócito,

necrose, apoptose, proliferação e fibrose intersticial, degeneração desarranjo das fibras de colágeno entre si. (MATSUBARA et al., 1997; OKOSHI et al., 1997; WEBER, SUN, GUNTAKA, 1999; WEBER 2001; BALDI et al., 2002; BERK, FUJIWARA, LEHOUX, 2007).

## **2.3 MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE**

Em geral, dietas hipercalóricas e hiperlipídicas são utilizadas em estudos experimentais de obesidade, objetivando-se mimetizar efeitos orgânicos associados à obesidade humana (DU TOIT, NABBEN, LOCHNER, 2005; BOUSTANY et al., 2005; CARROLL, ZENEBE, STRANGE, 2006; OKERE et al. 2006). Os lipídeos constituem os macronutrientes de maior densidade energética, com aproximadamente 9 Kcal/g, enquanto que os carboidratos e as proteínas apresentam 4 Kcal/g( SCHRAUWEN, WESTERTERP, 2000). Além do alto teor energético, as dietas hiperlipídicas são caracterizadas por suas propriedades sensoriais que propiciam maior palatabilidade e consequente aumento da ingestão alimentar (MILLER et al., 1990; PREWITT et al., 1991; KLESGES, ISBELL, KLESGES, 1992; VERBOEKER-VAN DE VENNE et al., 1996; BLUNDELL et al., 1993; WESTERTERP et al., 1996). Lissner & Heitmann (1995), por meio de dados epidemiológicos, reportaram correlação positiva entre ingestão de altos níveis lipídicos e incidência de obesidade humana. O metabolismo lipídico é menos dispendioso energeticamente para o organismo do que o processamento de outros macronutrientes da dieta (BLAACK et al., 1994 apud SCHRAUWEN, WESTERTERP, 2000).

Dentre a avaliação do consumo alimentar, a frequência de adultos que referiram o consumo de carnes com excesso de gordura foi de 53,2% em Campo Grande, a cidade que mais ingere carne vermelha entre os homens. Entre as mulheres, ficou apenas atrás de Goiânia com 33% (VIGITTEL, 2013).

### **2.3.1 Ácidos Graxos Saturados**

Os ácidos graxos (AG) são classificados pelo comprimento da cadeia de carbono, por número de duplas ligações na cadeia de carbono e pela

configuração das duplas ligações. Essas características químicas, associadas à quantidade de gordura ingerida na alimentação, são determinantes do efeito da ingestão dos AG na concentração plasmática de colesterol e sua distribuição nas lipoproteínas (SANTOS et al.,2013).

Considerando-se a dimensão molecular, os AG saturados podem ser divididos em dois grupos, os de cadeia média e os de cadeia longa. De acordo com Santos et al.,(2013), os principais AG saturados de cadeia longa são: mirístico, encontrado no leite e seus derivados; palmítico, cujas principais fontes são a gordura animal e o óleo de palma; esteárico, presente na gordura do cacau. Encontrado com maior frequência na alimentação humana, o ácido palmítico é um exemplo de AG saturados de cadeia longa.

Conforme Santos et al., (2013), os AG são encontrados no estado sólido à temperatura ambiente e após a absorção, são esterificados e transformados em triglicérides. Logo após, são transportados pelo sistema linfático até a corrente sanguínea. Os triglicérides são hidrolisados, liberando os ácidos graxos para os tecidos, onde formam-se novamente os triglicérides. Após processo de reesterificação, forma-se o armazenamento da gordura no organismo.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

O propósito geral deste trabalho foi avaliar a influência de uma dieta hipercalórica e hiperlipídica sobre atributos nutricionais, metabólicos e cardiovasculares em roedores.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- 1) Avaliar a influência da dieta sobre o perfil nutricional e biométrico;
- 2) Descrever a influência da dieta sobre o comportamento metabólico, partindo-se de análises bioquímicas de glicemia, colesterolemia e lipidemia;
- 3) Verificar a influência da dieta sobre características morfológicas do miocárdio, pautando-se em análises morfológicas macroscópicas e microscópicas.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Animais e protocolo de experimentação

Para o desenvolvimento do estudo, foi estabelecida uma parceria interinstitucional celebrada entre UFMS e Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (FMB/ UNESP), pelo Acordo de Cooperação nº 029/2014-UFMS, processo nº 23104.006318/2012-83, publicado no Diário Oficial da União em 10 de Abril de 2014 (**Anexo 1**). Por conseguinte, o presente trabalho foi desenvolvido nas dependências do Laboratório Experimental de Clínica Médica, da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (FMB/ UNESP).

Para tanto, foram utilizados 16 ratos (*Rattus Norvergicus*), da linhagem *Wistar*, machos, com 30 dias de idade. Os animais foram randomicamente distribuídos em dois grupos: Controle (C) e Obeso (OB). O grupo C foi tratado com dieta normocalórica (2,93 kcal/g), enquanto que os animais do grupo OB receberam dieta hiperlipídica e hipercalórica (3,64 kcal/g) (CAMPOS, 2014). O período experimental perdurou por 20 semanas. Os animais foram mantidos nas seguintes condições: gaiolas individuais, sob temperatura ambiente de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade de  $55\pm 5\%$  e ciclos de iluminação claro/escuro de 12 horas e água sob livre acesso.

Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com o *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, publicado pelo “U. S. National Institutes of Health” (CCULA, 1985). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, sob o protocolo número 420/ 2012, processo 23104.002468/2012-18.

### 4.2 Composição das dietas

As dietas experimentais foram concebidas com finalidade de apresentar diferença nos níveis de lipídeos e equilíbrio na composição proteica, hidratos de carbono, vitaminas e minerais. Como ingredientes foram utilizados: farelo e casca de soja, milho, dextrina, óleos de palma e de soja, acrescidos de suplementação

vitamínica e mineral.

Com esta formulação, pretendeu-se garantir que as alterações resultantes do tratamento dietético nos ratos obesos fossem derivadas apenas de diferenças na quantidade de lipídeos presentes nas intervenções, especialmente ácidos graxos saturados (CAMPOS, 2014). Achados prévios mostraram que, em relação a outros macronutrientes, o aporte de ácidos graxos saturados é majoritariamente responsável pelos efeitos metabólicos e cardiovasculares na obesidade (OLIVEIRA JUNIOR et al. 2013). Considerando-se a densidade energética, as formulações normocalórica e hipercalórica portavam 2,93 e 3,64 kcal/g, respectivamente (CAMPOS, 2014).

### **4.3 Caracterização nutricional e biométrica**

A caracterização nutricional envolveu ingestão alimentar, ingestão calórica e eficiência energética. A ingestão alimentar diária foi avaliada uma vez por semana; por sua vez, a ingestão calórica foi calculada pela seguinte fórmula: ingestão alimentar semanal multiplicada pelo valor calórico da dieta (OLIVEIRA JR et al., 2014).

Com a finalidade de analisar a capacidade de conversão da energia alimentar consumida em massa corporal, foi considerada a eficiência alimentar (EA), obtida a partir da relação entre variação ponderal total (g) e energia total ingerida (kcal) pelos animais (LIMA–LEOPOLDO et al. 2008; OLIVEIRA JUNIOR et al. 2009; OLIVEIRA JUNIOR et al. 2010a; OLIVEIRA JUNIOR et al. 2010b; LIMA-LEOPOLDO et al. 2011).

A caracterização biométrica envolveu massa corporal e adiposidade. A massa corporal foi mensurada semanalmente, utilizando-se uma balança digital. Para a obtenção das informações sobre a adiposidade, foi mensurada a gordura procedente das regiões retroperitoneal, epididimal e visceral obtidos após a eutanásia (LIMA –LEOPOLDO et al. 2008; OLIVEIRA JUNIOR et al. 2009; OLIVEIRA JUNIOR et al. 2010; OLIVEIRA JUNIOR et al. 2010; LIMA-LEOPOLDO et al. 2011). Para estimação da adiposidade corporal, considerou-se a relação entre a massa adiposa (AD) dos depósitos segmentares e a massa corporal final:  $\Sigma AD \times 100 / (MC - \Sigma AD)$  (DOBRIAN et al., 2000; BOUSTANY et al., 2004).

## **4.4 Análises da tolerância glicêmica e do perfil bioquímico**

### **4.4.1 Teste de tolerância à glicose**

Para análise da tolerância glicêmica, os animais foram submetidos a jejum por 12 horas e amostras sanguíneas provenientes da artéria caudal foram utilizadas para a mensuração glicêmica. Em seguida, foi realizada a administração intraperitoneal de glicose a 20% (Glicose Monohidratada, Merck, São Paulo, Brasil), em dosagem equivalente a 2 g/kg (AKYOL, 2011). Os níveis glicêmicos foram então avaliados no decorrer de 30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos OLIVEIRA JUNIOR et al. 2009; OLIVEIRA JUNIOR et al. 2010; LIMA-LEOPOLDO et al. 2011; OLIVEIRA-JUNIOR et al. 2014). Para tanto, utilizou-se do glicosímetro ACCU-CHEK GO KIT (Roche Diagnostic Brazil Ltda, SP, Brazil).

### **4.4.2 Perfil bioquímico sérico**

Dois dias após os procedimentos para análise *in vivo*, os animais foram mantidos em jejum por um período de 12 a 15 horas, submetidos à anestesia intraperitoneal com pentobarbital sódico (50 mg/kg) e eutanasiados por decapitação. Amostras sanguíneas foram coletadas, centrifugadas (3000 rpm) e armazenadas para posterior análise. Posteriormente, foi realizada toracotomia mediana, destinada à remoção do coração, pulmões e fragmentos hepáticos, para análise da morfologia e determinação da umidade. Por meio de laparotomia, foram excisados os tecidos adiposos brancos dos compartimentos anatômicos retroperitoneal, epididimal e visceral, os quais foram submetidos à pesagem para a análise da adiposidade, conforme descrito em seção prévia.

Para determinação do perfil bioquímico, foram avaliadas as concentrações séricas de glicose, triglicérides, colesterol total, HDL, LDL, albumina e proteína total, por método enzimático com kits específicos OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2014; CAMPOS, 2014).

## **4.5 Avaliação da pressão arterial sistólica**

A aferição da pressão arterial sistólica foi executada ao final do período experimental, por meio de pletismografia (PFEFFER, PFEFFER, FROHLICH, 1971), utilizando-se um esfigmomanômetro com especificações Narco Bio-System®, modelo 709-0610 (International Biomedical, Inc., USA). Como conduta prévia, os animais eram submetidos a aquecimento sob temperatura de aproximadamente 40°C, durante cinco minutos, com o objetivo de se promover vasodilatação periférica. Posteriormente, o manguito foi ajustado ao redor da cauda e conectado a um polígrafo (Gould, modelo RS 3200), no qual eram realizados os registros de pressão arterial sistólica.

## **4.6 Caracterização da morfologia macro e microscópica do coração**

### **4.6.1 Análise morfológica macroscópica**

Para avaliar a morfologia macroscópica, após a remoção e dissecação do coração na eutanásia, foram mensuradas as massas de átrios (MA) e dos ventrículos direito (MVD) esquerdo (MVE), em valores absolutos. Para descrição da morfologia macroscópica, foram também consideradas as respectivas relações dessas variáveis com a massa corporal final (MCF) e comprimento da tíbia.

### **4.6.2 Análise morfológica microscópica**

Para a análise da morfologia microscópica, foram confeccionadas lâminas de microscopia óptica. Fragmentos do ventrículo esquerdo foram retirados e imersos em solução tamponada de formol 10%. Após 48 horas, as amostras foram mantidas em água corrente e imersas em solução de etanol a 70%. Após inclusão em blocos de parafina, foram obtidas secções com 7 µm de espessura, as quais foram coletadas em lâminas histológicas e submetidas à coloração com hematoxilina e eosina (HE) e picrossirius red (PR). Os cortes corados com HE foram utilizados para análise morfométrica da área seccional transversa de 50-100 cardiomiócitos por animal (OLIVEIRA JR et al. 2009 e OLIVEIRA JUNIOR, 2010). As lâminas coradas por PR foram utilizadas para a

quantificação da fração de colágeno intersticial. A análise morfométrica foi realizada nas dependências do Laboratório de Microscopia Óptica, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Para tanto, foi utilizado um microscópio LEICA DM LS, acoplado à câmara de vídeo que envia imagens digitais a um computador dotado de programa de análise de imagens.

#### **4.7 Análise estatística**

Para a análise estatística, foi utilizado o programa Sigma Stat, versão 3.5. Para análise da distribuição dos dados, considerou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov. Os resultados paramétricos são expressos por meio de média e desvio-padrão e foram analisados com emprego do teste t de Student. Os achados não paramétricos são apresentados por mediana e intervalo interquartilico e foram analisados por meio do teste de Mann-Whitney. Todas as conclusões estatísticas foram discutidas ao nível de significância de 5%.

## 5. RESULTADOS

Na presente seção, são apresentados os resultados descritores do comportamento nutricional e biométrico dos dois grupos experimentais, constituídos segundo o tipo de dieta. Apesar de exibir ingestão alimentar inferior e consumo calórico inalterado em relação ao grupo C, o grupo obeso mostrou maiores medidas de eficiência energética, massa corporal, variação ponderal e adiposidade, segmentar e total (Tabela 1).

Tabela 1. Medidas descritivas do comportamento nutricional e biométrico, segundo o grupo

Variáveis	Grupo		p-valor
	C	OB	
<b>Ingestão Alimentar (g)</b>	28,8 ± 3,0	22,6 ± 1,8 *	0,0002
<b>Ingestão Calórica (kcal)</b>	84,3 ± 8,6	82,2 ± 6,7	0,5864
<b>Efic. Energética (kcal/g)</b>	0,0298 ± 0,0026	0,0364 ± 0,0034 *	0,0007
<b>Massa Corporal (g)</b>	506 ± 59	575 ± 60 *	0,0369
<b>Variação Ponderal (%)</b>	230 ± 35	269 ± 36 *	0,0415
<b>Ad. Epididimal (%)</b>	1,80 ± 0,70	2,84 ± 0,67 *	0,0088
<b>Ad. Retroperitoneal</b>	1,70 ± 0,57	3,72 ± 1,21 *	0,0007
<b>Ad. Visceral (%)</b>	1,37 ± 0,48	2,40 ± 0,80 *	0,0077
<b>Adiposidade</b>	4,89 ± 1,26	8,18 ± 1,47 *	0,0003

Valores em média ± desvio-padrão; C: animais sob dieta normocalórica; OB: animais obesos sob dieta hipercalórica; Ad.: adiposidade; \*p<0,05 vs. C; Teste t de Student.

No contexto metabólico, na Tabela 2, pode-se constatar que o grupo OB apresentou maiores níveis séricos de glicose (p<0,05), embora a tolerância glicêmica tenha se mantido inalterada em relação ao grupo C. Não foram verificadas modificações significativas de lipidemia, proteína e albumina, entre os grupos C e OB.

Tabela 2. Tolerância glicêmica e perfil bioquímico sérico, segundo o grupo

Variáveis	Grupo		p-valor
	C	OB	
<b>Colesterol (mg/dl)</b>	67,8 ± 7,5	72,6 ± 14,3	0,4138
<b>HDL (mg/dl)</b>	22,5 ± 2,7	22,1 ± 3,0	0,7639
<b>LDL (mg/dl)</b>	31,4 ± 4,6	34,8 ± 9,4	0,3774
<b>VLDL (mg/dl)</b>	13,9 ± 2,4	15,8 ± 3,2	0,1991
<b>Proteína (mg/dl)</b>	5,74 ± 0,32	5,75 ± 0,18	0,9700
<b>Albumina (mg/dl)</b>	3,23 ± 0,18	3,25 ± 0,07	0,8147
<b>Glicemia (mg/dl)</b>	87,8 ± 6,4	97,0 ± 10,2 *	0,0480
<b>Tolerância glicêmica (ASC)</b>	27699 ± 3109	29366 ± 6123	0,5036

Valores em média ± desvio-padrão; C: animais sob dieta normocalórica; OB: animais obesos sob dieta hipercalórica; HDL: lipoproteínas de alta densidade; LDL: lipoproteínas de baixa densidade; VLDL: lipoproteínas de muito baixa densidade; ASC: área sob a curva de tolerância glicêmica; \*p<0,05 vs. C; Teste t de Student.

No aspecto cardiovascular, a pressão arterial sistólica não foi afetada pela obesidade induzida por dieta. Por sua vez, embora os grupos tenham mostrado valores similares de morfologia macroscópica, o grupo OB apresentou maiores medidas de área seccional transversa dos cardiomiócitos e fração intersticial de colágeno, em comparação com o grupo C (Tabela 3).

Tabela 3. Medidas descritivas da pressão arterial sistólica e estimadores morfologia macro e microscópica do coração

Variáveis	Grupo		p-valor
	C	OB	
<b>PAS (mg/dl)</b>	114,5 ± 7,1	117,6 ± 19,0	0,6687
<b>MA (mg)</b>	119 ± 35	145 ± 30	0,1327
<b>MVD (mg)</b>	300 ± 41	303 ± 52	0,9295
<b>MVE (mg)</b>	796 ± 94	805 ± 82	0,8351
<b>MA/MC (mg/g)</b>	0,245 ± 0,074	0,263 ± 0,048	0,5610
<b>MVD/MC (mg/g)</b>	0,619 ± 0,101	0,546 ± 0,059	0,1013
<b>MVE/MC (mg/g)</b>	1,64 ± 0,22	1,46 ± 0,11	0,0638
<b>ASC (µm<sup>2</sup>)</b>	94,9 ± 6,5	103,1 ± 3,2 *	0,0190
<b>FIC (%)</b>	2,20 ± 1,08	4,33 ± 2,58 *	0,0486

Valores em média ± desvio-padrão; C: animais sob dieta normocalórica; OB: animais obesos sob dieta hipercalórica; PAS, pressão arterial sistólica; MA, massa de átrios; MVD, massa de ventrículo direito; MVE, massa de ventrículo esquerdo; MA/MC, relação entre MA e massa corporal final; MVD/MC, relação entre massa de ventrículo direito e massa corporal final; MVE/MC, relação entre MVE e massa corporal final; ASC, área seccional transversa dos cardiomiócitos; FIC, fração intersticial de colágeno; \*p<0,05 vs. C; Teste t de Student.

## 6. DISCUSSÃO

Segundo a hipótese inicial desse trabalho, a dieta hiperlipídica saturada está associada com a manifestação de obesidade, distúrbios metabólicos e ocorrência de remodelação cardíaca em roedores. Os resultados confirmaram, em grande parte, tal hipótese, levando-se em conta que a ocorrência de obesidade foi acompanhada de hiperglicemia e indicadores morfométricos de remodelação cardíaca. No entanto, tolerância glicêmica e morfologia macroscópica do coração mostraram-se inalterados pela dieta.

Em consideração aos efeitos da dieta sobre o comportamento nutricional e biométrico, os resultados evidenciaram que, apesar do consumo calórico inalterado entre os grupos, o grupo obeso exibiu maiores medidas de eficiência energética. Por conseguinte, os índices de massa corporal foram mais elevados no grupo OB. Dados semelhantes foram encontrados em estudos recentes de Nascimento et al. (2011), White et al.(2013), Oliveira-Junior et al. (2013) e Oliveira-Junior et al (2014). O aumento de massa corporal foi resultante, provavelmente, do desenvolvimento da adiposidade. O grupo OB apresentou maiores valores de gordura segmentar e total em comparação ao grupo C, subsidiando, assim, o quadro de obesidade, o qual está em conformidade com estudos prévios (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2010, LIMA- LEOPOLDO et al., 2013, OLIVEIRA JUNIOR et al. 2013, OLIVEIRA JUNIOR et al. 2014). Em particular, resultados semelhantes também foram encontrados em estudos recentes de Nascimento et al. (2011), Oliveira Junior et. al (2013) e Oliveira Junior et. al (2014); nessas investigações, embora os grupos OB tivessem ingerido menor quantidade de ração, o maior ganho ponderal parece ter ocorrido por conta do aumento de ingestão calórica e da maior eficiência da alimentação, demonstrada pela maior saciedade em decorrência da ingestão de lipídeos.

No aspecto metabólico, houve alteração dos níveis de glicose de jejum. A elevada concentração sérica de glicose, provavelmente, ocorreu devido à sobrecarga de ácidos graxos saturados na dieta, levando à estimulação e aumento do tecido adiposo (HALADE, JIN , LYNDSEY, 2012); (GERMAN e DILLARD, 2004); (KOOPMANS et al. 2011) e (LIMA- LEOPONDO et al., 2013). A

hipertrofia do tecido adiposo mostra-se associada com a produção de citocinas inflamatórias, que podem desencadear mecanismos de hiperglicemia, resistência à insulina, hipertensão, aterosclerose remodelação cardíaca (ENGELI et al. 2003; GOVINDARAJAN, ALPERT, TEJWANI, 2008; KOOPMANS et al. 2011; WHITE et al. 2013).

Intrigantemente, apesar da glicemia alterada, os achados de tolerância glicêmica não foram modificados pela dieta. Esse resultado controverso pode estar associado com o estresse decorrente do período de jejum utilizado como procedimento no presente trabalho. Em estudo realizado por Rowland (2007), observa-se que a restrição ou privação de alimentos e líquidos ocorreu no passado evolutivo de todas as espécies terrestres existentes. Segundo o autor, os animais são, portanto, fisiologicamente bem preparados para lidar com essas privações. Sendo assim, após períodos de 12 a 24 horas, sem acesso à comida, é esperado que os animais reduzissem eficientemente eventuais perdas de fluídos e de energia, por uma combinação de ajustes comportamentais e fisiológicos ao estresse, decorrente do período de jejum. Estes ajustes se dariam para minimizar os efeitos fisiológicos ou psicológicos dos animais, alterando, porém, outras funções orgânicas. Conforme Kasanen et al. (2009), quando expostos a condições adversas, como isolamento ou perturbações de ritmo alimentar, os animais podem ser levados a um quadro de restrição dietética, comumente observado na alimentação intermitente. Não obstante, cabe ressaltar que o período de jejum utilizado no presente estudo constituiu-se como procedimento metodológico em diversos outros trabalhos previamente realizados por nosso grupo de pesquisa (OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2009, 2011-2014).

Analisando-se o aspecto cardiovascular, a pressão arterial sistólica não foi afetada pela obesidade induzida por dieta. Em estudo recente, Da Silva et al. (2013), observaram que embora o aumento do tecido adiposo tenha levado a alterações metabólicas e hormonais, a obesidade não resultou em aumento na pressão arterial após 15 e 30 semanas, mantendo-se estável durante os dois períodos de estudo. Em contrapartida, Oliveira Junior et. al. (2013), mostraram que a pressão arterial sistólica foi afetada pela progressão do protocolo experimental no grupo exposto à dieta hiperlipídica, embora os níveis de pressão arterial final permanecessem inalterados. Em estudos anteriores, as intervenções

hiperlipídicas foram associadas com maior adiposidade e hipertrofia cardíaca; CONTRERAS, 1989; ZHANG et al., 1994; SEDOVÁ et al., 2004).

As pesquisas de Contreras (1989), exibiram diminuição dos níveis pressóricos, enquanto outros trabalhos revelaram sua elevação. (ZHANG et al. 1994; SEDOVÁ et al., 2004; DA SILVA et al., 2013; OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2009).

Outros estudos, entretanto, verificaram alterações dos níveis glicêmicos, Sato et al. (1995), Pausova et al., (2003) e lipidêmicos, Pausova et al.,(2003), com elevação ou manutenção da pressão arterial sistólica. (PAUSOVA et al.,2003)

Portanto, evidencia-se que a pressão arterial sistólica pode ser estimulada por inúmeros fatores, tornando-se dependente de diferentes relações entre variáveis utilizadas em distintos protocolos experimentais. A citar como exemplos, o tipo da dieta utilizada no estudo, o tempo de exposição dos roedores à mesma, idade, ou ainda a linhagem dos roedores utilizados nos diferentes estudos.

Considerando-se as análises do coração, sob a perspectiva morfológica macroscópica, as mensurações dos átrios, massa dos ventrículos, esquerdo e direito e relação dessas variáveis com a massa corporal final não foram afetadas pela dieta. Tais achados sugerem que, sendo a remodelação cardíaca um processo de adaptação e defesa do músculo cardíaco frente a longos períodos de exposição à obesidade, estas alterações adaptativas podem não ter se completado em toda sua complexidade. De acordo com Lima-Leopoldo et al. (2014), apenas após 15 semanas, a sobrecarga de ácidos graxos representa uma agressão ao coração (obesidade), que então se remodela para normalizar as alterações cardíacas moleculares e celulares até a 30ª semana. Isso pode explicar o não aparecimento de alterações morfológicas macroscópicas significativas no presente estudo. Estudos anteriores não notificaram alterações morfológicas em intervalos de 10 a 16 semanas (LIMA-LEOPOLDO et al. 2011; VELKOSKA et al., 2010; CARROLL, TENEBE, STRANGE, 2006; RICCI, LEVIN 2003).

Por outro lado, os resultados revelaram uma disparidade entre as análises macro e microscópicas. Dentre os fatores que podem interferir nos resultados das análises morfológicas em roedores, inclui-se a utilização de

diferentes linhagens, idades distintas, ou mesmo a utilização de intervenções dietéticas variadas. A variação do tempo de exposição às dietas mostra-se, também, como um fator a ser levado em conta. Enquanto Pinheiro et al. (2007) verificaram hipertrofia cardíaca com 24 semanas, outros autores não confirmaram estes achados com 30, 35 e 45 semanas, respectivamente. (BRUDER-NASCIMENTO et al. 2011; PAULINO et al. 2010; NASCIMENTO et al.2011). Oliveira-Junior et. al. (2013), verificaram, mediante correlação canônica, um grande potencial para alterações morfológicas cardíacas provocadas pelos ácidos graxos saturados.

Ainda sob o aspecto cardiovascular, as variáveis analisadas pela microscopia ótica foram área seccional transversa dos cardiomiócitos e fração intersticial de colágeno. Ambas apresentaram valores mais elevados no grupo OB em comparação com o grupo C, sustentando ocorrência de remodelação cardíaca no presente modelo experimental de obesidade. Resultados semelhantes foram encontrados em publicações recentes de DA SILVA et al. (2013) e OLIVEIRA JUNIOR et al., (2014). De fato, os ácidos graxos saturados são os principais combustíveis metabólicos para o coração e, antagonicamente, o acúmulo de lipídios em excesso pode estimular a sobrecarga mitocondrial e ativar mecanismos moleculares de remodelação cardíaca (OUWENS et al. 2005); (OUWENS et al. 2007), (OLIVEIRA- JUNIOR et al. 2013) e (OLIVEIRA-JUNIOR et al. 2014).

Pesquisas semelhantes confirmam as alterações no tamanho da área seccional dos cardiomiócitos como suporte para o processo remodelação cardíaca e são apresentadas em estudos de Oliveira Junior et al. (2009), Oliveira Junior et al., (2010), da Silva et al., (2013) e Oliveira Junior et al., (2014), confirmando então, quadro de hipertrofia miocárdica. Oliveira Junior et al. (2009), constatou que o tratamento com a dieta hiperlipídica, acompanhada por aporte de sacarose, ampliou, em aproximadamente 50%, a remodelação intersticial, além de provocar distúrbios funcionais cardíacos, em comparação com o grupo controle. Tanto o aumento dos cardiomiócitos como a remodelação intersticial resultam de desequilíbrio entre agentes moleculares estimulantes e inibidores da proliferação celular (KOOPMANS et al. 2011). Os fatores estimulantes abrangem moléculas bioativas e incluem componentes do sistema renina-angiotensina,

endotelinas, catecolaminas e citocinas (TAPPIA et al. 2011; KOOPMANS et al. 2011). De certo modo, esses fatores, associados ou não, podem ter contribuído para a remodelação intersticial adicional decorrente da obesidade induzida por dieta (FÖLDES et al.,2006).

Finalmente, a relação da dieta e o desenvolvimento de obesidade, complicações metabólicas e remodelação cardíaca, se deu por meio de criterioso protocolo experimental. Entretanto, destaca-se a necessidade de que se testem novas alternativas. Primeiramente, podem ser utilizados períodos experimentais longos, visando o desenvolvimento completo da ação da dieta sobre o organismo dos roedores; outra alternativa, pode ser a administração das dietas de forma intervalada, visando avaliar seus efeitos após períodos de interrupção. Sugere-se também, a alteração de componentes da dieta, a fim de observar diferenças em seus resultados. Contudo destaca-se a relevância da presente pesquisa, ao analisar-se um modelo experimental de dieta que reproduza os efeitos negativos de uma alimentação rica em ácidos graxos e suas consequências ao organismo estudado.

## **7. CONCLUSÃO**

Com base nos achados obtidos neste trabalho, tem-se que dieta hiperlipídica com aporte majoritário de ácidos graxos saturados culminou na instalação de obesidade, representadas pelas maiores medidas de eficiência energética, massa corporal, variação ponderal e adiposidade. No contexto metabólico, ocorreram distúrbios dos metabolismos glicêmico e lipídico, representados por elevados níveis séricos de glicose; No aspecto cardiovascular, ocorreu a remodelação cardíaca, suportada pelas análises de morfologia microscópica, onde apresentaram-se maiores medidas área seccional transversa dos cardiomiócitos e fração intersticial de colágeno dos roedores estudados.

## REFERÊNCIAS

ABETE I. *et al.* Obesity and the metabolic syndrome: role of different dietary macronutrient distribution patterns and specific nutritional components on weight loss and maintenance. **Rev Nutr.** v. 68: p. 214–231, 2010.

AKYOL, A.; MCMULLEN, S.; LANGLEY-EVANS, S. C. Glucose intolerance associated with early-life exposure to maternal cafeteria feeding is dependent upon post-weaning diet. **Brit J Nutr.** v.24, n.1. p11-15, 2011.

ALPERT, M. A. Obesity cardiomyopathy: pathophysiology and evolution of the clinical syndrome. **Am J Med Sci.** v. 321, n.4, p 225-236, 2001.

BALDI, A.; ABBATE, A.; BUSSANI, R.; PATTI, G.; MELFI, R.; ANGELINI, A. Apoptosis and post-infarction left ventricular remodeling. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, v. 34, p. 165-174, 2002.

BARNEA, M.; SHAMAY, A.; STARK, A.H.; MADAR, Z. A high-fat diet has a tissue-specific effect on adiponectin and related enzyme expression. **Obesity.** v.14, n.12, p.2145-53, 2006.

BERK, B. C.; FUJIWARA, K.; LEHOUX, S. ECM remodeling in hypertensive heart disease. **J. Clin. Invest.**, v. 117, n. 3, p. 568-575, 2007.

BLUNDELL, J. E.; BURLEY, V.J.; COTTON, J. R.; LAWTON, C. L. Dietary fat and the control of energy intake: evaluating the effects of fat on meal size and postmeal satiety. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 57, n. 5, p. 772-778, 1993.

BOUSTANY, C.; BHARADWAJ, K.; DAUGHERTY, A.; BROWN, D.; RANDALL, D.; CASSIS, L. Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** v.287, n.4, p.943-949, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Obesidade. Brasília, 2006. 108p. (Caderno de Atenção Básica, 12).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção de Saúde. Vigitel Brasil 2012: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças

crônicas por inquérito telefônico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção de Saúde. – Brasília : Ministério da Saúde, 2013.136 p.: il. <http://www.brasil.gov.br/saude/2013/08/obesidade-atinge-mais-da-metade-da-populaca-brasileira-aponta-estudo>.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigitel Brasil 2013: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 120p.: il.

BOUSTANY, C. .M.; BROWN, D. R.; RANDALL, D. C.; CASSIS, L. A. AT1-receptor antagonism reverses the blood pressure elevation associated with diet-induced obesity. **Am. J. Physiol.** Regul. Integr. Comp. Physiol. v. 289, n.1, p. 181-186, 2005.

BRUDER-NASCIMENTO, T.; BAPTISTA, R. F. F.; PEREIRA, P. C.; CAMPOS, D. H. S.; LEOPOLDO, A, S.; LIMA-LEOPOLDO, A. P, et al. Vascular alterations in high-fat diet-obese rats: role of endothelial Larginine/NO pathway. **Arq Bras Cardiol.** v.97, n.1, p.40-45, 2011.

BUETTNER, R.; PARHOFER, K. G.; WOENCKHAUS, M.; WREDE, C. E.; KUNZ-SCHUGHART, L. A.; SCHOÖLMERICH, J, et al. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. **J Mol Endocrinol.** v.36, p.485-501, 2006.

BUETTNER, R.; SCHÖLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L. C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity.** v. 15, n.4, p.798-808, 2007.

CAMPOS, D. H. S, et al. A Obesidade Preserva a Função do Miocárdio Durante o Bloqueio da Via Glicolítica. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo , v. 103, n. 4, Oct. 2014. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2014002200009&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2014002200009&lng=en&nrm=iso) . Acesso em 21 de Agosto de 2014.

CARROLL, J. F.; ZENEBE, W. J.; STRANGE, T. B. Cardiovascular function in a rat model of dietinducedobesity. **Hypertension.** v.48, n.1, p.65-72, 2006.

CICOGNA, A. C.; OKOSHI, M. P.; OKOSHI, K. História natural da remodelação miocárdica: da agressão aos sintomas. **Rev. Soc. Cardiol.** Est. São Paulo, v. 1,

p. 8-16, 2000.

COHN, J. N.; FERRARI, R.; SHARPE N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 35, p. 569-582, 2000.

CONGRESSO DA SOCIEDADE DE CARDIOLOGIA DO ESTADO DE SÃO PAULO. 33, 2012, São Paulo. Análise canônica da associação entre índices de macronutrientes ingeridos e estimadores cardiovasculares em ratos sob dieta hipercalórica. São Paulo: **Rev Soc Cardiol**, 2012.

CONTRERAS, R. J.; KING, S. High fat/sucrose feeding attenuates the hypertension of spontaneously hypertensive rats. **Physiol Behav.** v.46, n.2, p.285-291, 1989.

CHESS, D. J.; KHAIRALLAH, R. J.; O'SHEA, K. M.; XU, W.; STANLEY, W. C. A high-fat diet increases adiposity but maintains mitochondrial oxidative enzymes without affecting development of heart failure with pressure overload. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** v.297, n.5, p. 1585-93, 2009.

DOBRIAN, A. D.; DAVIES, M. J.; PREWITT, R. L.; LAUTERIO, T. J. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. **Hypertension.** v.35, p.1009-15, 2000.

DU TOIT, E. F.; NABBEN, M.; LOCHNER, A. A potential role for angiotensin II in obesity induced cardiac hypertrophy and ischaemic/reperfusion injury. **Basic Res Cardiol.**v.100, n.4, p.346-54, 2005.

ENGELI, S.; SCHLING, P.; GORZELNIAK, K.; BOSCHMANN, M.; JANKE, E.; AILHAUD, G, et al. The adipose-tissue renin-angiotensin-aldosterone system: role in the metabolic syndrome?. **Int J Biochem Cell Biol.**v.35, n.6, p.807-825, 2003.

FERREIRA, V. A.; MAGALHÃES, R. Obesidade no Brasil: tendências atuais. **Rev. Port. Saúde Públ.**, Lisboa, v. 24, n. 2, p. 71-81, 2006.

FÖLDES, G.; VAJDA, S.; LAKÓ-FUTÓ, Z.; SÁRMÁN, B.; SKOUMA, R.; ILVES, M.; DE CHÂTEL, R.; KARÁDI, I.; TÓTH M, RUSKOAHO, H.; et al. Distinct modulation of angiotensin II-induced early left ventricular hypertrophic gene programming by dietary fat type. **J Lipid Res.** v.47, n.6, p.1219-26, 2006.

FRALOUB, J. C.; OGG-DIAMANTINO, R.; FERNANDES-SANTOS, C.; AGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. A mouse model of metabolic syndrome: insulin resistance, fatty liver and non-alcoholic fatty pancreas disease (NAFPD) in c57bl/6 mice fed a high fat diet. **J Clin Biochem Nutr.** v.46, n.3, p.1-12, 2010.

GERMAN, J B.; DILLARD, C.J: Saturated fats: what dietary intake? **Am J Clin Nutr.** v.80, n.3, p. 550-559, 2004.

GIRARD, A.; MADANI, S.; BOUSTANI, E. S. E.; BELLEVILLE, J.; PROST, J. Changes in lipid metabolism and antioxidant defense status in spontaneously hypertensive rats and Wistar rats fed a diet enriched with fructose and saturated fatty acids. **Nutr.**v.21, p.240-8, 2005.

GONÇALVES, G.; ZORNOFF, L. A. M.; RIBEIRO, H. B.; OKOSHI, M. P.; CORDARO, F. R. S.; OKOSHI, K, *et al.* O bloqueio do sistema renina-angiotensina atenua a remodelação cardíaca de ratos submetidos a estenose aórtica. **Arq Bras Cardiol.** v.84, p.304-8, 2005.

GOVINDARAJAN, G.; ALPERT, M.; TEJWANI, L. Endocrine and metabolic effects of fat: Cardiovascular implications. **Am J Med.** v.121, n.5, p.366-370, 2008.

HALADE, G. V.; JIN, Y. F.; LINDSEY, M. L. Roles of saturated vs. polyunsaturated fat in heart failure survival: not all fats are created equal. **Cardiovasc Res.** v.93, n.1, p.4-5, 2012.

HALPERN, Z.S.C.; RODRIGUES, M.D.B.; DA COSTA, R. Determinantes fisiológicos do controle do peso e apetite **Rev. Psiq. Clin.** 31 (4); 150-153, 2004.

JESSUP, J.; GALLAGHER, P. E.; AVERILL, D. B, *et al.* Effect of angiotensin II blockade on a new congenic model of hypertension derived from transgenic ren-2 Rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.**v.291, p.42166-72, 2006.

KASANEN, E. H. I. *et al.* The diet board: welfare impacts of a novel method of dietary restriction in laboratory rats. **Lab Anim.** v. 43, n.215, p. 215-223, 2009.

KELLY, D. A. The use of anti-interleukin-2 receptor antibodies in pediatric liver transplantation. **Pediatr Transplant.** 2001;5:386-9.

KENCHIAIAH, S.; EVANS, J. C.; LEVY, D.; WILSON, P. W.; BENJAMIN, E. J.; LARSON, M. G.; KANNEL, W. B.; VASAN, R. S. Obesity and the risk of heart

failure. **N Engl J Med.** v.347, p.305-313, 2002.

KLACK, K.; CARVALHO, J. F. A importância da intervenção nutricional na redução do peso corpóreo em pacientes com síndrome do anticorpo antifosfolípide. **Rev. Bras. Reumatol.** v.48, n.3, p. 134-140. 2008. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0482-50042008000300002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0482-50042008000300002&script=sci_arttext). Acesso em: 21 de setembro de 2014.

KLESGES, R. C.; ISBELL, T. R.; KLESGES, L. M. Relationship between dietary restraint, energy intake, physical activity, and body weight: a prospective analysis. **J. Abnorm. Psychol.** v.101, n.4, p.668-674, 1992.

KOOPMANS, S. J.; DEKKER, R.; ACKERMANS, M. T.; SAUERWEIN, H. P.; SERLIE, M. J.; VAN BEUSEKOM, H. M. M.; HEUVEL, M.; GIESSEN, W. J. Dietary saturated fat/cholesterol, but not unsaturated fat or starch, induces C-reactive protein associated early atherosclerosis and ectopic fat deposition in diabetic pigs. **Cardiovasc Diabetol.** v.10, n.64, p.64, 2011.

LEOPOLDO, A. S.; SUGIZAKI, M. M.; LIMA-LEOPOLDO, A. P.; DO NASCIMENTO, A. F.; LUVIZOTTO, R. D. E. A, CAMPOS, D. H. S.; OKOSHI, K, DAL PAI-SILVA, M.; PADOVANI, C. R.; CICOGNA, A. C: Cardiac remodeling in a rat model of diet-induced obesity. **Can J Cardiol.** v.26, n.8, p.423-429, 2010.

LEOPOLDO, A. S.; LIMA-LEOPOLDO, A. P.; SUGIZAKI, M. M.; et al. Involvement of L-type calcium channel and SERCA2a in myocardial dysfunction induced by obesity. **J Cell Physiol.** v.226, n.11, p.2934-2942, 2011.

LIMA-LEOPOLDO, P. A.; LEOPOLDO, S. A.; SILVA, T. C. D. Influencia de prolongados períodos de obesidade sobre a expressão gênica miocárdica. **Arq Bras. Cardiol.** v.100, n.3, p.229-237, 2013..

LIMA-LEOPOLDO, A. P.; LEOPOLDO, A. S.; SUGIZAKI, M. M.; BRUNO, A.; NASCIMENTO, A. F.; LUVIZOTTO, R. A.; DE OLIVEIRA, S. A, JR. PADOVANI, C. R.; CICOGNA, A. C. Myocardial dysfunction and abnormalities in intracellular calcium handling in obese rats. **Arq Bras Cardiol.**v.97, n.3, p.232-240, 2011.

LIMA-LEOPOLDO, A. P.; SUGIZAKI, M. M.; LEOPOLDO, A. S.; CARVALHO, R. F.; NOGUEIRA, C. R.; NASCIMENTO, A. F.; MARTINEZ, P. F.; LUVIZOTTO, R. A.; PADOVANI, C. R.; CICOGNA, A. C. Obesity induces upregulation of genes involved in myocardial Ca<sup>2+</sup> -handling. **Braz J Med Biol Res.** v.41, n.7, p.615-620, 2008.

LISSNER, L., HEITMANN, B.L. Dietary fat and obesity: evidence from epidemiology. **Eur. J. Clin. Nutr.** v. 49, n. 2, p. 79-90, 1995

LORELL, B. H.; CARABELLO, B.A. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis. **Circulation.** v.102, n.4, p. 470-479, 2000.

MATSUBARA, L. S.; MATSUBARA, B. B.; OKOSHI, M. P.; FRANCO, M.;

CICOGNA, A. C. Myocardial fibrosis rather than hypertrophy induces diastolic dysfunction in renovascular hypertensive rats. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** v. 75, p. 1328-1334, 1997.

MCLAREN L. Socioeconomic status and obesity. **Epidemiol Rev.** v.29. p.29-48, 2007.

MILLER, W. C.; LINDEMAN, A. K.; WALLACE, J.; NIEDERPRUEM, M. Diet composition, energy intake, and exercise in relation to body fat in men and women. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 52, n. 3, p. 426-430, 1990.

NASCIMENTO, A. F.; LUVIZOTTO, R. A.; LEOPOLDO, A. S.; LIMA-LEOPOLDO, A. P.; SEIVA, F. R.; JUSTULIN, L. A. JR, et al. Long-term high-fat diet-induced obesity decreases the cardiac leptin receptor without apparent lipotoxicity. **Life Sci.**v.88, n.23-24, p.1031-8, 2011.

NGUYEN, X. T.; LANE, J.; SMITH, B. R et al. Changes in inflammatory biomarkers across weightclasses in a representative US population: a link between obesity and inflammation. **J Gastrointest Surg.** V.13, p.1205-1212, 2009.

Ogden CL, Flegal KM, Carroll MD et al. Prevalence and trends in overweight among US children and adolescents, 1999-2000. **JAMA.** v.288, p.1728–1732. 2002;

OKERE, I. C.; CHANDLER, M. P.; MCELFRISH, T. A.; et al. Differential effects of saturated and unsaturated fatty acid diets on cardiomyocyte apoptosis, adipose distribution, and serum leptin. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** v.291, p.38-44, 2006.

OKOSHI, M. P.; MATSUBARA, L. S.; FRANCO, M.; CICOGNA, A. C.; MATSUBARA, B. B. Myocyte necrosis is the basis for fibrosis in renovascular hypertensive rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 30, p. 1135-1144, 1997.

OLIVEIRA JR, S. A. **Influência do bloqueio de receptores do tipo 1 (AT1) sobre o perfil metabólico, endócrino e cardiovascular de ratos obesos.** 127 p. Tese (Doutorado em Fisiopatologia em Clínica Médica) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2011.

OLIVEIRA JR, S. A.; OKOSHI, K.; LIMA-LEOPOLDO, A. P.; et al. Nutritional and cardiovascular profiles of normotensive and hypertensive rats kept on a high fat

diet. **Arq Bras Cardiol.**v.93, n.5, p.526-33, 2009.

OLIVEIRA JUNIOR, S. A.; DAL PAI-SILVA, M.; MARTINEZ, P. F.; et al. Differential nutritional, endocrine, and cardiovascular effects in obesity-prone and obesity-resistant rats fed standard and hypercaloric diets. **Med Sci Monit.** v.16, n.7, p.208-217, 2010 a.

OLIVEIRA JUNIOR, S. A.; DAL PAI-SILVA, M.; MARTINEZ, P. F, et al. Diet induced obesity causes metabolic, endocrine and cardiac alterations in spontaneously hypertensive rats. **Med Sci Monit.** v.16, n.12, p.367-373, 2010 b.

OLIVEIRA JUNIOR, S. A.; PADOVANI, C. R.; RODRIGUES, S. A.; et al. Extensive impact of saturated fatty acids on metabolic and cardiovascular profile in rats with diet-induced obesity: a canonical analysis. **Cardiovasc Diabetol.** v.12, n.1, p.65, 2013.

OLIVEIRA JUNIOR, A. S.; OKOSHI, K.; LIMA- LEOPOLDO, P. A.; Perfil Nutricional e Cardiovascular de Ratos Normotensos e Hipertensos sob Dieta hiperlipídica. **Arq. Bras. Cardiol.** v.93, n.5, p.526-533, 2009.

OLIVEIRA-JUNIOR, A .S.; MARTINEZ, F. P.; GUIZONI, M. D. AT1 Receptor Blockade Attenuates insulin Resistance and Myocardial Remodeling in Rats with Diet- Induced Obesity. **Plos One.** v.9, n.1, 2014. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0086447>. Acesso em: 21 de Agosto de 2014.

OLIVETTI, G.; CIGOLA, E.; MAESTRI, R.; et al. Body mass index and mortality in heart failure: a metaanalysis. **Am Heart J.** v.156, p.13-22, 2008.

OPIE, L. H.; COMMENFORD, P. J.; GERSH, B. J.; PFEFFER, M. A. Controversies in ventricular remodeling. **Lancet.** v.367, n.9507, p.356-367, 2006.

Ouwens, D. M.; Boer, C.; Fodor, M.; et al. Cardiac dysfunction induced by high-fat diet is associated with altered myocardial insulin signaling in rats. **Diabetologia.** V.48, p.1229-1237, 2005.

Ouwens, D. M.; Diamant, M.; Fodor, M. Cardiac contractile dysfunction in insulin-resistant rats fed a high-fat diet is associated with elevated CD-36-mediated fatty acid uptake and esterification. **Diabetologia.** v.50, p.1938-48, 2007.

PARDO SILVA, M. C.; DE LAET, C.; NUSSELDER, W. J.; MAMUN, A.; PEETERS, A. Adult obesity and number of years lived with and without cardiovascular disease. **Obesity**. v.14, n.7, p.1264-73, 2006.

PAULINO, E. C.; FERREIRA, J. C. B.; BECHARA, L. R.; et al. Exercise training and caloric restriction prevent reduction in cardiac Ca<sup>2+</sup>-handling protein profile in obese rats. **Hypertension**. v.56, n.4, p.629-35, 2010.

PAUSOVA, Z.; SEDOVÁ, L.; BERUBE, J.; et al. Segment of rat chromosome 20 regulates diet-induced augmentations in adiposity, glucose intolerance, and blood pressure. **Hypertension**. v.41, n.5, p.1047-55, 2003.

PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P. de; LANCHETA JR., A. H.. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v.47, n.2, 2003.

PFEFFER, J. M.; PFEFFER, M. A.; FROHLICH, E. D. Validity of an indirect tail-cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. **J Lab Clin Med**. v. 78, n.6, p.957-8, 1971.

PLAYFAIR, J. H. L.; LYDYARD, P. M. *Imunologia Médica*. Ed. Revinter, Rio de Janeiro, 1999.

PINHEIRO, A.; CUNHA, A.; AGUILA, M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. Beneficial effects of physical exercise on hypertension and cardiovascular adverse remodeling of diet-induced obese rats. **NutrMetab Cardiovasc Dis**. v.17, n.5, p.365-75, 2007.

POIRIER, P.; GILES, T. D.; BRAY, G. A.; et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. **Circulation**. V. 113, n.6, p.898-918, 2006

PREWITT, T. E.; SCHMEISSER, D.; BOWEN, P. E.; et al. Changes in body weight, body composition, and energy intake in women fed high- and low-fat diets. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 54, n. 2, p. 304-310, 1991.

RICCI, M. R.; LEVIN, B. E. Ontogeny of diet-induced obesity in selectively bred Sprague-Dawley rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. v.285, n.3. p.610-18, 2003.

ROWLAND, N.E. Food or fluid restriction in common laboratory animals: balancing welfare considerations with scientific inquiry. **Comp Med**. v.57, n.2, p. 149-60, 2007.

SATO, T.; NARA, Y.; KATO, Y.; YAMORI, Y. Effects of high-calorie diet on blood pressure and sodium retention in spontaneously hypertensive rats and normotensive Wistar-Kyoto rats. **J Diabet Complications**. v.9, p.220-3, 1995.

SANTOS, R.D. et al. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arq. Bras. Cardiol**. [online]. 2013, vol.100, n.1, suppl.3, pp. 1-40. ISSN 0066-782X.

SCHRAUWEN, P.; WESTERTERP, K. R. The role of high-fatdiets and physical activity in the regulation of body weight. **Br. J. Nutr**. v. 84, n. 4, p. 417-427, 2000.

SEDOVÁ, L.; BERUBÉ, J.; GAUDET, D.; et al.. Diet-induced obesity delays cardiovascular recovery from stress in spontaneously hypertensive rats. **Obes Res**. v.12, p.1951-8, 2004.

SELVETELLA, G.; HIRSCH, E.; NOTTE, A.; TARONE, G.; LEMBO, G. Adaptative and maladaptative hypertrophic pathways:points of convergence and divergence. **Cardiovasc. Res.**, v. 63, n. 3, p. 373-380, 2004.

SENOO, H. The Laboratory Rat: Physiology of Stress and Starvation- like Conditions. In: KRINKE, G. J. **Academic Press**. p. 447, 2000.

SILVA, T. C. D.; LIMA-LEOPOLDO, P. A.; LEOPOLDO, S. A.; et al. Influência do tempo de exposição à obesidade induzida por dieta hiperlipídica sobre os colágenos tipo 1 e 3 Miocárdico. **Arq. Bras. Cardiol**. v.102, n.2, p.157-164, 2014.

STANHOPE, K. L.; HAVEL, P. J. Fructose consumption: potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance. **Curr Opin Lipidol**. v. 19, p.16–24, 2008.

SWYNGHEDAUW, B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. **Physiol**.

Rev. v. 79, p. 215-262, 1999.

TAVAZZI, L.; MAGGIONI, A. P.; MARCHIOLI, R.; et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **Lancet**. v.372, p.1223-1230, 2008.

TOU, J. C.; WADE, C. E. Determinants affecting physical activity levels in animal models. **Exp. Biol. Med.** v.227, n.8, p.587-600, 2002

VELKOSKA, E.; WARNER, F.; COLE, T.; SMITH, I.; MORRIS, M. Metabolic effects of low dose angiotensin converting enzyme inhibitor in dietary obesity in the rat. **Nutrition Metabolism and Cardiovasc Dis**. v.20, n.1, p.49-55, 2010.

VERBOEKET-VAN DE VENNE, W. P.; WESTERTERP, K. R.; HERMANS-LIMPENS, T.J.; et al. Long-term effects of consumption of full-fat or reduced-fat products in healthy non-obese volunteers: assessment of energy expenditure and substrate oxidation. **Metabolism**. v. 45, n. 8, p. 1004-1010, 1996.

VIGITEL. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção de Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2013.136 p.: il. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/saude/2013/08/obesidade-atinge-mais-da-metade-da-populacao-brasileira-aponta-estudo>.

WANG, Y.; BEYDOUN, M. A.; LIANG, L.; CABALLERO, B.; KUMANYIKA, S. K. Will all Americans become overweight or obese? Estimating the progression and cost of the US obesity epidemic. **Obesity**. v.16, p.2323-2330, 2008.

WANG, Y. Mitogen-activated protein kinases in heart development and diseases. **Circulation**. v.116, n.12, p.1413-23, 2007.

WEBER, K.T. Cardioreparation in hypertensive heart disease. **Hypertension**, v. 38, n.3, p. 588-591, 2001.

WEBER, K.T., SUN, Y., GUNTAKA, R.V. Rebuilding and remodeling following myocardial infarction: the good, the bad, and the ugly of tissue repair. **Dial. Cardiovasc. Med**. v. 4, p. 3-19, 1999.

WEST, D. B.; YORK, B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 67, n. 3, p. 505-512, 1998

WESTERTERP, K. R.; VERBOEKET-VAN de VENNE, W. P.; BOUTEN, C.V.; et al. Energy expenditure and physical activity in subjects consuming full-or reduced-fat products as part of their normal diet. **Br. J. Nutr.**, v. 76, n. 6, p. 785-795, 1996.

WHITE, S. A. P.; CERCATO, M L.; ARAUJO, D. M. J. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância a glicose. **Arq. Bras. Endocrinol.** v.57, n.5, pp. 339- 345, 2013.

WILSON, P. W.; D'AGOSTINO, R. B.; SULLIVAN, L.; et al.. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk. **Arch Intern Med.** v.162, n.16, p.1867-72, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 10 facts on obesity. Geneva, 2012.  
Disponível em: <<http://www.who.int/features/factfiles/obesity/facts/en/index1.html>> Acesso em: 6 set.2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation on Obesity. Geneva, 1998 Disponível em: [http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO TRS 894/en/](http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/). Acesso em: 20 set. 2014.

YAN, L. L.; DAVIGLUS, M. L.; LIU, K.; et al. Midlife body mass index and hospitalization and mortality in older age. **JAMA.** v.295, p.190-198, 2006.

YUSUF, S.; HAWKEN, S.; OUNPUU, S.; et al. Study Investigators: Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. **Lancet.** v.364, p.937-952, 2004.

ZHANG, T.; REID, K.; ACUFF, C. G.; JIN, C. B.; ROCKHOLD, R. W. Cardiovascular and analgesic effects of a highly palatable diet in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. **Pharmacol Biochem Behav.** v.48, n.1, p.57-61, 1994.

1º DIRETRIZ BRASILEIRA DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA SÍNDROME METABÓLICA. **Arq. Brasi. de Cardiol.** V 84, S I, 2005.

## APÊNDICE

### **Título**

Caracterização metabólica e estudo morfológico do miocárdio de ratos com obesidade induzida por dieta.

Metabolic profiling and morphological study of the myocardium of rats with diet-induced obesity.

### **Título cabeçalho**

Caracterização metabólica e estudo morfológico do miocárdio de ratos com obesidade induzida por dieta.

**Palavras-Chave:** Obesidade, Dieta Hiperlipídica, Remodelação Cardíaca, Ácidos Graxos Saturados, Gordura.

**Key-words:** Obesity, high-fat diet, Cardiac Remodeling, Saturated Fatty Acids, Fat.

## Resumo

**Fundamento:** Dietas hipercalóricas, sedentarismo, aumento da urbanização e estresse psicossocial são alguns dos fatores mais comuns para o aparecimento da obesidade e suas comorbidades como a ocorrência de remodelação cardíaca, uma condição precursora para a instalação de doenças cardiovasculares e insuficiência cardíaca.

**Objetivos:** Avaliar o efeito da dieta hiperlipídica como a principal responsável por distúrbios nutricionais, metabólicos e remodelação cardíaca em roedores magros e obesos.

**Métodos:** Foram utilizados 16 Ratos da linhagem Wistar, divididos em dois grupos, Controle (C), alimentado com ração normocalórica e o grupo obeso (OB) que recebeu dieta hiperlipídica. O período de estudo foi de 20 semanas. Para análise da caracterização nutricional e biométrica, análises glicêmicas, perfil bioquímico, pressão arterial sistólica, morfologia macro e microscópica do coração.

**Resultados:** Ao final do experimento, os resultados confirmaram, que a dieta hiperlipídica saturada associa-se com manifestações de obesidade, acompanhada de hiperglicemia e indicadores morfométricos de remodelação cardíaca.

**Conclusões:** Conclui-se que a dieta hiperlipídica com aporte majoritário de ácidos graxos saturados influencia na instalação de obesidade, distúrbios dos metabolismos glicêmico, lipídico e remodelação cardíaca dos roedores estudados.

## Introdução

Hipertensão, obesidade e síndrome metabólica são enfermidades altamente prevalentes e importantes problemas de saúde pública em países industrializados<sup>1</sup>. Dietas hipercalóricas, sedentarismo, aumento da urbanização e estresse psicossocial são alguns dos fatores mais comuns para o aparecimento da obesidade<sup>2</sup>.

A epidemia de obesidade se associa com importantes alterações do perfil de morbimortalidade de populações humanas e conseqüente impacto sobre a expectativa de vida<sup>3,4</sup>. Dentre inúmeras comorbidades relacionadas com o excesso de adiposidade corporal<sup>5</sup>, acrescentam que a obesidade se associa com a ocorrência de remodelação cardíaca, uma condição precursora para a instalação de doenças cardiovasculares e insuficiência cardíaca<sup>6,7</sup>.

Em geral, frente a condições de sobrecarga contínua, o coração tende a desencadear uma série de alterações adaptativas que, constituem o processo de remodelação cardíaca, propriamente dito. Estas modificações denotam variações moleculares, celulares e intersticiais, que se manifestam clinicamente através de alterações de tamanho, massa, geometria e função do coração<sup>8,9</sup>.

Neste contexto observa-se a ocorrência de hipertrofia e fibrose intersticial miocárdica como evidências morfológicas de remodelação cardíaca em modelos experimentais de obesidade induzida por dieta<sup>10-15</sup>.

Considerando-se que a obesidade é um dos principais precursores da remodelação cardíaca, torna-se de suma importância elucidar os efeitos das dietas e suas composições nutricionais, assim como as relações destas com o organismo. Sendo assim, é possível que a composição da dieta seja um fator que module o fenótipo cardíaco em resposta à obesidade e, por conseguinte, os desfechos clínicos decorrentes dessa condição biométrica.

Diante dos indícios apresentados, a hipótese do presente trabalho é que a dieta hiperlipídica saturada, per se, está associada com a manifestação de obesidade, distúrbios metabólicos, incluindo-se hiperglicemia e dislipidemia, além de ocorrência de remodelação cardíaca, representada por hipertrofia miocárdica e fibrose intersticial em roedores.

## **Métodos**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, sob o protocolo número: 420/ 2012, processo 23104.002468/2012-18.

### **Animais e Protocolo experimental**

Foram utilizados 16 ratos (*Rattus Norvergicus*), da linhagem *Wistar*, machos, com 30 dias de idade. Os animais foram randomicamente distribuídos em dois grupos: Controle (C) e Obeso (OB). O grupo C foi tratado com dieta normocalórica (2,93 kcal/g) e grupo OB recebeu dieta hiperlipídica e hipercalórica (3,64 kcal/g). Período experimental de 20 semanas. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, sob temperatura ambiente de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade de  $55\pm 5\%$  e ciclos de iluminação claro/escuro de 12 horas e água sob livre acesso.

Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com o *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, publicado pelo “U. S. National Institutes of Health” (CCULA, 1985).

### **Composição da Dieta**

As dietas experimentais foram concebidas com finalidade de apresentar diferença nos níveis de lipídeos e equilíbrio na composição protéica, hidratos de carbono, vitaminas e minerais. Como ingredientes foram utilizados: farelo e casca de soja, milho, dextrina, óleos de palma e de soja, acrescidos de suplementação vitamínica e mineral.

### **Caracterização nutricional e biométrica**

A caracterização nutricional envolveu ingestão alimentar, ingestão calórica e eficiência energética. A ingestão alimentar diária foi avaliada uma vez por semana; por sua vez, a ingestão calórica foi calculada pela seguinte fórmula: ingestão alimentar semanal multiplicada pelo valor calórico da dieta<sup>15</sup>. Com a

finalidade de analisar a capacidade de conversão da energia alimentar consumida em massa corporal, foi considerada a eficiência alimentar (EA), obtida a partir da relação entre variação ponderal total (g) e energia total ingerida (kcal) pelos animais<sup>10-13,16</sup>.

A caracterização biométrica envolveu massa corporal e adiposidade. A massa corporal foi mensurada semanalmente, utilizando-se uma balança digital. Para a obtenção das informações sobre a adiposidade, foi mensurada a gordura procedente das regiões retroperitoneal, epididimal e visceral obtidos após a eutanásia<sup>10-13,16</sup>. Para estimação da adiposidade corporal, considerou-se a relação entre a massa adiposa (AD) dos depósitos segmentares e a massa corporal final:  $\Sigma AD \times 100 / (MC - \Sigma AD)$ <sup>17,18</sup>.

### **Teste de tolerância à glicose**

Para análise da tolerância glicêmica, os animais foram submetidos a jejum por 12 horas e amostras sanguíneas provenientes da artéria caudal foram utilizadas para a mensuração glicêmica. Em seguida, foi realizada a administração intraperitoneal de glicose a 20% (Glicose Monohidratada, Merck, São Paulo, Brasil), em dosagem equivalente a 2 g/kg. Os níveis glicêmicos foram então avaliados no decorrer de 30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos<sup>11-13,15</sup>. Para tanto, utilizou-se do glicosímetro ACCU-CHEK GO KIT (Roche Diagnostic Brazil Ltda, SP, Brazil).

### **Perfil bioquímico sérico**

Dois dias após os procedimentos para análise *in vivo*, os animais foram mantidos em jejum por um período de 12 a 15 horas, submetidos à anestesia intraperitoneal com pentobarbital sódico (50 mg/kg) e eutanasiados por decapitação. Amostras sanguíneas foram coletadas, centrifugadas (3000 rpm) e armazenadas para posterior análise.

Posteriormente, foi realizada toracotomia mediana, destinada à remoção do coração, pulmões e fragmentos hepáticos, para análise da morfologia e determinação da umidade. Por meio de laparotomia, foram excisados os tecidos

adiposos brancos dos compartimentos anatômicos retroperitoneal, epididimal e visceral, os quais foram submetidos à pesagem para a análise da adiposidade, conforme descrito em seção prévia.

Foram avaliadas as concentrações séricas de glicose, triglicérides, colesterol total, HDL, LDL, albumina e proteína total, por método enzimático com kits específicos<sup>15,19</sup>.

### **Avaliação da pressão arterial sistólica**

A aferição da pressão arterial sistólica foi executada ao final do período experimental, por meio de pletismografia<sup>20</sup>, utilizando-se um esfigmomanômetro com especificações Narco Bio-System®, modelo 709-0610 (International Biomedical, Inc., USA).

### **Análise morfológica macroscópica**

Para avaliar a morfologia macroscópica, foram mensuradas as massas de átrios (MA) e dos ventrículos direito (MVD) esquerdo (MVE), em valores absolutos. Para descrição da morfologia macroscópica, foram também consideradas as respectivas relações dessas variáveis com a massa corporal final (MCF) e comprimento da tíbia.

### **Análise morfológica microscópica**

Para a análise da morfologia microscópica, foram confeccionadas lâminas de microscopia óptica. Após 48 horas, as amostras foram mantidas em água corrente e imersas em solução de etanol a 70%. Após inclusão em blocos de parafina, foram obtidas secções com 7 µm de espessura, as quais foram coletadas em lâminas histológicas e submetidas à coloração com hematoxilina e eosina (HE) e picrosirius red (PR). Os cortes corados com HE foram utilizados para análise morfométrica da área seccional transversa de 50-100 cardiomiócitos por animal<sup>11,12</sup>. As lâminas coradas por PR foram utilizadas para a quantificação da fração de colágeno intersticial.

## Análise estatística

Na análise estatística, foi utilizado o programa Sigma Stat, versão 3.5. Para análise da distribuição dos dados, considerou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov. Os resultados paramétricos são expressos por meio de média e desvio-padrão e foram analisados com emprego do teste t de Student. Os achados não paramétricos são apresentados por mediana e intervalo interquartilico e foram analisados por meio do teste de Mann-Whitney. Todas as conclusões estatísticas foram discutidas ao nível de significância de 5%.

## Resultados

Em relação ao comportamento nutricional e biométrico, apesar de exibir ingestão alimentar inferior e consumo calórico inalterado em relação ao grupo C, o grupo obeso mostrou maiores medidas de eficiência energética, massa corporal, variação ponderal e adiposidade, segmentar e total em relação ao grupo OB (Tabela 1).

Tabela 1. Medidas descritivas do comportamento nutricional e biométrico, segundo o grupo

Variáveis	Grupo		p-valor
	C	OB	
<b>Ingestão Alimentar (g)</b>	28,8 ± 3,0	22,6 ± 1,8 *	0,0002
<b>Ingestão Calórica (kcal)</b>	84,3 ± 8,6	82,2 ± 6,7	0,5864
<b>Efic. Energética (kcal/g)</b>	0,0298 ± 0,0026	0,0364 ± 0,0034 *	0,0007
<b>Massa Corporal (g)</b>	506 ± 59	575 ± 60 *	0,0369
<b>Variação Ponderal (%)</b>	230 ± 35	269 ± 36 *	0,0415
<b>Ad. Epididimal (%)</b>	1,80 ± 0,70	2,84 ± 0,67 *	0,0088
<b>Ad. Retroperitoneal</b>	1,70 ± 0,57	3,72 ± 1,21 *	0,0007
<b>Ad. Visceral (%)</b>	1,37 ± 0,48	2,40 ± 0,80 *	0,0077
<b>Adiposidade</b>	4,89 ± 1,26	8,18 ± 1,47 *	0,0003

Valores em média ± desvio-padrão; C: animais sob dieta normocalórica; OB: animais obesos sob dieta hipercalórica; Ad.: adiposidade; \*p<0,05 vs. C; Teste t de Student.

No contexto metabólico, na Tabela 2, pode-se constatar que o grupo OB apresentou maiores níveis séricos de glicose ( $p < 0,05$ ), embora a tolerância glicêmica tenha se mantido inalterada em relação ao grupo C. Não foram verificadas modificações significativas de lipidemia, proteína e albumina, entre os grupos C e OB.

Tabela 2. Tolerância glicêmica e perfil bioquímico sérico, segundo o grupo

Variáveis	Grupo		p-valor
	C	OB	
<b>Colesterol (mg/dl)</b>	67,8 ± 7,5	72,6 ± 14,3	0,4138
<b>HDL (mg/dl)</b>	22,5 ± 2,7	22,1 ± 3,0	0,7639
<b>LDL (mg/dl)</b>	31,4 ± 4,6	34,8 ± 9,4	0,3774
<b>VLDL (mg/dl)</b>	13,9 ± 2,4	15,8 ± 3,2	0,1991
<b>Proteína (mg/dl)</b>	5,74 ± 0,32	5,75 ± 0,18	0,9700
<b>Albumina (mg/dl)</b>	3,23 ± 0,18	3,25 ± 0,07	0,8147
<b>Glicemia (mg/dl)</b>	87,8 ± 6,4	97,0 ± 10,2 *	0,0480
<b>Tolerância glicêmica (ASC)</b>	27699 ± 3109	29366 ± 6123	0,5036

Valores em média ± desvio-padrão; C: animais sob dieta normocalórica; OB: animais obesos sob dieta hipercalórica; HDL: lipoproteínas de alta densidade; LDL: lipoproteínas de baixa densidade; VLDL: lipoproteínas de muito baixa densidade; ASC: área sob a curva de tolerância glicêmica; \* $p < 0,05$  vs. C; Teste t de Student.

No aspecto cardiovascular, a pressão arterial sistólica não foi afetada pela obesidade induzida por dieta. Por sua vez, embora os grupos tenham mostrado valores similares de morfologia macroscópica, o grupo OB apresentou maiores medidas de área seccional transversa dos cardiomiócitos e fração intersticial de colágeno, em comparação com o grupo C (Tabela 3).

Tabela 3. Medidas descritivas da pressão arterial sistólica e estimadores morfologia macro e microscópica do coração

Variáveis	Grupo		p-valor
	C	OB	
<b>PAS (mg/dl)</b>	114,5 ± 7,1	117,6 ± 19,0	0,6687
<b>MA (mg)</b>	119 ± 35	145 ± 30	0,1327
<b>MVD (mg)</b>	300 ± 41	303 ± 52	0,9295
<b>MVE (mg)</b>	796 ± 94	805 ± 82	0,8351
<b>MA/MC (mg/g)</b>	0,245 ± 0,074	0,263 ± 0,048	0,5610
<b>MVD/MC (mg/g)</b>	0,619 ± 0,101	0,546 ± 0,059	0,1013
<b>MVE/MC (mg/g)</b>	1,64 ± 0,22	1,46 ± 0,11	0,0638
<b>ASC (µm<sup>2</sup>)</b>	94,9 ± 6,5	103,1 ± 3,2 *	0,0190
<b>FIC (%)</b>	2,20 ± 1,08	4,33 ± 2,58 *	0,0486

Valores em média ± desvio-padrão; C: animais sob dieta normocalórica; OB: animais obesos sob dieta hipercalórica; PAS, pressão arterial sistólica; MA, massa de átrios; MVD, massa de ventrículo direito; MVE, massa de ventrículo esquerdo; MA/MC, relação entre MA e massa corporal final; MVD/MC, relação entre massa de ventrículo direito e massa corporal final; MVE/MC, relação entre MVE e massa corporal final; ASC, área seccional transversa dos cardiomiócitos; FIC, fração intersticial de colágeno; \*p<0,05 vs. C; Teste t de Student.

## Discussão

Segundo a hipótese inicial desse trabalho, a dieta hiperlipídica saturada está associada com a manifestação de obesidade, distúrbios metabólicos e ocorrência de remodelação cardíaca em roedores. Os resultados confirmaram, em grande parte, tal hipótese, levando-se em conta que a ocorrência de obesidade foi acompanhada de hiperglicemia e indicadores morfométricos de remodelação cardíaca. No entanto, tolerância glicêmica e morfologia macroscópica do coração mostraram-se inalterados pela dieta.

Em consideração aos efeitos da dieta sobre o comportamento nutricional e biométrico, os resultados evidenciaram que, apesar do consumo calórico inalterado entre os grupos, o grupo obeso exibiu maiores medidas de eficiência energética. Por conseguinte, os índices de massa corporal foram mais elevados no grupo OB<sup>14,15,21,22</sup>. O aumento de massa corporal foi resultante, provavelmente, do desenvolvimento da adiposidade. O grupo OB apresentou maiores valores de gordura segmentar e total em comparação ao grupo C,

subsidiando, assim, o quadro de obesidade, o qual está em conformidade com estudos prévios<sup>12,14,15,23</sup>. Em particular, resultados semelhantes também foram encontrados em estudos recentes, nessas investigações, embora os grupos OB tivessem ingerido menor quantidade de ração, o maior ganho ponderal parece ter ocorrido por conta do aumento de ingestão calórica e da maior eficiência da alimentação, demonstrada pela maior saciedade em decorrência da ingestão de lipídeos<sup>14,15,21</sup>.

No aspecto metabólico, houve alteração dos níveis de glicose de jejum. A elevada concentração sérica de glicose, provavelmente, ocorreu devido à sobrecarga de ácidos graxos saturados na dieta, levando à estimulação e aumento do tecido adiposo<sup>23-26</sup>. A hipertrofia do tecido adiposo mostra-se associada com a produção de citocinas inflamatórias, que podem desencadear mecanismos de hiperglicemia, resistência à insulina, hipertensão, aterosclerose e remodelação cardíaca<sup>23,26-28</sup>.

Analisando-se o aspecto cardiovascular, a pressão arterial sistólica não foi afetada pela obesidade induzida por dieta. Em estudo recente, foi observado que embora o aumento do tecido adiposo tenha levado a alterações metabólicas e hormonais, a obesidade não resultou em aumento na pressão arterial após 15 e 30 semanas, mantendo-se estável durante os dois períodos de estudo<sup>29</sup>. Em contrapartida, outro estudo mostrou que a pressão arterial sistólica foi afetada pela progressão do protocolo experimental no grupo exposto à dieta hiperlipídica, embora os níveis de pressão arterial final permanecessem inalterados.<sup>14</sup>

Considerando-se as análises do coração, sob a perspectiva morfológica macroscópica, as mensurações dos átrios, massa dos ventrículos, esquerdo e direito e relação dessas variáveis com a massa corporal final, não foram afetadas pela dieta. Tais achados sugerem que, sendo a remodelação cardíaca um processo de adaptação e defesa do músculo cardíaco frente a longos períodos de exposição à obesidade, estas alterações adaptativas podem não ter se completado em toda sua complexidade. Apenas após 15 semanas, a sobrecarga de ácidos graxos representa uma agressão ao coração (obesidade), que então se remodela para normalizar as alterações cardíacas moleculares e celulares até a 30ª semana. Isso pode explicar o não aparecimento de alterações morfológicas macroscópicas significativas no presente estudo<sup>23</sup>.

Por outro lado, os resultados revelaram uma disparidade entre as análises macro e microscópicas. Dentre os fatores que podem interferir nos resultados das análises morfológicas em roedores, inclui-se a utilização de diferentes linhagens, idades distintas, ou mesmo a utilização de intervenções dietéticas variadas. A variação do tempo de exposição às dietas mostra-se, também, como um fator a ser levado em conta.

Ainda sob o aspecto cardiovascular, as variáveis analisadas pela microscopia ótica foram área seccional transversa dos cardiomiócitos e fração intersticial de colágeno. Ambas apresentaram valores mais elevados no grupo OB em comparação com o grupo C, sustentando ocorrência de remodelação cardíaca no presente modelo experimental de obesidade. De fato, os ácidos graxos saturados são os principais combustíveis metabólicos para o coração e, antagonicamente, o acúmulo de lipídios em excesso pode estimular a sobrecarga mitocondrial e ativar mecanismos moleculares de remodelação cardíaca<sup>14,15 30,31</sup>.

O tratamento com a dieta hiperlipídica, acompanhada por aporte de sacarose, ampliou, em aproximadamente 50%, a remodelação intersticial, além de provocar distúrbios funcionais cardíacos, em comparação com o grupo controle<sup>11</sup>.

Finalmente, a relação da dieta e o desenvolvimento de obesidade, complicações metabólicas e remodelação cardíaca, se deu por meio de criterioso protocolo experimental. Entretanto, destaca-se a necessidade de que se testem novas alternativas. Primeiramente, podem ser utilizados períodos experimentais longos, visando o desenvolvimento completo da ação da dieta sobre o organismo dos roedores; outra alternativa, pode ser a administração das dietas de forma intervalada, visando avaliar seus efeitos após períodos de interrupção. Sugere-se também, a alteração de componentes da dieta, a fim de observar diferenças em seus resultados.

Contudo destaca-se a relevância da presente pesquisa, ao analisar-se um modelo experimental de dieta que reproduza os efeitos negativos de uma alimentação rica em ácidos graxos e suas conseqüências ao organismo estudado.

## **Conclusões**

Com base nos achados obtidos neste trabalho, tem-se que dieta hiperlipídica com aporte majoritário de ácidos graxos saturados culminou na instalação de obesidade, distúrbios dos metabolismos glicêmico, lipídico e remodelação cardíaca dos roedores estudados.

Fontes de Financiamento:

CAPES/CNPQ

## **Agradecimentos:**

A todos os meus companheiros de mestrado, grupo de pesquisa, colegas de sala, funcionários e professores do programa de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste, em especial à Vera, Áurea, Rondon e Prof. Dr. Ricardo Dutra Aydos.

Ao Professor Antonio Carlos Cicogna e toda a sua equipe da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (FMB/UNESP), que tornaram possível o desenvolvimento do presente trabalho, nas dependências do Laboratório Experimental de Clínica Médica.

Finalmente, um agradecimento especial ao meu orientador, Prof. Dr. Silvio Assis de Oliveira Junior, com quem venho aprendendo muito. Meu amadurecimento pessoal e acadêmico perpassa por essa brilhante experiência de aprendizagem e desenvolvimento contínuo.

## Referências

1. YUSUF, S.; HAWKEN, S.; OUNPUU, S.; et al. Study Investigators: Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. **Lancet**. v.364, p.937-952, 2004.
2. MCLAREN, L. Socioeconomic status and obesity. **Epidemiol Rev**. v.29. p.29-48, 2007.
3. PARDO SILVA, M. C.; DE LAET, C.; NUSSELDER, W. J.; MAMUN, A.; PEETERS, A. Adult obesity and number of years lived with and without cardiovascular disease. **Obesity**. v.14, n.7, p.1264-73, 2006.
4. WILSON, P. W.; D'AGOSTINO, R. B.; SULLIVAN, L.; et al.. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk. **Arch Intern Med**. v.162, n.16, p.1867-72, 2002.
5. YAN, L. L.; DAVIGLUS, M. L.; LIU, K.; et al. Midlife body mass index and hospitalization and mortality in older age. **JAMA**. v.295, p.190-198, 2006.
6. TAVAZZI, L.; MAGGIONI, A. P.; MARCHIOLI, R.; et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **Lancet**. v.372, p.1223-1230, 2008.
7. KENCHAIHAH, S.; EVANS, J. C.; LEVY, D.; WILSON, P. W.; BENJAMIN, E. J.; LARSON, M. G.; KANNEL, W. B.; VASAN, R. S. Obesity and the risk of heart failure. **N Engl J Med**. v.347, p.305-313, 2002.
8. SWYNGHEDAUW, B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. **Physiol. Rev**. v. 79, p. 215-262, 1999.

9. COHN, J. N.; FERRARI, R.; SHARPE N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 35, p. 569-582, 2000.
10. LIMA-LEOPOLDO, A. P.; SUGIZAKI, M. M.; LEOPOLDO, A. S.; CARVALHO, R. F.; NOGUEIRA, C. R.; NASCIMENTO, A. F.; MARTINEZ, P. F.; LUVIZOTTO, R. A.; PADOVANI, C. R.; CICOGNA, A. C. Obesity induces upregulation of genes involved in myocardial Ca<sup>2+</sup> -handling. **Braz J Med Biol Res.** v.41, n.7, p.615-620, 2008.
11. OLIVEIRA JR, S. A.; OKOSHI, K.; LIMA-LEOPOLDO, A. P.; et al. Nutritional and cardiovascular profiles of normotensive and hypertensive rats kept on a high fat diet. **Arq Bras Cardiol.**v.93, n.5, p.526-33, 2009.
12. OLIVEIRA JUNIOR, S. A.; DAL PAI-SILVA, M.; MARTINEZ, P. F.; et al. Differential nutritional, endocrine, and cardiovascular effects in obesity-prone and obesity-resistant rats fed standard and hypercaloric diets. **Med Sci Monit.** v.16, n.7, p.208-217, 2010 a.
13. LIMA-LEOPOLDO, A. P.; LEOPOLDO, A. S.; SUGIZAKI, M. M.; BRUNO, A.; NASCIMENTO, A. F.; LUVIZOTTO, R. A.; DE OLIVEIRA, S. A, JR. PADOVANI, C. R.; CICOGNA, A. C. Myocardial dysfunction and abnormalities in intracellular calcium handling in obese rats. **Arq Bras Cardiol.**v.97, n.3, p.232-240, 2011.
14. OLIVEIRA JUNIOR, S. A.; PADOVANI, C. R.; RODRIGUES, S. A.; et al. Extensive impact of saturated fatty acids on metabolic and cardiovascular profile in rats with diet-induced obesity: a canonical analysis. **Cardiovasc Diabetol.** v.12, n.1, p.65, 2013.
15. OLIVEIRA-JUNIOR, A .S.; MARTINEZ, F. P.; GUIZONI, M. D. AT1 Receptor Blockade Attenuates insulin Resistance and Myocardial Remodeling in Rats with Diet- Induced Obesity. **Plos Onde.** v.9, n.1, 2014. Disponível em:

<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0086447>. Acesso em: 21 de Agosto de 2014.

16. OLIVEIRA JUNIOR, S. A.; DAL PAI-SILVA, M.; MARTINEZ, P. F, et al. Diet induced obesity causes metabolic, endocrine and cardiac alterations in spontaneously hypertensive rats. **Med Sci Monit.** v.16, n.12, p.367-373, 2010 b.

17. DOBRIAN, A. D.; DAVIES, M. J.; PREWITT, R. L.; LAUTERIO, T. J. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. **Hypertension.** v.35, p.1009-15, 2000.

18. BOUSTANY, C. .M.; BROWN, D. R.; RANDALL, D. C.; CASSIS, L. A. AT1-receptor antagonism reverses the blood pressure elevation associated with diet-induced obesity. **Am. J. Physiol.** Regul. Integr. Comp. Physiol. v. 289, n.1, p. 181-186, 2005.

19. CAMPOS, D. H. S, et al. A Obesidade Preserva a Função do Miocárdio Durante o Bloqueio da Via Glicolítica. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo , v. 103, n. 4, Oct. 2014. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2014002200009&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2014002200009&lng=en&nrm=iso) . Acesso em 21 de Agosto de 2014

20. PFEFFER, J. M.; PFEFFER, M. A.; FROHLICH, E. D. Validity of an indirect tail-cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. **J Lab Clin Med.** v. 78, n.6, p.957-8, 1971.

21. NASCIMENTO, A. F.; LUVIZOTTO, R. A.; LEOPOLDO, A. S.; LIMA-LEOPOLDO, A. P.; SEIVA, F. R.; JUSTULIN, L. A. JR, et al. Long-term high-fat diet-induced obesity decreases the cardiac leptin receptor without apparent lipotoxicity. **Life Sci.**v.88, n.23-24, p.1031-8, 2011.

22. WHITE, S. A. P.; CERCATO, M L.; ARAUJO, D. M. J. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da

insulina e intolerância a glicose. **Arq. Bras. Endocrinol.** v.57, n.5, pp. 339- 345, 2013.

23. LIMA- LEOPOLDO, P. A.; LEOPOLDO, S. A.; SILVA, T. C. D. Influencia de prolongados períodos de obesidade sobre a expressão gênica miocárdica. **Arq Bras. Cardiol.** v.100, n.3, p.229-237, 2013.

24. HALADE, G. V.; JIN, Y. F.; LINDSEY, M. L. Roles of saturated vs. polyunsaturated fat in heart failure survival: not all fats are created equal. **Cardiovasc Res.** v.93, n.1, p.4-5, 2012.

25. GERMAN, J B.; DILLARD, C.J: Saturated fats: what dietary intake? **Am J Clin Nutr.** v.80, n.3, p. 550-559, 2004

26. KOOPMANS, S. J.; DEKKER, R.; ACKERMANS, M. T.; SAUERWEIN, H. P.; SERLIE, M. J.; VAN BEUSEKOM, H. M. M.; HEUVEL, M.; GIESSEN, W. J. Dietary saturated fat/cholesterol, but not unsaturated fat or starch, induces C-reactive protein associated early atherosclerosis and ectopic fat deposition in diabetic pigs. **Cardiovasc Diabetol.** v.10, n.64, p.64, 2011.

27. ENGELI, S.; SCHLING, P.; GORZELNIAK, K.; BOSCHMANN, M.; JANKE, E.; AILHAUD, G, et al. The adipose-tissue renin-angiotensin-aldosterone system: role in the metabolic syndrome?. **Int J Biochem Cell Biol.**v.35, n.6, p.807-825, 2003.

28. GOVINDARAJAN, G.; ALPERT, M.; TEJWANI, L. Endocrine and metabolic effects of fat: Cardiovascular implications. **Am J Med.** v.121, n.5, p.366-370, 2008.

29. SILVA, T. C. D.; LIMA-LEOPOLDO, P. A.; LEOPOLDO, S. A.; et al. Influência do tempo de exposição à obesidade induzida por dieta hiperlipídica sobre os colágenos tipo 1 e 3 Miocárdico. **Arq. Bras. Cardiol.** v.102, n.2, p.157-164, 2014.

30. OUWENS, D. M.; BOER, C.; FODOR, M.; et al. Cardiac dysfunction induced by high-fat diet is associated with altered myocardial insulin signaling in rats. **Diabetologia**. V.48, p.1229-1237, 2005.

31. OUWENS, D. M.; DIAMANT, M.; FODOR, M. Cardiac contractile dysfunction in insulin-resistant rats fed a high-fat diet is associated with elevated CD-36-mediated fatty acid uptake and esterification. **Diabetologia**. v.50, p.1938-48, 2007.

**Autores:**

Fernando Martins<sup>1</sup>; Silvio Assis de Oliveira Junior. <sup>2</sup>

---

1 Mestrando do Programa de Pós Graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste, UFMSI.

2 Orientador de Mestrado, Doutor e Professor Adjunto do curso de graduação em Fisioterapia e do Programa de Pós Graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste, UFMS.

## ANEXO A - Acordo de Cooperação UFMS x UNESP



Serviço Público Federal  
Ministério da Educação  
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



## **INSTRUÇÃO DE SERVIÇO Nº 049, de 16 de abril de 2014.**

**A PRÓ-REITORA DE PLANEJAMENTO E ORÇAMENTO**, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, no uso de suas atribuições e, considerando a delegação de competência contida na Portaria 327, de 19 de maio de 2008 e o que consta no processo nº 23104.006318/2012-83, **resolve**:

Designar o servidor **SILVIO ASSIS DE OLIVEIRA JUNIOR**, matrícula SIAPE nº 18003286, como gestor do Acordo de Cooperação nº 029/2014 – UFMS, celebrado entre a Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – UNESP, através da Faculdade de Medicina Botucatu e a Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, que tem por objeto cooperação na área de pesquisa científica, para desenvolvimento do Projeto “Relação entre expressão molecular de receptores do tipo 1 (AT1), proteínas MAPK e remodelação cardíaca em ratos obesos”

**MARIZE TEREZINHA LOPES PEREIRA PERES**

Pró-reitoria de Planejamento e Orçamento/PROPLAN  
Cidade Universitária, s/n \* Caixa Postal 549 Fone: 067xx 3345-7273  
CEP 79070-900 \* Campo Grande (MS) \*  
<http://www.ufms.br> e-mail: [gab.proplan@ufms.br](mailto:gab.proplan@ufms.br)



## ANEXO B - Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) UFMS



Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
**Comissão de Ética no Uso de Animais / CEUA**

**C E R T I F I C A D O**

Certificamos que o Protocolo nº 420/2012 do Pesquisador Silvio Assis de Oliveira Júnior referente ao projeto de pesquisa "Relação entre expressão molecular de receptores do tipo I (ATI), proteínas MAPK e remodelação cardíaca em ratos obesos", está de acordo com a legislação vigente e demais disposições da ética em investigação que envolvem diretamente os animais e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA/UFMS, em reunião ordinária de 17 de maio 2012.

Campo Grande (MS), 18 de maio de 2012.

Drª Joice Stein

Coordenadora da CEUA



Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
**Comissão de Ética no Uso de Animais /CEUA**

## DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que o pesquisador Silvio Assis de Oliveira Júnior – CCBS/UFMS, encaminhou a esta Comissão de Ética no Uso de Animais solicitação para alteração de título e procedimentos complementares da metodologia científica, justificados e anexados ao Processo N° 23104.002468/2012-18, Protocolo N° 420/2012, passando o título de "Relação entre expressão molecular de receptores do tipo I (ATI), proteínas MAPK e remodelação cardíaca em ratos obesos" para "Influência do antagonismo da angiotensina II sobre indicadores de remodelação e resistência à insulina no miocárdio de ratos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica", porém mantendo-se os números de processo e protocolo iniciais. Os procedimentos adicionais de metodologia científica não ferem os preceitos éticos e legais.

Campo Grande, 04 de fevereiro de 2013.



Joice Stein

Vice- coordenadora da CEUA

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

<http://www.propp.ufms.br/ceua>

[ceua@propp.ufms.br](mailto:ceua@propp.ufms.br)

fone (67) 3345-7184