



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

AMANDA MARTINS MATIAS

**Caracterização de Remodelação Cardíaca em Modelo
Experimental de Obesidade a partir de Diferentes Tipos de Dietas
Hipercalóricas**

VITÓRIA

2017

AMANDA MARTINS MATIAS

**Caracterização de Remodelação Cardíaca em Modelo
Experimental de Obesidade a partir de Diferentes Tipos de Dietas
Hipercalóricas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em
Nutrição e Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo
como requisito final para obtenção do título de Mestre em
Nutrição e Saúde.

Orientador: Prof. Dr. André Soares Leopoldo

VITÓRIA

2017

AMANDA MARTINS MATIAS

**Caracterização de Remodelação Cardíaca em Modelo
Experimental de Obesidade a partir de Diferentes Tipos de Dietas
Hipercalóricas**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição e Saúde do Centro de Ciências da Saúde, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Nutrição e Saúde.

Aprovada em ___ de _____ de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. André Soares Leopoldo
Orientador

Profa. Dra. Alessandra Simão Padilha
Membro Externo

Prof. Dr. Fabiano Kenji Haraguchi
Membro Interno

Prof. Dr. Lucas Guimarães Ferreira
Suplente Interno

Prof. Dr. Leonardo dos Santos
Suplente Externo

Dedicatória

Dedico esse trabalho àqueles que me incentivaram e me apoiaram nessa conquista.

Em especial à minha mãe por tudo que sempre fez para que eu e minha irmã tivéssemos a oportunidade conquistar nossos sonhos.

À Ester, por toda paciência durante a execução desse trabalho e por entender o quanto essa conquista é importante para mim.

À minha eterna professora e orientadora Cláudia Câmara de Jesus Weindler, por ter acreditado que eu faria mestrado até quando eu mesmo descreditei, por todo incentivo, por vibrar a cada conquista profissional minha, por ser um dos meus maiores exemplos como profissional e ter sido minha inspiração para carreira acadêmica.

E principalmente dedico não só esse trabalho, mas como tudo que há em mim, tudo que eu possuo, tudo o que eu sou a Deus, porque dele, por meio dele e para Ele são todas as coisas (Romanos 11:36). Pela sua infinita misericórdia e pela permissão da concretização desse e todos os meus sonhos e desejos, mesmo sem merecimento.

“Dedique a Deus tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos”

(Provérbios 16:3)

Agradecimentos Especiais

Ao meu orientador Professor Dr André Soares Leopoldo primeiramente por ter aceito um aluno "extra", pois no meu processo seletivo cada professor teria apenas um aluno, e então talvez eu não teria entrado para a primeira turma do PPGNS. Já se passaram mais de dois anos desde então, e foram muitas reuniões, muita cobrança, muito cronograma a cumprir, mas na mesma proporção houve parceria, companheirismo, dedicação e acima de tudo compreensão e preocupação por sua parte. Agradeço imensamente por toda troca de conhecimento durante esse tempo e pela autonomia concedida para algumas decisões, o que demonstrou confiança na minha capacidade. Obrigada por ter sido seguro quando eu estava insegura, por ter sido otimista quando eu disse que daria tudo errado... tenha certeza que cresci muito durante esse tempo, tanto no âmbito científico, como pessoal, e você faz parte disso. Não tenho palavras para expressar minha admiração e gratidão! Meu muito obrigada por tudo!

À Professora Dra Ana Paula Lima Leopoldo, que como coorientadora auxiliou nas ideias da construção do projeto, por todas as dicas para melhorar minha apresentação, pela orientação no estágio docência, e pela troca de conhecimento e discussões sobre meu trabalho que me faziam pensar e buscar uma resposta. Mas em especial eu quero agradecer à Ana, aquela que tive o privilégio de conhecer sem os títulos, que tem um coração tão grande que não sei como cabe dentro dela, que me ensina a ser alguém mais tolerante, me incentiva, me dá dicas para a vida (para tudo...), me dá bronca, me chama atenção e eu sei que é para o meu bem. Obrigada por ter permitido te conhecer assim, mais de perto, tem sido um grande privilégio para mim!

Ao amigo Me. Jóctan Pimentel Cordeiro, por ter me apresentado o LAFIBE sem me conhecer muito bem, e por toda troca de conhecimento ao longo desse tempo. Além da amizade e parceria também.

Ao amigo Wagner Müller Estevam por toda entrega durante meu experimento, desde a confecção das rações, durante o protocolo, na eutanásia dos animais, por embarcar nas minhas ideias malucas. Agradeço, por todo empenho, mesmo sem esperar nada em troca, não é todo dia que encontramos pessoas como você por aí...Muito obrigada!

À amiga Priscila Murucci Coelho, por ter aceito realizar o experimento ao meu lado, e ter se doado de tal forma ao ponto de passar por cima de todos os problemas pessoais que estava enfrentando, ter adiado seu próprio projeto e ter assumido uma responsabilidade que poucas pessoas aceitariam. No primeiro dia do experimento você me disse: "ou saímos daqui inimigas, ou muito amigas". Que bom que a segunda opção prevaleceu. Obrigada por todo empenho, seriedade e principalmente pela amizade. Parte desse trabalho é seu também!

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por mais essa vitória, entre várias que já vivi, pois sei que ao permitir que sua vontade prevaleça à minha, alcanço muito mais que desejo e preciso. Não haveriam palavras suficientes para descrever minha gratidão, e agradeço por colocar em minha vida pessoas que foram fundamentais nessa trajetória:

Em especial à minha mãe, por absolutamente tudo! Por todo esforço para permitir que eu pudesse apenas me dedicar aos estudos, mesmo que isso significasse abrir mão de tantas outras coisas. Por me ensinar o que realmente importa na vida, pelas orações, pelo cuidado, por cada lágrima enxugada nos momentos de aflição, pela compreensão de que essa é a realização de um sonho e teve muito sacrifício, ausência, ansiedade, estresse... Agradeço à Ester, por todo companheirismo, principalmente nas nossas aventuras (embora durante o mestrado não tive tempo de nos perdermos por aí), por me lembrar que devo ser seu exemplo, por se orgulhar de mim, pela amizade que temos, pelas confidências, pelas risadas, por toda ajuda inclusive tabulando dados comigo, lavando caixas no laboratório, e principalmente por me ouvir, mesmo sem entender quase nada sobre o que estava falando. Mãe e Ester, só nós sabemos o quanto essa conquista significa para nós, pois essa é uma vitória não só minha, mas nossa! E eu poderia escrever páginas e páginas de agradecimentos e seriam insuficientes... Nós três somos uma unidade, "porque se um cair, dois te levantarão. Um cordão de três dobras não se rompe com facilidade" (Eclesiastes 4:12).

Agradeço ao meu pai pelo amor, carinho, apoio, orgulho que sente em saber que estou conquistando meus objetivos, por compreender minha ausência, pela ajuda em momentos importantes, por saber que posso ligar qualquer dia e horário e estará disposto a vir ao meu encontro me "socorrer". Muito obrigada!

A toda equipe do RU, pela paciência, apoio e por todas as vezes que precisei me ausentar e vocês foram compreensivos. Não posso esquecer de agradecer à minha equipe de cozinha (cozinheiros, auxiliares, nutris), que sempre se mostraram preocupados comigo, quando percebiam que estava tensa ou não estava dormindo direito e chegava cheia de olheiras, cansada, e isso muitas vezes refletia diretamente na minha atenção com todos. Vocês foram fundamentais nesse período!

Também agradeço à Marina, por absolutamente todo esforço em permitir que eu frequentasse as aulas, fosse aos congressos, participasse dos experimentos, me incentivando e principalmente por entender o quanto tudo era importante para mim, e além de todo apoio profissional, quero que saiba que sua amizade foi uma das mais gratas surpresas que o RU me trouxe! Suas palavras ficaram marcadas na minha memória (coisa que eu tenho demais e você de menos rs): "se dedique muito e curta essa fase, pois ela não volta".

Aos colegas do LAFIBE: Andressa, Catarina, Izabor, Jéssika, Alexandre, Taynan, Jean, alunos de IC, por toda convivência e aprendizado ao longo desse tempo, e principalmente por entenderem minhas limitações quanto ao tempo, meu cansaço e stress. Aproveito para pedir desculpas pelas brincadeiras, por todas as vezes que cheguei no laboratório desconcentrando todo mundo, falando alto e igual uma metralhadora, sinceramente muito obrigada por me "aturarem".

Agradeço a minha equipe de eutanásia, uma das fases mais difíceis dessa trajetória, e vocês estiveram lá, abrindo mão do tempo, do convívio com a família, dos feriados e fins de semana! Como prometido... agradeço às Priscilas (Spadeto, Murucci e Rossi), que nessa fase foram meus alicerces, tiveram sanidade em meio a minha loucura, me fizeram rir, enxugaram minhas lágrimas! Jamais poderia deixar de agradecê-las!

Aos demais professores, alunos e colaboradores do NUPEM pelo convívio e troca de experiências e informações.

Aos professores e alunos do LEMC, LUCCAR, Laboratório de Fisiopatologia Cardiovascular pela parceria nas análises, todo suporte e ajuda nas coletas de dados.

Ao Professor Doutor Douglas Haese pela contribuição na elaboração e confecção das rações experimentais. À empresa Nutriave Alimentos e todos os colaboradores envolvidos pela parceria na fabricação das rações.

A toda minha família pelas orações, apoio e compreensão, e por vibrar com todas as minhas conquistas, demonstrando orgulho ao olhar de onde eu vim e onde estou chegando.

As minhas amigas Taty, Lesliane, Rhamilla, por sempre torcerem por mim! E principalmente por me aguentarem falando do mestrado, reclamando, choramingando, acho que não é uma tarefa muito fácil.... Tenho certeza que Deus uniu nossos caminhos!

Ao CNPQ pelo apoio financeiro.

Ao PPGNS pela oportunidade de cursar o mestrado.

Agradeço a todos que contribuíram direta e indiretamente para realização deste trabalho.

"Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado, com certeza vai mais longe." (Clarice Lispector)

*“Conheça todas as teorias,
domine todas as técnicas,
mas ao tocar uma alma humana,
seja apenas outra alma humana.”*

Carl Jung

RESUMO

A obesidade é considerada uma epidemia mundial e um grave problema de saúde pública. Diversos agravos são associados ao excesso de tecido adiposo, sendo a obesidade considerada fator de risco independente para o desenvolvimento de remodelação e insuficiência cardíaca. O objetivo do presente estudo foi o desenvolvimento e caracterização de um modelo de obesidade experimental a partir de três dietas hipercalóricas, uma hiperglicídica (HG), uma hiperlipídica (HL) e uma hiperlipídica com açúcar (HLA), as quais acarretassem remodelação cardíaca e predisposição à insuficiência cardíaca. A hipótese dessa investigação foi que as dietas hipercalóricas iriam promover remodelação cardíaca, prejuízos cardiovasculares e predispor ao quadro de insuficiência cardíaca, sendo essa condição mais evidente no modelo hiperlipídico com açúcar. Ratos *Wistar* (n = 60) foram randomizados em quatro grupos: controle (C), hiperglicídico (HG), hiperlipídico (HL) e hiperlipídica com açúcar (HLA). Foram mensuradas características gerais e comorbidades. O processo de remodelação cardíaca foi avaliado por meio dos pesos do coração, câmaras cardíacas e relações com o comprimento da tíbia, bem como, microscopicamente, a partir da determinação da área seccional transversa do miócito e fração de colágeno intersticial do ventrículo esquerdo (VE). A avaliação funcional *in vivo* foi determinada pela análise hemodinâmica e *in vitro* por meio da técnica de cardiomiócito isolado. A insuficiência cardíaca foi analisada pela congestão pulmonar, hipertrofia do ventrículo direito (VD), e parâmetros hemodinâmicos. Os dados foram expressos por média e erro padrão da média, sendo submetidos à análise de variância (ANOVA) para amostras independentes. O nível de significância considerado foi de 5%. Os resultados demonstram que os modelos HL e HLA acarretaram obesidade a partir do aumento dos depósitos de tecido adiposo e índice de adiposidade (C= 8,3 ± 0,2%; HL= 10,9 ± 0,5%; HLA= 10,2 ± 0,3%; p<0,05). As comorbidades encontradas foram hipertensão arterial, intolerância à glicose (HL e HLA) e hiperleptinemia (HL). Não houve alteração nos parâmetros morfológicos que caracterizassem o processo de remodelação cardíaca. Em relação às análises funcionais, a obesidade acarretou redução no tempo até 50% do encurtamento (C= 160 ± 4 ms vs. HL= 134 ± 2, p< 0,05) e tempo até 50% do relaxamento (C: 160 ± 4 ms; HL: 134 ± 3 e HLA: 133 ± 3, p< 0,05). O modelo HG acarretou disfunção contrátil, visualizada por menor percentual (C: 8,34 ± 0,32%; HG: 6,91 ± 0,28; p<0,05) e velocidade máxima de encurtamento (C: -2,58 ± 0,10 μm/s; HG: -2,21 ± 0,08; p< 0,05). Em conclusão, os modelos experimentais proposto neste estudo não foram capazes de promover remodelação e predisposição à insuficiência cardíaca sob condições de obesidade ou excesso de sacarose.

Palavras chaves: obesidade, dietas hipercalóricas, remodelação miocárdica, insuficiência cardíaca.

ABSTRACT

Obesity is a worldwide epidemic and a serious public health problem. Several diseases are associated with excess of adipose tissue, and obesity is considered an independent risk factor for the development of cardiac remodeling and heart failure. The objective of the present study was the development and characterization of an obesity experimental model from hypercaloric diets, a high sucrose (HS), high fat (HF) and high fat and sucrose (HFS), which resulted in cardiac remodeling and predisposition to heart failure. The hypothesis of this investigation was that hypercaloric diets would promote cardiac remodeling, cardiovascular damage and predispose to heart failure, being this condition more evident in the high fat and sucrose model. *Wistar* rats (n = 60) were randomized into four groups: control (C), high sucrose (HS), high fat (HF) and high fat and sucrose (HFS). General characteristics and comorbidities were measured. The process of cardiac remodeling was evaluated through the weights of the heart, left and right ventricles, atrium, and relationships with the tibia length. The myocyte cross sectional area and fraction of interstitial collagen of the left ventricle were evaluated. *In vivo* functional evaluation was determined by hemodynamic and *in vitro* by analysis of isolated cardiomyocyte. Heart failure was analyzed by pulmonary congestion, right ventricular hypertrophy, and hemodynamic parameters. Data were expressed by mean and standard error of the mean and were submitted to analysis of variance (ANOVA) for independent samples. HF and HFS models led to obesity by increase in adipose tissue deposition and adiposity index (C = $8.3 \pm 0.2\%$, HF = $10.9 \pm 0.5\%$, HFS = $10.2 \pm 0.3\%$, $p < 0.05$). Comorbidities were hypertension, glucose intolerance (HF and HFS) and hyperleptinemia (HF). There was no change in the morphological parameters that characterize the cardiac remodeling process. Regarding the functional analyzes, the obesity promotes reduction in time to 50% of shortening (C = 160 ± 4 ms vs. HF = 134 ± 2 , $p < 0.05$) and time to 50% of the relaxation (C: 160 ± 4 ms, HF: 134 ± 3 and HFS: 133 ± 3 , $p < 0.05$). The HS model presented contractile dysfunction visualized by reduction in the shortening (C: $8.34 \pm 0.32\%$, HS: 6.91 ± 0.28 , $p < 0.05$) and maximal shortening velocity (C: $-2, 58 \pm 0.10$ $\mu\text{m} / \text{s}$, HS: -2.21 ± 0.08 , $p < 0.05$). In conclusion, the experimental models proposed in this study were not promote cardiac remodeling and predisposition to heart failure under conditions of obesity or sucrose excess.

Keywords: obesity, hypercaloric diets, myocardial remodeling, heart failure.

LISTA DE ABREVIATURAS

Akt – Proteína kinase B	OMS – Organização Mundial de Saúde
ANOVA – Análise de variância	PA – Pressão Arterial
ASC – Área Sob a Curva	PAD – Pressão Arterial Diastólica
AST – Área Seccional Transversa	PAS – Pressão Arterial Sistólica
AT – Átrio Total	PC – Peso Corporal
ATP – Adenosina Trifosfato	PCF – Peso Corporal Final
C – Grupo Controle	PCI – Peso Corporal Inicial
Ca⁺² – Cálcio	PDFVE – Pressão Diastólica Final
Canal L – Canal de Cálcio do Tipo L	Intraventricular Esquerda
CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais	PE - Percentual de Encurtamento
CS – Comprimento do Sarcômero	PI3K - Fosfatidilinositol-3-cinase
DB – Digestion Buffer	PLB - Fosfolambam
DG – Dieta Hiperglicídica	PN – Peso <i>in natura</i>
DH – Dieta Hiperlipídica	PS – Peso Seco
DHA – Dieta Hiperlipídica com Açúcar	PSVE – Pressão Sistólica Final
DHGNA - Doença Hepática Gordurosa não Alcoólica	Intraventricular Esquerda
DP – Dieta Padrão	RS - Retículo Sarcoplasmático
+dP/dt_{máx} – Máxima Derivada de Pressão Intraventricular Positiva	RyR2 – Receptores de Rianodina tipo 2
-dP/dt_{máx} – Máxima Derivada de Pressão Intraventricular Negativa	SBC -Sociedade Brasileira de Cardiologia
EA – Eficiência Alimentar	SERCA2a – Bomba de Cálcio do RS
EGTA – Ácido etileno glicol tetracético	t encurt_{50%} - 50% do pico de encurtamento
ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	t relax_{50%} - 50% do pico de relaxamento
EPM – Erro Padrão da Média	TAU – Constante De Tempo Do Relaxamento
FC – Frequência Cardíaca	TG – Triglicerídeos
FCO – Farinha de Carne e Ossos	TNF-α – Fator de Necrose Tumoral- α
GC – Gordura Corporal	TTG – Teste de Tolerância à Glicose
GLUT 4 – Transportador de Glicose 4	VD – Ventrículo Direito
HDL – Lipoproteínas de Alta Densidade	VE – Ventrículo Esquerdo
HE – Hematoxilina-eosina	VLDL – Lipoproteína de Densidade Muito Baixa
HEPES - N-2-hidroxietil Piperazina N-2-Etano Sulfônico	VME - Velocidade Máximas de Encurtamento
HG – Grupo Hiperglicídico	VMR - Velocidade Máxima de Relaxamento
HL – Grupo Hiperlipídico	
HLA – Grupo Hiperlipídico com Açúcar	
HOMA-IR – Homeostatic Model Assessment - Insulin Resistance	
IA – Índice de Adiposidade	
IC – Insuficiência Cardíaca	
IL-6 – Interleucina 6	
LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade	
Mtor – Mammalian Target of Rapamycin	
NCX – Trocador Sódio/Cálcio	

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Composição das dietas experimentais	25
Quadro 2. Composição de macronutrientes (%) e densidade calórica das rações.....	25

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do protocolo experimental de 20 semanas.....	23
Figura 2. Depósitos de gordura epididimal, retro peritoneal e visceral.....	26
Figura 3. Representação Esquemática do protocolo de aferição da pressão arterial.....	27
Figura 4. Representação esquemática da cirurgia de canulação do ventrículo esquerdo através da artéria carótida direita.....	30
Figura 5. Representação esquemática do sistema utilizado para aquisição de dados hemodinâmicos.....	33
Figura 6. Representação dos momentos/etapas de isolamento, digestão e perfusão do cardiomiócito.....	32
Figura 7. Representação esquemática do aparato utilizado no isolamento de cardiomiócitos.....	33
Figura 8. Representação dos momentos/etapas do isolamento de cardiomiócitos.....	34
Figura 9. Representação de um miócito cardíaco.....	34
Figura 10. Representação de um registro da contratilidade na frequência de 1Hz de um animal do grupo controle.....	35
Figura 11. Representação esquemática do encurtamento de um cardiomiócito isolado.....	35
Figura 12. Evolução semanal do peso corporal dos grupos experimentais.....	38
Figura 13. Representação dos depósitos de gordura de um animal do grupo controle e do grupo hiperlipídico.....	40
Figura 14. Teste de tolerância à glicose.....	42
Figura 15. Área sob a curva glicêmica.....	42
Figura 16. Pressão arterial sistólica e Frequência cardíaca.....	43
Figura 17. Área seccional transversa, Fração de Colágeno e Comprimento do sarcômero..	48
Figura 18. Critérios para diagnóstico de insuficiência cardíaca.....	49
Figura 19. Variáveis contráteis analisadas em cardiomiócitos isolados após estimulação elétrica de 1Hz.....	51
Figura 20. Representação esquemática da influência de alta ingestão de sacarose na hipertrofia cardíaca durante sobrecargas pressóricas.....	67
Figura 21. Patofisiologia da obesidade na cardiomiopatia.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características gerais dos grupos experimentais.....	39
Tabela 2. Características alimentares dos grupos experimentais.....	41
Tabela 3. Parâmetros hemodinâmicos arteriais e ventriculares.....	44
Tabela 4. Características bioquímicas dos grupos experimentais.....	45
Tabela 5. Características morfológicas cardíacas dos grupos experimentais.....	46
Tabela 6. Peso <i>in natura</i> dos tecidos pulmonar, hepático e pancreático.....	47
Tabela 7. Teor de água nos tecidos cardíaco e hepático.....	47

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS.....	21
2.1 Geral.....	21
2.2 Específicos	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1 - Animais.....	22
3.2 - Delineamento Experimental	23
3.3 - Formulação e Composição das Dietas	24
3.3.1 Formulação	24
3.3.2 Composição.....	24
3.4 - Avaliação Nutricional.....	26
3.5 - Comorbidades	26
3.5.1 Pressão Arterial.....	26
3.5.2 Teste de Tolerância à Glicose.....	27
3.5.3 Perfil Lipídico.....	27
3.5.4 Dosagem Sérica de Leptina	28
3.6 - Caracterização da Remodelação e Insuficiência Cardíaca	28
3.6.1 Remodelação Cardíaca.....	28
3.6.2 Hemodinâmica.....	29
3.6.3 Estrutura do coração <i>post mortem</i>	30
3.6.4 Área Seccional Transversa do Miócito (AST)	30
3.6.5 Colágeno Intersticial Miocárdico	31
3.6.6 Determinação do Teor de Água nos Tecidos Cardíaco, Pulmonar e Hepático	31
3.6.7 Cardiomiócito Isolado	31

3.6.7.1 Isolamento do cardiomiócito	32
3.6.7.2 Contratilidade Cardíaca	34
3.6.7.2.1 Parâmetros funcionais.....	35
3.7 - Insuficiência Cardíaca	36
3.8 - Análise Estatística.....	36
4 - RESULTADOS	37
4.1 - Evolução do Peso Corporal	37
4.2 - Características Gerais	38
4.3 - Comorbidades	41
4.4 - Características Morfológicas e Funcionais Cardíacas	45
5 - DISCUSSÃO	52
5.1 - Modelo Experimental de Obesidade.....	52
5.1.1. Modelo Experimental de Obesidade e Comorbidades	58
5.2 - Obesidade e Remodelação Cardíaca.....	65
5.2.1 - Influência da Obesidade Sobre a Estrutura Cardíaca	65
5.2.2 - Influência da Obesidade Sobre a Função Cardíaca	68
5.3 - Obesidade e Insuficiência Cardíaca.....	71
6 – CONCLUSÃO	74
7 - REFERÊNCIAS.....	75
ANEXO 1- CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	87

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença de múltiplas causas, sendo caracterizada pelo aumento de tecido adiposo e é considerada epidemia mundial e grave problema de saúde pública (DOURMASHKIN et al., 2005; HURT et al., 2010). Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostraram que em 2014 mais de 1,9 bilhões de adultos, acima de 18 anos, estavam com sobrepeso e desses, 600 milhões eram obesos (OMS, 2016). No Brasil, as mudanças demográficas, sócio-econômicas e epidemiológicas ao longo do tempo permitiram que ocorresse a denominada transição nutricional, com diminuição progressiva da desnutrição e aumento da obesidade (BATISTA FILHO, 2003). Dados recentes do Ministério da Saúde mostraram que o excesso de peso no Brasil cresceu 26,3% na última década, passando de 42,6% em 2006 para 53,8% em 2016. Em relação a obesidade, os dados são mais alarmantes, uma vez que houve aumento de 60%, passando de 11,8% para 18,9% no mesmo período (BRASIL, 2017).

Embora existam evidências sugerindo que algumas populações são mais susceptíveis à obesidade por motivos genéticos, alguns autores enfatizam que a prevalência da obesidade em diferentes grupos populacionais está relacionada aos fatores ambientais, em especial ao perfil de alimentação e ao sedentarismo (PEREIRA et al., 2003; ROSINI et al., 2012). A obesidade é relacionada a alguns agravos, dentre eles as dislipidemias, resistência à insulina, diabetes mellitus tipo 2, certos tipos de câncer e doenças cardiovasculares (GUH et al., 2009).

Além disso, a literatura destaca que a intensidade e duração da obesidade são associadas ao processo de remodelação e insuficiência cardíaca (ABEL et al., 2008; BASTIEN et al., 2014; CLARK et al., 2014; SCHUTTER et al., 2014). Remodelação cardíaca é o conjunto de alterações genéticas, moleculares, neuro-hormonais, celulares e intersticiais que podem modificar a massa, geometria ou função do coração, em resposta à uma agressão. Esse processo pode acontecer de forma fisiológica e adaptativa, tal como em atletas, ou de forma patológica, como por exemplo, na hipertensão e estenose aórtica, a partir de sobrecargas de volume e pressão (PONTES e LEÃES, 2004). Na obesidade, o excesso de tecido adiposo requer aumento das demandas metabólicas, o que gera sobrecarga crônica de volume e, conseqüentemente, resulta em remodelação do ventrículo esquerdo (VE) com dilatação e hipertrofia compensatória (ASHRAFIAN et al., 2011). A insuficiência cardíaca é definida como "síndrome clínica caracterizada por sintomas e sinais físicos (...) É o estado patológico em que uma anormalidade da função miocárdica é responsável pela falha do coração para

bombear sangue a uma taxa compatível com os requisitos dos tecidos" (BRAUNWALD et al., 1967). Assim, alterações na hemodinâmica cardiovascular, produzidas pela obesidade, podem modificar a morfologia e função cardíaca. A associação da obesidade à diversas comorbidades como a hipertensão arterial, apneia do sono e algumas alterações neuro-hormonais e metabólicas, pode induzir à insuficiência cardíaca, doença conhecida como cardiomiopatia da obesidade (ALPERT et al., 2014; ALPERT et al., 2016).

Levando-se em consideração que as alterações na obesidade contribuem para o processo de remodelação cardíaca e, posteriormente, insuficiência cardíaca, os aspectos dietéticos vêm sendo estudados para elucidar os possíveis mecanismos relacionados a essa condição. Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) diferentes padrões alimentares modulam fatores de risco cardiovasculares. A alta ingestão de gorduras, por exemplo, não está somente relacionada ao metabolismo lipídico, como aumento dos níveis séricos de LDL, mas o tipo de gordura ingerida também pode influenciar a resistência à insulina e modificar a pressão arterial (SANTOS et al., 2013).

A ingestão de carboidratos também merece atenção na gênese das doenças cardiovasculares. Dietas com alto consumo de carboidratos simples podem resultar em maior exposição do coração à insulina, a qual ativa a síntese proteica cardíaca e pode promover hipertrofia ventricular esquerda em resposta às sobrecargas pressóricas por mecanismos mediados pela sinalização de proteína quinase serina/treonina (Akt) (SHIOJIMA et al., 2002; SHARMA et al., 2007).

Nesse contexto, o estudo do processo de remodelação cardiovascular, bem como o risco de desenvolvimento de insuficiência cardíaca em resposta à obesidade pode ser facilitado com a utilização de modelos de experimentação animal (ROSINI et al., 2012). Alguns estudos desenvolvem a obesidade a partir de mutações genéticas, no entanto, a indução dessa condição, via consumo de alimentos altamente palatáveis e com alto valor energético, parece ser o mais apropriado, levando-se em consideração que o modelo experimental deve ser o mais próximo possível da gênese da obesidade em humanos (DONG et al., 2006; CARROL et al., 2006; BRAINARD et al., 2013).

A maioria dos estudos que utiliza dietas hipercalóricas se baseia em dietas de cafeteria, as quais muitas vezes não reproduzem com acurácia o perfil alimentar da população (CARVALHO et al., 2013). Dietas de cafeteria são misturas de dietas padrão de biotério com formulação fechada adicionadas a alimentos calóricos (GAJDA et al., 2007). O uso das dietas de cafeteria pode acarretar desequilíbrios nutricionais nos animais, uma vez que há variação na composição de alimentos *in natura*. Além disso, o conteúdo exato e a composição dessas dietas

não são padronizados, assim como não são adequadamente descritas nas metodologias dos artigos (NASCIMENTO et al., 2008). Dentro desse contexto, o uso de dietas padronizadas pode minimizar a variabilidade das composições, além de a mensuração dos nutrientes ofertados aos animais.

Estudos utilizando rações hipercalóricas demonstraram resultados significativos quanto à composição corporal, como aumento de tecido adiposo e perfil bioquímico, como, por exemplo, elevação dos níveis de triglicerídeos, aumento da glicemia e resistência à insulina (WOODS et al., 2003; DOURMASHKIN et al., 2005, WHITE et al., 2013, OLIVEIRA 2014). A literatura também destaca que a obesidade induzida por dietas hipercalóricas promove remodelação cardíaca com alterações na morfologia e/ou função cardíaca em roedores (BARNES et al., 2003; OKERE et al., 2006; DE MORAES et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2013, MARTINS et al., 2015). Relling et al. (2008) demonstraram que animais, submetidos a uma dieta rica em gordura durante 12 semanas, apresentaram déficit da função contrátil de miócitos ventriculares. Liu & Lloyd (2013) observaram diminuição da função contrátil cardíaca após isquemia-reperfusão miocárdica em animais que consumiram que dieta rica em gordura e baixas quantidades de carboidratos. Em nosso laboratório, recentemente, foi demonstrado disfunção miocárdica em condições basais e remodelação cardíaca fisiológica em animais que desenvolveram obesidade a partir do consumo de dietas com alto teor de gordura (LIMA-LEOPOLDO et al., 2008; LEOPOLDO et al., 2010; LEOPOLDO et al., 2011; LIMA-LEOPOLDO et al., 2011).

Além do uso de dietas hiperlipídicas, estudos avaliam o efeito de dietas ricas em carboidratos simples, tais como sacarose e frutose, sobre a função e morfologia cardíaca, entretanto, os resultados ainda são inconsistentes (CHESS, STANLEY, 2008; MELLOR et al., 2010; MELLOR et al., 2011). Sharma et al. (2007), observaram em animais hipertensos que a dieta com frutose, durante oito semanas, acarretou aumento da espessura da parede do ventrículo esquerdo e da mortalidade, quando comparados à animais alimentados com dieta com alto teor de gordura, carboidrato complexo ou dieta do estilo ocidental. Os autores notaram resultados similares quando utilizaram a sacarose como fonte de carboidrato pelo mesmo período (SHARMA et al., 2008). Em contrapartida Salie et al. (2014) demonstraram efeito cardioprotetor pós-isquemia reperfusão em ratos *Wistar*, utilizando dieta com suplementação de sacarose por 16 semanas, mostrando que houve maior tolerância à isquemia.

A associação de dietas hiperlipídicas com carboidratos simples também tem sido utilizada em modelos experimentais de obesidade com intuito de elucidar os efeitos cardiovasculares desse tipo de dieta. Carbone et al. (2015), utilizando dieta hiperlipídica

saturada e açúcar por oito semanas, demonstraram disfunção sistólica e diastólica cardíaca, entretanto, os autores destacam que os mecanismos pelos quais essas dietas promovem obesidade com conseqüente prejuízo na função cardíaca ainda não são bem compreendidos. Embora não tenham realizado a avaliação direta do perfil inflamatório dos animais, os autores sugerem que o desenvolvimento de disfunção cardíaca pode ter sido em resposta à liberação de citocinas cardiodepressoras. Gonçalves et al. (2016) observaram hipertrofia ventricular, fibrose intersticial, maior rigidez e prejuízo no relaxamento cardíaco em ratos *Wistar* alimentados por 6 semanas com dieta hiperlipídica com açúcar. Os autores sugerem que o remodelamento cardíaco foi conseqüência de alterações metabólicas, tais como resistência à insulina.

Apesar de evidências dos prejuízos cardiovasculares causados por dietas hiperlipídicas e hiperglicídicas, ainda não está claro se essas dietas promovem insuficiência cardíaca. Sendo assim, torna-se de extrema importância elucidar se a remodelação cardíaca induzida por dietas hipercalóricas poderia acarretar insuficiência cardíaca em resposta à obesidade e, por conseqüência, os desfechos clínicos ligados a essa condição biométrica.

Diante do exposto, a proposta do estudo foi o desenvolvimento e caracterização de modelo de obesidade experimental a partir de três dietas hipercalóricas, uma hiperglicídica, uma hiperlipídica e uma hiperlipídica com açúcar, as quais acarretassem distúrbios cardiovasculares com predisposição à insuficiência cardíaca. A hipótese dessa investigação foi que as dietas hipercalóricas iriam promover remodelação cardíaca, prejuízos cardiovasculares e predispor ao quadro de insuficiência cardíaca, sendo essa condição mais evidente no modelo hiperlipídico com açúcar.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Caracterização de remodelação e insuficiência cardíaca em modelo de obesidade experimental induzido por diferentes tipos de dietas hipercalóricas.

2.2 Específicos

- Formulação de diferentes rações hipercalóricas, sendo uma hiperglicídica, uma hiperlipídica saturada e outra com associação da gordura saturada e açúcar simples;
- Avaliação do perfil nutricional, metabólico, bioquímico, hormonal, cardiovascular e sinais de remodelação cardíaca em modelo de obesidade experimental;
- Identificação e caracterização de sinais de insuficiência cardíaca em modelo de obesidade experimental.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Animais

No presente estudo foram utilizados 60 ratos *Wistar*, com 30 dias de idade, mantidos em gaiolas individuais de polipropileno com tampas de arame cromado e forradas com maravalha de *Pinus*, ciclo invertido de iluminação (12 horas claro/escuro), temperatura ($24 \pm 2^\circ\text{C}$) e a umidade ($55 \pm 5\%$) controladas. Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com o Manual de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório (NIH, 1996) e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Espírito Santo sob o protocolo número 08/2016 em 01 de julho de 2016 (Anexo 1).

Inicialmente, após um período de sete (7) dias para aclimação, os animais foram distribuídos de forma randomizada em quatro grupos:

- **Controle (C):** alimentados com dieta padrão (n=15);
- **Hiperglicídico (HG):** alimentados com dieta com açúcar e água com açúcar (n= 15);
- **Hiperlipídico (HL):** alimentados com dieta rica em gordura saturada (n=15).
- **Hiperlipídico com açúcar (HLA):** alimentados com dieta hiperlipídica saturada e acréscimo de açúcar simples (n=15).

Diariamente, os ratos receberam 40 g de ração e após 24 horas a quantidade de ração não consumida foi mensurada. A ingestão diária foi calculada a partir da subtração desses valores (40g - quantidade não consumida). A oferta de água foi *ad libitum* para os grupos C, HL e HLA; o grupo HG recebeu água com açúcar (300 g/L) em semanas alternadas (*ad libitum*) durante todo o protocolo experimental. A solução de água com açúcar foi ofertada (500 ml por semana) e a quantidade não consumida mensurada (total ofertado – total não consumido).

Com a finalidade de analisar a capacidade de o animal converter a energia alimentar consumida em peso corporal foi calculada a eficiência alimentar (EA), dividindo-se o ganho total de peso dos animais (g) pela energia total ingerida (Kcal) e multiplicado por 100 (IRVING et al., 2009; KIM et al., 2000). A ingestão calórica foi calculada pela ingestão alimentar semanal multiplicada pelo valor calórico de cada dieta (g x kcal) (KOCH et al., 2014). Para o cálculo da ingestão calórica do grupo HG, a caloria proveniente da ingestão de água com açúcar também foi quantificada (1,2 kcal/ML consumido).

3.2 - Delineamento Experimental

O protocolo experimental foi constituído de um período total de 20 semanas. Após o nascimento (M1), os animais permaneceram no Biotério Central da UFES até o desmame (25 dias), sendo posteriormente transferidos para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Experimental (LAFIBE). Após cerca de 10 dias de aclimação (M2), os animais com 35 dias (5 semanas) foram randomizados (M3) em quatro grupos (C, HG, HL e HLA) e submetidos aos tratamentos experimentais por 20 semanas (M4). Ao final da 20ª semana, análises *in vivo* (M4) e, posteriormente, *post mortem* (M5) foram realizadas. (Figura 1).

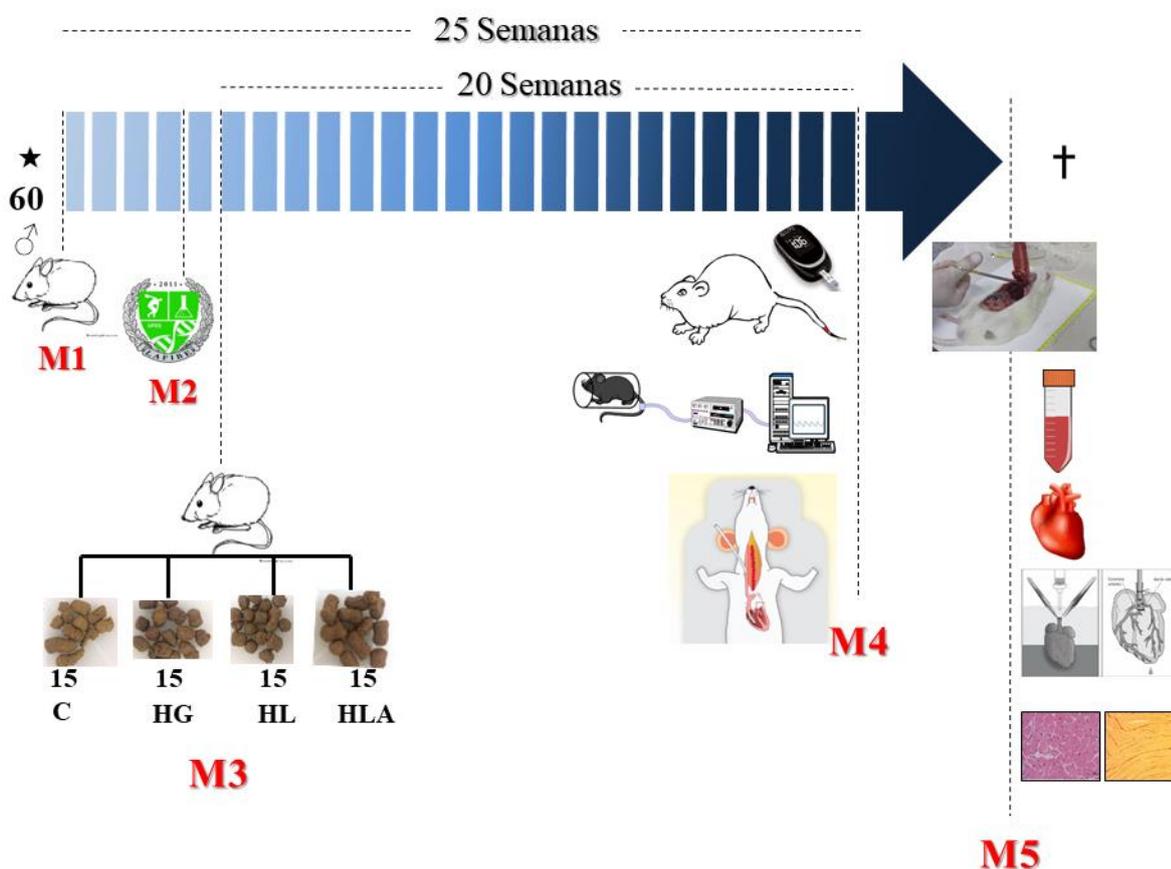


Figura 1. Representação esquemática do protocolo experimental de 20 semanas. As semanas estão representadas por barras individuais que formam a figura em formato de seta. Momento 1 (M1): nascimento dos animais (Biotério Central – UFES). Momento 2 (M2): período de aclimação no LAFIBE. Momento 3 (M3): início do protocolo experimental e randomização dos grupos: Controle (C), Hiperglicídico (HG), Hiperlipídico (HL) e Hiperlipídico com açúcar (HLA) (semana 0). Momento 4 (M4): análises *in vivo* (teste de tolerância à glicose, pletismografia de cauda e hemodinâmica) após 20 semanas, com duração de uma semana. Momento 5 (M5): término do protocolo experimental, eutanásia dos animais e realização das análises *post mortem* (análises bioquímicas, histologia, coleta de tecidos, cardiomiócito isolado).

3.3 - Formulação e Composição das Dietas

3.3.1 Formulação

A formulação das dietas seguiu o padrão de consumo alimentar da população brasileira descrita na Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) de 2009, que demonstra um consumo de açúcares livres e ácidos graxos saturados além das recomendações da OMS e acima do limite recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia, respectivamente (LEVY et al., 2012).

As dietas foram idealizadas no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Experimental da Universidade Federal do Espírito Santo e manipuladas na empresa Nutriave Alimentos[®] (Viana, Espírito Santo, Brasil). Os ingredientes utilizados para a confecção das rações foram misturados, homogeneizados e passaram pelo processo de extrusão (Extru-Tech Extruder, Model E-750, Sabetha, KS, USA) para processamento (± 120 °C, 25% de umidade, 5 segundos de processamento). O extrudado resultante (*pellets*) foi seco num secador transportador horizontal (20 minutos, temperatura: ± 70 °C).

3.3.2 Composição

As composições das dietas em g/kg encontram-se descritas no Quadro 1. A dieta padrão (DP) foi formulada com os seguintes ingredientes: milho, arroz quirera, óleo de soja, farinha de carne e ossos (FCO), glúten, sal, bentonita (material inerte), mix mineral e vitamínico. A bentonita é um tipo de argila sem valor nutricional, utilizada como aditivo em rações e com capacidade de adsorção de micotoxinas (FASSANI e DE BRITO, 2004)

As demais dietas foram formuladas a partir da dieta padrão, com modificações específicas para cada fim. Para a formulação da dieta hiperglicídica (DG) foi acrescentado açúcar em detrimento a bentonita. Na dieta hiperlipídica saturada (DH) houve acréscimo de banha de porco como fonte de gordura saturada em substituição ao óleo de soja e em detrimento da quantidade de bentonita. Para a composição da dieta hiperlipídica saturada com açúcar (DHA) foi acrescentado banha de porco, substituindo o óleo de soja e parte da bentonita, além de acréscimo do açúcar em substituição parcial de milho. A bromatologia das rações foi mensurada pela empresa Laborsolo[®] (Londrina, Paraná, Brasil) e está apresentada no Quadro 2.

Quadro 1. Composição das dietas experimentais

Componentes (g/kg)	Rações			
	DP	DG	DH	DHA
Milho	200	200	180	80
Arroz Quirera	200	200	200	200
FCO	120	120	120	120
Açúcar	-	100	-	100
Óleo de soja	75	75	-	-
Banha de porco	-	-	200	200
Glúten	200	200	200	200
Sal	3,5	3,5	3,5	3,5
Mix Mineral**	35	35	30	30
Mix Vitamínico**	16,5	16,5	16,5	16,5
Bentonita***	150	50	50	50
Total (g)	1000	1000	1000	1000

DP: Dieta Padrão; DG: Dieta Hiperglicídica; DH: Dieta Hiperlipídica; DHA: Dieta hiperlipídica com açúcar; FCO: farinha de carne e ossos. **Mix Vitamínico e Mineral industrial: vit. A, vit. D3, vit. E, vit. K3, vit. Complexo B, Ácido pantotênico, Ácido fólico, biotina, colina, vit. C, selênio, ferro, cobre, manganês, iodo, zinco, cobalto, cálcio, fósforo. *** Bentonita: material inerte, sem valor nutricional e calorias.

Quadro 2. Composição de macronutrientes (%) e densidade calórica das rações

Componentes (%)	Rações			
	DP	DG*	DH	DHA
Proteína	24,8	21,8	17,8	19,2
Carboidrato	49,6	52,3	44,6	43,4
Gordura	25,6	25,9	37,6	37,4
Densidade calórica (Kcal/g)	3,55	3,65	4,59	4,49

DP: Dieta Padrão; DG: Dieta Hiperglicídica; DH: Dieta Hiperlipídica; DHA: Dieta hiperlipídica com açúcar. *Os animais receberam dieta com carboidrato simples e água com açúcar (300g/L) em semanas alternadas. Para o cálculo do consumo calórico do HG, foi realizada a soma do valor calórico da ração (3,65 kcal/g) e o valor calórico da ingestão de água com açúcar (1,2 kcal/ml), nas semanas de consumo da água.

3.4 - Avaliação Nutricional

O perfil nutricional foi determinado pela análise do peso, gordura corporal e índice de adiposidade. O peso corporal dos animais foi aferido semanalmente, utilizando-se balança digital Edutec (Inca Tecnologia de Produtos e Serviços Ltda., Brasil). A quantidade de gordura corporal foi determinada a partir dos depósitos de gordura epididimal, retroperitoneal e visceral (Figura 2). O índice de adiposidade foi calculado, dividindo-se a gordura corporal (somatória dos depósitos epididimal, retroperitoneal e visceral) pelo peso corporal final (PCF), multiplicado por 100 (ROLLS et al., 1992; TAYLOR & PHILLIPS, 1996). O tamanho dos animais foi avaliado a partir do comprimento nasoanal (BERNARDIS & PATTERSON, 1968; TAYLOR & PHILLIPS, 1996).

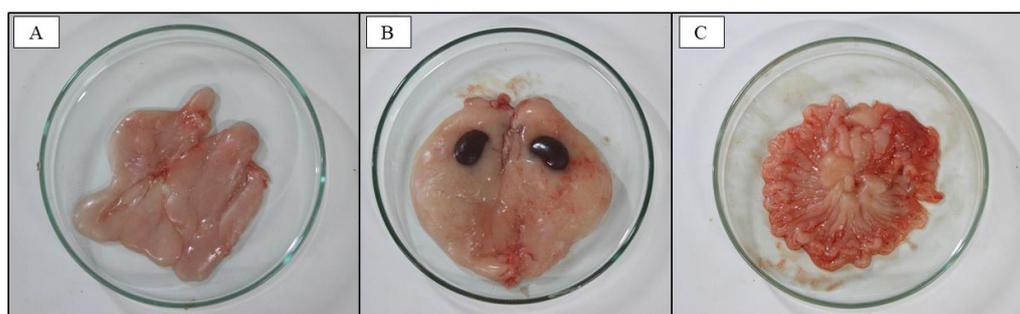


Figura 2. Depósitos de gordura epididimal (A); retroperitoneal (B) e visceral (C).

3.5 - Comorbidades

A determinação das comorbidades nos grupos experimentais foi realizada pela análise da pressão arterial sistêmica, intolerância à glicose e perfil lipídico conforme técnicas descritas abaixo:

3.5.1 Pressão Arterial

A pressão arterial sistêmica foi composta pela análise da pressão arterial sistólica (PAS) e frequência cardíaca (FC). Ao final do protocolo experimental (20^a semana), a PAS e a FC foram avaliadas indiretamente por meio do método de pletismografia de cauda acoplado ao sistema de aquisição de dados (IITC INC, Life Science, Woodland Hills, CA, USA). Os animais dos grupos C (n= 11), HG (n=13), HL (n=12) e HLA (n=13) foram acomodados em

câmara aquecida, por 10 a 15 minutos, com o intuito de promover vasodilatação da artéria caudal. Após o aquecimento, um manguito de borracha (*cuff*) foi conectado na região proximal da cauda dos animais e insuflado automaticamente até atingir 200 mmHg e, posteriormente, desinflado. Os valores da PAS e FC foram obtidos por meio dos sinais do transdutor acoplado ao computador e analisados em software específico (AcqKnowledge® MP100, Biopac Systems, Inc, Santa Barbara, CA, USA). Foi realizado uma média de 3 registros obtidos por animal, sendo descartados os registros associados com movimento da cauda e/ou outros agentes estressores que pudessem interferir na aferição da PA.

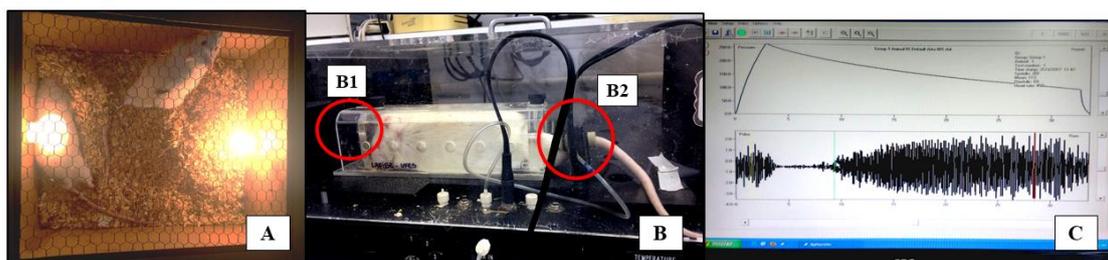


Figura 3. Representação Esquemática do protocolo de aferição da pressão arterial. A: câmara para aquecimento dos animais; B1: contêiner de acrílico para acomodação do animal e restrição de movimentos, B2: manguito de borracha conectado a cauda do animal; C: registro da PA.

3.5.2 Teste de Tolerância à Glicose

Para avaliar o perfil glicêmico dos grupos experimentais C (n= 10), HG (n=14), HL (n=11) e HLA (n=13) os animais permaneceram em jejum durante 6 horas, sendo analisados os níveis glicêmicos em condições basais e após sobrecarga intraperitoneal de 25% de glicose (Sigma-Aldrich, ® St Louis, MO, USA), equivalente a 2 g/kg (AKIYAMA et al., 1996). As amostras sanguíneas foram coletadas nos momentos 0, considerado condição basal, e após 30, 60, 90 e 120 minutos da infusão da glicose. A mensuração dos níveis glicêmicos foi realizada com glicosímetro portátil Accu-Chek Go Kit (Roche Diagnostic Brazil Ltda., São Paulo, Brasil). A tolerância à glicose foi avaliada pelo perfil da curva glicêmica e área sob a curva (ASC) para glicose.

3.5.3 Perfil Lipídico

Para análise do perfil lipídico, os animais C (n= 10), HG (n=14), HL (n=12) e HLA (n=11), permaneceram em jejum por 12 a 15 horas, sendo após esse período heparinizados (500U/kg/ip; Hepamax-S®, Blau Farmacêutica S.A, Cotia, São Paulo, Brasil) e anestesiados com cloridrato de ketamina (50 mg/kg/ip; Dopalen®, Sespo Indústria e Comércio Ltda. -

Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg/ip; Anasedan[®], Sespo Indústria e Comércio Ltda. - Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil). A seguir, as amostras de sangue foram coletadas em tubos *Falcon* e centrifugadas a 10000 rpm por 10 minutos (Heraeus Megafuge 16R Centrifuge, Thermo Scientific - Massachusetts, USA) e, posteriormente, armazenadas em freezer à -80°C (Coldlab Ultra Freezer CL374-86V, Piracicaba, São Paulo, Brasil). As concentrações séricas de triacilglicerol, colesterol total e lipoproteínas de alta densidade (HDL) foram determinadas utilizando-se *kits* específicos (Bioclin Bioquímica[®], Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil e Synermed do Brasil Ltda., São Paulo, Brasil) e analisadas pelo equipamento bioquímico automatizado BS-200 (Mindray do Brasil - Comércio e Distribuição de Equipamentos Médicos Ltda., São Paulo, Brasil).

3.5.4 Dosagem Sérica de Leptina

As concentrações de leptina foram determinadas pelo método Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) utilizando-se kits específicos (Linco Research Inc, St. Louis, MO, USA). A leitura foi realizada com auxílio de leitor de micro-placa (Asys Expert Plus Microplate Reader, Cambourne, Cambridge, UK).

3.6 - Caracterização da Remodelação e Insuficiência Cardíaca

3.6.1 Remodelação Cardíaca

O processo de remodelação cardíaca foi avaliado por meio de análises estruturais macro e microscópicas e funcionais. A estrutura cardíaca foi analisada, macroscopicamente, por meio dos pesos do coração, ventrículo esquerdo (VE), ventrículo direito (VD) e átrio total (AT) e relações com o comprimento da tíbia e, microscopicamente, a partir da determinação da área seccional transversa do miócito (AST) e fração de colágeno intersticial do VE. A avaliação funcional *in vivo* foi determinada pela análise hemodinâmica e *in vitro* por meio da técnica de cardiomiócito isolado. Os métodos utilizados para análise da remodelação cardíaca estão descritos abaixo.

3.6.2 Hemodinâmica

Após o término da 20^a semana, 6 animais de cada grupo experimental foram anestesiados via intraperitoneal com uretana (1,2 g/Kg) e submetidos à cirurgia de cateterização da artéria carótida direita para mensuração dos parâmetros cardiovasculares *in vivo* (Figura 4). O plano anestésico foi avaliado pela responsividade ao estímulo doloroso na pata do animal, e quando necessário, houve suplementação na dose utilizada. Após a anestesia, todos os ratos foram mantidos em manta aquecedora e com suplementação aerossol de oxigênio (0,5 L/min). A canulação da carótida direita foi realizada com um cateter millar (SPR-320, Freeway Houston, Texas, USA) e preenchido com salina heparinizada (50 UI/ml). O cateter foi acoplado a um transdutor de pressão (TSD 104A Biopac, Goleta, Califórnia, USA), conectado a um pré-amplificador interligado ao sistema (MP 100 Byopac Systems, Inc.; CA), o qual permitiu que a pressão do VE fosse registrada e processada por um computador (Figura 5). Após registro, o cateter foi retraído para a artéria carótida para registrar a pressão arterial e verificar se ocorreria lesão da válvula aórtica. Para o processamento dos dados foi utilizado um período de estabilização de no mínimo 10 minutos. Os seguintes parâmetros foram avaliados: pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD); frequência cardíaca (FC); pressão sistólica e diastólica final intraventricular esquerda (PSVE e PDfVE); máximas derivadas de pressão intraventricular positiva ($+dP/dt_{máx}$) e negativa ($-dP/dt_{máx}$), estas últimas obtidas a partir da aquisição da primeira derivada temporal dos registros de ondas de pressão intraventricular e a constante de tempo do relaxamento (TAU).

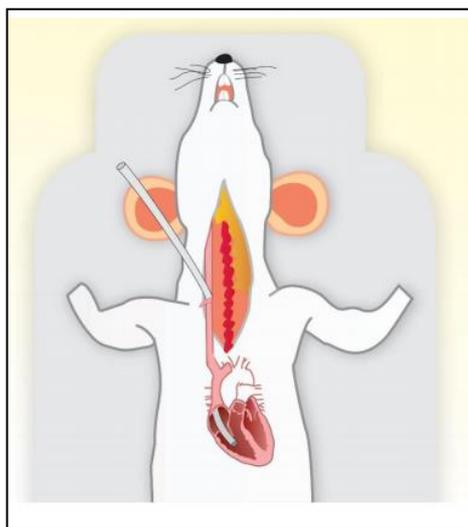


Figura 4. Representação esquemática da cirurgia de canulação do ventrículo esquerdo através da artéria carótida direita (Adaptado de Smith et al. 1979).

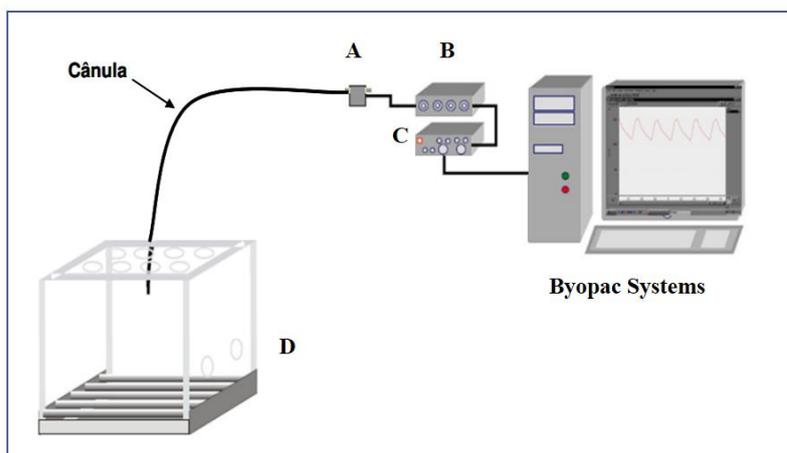


Figura 5. Representação esquemática do sistema utilizado para aquisição de dados. A: transdutor de pressão; B: amplificador analógico; C: conversor analógico digital; D: banho-maria utilizado para manter o cateter aquecido (37°C).

3.6.3 Estrutura do coração *post mortem*

A análise estrutural macroscópica *post mortem* permite identificar a presença de remodelação cardíaca ao nível atrial e ventricular (MATSUBARA et al., 2000). A remodelação ao nível macroscópico foi determinada pela análise dos seguintes parâmetros: peso total do coração, dos átrios, dos ventrículos esquerdo e direito, e das respectivas relações com o comprimento da tibia (SÁ et. Al, 2015). A tibia foi removida e limpa dos tecidos circundantes moles para posterior mensuração do comprimento a partir de um paquímetro (ZAAS Precision - Amatoools Comercial e Importadora Ltda.).

3.6.4 Área Seccional Transversa do Miócito (AST)

A análise da área seccional transversa do miócito foi realizada utilizando amostras do ventrículo esquerdo (VE). Após toracotomia mediana, o coração foi removido e amostras da parede anterior do VE foram retiradas. Os fragmentos foram colocados em solução de paraformaldeído (4%, pH 7.4) (FORECHI et al., 2015). A seguir, o tecido miocárdico foi transferido para solução de etanol 70% e incluído em bloco de parafina. Os cortes histológicos de 6 μm de espessura foram corados em lâmina com solução de hematoxilina-eosina (HE) e projetados em aumento de 40 vezes com o auxílio de microscópio, (AX70, Olympus Optical CO, Hamburg Germany), acoplado à câmera de vídeo, a qual envia imagens digitais a um computador dotado de programa de análise de imagens (Image Pro-plus, Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA). Para cálculo das áreas seccionais dos miócitos foram

mensuradas 50 células por VE. Os miócitos analisados, localizados na camada subendocárdica da parede muscular, estavam seccionados transversalmente e apresentavam forma arredondada com núcleo visível no centro da célula (MATSUBARA et al., 2000). Para caracterizar a ausência ou presença de hipertrofia cardíaca foram utilizadas as áreas seccionais transversas dos miócitos (AST; μm^2).

3.6.5 Colágeno Intersticial Miocárdico

A determinação do colágeno (%) foi realizada por meio da técnica de *Picrosirius Red*, sendo colágeno perivascular excluído e mensurado apenas o colágeno intersticial. Os fragmentos do VE foram transferidos para etanol 70% diluído em água, inclusos em blocos de parafina e corados com *Picrosirius Red*. A quantificação do colágeno intersticial foi realizada utilizando-se 15 campos por fragmento. Os componentes do tecido foram identificados de acordo com o nível de coloração: vermelho, fibras colágenas; amarelo, miócitos e branco, espaço intersticial.

Os cortes histológicos foram ampliados em 40 vezes com o auxílio de microscópio (AX70, Olympus Optical CO, Hamburg Germany) acoplado a uma câmera de vídeo, que envia imagens digitais a um computador dotado de programa de análises (Image Pro-plus, Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA).

3.6.6 Determinação do Teor de Água nos Tecidos Cardíaco, Pulmonar e Hepático

A retenção hídrica em alguns órgãos é característica do surgimento de insuficiência cardíaca (HILL, 1997). Nesse sentido, a avaliação do teor de água tecidual foi realizada em amostras de VE, VD, AT, pulmão e fígado. Após a remoção do tecido a ser examinado, o peso foi aferido *in natura* (PN). Em seguida, as amostras foram submetidas à secagem em estufa sob temperatura de $55 \pm 5^\circ\text{C}$, por um período de 48 horas, para obtenção do peso seco (PS). A determinação do teor de água foi expressa em valores relativos e calculada pela seguinte fórmula: $[(\text{PN}-\text{PS}) / \text{PN}] \times 100\%$.

3.6.7 Cardiomiócito Isolado

A análise funcional cardíaca *in vitro* foi realizada por meio da técnica de cardiomiócito isolado conforme técnica descrita por Guatimosim et al. (2001).

3.6.7.1 Isolamento do cardiomiócito

Ao final do protocolo experimental, 22 animais (C, n=5; HG, n= 6; HL, n= 6; HLA, n=5) foram heparinizados 30 minutos antes da eutanásia (500U/kg/ip; Hepamax-S[®], Blau Farmacêutica S.A, Cotia, São Paulo, Brasil) e anestesiados com cloridrato de ketamina (50 mg/kg/ip; Dopalen[®], Sespo Indústria e Comércio Ltda. - Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg/ip; Anasedan[®], Sespo Indústria e Comércio Ltda. - Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil), eutanasiados e submetidos à toracotomia mediana (Figura 6A). Os corações foram rapidamente removidos e transferidos para uma placa de petri contendo solução de digestão (Digestion Buffer - DB) mais ácido etileno glicol tetracético [(EGTA) - *ethyleneglycol-bis (β-aminoethylether) - N, N, N', N'- tetraaceticacid*] + N-2-hidroxietil piperazina N-2-etano sulfônico (HEPES) (Figura 6B). A solução DB consistia de solução básica com água ultrapura (milli-Q) e apresentava a seguinte composição (mM): NaCl (130); MgCl₂ (1,0); KCl (5,4); N-2-hidroxietil piperazina N-2-etano sulfônico (HEPES) (25); glicose (22); NAH₂PO₄ (0,33); pH = 7,39. Após a limpeza do coração, o tecido foi pesado em um becker contendo 20 ml da solução DB + EGTA + HEPES. A artéria aorta foi canulada utilizando-se a técnica de Langendorff e o coração perfundido com solução de DB+HEPES+EGTA em fluxo constante para limpeza dos vasos coronários por um período de 2 a 3 minutos (Figura 6C). Após a realização desse procedimento, o coração do grupo C foi perfundido com solução enzimática contendo solução DB, collagenase (24 mg) e Ca⁺² (1 mM) durante um período de 10 a 15 minutos. Nos grupos HG, HL e HLA, a solução enzimática foi acrescida de protease (1 mg) e o tempo médio de perfusão de 15 minutos. As soluções utilizadas neste processo foram continuamente aeradas com 95% de O₂ e 5% de CO₂ e mantidas em banho maria a 37,5°C (Figura 7).



Figura 6. Representação dos momentos/etapas de isolamento, digestão e perfusão do cardiomiócito: toracotomia mediana para retirada do coração (A); limpeza do coração em placa de petri (B); canulação da aorta (C).

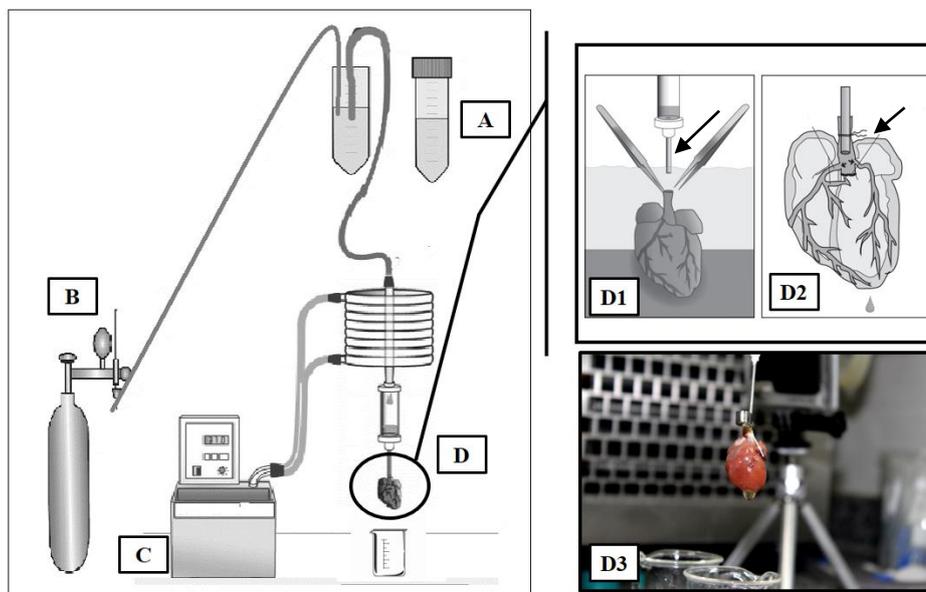


Figura 7. Representação esquemática do aparato: A: tubos com soluções de limpeza e enzimática para isolamento, digestão e perfusão; B: cilindro de mistura carbogênica para manter as soluções aeradas; C: banho circulante utilizado para manter a temperatura constante do aparato (37°C); D: cânula; D1: canulação pelo arco aórtico; D2: demonstração da perfusão de soluções após canulação; D3: coração canulado durante o protocolo experimental (adaptado de LOUCH et al., 2011).

Após o período de perfusão, os átrios foram retirados e o coração foi cortado em uma placa de petri contendo solução DB + albumina + collagenase + Ca^{+2} (1mM) (Figura 8A e B). Os fragmentos do coração (*pellet*) foram ressuspensos levemente em um becker com pipeta *pasteur* por 2 minutos em banho maria a 37,5°C. Em seguida, as células foram dissociadas, ressuspensas e filtradas. Após 10 minutos, o sobrenadante foi removido, mantendo o *pellet*, e posteriormente acrescentado soluções de DB + albumina + Ca^{+2} a 1 Mm (Figura 8C e D). A etapa descrita acima foi repetida duas vezes, no entanto, com mudanças na quantidade de Ca^{+2} (1,6 μL e 3,12 μL , respectivamente). A cada etapa, o tubo contendo as células e as soluções foi mantido em repouso por aproximadamente 10 minutos e o sobrenadante descartado. Após o término dessas etapas (duas trocas de solução) e retirada do sobrenadante, foi adicionado ao *pellet* solução estoque (Tyrode) com a seguinte composição (mM): NaCl (140); HEPES (10); NaH_2PO_4 (0,33); MgCl_2 (1); KCl (5); CaCl_2 (1,8) e Glicose (10). As soluções utilizadas neste processo foram aquecidas previamente a 37,5°C.

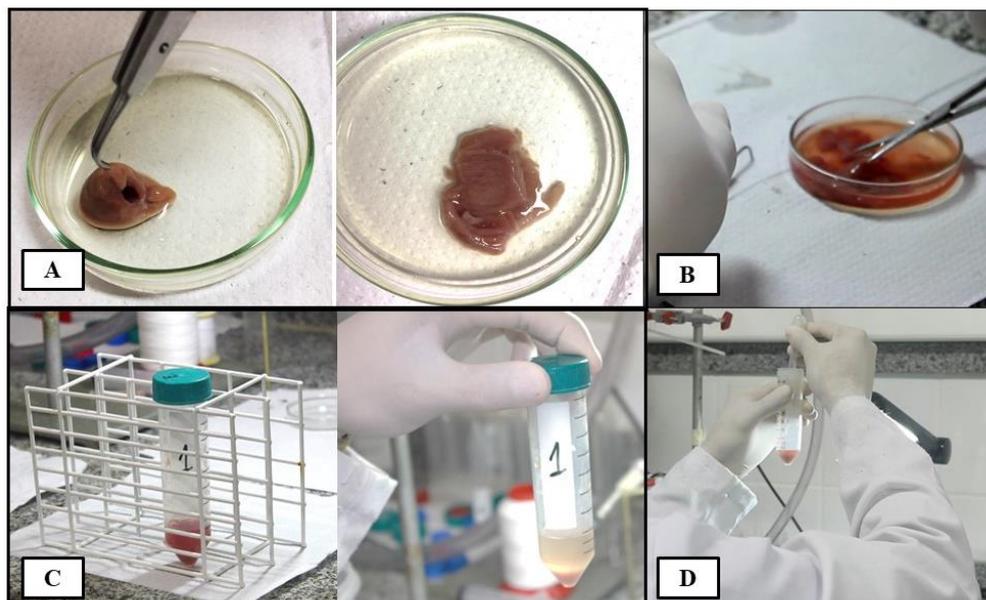


Figura 8. Representação dos momentos/etapas: retirada dos átrios (A); corte na placa de petri (B); tubo em repouso para formação do pellet (C); retirada do sobrenadante (D).

3.6.7.2 Contratilidade Cardíaca

A contração celular foi mensurada por meio da técnica de alteração do comprimento dos cardiomiócitos, utilizando um sistema de detecção de bordas acoplado ao microscópio invertido (IonOptix, Milton, MA, USA) com lente objetiva de 40 vezes (Nikon Eclipse - TS100, EUA). Os cardiomiócitos foram acomodados em câmara experimental com base de vidro, banhados por solução Tyrode e visualizados em um monitor por meio de uma câmera (Myocam, IonOptix, Milton, MA, USA, 240 Hz) acoplada ao microscópio com programa de detecção de imagens (Ionwizard, Ionoptix, Westwood, Massachusetts, USA).

Os cardiomiócitos foram estimulados em frequências de 1, 2 e 3 Hz com duração de 5 milissegundos e voltagem de 20 V, utilizando-se um par de eletrodos de aço e um estimulador elétrico de campo (Myopacer, IonOptix, Milton, MA, USA). As medidas de contração foram realizadas em cardiomiócitos isolados que apresentaram as seguintes condições: bordas e estriações sarcoméricas bem definidas, relaxados em repouso e sem apresentar contrações voluntárias (Figura 9).

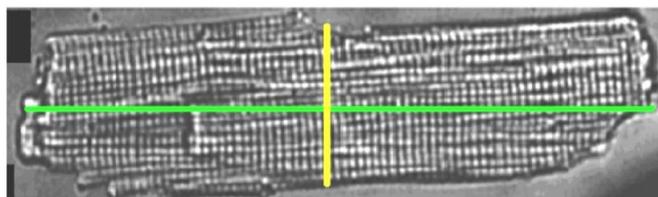


Figura 9. Representação de um miócito cardíaco.

3.6.7.2.1 Parâmetros funcionais

As propriedades contráteis dos cardiomiócitos foram avaliadas utilizando sistema de aquisição (SarcLen, IonOptix, Milton, MA). As alterações no comprimento dos sarcômeros (CS) foram registradas e, posteriormente, analisadas utilizando software específico (Ion Wizard, IonOptix, Milton, MA, EUA) (Figura 10). Foram avaliados o comprimento dos sarcômeros e os seguintes parâmetros contráteis: percentual de encurtamento (PE), velocidades máximas de encurtamento (VME) e relaxamento (VMR), tempos até 50% do pico de encurtamento ($t_{\text{encurt}50\%}$) e de relaxamento ($t_{\text{relax}50\%}$) (Figura 11).

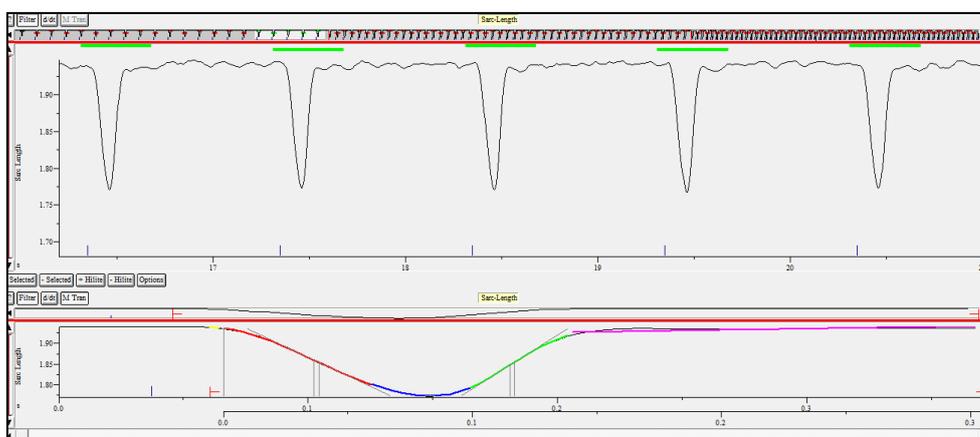


Figura 10. Representação de um registro da contratilidade na frequência de 1Hz de um animal do grupo controle.

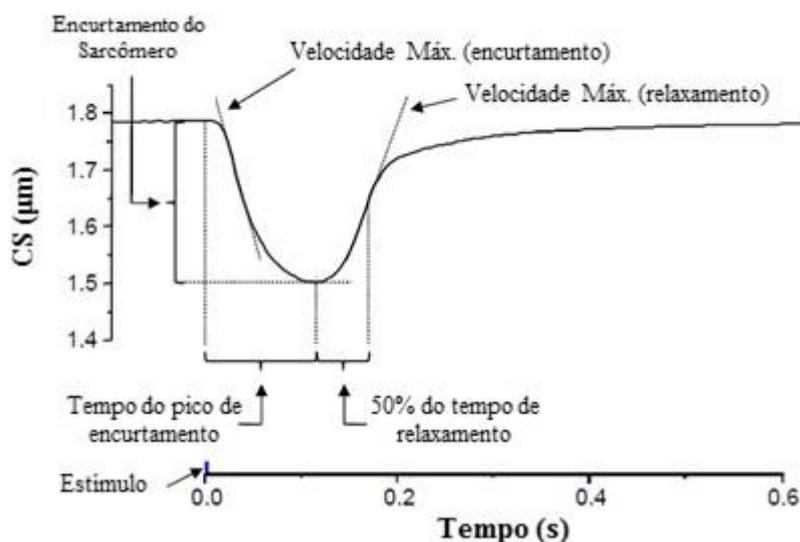


Figura 11. Representação esquemática do encurtamento de um cardiomiócito isolado e dos respectivos parâmetros da contração celular. CS: comprimento do sarcômero.

3.7 - Insuficiência Cardíaca

Os critérios utilizados para diagnóstico de insuficiência cardíaca (IC) estão descritos abaixo. Os animais deveriam se enquadrar em pelo menos três critérios para serem considerados com IC:

- I. **Congestão pulmonar:** foi avaliada a partir dos seguintes parâmetros:
 - a. Percentual de umidade acima de 80% (TUCCI, 2011);
 - b. Razão peso do pulmão direito (mg)/peso corporal (g) acima de 5 mg/g (TUCCI, 2011);
 - c. Razão peso do pulmão/peso corporal aproximadamente o dobro dessa mesma razão em relação ao grupo controle (FRANCIS et al., 2001; JASMIN et al., 2003; PEREIRA et al., 2005).
- II. **Hipertrofia do ventrículo direito (VD):** caracterizada pela relação do peso do ventrículo direito ajustado pelo peso corpóreo acima de 0,8 mg/g (POLEGATO et al., 2005).
- III. **Aumento da pressão diastólica do ventrículo esquerdo (PDFVE):** >15 mmHg (PEREIRA et al., 2005).
- IV. **Disfunção sistólica:** valor positivo máximo da primeira derivada temporal da pressão sistólica do ventrículo esquerdo < 7000 mmHg (TUCCI et al., 2011);

3.8 - Análise Estatística

Para as análises estatísticas, o programa estatístico utilizado foi o *SigmaStat* versão 3.5. Os dados foram expressos por meio de média \pm erro padrão da média (EPM) e submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov para averiguar a aderência à normalidade.

As características gerais, as comorbidades, as análises macro, microscópicas e funcionais cardíacas dos grupos experimentais foram submetidas à análise de variância (ANOVA) uma via (*fator dieta*) e complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey. A evolução do peso corporal e o teste de tolerância à glicose foram submetidos à ANOVA duas vias (*fatores dieta e tempo*) para o modelo de medidas repetidas e complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey. O nível de significância considerado para todas as variáveis foi de 5%.

4 - RESULTADOS

O protocolo experimental, inicialmente, era composto por 60 animais, distribuídos de forma randomizada em 4 grupos (C, n=15; HG, n=15; HL, n=15; HLA, n=15), entretanto, oito (8) animais morreram por causas desconhecidas e/ou após realização de algumas técnicas *in vivo*. Desta forma, permaneceram no estudo doze animais no grupo controle (C, n=12); quatorze animais no grupo hiperglicídico (HG, n=14); treze animais no grupo hiperlipídico (HL, n=13) e treze animais no grupo hiperlipídico com açúcar (HLA, n=13).

4.1 - Evolução do Peso Corporal

A Figura 12 ilustra a evolução do peso corporal dos animais durante as 20 semanas do protocolo experimental. O peso corporal do HL foi maior estatisticamente que o grupo C a partir da sétima semana de tratamento, permanecendo até o final do protocolo experimental. O grupo HLA apresentou diferença estatística no peso corporal em relação ao C apenas nas últimas quatro semanas de tratamento (17^a a 20^a semana; HLA > C). Na quarta semana, o HL apresentou maior peso corporal que o HG; essa diferença permaneceu até o fim do protocolo experimental. O HG também apresentou menor peso corporal que o HLA a partir da sexta semana (6^a a 20^a semana; $p < 0,05$), com exceção da 14^a semana, onde os pesos corporais desses grupos foram similares. Não houve diferença entre o peso corporal dos grupos C e HG durante o todo o protocolo experimental. O mesmo comportamento foi observado entre o HL e HLA (Figura 12).

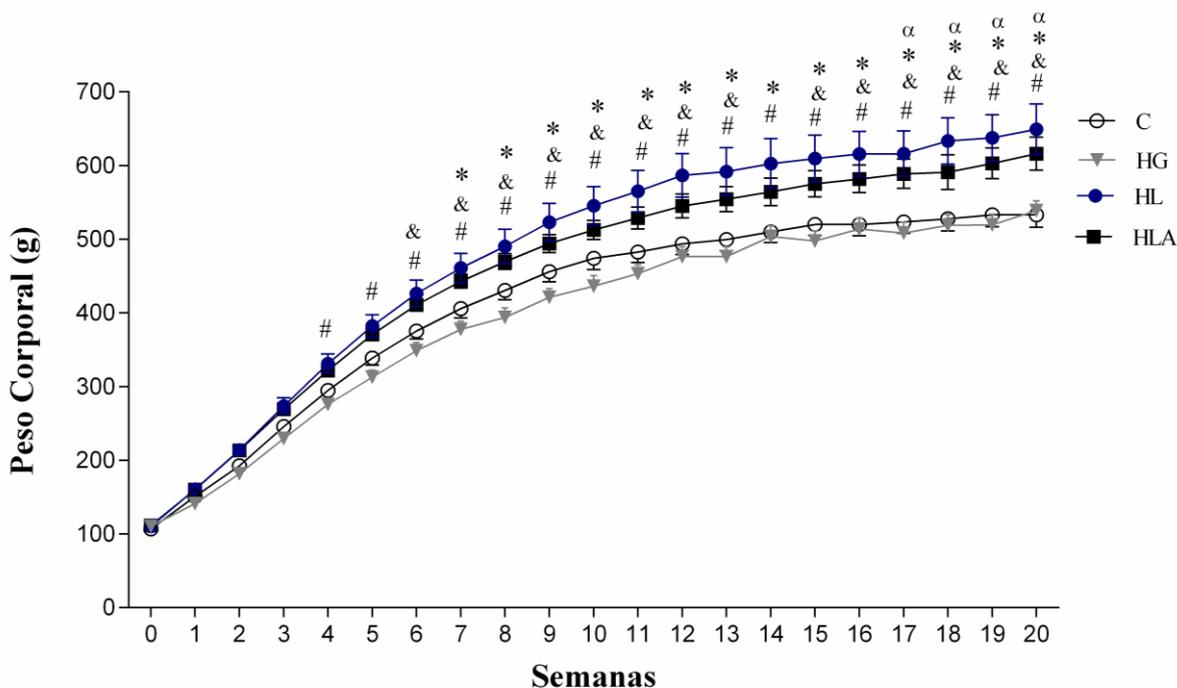


Figura 12. Evolução semanal do peso corporal dos grupos experimentais. Controle (C, n=12), Hiperglicídico (HG, n=14), Hiperlipídico (HL, n=13) e Hiperlipídico com açúcar (HLA, n=13). Dados expressos em média \pm EPM. ANOVA para o modelo de medidas repetidas em grupos independentes e complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. $p < 0,05$, *C vs. HL; α C vs. HLA; # HL vs. HG; & HLA vs. HG.

4.2 - Características Gerais

Após uma semana de aclimação, os grupos experimentais não apresentaram diferença estatística no peso corporal inicial (PCI) (Tabela 1). Ao final do protocolo experimental (20ª semana), os animais HL obtiveram um incremento de 22% no PCF e 26% no ganho de peso corporal quando comparados ao C, respectivamente. A Figura 13 representa o incremento do depósito de gordura retroperitoneal em animal do grupo HL. Embora não houve diferença estatística ($p=0,06$), o PCF e ganho de peso corporal do HLA foram 15% e 18% maiores que o C, respectivamente. Além disso, o HL apresentou maiores valores de PCF e ganho de peso corporal quando comparado ao HG (20% e 25%, respectivamente). Não houve diferença entre C e HG para os parâmetros PCF e ganho de peso corporal. O mesmo comportamento foi observado entre HL e HLA.

Os depósitos de gordura visceral e retroperitoneal foram maiores no HL e HLA em relação ao C e HG, respectivamente. Percentualmente, o HL apresentou acréscimo de 62% de gordura visceral e 84% de gordura retroperitoneal, quando comparado ao C (Figura 15); em

relação ao grupo HG, houve elevação de 74% e 85% (HL > HG), respectivamente. Semelhantemente, o incremento desses depósitos foi em torno de 39% (gordura visceral) e 57% (gordura retroperitoneal) no HLA quando comparado ao C. Em relação ao HG, o HLA apresentou um aumento de 50% e 58% nesses depósitos, respectivamente. Corroborando com esses achados, os resultados demonstram que a gordura total (somatório dos depósitos de gordura) foi 61% maior no HL e 43% maior no HLA em relação ao C. Além disso, houve aumento de 67% no HL e 48% no HLA, respectivamente, quando comparado ao HG. Essa elevação de gordura corporal nos grupos HL e HLA refletiu diretamente em maior índice de quando comparados ao C e HG. Os animais HL e HLA apresentaram maior comprimento nasoanal do que o C (Tabela 1). Não houve diferença no comprimento nasoanal entre os grupos C e HG ($p>0,05$). O HG não diferiu do C em nenhuma das variáveis analisadas ($p>0,05$); o mesmo comportamento foi observado entre HL e HLA (Tabela 1).

Tabela 1. Características gerais dos grupos experimentais

Variáveis	Grupos			
	C	HG	HL	HLA
PCI (g)	107 ± 3	110 ± 3	111 ± 3	110 ± 4
PCF (g)	533 ± 17	538 ± 13 [#]	649 ± 34 [*]	616 ± 22
Ganho de Peso Corporal (g)	426 ± 17	428 ± 12 [#]	538 ± 32 [*]	506 ± 20
Gordura Epididimal (g)	11,2 ± 0,6	10,5 ± 0,7	13,1 ± 0,9	13,5 ± 1,0
Gordura Visceral (g)	11,4 ± 0,6	10,6 ± 0,6 ^{#&}	18,5 ± 1,4 [*]	15,9 ± 1,4 [*]
Gordura Retroperitoneal (g)	21,9 ± 1,0	21,8 ± 2,0 ^{#&}	40,4 ± 4,5 [*]	34,4 ± 2,2 [*]
Gordura Total (g)	44,5 ± 1,6	42,9 ± 0,6 ^{#&}	72,0 ± 6,3 [*]	63,8 ± 4,3 [*]
Índice de Adiposidade (%)	8,3 ± 0,2	7,9 ± 0,3 ^{#&}	10,9 ± 0,5 [*]	10,2 ± 0,3 [*]
Comprimento nasoanal (cm)	27,1 ± 0,6	27,6 ± 0,7	28,0 ± 0,1 [*]	28,0 ± 0,3 [*]

Valores expressos em média ± EPM. C: Controle (n=12); HG: hiperglicídico (n=14); HL: hiperlipídico (n=13); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=13). PCI: Peso corporal inicial; PCF: Peso corporal final. ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. $p<0,05$; * vs. C; # HG vs. HL; & HG vs. HLA.

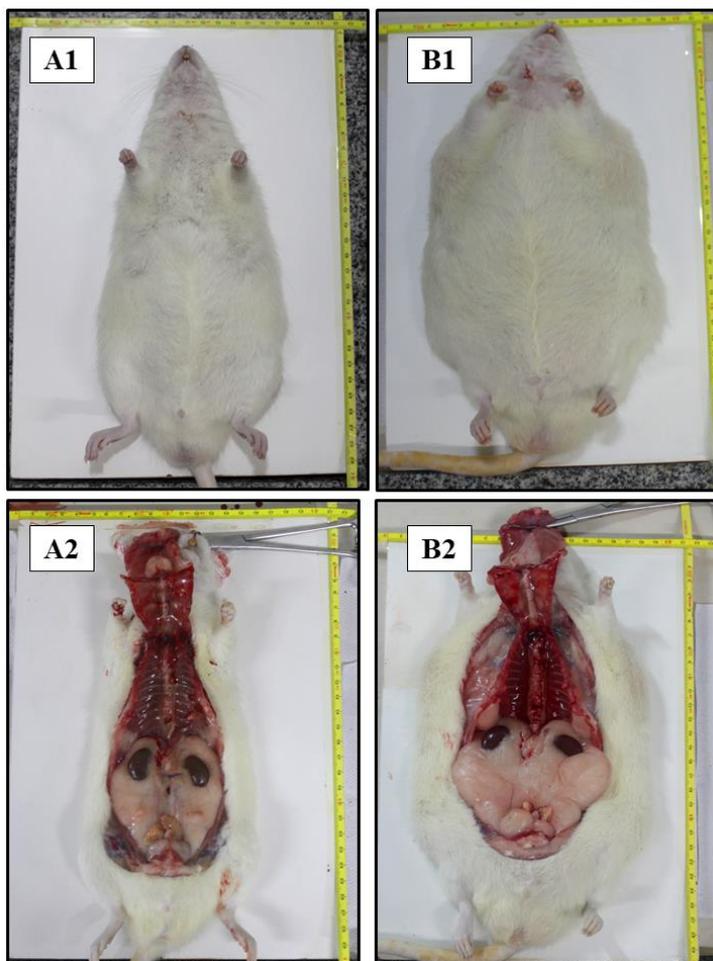


Figura 13. Representação dos depósitos de gordura de um animal do grupo controle (A1 e A2) e do grupo hiperlipídico (B1 e B2). As Figuras A1 e B1 evidenciam os animais anestesiados no momento que antecede a eutanásia. As Figuras A2 e B2 apresentam e destacam o depósito de gordura retroperitoneal, dos animais do grupo C e HL, respectivamente.

Em relação às características de consumo alimentar, o consumo em gramas (g) do grupo C foi maior que os demais grupos ($\uparrow 37\%$ vs. HG; $\uparrow 18\%$ vs. HL e; $\uparrow 29\%$ vs. HLA, $p < 0,05$). Além disso, o HL obteve maiores valores de consumo alimentar do que o HG (HG: $16,2 \pm 0,4$ vs. HL: $18,9 \pm 0,7$, $p < 0,05$). Não houve diferença no consumo alimentar entre os grupos HL e HLA e HG e HLA (Tabela 2).

O consumo calórico foi maior no HG em relação aos grupos C e HLA ($p < 0,05$). É importante ressaltar que o consumo calórico total do grupo HG foi calculado a partir da soma do consumo calórico proveniente da ração ($59,2 \pm 1,7$ kcal) e a média do consumo (kcal) proveniente da água com açúcar ($32,8 \pm 1,3$ kcal) (*dados não mostrados*). Além disso, o HL apresentou um acréscimo de 12% no consumo calórico do que o HLA ($p < 0,05$). Não houve diferença no consumo calórico do C em relação ao HL e HLA ($p > 0,05$).

Os grupos HL e HLA apresentaram aumento na eficiência alimentar em relação ao C, representando uma elevação percentual de 14% e 20%, respectivamente ($p < 0,05$). Em relação ao HG, os grupos HL e HLA obtiveram um incremento de 32% e 39% na eficiência alimentar ($p < 0,05$). O grupo HG apresentou eficiência alimentar similar ao C; o mesmo resultado foi observado entre HL e HLA (Tabela 2).

Tabela 2. Características alimentares dos grupos experimentais

Variáveis	Grupos			
	C	HG	HL	HLA
Consumo Alimentar (g/dia)	22,3 ± 0,7	16,2 ± 0,4* [#]	18,9 ± 0,7*	17,2 ± 0,4*
Consumo Calórico (kcal/dia)	79,2 ± 2,6	92,0 ± 2,0* ^{&}	86,9 ± 3,5	77,3 ± 1,7 ^α
Eficiência Alimentar (%)	3,84 ± 0,08	3,32 ± 0,05* ^{#&}	4,39 ± 0,09*	4,64 ± 0,08*

Valores expressos em média ± EPM. C: Controle (n=12); HG: hiperglicídico (n=14); HL: hiperlipídico (n=13); HLA: hiperlipídico com açúcar (n=13). ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. $p < 0,05$; * vs. C; [#] HG vs. HL; [&] HG vs. HLA, ^α HL vs. HLA.

4.3 - Comorbidades

Os resultados do teste de tolerância à glicose mostraram que os níveis glicêmicos basais não diferiam entre os grupos, entretanto, 30 e 60 minutos após a administração de glicose, a glicemia do HL e HLA estava significativamente mais elevada do que o C ($p < 0,05$). O HL também obteve maiores valores glicêmicos nesses mesmos momentos quando comparado ao HG (Figura 14). No entanto, após 90 e 120 minutos, os níveis glicêmicos dos grupos HL e HLA apresentaram valores similares ao C e HG. Os grupos C e HG obtiveram resultados similares em todos os momentos avaliados. Esse resultado foi o mesmo entre HL e HLA.

A ASC (mg.dL/min) dos grupos HL e HLA foi maior que a do grupo C (C = 1234 ± 57 *versus* HL = 1567 ± 70 e HLA = 1477 ± 41, $p < 0,05$), representando um acréscimo de 26% e 19%, respectivamente. Além disso, o HL apresentou valores maiores de ASC em relação ao HG (HL = 1340 ± 29 *vs.* HL = 1567 ± 70; $p < 0,05$). A ASC apresentou valores similares no HLA em relação ao HG e HL ($p > 0,05$). Os grupos C e HG não diferiram entre si para essa variável (Figura 15).

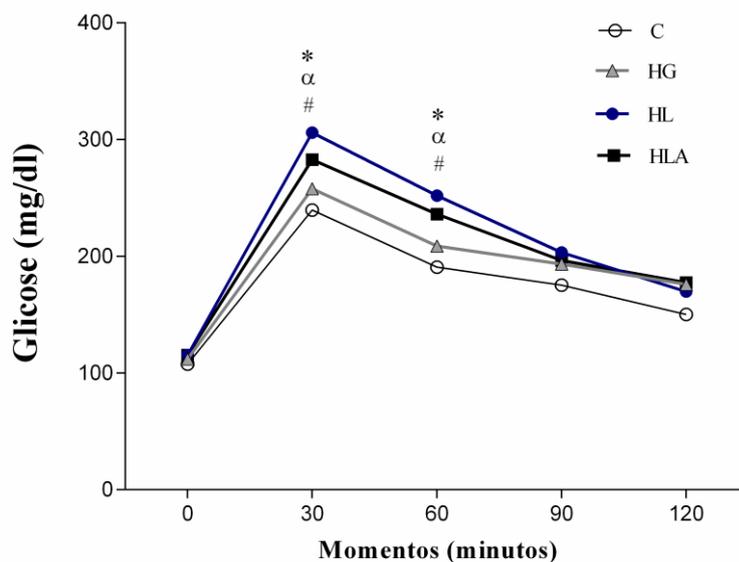


Figura 14. Teste de tolerância à glicose. C: Controle (n=10); HG: hiperglicídico (n=14); HL: Hiperlipídico (n=11); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=13). Valores expressos em média \pm EPM. ANOVA duas vias para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. $p < 0,05$; *HL vs. C; # HL vs. HG, α HLA vs. C.

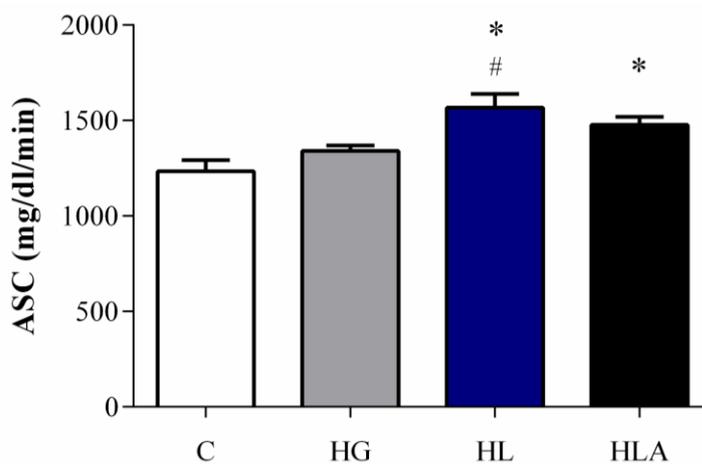


Figura 15. Área sob a curva (ASC) glicêmica. C: Controle (n=10); HG: Hiperglicídico (n=14); HL: Hiperlipídico (n=11); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=13). Valores expressos em média \pm EPM. ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. $p < 0,05$; * vs. C; # HL vs. HG.

A medida indireta de pressão arterial (PA) demonstrou que os grupos HG, HL e HLA apresentaram maiores valores de PAS (mmHg) em relação ao C (C= 145 ± 2 versus HG= 172 ± 3 , HL= 164 ± 2 e HLA= 171 ± 2 , $p < 0,001$). O incremento da PAS foi de 17% (HG), 13% (HL) e 17% (HLA) em relação ao C, respectivamente. Os grupos HG, HL e HLA não diferiram entre si. Não houve diferença estatística entre os grupos para a frequência cardíaca ($p > 0,05$) (Figura 16).

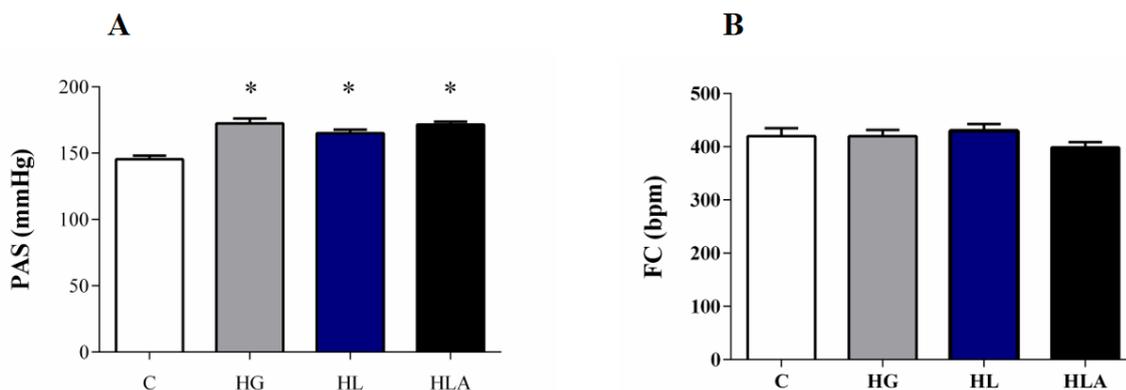


Figura 16. **A)** PAS: Pressão arterial sistólica. **B)** FC: Frequência cardíaca. C: Controle (n=11); HG: Hiperglicídico (n= 13); HL: Hiperlipídico (n= 12); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=13). Valores expressos em média \pm EPM. ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. $p < 0,05$; * vs. C.

A análise direta dos parâmetros hemodinâmicos mostrou que não houve diferença estatística entre os grupos experimentais para as variáveis PAS, PAD, FC, PSVE, PDFVE, FC do VE, derivadas máximas positiva ($+dP/dt_{m\acute{a}x}$) e negativa da pressão do VE ($-dP/dt_{m\acute{a}x}$) e Tau (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros hemodinâmicos arteriais e ventriculares.

Variáveis	Grupos			
	C	HG	HL	HLA
PAS (mmHg)	97,8 ± 3,5	98,9 ± 4,5	92,7 ± 3,8	98,8 ± 3,5
PAD (mmHg)	58,5 ± 4,5	61,1 ± 5,2	56,5 ± 2,7	59,6 ± 5,1
FC (bpm)	289 ± 11	313 ± 16	313 ± 11	318 ± 15
PSVE (mmHg)	99,5 ± 2,9	95,8 ± 4,5	93,4 ± 3,9	100 ± 3
PDFVE (mmHg)	4,02 ± 1,6	2,17 ± 0,81	2,19 ± 0,85	2,8 ± 0,79
+dP/dt_{máx} (mmHg/s)	6568 ± 471	7301 ± 1045	6157 ± 720	8022 ± 652
-dP/dt_{máx} (mmHg/s)	-6769 ± 389	-6485 ± 725	-6375 ± 661	-7749 ± 416
FC (VE) (bpm)	288 ± 10	314 ± 17	321 ± 11	328 ± 14
TAU (s)	0,014 ± 0,003	0,011 ± 0,001	0,010 ± 0,002	0,011 ± 0,001

Valores expressos em média ± EPM. C: Controle (n=6); HG: Hiperglicídico (n=6); HL: Hiperlipídico (n=6); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=6). PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; FC: frequência cardíaca; VE: ventrículo esquerdo; PSVE: pressão sistólica do VE; PDFVE: pressão diastólica final do VE; +dP/dt_{máx}: derivada máxima positiva de pressão do VE; -dP/dt_{máx}: derivada negativa de pressão do VE; FC (VE): frequência cardíaca no ventrículo esquerdo; TAU: constante de tempo do relaxamento do ventrículo esquerdo. ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey.

Em relação aos parâmetros bioquímicos, os níveis de triglicerídeos (mg/dL) do grupo HL apresentaram valores mais elevados do que os demais grupos (HL = 50,1 ± 6,2 *versus* C = 35,1 ± 6,8; HG = 29,1 ± 4,5; HLA: 35,6 ± 6,5), entretanto, essa diferença não foi significativa entre os grupos (p=0,08). Os níveis de glicose, colesterol total e HDL não diferiam entre os grupos (Tabela 4).

Quanto aos níveis de leptina (ng/mL), o grupo HL apresentou valores elevados em relação ao C (C = 12,1 ± 2,9 *vs.* HL = 25,0 ± 2,7, p ≤ 0,05), representando aumento de 106%. Os níveis de leptina nos grupos HG e HLA foram similares ao C; o mesmo comportamento foi observado entre HL e HLA.

Tabela 4. Características bioquímicas dos grupos experimentais

Variáveis	Grupos				Valor de p
	C	HG	HL	HLA	
Glicose (mg/dL)	107 ± 1,8	112 ± 2,9	115 ± 3,6	115 ± 2,8	1,00
Triglicerídeos (mg/dL)	35,1 ± 6,8	29,1 ± 4,5	50,1 ± 6,2	35,6 ± 6,5	0,08
Colesterol Total (mg/dL)	83,4 ± 3,5	72,5 ± 3,4	81,4 ± 5,1	73,4 ± 2,6	0,13
HDL (mg/dL)	27,1 ± 1,2	23,8 ± 0,7	28,6 ± 2,5	24,9 ± 1,2	0,12
Leptina¹ (ng/mL)	12,1 ± 2,9	12,7 ± 4,0	25,0 ± 2,7*	17,5 ± 3,9	0,03

Valores expressos em média ± EPM. C: Controle (n=10); HG: Hiperglicídico (n=14); HL: Hiperlipídico (n=12); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=11). Leptina¹: C (n=6); HG (n=5); HL (n=6); HLA (n=5). ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. p<0,05; * vs C.

4.4 - Características Morfológicas e Funcionais Cardíacas

A Tabela 5 ilustra as características morfológicas cardíacas dos grupos experimentais. Não houve diferença nas variáveis analisadas dos grupos HG, HL e HLA quando comparados ao C. No entanto, entre HL e HG, o HL apresentou maiores valores de coração total (HL= 1,46 ± 0,13 vs. HG= 1,11 ± 0,04, p < 0,05), VE (HL= 1,07 ± 0,09 vs. HG= 0,82 ± 0,03, p<0,05) e AT (HL= 0,13 ± 0,01 vs. HG= 0,09 ± 0,005, p<0,05), representando aumento de 31%, 30% e 44%, respectivamente. Quando normalizados pela tibia, além desses parâmetros, o VD do HL foi maior que o HG (HL= 0,06 ± 0,006 vs. HG= 0,04 ± 0,002, p<0,05). Não houve diferença do HLA com os grupos HG e HL nos parâmetros morfológicos analisados.

Os comprimentos das tíbias (cm) dos grupos HL e HLA foram maiores que a do grupo C (C= 4,24 ± 0,04 versus HL= 4,40 ± 0,05, HLA= 4,41 ± 0,03, p<0,05). A tibia dos animais do grupo HG foi similar ao grupo C; o mesmo resultado foi observado entre o HLA com HG e HL, respectivamente.

Tabela 5. Características morfológicas cardíacas dos grupos experimentais

Variáveis	Grupos			
	C	HG	HL	HLA
Coração Total (g)	1,16 ± 0,04	1,11 ± 0,04	1,46 ± 0,13 [#]	1,29 ± 0,05
VE (g)	0,84 ± 0,02	0,83 ± 0,03	1,07 ± 0,09 [#]	0,97 ± 0,04
VD (g)	0,21 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,26 ± 0,02	0,23 ± 0,01
AT (g)	0,11 ± 0,01	0,09 ± 0,005	0,13 ± 0,01 [#]	0,09 ± 0,009
Coração Total/Tíbia (g/cm)	0,27 ± 0,009	0,25 ± 0,01	0,33 ± 0,02 [#]	0,29 ± 0,01
VE/Tíbia (g/cm)	0,2 ± 0,005	0,19 ± 0,009	0,24 ± 0,01 [#]	0,22 ± 0,009
VD/Tíbia (g/cm)	0,04 ± 0,001	0,04 ± 0,002	0,06 ± 0,006 [#]	0,05 ± 0,003
Átrio/Tíbia (g/cm)	0,02 ± 0,003	0,02 ± 0,001	0,03 ± 0,002 [#]	0,02 ± 0,002
Tíbia (cm)	4,24 ± 0,04	4,30 ± 0,01	4,40 ± 0,05*	4,41 ± 0,03*

Valores expressos em média ± EPM. C: Controle (n=5); HG: Hiperglicídico (n=8); HL: Hiperlipídico (n=5); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=6). VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito; AT: átrio total. ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. p<0,05; * vs. C; # HG vs. HL.

A análise do peso *in natura* (g) dos tecidos pulmonar e pancreático demonstrou que não houve diferença entre os grupos, entretanto, o fígado do HL foi maior que C e HG (C= 14,1 ± 0,94 e HG= 14,2 ± 0,52 *versus* HL= 17,6 ± 1,12, p < 0,05), representando um acréscimo de 24%. Não houve diferença no peso do fígado do HLA em relação ao C, HG e HL, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6. Peso *in natura* dos tecidos pulmonar, hepático e pancreático

Variáveis	Grupos			
	C	HG	HL	HLA
Pulmão (g)	1,85 ± 0,10	1,78 ± 0,05	1,94 ± 0,05	1,86 ± 0,04
Fígado (g)	14,1 ± 0,94	14,2 ± 0,52 [#]	17,6 ± 1,12*	16,9 ± 0,79
Pâncreas (g)	0,94 ± 0,05	1,14 ± 0,05	0,99 ± 0,07	1,08 ± 0,04

Valores expressos em média ± EPM; C: Controle (n=12); HG: Hiperglicídico (n=14); HL: Hiperlipídico (n=13); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=13). ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. p<0,05; * vs C; # HG vs HL.

Apesar da diferença no peso *in natura* do fígado do HL em relação aos grupos C e HG, quando analisados os percentuais de umidade, o HL apresentou valores similares aos demais grupos. O percentual de umidade do fígado do HLA foi menor que do grupo C (C= 68,7% ± 0,2 vs. HLA= 66,5 ± 0,6, p < 0,05). Não houve diferença entre o HLA, HG e HL em relação ao percentual de umidade do fígado. O percentual de umidade do VE, VD e AT foi similar entre os grupos (p>0,05) (Tabela 7).

Tabela 7. Teor de água nos tecidos cardíaco e hepático

Variáveis	Grupos			
	C	HG	HL	HLA
VE¹ (%)	71,6 ± 1,8	74,1 ± 0,3	75,2 ± 0,1	74,2 ± 0,2
VD¹ (%)	74,1 ± 0,6	74,1 ± 0,4	74,6 ± 0,7	74,1 ± 0,4
AT¹ (%)	76,6 ± 1,7	75,3 ± 1,1	74,8 ± 0,7	74,6 ± 0,9
Fígado² (%)	68,7 ± 0,2	66,8 ± 0,7	66,7 ± 0,4	66,5 ± 0,6*

Valores expressos em média ± EPM. ¹: C: Controle (n=5); HG: Hiperglicídico (n=8); HL: Hiperlipídico (n=5); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=6). VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito; AT: átrio. ²: C (n=12); HG (n=14); HL (n=13); HLA (n=13). ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. p<0,05; * vs. C.

As Figuras 17 A-C mostram os resultados dos parâmetros morfológicos histológicos dos grupos experimentais. Não houve diferença na área seccional transversa (AST) dos grupos (C: 427 ± 41 μm², HG: 346 ± 16, HL: 472 ± 45, HLA: 390 ± 37; p=0,07). A fração de colágeno

(%) dos grupos também não diferiu (C: $4,69 \pm 0,60$, HG: $5,74 \pm 0,77$, HL: $5,07 \pm 0,96$, HLA: $6,53 \pm 0,97$; $p=0,49$). Quanto ao comprimento do sarcômero (μm), o grupo HLA apresentou valores maiores que os demais grupos (C: $1,81 \pm 0,009$, HG: $1,80 \pm 0,007$ e HL: $1,82 \pm 0,006$ versus HLA: $1,85 \pm 0,008$; $p<0,001$). Não houve diferença no comprimento do sarcômero entre os demais grupos experimentais.

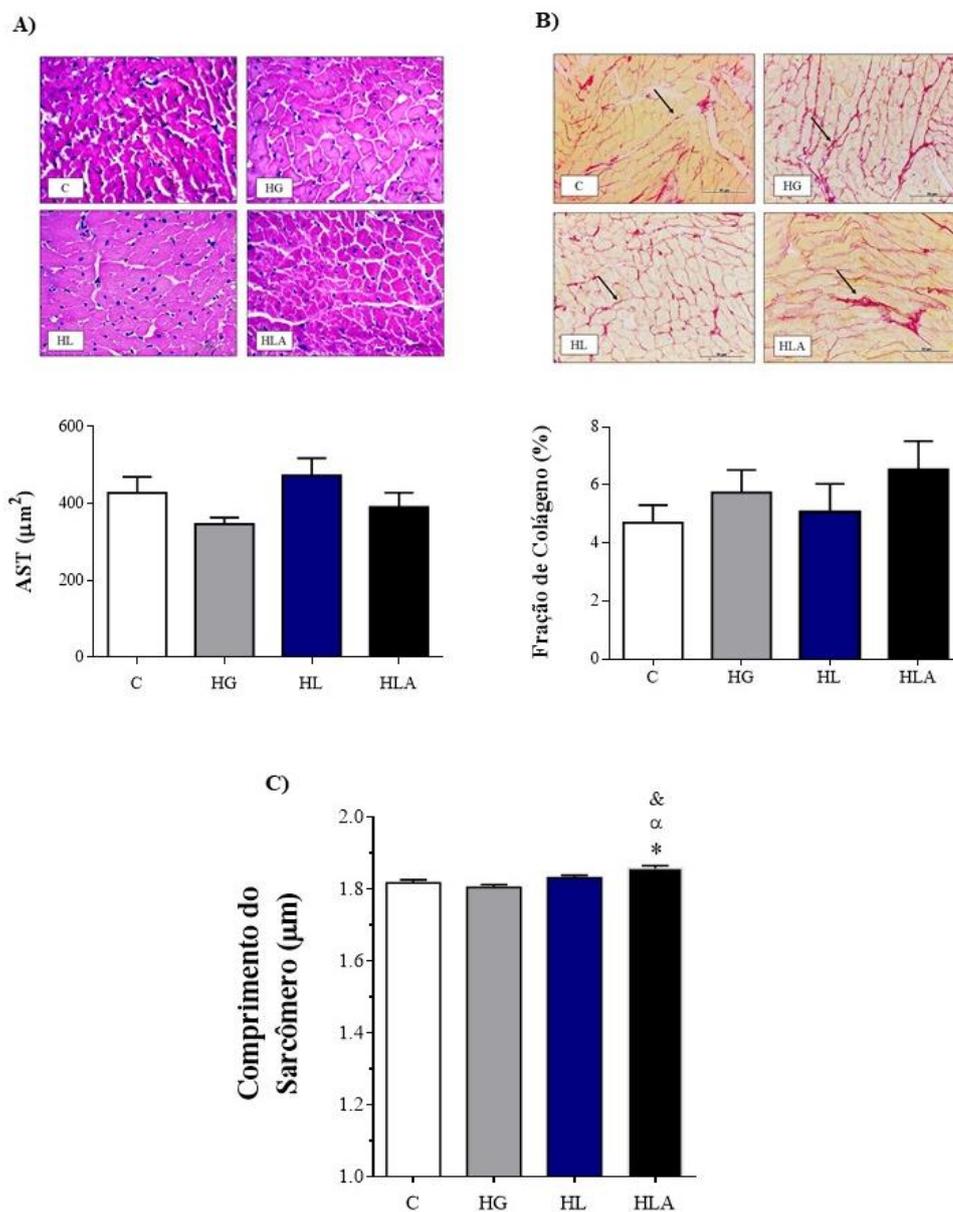


Figura 17. A) Área seccional transversa (AST). Gráficos e painéis representativos da Área de Secção Transversa de fragmentos subendocárdicos do ventrículo esquerdo (VE). *Hematoxilina-eosina* (40x). **B) Fração de Colágeno.** Gráficos e painéis representativos do Colágeno subendocárdico do ventrículo esquerdo (VE). Coloração *Picrosirius Red* (40x). C: Controle (n=5); HG: Hiperglicídico (n=8); HL: Hiperlipídico (n=5); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=6). **C) Comprimento do sarcômero (CS).** C: Controle (n=5, células= 71); HG: Hiperglicídico (n=6, células= 115); HL: Hiperlipídico (n=6, células= 106); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=5, células= 81). Valores expressos em média \pm EPM. ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. $p<0,05$; * vs. C; & HG vs. HLA; ^a HLA vs. HL.

As Figuras 18 A-D ilustram os resultados referentes aos parâmetros para diagnóstico de insuficiência cardíaca (IC). Não houve diferença estatística entre os grupos experimentais para as razões pulmão/PCF, pulmão direito/PCF e VD/PCF, bem como para o percentual de umidade do pulmão.

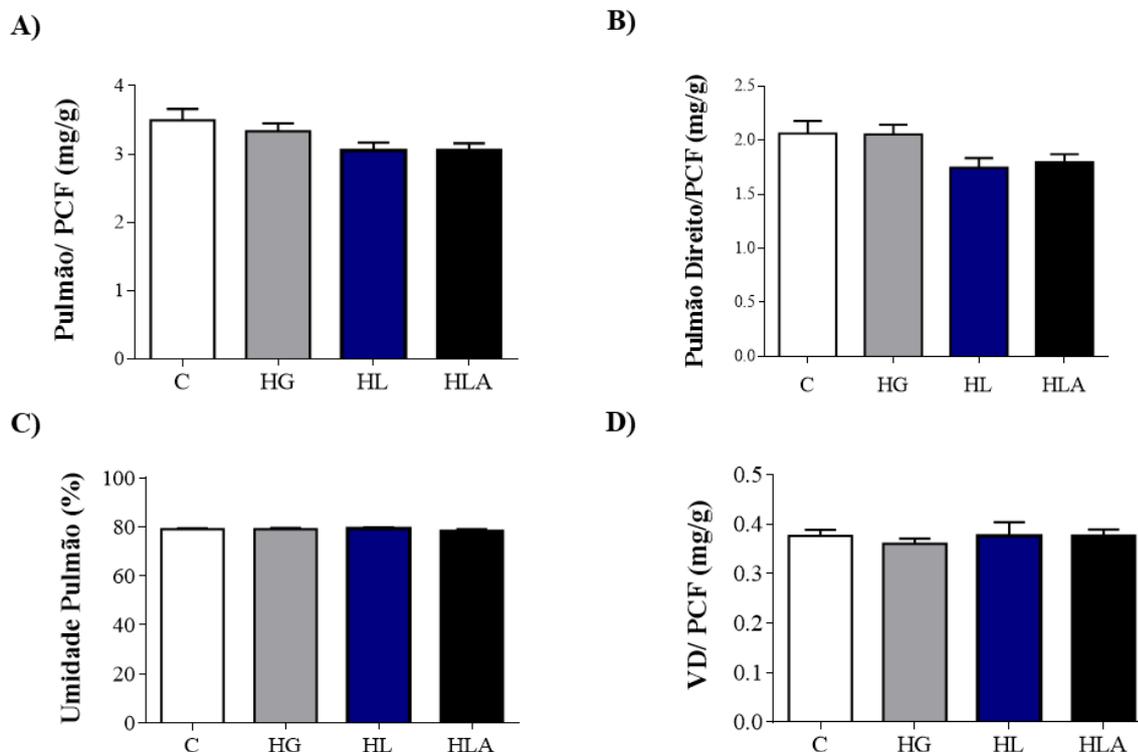


Figura 18. A) Razão peso do pulmão pelo peso corporal final (PCF). B) Razão peso do pulmão direito pelo peso corporal final (PCF). C) Percentual de umidade do pulmão. C: Controle (n=12); HG: Hiperlipídico (n=14); HL: Hiperlipídico (n=13); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=13). D) Razão ventrículo direito (VD) pelo peso corporal final (PCF). C: Controle (n=5); HG: Hiperlipídico (n=8); HL: Hiperlipídico (n=5); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=6). Valores expressos em média \pm EPM. ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey.

As Figuras 19 A-E mostram os resultados das variáveis contráteis analisadas em cardiomiócitos isolados após estimulação elétrica de 1Hz. O PE (%) do grupo HG foi menor em relação aos grupos C e HLA (HG: $6,91 \pm 0,28$ versus C: $8,34 \pm 0,32$ e HLA: $7,97 \pm 0,26$, $p < 0,05$), representando um decréscimo de 20% e 15%, respectivamente. Não houve diferença no PE entre HLA e C. Além disso, o PE do HL não diferiu em relação aos demais grupos (Figura 19A).

Quanto à velocidade máxima de encurtamento ($\mu\text{m/s}$), o grupo HG apresentou menores valores que o C e HLA (HG: $-2,21 \pm 0,08$ versus C: $-2,58 \pm 0,10$; HLA: $-2,73 \pm 0,09$; $p < 0,05$) (Figura 19B). Não houve diferença na VME entre HLA e C. Além disso, a VME do HL não diferiu em relação aos demais grupos. Apesar de todos os grupos apresentarem menor tempo

até 50% do pico de encurtamento (ms) em relação ao grupo C, houve diferença estatística apenas entre os grupos C e HL (C= 160 ± 4 vs. HL= 134 ± 2 , $p < 0,05$) (Figura 19D). O $t_{\text{encurt}_{50\%}}$ foi similar entre os grupos HG, HL e HLA.

Em relação aos parâmetros de relaxamento, os grupos HG, HL e HLA apresentaram valores similares na velocidade máxima de relaxamento ($\mu\text{m/s}$), quando comparados ao C. No entanto, o grupo HG apresentou menor VMR em relação aos grupos HL e HLA, respectivamente (HG: $2,09 \pm 0,10$ versus HL: $2,49 \pm 0,11$ e HLA: $2,68 \pm 0,11$, $p < 0,05$) (Figura 19C). Os grupos HL e HLA reduziram o tempo até 50% do relaxamento (ms) quando comparados aos grupos C e HG, respectivamente (C: 160 ± 4 e HG: 148 ± 3 versus HL: 134 ± 3 e HLA: 133 ± 3 , $p < 0,05$). Não houve diferença entre o C e HG para o $t_{\text{relax}_{50\%}}$ ($p=0,11$). Não houve diferença entre as VMR e os $t_{\text{relax}_{50\%}}$ dos grupos HL e HLA (Figura 19E).

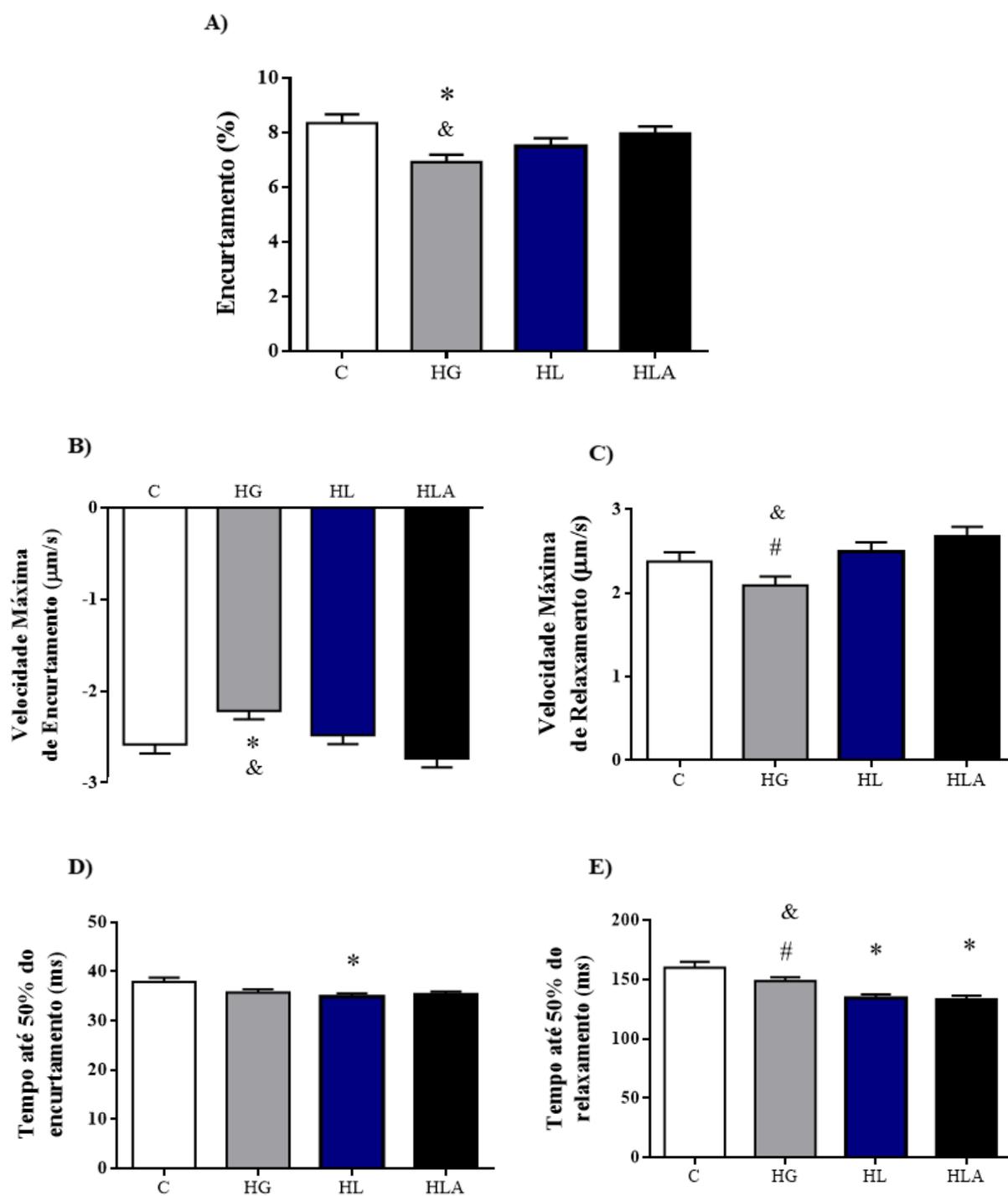


Figura 19. A) Percentual de encurtamento (PE). B) Velocidade máxima de encurtamento (VME). C) Velocidade máxima de relaxamento (VMR). D) Tempo até 50% do pico de encurtamento ($t_{\text{encurt}_{50\%}}$). E) Tempo até 50% do relaxamento ($t_{\text{relax}_{50\%}}$). C: Controle (n=5, células= 71); HG: Hiperglicídico (n=6, células= 115); HL: Hiperlipídico (n=6, células= 106); HLA: Hiperlipídico com açúcar (n=5, células= 81). Valores expressos em média \pm EPM. ANOVA uma via para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Tukey. $p < 0,05$; *vs. C; # HG vs. HL; & HG vs. HLA.

5 - DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo o desenvolvimento e caracterização de um modelo experimental de obesidade a partir de dietas hipercalóricas que acarretassem distúrbios metabólicos e prejuízos cardiovasculares e, conseqüentemente, insuficiência cardíaca. Inicialmente três modelos experimentais foram delineados com quantidades elevadas de açúcar e/ou gordura saturada. Os principais achados do estudo foram que os modelos experimentais a partir de gordura e/ou gordura associada ao açúcar acarretaram obesidade e comorbidades, tais como hipertensão, intolerância à glicose e hiperleptinemia. O modelo experimental a partir de uma dieta rica em açúcar acarretou disfunção contrátil de forma pontual visualizada por menor percentual e velocidade máxima de encurtamento. Contudo não foram observadas alterações morfológicas nos três modelos experimentais de obesidade que evidenciem o processo de remodelação cardíaca com predisposição à insuficiência cardíaca.

5.1 - Modelo Experimental de Obesidade

Modelos experimentais que mimetizam os hábitos alimentares da população têm sido amplamente utilizados para elucidar os mecanismos oriundos da obesidade e comorbidades (ANGELOVA e BOYADJIEV, 2013). Os primeiros relatos do uso de intervenções nutricionais no desenvolvimento de modelos experimentais de obesidade datam de 1940 (BUETTNER et al., 2007). No entanto, na década de 1950, BARBORIAK (1955), MASEK (1959) e MICKELSEN (1958) descreveram o uso de dietas ricas em gordura, carboidrato ou proteína para explicar a relação entre a proporção desses nutrientes e o desenvolvimento de obesidade. Os autores demonstraram que animais alimentados a partir de dietas ricas em gordura e carboidrato apresentaram maior ganho de peso corporal e gordura na carcaça quando comparados àqueles que receberam dietas hiperproteicas após 44 semanas (MASEK 1959). Dentro desse contexto, estudos foram conduzidos por curtos períodos (12 a 16 semanas) com dietas hiperlipídicas, sendo observados aumento de peso corporal caracterizado por elevação acentuada de adiposidade, intolerância à glicose e resistência à insulina, indicando que essas dietas eram eficazes na elaboração de modelos válidos de obesidade e síndrome metabólica (HARROLD et al., 2000; FAROOQI et al., 2001).

Nesse sentido diversos estudos utilizam dietas com adição de alimentos e/ou ingredientes hipercalóricos, no entanto, nem sempre é visualizado equilíbrio entre os componentes nutricionais, sugerindo um possível viés metodológico, uma vez que os achados e

conclusões podem ser decorrentes do aumento de um componente específico (gordura ou carboidrato) em detrimento dos demais (CAMPOS, 2014). Em revisão sobre o tema, Buettner et al. (2007) e Fernandes et al. (2016) concluíram que não há consenso sobre a concentração de macronutrientes utilizados por diversos autores em intervenções hipercalóricas. Os autores destacaram que os estudos apresentam variação no percentual de gordura entre 20% e 60%, bem como na fonte de gordura utilizada, a qual poderia ser de origem animal (banha de porco e óleo de peixe) ou vegetal (azeite e óleo de coco). Quanto às dietas com alto teor de carboidratos, a literatura tem demonstrado um percentual entre 60 e 70% na quantidade desse macronutriente, sendo as fontes de carboidrato simples mais utilizadas a sacarose e frutose (GAJDA et al., 2007; FERNANDES et al., 2016). Em nosso trabalho, a banha de porco foi utilizada como fonte de gordura e o percentual de gordura nas dietas DH e DHA foi 37,6% e 37,4%, respectivamente. Na DG o açúcar foi utilizado como fonte de carboidrato simples acrescido de água com açúcar, representando um percentual de carboidratos de 58%. Na DHA, apesar do percentual final de carboidratos ser abaixo da DP (DP= 49,6% vs. DHA= 43,4%), houve a substituição de 10% de farinha de milho por açúcar. Dentro desse contexto, para a formulação das intervenções calóricas usadas no presente estudo, os componentes nutricionais de interesse (gordura e açúcar) foram adicionados a partir da diminuição de material inerte presente na ração, objetivando o equilíbrio na concentração dos ingredientes adicionados.

A literatura tem destacado a importância do acompanhamento semanal do peso corporal com o intuito de identificar o momento de aumento significativo do peso corporal dos animais sob influência de tratamentos com dietas hipercalóricas em relação animais tratados com a dieta padrão (FERRON et al., 2015; DA SILVA, 2017). Esse cuidado visa evidenciar a duração efetiva da obesidade a partir de um determinado modelo experimental.

Em nosso estudo, o modelo experimental hiperlipídico promoveu elevação significativa do peso corporal em relação aos animais alimentados com dieta padrão (DP) a partir da sétima semana do protocolo experimental, permanecendo essa diferença até a 20ª semana de tratamento. Esses achados estão de acordo com a literatura, na qual é evidenciado que o ganho de peso corporal ocorre de forma gradual durante o período de alimentação com DH (DE MEIJER et al., 2010, LIU e LLOYD, 2014). Townsend et al. (2008), ao avaliar o ganho de peso corporal de ratas alimentadas com DH, observaram aumento significativo do peso corporal na quinta semana, permanecendo a diferença até o término do protocolo experimental (15ª semana). Apesar de ser possível notar diferença no peso corporal após duas semanas de protocolo experimental, o fenótipo da obesidade se torna mais aparente após—períodos prolongados, geralmente, acima de quatro semanas (BUETTNER 2007, LIMA-LEOPOLDO et

al., 2014; DA SILVA et al. 2017). Em relação aos animais alimentados com dieta hiperlipídica e açúcar (HLA), os achados mostraram elevação do peso corporal apenas nas últimas quatro semanas do protocolo experimental. Esse dado diverge de alguns estudos que realizaram acompanhamento semanal do ganho de peso nesse modelo e notaram diferença significativa em períodos mais curtos (OLIVIERA et al., 2014; PRANPRAWIT et al., 2013).

Em revisão, Fernandes et al. (2016) demonstraram que a maioria dos estudos utiliza protocolos experimentais com duração entre 11 e 16 semanas, uma vez que é possível obter informações mais consistentes em relação à obesidade e suas comorbidades. Sendo assim, o período de tratamento utilizado em nosso protocolo experimental foi adequado para o desenvolvimento de obesidade a partir dos modelos às custas de gordura e gordura com acréscimo de açúcar. Cabe ressaltar que o modelo experimental a partir de uma dieta hiperglicídica não acarretou alterações no peso corporal durante todo o tratamento. Os achados corroboram o estudo de Cao et al. (2012) que também não observou diferença significativa no peso corporal durante as 20 semanas de protocolo experimental em ratos *Sprague-Dawley*.

O estudo apresentou como proposta o desenvolvimento de um modelo experimental de obesidade a partir de diferentes tipos de dietas hipercalóricas. Dessa forma, o peso corporal e parâmetros de adiposidade foram analisados e mensurados com o intuito de caracterizar a obesidade. Em termos percentuais, o ganho de peso corporal e o índice de adiposidade foram elevados em 22% e 62% no HL em relação ao C, respectivamente, indicando que o ganho de peso corporal observado foi reflexo do aumento do tecido adiposo. Estudos utilizando dietas hiperlipídicas às custas da banha de porco como fonte de gordura evidenciaram aumento do peso corporal em torno de 10-15%, enquanto a elevação da adiposidade foi de 30-45% (YASPELKIS et al., 2001; BRIAUD et al., 2002; WOODS et al., 2003). Esse achado mostra que a elevação de tecido adiposo é cerca de três vezes maior do que o aumento de peso corporal, corroborando nossos achados.

O modelo experimental hiperlipídico com acréscimo de açúcar acarretou incremento de 15% no ganho peso corporal em relação ao grupo alimentado com DP, entretanto, essa diferença não foi significativa ($p=0,06$). Em discordância da hipótese inicial desse estudo, a ausência de alterações no PCF e ganho de peso corporal no modelo experimental hiperlipídico e açúcar são divergentes de resultados observados na literatura, a qual evidencia que uma dieta rica em gordura e açúcar é associada à elevação do ganho de peso corporal (CARBONE et al. 2015; MALAFAIA et al., 2013). Apesar do peso corporal similar, o modelo experimental hiperlipídico com acréscimo de açúcar acarretou elevação nos depósitos de gordura visceral e retroperitoneal, bem como no índice de adiposidade. Não obstante a esses resultados, foram

encontrados outros estudos que demonstraram que o consumo de DHA não altera o PCF, mas promove incremento nos depósitos de tecido adiposo (CHUN et al., 2010; RAGAB et al., 2015, JIA et al., 2016). Esse achado corrobora estudos que verificaram aumento da prevalência de indivíduos metabolicamente obesos sem alterações no peso corporal, caracterizados principalmente pelo aumento do tecido adiposo, em especial na região abdominal. Além disso, apresentavam desordens metabólicas similares aos obesos, no entanto, com perfil ponderal similar a indivíduos eutróficos (MITTENDORFER, 2011; CAO et al., 2012). Contudo, apesar da ausência de diferença estatística no ganho de peso corporal em relação ao C, os achados do presente estudo nos permitem inferir que o modelo hiperlipídico com açúcar promove obesidade.

A elevação da adiposidade corporal demonstrada nos modelos hiperlipídico (HL) e hiperlipídico com açúcar (HLA) pode ser explicado pela composição dos ácidos graxos da dieta hiperlipídica, o qual desempenha papel importante na regulação do peso corporal e, conseqüentemente, formação de tecido adiposo. O efeito obesogênico de gorduras com predominância de ácidos graxos saturados pode ser explicado pelo fato desse tipo de ácido graxo desencadear menor geração direta de energia, uma vez que permanece acilado em TG e, conseqüentemente, estocado no tecido adiposo, enquanto que ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) e monoinsaturados (MUFA) são rapidamente usados como fonte de energia, diminuindo o estoque (STORLIEN et al., 2001).

Outra explicação possível para a elevação do ganho de peso corporal e adiposidade nos modelos experimentais hiperlipídico e hiperlipídico acrescido com açúcar refere-se ao aporte calórico e eficiência alimentar, os quais, geralmente, acarretam maior disponibilização de calorias e hiperfagia (DOURMASHKIN et al., 2005; WHITE et al., 2013).

A eficiência alimentar é definida como a capacidade do animal em converter a energia consumida em ganho de peso corporal (GOMES, 2015). Embora o grupo C tenha consumido maior quantidade de ração, no entanto, com consumo calórico similar, os grupos alimentados com as dietas hiperlipídicas (DH e DHA) apresentaram maior eficiência alimentar. White et al. (2013) e Vileigas et al. (2016) também verificaram maior eficiência alimentar em animais alimentados com dieta hiperlipídica saturada, apesar dos respectivos grupos controles apresentarem maior consumo alimentar e consumo calórico semelhante.

Segundo Pereira-Lancha (2012) mesmo sem aumento no consumo calórico é possível desenvolver obesidade, pois a alteração na composição dos nutrientes influencia a eficiência na utilização dos alimentos, acarretando elevação no armazenamento de gordura por caloria consumida. Os autores enfatizam que a elevação da gordura corporal pode ser decorrente ao

aumento na densidade calórica da dieta, que pode acarretar maior ingestão calórica total ou aumento na ingestão de um macronutriente determinado. Em nosso estudo os animais HL e HLA consumiram 61% e 43% mais calorias provenientes de gordura em relação aos animais C, respectivamente, demonstrando que mesmo com a ingestão calórica total similar, as calorias provenientes da gordura foram maiores nesses modelos experimentais. Esses achados podem ter contribuído para o acúmulo de tecido adiposo nos modelos hiperlipídicos e hiperlipídicos com açúcar.

Alguns autores relatam que a energia proveniente da gordura apresenta maior efeito no ganho de peso corporal quando comparados às fontes de energia não provenientes de gordura (HILL e MELANSON, 2000; PRPIC et al., 2002; ROBERTS et al., 2002; DOURMASHKIN et al., 2005). A eficiência na utilização desse substrato pode estar relacionada à termogênese induzida pela dieta, definida pela energia utilizada para digerir, absorver e armazenar energia pelo organismo. O gasto energético difere em cada nutriente, sendo de 2-3% para gorduras, 25-30% para proteínas e 6-8% para carboidratos. Em termos gerais, esse fato significa que a eficiência na utilização de gorduras é entre 97-98%, enquanto a eficiência na utilização de proteínas e carboidratos é 70-75% e 92-94%, respectivamente.

A alta ingestão de gorduras era considerada, há alguns anos, um dos principais fatores que contribuíam para a obesidade, entretanto atualmente sabe-se que diminuir a ingestão de gordura não resulta na diminuição da prevalência de obesidade, uma vez que essa diminuição pode ser associada ao aumento no consumo de carboidrato (BRAY e POPKIN, 1998; GUTTIERRES e ALFENAS, 2007). Apesar disso, o modelo experimental hiperglicídico não acarretou ganho de peso corporal e tecido adiposo em comparação ao C. A literatura é controversa em relação à modelos de obesidade experimentais a partir de dieta rica em açúcar. Malafaia et al. (2013) observaram elevação no peso corporal de animais que receberam dieta com 30% de sacarose desde a segunda semana de protocolo experimental. No entanto, Cao et al. (2012) observaram que ratos *Sprague Dawley* alimentados com 35% de calorias da dieta provenientes do açúcar durante 20 semanas apresentaram peso corporal similar, no entanto, houve aumento de depósitos de tecido adiposo em relação aos animais DP. Similarmente, Chun et al. (2010) notaram PCF similar e aumento de tecido adiposo visceral em animais alimentados com dieta com açúcar em relação aos alimentados com DP. Esses achados estão em discordância com nossos resultados, uma vez que os o ganho de peso corporal e os depósitos de tecido adiposo não aumentaram nesses animais.

Uma possível explicação para ausência do aumento significativo no peso corporal e depósitos de gordura pode ser atribuída ao consumo alimentar desses animais. Apesar do maior

aporte calórico, o consumo de ração e a eficiência alimentar foram menores do que os animais que receberam DP. O incremento no consumo calórico desse modelo experimental pode ser atribuído ao consumo de água com açúcar. Segundo Sclafani (1987), modelos experimentais que recebem bebidas açucaradas aumentam o consumo energético em torno de 10-20%. No presente estudo, o consumo calórico foi 16% maior no HG em comparação ao C. Nossos achados corroboram com Castellanos Jankiewicz et al. (2016) e Sheludiakova et al. (2011) que também relataram maior consumo calórico na forma de açúcar simples, porém sem alteração no peso corporal, demonstrando menor eficiência alimentar. Nesse último estudo, os autores relataram que os animais que receberam solução de água com açúcar compensaram as calorias ingeridas das bebidas diminuindo o consumo de ração, assim como em nosso modelo. Além disso, os autores realizaram testes comportamentais para avaliar a atividade locomotora dos animais e notaram maior atividade no grupo que recebeu água com açúcar, sugerindo que esse grupo apresenta maior gasto energético em comparação ao grupo controle, o que explica em partes ausência de ganho de peso mesmo com maior consumo calórico.

Dourmashkin et al. (2005) demonstraram que animais alimentados com dieta hiperglicídica apresentavam poucas alterações nos níveis de peptídeos relacionados a alimentação e ganho de peso em comparação àqueles alimentados com dieta hiperlipídica, bem como possuíam padrão metabólico que favorecia a oxidação de carboidrato sobre a oxidação de gordura no músculo esquelético. A literatura tem destacado em modelos experimentais de resistência à obesidade, menor ganho de peso e depósitos de gordura corporal, mesmo com alta ingestão energética. Os animais resistentes à obesidade geralmente apresentam alterações metabólicas que suprimem a lipogênese e aceleram a β -oxidação, contribuindo para o efeito antiobesogênico observado nesses animais. No entanto, é válido destacar que não foram encontrados estudos que caracterizassem modelo experimental de resistência a obesidade às custas de dieta hiperglicídica (JACKMAN et al. 2010; MADSEN et al., 2010; AKIEDA-ASAI et al., 2013).

Sclafani (1987), em revisão sobre o consumo de carboidratos, relata que os animais se tornam obesos a partir de dietas ricas em carboidratos devido à hiperfagia que essas dietas podem causar. Entretanto, a resposta hiperfágica depende da forma de apresentação dos carboidratos, uma vez que roedores possuem receptores diferentes para detectar açúcar e amido, acarretando preferência pelo amido quando comparado a sacarose. Além disso, oferecer ao animal o carboidrato diluído em uma solução é mais eficaz do que oferecê-lo na ração. Isso acontece porque os carboidratos hidratados são absorvidos de forma muito mais rápida do que desidratados. Nesse sentido, explicamos em partes nossos resultados de consumo alimentar,

uma vez que a DG possui em sua composição 10% de açúcar, em detrimento ao material inerte e a DHA possui 10% de açúcar em detrimento ao milho da DP (ambas dietas foram consumidas em menor quantidade em relação a DP).

Em síntese, os modelos hiperlipídico e hiperlipídico e açúcar desencadearam maior ganho de peso e adiposidade corporal tanto em relação ao C quanto ao modelo hiperglicídico. Esses achados demonstram que os modelos acima citados são eficientes para o desenvolvimento da obesidade experimental. Contudo, o modelo hiperglicídico não foi eficaz na promoção de obesidade.

5.1.1. Modelo Experimental de Obesidade e Comorbidades

A obesidade tem sido associada à diversas comorbidades, tais como intolerância à glicose, hiperinsulinemia, resistência à insulina, dislipidemias e hipertensão arterial (BUETTNER et al., 2006; HARIRI, 2010).

Nesse contexto, ao final do protocolo experimental, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à glicose para mensurar a capacidade de metabolização de glicose no estado de jejum e após sobrecarga glicêmica. Nossos resultados demonstraram que os modelos experimentais a partir de dietas hipercalóricas não acarretaram elevação da glicemia de jejum no momento basal. Esses resultados divergem de outros achados que evidenciaram hiperglicemia em jejum em animais que consumiram dieta hiperlipídica às custas de gordura saturada e/ou com acréscimo de açúcar (HUANG et al., 2004; HOFFLER et al., 2009; CHUN et al., 2010; OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2013; ARIAS-MUTIS et al., 2017). Contudo, os estudos com animais que receberam dietas com alto teor de açúcar apontam resultados inconsistentes, desde que Sheludiakova et al. (2011) relataram maior glicemia em jejum no grupo tratado com dieta hiperglicídica, enquanto Castellanos Jankiewicz et al. (2016) relataram que os animais eram euglicêmicos. Os resultados da glicemia de jejum observados em nosso estudo estão em concordância com esses últimos achados.

Apesar da glicemia no momento basal não diferir entre os grupos, 30 e 60 minutos após a administração de glicose intraperitoneal, os modelos hiperlipídicos (HL e HLA) acarretaram hiperglicemia em comparação aos animais que receberam DP, no entanto, os valores glicêmicos retornaram aos níveis basais após 120 minutos. Embora os níveis glicêmicos tenham retornado aos valores basais, a ASC desses animais foi significativamente maior em relação ao grupo C, sugerindo que esses modelos experimentais desencadeiam intolerância à glicose. Dentro desse contexto, pesquisas têm evidenciado que animais alimentados com dietas

hiperlipídicas e hiperlipídicas com açúcar por longos períodos possuem falhas na homeostase da glicose (KOWALSKI et al., 2017) e, conseqüentemente, desenvolvem prejuízos no metabolismo glicídico.

O metabolismo da glicose é regulado principalmente pela insulina, hormônio produzido nas células β do pâncreas. Nesse sentido, o quadro de intolerância à glicose visualizado nos modelos hiperlipídico e hiperlipídico acrescido de açúcar pode ser atribuído à baixa produção de insulina ou resistência à ação da mesma (CESARETTI e KOHLMANN JUNIOR, 2006). Embora no presente estudo a mensuração dos níveis de insulina não tenha ocorrido, dados anteriores do nosso laboratório evidenciaram que animais obesos às custas de dietas hiperlipídicas eram hiperinsulinêmicos e resistentes à ação da insulina (LEOPOLDO et al., 2010; FERRON et al., 2015; DA SILVA, 2017). Olefsky e Saekow (1978) sugeriram que dieta rica em gordura pode reduzir o número de receptores de insulina e diminuir a atividade do sistema de transporte de glicose, bem como o metabolismo intercelular da glicose. Hoffler et al. (2009), avaliando os efeitos de longos períodos de exposição a uma dieta hiperlipídica em animais com 15, 20, 30 e 40 semanas de idade, observaram regulação negativa na expressão gênica de glicose-6-fosfatase hepática (G6PC) e transportador de glicose facilitada 4 (GLUT4). O G6PC medeia a hidrólise de glicose-6-fosfato em glicose, que então se liga ao transportador de glicose facilitada 4 (GLUT4), permitindo sua absorção a partir do plasma e deposição em tecidos musculares e adiposos (DUGANI e KLIP, 2005).

A literatura tem destacado que o aumento do tecido adiposo em modelos experimentais hiperlipídicos, em especial na região abdominal, apresenta como uma das características principais a resistência à insulina (BUETTNER et al., 2006; WHITE et al., 2013). Embora a avaliação do *Homeostatic Model Assessment - Insulin Resistance* (HOMA-IR) não tenha sido realizada nos modelos experimentais hiperlipídicos HL e HLA do presente estudo, os resultados sugerem que ambos desenvolveram resistência à ação da insulina, bem como elevação dos níveis insulínicos com o intuito de normalizar os valores glicêmicos após 120 minutos. Portanto, além da função endócrina, atuando na secreção de hormônios como a leptina e citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6), o tecido adiposo reduz a expressão de transportadores de glicose, podendo resultar em menor absorção de glicemia e assim causar estado hiperinsulinêmico compensatório (CASTELLANOS JANKIEWICZ et al., 2016). Dentro desse contexto, o retorno dos níveis glicêmicos aos valores basais após 90 e 120 minutos, provavelmente, ocorreu às custas de maior produção de insulina. Sugere-se que essa ação gerou o quadro de hiperinsulinemia nos animais desses modelos experimentais.

Ademais, outro mecanismo que sugere alteração na liberação de insulina é a interação entre os níveis de leptina e insulina (KIEFFER, HABENER, 2000). De maneira paradoxal, a leptina suprime a liberação de insulina devido às ações centrais e diretas sobre as células β do pâncreas, as quais têm sido associadas à resistência à insulina em pacientes com síndrome metabólica (LICHNOVSKÁ et al., 2005). Em contrapartida, a insulina, hormônio lipogênico, aumenta o tecido adiposo, responsável por secretar leptina, sendo essa proporcional a quantidade de massa gorda corporal (KIEFFER, HABENER, 2000). Esse fato reforça a ideia que os modelos experimentais hiperlipídicos do presente estudo possam apresentar falhas na produção e/ou sensibilidade à ação da insulina, uma vez que foi observado hiperleptinemia nos mesmos.

O modelo experimental HG manteve os níveis glicêmicos semelhantes aos animais C em todos os momentos avaliados. Esse dado está em discordância à literatura, na qual é evidenciado que animais que recebem dietas ricas em açúcar desenvolvem hiperglicemia, intolerância à glicose e hiperinsulinemia (CHUN et al., 2010; CAO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014; CASTELLANOS JANKIEWICZ et al., 2016). Kim et al. (1999) demonstraram que, embora dietas hiperglicídicas não causem obesidade como dietas hiperlipídicas, ambas induziram respostas semelhantes quanto ao acúmulo de gordura visceral e efeitos similares de resistência à insulina e transporte de glicose, sugerindo, assim, que as consequências metabólicas-hormonais da obesidade são oriundas do acúmulo de gordura em adipócitos viscerais e não a partir da obesidade *per si*. Nesse sentido, nosso modelo experimental hiperglicídico não apresentou acúmulo de gordura visceral, o que pode explicar em partes o fato de não ter sido observado essa condição nesses animais.

Pranprawit et al. (2013) investigaram os efeitos da ingestão do excesso de gordura, sacarose e a combinação de ambas em ratos *Sprague Dawley*, por um período curto (4 semanas) ou longo (8 semanas). Os autores observaram intolerância à glicose nos animais com dieta rica em sacarose após 4 semanas, no entanto, inusitadamente, essa condição não foi observada após 8 semanas de exposição a essa dieta. Ademais, a dieta controle, constituída por amido, também causou intolerância gradual à glicose, uma vez que o índice HOMA desses animais aumentou na mesma proporção que os animais com dieta rica em sacarose após 8 semanas. Dessa forma, os achados concluem que o amido parece influenciar as respostas pós-prandiais de glicose e insulina, mesmo que de forma mais sutil que carboidratos simples, uma vez que a ingestão de amido resulta em respostas menores de 44% na glicemia e 35% na insulina em relação a resposta de glicose ou sacarose. Essa situação ocorre devido à diferença no tamanho da molécula de carboidrato e na forma de digestão do amido (CRAPO et al., 1976)

A obesidade tem sido frequentemente associada ao surgimento das dislipidemias e desordens no metabolismo lipídico sérico. Embora tenha sido observado incremento de 42% nos triglicerídeos plasmáticos do modelo experimental hiperlipídico em relação ao C, esse aumento não foi significativo ($p=0,08$). Buettner et al. (2006), White et al. (2013) e Martins et al. (2015) também não encontraram alterações nos níveis de triglicerídeos plasmáticos em animais que receberam dieta hiperlipídica saturada às custas de banha de porco. Huang et al. (2004), analisando desordens metabólicas em dois modelos experimentais, às custas de banha de porco e frutose, respectivamente, não encontraram alterações nos níveis de triglicerídeos no modelo hiperlipídico. Entretanto, os autores observaram aumento no tamanho do fígado e redução na taxa de síntese de VLDL, a partir dos triglicerídeos nas células hepáticas, sendo o excesso desviado, provavelmente, para a via oxidativa com a finalidade de gerar cetonas e óxido de carbono. Esses achados foram confirmados pelo maior teor de ácido beta-hidroxi-butírico, um tipo de corpo cetônico produzido no fígado. O aumento no peso do fígado, também foi observado em nosso modelo experimental hiperlipídico (Fígado C= $14,1 \pm 0,94$, Fígado HL= $17,6 \text{ g} \pm 1,12$, $p<0,05$), o qual sugere acúmulo de gordura nesse tecido, proveniente, principalmente da elevação de ácidos graxos livres na corrente sanguínea, que em excesso, quando não oxidado ou transportado para a circulação, pode ser sintetizado em TG e depositados no fígado. Esse quadro clínico é denominado de doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (GOLDBERG e GINSBERG, 2006). Moura et al. (2012) avaliaram as alterações bioquímicas hepáticas decorrentes da administração de dieta hiperlipídica em ratos e observaram maior quantidade de gordura (TG e lipídeos totais) e síntese de gordura (atividade lipogênica) no tecido hepático, além de elevação no peso corporal, aumento dos ácidos graxos livres circulantes e diminuição da sensibilidade à insulina, caracterizando sinais clássicos da DHGNA.

Embora o excesso de carboidratos na dieta aumente a síntese hepática de triglicerídeos (AMIN et al., 2011), os modelos hiperglicídico e hiperlipídico com açúcar também não obtiveram alterações nos níveis de triglicerídeos. Os achados estão em discordância com estudos que encontraram hipertrigliceridemia em modelos experimentais similares (BAÑOS et al., 2005; CASTELLANOS JANKIEWICZ et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2014). Entretanto, embora os níveis plasmáticos de triglicerídeos não tenham sido alterados no modelo hiperlipídico com açúcar, é importante destacar que esses animais apresentaram menor percentual de água no tecido hepático, mesmo com peso similar ao C, o que sugere acúmulo de gordura nesse tecido.

Outro aspecto importante em relação às comorbidades foi que os modelos experimentais desse estudo não apresentaram elevação nos níveis de colesterol total e diminuição de HDL, os quais são frequentemente observados na síndrome metabólica. Esses achados corroboram pesquisas nas quais não foi evidenciado aumento nos níveis de colesterol de animais alimentados com dietas hiperlipídicas (PRANPRAWIT et al., 2013; MARTINS et al., 2015) e hiperglicídicas (PRANPRAWIT et al., 2013; CASTELLANOS JANKIEWICZ et al., 2016). Nesse sentido, Arias-Mutis et al. (2017) ao desenvolverem e caracterizarem um modelo válido de síndrome metabólica em coelhos alimentados com dieta rica em gordura e açúcar, observaram aumento significativo do LDL e triglicerídeos e redução de HDL, destacando que apesar da utilização de roedores para mimetizar importantes desordens metabólicas presentes nessa síndrome, ratos e camundongos são naturalmente deficientes de proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP) e, portanto, apresenta certa resistência ao desenvolvimento de aterosclerose. Essa condição limita e ressalta as diferenças importantes no metabolismo lipídico comparados à humanos.

Os achados do presente estudo também evidenciam que o modelo experimental HL desenvolve hiperleptinemia. Townsend et al. (2008) observaram aumento nos depósitos de gordura corporal, maior ganho de peso e hiperleptinemia, mesmo com menor ingestão calórica total em modelo hiperlipídico. Os autores destacam que o aumento na ingestão calórica não é necessário para que haja acúmulo de tecido adiposo de animais alimentados, desde que essa elevação pode ser resultante de alterações na modulação hipotalâmica da sinalização da leptina em função da hiperleptinemia.

A leptina é um hormônio secretado pelo tecido adiposo de maneira proporcional ao tamanho e número de adipócitos, sendo responsável pela regulação do apetite e ganho de peso corporal a partir da sinalização de saciedade para o cérebro (SWEENEY, 2010). A deficiência de leptina leva ao quadro de hiperfagia e acúmulo de tecido adiposo, entretanto, tem sido relatado que indivíduos obesos apresentam altos níveis de leptina circulante, porém, implicando no mecanismo de resistência à leptina (KNIGHT et al., 2010). Nossos achados mostraram que o modelo experimental HL acarreta hiperleptinemia, pois os animais apresentaram 106% a mais de leptina circulante em relação aos alimentados com DP. Contudo, esses animais não se tornaram hiperfágicos, sugerindo que os mesmos não apresentam resistência à ação da leptina, uma vez que o consumo de ração foi menor em relação ao C. Knight et al. (2010) testaram a hipótese que a hiperleptinemia é necessária para o desenvolvimento de resistência à leptina em ratos obesos induzidos por dieta. Segundo os autores, em estágios iniciais da obesidade, há o desenvolvimento de resistência à leptina de maneira periférica, atribuída principalmente à

saturação do sistema de transporte de leptina através da barreira hemato-encefálica. No entanto, em períodos mais prolongados de exposição às dietas com alto teor de gordura (acima de 20 semanas), os animais tornam-se resistentes à ação da leptina mesmo quando essa é infundida diretamente no cérebro, sugerindo que nesses animais os neurônios sensíveis à leptina perdem a capacidade de ativar as vias de sinalização dos receptores de leptina. Nesse sentido, os animais do nosso estudo poderiam se tornar resistentes à ação da leptina se permanecessem expostos à condição de obesidade induzida por DH por períodos mais prolongados.

Em nosso estudo não foi observado hiperleptinemia nos modelos hiperglicídico e hiperlipídico com açúcar. A ausência de hiperleptinemia no modelo hiperglicídico pode ser explicado pelos níveis similares de tecido adiposo em relação ao grupo C. Entretanto, embora o modelo hiperlipídico com açúcar tenha apresentado aumento de tecido adiposo, essa elevação não foi suficiente para refletir em hiperleptinemia. Swarnalatha et al. (2016) realizaram a avaliação temporal ao longo de cinco meses dos níveis circulantes de glicose, insulina e leptina e notaram que os níveis de leptina flutuaram durante o 1º e 4º mês e, no 5º mês, sendo detectado hiperleptinemia em animais que receberam dieta hiperlipídica com açúcar. Os autores concluíram que a resistência à insulina precedeu de forma progressiva a intolerância à glicose e hiperleptinemia, uma vez que a insulina atua modulando a liberação de leptina. Em nosso estudo, embora tenha sido observado intolerância à glicose, sugere-se que a insulina não modulou os níveis de leptina circulantes.

Além das alterações na homeostase de glicose, bioquímicas e hormonais, a obesidade é fator de risco para o desenvolvimento de hipertensão arterial. Nesse sentido, a pressão arterial, avaliada de maneira indireta, demonstrou que os três modelos experimentais propostos nesse estudo acarretaram elevação dos níveis pressóricos. Chaar et al. (2016), avaliando parâmetros metabólicos e a pressão arterial de animais alimentados com dieta hiperlipídica, concluíram que a hipertensão arterial estava relacionada às mudanças na expressão gênica de neuropeptídeos do sistema nervoso central provocadas por essa dieta. Os autores relataram que estes estão envolvidos em diferentes comportamentos e processos, tais como, alimentação, regulação do peso corporal, gasto de energia e ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal no estresse. Assim, destacam que os mecanismos subjacentes ao desenvolvimento da hipertensão induzida pela obesidade são complexos e multifatoriais. Além disso, tem sido demonstrado que a hiperleptinemia, presente no modelo experimental hiperlipídico, aumenta os níveis pressóricos em condição de obesidade induzida por dieta, uma vez que atua ativando neurônios hipotalâmicos (SIMONDS et al., 2014).

Dentro desse contexto, a literatura destaca que existe forte correlação entre o ganho de peso corporal e aumento da pressão arterial (LIM et al., 2016). Dentre os aspectos que devem ser considerados nessa correlação estão as mudanças no débito cardíaco e resistência vascular periférica decorrentes do acúmulo de adiposidade, entre eles, elevação da demanda de oxigênio, bem como aumento paralelo do volume de sangue com consequente aumento no débito cardíaco. Além disso, existem mecanismos que relacionam a obesidade ao aumento da resistência vascular periférica, tais como disfunção endotelial, resistência à insulina, aumento da atividade do sistema nervoso simpático, liberação de substâncias pró-inflamatórias pelos adipócitos, entre outros. O débito cardíaco elevado em indivíduos obesos é atribuído ao aumento do volume, independente da elevação da frequência cardíaca (POIRIER et al., 2006).

Em modelos experimentais hiperglicídicos, mesmo sem associação com a obesidade, a hipertensão também é relatada na literatura (BAÑOS et al., 2005; DE A. FREITAS et al., 2007). Estudo, avaliando efeito da sacarose em parâmetros hemodinâmicos e atividade nervosa simpática renal, bem como os níveis de angiotensina plasmática e em diferentes tecidos, demonstrou que a ingestão de sacarose aumenta a atividade nervosa simpática renal e acarreta maior atividade de renina plasmática, angiotensina II plasmática e angiotensina II renal. Os autores sugerem que alimentação crônica de sacarose promove alterações na ativação simpática do sistema renina-angiotensina, possível mecanismo para os prejuízos cardiovasculares (DE A. FREITAS et al., 2007).

Embora tenha sido observado aumento significativo da PA dos animais submetidos a avaliação indireta por meio da pletismografia de cauda, os resultados da avaliação direta da PA por meio da análise hemodinâmica demonstram que não houve diferença na PA entre os grupos (Tabela 3). Uma possível explicação para esse fato pode estar relacionada à escolha do anestésico aplicado durante a técnica, a uretana. Apesar dos mecanismos de ação da uretana não serem muito bem estabelecidos, Hara e Harris (2002) sugerem que pode haver modulação de vários receptores e, diferentemente de outros anestésicos, agir sobre os sistemas excitatórios e inibitórios. Field et al. (1993), avaliando os efeitos cardiovasculares, respiratórios e a mortalidade de animais adultos sob o uso de diferentes anestésicos, demonstraram moderada depressão cardiovascular e efeito hipotensor após o uso de uretana. Os autores sugerem que a uretana atua no sistema cardiovascular, acarretando redução da frequência cardíaca e PA. Para confirmar essa hipótese, testamos o uso de ketamina e xilazina em alguns animais do presente estudo. Nesse sentido, notamos que os valores pressóricos dos animais avaliados foram mais próximos aos encontrados na avaliação indireta. Esses dados não foram demonstrados pois o número de animais foi insuficiente para realizar as análises estatísticas. Cabe ressaltar que a

diferença nos valores encontrados da PA nas duas técnicas utilizadas pode ser explicada pelo fato de que na mensuração da PA indireta o animal é submetido ao estresse a partir do manuseio, constrição e calor, enquanto na medida direta pode ocorrer um efeito hipotensor direto do anestésico.

5.2 - Obesidade e Remodelação Cardíaca

O coração é formado, basicamente, por miócitos (células cardíacas), vasos e matriz intersticial colágena, os quais em equilíbrio contribuem para manutenção da forma e função cardíaca. Assim, qualquer desequilíbrio na composição de um desses compartimentos pode resultar no processo de remodelação cardíaca, a qual é definida como alterações genéticas, moleculares, celulares e intersticiais que se manifestam clinicamente causando alterações no tamanho, forma e função do coração em resposta a uma injúria aguda ou sobrecarga crônica (MATSUBARA et al., 2006). O remodelamento cardíaco pode ocorrer de forma fisiológica e adaptativa ou frente às agressões que acometem o coração, tais como injúria (infarto agudo do miocárdio), sobrecargas crônicas de pressão ou volume (hipertensão arterial, estenose aórtica; insuficiência mitral ou aórtica), nas quais ocasionam a remodelação cardíaca patológica (PONTES e LEÃES, 2004). A remodelação cardíaca é frequentemente associada à sobrecarga pressórica resultante de hipertensão arterial ou volumétrica decorrente do aumento de volume. Durante a sobrecarga pressórica, há aumento da espessura da parede ventricular, em resposta a síntese de sarcômeros em paralelo, conhecida como hipertrofia concêntrica. Por sua vez, a sobrecarga de volume, ocasiona aumento de sarcômeros em série, resultando na dilatação da cavidade ventricular, sendo denominada de hipertrofia excêntrica (MATSUBARA et al., 2006).

Existem evidências que associam a obesidade com alterações estruturais e funcionais no coração, tais como hipertrofia ventricular esquerda, dilatação do átrio esquerdo, elevação da massa do ventrículo esquerdo, modificações na cavidade do VE, prejuízo da função diastólica e sistólica e fibrose intersticial (ABEL 2008). Em indivíduos obesos, o excesso de adiposidade resulta em aumento das demandas metabólicas, com conseqüente aumento do débito cardíaco e sobrecarga de volume de forma crônica, resultando, geralmente, em remodelação excêntrica do VE, com dilatação e hipertrofia compensatória (ASHRAFIAN et al., 2011).

5.2.1 - Influência da Obesidade Sobre a Estrutura Cardíaca

O processo de remodelação cardíaca morfológica nos modelos experimentais propostos no presente estudo foi analisado a partir metodologias que permitem mensurar

alterações na estrutura cardíaca, de forma macroscópica como a pesagem do coração *post mortem* e sua respectiva relação com a tíbia, tal qual a correção para a altura que se utiliza em humanos e apresenta menor variação do que o peso corporal (VOLTERA et al., 2008). A avaliação a nível microscópico consistiu em avaliação histológica (área seccional transversa e fração de colágeno) e comprimento do sarcômero.

O modelo experimental hiperglicídico não acarretou remodelação cardíaca morfológica, desde que não foram observadas alterações morfológicas em relação ao peso do coração e das câmaras cardíacas *post mortem* e sua relação com a tíbia. Chess et al. (2008), analisando os efeitos de extremos alimentares (alto consumo de carboidratos e gorduras) sobre o processo de remodelação e insuficiência cardíaca, relataram que a alta ingestão de açúcar acarreta hiperglicemia na circulação sanguínea e efeitos cardiotóxicos. O aumento de glicemia acarreta elevação dos níveis séricos de insulina, que no tecido cardíaco, induz elevação da síntese proteica de cardiomiócitos e, conseqüentemente, hipertrofia ventricular esquerda. Sharma et al. (2007) propõem que a ingestão de carboidratos, em particular o açúcar, associados ou não à sobrecarga pressórica pode causar hipertrofia do VE, via estimulação dos receptores de insulina e ativação de Akt/mTOR, proteínas envolvidas nas vias de sinalização proteica (Figura 20). Nesse sentido, os achados sugerem que no modelo hiperglicídico não houve necessidade de elevação da insulina circulante em resposta ao aumento dos níveis glicêmicos, uma vez que os animais permaneceram euglicêmicos. Além disso, a avaliação pressórica desses animais foi realizada apenas ao fim do protocolo experimental, o que não permite inferir o tempo no qual eles ficaram expostos a sobrecarga de pressão. Nossos achados corroboram Fang et al. (2005) e Vasanji et al. (2006) também não observaram alteração na massa cardíaca em modelos experimentais hiperglicídicos.

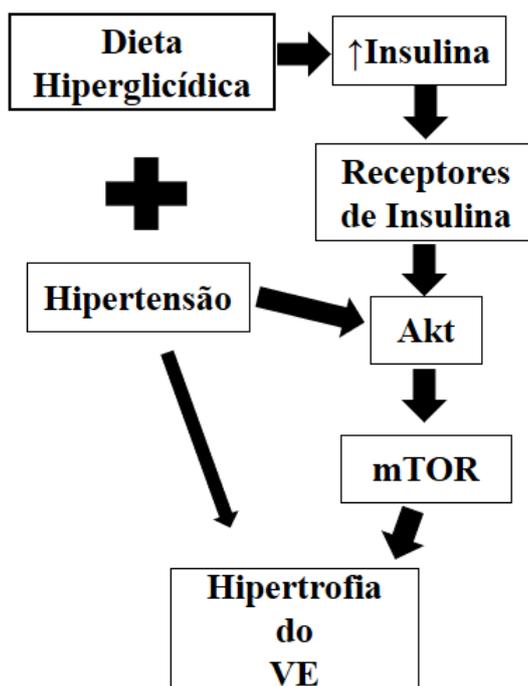


Figura 20. Representação esquemática da influência de alta ingestão de sacarose na hipertrofia cardíaca durante sobrecargas pressóricas. Adaptado de Sharma et al. (2007)

O modelo hiperlipídico não acarretou remodelação cardíaca, apesar dos animais apresentarem maior peso do coração e razão coração/tíbia comparado ao C, entretanto, essa diferença não foi significativa ($p=0,08$). Ademais, embora a AST desse grupo apresentou valor maior em relação ao C, esse aumento não foi significativo ($p=0,07$). Não houve alteração na fração de colágeno e comprimento do sarcômero no modelo hiperlipídico. Apesar de alguns estudos indicarem remodelação cardíaca visualizada por aumento na AST e alterações na fração de colágeno em animais alimentados com dietas hiperlipídicas (LEOPOLDO et al., 2011; MARTINS et al., 2015), nossos dados corroboram com estudo que não observou tais alterações em modelo experimental semelhante (CARROL et al., 2006). Segundo Alpert et al. (2016) o impacto da hipertensão e da obesidade na morfologia cardíaca depende da duração e gravidade dessas condições, sendo que a longo prazo poderiam causar uma forma híbrida de hipertrofia ventricular (hipertrofia excêntrica-concêntrica). Dentro desse contexto, os achados do presente estudo sugerem que a duração da obesidade com consequente sobrecarga pressórica não foi suficiente para ocasionar remodelamento cardíaco.

Em relação ao modelo experimental hiperlipídico com açúcar também não foram observadas alterações no peso do coração, AST e fração de colágeno miocárdico, demonstrando que esse tratamento não acarretou remodelação cardíaca. Esses achados são

divergentes de Poudyal et al. (2012) que visualizaram remodelação cardíaca com hipertrofia do VE e aumento na fração de colágeno em ratos *Wistar* após 32 semanas de protocolo experimental. Os autores relataram que essas alterações estão relacionadas, entre outros fatores, ao processo de envelhecimento. Outro mecanismo relacionado ao remodelamento cardíaco é o aumento dos níveis de leptina e/ou resistência à ação da mesma. A leptina medeia o processo de hipertrofia cardíaca, em partes pela via dependente da subfamília de proteína quinase ativada por mitógeno (MaPK p38) que regula vários processos celulares, entre eles processos de crescimento celular (SWEENEY, 2010), condições essas que não foram observadas nesses animais.

Outro aspecto importante visualizado nesse estudo foi que, apesar do modelo hiperlipídico com açúcar não apresentar alterações na AST e fração de colágeno, essa intervenção nutricional acarretou maior comprimento do sarcômero em relação aos demais grupos. Em condições de sobrecarga pressórica, há aumento da resistência à ejeção de volume ventricular, a qual precisa ser vencida durante a contração cardíaca. Nessas condições, a primeira resposta é dilatar por meio do aumento do comprimento dos sarcômeros até que a sobreposição dos miofilamentos seja ótima, o que leva ao aumento da contratilidade e pressão ventricular, normalizando o volume de ejeção. Contudo, se a ocorrência de sobrecarga pressórica for permanente, o ventrículo se adapta, pela replicação em paralelo dos sarcômeros, aumentando a largura dos miócitos e, conseqüentemente, a espessura da parede ventricular (hipertrofia concêntrica) (MORAIS, 2002).

5.2.2 - Influência da Obesidade Sobre a Função Cardíaca

A influência da obesidade sobre a função cardíaca foi avaliada no presente estudo *in vivo* e *in vitro*, por meio da avaliação hemodinâmica e cardiomiócitos isolados, respectivamente. Na avaliação *in vivo* não foi observada nenhuma alteração significativa, indicando que as intervenções dietéticas utilizadas não provocaram adaptação funcional cardíaca.

A técnica de cardiomiócitos isolados permite avaliação direta ao nível celular dos parâmetros de contração e relaxamento dos miócitos cardíacos. O mecanismo de contração e relaxamento miocárdico é regulado, dentre outros, pelo trânsito de Ca^{+2} intracelular. A contração se inicia na unidade celular, a partir da abertura dos canais tipo L, que permitem o influxo de Ca^{+2} para o meio intracelular. O influxo de Ca^{+2} ativa os receptores de rianodina tipo 2 (RyR₂), presentes no retículo sacorplasmático (RS), no qual libera mais Ca^{+2} . Esse aumento

da concentração de Ca^{+2} citosólico possibilita a ligação desse íon com a troponina C e interação actina-miosina, que ativa o processo de contração celular. Para que o relaxamento seja iniciado e o Ca^{+2} seja recapturado e/ou extruído, é necessário que ocorra diminuição da concentração de Ca^{+2} citosólico e, conseqüentemente, desligamento do Ca^{+2} da troponina C. O processo de recaptura de Ca^{+2} para o interior do RS é realizado pela bomba de Ca^{+2} do RS (SERCA2a). Outras proteínas, como o trocador $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{+2}$ (NCX), a bomba de Ca^{+2} do sarcolema atuam como reguladores do efluxo de Ca^{+2} (BERS, 2002). Nesse sentido, adaptações funcionais tanto na contração e relaxamento cardíaco podem ocorrer em resposta às alterações na expressão ou função desses canais e proteínas envolvidas nessa homeostase intracelular (REN et al., 2000; RELING et al., 2006; LEOPOLDO et al., 2011, LIN et al., 2012; CARVAJAL et al., 2014).

Nossos resultados demonstram que a obesidade preservou a função cardíaca com melhora pontual no relaxamento miocárdico, uma vez que foi observado menor tempo até 50% do encurtamento no modelo hiperlipídico e menor tempo até 50% do relaxamento nos modelos hiperlipídico e hiperlipídico com açúcar. Esses resultados divergem de outros estudos que demonstraram prejuízos na contração e relaxamento em modelos experimentais de obesidade, visualizados por menor tensão desenvolvida, redução no percentual de encurtamento e aumento na velocidade de encurtamento e relaxamento de cardiomiócitos (RELING et al., 2006; LIMA-LEOPOLDO et al., 2011, LEOPOLDO et al., 2011; CARVAJAL et al., 2014; LIMA-LEOPOLDO et al., 2014). Os autores visualizaram redução na expressão dos canais de Ca^{+2} do tipo L, menor fosforilação da RyR_2 , além de diminuição de SERCA2a e fosforilação de fosfolambam (PLB), responsáveis, respectivamente, pelo aumento da concentração de Ca^{+2} intracelular e remoção do Ca^{+2} citosólico (RELING et al., 2006; LIMA-LEOPOLDO et al., 2011, LEOPOLDO et al., 2011; CARVAJAL et al., 2014; LIMA-LEOPOLDO et al., 2014). No entanto, Fauconnier et al. (2007) em estudo sobre o efeito do palmitato no transiente de Ca^{+2} intracelular em cardiomiócitos de animais obesos geneticamente, observaram que, na presença de palmitato, o encurtamento celular foi aumentado em 40%, assim como elevação de 25% na razão entre o encurtamento celular e a amplitude do transiente de Ca^{+2} , demonstrando que esse substrato foi capaz de melhorar as respostas contráteis dos cardiomiócitos. Os autores sugerem que a exposição prolongada aos ácidos graxos sobre cardiomiócitos adaptam o metabolismo energético a partir do tipo de substrato ofertado e, por conseguinte, os resultados dessa exposição melhoram o trânsito de Ca^{+2} e o mecanismo de contração celular.

Para manter a função contrátil, o coração requer um suprimento contínuo e abundante de energia, que é proveniente, principalmente, dos ácidos graxos e glicose. Em condições aeróbicas normais, aproximadamente 60-90% da energia deriva da utilização de ácidos graxos

como principal substrato. As principais fontes de ácidos graxos são exógenas e incluem os ácidos graxos livres do plasma e os liberados pela hidrólise das lipoproteínas plasmáticas ricas em triglicerídeos (AUGUSTUS et al., 2003, CASTRO et al., 2010). Nesse sentido, os achados do presente estudo sugerem que aumento na oferta de ácidos graxos parece exercer, inicialmente, efeito protetor ao coração frente as agressões impostas pela condição de obesidade e sobrecargas pressóricas nos modelos hiperlipídicos do presente estudo. Além disso, cabe ressaltar que não foi observado nos modelos experimentais avaliados, a ocorrência de insuficiência cardíaca; a literatura destaca a utilização reduzida de ácidos graxos na insuficiência cardíaca (DOENST et al., 2013). No momento em que há manifestação de disfunção sistólica e/ou hipertrofia do VE, há redução na expressão de proteínas transportadoras de ácidos graxos e enzimas relacionadas à oxidação desse substrato que, conseqüentemente, diminuem o processo de oxidação de ácidos graxos, liberação e utilização deste como fonte de energia primária para atender as demandas metabólicas cardíacas (DOENST et al., 2013).

Em contrapartida, o modelo hiperglicídico acarretou disfunção contrátil de forma pontual visualizada por menor percentual e velocidade máxima de encurtamento. Esse achado corrobora Vasanji et al. (2006), que demonstraram redução na fração de encurtamento de animais alimentados com dieta rica em sacarose, indicando diminuição da contratilidade cardíaca. Balderas-Villalobos et al. (2013) relataram que o consumo de sacarose em ratos *Wistar* promoveu diminuição da amplitude do transiente de Ca^{+2} , embora sem modificações na quantidade de Ca^{+2} do RS. Os pesquisadores sugeriram que alterações na atividade da RyR_2 e/ou nos canais de Ca^{+2} do tipo L podem contribuir para depressão na liberação e recaptção de Ca^{+2} no RS via SERCA2a. Posteriormente, dados do mesmo grupo demonstraram que animais do grupo controle apresentavam liberação sincronizada de Ca^{+2} do RS durante o estímulo elétrico, levando a um aumento rápido e uniforme da concentração de Ca^{+2} intracelular. Entretanto os animais alimentados com sacarose exibiam aumento irregular da concentração de Ca^{+2} , verificado por diminuição da atividade de RyR_2 , embora não sendo observado redução da expressão dessa proteína (CARVAJAL et al., 2014). Esses dados suportam nossos achados, demonstrando que a elevação na ingestão de sacarose promove prejuízo na resposta contrátil cardíaca.

Mellor et al. (2010) em revisão sobre remodelação cardíaca em modelos experimentais com alta ingestão de sacarose relataram que as disfunções cardíacas encontradas nesse modelo, como redução na fração de ejeção e prolongamento nos tempos de encurtamento e relaxamento geralmente são associadas a menor recaptura de cálcio do RS. Os autores enfatizam que a

ausência do fenótipo de obesidade nesses modelos não funciona como um fator de confundimento para as alterações cardíacas, sendo essas atribuídas ao excesso da ingestão de sacarose. Abel et al. (2008) sugerem que a utilização alterada do substrato miocárdico pode ser mediadora das disfunções contráteis subsequentes. Dentro desse contexto, quando os níveis de ácidos graxos são baixos e as concentrações de glicose elevadas, o metabolismo miocárdico se adapta à utilização de glicose como substrato energético. Essa resposta adaptativa, inicialmente, é benéfica, pois mantém os níveis de adenosina trifosfato (ATP) frente à diminuição da fosforilação oxidativa mitocondrial a partir de ácidos graxos, no entanto, essa alteração do metabolismo energético não é apenas um efeito primário do remodelamento cardíaco, mas pode, de fato, ser preditor para a ocorrência de disfunção cardíaca (ALFARANO et al., 2015). Assim, os prejuízos visualizados no modelo hiperglicídico são oriundos, entre outros fatores, do maior aporte de glicose, que parece acarretar de alguma forma desequilíbrio na homeostase intracelular e, conseqüentemente, alterar o mecanismo de contração e relaxamento cardíaco. Cabe ressaltar que no presente estudo não foi avaliado o transiente de Ca^{+2} intracelular.

5.3 - Obesidade e Insuficiência Cardíaca

A insuficiência cardíaca (IC) é a via final comum da maioria das doenças que acometem o coração, sendo um dos mais importantes desafios clínicos atuais na área da saúde (BOCCHI et al., 2009). A literatura suporta a ideia que a obesidade é um fator de risco independente para o desenvolvimento de IC (BASTIEN et al., 2014; CLARK et al., 2014; SCHUTTER et al., 2014; ALPERT et al., 2014). A obesidade causa uma série de alterações hemodinâmicas, as quais visam manter a homeostase do organismo, que incluem aumento do débito cardíaco e a diminuição da resistência periférica. Essas alterações podem causar mudanças na morfologia cardíaca que predispõem a disfunção ventricular esquerda e direita. Além disso, alterações neuro-hormonais e metabólicas comuns na obesidade também podem contribuir para essas anormalidades na morfologia e função cardíaca. O conjunto dessas mudanças na hemodinâmica cardiovascular, na morfologia cardíaca e na função ventricular podem, em pacientes com obesidade grave, predispor a insuficiência cardíaca, mesmo na ausência de outras doenças cardíacas (cardiomiopatia da obesidade) (Figura 21) (BASTIEN et al., 2014; ALPERT et al., 2016).

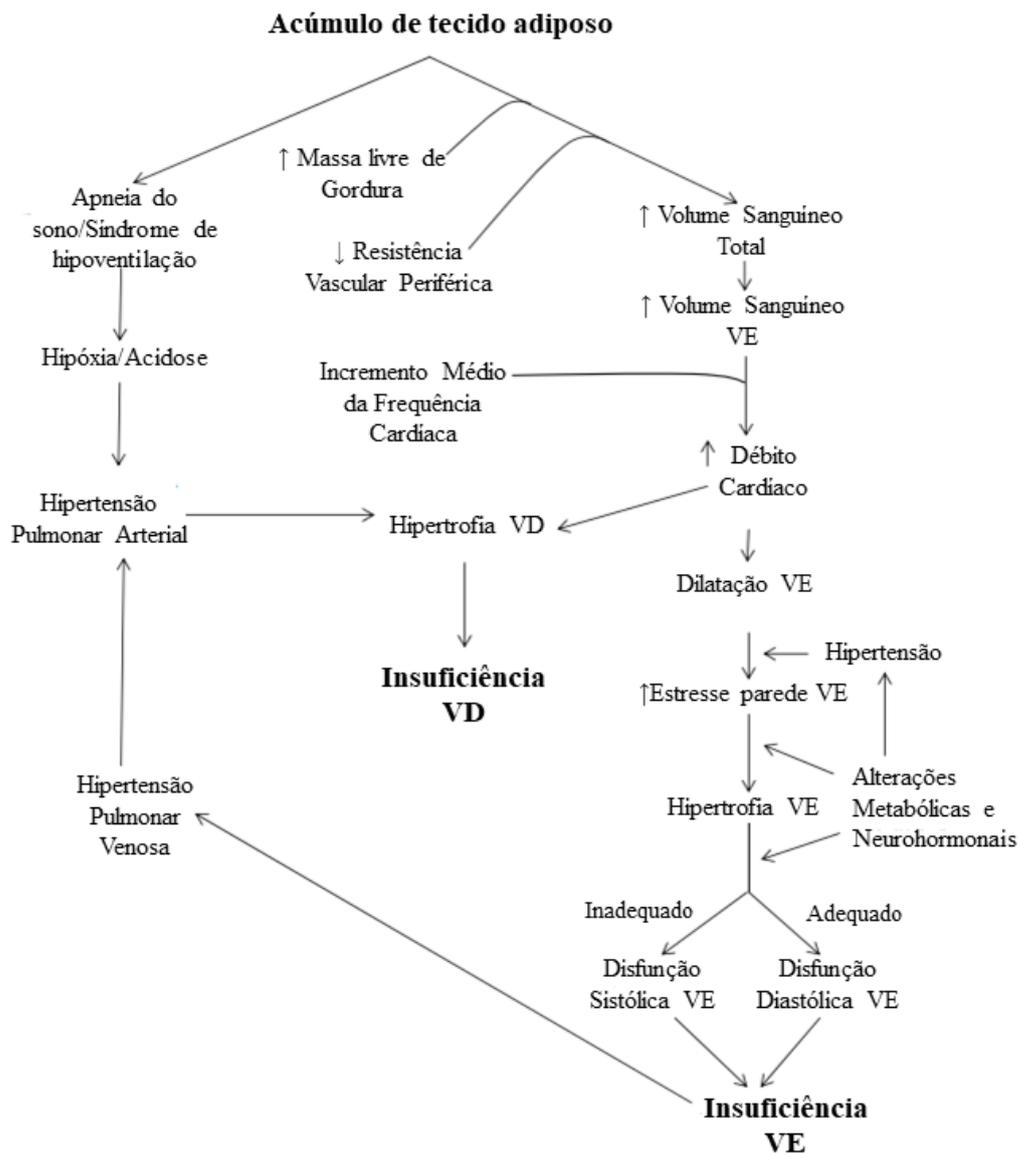


Figura 21. Patofisiologia da obesidade na cardiomiopatia. VD: ventrículo direito, VE: ventrículo esquerdo. (Adaptado de LAVIE et al., 2013)

Os critérios de diagnóstico de IC variam na literatura, sendo utilizados comumente sinais clínicos, tais como, taquipnéia, edema, ascite, derrame pleural e/ou pericárdico, bem como sinais morfológicos como presença de trombo no átrio esquerdo, aumento do teor de água dos pulmões e do fígado (BREGAGNOLLO et al., 2005). No presente estudo optou-se apenas pelos sinais morfológicos e hemodinâmicos, conforme descrito no item 3.7. Os resultados apontam que não foram encontradas diferenças entre os grupos experimentais, demonstrando a ausência de IC. Em particular no pulmão, o valor médio normal é 79% com variabilidade extremamente baixa (desvio padrão de 1%), o que tornam esse um indicador muito sensível para caracterizar a congestão pulmonar (TUCCI, 2011). Embora a média final

do percentual de umidade do pulmão dos grupos tenha ficado abaixo de 79%, valores acima de 81% foram observados em 3 a 4 animais por grupo experimental. Entretanto, apesar de modificações pontuais na morfologia e função cardíaca, os modelos experimentais propostos no presente estudo não apresentaram sinais evidentes de IC. A ausência de IC nos modelos experimentais utilizados no presente estudo pode ser explicado pela falha na caracterização de congestão tecidual, hipertrofia do VD, bem como disfunção sistólica e diastólica. Nesse sentido, não houveram adaptações morfológicas e funcionais, oriundas da condição de obesidade ou excesso de sacarose, capazes de predispor à IC.

6 – CONCLUSÃO

Os modelos experimentais, às custas de dieta hiperglicídica, hiperlipídica e hiperlipídica com açúcar, não promovem adaptações morfológicas e funcionais que evidenciam o processo de remodelação cardíaca com predisposição à insuficiência cardíaca. No entanto, o modelo hiperglicídico acarreta disfunção miocárdica leve evidenciada por menor percentual e velocidade máxima de encurtamento. Ademais, os modelos hiperlipídico e hiperlipídico com açúcar promovem melhora pontual no miocárdico, uma vez que foi observado menor tempo até 50% do encurtamento no modelo hiperlipídico e menor tempo até 50% do relaxamento nos modelos hiperlipídico e hiperlipídico com açúcar.

7 - REFERÊNCIAS

ABEL, E. D.; LITWIN, S. E.; SWEENEY, G. Cardiac remodeling in obesity. **Physiological Reviews**, v. 88, n. 2, p. 389, 2008.

AKIEDA-ASAI, S. et al. Metabolic features of rats resistant to a high-fat diet. **Obesity Research and Clinical Practice**, v. 7, n. 4, p. e243, jan. 2013.

AKIYAMA, T.; et al. High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. **Diabetes Research Clinical and Practices** v. 31, s.n., p. 27, 1996.

ALFARANO, C.; et al. Transition from metabolic adaptation to maladaptation of the heart in obesity: role of apelin. **International Journal of Obesity**, v. 39, n. 2, p. 312, 2015.

ALPERT, M. A. et al. Obesity and heart failure: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Translational Research**, v. 164, n. 4, p. 345, 2014.

ALPERT, M. A.; OMRAN, J. A. D.; BOSTICK, B. P. Effects of Obesity on Cardiovascular Hemodynamics, Cardiac Morphology, and Ventricular Function. **Current Obesity Reports**, v. 5, n. 4, p. 424, 2016.

AMIN, K. A.; KAMEL, H. H.; ELTAWAB, M. A. Abd. Protective effect of Garcinia against renal oxidative stress and biomarkers induced by high fat and sucrose diet. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, n. 1, p. 6, 2011.

ANGELOVA, P.; BOYADJIEV, N. A review on the models of obesity and metabolic syndrome in rats. **Trakia Journal of Sciences**, v. 1, p. 5, 2013.

ARIAS-MUTIS, O. J. et al. Development and characterization of an experimental model of diet-induced metabolic syndrome in rabbit. **PloS One**, v. 12, n. 5, p. e0178315, 2017.

AROMOLARAN, A. S.; BOUTJDIR, M. Cardiac Ion Channel Regulation in Obesity and the Metabolic Syndrome: Relevance to Long QT Syndrome and Atrial Fibrillation. **Frontiers in Physiology**, v. 8, p. 431, 2017.

ASHRAFIAN, H.; ATHANASIOU, T.; LE ROUX, C. W. Heart remodelling and obesity: the complexities and variation of cardiac geometry. **Heart (British Cardiac Society)**, v. 97, n. 3, p. 171, feb. 2011.

AUGUSTUS, A. S. et al. Routes of FA delivery to cardiac muscle: modulation of lipoprotein lipolysis alters uptake of TG-derived FA. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 284, n. 2, p. E331, 2003.

BALDERAS-VILLALOBOS, J. et al. Oxidative stress in cardiomyocytes contributes to decreased SERCA2a activity in rats with metabolic syndrome. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 305, n. 9, p. H1344, 2013.

- BAÑOS, G. et al. Activities of antioxidant enzymes in two stages of pathology development in sucrose-fed rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 83, n. 3, p. 278, 2005.
- BARBORIAK, J. J. et al. Influence of high-fat diets on growth and development of obesity in the albino rat. **Journal of Nutrition**, v. 64, p. 241, 1958.
- BARNES, M. J. et al. High fat feeding is associated with increased blood pressure, sympathetic nerve activity and hypothalamic mu opioid receptors. **Brain Research Bulletin**. v. 61, n. 5, p. 511, 2003.
- BASTIEN, M.; et al. Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. **Progress in Cardiovascular Diseases**. v. 56, n. 4, p. 369, 2014.
- BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 19 Sup. 1:S181-S191, jul. 2003.
- BERNARDIS, L.; PATTERSON, B. D. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology**. v. 40, n. 4, p. 527, 1968.
- BERS, D. M. Cardiac excitation–contraction coupling. **Nature**, v. 415, n. 6868, p. 198-205, 2002.
- BOCCHI, E. A.; et al. III Diretriz brasileira de insuficiência cardíaca crônica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 93, n. 1, p. 3, 2009.
- BRAINARD, R. E. et al. High fat feeding in mice is insufficient to induce cardiac dysfunction and does not exacerbate heart failure. **PLoS One**, v. 8, n. 12, p. e83174, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigitel Brasil 2016**. Saúde Suplementar: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico / Ministério da Saúde, Agência Nacional de Saúde Suplementar. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017.
- BRAUNWALD, E.; ROSS JR, J.; SONNENBLICK, E. H. Mechanisms of contraction of the normal and failing heart. **New England Journal of Medicine**, v. 277, n. 17, p. 910-920, 1967.
- BRAY, G. A.; POPKIN, B. M. Dietary fat intake does affect obesity! **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 6, p. 1157-1173, 1998.
- BREGAGNOLLO, E. A.; et al. Efeitos da inibição prolongada da enzima de conversão da angiotensina sobre as características morfológicas e funcionais da hipertrofia ventricular esquerda em ratos com sobrecarga pressórica persistente. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, n. 3, p. 225, 2005.
- BRIAUD, I.; et al. Differential effects of hyperlipidemia on insulin secretion in islets of langerhans from hyperglycemic versus normoglycemic rats. **Diabetes**, v. 51, n. 3, p. 662, 2002.

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, abril, 2007.

CAMPOS, D. H. S. Influência da dieta hiperlipídica ricas em ácidos graxos saturados sobre o metabolismo, estrutura e função cardíaca de ratos com estenose aórtica supraavalvar. 2014.

CAO, L.; et al. Modified high-sucrose diet-induced abdominally obese and normal-weight rats developed high plasma free fatty acid and insulin resistance. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, 2012.

CARBONE, S.; et al. A high-sugar and high-fat diet impairs cardiac systolic and diastolic function in mice. **International Journal of Cardiology**, v. 198, s. n., p. 66, 2015.

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

CARVAJAL, K.; et al. Ca²⁺ mishandling and cardiac dysfunction in obesity and insulin resistance: role of oxidative stress. **Cell Calcium**, v. 56, n. 5, p. 408-415, 2014.

CARVALHO, M. F., et al. Experimental diet based on the foods listed in the Family Budget Survey is more detrimental to growth than to the reflex development of rats. **Revista de Nutrição**, v. 26, n. 2, p. 177, 2013.

CASTELLANOS JANKIEWICZ, A. K.; et al. Adipose tissue redistribution caused by an early consumption of a high sucrose diet in a rat model. **Nutricion Hospitalaria**, v. 31, n. 6, 2015.

CASTRO, P.; et al. Metabolismo energético del corazón y sus proyecciones en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca. **Revista Médica de Chile**, v. 138, n. 8, p. 1028, 2010.

CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN JUNIOR, O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 190, 2006

CHAAR, L. J.; et al. High-fat diet-induced hypertension and autonomic imbalance are associated with an upregulation of CART in the dorsomedial hypothalamus of mice. **Physiological Reports**, v. 4, n. 11, p. e12811, 2016.

CHESS, D. J.; STANLEY, W. C. Role of diet and fuel overabundance in the development and progression of heart failure. **Cardiovascular Research**, v. 79, p. 269–278, 2008.

CHUN, M.; et al. Differential effects of high-carbohydrate and high-fat diet composition on muscle insulin resistance in rats. **Journal of Korean Medical Science**, v. 25, n. 7, p. 1053, 2010.

CLARK, A. L., FONAROW, G C., HORWICH, T. B. Obesity and the obesity paradox in heart failure. **Progress in Cardiovascular Diseases**. v. 56, n. 4, p. 409, 2014.

CRAPO, P. A.; REAVEN, G.; OLEFSKY, J. Plasma glucose and insulin responses to orally administered simple and complex carbohydrates. **Diabetes**, v. 25, n. 9, p. 741, 1976.

DA SILVA, V. L. et al. Moderate exercise training does not prevent the reduction in myocardial L-type Ca²⁺ channels protein expression at obese rats. **Physiological Reports**, v. 5, n. 19, p. e13466, 2017.

DE A. FREITAS, R. R. et al. Sympathetic and renin-angiotensin systems contribute to increased blood pressure in sucrose-fed rats. **American Journal of Hypertension**, v. 20, n. 6, p. 692, 2007.

DE MEIJER, V. E. et al. Dietary fat intake promotes the development of hepatic steatosis independently from excess caloric consumption in a murine model. **Metabolism**, v. 59, n. 8, p. 1092, 2010.

DE MORAES, C.; et al. A. Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. **BMC Physiology**. v. 29, s. n., p. 8, 2008.

DOENST, T.; NGUYEN, T. D.; ABEL, E. D. Cardiac metabolism in heart failure. **Circulation Research**, v. 113, n. 6, p. 709, 2013.

DONG, F.; et al. Impaired cardiac contractile function in ventricular myocytes from leptin-deficient ob/ob obese mice. **Journal of Endocrinology, Bristol**, v. 188, n. 1, p.25, 2006.

DOURMASHKIN, J.T.; et al. Different forms of obesity as a function of diet composition. **International Journal of Obesity**, London, v. 29, n. 11, p. 1368, 2005.

DUGANI, C. B.; KLIP, A. Glucose transporter 4: cycling, compartments and controversies. **EMBO Reports**, v. 6, n. 12, p. 1137-1142, 2005.

FANG, C. X. et al. Metallothionein alleviates cardiac contractile dysfunction induced by insulin resistance: role of Akt phosphorylation, PTB1B, PPAR γ and c-Jun. **Diabetologia**, v. 48, n. 11, p. 2412, 2005.

FAROOQI, I. S.; et al. Metabolism: partial leptin deficiency and human adiposity. **Nature**, v. 414, n. 6859, p. 34-35, 2001.

FASSANI, É. J.; DE BRITO, J. Á. G. Utilização de argilas na alimentação animal. **Cao do Brasil**. Lavras, Minas Gerais, 2004. Disponível em: <http://www.caodobrasil.com.br/dicas-e-artigos/visualizar/-utilizacao-de-argilas-na-alimentacao-animal>. Acesso: 27 de Novembro de 2017.

FAUCONNIER, J.; et al. Effects of palmitate on Ca²⁺ handling in adult control and ob/ob cardiomyocytes. **Diabetes**, v. 56, n. 4, p. 1136-1142, 2007.

FERNANDES, M. R.; et al. Animal models of obesity in rodents. An integrative review. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 31, n. 12, p. 840-844, 2016.

FERRON, A. J. T.; et al. Cardiac dysfunction induced by obesity is not related to β -adrenergic system impairment at the receptor-signalling pathway. **PloS One**, v. 10, n. 9, p. e0138605, 2015.

FIELD, K., J.; WHITE, W. J.; LANG, C. M. Anaesthetic effects of chloral hydrate, pentobarbitone and urethane in adult male rats. **Laboratory Animals**, v. 27, n. 3, p. 258, 1993.

FORECHI, L. et al. Effects of high and low salt intake on left ventricular remodeling after myocardial infarction in normotensive rats. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 9, n. 2, p. 77–85, 2015.

FRANCIS, J. et al. Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 281, n. 5, p. R1734-R1745, 2001.

GAJDA, A. M.; et al. A discussion of how diets made from purified ingredients influence the phenotypes of the MS in commonly used rodent models. **Animal Lab News**, March 2007.

GOLDBERG, I. J.; GINSBERG, H. N. Ins and outs modulating hepatic triglyceride and development of nonalcoholic fatty liver disease. **Gastroenterology**, v. 130, n. 4, p. 1343, 2006.

GOMES, R. da C. Entendendo a eficiência alimentar. **Embrapa Gado de Corte-Capítulo em livro científico (ALICE)**. 2015.

GONÇALVES, N. et al. Early cardiac changes induced by a hypercaloric Western-type diet in “subclinical” obesity. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 310, n. 6, p. H655-H666, 2016.

GUATIMOSIM, S. et al. Molecular identification of a TTX-sensitive Ca²⁺ current. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 280, n. 5, p. C1327-C1339, 2001.

GUH, D. P.; et al. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. **BMC Public Health**, v. 9, p. 88, 2009.

GUTTIERRES, A. P. M; ALFENAS, R. C. G. Efeitos do índice glicêmico no balanço energético. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia e Metabolismo**, v. 51, n. 3, p. 382-388, 2007.

HARA, K.; HARRIS, R. A. The anesthetic mechanism of urethane: the effects on neurotransmitter-gated ion channels. **Anesthesia & Analgesia**, v. 94, n. 2, p. 313-318, 2002.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, n. 2, p. 270, 2010.

HARROLD, J. A.; WILLIAMS, G.; WIDDOWSON, P. S. Early Leptin Response to a Palatable Diet Predicts Dietary Obesity in Rats: Key Role of Melanocortin-4 Receptors in the Ventromedial Hypothalamic Nucleus. **Journal of Neurochemistry**, v. 74, n. 3, p. 1224, 2000.

HILL M. S. P. Right and left myocardial antioxidant responses during heart failure subsequent to myocardial infarction. **Circulation**. 1997; 96 (7): 2414-20.

HILL, J. O.; MELANSON, E. L.; WYATT, Holly T. Dietary fat intake and regulation of energy balance: implications for obesity. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 2, p. 284S, 2000.

HOFFLER, U. et al. Diet-induced obesity is associated with hyperleptinemia, hyperinsulinemia, hepatic steatosis, and glomerulopathy in C57Bl/6J mice. **Endocrine**, v. 36, n. 2, p. 311, 2009.

HUANG, B. W. et al. The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 6, n. 2, p. 120, 2004.

HURT, R. T. et al. The obesity epidemic: challenges, health initiatives, and implications for gastroenterologists. **Gastroenterol Hepatol (NY)**, v. 6, n. 12, p. 780, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil.** Disponível em: http://saladeimprensa.ibge.gov.br/pt/noticias?view=noticia&id=1&idnoticia=1699&busca=1&t=pof-20082009-desnutricao-cai-peso-criancas-brasileiras-ultrapassa-padrao_internacional. Acesso em: 15 Ago. 2015

IRVING, B. A.; et al. Effects of exercise training intensity on nocturnal growth hormone secretion in obese adults with the metabolic syndrome. **Journal Clinical Endocrinology Metabolism**. v. 94, n. 6, p. 1979, 2009.

JACKMAN, M. R.; MACLEAN, P. S.; BESSESEN, D. H. Energy expenditure in obesity-prone and obesity-resistant rats before and after the introduction of a high-fat diet. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 299, n. 4, p. R1097, aug. 2010.

JASMIN, JF.; et al. Lung structural remodeling and pulmonary hypertension after myocardial infarction: complete reversal with irbesartan. **Cardiovascular Research**, v. 58, n. 3, p. 621, 2003.

JIA, G. et al. Uric Acid Promotes Left Ventricular Diastolic Dysfunction in Mice Fed a Western Diet Novelty and Significance. **Hypertension**, v. 65, n. 3, p. 531, 2015.

KIEFFER, T. J.; HABENER, J. F. The adipoinsular axis: effects of leptin on pancreatic β -cells. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 278, n. 1, p. E1-E14, 2000.

KIM, C. H.; et al. Effects of high-fat diet and exercise training on intracellular glucose metabolism in rats. **American Journal Physiology and Endocrinology Metabolism**. v. 278, n. 6, p. 977, 2000.

KIM, JY. et al. Insulin resistance of muscle glucose transport in male and female rats fed a high-sucrose diet. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 276, n. 3, p. R665-R672, 1999.

KNIGHT, Z. A. et al. Hyperleptinemia is required for the development of leptin resistance. **PLoS one**, v. 5, n. 6, p. e11376, 2010.

KOCH, C. E.; et al. High-fat diet induces leptin resistance in leptin-deficient mice. **Journal of Neuroendocrinology**. v. 26, n. 2, p. 58, 2014.

KOWALSKI, G. M. et al. Resolution of glucose intolerance in long-term high-fat, high-sucrose-fed mice. **Journal of Endocrinology**, v. 233, n. 3, p. 269, 2017.

LAVIE, C. J.; et al. Impact of obesity and the obesity paradox on prevalence and prognosis in heart failure. **JACC: Heart Failure**, v. 1, n. 2, p. 93-102, 2013.

LEOPOLDO, A. S.; et al. Involvement of L-type calcium channel and SERCA2A in myocardial dysfunction induced by obesity. **Journal of Cellular Physiology, Philadelphia**, v. 226, n. 11, p. 2934, 2011.

LEOPOLDO, A. S.; et al. Cardiac remodeling in a rat model of diet-induced obesity. **Canadian Journal of Cardiology**, Oakville, v. 26, n. 8, p.423, 2010.

LEVY, R. B. et al. Distribuição regional e socioeconômica da disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil em 2008-2009. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 46, n. 1, p. 06-15, 2012.

LICHNOVSKÁ, R.; et al. Serum leptin in the development of insulin resistance and other disorders in the metabolic syndrome. **Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky**, v. 149, n. 1, p. 119, 2005.

LIM, K. et al. Origin of Aberrant Blood Pressure and Sympathetic Regulation in Diet-Induced Obesity Novelty and Significance. **Hypertension**, v. 68, n. 2, p. 491, 2016.

LIMA-LEOPOLDO, A. P.; et al. Influence of Long-Term Obesity on Myocardial Gene Expression. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v. 100, n. 3, p. 229, 2013.

LIMA-LEOPOLDO, A. P.; et al. Long-term obesity promotes alterations in diastolic function induced by reduction of phospholamban phosphorylation at serine-16 without affecting calcium handling. **Journal Applied Physiology**, Bethesda, v. 117, n. 6, p. 669, 2014.

LIMA-LEOPOLDO, A. P; et al. Obesity induces upregulation of genes involved in myocardial Ca⁺² handling. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 351, n. 26, p. 2694, 2008.

LIMA-LEOPOLDO, A. P.; et al. Myocardial dysfunction and abnormalities in intracellular calcium handling in obese rats. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 97, n. 3, p. 232, 2011.

LIN, YC.; et al. Defective calcium inactivation causes long QT in obese insulin-resistant rat. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 302, n. 4, p. H1013, 2012.

LIU, J.; LLOYD, S. G. High-fat, low-carbohydrate diet alters myocardial oxidative stress and impairs recovery of cardiac function after ischemia and reperfusion in obese rats. **Nutrition Research**, v. 33, n. 4, p. 311-321, 2013.

MADSEN, A. N. et al. Long-term characterization of the diet-induced obese and dietresistant rat model: A polygenetic rat model mimicking the human obesity syndrome. **Journal of Endocrinology**, v. 206, n. 3, p. 287–296, may 2010.

MALAFIA, A. B.; et al. Obesity induction with high fat sucrose in rats. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 26, p. 17-21, 2013.

MARTINS, F.; et al. Dieta Hiperlipídica Promove Remodelação Cardíaca em Modelo Experimental de Obesidade. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia.**, São Paulo, v. 105, n. 5, p. 479, Nov. 2015

MAŠEK, J.; FABRY, P. High-fat diet and the development of obesity in albino rats. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 15, n. 11, p. 444, 1959.

MATSUBARA, L. S.; et al. Alterations in myocardial collagen content affect rat papillary muscle function. **American Journal of Physiology: Heart Circulatory Physiology**, Bethesda, v. 279, n. 4, p. 1534, 2000.

MATSUBARA, L. S.; et al. Remodelação miocárdica na sobrecarga crônica de pressão ou de volume no coração de ratos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 86, n. 2, p. 126-30, 2006.

MEDFORD, H. M.; CHATHAM, J. C.; MARSH, S. A. Chronic ingestion of a Western diet increases O-linked- β -N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) protein modification in the rat heart. **Life Sciences**, v. 90, n. 23, p. 883-888, 2012.

MELLOR, K. M.; et al. Elevated dietary sugar and the heart: experimental models and myocardial remodeling. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 88, n. 5, p. 525, 2010.

MELLOR, K. M.; et al. Fructose modulates cardiomyocyte excitation contraction coupling and Ca²⁺ handling in vitro. **Plos One**, v. 6, n. 9, p. e25204, 2011.

MICKELSEN, O.; et al. Experimental obesity. 1. Production of obesity in rats by feeding high-fat diets. **Journal of Nutrition**, v. 57, p. 541, 1955.

MITTENDORFER, B. Origins of metabolic complications in obesity: adipose tissue and free fatty acid trafficking. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 14, n. 6, p. 535, 2011.

MORAIS, H. L. Pathophysiology of heart failure and clinical evaluation os cardiac function. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. Textbook of veterinary internal medicine. 5 ed. St. Louis: **Elsevier Saunders**, p. 692-713, 2002.

MOURA, L. P.; de et al. Alterações bioquímicas e hepáticas em ratos submetidos à uma dieta hiperlipídica/hiperenergética. **Revista de Nutrição**, v. 25, n. 6, p. 685, 2012.

NASCIMENTO, A. F.; et al. A hypercaloric pellet-diet cycle induces obesity and comorbidities in wistar rats. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**. v. 52, n. 6, p. 968, 2008.

NASCIMENTO, A. R.; et al. Structural and functional microvascular alterations in a rat modelo f metabolic syndrome induced by a high-fat diet. **Obesity (Silver Spring)**. v. 21, n. 10, p. 2046 – 2054, 2013.

OKERE, I. C.; et al. Differential effects of saturated and unsaturated fatty acid diets on cardiomyocyte apoptosis, adipose distribution, and serum leptin. **American Journal of Physiology and Heart Circulation Physiology**. n. 291, v. 1, p. 38, 2006.

OLEFSKY, JERROLD M.; SAEKOW, MARK. The effects of dietary carbohydrate content on insulin binding and glucose metabolism by isolated rat adipocytes. **Endocrinology**, v. 103, n. 6, p. 2252-2263, 1978.

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

OLIVEIRA, L. S. C.; et al. The inflammatory profile and liver damage of a sucrose-rich diet in mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 2, p. 193, 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Obesidade e Sobrepeso**. Geneva: OMS, 2016 [acesso: 22 de Janeiro de 2017] Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>

PEREIRA, L. O.; FRANCISHI R. P.; LANCH A Jr A.H. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 47, n.2, p. 111, 2003.

PEREIRA, R. B.; et al. Differences in tail vascular bed reactivity in rats with and without heart failure following myocardial infarction. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 312, n. 3, p. 1321, 2005.

PEREIRA-LANCH A, L. O.; et al. Obesity: considerations about etiology, metabolism, and the use of experimental models. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 5, p. 75, 2012.

POIRIER, P. et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. **Circulation**, v. 113, n. 6, p. 898, 2006.

POLEGATO, B. F. et al. Associação entre Variáveis Funcionais e Insuficiência Cardíaca após o Infarto do Miocárdio em Ratos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 106, n. 2, p. 105, 2016.

PONTES, M. R. N.; LEÃES, P. E. Remodelamento ventricular: dos mecanismos moleculares e celulares ao tratamento. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**, v. 3, p. 1-7, 2004.

POUDYAL, H.; et al. Chronic high-carbohydrate, high-fat feeding in rats induces reversible metabolic, cardiovascular, and liver changes. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 302, n. 12, p. E1472, 2012.

PRANPRAWIT, A.; et al. Short-term and long-term effects of excessive consumption of saturated fats and/or sucrose on metabolic variables in Sprague Dawley rats: a pilot study. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 13, p. 3191, 2013.

PRPIC, V.; et al. Adaptive changes in adipocyte gene expression differ in AKR/J and SWR/J mice during diet-induced obesity. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 11, p. 3325, 2002.

RAGAB, S. MM.; et al. Effect of a high fat, high sucrose diet on the promotion of non-alcoholic fatty liver disease in male rats: the ameliorative role of three natural compounds. **Lipids in Health and Disease**, v. 14, n. 1, p. 83, 2015.

RELLING, D. P.; et al. High-fat diet-induced juvenile obesity leads to cardiomyocyte dysfunction and upregulation of Foxo3a transcription factor independent of lipotoxicity and apoptosis. **Journal of Hypertension**, London, v. 24, n. 3, p. 549, 2006.

REN, J.; et al. Basal and ethanol-induced cardiac contractile response in lean and obese Zucker rat hearts. **Journal of Biomedical Science**, v. 7, n. 5, p. 390, 2000.

ROBERTS, C. K.; BERGER, J. J.; BARNARD, R. J. Long-term effects of diet on leptin, energy intake, and activity in a model of diet-induced obesity. **Journal of Applied Physiology**, v. 93, n. 3, p. 887, 2002.

ROLLS, B. J.; SHIDE D. J. The influence of dietary fat on food intake and body weight. **Nutrition Revist.** v. 50, n. 10, p.283, 1992.

ROSINI, T. C.; SILVA, A. S. R.; DE MORAES, C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 3, p. 383, 2012.

SA, F. G. dos S. de et al. Resistência à Obesidade Promove Disfunção Contrátil Leve Associada com Trânsito Ca²⁺ Intracelular. **Arquivos Brasileiros de Cardiolgia**, São Paulo, v. 105, n. 6, p. 588, 2015.

SALIE, R.; HUISAMEN, B.; LOCHNER, A. High carbohydrate and high fat diets protect the heart against ischaemia/reperfusion injury. **Cardiovascular Diabetology**, v. 13, n. 1, p. 109, 2014.

SANTOS, R. D.; et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 100, n.1, p.1-40, 2013.

SCHUTTER, A.; LAVIE, C. J.; MILANI, R. V. The Impact of Obesity on Risk Factors and Prevalence and prognosis of coronary heart disease—The Obesity Paradox. **Progress in Cardiovascular Diseases**. v. 56, n. 4, p. 401, 2014.

SCLAFANI, A. Carbohydrate taste, appetite, and obesity: an overview. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 11, n. 2, p. 131, 1987.

SHARMA, N.; et al. High fructose diet increases mortality in hypertensive rats compared to a complex carbohydrate or high fat diet. **American Journal of Hypertension**. n. 20, s.v., p. 403, 2007.

SHARMA, N.; OKERE, I. C.; BARROWS, B. R. High-sugar diets increase cardiac dysfunction and mortality in hypertension compared to low-carbohydrate or high-starch diets. **Journal of Hypertension**, v. 26, n. 7, p. 1402, 2008.

SHARMA, N.; et al. Potential impact of carbohydrate and fat intake on pathological left ventricular hypertrophy. **Cardiovascular Research**, v. 73, n. 2, p. 257, 2007.

SHELUDIAKOVA, A.; ROONEY, K.; BOAKES, R. A. Metabolic and behavioural effects of sucrose and fructose/glucose drinks in the rat. **European Journal of Nutrition**, v. 51, n. 4, p. 445, 2012.

SHIOJIMA, I. et al. Akt signaling mediates postnatal heart growth in response to insulin and nutritional status. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 40, p. 37670, 2002.

SIMONDS, S. E. et al. Leptin mediates the increase in blood pressure associated with obesity. **Cell**, v. 159, n. 6, p. 1404, 2014.

SMITH S.M., MYERS J.H. & KAPLAN H.M. Catheterization of the left cardiac ventricle of the rat. **Lab Anim** 13, 15-16, 1979.

STORLIEN, L. H. et al. Dietary fat subtypes and obesity. In: *Fatty Acids and Lipids-New Findings*. **Karger Publishers**, p. 148, 2001.

SWARNALATHA, B. N.; D'SOUZA, Serena Stephen; ABRAHAM, Asha. Insulin resistance precedes glucose intolerance and hyperleptinaemia in high-fat simple carbohydrate-fed C57BL/6J mice. **Endokrynologia Polska**, v. 67, n. 6, p. 592, 2016.

SWEENEY, G. Cardiovascular effects of leptin. **Nature Reviews Cardiology**, v. 7, n. 1, p. 22, 2010.

TAYLOR, B. A.; PHILLIPS, S. J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. **Genomics**, v. 34, n. 3, p. 389, 1996.

TOWNSEND, K. L.; LORENZI, M. M.; WIDMAIER, E. P. High-fat diet-induced changes in body mass and hypothalamic gene expression in wild-type and leptin-deficient mice. **Endocrine**, v. 33, n. 2, p. 176, 2008.

TUCCI, P. J. F. Características fisiopatológicas do modelo de insuficiência cardíaca pós-infarto do miocárdio no rato. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 96, n. 5, p. 420, 2011.

VASANJI, Z.; et al. Alterations in cardiac contractile performance and sarcoplasmic reticulum function in sucrose-fed rats is associated with insulin resistance. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 291, n. 4, p. C772, 2006.

VILEIGAS, D. F.; et al. Saturated high-fat diet-induced obesity increases adenylate cyclase of myocardial β -adrenergic system and does not compromise cardiac function. **Physiological Reports**, v. 4, n. 17, p. e12914, 2016.

VOLTERA, A. F.; et al. Effects of neuroendocrine obesity induction on systemic hemodynamics and left ventricular function of normotensive rats. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 1, p. 47, 2008.

WHITE, S. A. et al. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 57, n. 5, p. 339, 2013.

WOODS, S. C.; et al. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **Journal of Nutrition**, Rockville, v. 133, n. 4, p. 1081, 2003.

YASPELKIS, B. B.; et al. Leptin administration improves skeletal muscle insulin responsiveness in diet-induced insulin-resistant rats. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 280, n. 1, p. E130, 2001.

ANEXO 1- CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Caracterização de Remodelação Cardíaca em Modelo Experimental de Obesidade a partir de Diferentes Tipos de Dietas Hipercalóricas", Protocolo nº.08/2016, sob a responsabilidade de André Soares Leopoldo que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata(exceto o homem), para fins de pesquisa científica(ou ensino) encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal(CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS(CEUA) DO(A) Centro de Ciências da Saúde-Maruípe-Vitória-ES em 01-07-2016

Vigência do Projeto	Início: Julho/2016	Término: Junho/2018
Espécie/Linhagem	Ratos Wistar(Rattus norvegicus albinus)	
Nº de Animais	Experimento Piloto:0	Protocolo Experimental:60
Peso/Idade	Total:60	
Sexo	Peso:100 a 150g Idade:1 mês	
Origem	Macho	
	Mamíferos	

Vitória (ES), 01 de julho de 2016.

Presidente do
Comitê de Ética no Uso de Animais
COMISSÃO DE ÉTICA LUPES