

## Dieta Hiperlipídica Promove Remodelação Cardíaca em Modelo Experimental de Obesidade

*High-fat Diet Promotes Cardiac Remodeling in an Experimental Model of Obesity*

Fernando Martins<sup>1</sup>, Dijon Henrique Salomé Campos<sup>2</sup>, Luana Urbano Pagan<sup>2</sup>, Paula Felipe Martinez<sup>1,2</sup>, Katashi Okoshi<sup>2</sup>, Marina Politi Okoshi<sup>2</sup>, Carlos Roberto Padovani<sup>3</sup>, Albert Schiaveto de Souza<sup>1</sup>, Antonio Carlos Cicogna<sup>2</sup>, Silvio Assis de Oliveira-Junior<sup>1</sup>

Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)<sup>1</sup>, Campo Grande, MS; Faculdade de Medicina de Botucatu – Universidade Estadual Paulista (FMB/UNESP)<sup>2</sup>, Botucatu, SP; Instituto de Biociências de Botucatu – Universidade Estadual Paulista (IBB/UNESP)<sup>3</sup>, Botucatu, SP – Brasil

### Resumo

**Fundamento:** Embora anormalidades nutricionais, metabólicas e cardiovasculares sejam comuns a diversos experimentos de obesidade, ainda não está esclarecido se tais efeitos são resultantes do tratamento ou da adiposidade corporal.

**Objetivos:** Analisar a influência do tratamento e da composição corporal sobre aspectos metabólicos e cardiovasculares de ratos submetidos a dieta hiperlipídica.

**Métodos:** Foram utilizados 16 ratos *Wistar*, distribuídos em dois grupos, Controle (C), tratado com dieta normocalórica (2,93 kcal/g), e Obeso (OB), que recebeu dieta hiperlipídica (3,64 kcal/g). O período de estudo foi de 20 semanas. Posteriormente, foram realizadas análises do comportamento nutricional e murinométrico, glicemia, colesterolemia, lipídemia, pressão arterial sistólica, ecocardiograma e aspectos histológicos do coração.

**Resultados:** A dieta hiperlipídica associa-se com manifestações de obesidade, acompanhada de alterações da glicemia, hipertrofia cardiomiocitária e fibrose intersticial do miocárdio. Quando ajustados aos valores de adiposidade, os efeitos metabólicos foram normalizados, enquanto que as alterações morfométricas mantiveram-se diferentes entre os grupos C e OB.

**Conclusões:** Conclui-se que a adiposidade está mais associada com anormalidades metabólicas em obesos. A intervenção hiperlipídica mostra-se mais relacionada com modificações morfológicas do coração em experimentos de obesidade induzida por dieta. (*Arq Bras Cardiol.* 2015; 105(5):479-486)

**Palavras-chave:** Obesidade; Remodelação Ventricular; Dieta Hiperlipídica; Epidemiologia Experimental; Ratos.

### Abstract

**Background:** Although nutritional, metabolic and cardiovascular abnormalities are commonly seen in experimental studies of obesity, it is uncertain whether these effects result from the treatment or from body adiposity.

**Objective:** To evaluate the influence of obesity induced by a high saturated fat diet and body composition on metabolic and cardiovascular profiles.

**Methods:** Sixteen *Wistar* rats were used, distributed into two groups, the control (C) group, treated with isocaloric diet (2.93 kcal/g) and an obese (OB) group, treated with high-fat diet (3.64 kcal/g). The study period was 20 weeks. Analyses of nutritional behavior, body composition, glycemia, cholesterolemia, lipemia, systolic arterial pressure, echocardiography, and cardiac histology were performed.

**Results:** High-fat diet associates with manifestations of obesity, accompanied by changes in glycemia, cardiomyocyte hypertrophy, and myocardial interstitial fibrosis. After adjusting for adiposity, the metabolic effects were normalized, whereas differences in morphometric changes between groups were maintained.

**Conclusions:** It was concluded that adiposity body composition has a stronger association with metabolic disturbances in obese rodents, whereas the high-fat dietary intervention is found to be more related to cardiac morphological changes in experimental models of diet-induced obesity. (*Arq Bras Cardiol.* 2015; 105(5):479-486)

**Keywords:** Obesity; Ventricular Remodeling; Diet, High-Fat; Epidemiology, Experimental; Rats.

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

Correspondência: Silvio Assis de Oliveira Júnior •

UFMS. R. Eduardo Santos Pereira, 804, Apto 501, Monte Castelo. CEP 79010-030, Campo Grande, MS – Brasil

E-mail: silviojr\_fisio@yahoo.com.br, oliveirajr.ufms@gmail.com

Artigo recebido em 15/04/15; revisado em 09/06/15; aceito em 11/06/15.

DOI: 10.5935/abc.20150095

## Introdução

O processo de remodelação cardíaca resulta de condições de agressão ou sobrecarga contínua, as quais repercutem em variações moleculares, celulares e intersticiais que se manifestam clinicamente por alterações no tamanho, massa, geometria e função do coração<sup>1,2</sup>. Nesse aspecto, diversos estudos documentaram a ocorrência de hipertrofia miocárdica e fibrose intersticial, acompanhadas de desordens funcionais em diferentes modelos experimentais, incluindo estudos sobre obesidade exógena, isto é, induzida por dieta<sup>3-11</sup>. No contexto metabólico, distúrbios relacionados à colesterolemia, à lipidemia e ao metabolismo glicêmico foram também mostrados como comorbidades comuns a modelos experimentais de obesidade induzida por dieta hipercalórica<sup>5-7,9-11</sup>.

Embora o uso de intervenções dietéticas seja muito comum em investigações sobre a obesidade, poucos estudos fizeram distinção entre respostas específicas do tratamento dietético e efeitos atribuídos à adiposidade. Dietas hiperlipídicas e hipercalóricas, *per se*, associam-se com diferentes alterações teciduais e sistêmicas em roedores, desvinculadas da ocorrência de obesidade<sup>12-15</sup>. Por outro lado, inúmeras propriedades endócrinas, parácrinas e autócrinas têm sido atribuídas ao tecido adiposo, evidenciando seu importante papel na coordenação de diferentes anormalidades metabólicas e cardiovasculares<sup>16,17</sup>.

O presente trabalho foi inicialmente proposto para analisar o perfil nutricional, metabólico e cardiovascular de ratos submetidos à dieta hiperlipídica e hipercalórica. Como hipótese inicial, admitiu-se que a intervenção dietética estivesse associada com a manifestação de obesidade, distúrbios metabólicos, incluindo desordens glicêmicas e dislipidêmicas, e indícios de remodelação cardíaca em roedores. Um segundo propósito foi diferenciar os efeitos provindos de tratamento das respostas decorrentes do aumento da adiposidade, sob a hipótese de que a influência da condição murinométrica suplanta os efeitos associados à dieta.

## Métodos

O projeto científico foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/ UFMS), estando em conformidade com regimentos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

### Animais e Protocolo experimental

Foram utilizados 16 ratos da linhagem *Wistar*, machos, com 30 dias de idade. Para definição do tamanho amostral, foram considerados estudos prévios já realizados por nosso grupo de pesquisa<sup>5</sup>. Os animais foram randomicamente distribuídos em dois grupos: Controle (C) e Obeso (OB). O grupo C foi tratado com dieta normocalórica (2,93 kcal/g) e o grupo OB recebeu dieta hiperlipídica e hipercalórica (3,64 kcal/g) durante 20 semanas. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em temperatura ambiente de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade de  $55 \pm 5\%$ , ciclos de iluminação claro/escuro de 12 horas e livre acesso à água.

As dietas experimentais diferenciavam-se apenas nos níveis de lipídeos, e eram equilibradas quanto à composição proteica, hidratos de carbono, vitaminas e minerais. A dieta normocalórica era constituída de 34,3% do valor energético de proteína, 57,1% de hidratos de carbono e 8,6% de gordura (3,3% de lipídeos insaturados e 5,3% de saturados). A intervenção hiperlipídica foi constituída de 24,0% de proteína, 53,3% de hidratos de carbono e 22,7% de gordura (8,0% de lipídeos insaturados e 14,7% de saturados). Nas duas preparações, foram utilizados: farelo e casca de soja, milho, dextrina, e óleos de palma e de soja, acrescidos de suplementação vitamínica e de mineral<sup>18</sup>.

### Caracterização nutricional e murinométrica

A caracterização nutricional envolveu ingestão alimentar (IA), ingestão calórica (IC) e eficiência energética. A IA foi avaliada diariamente e a IC foi calculada pela fórmula:  $IA \times (\text{valor calórico da dieta})$ <sup>3,7,9,10</sup>. Para analisar o consumo energético proveniente apenas de ácidos graxos, considerou-se o cálculo proporcional de lipídeos ingeridos segundo a dieta:  $IC \text{ total} \times (\text{proporção relativa (\%)} \text{ de lipídeos})$ <sup>7</sup>. Com a finalidade de analisar a capacidade de conversão de energia consumida da dieta em massa corporal, foi considerada a eficiência alimentar (EA), obtida a partir da relação entre variação ponderal total (g) e energia total ingerida (kcal)<sup>3,7,9,10</sup>.

Para caracterização murinométrica, a massa corporal foi mensurada semanalmente, utilizando-se uma balança digital. A variação ponderal foi obtida a partir da diferença entre os valores de massa corporal inicial e final. Para a obtenção das medidas de adiposidade, foi considerada a massa adiposa (MA) procedente das regiões retroperitoneal, epididimal e visceral obtida após a eutanásia<sup>5-9</sup>. Para estimação da adiposidade corporal total, considerou-se a relação entre a MA dos depósitos segmentares e a massa corporal (MC) final:  $\Sigma MA \times 100 / (MC - \Sigma MA)$ <sup>7,10</sup>.

### Caracterização metabólica

Para análise da tolerância glicêmica, os animais foram submetidos a jejum por 12 horas, e amostras sanguíneas provenientes da artéria caudal foram utilizadas para a mensuração glicêmica. Em seguida, foi realizada a administração intraperitoneal de glicose a 20% (Glicose Monohidratada, Merck, São Paulo, Brasil), em dosagem equivalente a 2 g/kg. Os níveis glicêmicos foram então avaliados no decorrer de 30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos<sup>7,10</sup>. Para tanto, utilizou-se o glicosímetro ACCU-CHEK GO KIT (Roche Diagnostic Brazil Ltda, SP, Brazil).

Dois dias após os procedimentos para análise *in vivo*, os animais foram mantidos em jejum por um período de 12 horas, submetidos à anestesia intraperitoneal com pentobarbital sódico (50 mg/kg) e eutanasiados por decapitação. Amostras sanguíneas foram coletadas, centrifugadas (3000 rpm) e armazenadas para posterior análise. Para a análise bioquímica sérica, foram avaliadas as concentrações séricas de glicose, triglicérides, colesterol total, HDL, LDL, albumina e proteína total por método enzimático com kits específicos.

### Caracterização cardiovascular

A caracterização cardiovascular envolveu pressão arterial sistólica, análise ecocardiográfica, avaliação da morfologia cardiopulmonar e morfometria miocárdica. A mensuração da pressão arterial sistólica foi feita ao final do período experimental por meio de pletismografia<sup>19</sup>, utilizando-se um esfigmomanômetro com especificações Narco Bio-Systems®, modelo 709-0610 (International Biomedical, Austin, TX, USA).

Dois dias depois, todos os animais foram submetidos à análise de ecocardiografia transtorácica para avaliação da estrutura e função do coração conforme metodologia previamente descrita<sup>20-22</sup>.

Obtida a massa corporal, os animais foram anestesiados com uma mistura de cloridrato de cetamina (50 mg/kg) e cloridrato de xilidino (1 mg/kg), administrados por via intramuscular. Posteriormente à tricotomia na região anterior do tórax, cada rato foi posicionado em decúbito lateral esquerdo para a realização do ecocardiograma. Para determinação das câmaras cardíacas, foram obtidas imagens em modo monodimensional (modo-M) com o feixe de ultrassom orientado pelas imagens em modo bidimensional, mantendo-se o transdutor em posição paraesternal eixo menor. A imagem do ventrículo esquerdo (VE) foi obtida posicionando-se o cursor do modo-M abaixo do plano da valva mitral no nível dos músculos papilares<sup>21</sup>. As imagens da aorta e do átrio esquerdo foram obtidas com o cursor do modo-M posicionado ao nível do plano da valva aórtica. As imagens obtidas foram registradas em impressora (modelo UP-890, Sony Co.). As estruturas cardíacas foram medidas, manualmente, com o auxílio de um paquímetro de precisão.

No momento correspondente ao diâmetro máximo da cavidade ventricular, foram mensurados o diâmetro diastólico do VE (DDVE), e espessuras diastólicas da parede posterior do VE (EDPP) e do septo interventricular (EDSIV). No momento de diâmetro mínimo da cavidade, foram avaliados o diâmetro sistólico (DSVE) e espessuras sistólicas da parede posterior (ESPP) e do septo interventricular (ESSIV). O átrio esquerdo (AE) foi medido no momento de seu diâmetro máximo. A massa do VE (MVE) foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:  $MVE = [(DDVE + EDPP + EDSIV)^3 - (DSVE)^3] \times 0,04$ . As seguintes variáveis foram derivadas das dimensões acima descritas: espessura relativa do VE (EDPP/DDVE), DDVE/MCF, AE/PC e índice de MVE (IMVE, MVE/PC), em que MCF corresponde à massa corporal final (g).

A função sistólica do VE foi avaliada pelos seguintes índices:

- porcentagem de encurtamento mesocárdico (% Enc. Meso):  $[(DDVE + \frac{1}{2}EDPP + \frac{1}{2}EDSIV) - (DSVE + \frac{1}{2}ESPP + \frac{1}{2}ESSIV)] / (DDVE + \frac{1}{2}EDPP + \frac{1}{2}EDSIV)$ ;
- porcentagem de encurtamento endocárdico (% Enc. Endo):  $(DDVE - DSVE) / DDVE$ ;
- velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP).

A função diastólica foi analisada pelos índices: razão entre os picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial (onda E) e da contração atrial (onda A) do fluxo transmitral (E/A), tempo de desaceleração da onda E (TDE) e tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV).

Todas as medidas foram feitas pelo mesmo pesquisador, em conformidade com os procedimentos da *American Society of Echocardiography*<sup>23</sup>, sendo utilizado um ecocardiógrafo disponível comercialmente (General Electric Medical Systems, Vivid S6, Tirat Carmel, Israel) equipado com um transdutor eletrônico de multifrequência (5- 11,5 MHz).

Para avaliar a morfologia macroscópica, foram medidas as massas de átrios (MAT) e dos ventrículos direito (MVD) esquerdo (MVE), em valores absolutos e em relação à massa corporal final (MCF) e ao comprimento da tibia. A análise morfométrica do miocárdio, envolvendo a área transversa miocitária e a fração intersticial de colágeno, foi realizada em amostras do VE. Após fixação em solução de formol a 10%<sup>24</sup>, os fragmentos foram incluídos em blocos de parafina. Em seguida, secções de 7  $\mu$ m de espessura foram coletadas em lâminas histológicas e coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) e Picrosirius Red (PR). Os cortes corados com HE foram utilizados para análise da área seccional transversa, contemplando 50-100 cardiomiócitos por animal<sup>24</sup>. As lâminas coradas por PR foram utilizadas para a quantificação da fração de colágeno intersticial.

### Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software SYSTAT 12.0 (SYSTAT 12 © Copyright 2007, SYSTAT Software, Inc). Para análise da distribuição dos dados, usou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov. Os resultados paramétricos foram analisados com emprego do teste *t* de Student, e estão expressos em média e desvio-padrão. Os achados não paramétricos foram analisados por meio do teste de Mann-Whitney, e são apresentados por meio de mediana e intervalo interquartil. Para analisar o efeito da adiposidade como variável interveniente sobre resultados metabólicos e cardiovasculares, utilizou-se a técnica de análise de covariância (ANCOVA), adotando-se as medidas de tecido adiposo como covariável. Todas as conclusões estatísticas foram discutidas ao nível de significância de 5%.

### Resultados

Em relação ao comportamento nutricional e murinométrico, apesar de exibir ingestão alimentar inferior e consumo calórico inalterado em relação ao grupo C, os animais do grupo OB mostraram maiores valores de ingestão de lipídeos, eficiência energética, massa corporal, variação ponderal e adiposidade, em comparação aos controles (Tabela 1).

No contexto metabólico, lipidemia, colesterolemia, proteína e albumina não foram diferentes entre os grupos. No entanto, os níveis de glicose foram diferentes entre os grupos, constatando-se hiperglicemia no grupo OB (Tabela 2).

Corroborando com esses achados, o grupo OB revelou alterada tolerância glicêmica em relação ao C (Figura 1), embora os valores de área sob a curva de glicemia não tenham sido alterados. Na análise de covariância, ajustando-se os resultados aos valores de adiposidade, verificou-se que os níveis de glicose mostraram-se normalizados em ambos os grupos (C,  $93 \pm 4$ ; OB,  $94 \pm 4$  mg/dL,  $p > 0,05$ ).

Tabela 1 – Média e desvio-padrão do comportamento nutricional e murinométrico

Variáveis	Grupo		Valor de p
	Controle (C)	Obeso (OB)	
Ingestão Alimentar (g/dia)	28,8 ± 3,0	22,6 ± 1,8	0,0002*
ICT (kcal/dia)	84,3 ± 8,6	82,2 ± 6,7	0,5864
ICT · Lipídeos (kcal)	708 ± 73	1956 ± 159	< 0,001*
E. Energética (kcal/g)	0,030 ± 0,003	0,036 ± 0,003	0,0007*
Massa Corporal Final (g)	506 ± 59	575 ± 60	0,0369*
Varição Ponderal (%)	230 ± 35	269 ± 36	0,0415*
Adiposidade	4,89 ± 1,26	8,18 ± 1,47	0,0003*

ICT: Ingestão calórica total; ICT · Lipídeos: Ingestão calórica total, proporcional aos lipídeos; E Energética: Eficiência energética; \*p < 0,05 vs. C; teste t de Student.

Tabela 2 – Média e desvio-padrão do perfil bioquímico e tolerância glicêmica

Variáveis	Grupo		Valor de p
	Controle (C)	Obeso (OB)	
Triglicérides	68,8 ± 11,5	78,9 ± 15,5	0,1650
Colesterol (mg/dL)	67,8 ± 7,5	72,6 ± 14,3	0,4138
HDL (mg/dL)	22,5 ± 2,7	22,1 ± 3,0	0,7639
LDL (mg/dL)	31,4 ± 4,6	34,8 ± 9,4	0,3774
VLDL (mg/dL)	13,9 ± 2,4	15,8 ± 3,2	0,1991
Proteína (mg/dL)	5,74 ± 0,32	5,75 ± 0,18	0,9700
Albumina (mg/dL)	3,23 ± 0,18	3,25 ± 0,07	0,8147
Glicemia (mg/dL)	87,8 ± 6,4	97,0 ± 10,2	0,0480*
ASC	27699 ± 3109	29366 ± 6123	0,5036

HDL: Lipoproteínas de alta densidade; LDL: Lipoproteínas de baixa densidade; VLDL: Lipoproteínas de muito baixa densidade; ASC: Área sob a curva de tolerância glicêmica; \*p < 0,05 vs. C; teste t de Student.

Levando-se em conta os resultados cardiovasculares *in vivo*, a pressão arterial sistólica e as medidas de função cardíaca não foram alteradas pela dieta. No contexto estrutural, apenas o diâmetro de átrio esquerdo, em valores absolutos, revelou-se ampliado no grupo OB (Tabela 3).

Além disso, embora os grupos tenham mostrado valores similares de morfologia macroscópica, o grupo OB apresentou maiores medidas de área seccional transversa dos cardiomiócitos e fração intersticial de colágeno em comparação com o grupo C (Tabela 4).

Ajustando-se os valores de morfometria aos índices de adiposidade, não se verificou diferença no comportamento das variáveis ASC (C, 95 ± 3; OB, 103 ± 3  $\mu\text{m}^2$ , p < 0,05) e FIC (C, 2 ± 1; OB, 5 ± 1%, p < 0,05).

## Discussão

De acordo com a hipótese primária do presente trabalho, a dieta hiperlipídica associa-se com manifestação de obesidade, distúrbios metabólicos e ocorrência de remodelação cardíaca em roedores. Os resultados confirmaram, em grande parte, essa

premissa, levando-se em conta que a ocorrência de obesidade foi acompanhada de hiperglicemia, tolerância glicêmica alterada e indicadores morfométricos de remodelação cardíaca nos animais tratados com dieta hiperlipídica e hiperclórica. Contudo, embora as alterações glicêmicas se mostrassem diretamente relacionadas com a condição murinométrica, os achados cardíacos decorreram de fatores associados com a dieta, independentemente da adiposidade, confirmando apenas parcialmente a segunda hipótese postulada.

Em consideração aos efeitos da dieta sobre o comportamento nutricional e a adiposidade, apesar do consumo calórico inalterado entre os grupos, o grupo OB exibiu maiores medidas de ingestão lipídica e eficiência energética em comparação ao grupo C. Como resultado, os índices de massa corporal foram mais elevados nos animais OB. Classicamente, em razão da maior densidade energética dos lipídeos<sup>25</sup>, a ingestão de dietas hiperlipídicas culmina em acúmulo de reservas corporais e crescimento adiposo. Nesse contexto, o aumento de massa corporal foi resultante, provavelmente, do desenvolvimento da adiposidade, corroborando o quadro de obesidade, o que está em conformidade com achados prévios<sup>3-10</sup>.

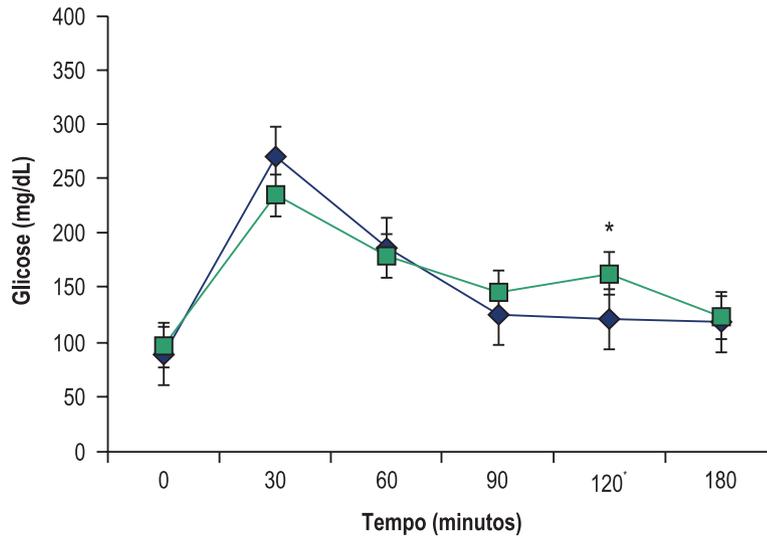


Figura 1 – Comportamento da glicemia obtido no teste de tolerância à glicose. Traçado azul: Grupo Controle (C); Traçado vermelho: Grupo Obeso (OB). \*  $p < 0,05$  vs. C; ANOVA e teste de Bonferroni.

Tabela 3 – Média e desvio-padrão da pressão arterial sistólica e descritores de morfologia e desempenho funcional do coração

Variáveis	Grupo		Valor de p
	Controle (C)	Obeso (OB)	
PAS (mg/dL)	115 ± 7	118 ± 19	0,6687
Frequência cardíaca (bpm)	233 ± 27	235 ± 19	0,8401
Átrio esquerdo (mm)	5,50 ± 0,52	6,00 ± 0,37	0,0429*
AE/AO	1,37 ± 0,11	1,40 ± 0,10	0,5200
MVE (g)	0,86 ± 0,17	0,94 ± 0,13	0,2867
DDVE (mm)	8,44 ± 0,68	8,92 ± 0,59	0,1564
DSVE (mm)	4,14 ± 0,55	4,56 ± 0,66	0,1980
EDPP (mm)	1,39 ± 0,06	1,40 ± 0,07	0,8528
EDSIV (mm)	1,40 ± 0,05	1,40 ± 0,06	0,9669
Esp. Relativa	0,33 ± 0,02	0,31 ± 0,02	0,1188
Enc. Endocárdio (mm)	51,0 ± 2,9	49,1 ± 4,8	0,3366
VEPP (mm/s)	1,64 ± 0,22	1,46 ± 0,11	0,0638
FE (ml)	0,88 ± 0,02	0,87 ± 0,04	0,2954
E/A	1,45 ± 0,21	1,42 ± 0,17	0,7721
TDE	48,6 ± 6,3	48,5 ± 8,4	0,9736
TRIV	30,1 ± 2,9	27,9 ± 2,7	0,1335
TRIV/ R-R	59,2 ± 6,2	55,0 ± 3,8	0,1201

PAS: Pressão arterial sistólica; AE/AO: Relação entre os diâmetros do átrio esquerdo (AE) e da artéria aorta (AO); MVE: Massa de ventrículo de esquerdo (VE); DDVE: Diâmetro diastólico do VE; DSVE: Diâmetro sistólico do VE; EDPP: Espessura diastólica da parede posterior do VE; EDSIV: Espessura diastólica do septo interventricular; Esp. Relativa: Relação entre a espessura sistólica da parede posterior e o DDVE; Enc. Endocárdio: Encurtamento endocárdio; VEPP: Velocidade de encurtamento da parede posterior do VE; FE: Fração de ejeção; E/A: Relação entre as ondas E e A do fluxo transmitral; TDE: Tempo de desaceleração da onda E; TRIV: Tempo de relaxamento isovolumétrico do VE; TRIV/ R-R: Relação entre TRIV e intervalo R-R da frequência cardíaca; \* $p < 0,05$  vs. C; teste t de Student.

Tabela 4 – Média e desvio-padrão dos estimadores de morfologia macro e microscópica do coração

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

MA<sub>t</sub>: Massa de átrios; MVD: Massa de ventrículo direito; MVE: Massa de ventrículo esquerdo; MA/MC: Relação entre MA e massa corporal final; MVD/MC: Relação entre massa de ventrículo direito e massa corporal final; MVE/MC: Relação entre MVE e massa corporal final; ASC: Área seccional transversa dos cardiomiócitos; FIC: Fração intersticial de colágeno; \*p < 0,05 vs. C; teste t de Student.

Por conseguinte, no aspecto metabólico, a ocorrência de hiperglicemia e alterada tolerância glicêmica do grupo OB foi decorrente, principalmente, da obesidade. A hipertrofia do tecido adiposo está associada com a produção de citocinas inflamatórias, que podem desencadear hiperglicemia e resistência à insulina, resultando em alterada tolerância glicêmica<sup>16,17</sup>. Os achados de glicemia conferem com diferentes evidências da literatura que constataram que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica se associou com alterações no metabolismo de glicose e insulina<sup>5,10,11</sup>. Em contrapartida, lipidemia e colesterolemia não foram modificadas pelo tratamento (Tabela 2). Em relação à lipidemia, é possível que a insulina, mantendo-se elevada, tenha estimulado a captação de triglicerídeos nos adipócitos, contribuindo para a adipogênese e inibindo a lipólise, podendo amenizar o aumento de trigliceridemia<sup>26</sup>. Por sua vez, a colesterolemia inalterada pode estar ligada aos níveis equivalentes de colesterol nas dietas experimentais. Alterações nos níveis de colesterol têm sido presentes somente quando colesterol oxidado é adicionado à composição da dieta<sup>27,28</sup>. Certamente, outros estudos devem ser desenvolvidos para melhor explicar esses achados, que são divergentes de outras investigações da literatura.

Analisando-se o aspecto cardiovascular, a pressão arterial sistólica não foi afetada pela obesidade induzida por dieta. Em estudo recente<sup>8</sup>, embora o aumento do tecido adiposo tenha levado a alterações metabólicas e hormonais, não se verificou alteração na pressão arterial após 15 e 30 semanas. Previamente, mostramos que a pressão arterial sistólica de ratos com obesidade induzida por dieta foi afetada após indução de estresse físico<sup>6</sup> e pela progressão do protocolo experimental, ainda que os níveis de pressão arterial se mantivessem inalterados ao final do experimento<sup>7</sup>. Portanto, não se descarta a possibilidade de distúrbios de pressão arterial no presente modelo experimental; mais estudos necessitam ser feitos para adicionais esclarecimentos.

Da mesma forma, o estudo ecocardiográfico e a análise morfológica macroscópica não mostraram alterações significativas de estrutura e função do coração. Embora divergente de outros estudos<sup>5,7,10</sup>, considerando-se que a remodelação cardíaca envolve um processo complexo de adaptação e defesa do músculo cardíaco frente a períodos crônicos de sobrecarga, a possibilidade de essas respostas não terem ocorrido durante o período deste experimento (20 semanas) não pode ser descartada. Tal fato é corroborado por um estudo prévio<sup>8</sup>, em que somente a partir de 15 semanas, a sobrecarga devido à dieta e/ou condição biométrica causou importante agressão ao coração, o qual se remodelou continuamente até a 30ª semana. Ainda, as variáveis morfológicas microscópicas mostraram-se alteradas com a dieta hiperlipídica, sustentando um indício da ocorrência de remodelação cardíaca.

Intrigantemente, a hipertrofia miocárdica e a fibrose intersticial não foram moduladas pela maior adiposidade no grupo OB, realçando a dieta como principal determinante da remodelação cardíaca. Os lipídeos saturados são os principais combustíveis metabólicos para o coração<sup>29-31</sup> e, antagonicamente, o acúmulo de lipídios em excesso pode estimular a sobrecarga mitocondrial e ativar mecanismos moleculares de remodelação cardíaca<sup>31</sup>. Como resultado, lipotoxicidade<sup>31</sup> e/ou estresse oxidativo<sup>32</sup> podem estar relacionados com o início da remodelação cardíaca. O acúmulo de produtos de metabolização lipídica é gerador de potenciais substratos intracelulares para a ocorrência de processos não-oxidativos e danosos, como formação de diacilglicerol e síntese de ceramida, os quais fomentam vias moleculares de hipertrofia cardiomiocitária, apoptose e fibrose intersticial<sup>31</sup>. Além disso, radicais livres procedentes da oxidação de lipídeos promovem dano celular por meio do dano oxidativo em proteínas e DNA<sup>32</sup>, além de interagirem com inúmeras vias celulares que regulam hipertrofia e remodelação intersticial do miocárdio<sup>32</sup>. Partindo-se dos presentes achados, novos estudos devem ser desenvolvidos com o intuito de se investigar os diferentes mecanismos associados com o desenvolvimento de anormalidades cardiovasculares em modelos experimentais de obesidade induzida por dieta.

Sob essas considerações, pode-se concluir que a ampliada adiposidade corporal é mais associada com anormalidades metabólicas, em comparação com a sobrecarga dietética de lipídeos. Por sua vez, a intervenção hiperlipídica mostra-se mais relacionada com modificações cardíacas em experimentos de obesidade exógena. Analogamente, por meio de correlação canônica, verificamos que o consumo de gordura saturada foi o principal causador de distúrbios variados em modelo experimental de obesidade induzida por dieta hipercalórica com alto aporte de sacarose e ácidos graxos<sup>7</sup>. O presente estudo é a primeira investigação a diferenciar os efeitos da condição de obesidade das respostas providas da dieta hiperlipídica. Entretanto, destaca-se a necessidade de que novos estudos sejam desenvolvidos para corroborar ou não evidências aqui obtidas. Sugere-se a alteração da composição da dieta, considerando-se a introdução isolada de diferentes ácidos graxos, na busca de se esclarecer melhor os efeitos dos diversos componentes do tratamento.

## Conclusão

A dieta hiperlipídica foi associada com manifestação de obesidade, hiperglicemia, hipertrofia e fibrose intersticial do miocárdio. Enquanto os distúrbios metabólicos decorreram da obesidade corporal, a remodelação cardíaca mostrou-se diretamente associada com a dieta.

## Agradecimentos

Agradecemos a José C. Georgette e Mário B. Bruno pela assistência técnica.

## Referências

1. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev.* 1999;79(1):215-62.
2. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35(3):569-82.
3. Lima-Leopoldo AP, Sugizaki MM, Leopoldo AS, Carvalho RF, Nogueira CR, Nascimento AF, et al. Obesity induces upregulation of genes involved in myocardial Ca<sup>2+</sup> + -handling. *Braz J Med Biol Res.* 2008;41(7):615-20.
4. Freire PP, Alves CA, Deus AF, Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Silva DC, et al. Obesity does not lead to imbalance between myocardial phospholamban phosphorylation and dephosphorylation. *Arq Bras Cardiol.* 2014;103(1):41-50.
5. Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Sugizaki MM, Bruno A, Nascimento AF, Luvizotto RA, et al. Myocardial dysfunction and abnormalities in intracellular calcium handling in obese rats. *Arq Bras Cardiol.* 2011;97(3):232-40.
6. Nascimento TB, Baptista RF, Pereira PC, Campos DH, Leopoldo AS, Lima-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.
7. Oliveira Junior SA, Padovani CR, Rodrigues SA, Silva NR, Martinez PF, Campos DH, et al. Extensive impact of saturated fatty acids on metabolic and cardiovascular profile in rats with diet-induced obesity: a canonical analysis. *Cardiovasc Diabetol.* 2013;12(1):65.
8. Silva DC, Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Campos DH, Nascimento AF, Oliveira Junior SA, et al. Influence of term of exposure to high-fat diet-induced obesity on myocardial collagen type I and III. *Arq Bras Cardiol.* 2014;102(2):157-63.
9. Campos DH, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Nascimento AF, Oliveira-Junior SA, Silva DC, et al. Obesity preserves myocardial function during blockade of the glycolytic pathway. *Arq Bras Cardiol.* 2014;103(4):330-7.
10. Oliveira-Junior SA, Martinez PF, Guizoni DM, Campos DH, Fernandes T, Oliveira EM, et al. AT1 receptor blockade attenuates insulin resistance and myocardial remodeling in rats with diet-induced obesity. *Plos One.* 2014;9(1):e86447.
11. White SA, Cercato LM, Araujo DM. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância a glicose. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2013;57(5):339-45.
12. 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 signaling in rats. *Diabetologia.* 2005;48(6):1229-37.
13. Ouwens DM, Diamant M, Fodor M. Cardiac contractile dysfunction in insulin-resistant rats fed a high-fat diet is associated with elevated CD-36-mediated fatty acid uptake and esterification. *Diabetologia.* 2007;50(9):1938-48.
14. Földes G, Vajda S, Lakó-Futó Z, Sárman B, Skoumal R, Ilves M, et al. Distinct modulation of angiotensin II-induced early left ventricular hypertrophic gene programming by dietary fat type. *J Lipid Res.* 2006;47(6):1219-26.

## Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Campos DHS, Martinez PF, Cicogna AC, Oliveira-Junior SA; Obtenção de dados: Martins F, Campos DHS, Pagan LU, Okoshi K, Souza AS; Análise e interpretação dos dados: Martins F, Martinez PF, Okoshi K, Okoshi MP, Oliveira-Junior SA; Análise estatística: Padovani CR, Oliveira-Junior SA; Obtenção de financiamento: Oliveira-Junior SA; Redação do manuscrito: Martins F, Martinez PF, Oliveira-Junior SA; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Martinez PF, Okoshi MP, Cicogna AC.

## Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de financiamento

O presente estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT).

## Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Fernando Martins pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

15. Halade GV, Jin YF, Lindsey ML. Roles of saturated vs. polyunsaturated fat in heart failure survival: not all fats are created equal. *Cardiovasc Res.* 2012;93(1):4-5.
16. Govindarajan G, Alpert M, Tejwani L. Endocrine and metabolic effects of fat: cardiovascular implications. *Am J Med.* 2008;121(5):366-70.
17. Bertaso AC, Bertol D, Duncan BB, Foppa M. Epicardial fat: definition, measurements and systematic review of main outcomes. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101(1):e18-28.
18. Campos DH, Tomasi LC, Benites JC, Cicogna AC. Desenvolvimento de dietas normolipídica e hiperlipídica insaturada e saturada com equilíbrio em hidratos de carbono. In: Congresso da Sociedade Paulista de Cardiologia do Estado de São Paulo-SOCESP 2012. São Paulo. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo.* 2012;22(supl B):250.
19. 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):957-8.
20. Martinez PF, Okoshi K, Zornoff LA, Oliveira SA Jr, Campos DH, Lima AR, et al. Echocardiographic detection of congestive heart failure in postinfarction rats. *J Appl Physiol.* 2011;111(2):543-51.
21. Martinez PF, Bonomo C, Guizoni DM, Oliveira Junior SA, Damatto RL, Cezar MD, et al. Influence of N-acetylcysteine on oxidative stress in slow-twitch soleus muscle of heart failure rats. *Cell Physiol Biochem.* 2015;35(1):148-59.
22. Pagan LU, Damatto RL, Cezar MD, Lima AR, Bonomo C, Campos DH, et al. Long-term low intensity physical exercise attenuates heart failure development in aging spontaneously hypertensive rats. *Cell Physiol Biochem.* 2015;36(1):61-74.
23. Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation.* 1978;58(6):1072-83.
24. Zornoff LA, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo PS, Campana AO, et al. Cigarette smoke exposure intensifies ventricular remodeling process following myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol.* 2006;86(4):276-81.
25. Polacow VO, Lancha Junior AH. Dietas hiperglicídicas: efeitos da substituição isoenergética de gordura por carboidratos sobre o metabolismo de lipídios, adiposidade corporal e sua associação com atividade física e com o risco de doença cardiovascular. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2007;51(3):389-400.
26. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature.* 2001;414(6865):799-806.
27. Fielding CJ, Havel RJ, Todd KM, Yeo KE, Scholetter MC, Weinberg V, et al. Effects of dietary cholesterol and fat saturation on plasma lipoproteins in an ethnically diverse population of healthy young men. *J Clin Invest.* 1995;95(2):611-8.
28. Staprans I, Pan XM, Rapp JH, Feingold KR. The role of dietary cholesterol and oxidized fatty acids in the development of atherosclerosis. *Mol Nutr Food Res.* 2005;49(11):1075-82.
29. Sharma N, Okere IC, Duda MK, Chess DJ, O'Shea KM, Stanley WC. Potential impact of carbohydrate and fat intake on pathological left ventricular hypertrophy. *Cardiovasc Res.* 2007;73(2):257-68.
30. Chess DJ, Stanley WC. Role of diet and fuel overabundance in the development and progression of heart failure. *Cardiovasc Res.* 2008;79(2):269-78.
31. Lopaschuk GD, Folmes CD, Stanley WC. Cardiac energy metabolism in obesity. *Circ Res.* 2007;101(4):335-47.
32. Madamanchi NR, Runge MS. Redox signaling in cardiovascular health and disease. *Free Radic Biol Med.* 2013;61:473-501.