

## Influência do Tempo de Exposição à Obesidade Induzida por Dieta Hiperlipídica sobre os Colágenos Tipo I e III Miocárdico

*Influence of Term of Exposure to High-Fat Diet-Induced Obesity on Myocardial Collagen Type I and III*

Danielle Cristina Tomaz da Silva<sup>1</sup>, Ana Paula Lima-Leopoldo<sup>2</sup>, André Soares Leopoldo<sup>2</sup>, Dijon Henrique Salomé de Campos<sup>1</sup>, André Ferreira do Nascimento<sup>1</sup>, Sílvio Assis de Oliveira Junior<sup>3</sup>, Carlos Roberto Padovani<sup>4</sup>, Antonio Carlos Cicogna<sup>1</sup>

Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP)<sup>1</sup>, Botucatu, SP; Departamento de Esportes, Centro de Educação Física e Desportos da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)<sup>2</sup>, Vitória, ES; Escola de Fisioterapia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)<sup>3</sup>, Campo Grande, MS; Departamento de Bioestatística do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Estadual Paulista (UNESP)<sup>4</sup>, Botucatu, SP - Brasil

### Resumo

**Fundamento:** A obesidade é um fator de risco para muitas complicações médicas; a pesquisa médica demonstrou que as alterações hemodinâmicas, morfológicas e funcionais estão correlacionadas com a duração e gravidade da obesidade.

**Objetivo:** O presente estudo determinou a influência do tempo de exposição à obesidade induzida por dieta com alto teor de gordura no colágenos tipo I e III miocárdico.

**Métodos:** Ratos machos com trinta dias de idade, da raça *Wistar*, foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: um grupo de controle (C) alimentado com ração padrão e um grupo de ratos obesos (Ob) alternadamente alimentados com uma de quatro dietas palatáveis ricas em gordura. Cada dieta foi mudada diariamente, e os ratos foram mantidos em suas respectivas dietas por 15 (C<sub>15</sub> e Ob<sub>15</sub>) e 30 (C<sub>30</sub> e Ob<sub>30</sub>) semanas consecutivas. A obesidade foi determinada pelo índice de adiposidade.

**Resultados:** O grupo Ob<sub>15</sub> foi similar ao grupo C<sub>15</sub> em relação à expressão de colágeno miocárdico tipo I; contudo, a expressão no grupo Ob<sub>30</sub> foi menor do que no grupo C<sub>30</sub>. O tempo de exposição à obesidade foi associado com uma redução de colágeno do tipo I no grupo Ob<sub>30</sub>, quando comparado com o Ob<sub>15</sub>. A obesidade não afetou a expressão do colágeno tipo III.

**Conclusão:** Este estudo mostrou que o tempo de exposição à obesidade por 30 semanas induzida por uma dieta rica em gordura insaturada causou uma redução na expressão do colágeno miocárdico tipo I em ratos obesos. No entanto, nenhum efeito foi observado em relação à expressão do colágeno miocárdico tipo III. (Arq Bras Cardiol. 2014; 102(2):157-164)

**Palavras-chave:** Obesidade; Dieta hiperlipídica / normas; Colágeno Tipo I; Colágeno Tipo III; Miocárdio.

### Abstract

**Background:** Obesity is a risk factor for many medical complications; medical research has shown that hemodynamic, morphological and functional abnormalities are correlated with the duration and severity of obesity.

**Objective:** Present study determined the influence of term of exposure to high-fat diet-induced obesity on myocardial collagen type I and III.

**Methods:** Thirty-day-old male *Wistar* rats were randomly distributed into two groups: a control (C) group fed a standard rat chow and an obese (Ob) group alternately fed one of four palatable high-fat diets. Each diet was changed daily, and the rats were maintained on their respective diets for 15 (C<sub>15</sub> and Ob<sub>15</sub>) and 30 (C<sub>30</sub> and Ob<sub>30</sub>) consecutive weeks. Obesity was determined by adiposity index.

**Results:** The Ob<sub>15</sub> group was similar to the C<sub>15</sub> group regarding the expression of myocardial collagen type I; however, expression in the Ob<sub>30</sub> group was less than C<sub>30</sub> group. The time of exposure to obesity was associated with a reduction in collagen type I in Ob<sub>30</sub> when compared with Ob<sub>15</sub>. Obesity did not affect collagen type III expression.

**Conclusion:** This study showed that the time of exposure to obesity for 30 weeks induced by unsaturated high-fat diet caused a reduction in myocardial collagen type I expression in the obese rats. However, no effect was seen on myocardial collagen type III expression. (Arq Bras Cardiol. 2014; 102(2):157-164)

**Keywords:** Obesity; High-fat diet; Collagen Type I; Collagen Type III; Myocardium.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Antonio Carlos Cicogna •

Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu, Rubião Júnior, S/N. CEP 18618-000, Botucatu, SP - Brasil.

E-mail: dany.tomaz@gmail.com

Artigo recebido em 02/04/13; revisado em 21/08/13; aceito em 22/08/13.

DOI: 10.5935/abc.20130232

## Introdução

A obesidade é uma doença metabólica crônica, caracterizada por um acúmulo excessivo de tecido adiposo em relação à massa magra. Atualmente, é uma epidemia global e um importante problema de saúde pública, que afeta tanto os países desenvolvidos quanto os em desenvolvimento<sup>1,2</sup>. Comportamentos associados a uma sociedade industrializada moderna, incluindo um estilo de vida sedentário, hábitos alimentares inadequados ou uma combinação de ambos, levaram a um aumento da prevalência da obesidade<sup>3</sup>.

A obesidade também é considerada um fator de risco para muitas complicações médicas, entre elas as doenças cardiovasculares<sup>4,5</sup>. Alterações hemodinâmicas associadas a alterações hormonais alteram a expressão gênica do miocárdio, promovendo o remodelamento da matriz extracelular miocárdica<sup>6</sup>. Estudos usando coelhos tornados obesos tanto através de uma dieta rica em gordura<sup>7</sup> ou através de engenharia genética, ratos Zucker<sup>8</sup>, relataram um aumento no colágeno miocárdico tipo I e III ao longo de 12 e 24 semanas, respectivamente. Em contraste, Carroll e cols.<sup>9</sup> não encontraram nenhuma mudança na fração de colágeno total em ratos obesos submetidos a uma dieta rica em gordura durante 12 semanas. Estudos anteriores realizados em nosso laboratório demonstraram que ratos *Wistar* tornados obesos por uma dieta de 15 semanas rica em gordura<sup>10</sup> e ratos *Wistar-Kyoto* tornados obesos por uma dieta de 20 semanas com alto teor de gordura e carboidratos<sup>11</sup> mostraram aumento de colágeno total miocárdico. Nesses estudos, no entanto, as frações de colágeno tipos I e II não foram avaliadas.

A pesquisa médica demonstrou que anormalidades hemodinâmicas, morfológicas e funcionais estão correlacionadas com a duração e a gravidade da obesidade<sup>12-14</sup>. Por causa da escassez de estudos que avaliaram o efeito do tempo de exposição à obesidade induzida por dieta rica em gordura nas frações de colágeno tipo I e III miocárdico, o presente estudo foi planejado para testar a hipótese de que o tempo de exposição à obesidade promove um aumento progressivo da quantidade de colágeno tipo I e tipo III miocárdico.

## Métodos

### Animais e Protocolo Experimental

Depois de um período de 7 dias para aclimação, ratos machos de 30 dias de idade da raça *Wistar* foram divididos aleatoriamente em dois grupos: controle (C) e obeso (Ob). O grupo C foi alimentado com uma ração padrão (RC Focus 1765, Agrocere®, Rio Claro, SP, Brasil), contendo 12,3% de quilocalorias de gordura, 57,9% de carboidratos e 29,8% de proteína, enquanto o grupo Ob foi alimentado com uma de quatro dietas alternadas, ricas em gordura (RC Focus 2413, 2414, 2415 e 2416, Agrocere®, Rio Claro, SP, Brasil), contendo 49,2% de quilocalorias de gordura, 28,9% de carboidratos e 21,9 % de proteína. Cada dieta foi mudada diariamente, e os ratos foram mantidos em suas respectivas dietas por 15 (Ob<sub>15</sub> e C<sub>15</sub>, n = 22) e 30 (C<sub>30</sub> e Ob<sub>30</sub>, n = 25) semanas consecutivas. A dieta rica

em gorduras foi caloricamente mais rica em comparação com a dieta padrão (3,65 kcal/g vs. 2,95 kcal/g) devido à composição mais elevada de gordura. A dieta rica em gorduras consistiu em ácidos graxos saturados e insaturados, que proporcionava 20% e 80% das calorias derivadas da gordura, respectivamente.

Os ratos foram alojados em gaiolas individuais em uma sala com ar limpo em ambiente controlado a 23 (± 3)°C com ciclo de 12 horas de luz/escurecimento e 60 (± 5)% de umidade relativa. Todos os experimentos e os procedimentos foram realizados de acordo com o Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório, publicado pelo Conselho Nacional de Pesquisa (1996) e foram aprovados pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP, Botucatu, SP, Brasil).

### Perfis nutricionais, metabólicos e endócrinos

Os perfis nutricionais e metabólicos incluíram o índice de adiposidade, peso corporal final (PCF) e tolerância à glicose; os perfis endócrinos incluíram as concentrações de leptina e insulina. Como a obesidade é definida como uma quantidade excessiva de gordura corporal em relação à massa magra<sup>15</sup> foi utilizado um critério baseado no índice de adiposidade para determinar a obesidade, de acordo com dados de estudos anteriores<sup>9,16</sup>.

Após um jejum de 12 a 15 horas, os animais foram anestesiados (por via intraperitoneal com pentobarbital de sódio 50 mg/kg), decapitados, e toracotomizados; as depósitos de gordura de tecido adiposo foram dissecadas e pesadas. O índice de adiposidade foi calculado pela seguinte fórmula: índice de adiposidade = (gordura corporal [GC]/PCF) × 100<sup>17</sup>. A gordura corporal foi calculada como a soma do peso das depósitos de gordura individuais, conforme indicado a seguir: GC = gordura epididimal + gordura retroperitoneal + gordura visceral.

Como a obesidade pode ser acompanhada por alterações metabólicas e endócrinas<sup>18</sup>, todos os animais foram submetidos a testes de tolerância à glicose, leptinemia e hiperinsulinemia. Depois de 15 e 30 semanas de tratamento, a tolerância à glicose e a resistência à insulina foram avaliadas em todos os animais com um teste de tolerância à glicose (TTG). Após 4 a 6 horas de jejum, uma amostra de sangue foi tirada a partir da ponta da cauda do animal e coletada em um tubo heparinizado. A concentração da glicose no sangue (como a condição basal) de cada animal foi imediatamente determinada usando um glicosímetro portátil (Accucheck Advantage; Roche Diagnostics Co., Indianapolis, IN, EUA). Subsequentemente, 2 g/kg de glicose (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA) foi administrada por via intravenosa, e as concentrações de glicose no sangue foram medidas após 15, 30, 60, 90, e 120 minutos<sup>19</sup>. A intolerância à glicose foi avaliada utilizando a área sob a curva (AUC) para a glicose.

Para análises hormonais, o sangue do tronco foi recolhido em tubos heparinizados e centrifugado a 3000 g por 15 minutos a 4°C. As concentrações séricas de leptina e insulina foram determinadas por ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando kits disponíveis comercialmente (Linco Research Inc., St. Louis, MO, EUA).

### Perfil cardiovascular

Como a obesidade pode estar associada à comorbidades cardiovasculares, o perfil cardiovascular dos animais também foi avaliado, usando a pressão arterial sistólica, morfologia do tecido cardíaco e a expressão da proteína do colágeno tipo I e III do ventrículo esquerdo.

### Pressão arterial sistólica

Ao final da experiência, a pressão arterial sistólica foi avaliada usando o método não invasivo de manguito de cauda, com um eletro-esfigmomanômetro Narco BioSystems® (International Biomédica, Austin, TX, EUA)<sup>20</sup>. A média de duas leituras foi registrada para cada medição.

### Estudos morfológicos

O coração foi removido e dissecado no momento da eutanásia. Os pesos do ventrículo esquerdo, bem como suas respectivas razões com a tibia foram determinados como índice de remodelamento cardíaco.

### Expressão da proteína do colágeno miocárdico tipo I e III

O tecido ventricular esquerdo foi analisado por Western Blot<sup>7</sup> para quantificar a expressão da proteína do colágeno tipo I e III. Resumidamente, os ventrículos isolados dos ratos controle ( $C_{15}$  e  $C_{30}$ ,  $n = 6$  em cada grupo) e obesos ( $Ob_{15}$  e  $Ob_{30}$ ,  $n = 6$  em cada grupo) foram congelados com nitrogênio líquido e homogeneizados em um buffer contendo 10 mM Tris (pH 7,4), 100 mM de NaCl, 1 mM de EDTA, 1 mM de EGTA, 1% de Triton X-100, glicerol a 10%, dodecilsulfato de sódio (SDS) a 0,1% e 0,5% de desoxicolato. O homogeneizado foi centrifugado a 4°C por 20 minutos a 12000 rpm. O sobrenadante foi recolhido e o conteúdo total de proteína foi determinado pelo método de Bradford (Bradford, 1976). As amostras foram submetidas a eletroforese em gel de poli(acrilamida)-SDS (SDS-PAGE) em géis de poli(acrilamida) (6% ou 10%, dependendo do peso molecular de proteína). Após a eletroforese, as proteínas foram eletro-transferidas para a membrana de nitrocelulose (BioRad Biosciences; NJ, USC). Os pesos das amostras (50 ug) e as transferências foram monitorados em relação à igualdade e eficiência, respectivamente, com a utilização de 0,5% de corante de Ponceau S na membrana de blot. A membrana de blot foi então bloqueada (usando 5% de leite em pó desnatado, 10 mmol/L Tris-HCl [pH 7,6], 150 mmol/L de NaCl, e 0,1% de Tween 20) por 2 horas à temperatura ambiente e incubada durante a noite com anticorpos específicos a 4°C. A ligação do anticorpo primário foi detectado com a utilização de anticorpos secundários conjugados com peroxidase (anti-coelho ou anti-camundongo, dependendo da proteína a uma diluição de 1:10000 e incubados por 1,5 horas à temperatura ambiente), desenvolvidos por quimiluminescência aumentada (Amersham Biosciences, NJ, EUA) e detectados por autorradiografia. A análise de quantificação dos blots foi realizada com a utilização do software Scion Image (Scion, com base em imagem NIH). Anticorpos monoclonais de camundongos para colágeno tipo I e III (1:10000) e anticorpos monoclonais de camundongos

para  $\beta$ -actina (1:1000) foram obtidos de Abcam (Reino Unido, Cambridge) e Santa Cruz Biotechnology (CA, EUA), respectivamente. Bandas alvo foram normalizadas para a expressão da  $\beta$ -actina cardíaca.

### Análise estatística

Todos os resultados foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão e os grupos foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) de dois fatores para amostras independentes. Quando encontradas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), foi realizado o teste de Bonferroni *post hoc* para comparações múltiplas<sup>21</sup>. O nível de significância foi de 5% ( $\alpha = 0,05$ ).

## Resultados

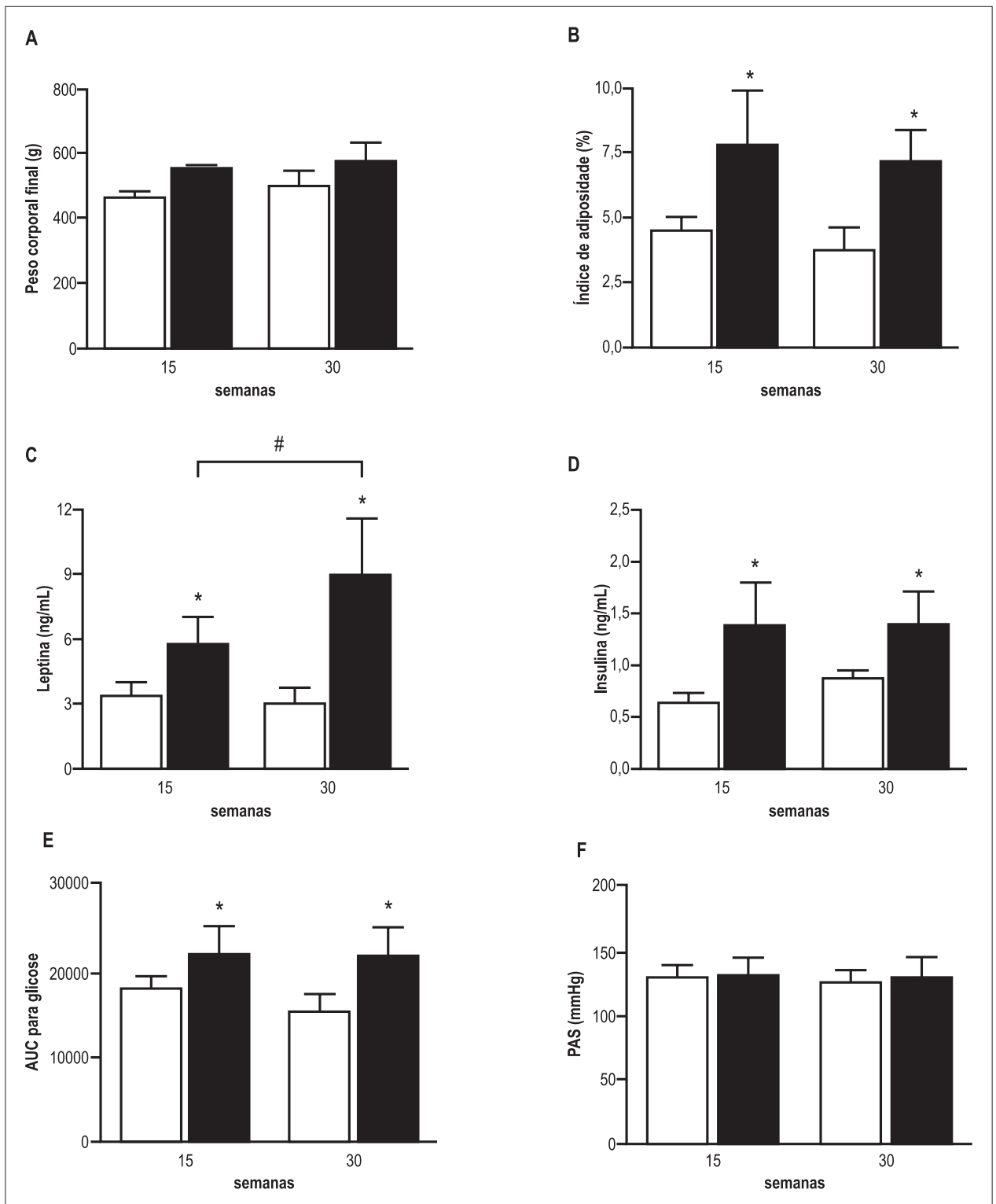
A Figura 1 mostra as características gerais dos animais nos grupos  $C_{15}$ ,  $C_{30}$ ,  $Ob_{15}$  e  $Ob_{30}$ . A dieta de alto teor de gordura causou um aumento no PCF e no índice de adiposidade em animais obesos em comparação com os respectivos controles em todos os tempos avaliados. A duração da exposição à obesidade não resultou em uma diferença significativa no PCF e índice de adiposidade entre os grupos  $C_{15}$  e  $C_{30}$  e entre os grupos  $Ob_{15}$  e  $Ob_{30}$ . Não houve diferença na pressão arterial sistólica entre os grupos C e Ob nos dois períodos de estudo, e isso também não se alterou com o tempo de exposição à obesidade. A AUC para a glicose foi maior nos grupos Ob em comparação com os controles; o tempo de exposição não afetou os níveis de glicose. A obesidade promoveu um aumento nos níveis de insulina e leptina nos grupos Ob em relação aos respectivos controles. Os níveis de insulina não se alteraram com o tempo de exposição à obesidade; o nível de leptina foi maior no grupo  $Ob_{30}$  em comparação com os grupos  $Ob_{15}$ .

Como mostrado na Figura 2, a presença de obesidade aumentou o peso do ventrículo esquerdo, assim como a razão VE/comprimento da tibia no grupo  $Ob_{15}$ , em comparação com o grupo  $C_{15}$ . No entanto, a razão VE/comprimento da tibia foi semelhante nos grupos  $Ob_{30}$  e  $C_{30}$ , sugerindo que a exposição à obesidade não têm qualquer efeito sobre esta variável.

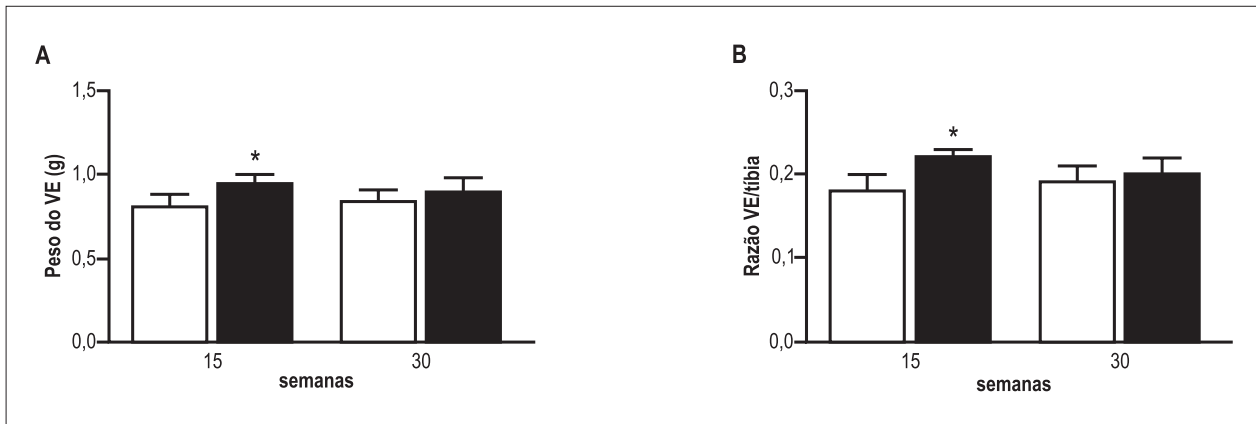
Não houve diferença na expressão do colágeno miocárdico tipo I entre os grupos  $Ob_{15}$  e  $C_{15}$  (Figura 3); no entanto, a expressão da proteína foi menor no grupo  $Ob_{30}$  comparada com o grupo  $C_{30}$ . O tempo de exposição a obesidade também resultou em uma redução da expressão do colágeno tipo I no grupo  $Ob_{30}$  em comparação com o grupo  $Ob_{15}$ . A obesidade não alterou a expressão do colágeno tipo III, e o tempo de exposição à obesidade não influenciou a expressão desse colágeno.

## Discussão

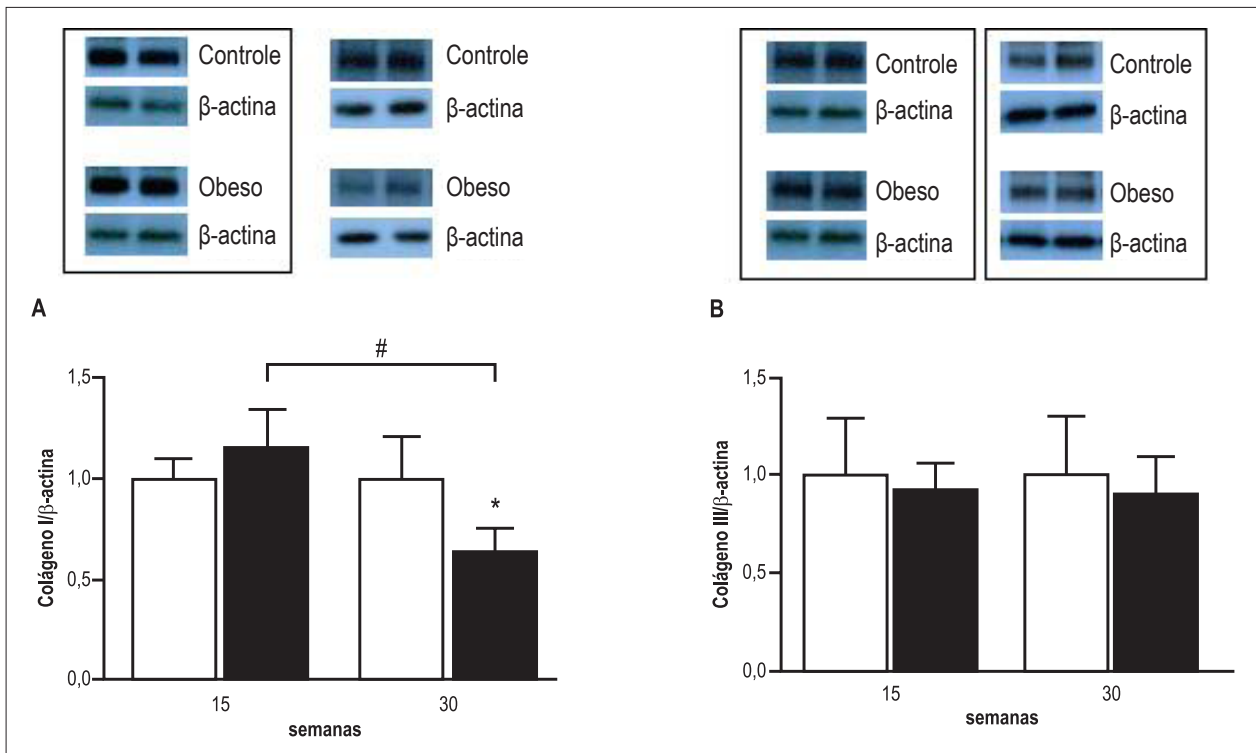
O principal achado desse estudo foi que o tempo de exposição à obesidade induzida por uma dieta rica em gordura insaturada afetou a expressão do colágeno tipo I no miocárdio, mas não teve efeito sobre o colágeno miocárdico tipo III. A obesidade induzida experimentalmente pela dieta é a que mais se assemelha à obesidade encontrada



**Figura 1** - Peso corporal final (A), índice de adiposidade (B), leptina (C), insulina (D), área sob a curva (AUC) do teste de tolerância à glicose intraperitoneal (E), pressão arterial sistólica (PAS) (F) em ratos controle (barras brancas) e obesos (barras pretas) após 15 e 30 semanas de tratamento. Os dados são apresentados em média  $\pm$  DP, teste de Bonferroni post hoc e ANOVA de 2 fatores. \* $p < 0,05$  vs. grupo controle; #  $p < 0,05$  Ob<sub>15</sub> vs Ob<sub>30</sub>



**Figura 2 -** Dimensões do ventrículo esquerdo. Peso do ventrículo esquerdo (VE) (A), e razão peso do ventrículo esquerdo/tíbia (B) nos ratos controle (barras brancas) e obesos (barras pretas) após 15 e 30 semanas de tratamento. Os dados são apresentados em média ± DP, teste de Bonferroni post hoc e ANOVA de 2 fatores. \*p < 0,05 vs. grupo de controle.



**Figura 3 -** Análise Western blot do colágeno tipo I e III no coração de ratos controle (barras brancas) e obesos (barras pretas) após 15 e 30 semanas de tratamento. Blots foram escaneados. Apresentação histográfica das razões colágeno I/β-actina (A) e colágeno III/β-actina. (B) Dados são apresentados em médias ± DP de seis animais diferentes por grupo; ANOVA de 2 fatores e teste de Bonferroni post hoc. \*p < 0,05 vs. Grupo controle; # p < 0,05 Ob<sub>15</sub> vs Ob<sub>30</sub>.

na população humana, e tem sido frequentemente utilizada para reproduzir as possíveis alterações morfológicas, moleculares, bioquímicas e funcionais em diferentes órgãos do corpo humano<sup>9,16,22</sup>.

A dieta de alto teor calórico usada nessa experiência continha uma quantidade suficiente de calorias e sua duração foi suficiente para promover a obesidade em ratos; isso provavelmente ocorreu

devido ao alto teor de gorduras insaturadas da dieta, que contém uma densidade energética mais elevada e uma maior capacidade de armazenagem no corpo.

Esse estudo mostrou que o peso corporal final e o índice de adiposidade de animais obesos estavam aumentados em comparação com os respectivos controles em todos os momentos avaliados, e esses dados são consistentes com a

literatura<sup>22</sup>. No entanto, o tempo de exposição à dieta não alterou essas duas variáveis, que foram semelhantes nos dois períodos de tempo estudados - 15 e 30 semanas.

A carga de glicose nos grupos obesos resultou em intolerância à glicose durante os dois períodos de tratamento, 15 e 30 semanas. Outro aspecto importante é que o tempo de exposição à obesidade não influenciou o perfil da glicemia entre os animais obesos, pois a intolerância à glicose vista nas primeiras 15 semanas manteve-se estável até a 30<sup>a</sup> semana do protocolo experimental. A diminuição da tolerância à glicose, uma fase intermediária entre a homeostase normal da glicose e diabetes mellitus<sup>23</sup> tipo 2 pode estar relacionada com o desenvolvimento de resistência à insulina nos animais obesos. Em apoio a essa hipótese, os nossos dados mostram que a obesidade levou à hiperinsulinemia em ambas as avaliações. Os resultados desse estudo estão de acordo com os autores que observaram que a obesidade induzida por uma dieta rica em gordura insaturada promove a intolerância à glicose, hiperinsulinemia e resistência à insulina em um curto período de tempo<sup>24-27</sup> e que esses efeitos são prolongados<sup>28</sup>.

Um aumento das concentrações séricas de leptina após 15 e 30 semanas foi observado em animais obesos em comparação com os respectivos controles. O tempo de exposição à obesidade influenciou o nível desse hormônio, com aumentos observados a partir de 15 semanas. As concentrações de leptina estão correlacionadas com a gordura corporal, influenciando tanto a lipogênese quanto a lipólise<sup>29</sup>. Nesse estudo, embora o índice de adiposidade permanecesse o mesmo nos grupos Ob<sub>15</sub> e Ob<sub>30'</sub>, as concentrações de leptina foram mais elevadas no grupo Ob<sub>30</sub> comparado com o Ob<sub>15</sub>. Esse fato provavelmente ocorreu devido ao surgimento da resistência à ação desse hormônio após a 30<sup>a</sup> semana. Outros estudos têm mostrado que longos períodos de obesidade promovem a resistência à leptina, o que consequentemente conduz ao aumento desse hormônio<sup>14,24,30</sup>.

Embora o aumento no tecido adiposo tenha levado a alterações metabólicas e hormonais, a obesidade não resultou em aumento na pressão arterial após 15 e 30 semanas, que se manteve estável durante os dois períodos de estudo. Os mecanismos responsáveis pela alteração da pressão arterial incluem a hiperatividade do sistema nervoso simpático<sup>31</sup>, aumento da atividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS)<sup>16,32,33</sup> e estresse oxidativo<sup>31</sup>, que pode resultar em vasoconstrição periférica e aumento da reabsorção renal de sódio. A ausência de efeito sobre a pressão arterial sugere que a obesidade não altera os fatores envolvidos no controle da pressão arterial. Esses resultados estão de acordo com alguns autores que não observaram alterações na pressão arterial em animais obesos<sup>9</sup>; mas diferem dos estudos que mostraram níveis elevados da mesma<sup>32-34</sup>. No entanto, apesar de a obesidade não ter alterado a pressão arterial, houve uma ligeira remodelação do ventrículo esquerdo, provavelmente devido a um aumento dos fatores neuro-hormonais mencionados acima.

O achado mais importante desse estudo foi que o tempo de exposição à obesidade provocou uma redução

na expressão do colágeno miocárdico tipo I no grupo Ob<sub>30</sub> comparado com o grupo Ob<sub>15</sub> e, em contraste, não alterou a expressão do colágeno miocárdico tipo III. Não encontramos estudos que tenham investigado a associação entre a duração da obesidade e a expressão do colágeno miocárdico tipo I e III. O(s) mecanismo(s) responsável(is) pela diminuição da expressão do colágeno tipo I permanecem obscuros. Uma possível explicação para essa redução pode ser a diminuição da síntese e/ou um aumento da degradação do colágeno. O tecido adiposo secreta várias substâncias que estão envolvidas na regulação do colágeno miocárdico, incluindo o hormônio leptina, que é produzido principalmente nos adipócitos e também é sintetizado por vários tecidos, incluindo o coração<sup>35</sup>. Os efeitos da leptina no coração não foram completamente elucidados, mas acredita-se que influenciam a hipertrofia de cardiomiócitos e a regulação da produção de vários componentes da matriz extracelular do miocárdio que agem sobre os fibroblastos cardíacos<sup>35</sup>. Embora haja controvérsia sobre a associação entre a leptina e o colágeno miocárdico tipo I tais como o aumento da expressão de procolágeno<sup>35-37</sup> e a diminuição da síntese<sup>38</sup>, há um consenso entre os autores de que a leptina aumenta a atividade das metaloproteinases (MMP) 2<sup>35-38</sup> e a expressão do mRNA do MMP-9<sup>39,40</sup>, participantes da degradação do colágeno do tipo I. Portanto, é possível que o aumento da atividade tanto de MMP-2 e MMP-9 seja responsável pela redução do colágeno tipo I no miocárdio. Como referido acima, o colágeno miocárdico tipo III não se alterou na obesidade. Nenhuma informação foi encontrada na literatura como uma possível explicação para esse achado.

É importante mencionar que o nosso achado pode ter relevância clínica, uma vez que demonstra que a obesidade de longa duração, comum em pacientes, não acompanhada de hipertensão arterial, pode causar uma diminuição na complacência ventricular devido à redução do colágeno tipo I. Esse fenômeno pode resultar em uma melhor adaptação do coração à obesidade, devido ao fato dessa patologia estar associada ao aumento do volume de sangue.

Como conclusão, o presente estudo mostra que o tempo de exposição à obesidade induzida por uma dieta rica em gordura insaturada provoca uma redução na expressão do colágeno miocárdico tipo I após 30 semanas, mas não se verificaram alterações no colágeno miocárdico tipo III. Estudos futuros são necessários para determinar o mecanismo responsável pela diminuição do colágeno miocárdico tipo I e a ausência de efeito sobre o colágeno tipo III.

#### Fontes de Financiamento

FAPESP - processo n° 07/53267-3 e 08/50172-4.

#### Agradecimentos

Somos gratos a José C. Georgette, Mário B. Bruno, Sandra A. Fabio, Elenize J. Pereira, Sueli A. Clara, Vitor M. Souza, Camila RC Camacho e Corina J. Correa por seu auxílio técnico. Esse manuscrito foi revisado e editado por nativos da língua inglesa com experiência biomédica no BioMed Proofreading (Cleveland, Ohio, EUA).

## Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: da Silva DCT, Padovani CR, Cicogna AC; Obtenção de dados: da Silva DCT, Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, de Campos DHS; Análise e interpretação dos dados: da Silva DCT, Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, de Campos DHS, Nascimento AF, Oliveira Junior SA, Padovani CR, Cicogna AC; Análise estatística: da Silva DCT, Padovani CR; Obtenção de financiamento: Cicogna AC; Redação do manuscrito: da Silva DCT; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual: da Silva DCT, Lima-Leopoldo AP, Nascimento AF, Oliveira Junior SA, Cicogna AC.

## Referências

1. Eckel RH, Barouch WW, Ershow AG. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute-National of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Working Group on the pathophysiology of obesity-associated cardiovascular disease. *Circulation*. 2002;105(24):2923-8.
2. Wong CY, O' Moore-Sullivan T, Leano R, Byrne N, Beller E, Marwick TH. Alterations of left ventricular myocardial characteristics associated with obesity. *Circulation*. 2004;110(19):3081-7.
3. Stein CJ, Colditz GA. The epidemic of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2522-5.
4. Malnick SD, Knobler H. The medical complications of obesity. *QJM*. 2006;99(9):565-79.
5. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer X, et al; American Heart Association; Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2006;113(6):898-918.
6. Galinier M, Pathak A, Roncalli J, Massabuau P. [Obesity and cardiac failure]. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 2005;98(1):39-45.
7. Carroll JF, Tyagi SC. Extracellular matrix remodelling in the heart of the homocysteinemic obese rabbit. *Am J Hypertens*. 2005;18(5 Pt 1):692-8.
8. Toblli JE, Cao G, DeRosa G, Forcada P. Reduced cardiac expression of plasminogen activator inhibitor 1 and transforming growth factor b1 in obese Zucker rats by perindopril. *Heart*. 2005;91(1):80-6.
9. Carroll JF, Zenebe WJ, Strange TB. Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension*. 2006;48(1):65-72.
10. Leopoldo AS, Sugizaki MM, Lima-Leopoldo AP, do Nascimento AF, Luvizotto Rde A, de Campos DH, et al. Cardiac remodeling in a rat model of diet-induced obesity. *Can J Cardiol*. 2010;26(8):423-9.
11. Oliveira SA Jr, Okoshi K, Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Campos DH, Martinez PF, et al. Nutritional and cardiovascular profiles of normotensive and hypertensive rats kept on a high fat diet. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93(5):526-33.
12. Alpert MA. Obesity cardiomyopathy: pathophysiology and evolution of the clinical syndrome. *Am J Med Sci*. 2001;321(4):225-36.
13. Scaglione R, Dichiaro A, Indovina A, Lipari R, Ganguzzo A, Parrinello G, et al. Left ventricular diastolic and systolic function in normotensive obese subjects: influence of degree and duration of obesity. *Eur Heart J*. 1992;13(6):738-42.
14. Nascimento AF, Luvizotto RA, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Seiva FR, Justulin LA Jr, et al. Long-term high-fat diet-induced obesity decreases the cardiac leptin receptor without apparent lipotoxicity. *Life Sci*. 2011;88(23-24):1031-8.

## Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pela FAPESP.

## Vinculação Acadêmica

Não há vinculação deste estudo com dissertações e teses de pós-graduação.

15. Nascimento TB, Baptista Rde F, Pereira PC, Campos DH, Leopoldo AS, Leopoldo AP, et al. Vascular alterations in high-fat diet-obese rats: role of endothelial L-arginine/NO pathway. *Arq Bras Cardiol*. 2011;97(1):40-5.
16. Boustany-Kari CM, Gong M, Akers WS, Guo Z, Cassis LA. Enhanced vascular contractility and diminished coronary artery flow in rats made hypertensive from diet-induced obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2007;31(11):1652-9.
17. Taylor BA, Phillips SJ. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. *Genomics*. 1996;34(3):389-98.
18. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature*. 2000;404(6778):635-43.
19. Ouwens DM, Boer C, Fodor M, de Galan P, Heine RJ, Maassen JA, et al. Cardiac dysfunction induced by high-fat diet is associated with altered myocardial insulin signalling in rats. *Diabetologia*. 2005;48(6):1229-37.
20. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Frohlich ED. Validity of an indirect tail-cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J Lab Clin Med*. 1971;78(6):957-62.
21. Bayley BJ. Tables of the Bonferroni "t" statistic. *J Am Stat Assoc*. 1977;72:469-78.
22. Ghibaudo L, Cook J, Farley C, van Heek M, Hwa JJ. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of sprague-dawley rats. *Obes Res*. 2002;10(9):956-63.
23. Pereira LO, de Francischi RP, Lancha Jr AH. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2003;47(2):111-27.
24. Woods SC, Seeley RJ, Rushing PA, D'Alessio DA, Tso P A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *J Nutr*. 2003;133(4):1081-7.
25. Huang BW, Chiang MT, Yao HT, Chiang W. The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats. *Diabetes Obes Metab*. 2004;6(2):120-6.
26. Li L, Yang G, Li Q, Tang Y, Li K. High-fat- and Lipid-induced insulin resistance in rats: the comparison of glucose metabolism, plasm resistin and adiponectin levels. *Ann Nutr Metab*. 2006;50(6):499-505.
27. Winzell MS, Ahrén B. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2004;53 Suppl 3:S215-9.
28. Nivoit P, Morens C, Van Assche FA, Jansen E, Poston L, Remacle C, et al. Established diet-induced obesity in female rats leads to offspring hyperphagia, adiposity and insulin resistance. *Diabetologia*. 2009;52(6):1133-42.
29. Ainslie DA, Proietto J, Fam BC, Thorburn AW. Short-term, high-fat diets lower circulating leptin concentrations in rats. *Am J Clin Nutr*. 2000;71(2):438-42.
30. Ren J, Zhu BH, Relling DP, Esberg LB, Ceylan-Isik AF. High-fat diet-induced obesity leads to resistance to leptin-induced cardiomyocyte contractile response. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(11):2417-23.

31. Pausova Z. From big fat cells to high blood pressure: a pathway to obesity-associated hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2006;15(2):173-8.
32. Boustany CM, Bharadwaj K, Daugherty A, Brown DR, Randall DC, Cassis LA. Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004;287(4):R943-9.
33. Smith AD, Brands MW, Wang MH, Dorrance AM. Obesity-induced hypertension develops in young rats independently of the renin-angiotensin-aldosterone system. *Exp Biol Med.* 2006;231(3):282-7.
34. Dobrian AD, Davies MJ, Prewitt RL, Lauterio TJ. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension.* 2000;35(4):1009-15.
35. Schram K, De Girolamo S, Madani S, Munoz D, Thong F, Sweeney G. Leptin regulates MMP-2, TIMP-1 and collagen synthesis via p38 MAPK in HL-1 murine cardiomyocytes. *Cell Mol Biol Lett.* 2010;15(4):551-63.
36. Schram K, Wong MM, Palanivel R, No EK, Dixon IM, Sweeney G. Increased expression and cell surface localization of MT1-MMP plays a role in stimulation of MMP-2 activity by leptin in neonatal rat cardiac myofibroblasts. *J Mol Cell Cardiol.* 2008;44(5):874-81.
37. Madani S, De Girolamo S, Muñoz DM, Li RK, Sweeney G. Direct effects of leptin on size and extracellular matrix components of human pediatric ventricular myocytes. *Cardiovasc Res.* 2006;69(3):716-25.
38. Schram K, Ganguly R, No EK, Fang X, Thong FS, Sweeney G. Regulation of MT1-MMP and MMP-2 by leptin in cardiac fibroblasts involves Rho/ROCK-dependent actin cytoskeletal reorganization and leads to enhanced cell migration. *Endocrinology.* 2011;152(5):2037-47.
39. Tao M, Yu P, Nguyen BT, Mizrahi B, Savion N, Kolodgie FD, et al. Locally applied leptin induces regional aortic wall degeneration preceding aneurysm formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(2):311-20.
40. Schroeter MR, Stein S, Heida NM, Leifheit-Nestler M, Cheng IF, Gogiraju R, et al. Leptin promotes the mobilization of vascular progenitor cells and neovascularization by NOX2-mediated activation of MMP9. *Cardiovasc Res.* 2012;93(1):170-80.