

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada uma das principais síndromes do século XXI, alcançando proporções epidêmicas no âmbito mundial nas últimas décadas^(1,2). Considerada atualmente um problema de saúde pública, que afeta tanto países desenvolvidos quanto subdesenvolvidos⁽³⁻⁵⁾. Segundo a Organização Mundial da Saúde (2010), o número de indivíduos com sobrepeso atinge mais de um bilhão de pessoas, sendo que, mais de 30% desta população é obesa⁽⁶⁾. No Brasil, aproximadamente 40 milhões de pessoas apresentam sobrepeso e, deste grupo, 10,5 milhões são obesos. A previsão aponta que 35% da população adulta brasileira serão obesas em 2025, refletindo no aumento de gastos e cuidados para a saúde pública⁽⁷⁾. Pesquisa realizada recentemente, envolvendo as capitais dos estados brasileiros e Distrito Federal, demonstrou que o percentual de adultos (≥ 18 anos), com excesso de peso (Índice de Massa Corporal ≥ 25 kg/m²), em ambos os gêneros foi de 48,5%, sendo as maiores frequências de excesso de peso observadas em homens (52,6%); o excesso de peso nas mulheres foi 44,7%⁸.

Devido a obesidade ser uma doença complexa, alguns autores sugerem que o fator genético ocorre a partir de alterações no gene e no receptor da leptina, bem como mutações no gene da melanocortinas, as quais podem contribuir para o desenvolvimento da obesidade. No entanto, a maioria das pesquisas enfatiza que a prevalência desta doença ocorre devido aos chamados fatores exógenos, em especial a dieta, principalmente pelo consumo de alimentos hiperpalatáveis e sua alta disponibilidade, e o sedentarismo^(2,6,9,10). Desta forma, o aumento do consumo de energia, a redução na prática de atividade física ou a combinação de ambos têm levado a um balanço calórico positivo com consequente aumento da gordura corporal⁽¹¹⁾.

Estudos mostram que o excesso de gordura acarreta inúmeras anormalidades cardíacas, entre elas, alterações hemodinâmicas, morfológicas e funcionais, que se correlacionam com a duração e intensidade da obesidade, tanto em modelos humanos quanto

em animais⁽¹²⁻¹⁴⁾. O processo de remodelação cardíaca pode atingir diferentes progressões e até mesmo permanecer sem ser detectado por décadas antes da manifestação clínica^(15,16).

Estudos mostram que indivíduos obesos apresentam hipertrofia do ventrículo esquerdo (VE), do átrio esquerdo (AE), prejuízos na sístole e diástole. Em adição a estes danos, a obesidade pode ser um fator de risco independente para a insuficiência cardíaca⁽¹⁵⁻¹⁹⁾. O excesso de tecido adiposo pode acarretar em alterações hemodinâmicas como elevação do débito cardíaco, volume sistólico e pressão de enchimento do VE. Além disso, a obesidade juntamente com aumento da pressão arterial, pode sobrecarregar o coração, elevando a pré-carga e pós-carga, ocorrendo um aumento no risco de insuficiência cardíaca congestiva e remodelamento cardíaca^(14,20).

Pesquisas experimentais, utilizando modelos genéticos^(21,22) ou manipulações dietéticas⁽²³⁻²⁸⁾, têm sido realizadas para o estudo da obesidade, comorbidades e mecanismos oriundos do excesso de gordura corporal. No entanto, a obesidade por meio de dietas com alta densidade energética representa um modelo mais realista e apropriado para o estudo das causas e consequências da obesidade humana⁽²⁹⁾.

Diversas pesquisas experimentais têm demonstrado que a obesidade induzida por diferentes tipos de dietas com alto teor de gordura e/ou altamente energéticas acarretam disfunção miocárdica em roedores e coelhos^(2,10,24,27,28,30-35). Estudos relacionando obesidade induzida por dieta e a função cardíaca apresentam resultados conflitantes. Ricci et al.⁽³⁶⁾ e Carroll et al.⁽²³⁾ utilizando ratos Sprague-Dawley por meio de dietas ricas em lipídios por 14 e 12 semanas, demonstraram que não houve prejuízos na função cardíaca a partir de análises de cardiomiócitos isolados e ecocardiograma, respectivamente. Ouwens e cols.⁽³⁷⁾ mostraram que os músculos papilares de ratos submetidos à dieta hipercalórica por 7 semanas apresentaram maior força contrátil basal e recuperação prejudicada após o aumento da carga de trabalho. Além disso, outros pesquisadores encontraram prejuízo da contração cardíaca em corações

isolados⁽³⁸⁾, músculos papilares⁽³⁹⁾ e cardiomiócitos isolados⁽²⁴⁾ de coelhos e ratos obesos, respectivamente.

Outros autores relatam, prejuízo funcional em cardiomiócitos isolados de modelos de obesidade induzidos por dietas ricas em gordura^(24,31). Du Toit et al.⁽³⁰⁾ mostraram que a obesidade deprime a função miocárdica em situação basal e após isquemia em ratos submetidos à manipulação dietética. Outros estudos têm mostrado que ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica, durante um período de 11 a 12 semanas, não apresentaram alterações na função cardíaca visualizada por meio de diferentes técnicas, como coração isolado⁽⁴⁰⁾ e ecocardiograma⁽²³⁾. Entretanto, Relling et al.⁽²⁴⁾ verificaram em ratos *Sprague-Dawley*, que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica, durante 12 semanas, acarretou disfunção contrátil no cardiomiócito após elevação da concentração de cálcio e frequência de estímulo. Pesquisadores também observaram depressão do desempenho mecânico do miócito em condições basais e após elevação da concentração de cálcio (Ca^{+2}), em ratos alimentados com uma dieta hiperlipídica durante 12 semanas⁽¹³⁾. Trabalhos realizados em nosso laboratório também mostram que ratos obesos alimentados com dieta rica em gordura durante 15 semanas apresentam disfunção miocárdica em condições basais e após manobras inotrópicas^(27,28).

As alterações no desempenho cardíaco, tanto em humanos quanto em modelos experimentais, ocorre com a elevação da quantidade de tecido adiposo, no entanto os mecanismos, responsáveis por estas alterações não estão bem estabelecidos. Diversos fatores têm sido indicados como responsáveis por prováveis anormalidades cardíacas em modelos de obesidade^(24,27), entre eles, o sistema β -adrenérgico, importante mecanismo de regulação da contração e relaxamento do miocárdio^(39,41,42). Este sistema é considerado um dos principais mecanismos neuro-humorais responsáveis pela regulação da frequência cardíaca e da contratilidade, atuando, tanto em condições fisiológicas quanto em situações patológicas^{(41,43-}

Segundo Lymperopoulos⁽⁴⁶⁾, o coração é composto por três subtipos de β -adrenoreceptores, β_1 , β_2 e β_3 , sendo que, os β_1 , β_2 e β_3 são expressos na proporção de 75 a 80%; 15 a 18% e 2 a 3%, respectivamente. A literatura relata que ambos β_1 e β_2 promovem efeitos inotrópicos, cronotrópicos e lusitrópicos positivos em resposta à um β -agonista^(45,47,48). Por outro lado, os receptores β_3 agem como mediadores do efeito inotrópico negativo⁽⁴⁹⁾, mas sua atuação permanece pouco estudada⁽⁵⁰⁾. Os receptores β_1 e β_2 -adrenérgicos são acoplados à proteína G estimulatória (Gs), que acarreta ativação da adenilato ciclase e, posteriormente, aumento dos níveis de AMPc (adenosina monofosfato cíclico). O acúmulo de AMPc acarreta maior ativação da proteína quinase A (PKA), que conseqüentemente, desencadeia alterações no ciclo Ca^{+2} intracelular, uma vez que, a PKA fosforila várias proteínas que são essenciais para função cardíaca, incluindo os canais de cálcio do tipo L^(51,52), fosfolambam (PLB)⁽⁵³⁾, troponina I⁽⁵⁴⁾, e os receptores rianodina^(55,57), conforme visualizado na Figura 1. Os canais do tipo L fosforilados, a fosforilação dos receptores de rianodina (RyR) e a diminuição da sensibilidade miofibrilar ao Ca^{+2} estimulada pela PKA acarretam aumento no influxo de Ca^{+2} citosólico^(42,57-59). A estimulação desta via também provoca aumento da atividade da bomba de Ca^{+2} do retículo sarcoplasmático (SERCA2a) devido ao aumento da fosforilação do (PLB) na serina 16 (pPLB-ser16) e na treonina 17 (pPLB-Thr17). Esta maior atividade da SERCA2a possibilita ao retículo sarcoplasmático, recapturar maiores quantidades de Ca^{+2} mais rapidamente, resultando em aceleração do processo de relaxamento^(42,57,60).

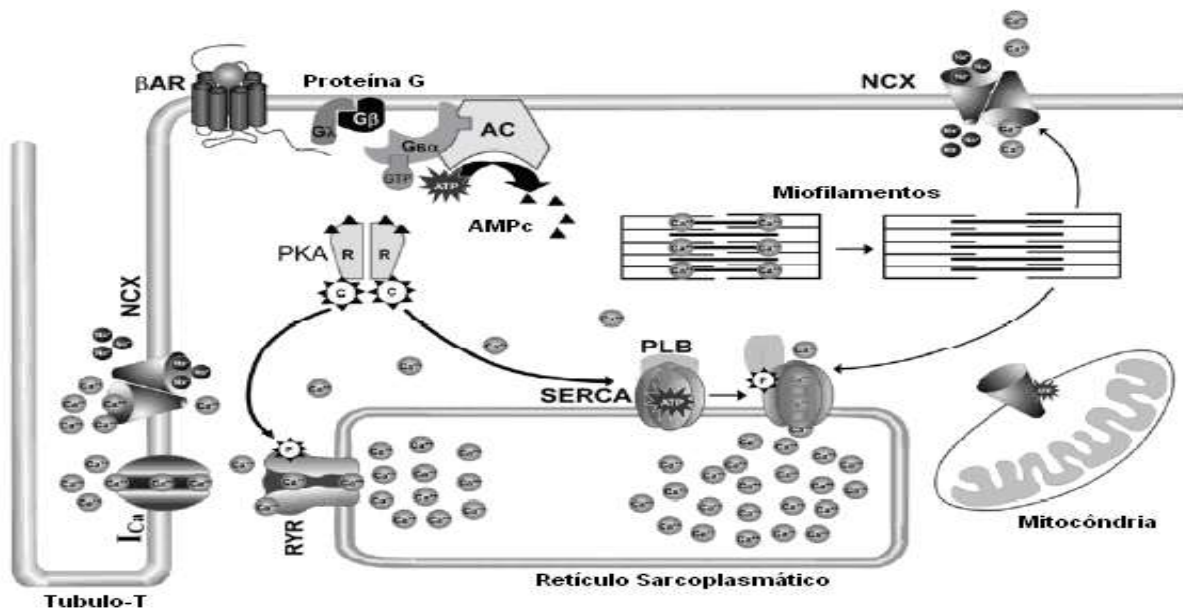


Figura 1. Diagrama esquemático dos efeitos gerais da ativação β -adrenérgica em diferentes proteínas do ciclo de Ca^{+2} intracelular (modificado de Brum et al.)⁽⁵⁶⁾.

Devido os receptores β -adrenérgicos desempenharem importantes funções na regulação cardíaca, estudos mostram que, em situações patológicas como diabetes e insuficiência cardíaca, alterações na expressão e/ou atividade dos receptores β -adrenérgicos, promovem anormalidades funcionais⁽⁶¹⁻⁶⁷⁾, como por exemplo, redução da resposta contrátil cardíaca frente à estimulação β -adrenérgica^(68,39), defeito no sistema de sinalização do receptor β e subsequente à ativação da adenilato ciclase⁽⁶⁸⁾ e diminuição da fosforilação do PLB na serina¹⁶⁽⁶⁹⁾, os quais modificam a cinética do ciclo de Ca^{+2} intracelular^(70,28). Poucos estudos tem abordado este sistema β -adrenérgico e suas anormalidades funcionais em modelos de obesidade induzido por dieta^(27,28,70,71). Sendo assim, torna-se importante investigar a participação dos receptores β -adrenérgicos na disfunção miocárdica induzida pela obesidade por meio de dieta hiperlipídica. A hipótese deste estudo é que a obesidade acarreta prejuízo funcional no miocárdio decorrente da menor sensibilidade dos receptores β -adrenérgicos.

2. OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a participação do sistema β -adrenérgico na disfunção miocárdica induzida pela obesidade.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Avaliar a sensibilidade dos receptores β -adrenérgicos (1 e 2) no miocárdio de ratos obesos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Animais

Foram utilizados 50 ratos *Wistar* machos, com 30 dias de idade, ~150g, provenientes do Biotério do Laboratório Experimental do Departamento da Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, São Paulo, Brasil. Os animais foram mantidos no biotério de origem sob as seguintes condições: gaiolas individuais de polipropileno com tampas de arame cromado forradas com maravalha de Pinus esterilizada, temperatura ambiente ($24 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade controlada ($55 \pm 5\%$) e ciclos de iluminação de 12 horas. Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com o “*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*” publicado pelo “U.S. National Institutes of Health”⁽⁷²⁾ e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFES) sob protocolo n°. 017/2011.

3.2- Protocolo Experimental

Os ratos foram randomizados em dois grupos: alimentados com dietas normocalórica (DN, n= 25) ou hiperlipídicas (DH, n= 25). Os ratos DN receberam ração padrão para roedores (RC Focus 1765, Agrocere[®], Rio Claro, São Paulo, Brasil) e os DH um ciclo de quatro rações aromatizadas hiperlipídicas (RC Focus 2413, 2414, 2415 e 2416, Agrocere[®], Rio Claro, São Paulo, Brasil), por um período de 15 semanas. As rações hiperlipídicas foram alternadas a cada 24 horas. Os ratos DN e DH receberam 50 g de ração por dia e após 24 horas a quantidade não ingerida foi mensurada. A oferta de água foi *ad libitum*.

As rações idealizadas no Laboratório Experimental de Músculo Papilar Isolado do Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, foram adaptadas a partir de modelo dietético publicado por Nascimento et al.⁽⁷³⁾.

3.3- Composição das rações padrão e hiperlipídica

A ração padrão RC Focus 1765 foi composta pelos seguintes ingredientes: fosfato bicálcico, óleo de soja degomado, cloreto de sódio, milho moído, aditivo antioxidante, farelo de soja, farelo de trigo, farinha de carne e ossos, farinha de peixe, suplemento mineral e vitamínico.

As quatro rações hiperlipídicas RC Focus 2413, 2414, 2415 e 2416 apresentaram a mesma composição nutricional, com exceção dos aditivos flavorizantes, queijo, bacon, chocolate ou baunilha, respectivamente; as rações foram constituídas de cloreto de sódio, caseína, soro de leite em pó, concentrado protéico de soja, milho integral moído, farinha de bolacha, fosfato bicálcico, carbonato de cálcio, óleo de milho, aditivos emulsificante e antioxidante, suplemento mineral e vitamínico.

A composição de macro e micronutrientes das rações padrão e hiperlipídica, mensurada pela empresa Agrocere[®], Rio Claro, São Paulo, Brasil, está apresentada no Quadro 1.

Quadro 1- Composição dos macro e micronutrientes das rações (%).

Componentes	Rações	
	Padrão	Hiperlipídica
Proteína	22,0	20,0
Carboidrato	42,7	26,4
Gordura	4,0	20,0
Vitaminas e Minerais	11,3	12,1
Fibras	8,0	9,0
Umidade	12,0	12,5
Calorias (Kcal/g)	2,95	3,65
% Calorias da proteína	29,8	21,9
% Calorias do carboidrato	57,9	28,9
% Calorias da gordura	12,3	49,2

O perfil de ácidos graxos, avaliado no Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas do Departamento de Tecnologia - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil, está apresentado no Quadro 2.

Quadro 2- Perfil de ácidos graxos saturados e insaturados das rações (%)

Ácidos graxos	Rações	
	Padrão	Hiperlipídica
Capróico (c6:0)	0,00	0,02
Caprílico (c8:0)	0,03	0,03
Cáprico (c10:0)	0,02	0,05
Láurico (c12:0)	0,33	0,25
Mirístico (c14:0)	0,30	0,33
Palmítico (c16:0)	16,56	15,09
Heptadecanóico (c17:0)	0,02	0,08
Esteárico (c18:0)	3,90	4,36
Palmitoléico (c16:1)	0,06	0,15
Oléico (c18:1n9c)	27,96	37,94
Linoléico (c18:2n6c)	47,10	40,83
α -Linolênico (c18:3n3c)	3,72	0,87
Ácidos Graxos Saturados	21,16	20,21
Ácidos Graxos Insaturados	78,84	79,79

3.4- Avaliação nutricional dos animais

O perfil nutricional foi determinado pela análise de ingestão calórica, eficiência alimentar, peso e gordura corporal, índice de adiposidade, lipídios e glicemia sérica. A ingestão calórica foi calculada pela seguinte fórmula: ingestão alimentar semanal multiplicada

pelo valor energético de cada ração (g x kcal). Com a finalidade de analisar a capacidade do animal em converter a energia consumida em peso corporal, foi calculada a eficiência alimentar (EA), dividindo-se o ganho total de peso corporal dos animais (g) pela energia total ingerida (Kcal). O peso corporal dos animais foi aferido semanalmente, utilizando-se uma balança digital Mettler® modelo Spider 2 (Toledo do Brasil Indústria de Balanças Ltda, São Bernardo do Campo, São Paulo, Brasil). A quantidade de gordura corporal total foi determinada pela somatória dos depósitos de gordura epididimal, retroperitoneal e visceral. O índice de adiposidade foi calculado, dividindo-se a gordura corporal total pelo peso corporal final, multiplicado por 100⁽⁷⁴⁾.

Para análise do perfil glicêmico, lipídico, os ratos foram colocados em jejum por 12 a 15 horas, 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 por decapitação e submetidos à toracotomia mediana. A seguir, as amostras de sangue foram coletadas em tubos Falcon, centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos (Eppendorf® Centrifuge 5804-R, Hamburg, Germany) e armazenadas em freezer à -80°C (Thermo Fisher Scientific LLC, Asheville, NC, USA). As concentrações séricas de glicose, triacilglicerol, colesterol total, lipoproteínas de alta (HDL) e baixa (LDL) densidade, foram determinadas utilizando-se kits específicos (CELM®, Barueri, São Paulo, Brasil) e analisadas pelo método enzimático colorimétrico automatizado (Analisador Químico BS-200, Mindray, China).

3.5- Determinação do momento inicial da obesidade

O momento do início da obesidade foi determinado aferindo-se semanalmente o peso corporal dos animais. A determinação do momento inicial da obesidade foi baseada a partir de

trabalhos anteriores^(27,28,73), que constataram que o grupo DH apresentou índice de adiposidade estatisticamente maior do que o DN na terceira semana de tratamento. Esse momento foi considerado como o início da obesidade.

3.6- Caracterização da obesidade

A obesidade nos animais ao final dos períodos de 15 semanas de tratamento foi determinada utilizando-se o índice de adiposidade. Diversos estudos têm utilizado este índice como ferramenta para avaliar a quantidade de gordura corporal em roedores^(23,40,75). Este método de baixo custo é facilmente realizado, pois permite avaliar os depósitos de gordura corporal de maneira precisa e consistente.

3.7- Constituição dos grupos controle e obeso

Após 15 semanas do início da obesidade, os grupos de animais que receberam ração normocalórica e hiperlipídica foram denominados como controle (C) e obeso (Ob), respectivamente.

Na experimentação biológica, em especial estudos experimentais, mesmo quando mantidas as condições laboratoriais semelhantes, não está assegurada uma homogeneidade de resposta. Nesse sentido, os ratos submetidos à ração padrão e hiperlipídica poderiam apresentar, em maior ou menor escala, características comuns, como, por exemplo, o índice de adiposidade. Estudo publicado previamente⁽⁷⁶⁾ mostrou que este fato pode conduzir a erro de classificação, ou seja, animais submetidos à ração padrão poderiam ser classificados como controle, quando na realidade, exibem características de animais obesos, ou vice versa. Por essa razão, tornou-se necessário estabelecer um critério que separasse os animais em dois grupos distintos de acordo com o índice de adiposidade. Com essa finalidade, foi construído um intervalo de 95% de confiança (IC) para a média do índice de adiposidade dos ratos controle e obeso. Foi adotado como ponto de separação (PS) entre os grupos, o ponto médio

entre o limite superior do C e o limite inferior do Ob; a partir deste ponto foram excluídos do grupo os animais com índice de adiposidade acima do PS pertencentes ao grupo C e do grupo Ob os animais com índice de adiposidade abaixo do PS como mostrado na Figura 2.

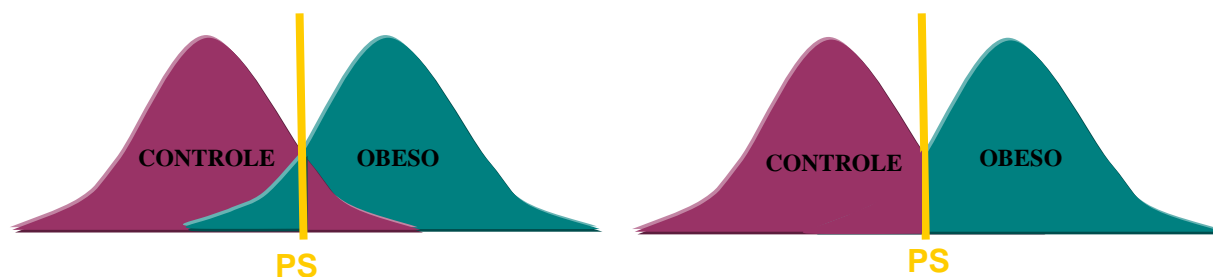


Figura 2. Representação esquemática do critério utilizado para composição dos grupos controle e obeso.

3.8- Obesidade e comorbidades

As alterações no perfil cardiovascular, metabólico e hormonal, como hipertensão arterial sistêmica, intolerância à glicose, resistência sistêmica à insulina, dislipidemias, hiperglicemia, hiperinsulinemia e hiperleptinemia^(23,24,75,77-80) que podem estar frequentemente associadas à obesidade, foram avaliadas em todos os grupos.

3.8.1- Hipertensão arterial sistêmica

Como os animais obesos podem apresentar hipertensão arterial sistêmica^(75,77-79), foi mensurada a pressão arterial sistólica (PAS). A PAS foi aferida indiretamente por pletismografia da cauda, utilizando-se eletro esfigmomanometro, Narco Bio-System[®], modelo 709-0610 (International Biomedical, Inc, USA); este método não permite avaliar a pressão arterial diastólica. Com a finalidade de produzir vasodilatação da artéria caudal, os ratos foram previamente aquecidos, à temperatura de 40°C por 5 minutos, em uma caixa de madeira (50 x 40 cm) forrada com maravalha de Pinus autoclavada. Após o aquecimento, foi acoplado o sensor e o manguito em torno da cauda do animal (cuff). O manguito foi insuflado até

atingir pressão de 200 mmHg e, posteriormente, desinsuflado. As pulsações arteriais foram registradas em um sistema de aquisição de dados computadorizados (AcqKnowledge[®] MP100, Biopac Systems, Inc. Santa Bárbara, CA, USA).

3.8.2- Intolerância à glicose

Como os animais obesos podem apresentar níveis glicêmicos normais em condições basais, foi analisado o perfil glicêmico após sobrecarga de glicose^(24,78,80). As coletas de sangue, na artéria caudal, foram realizadas na condição basal após um período de jejum de 6 horas e após administração intraperitoneal de glicose 25% (Sigma-Aldrich,[®] St Louis, MO, USA), equivalente a 2 g/kg. As amostras sanguíneas foram coletadas nos momentos 0, considerado condição basal, e após 15, 30, 60, 90 e 120 minutos da infusão da glicose administrada na região peritoneal do animal. A mensuração dos níveis glicêmicos foi realizada com glicosímetro portátil Accu-Chek Go Kit (Roche Diagnostic Brazil Ltda, São Paulo, Brasil). A intolerância à glicose foi avaliada pelo perfil da curva e área glicêmica.

3.8.3- Resistência sistêmica à insulina

Como os animais obesos podem apresentar resistência à ação da insulina^(23,24,78,80,81), foi analisado o índice HOMA-IR (*homeostatic model assessment insulin resistance index*), baseado nas concentrações séricas de glicose e insulina de jejum. Este índice é frequentemente utilizado na literatura para avaliar resistência à insulina^(23,82). O cálculo do HOMA-IR foi realizado pela seguinte fórmula: concentração de insulina ($\mu\text{U/mL}$) multiplicada pelos níveis glicêmicos (mM/L) dividida por 22,5⁽⁸³⁾.

3.8.4- Dislipidemias e Hiperglicemia

Os animais obesos podem apresentar alterações do perfil lipídico e glicêmico^(23,77-79), sendo assim, foram avaliadas as concentrações séricas de glicose, triacilglicerol, colesterol total, lipoproteínas de alta e baixa densidade. A metodologia utilizada foi descrita no item 3.4, referente à avaliação nutricional dos animais.

3.8.5- Hiperinsulinemia e Hiperleptinemia

Como os animais obesos podem apresentar hiperinsulinemia e hiperleptinemia^(23,24,78-80), foram analisados os níveis séricos destes hormônios. As concentrações hormonais foram determinadas pelo método de ELISA utilizando-se kits específicos (Linco Research Inc, St. Louis, MO, USA). A leitura foi realizada com auxílio de leitor de micro-placa (Spectra MAX 190, Molecular Devics, Sunnyvale, CA, USA).

3.9- Caracterização da remodelação cardíaca

Uma vez que a obesidade pode acarretar remodelação cardíaca^(23-27,40), o coração foi analisado por meio de estudos estruturais e funcionais. A estrutura foi avaliada *post mortem* por meio de análise macroscópica e a função cardíaca *in vitro* analisada utilizando o estudo funcional do músculo papilar isolado. Os métodos utilizados para análise da remodelação cardíaca estão descritos abaixo:

3.9.1- Estrutura do coração *post mortem*

As análises estruturais macroscópicas *post mortem* permitem identificar a presença de remodelação cardíaca a nível atrial e ventricular^(84,85). A remodelação cardíaca foi determinada pela análise dos seguintes parâmetros: peso total do coração, dos ventrículos esquerdo e direito, do átrio e das respectivas relações com o comprimento da tíbia.

3.9.2- Músculo papilar isolado

A técnica que utiliza o músculo papilar isolado do ventrículo esquerdo, avalia a função mecânica do miocárdico *in vitro*^(27,28,86). Esta preparação permite detectar alterações precoces na contração e no relaxamento do músculo cardíaco⁽⁸⁶⁾, independente das variações da pós-carga, pré-carga, frequência cardíaca, influência hormonal e substrato energético, o que é difícil de ser obtido em avaliações do coração *in vivo*. Além disso, como a adaptação do organismo à obesidade pode causar efeitos indiretos no coração, o estudo com músculo papilar isolado tem a vantagem de possibilitar a análise direta da função miocárdica. O estudo funcional do músculo papilar isolado do ventrículo esquerdo foi realizado conforme técnica descrita abaixo.

Os animais foram 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 por decapitação e submetidos à toracotomia mediana. Os corações foram rapidamente removidos e colocados em solução de Krebs-Henseleit⁽⁸⁷⁾ com a seguinte composição em mM: 118,5 NaCl; 4,69 KCl; 2,5 CaCl₂; 1,16 MgSO₄; 1,18 KH₂PO₄; 5,50 glicose e 24,88 NaCO₃, mantidos à temperatura de 28°C, previamente aerada durante 10 minutos com 95% de oxigênio (O₂) e 5% de dióxido de carbono (CO₂). Após permanecerem aproximadamente 1 minuto na solução, os corações foram retirados e o ventrículo direito dissecado com a finalidade de expor o septo interventricular; este foi dividido a fim de permitir a exposição adequada dos dois músculos papilares, anterior e posterior, do ventrículo esquerdo. Os músculos papilares foram cuidadosamente dissecados, mantendo-se nas suas extremidades segmentos da parede ventricular. Esses fragmentos foram presos a anéis de aço inoxidável com diâmetro interno de 3,8 a 4,2 mm; a fixação dos anéis

nestes fragmentos tem como finalidade evitar a lesão da extremidade dos músculos papilares. Estes, após terem suas extremidades presas aos anéis, foram rapidamente transferidos para câmara de vidro contendo a mesma solução de Krebs-Henseleit descrita acima, continuamente aerada com 95% de O₂ e 5% de CO₂ e mantida à temperatura de 28°C pela utilização do banho circulante (Refrigerating/Heating -20°C to 150°C, PolyScience Division of Preston Industries, Inc., Niles, IL, USA). O músculo papilar foi posicionado verticalmente e sua extremidade inferior acoplada a um fio de aço inoxidável, 0,38 mm de diâmetro, conectado a um transdutor de força (Grass FT03 Force Displacement Transducer, GRASS Technologies, An Astro-Med, Inc. Product Group, West Warwick, RI, USA). O fio de aço atravessava uma fenda, preenchida por mercúrio, existente no assoalho da câmara de vidro. A porção superior tendinosa do músculo papilar foi conectada a um fio de aço, semelhante ao anterior, que estava ligado à extremidade do braço longo de uma alavanca isotônica de metal. Sobre esta extremidade existia um micrômetro (L.S. Starrett. Co. Athol. Mass. nº463, USA.) que controlava a extensão dos movimentos da alavanca, permitindo ajustar o comprimento de repouso do músculo papilar. Na extremidade do braço curto da alavanca foi suspenso, por fio de aço, semelhante aos anteriores, um peso de 5,0 g, denominado *pré-carga*, que tinha por finalidade promover o estiramento inicial do músculo papilar. A alavanca era constituída de alumínio ou bronze, rígida e leve, sendo a razão entre os braços longo e curto de 4:1, conforme demonstrado na Figura 3.

Os músculos papilares foram estimulados 12 vezes por minuto (0,2 Hz) por meio de eletrodos de platina tipo agulha (Grass E8, GRASS Technologies, An Astro-Med, Inc. Product Group, West Warwick, RI, USA), posicionados paralelamente ao eixo longitudinal dos músculos. Os eletrodos foram acoplados a estimulador elétrico (Grass S48, GRASS Technologies, Na Astro-Med, Ic. Product Group, West Warwick, RI, USA) que emitia estímulos em onda quadrada de 5 mili-segundos. A voltagem de estímulo utilizada foi de 12 a

15 volts, aproximadamente, 10% acima do valor mínimo necessário para provocar resposta mecânica máxima do músculo. O pH da solução foi entre 7,38 a 7,42 e a pressão parcial de oxigênio da solução foi mantida entre 550 a 600 mmHg.

Após um período de 60 minutos, durante os quais os músculos contraíram contra a pré-carga sem desenvolverem força, contração isotônica, foi colocado uma carga adicional de 50 g, denominada *pós-carga*, na extremidade do braço curto da alavanca. A carga total, pré-carga acrescida da pós-carga, impedia que os músculos encurtassem, passando os mesmos a desenvolverem somente força, contração isométrica. O excessivo estiramento muscular que poderia ser causado pela adição da pós-carga foi evitado pelo micrômetro que impedia a movimentação da alavanca. Após a estabilização do músculo em contração isométrica, este foi progressivamente estirado, por meio do micrômetro, até a força desenvolvida atingir o seu valor máximo. O comprimento de estiramento da fibra muscular associado à força ou tensão máxima desenvolvida, em contração isométrica, denominou-se *Lmax*. Após atingir o *Lmax*, o músculo foi novamente colocado em contração isotônica durante 5 minutos. A seguir, o músculo papilar foi recolocado em contração isométrica para determinação final de *Lmax*. O registro das variáveis foi iniciado após verificar-se que o músculo permaneceu estável em contração isométrica durante 15 minutos.

Os músculos papilares dissecados inadequadamente ou que apresentarem o comportamento funcional fora do padrão de normalidade foram excluídos do estudo. Os músculos papilares que apresentaram a área seccional entre 0,5 e 1,7 mm² foram utilizados no experimento.

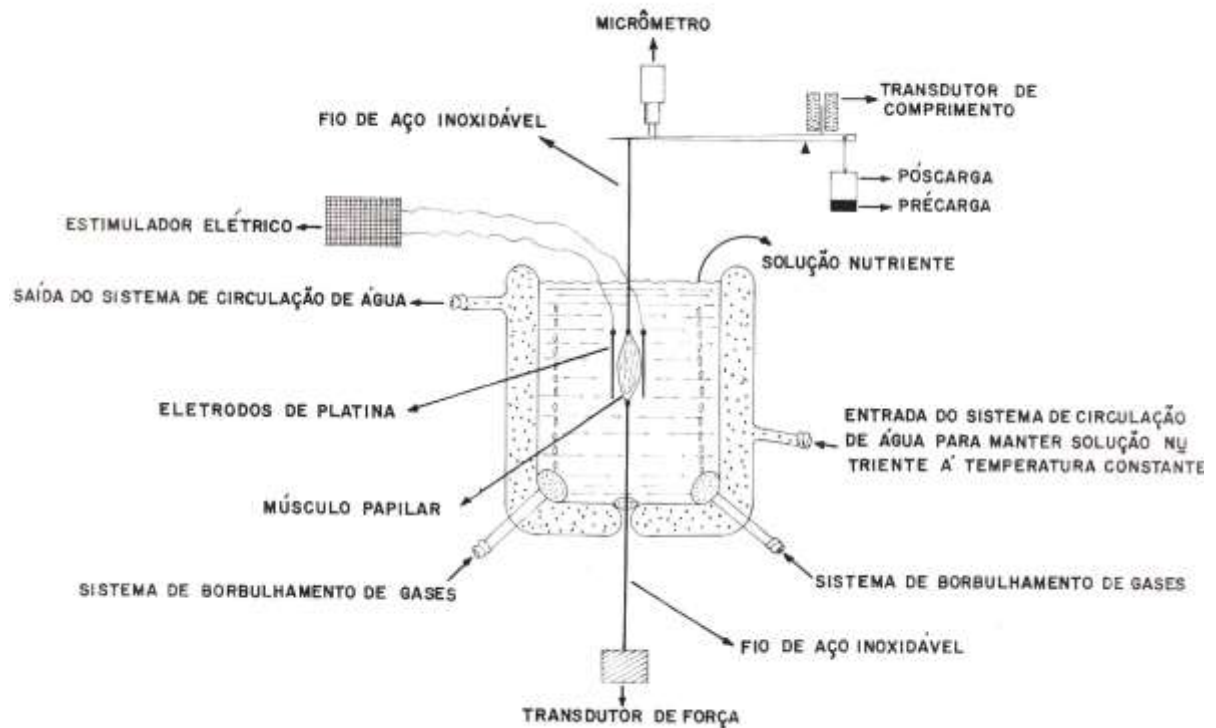


Figura 3. Representação esquemática do sistema de registro miográfico

3.9.2.1- Parâmetros funcionais

Para determinar os mecanismos pelos quais a obesidade promove efeitos inotrópicos negativos e, conseqüentemente disfunção miocárdica, foram analisados os seguintes parâmetros dos músculos papilares em contração isométrica: tensão máxima desenvolvida (TD, g/mm^2), tensão de repouso (TR, g/mm^2), velocidade máxima de variação da tensão desenvolvida ($+dT/dt$, $\text{g}/\text{mm}^2/\text{s}$), velocidade máxima de variação de decréscimo da tensão desenvolvida ($-dT/dt$, $\text{g}/\text{mm}^2/\text{s}$), tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida (TPT, ms) e o tempo para a tensão desenvolvida decrescer 50% de seu valor máximo (TR_{50} , ms), conforme mostrado na Figura 4.

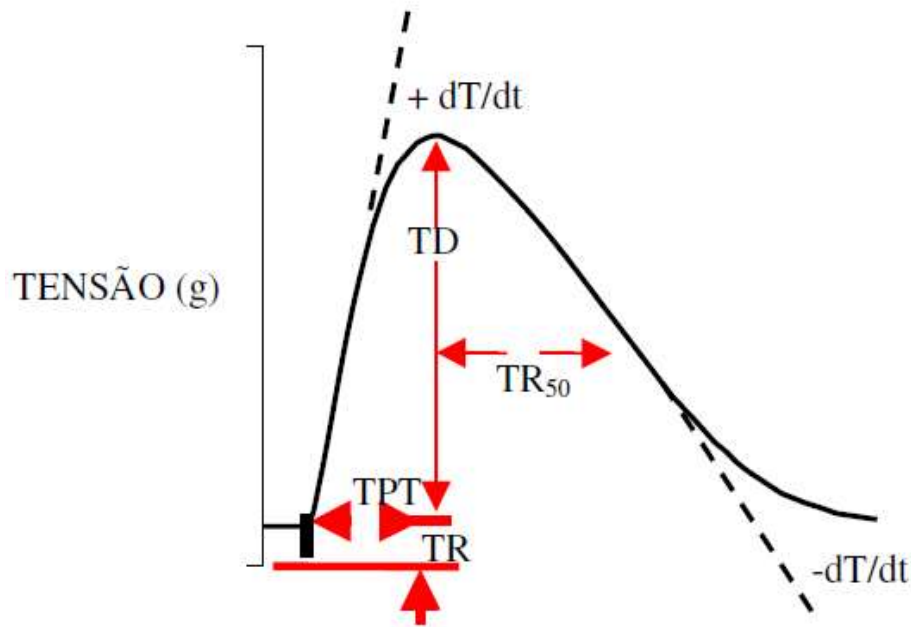


Figura 4. Representação esquemática da curva de contração isométrica

As contrações isométricas foram registradas em um sistema de aquisição de dados computadorizado (AcqKnowledge[®] MP100, Biopac Systems, Inc, Santa Barbara, CA, USA). A análise das curvas permitiu determinar os valores dos parâmetros mecânicos. Os valores da TD, TR, +dT/dt e -dT/dt foram divididos pela área seccional do músculo papilar. Este processo de normalização permitiu comparar o desempenho de músculos de diferentes tamanhos. Os dados obtidos foram apresentados em valores absolutos (g/mm^2) e relativos (%).

3.9.2.2- Protocolo funcional

O desempenho mecânico dos músculos papilares em contração isométrica foi analisado sob condição basal e após diferentes manobras inotrópicas e lusitrópicas. Essas foram utilizadas com a finalidade de identificar alterações da contração e do relaxamento que

poderiam não ser observadas em condições basais. Além disso, as mesmas puderam auxiliar no entendimento dos possíveis mecanismos relacionados com as alterações da função mecânica do miocárdio. As manobras utilizadas foram: potenciação pós-pausa (PPP) e elevação da concentração de cálcio extracelular, as quais permitiram verificar a participação do trânsito de Ca^{+2} intracelular na patogênese da disfunção do miocárdio.

3.9.2.2.1- Condição basal

A obtenção dos dados em condição basal foi realizada com concentração de cálcio de 2,5 mM na solução de Krebs-Henseleit.

3.9.2.2.2- Manobras inotrópicas e lusitrópicas

As seguintes manobras inotrópicas e lusitrópicas miocárdicas com efeitos positivos foram realizadas:

3.9.2.2.3- Potenciação pós-pausa

O potenciação pós-pausa (PPP) foi utilizado para estudar a função de liberação e armazenamento de cálcio pelo retículo sarcoplasmático⁽⁸⁸⁻⁹¹⁾. Além disso, esta manobra permitiu analisar indiretamente o trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$. A relação entre PPP e a função miocárdica foi realizada com concentração de cálcio de 0,5 mM na solução de Krebs-Henseleit e após períodos de cessação de estímulos de 10, 30, 60 e 90 segundos com intervalos de 5 minutos entre cada elevação. Os períodos crescentes tiveram como finalidade disponibilizar maiores quantidades de cálcio citosólico e, portanto, intensificar a magnitude do desempenho do músculo cardíaco.

3.9.2.2.4- Elevação da concentração de cálcio extracelular

A elevação da concentração de cálcio intracelular acarreta aumento do fluxo desse íon por meio dos canais lentos de Ca^{+2} e pela troca $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$, o que permite, também como PPP,

avaliar os mecanismos relacionados com o transporte de cálcio intracelular e a contratilidade miocárdica⁽⁹²⁾. A elevação da concentração de cálcio na solução de Krebs-Henseleit foi realizada com aumentos sequenciais de Ca^{+2} de 0,5 para 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 mM com intervalos de 5 minutos entre cada concentração.

3.9.2.2.5- Análise do sistema β -adrenérgico

O sistema β -adrenérgico foi avaliado por meio de análise funcional, o qual permitiu testar a sensibilidade dos adrenoreceptores β ^(92,32). Após o protocolo utilizado para avaliar a função cardíaca, dos músculos papilares, ambos os grupos foram estimulados com concentrações cumulativas de isoproterenol (10^{-7} , 10^{-6} e 10^{-5} M) na presença de 1,0 mM de Ca^{+2} na solução nutriente.

O isoproterenol é um agonista que estimula os receptores β -adrenérgicos (Sigma[®]-Aldrich, St Louis, MO, USA), aumentando a atividade do coração. As respostas inotrópicas e lusitrópicas foram analisadas após a adição de cada dose na solução nutriente, sendo que, os músculos permanecerão em cada estágio por 10 minutos antes de receber a próxima concentração de isoproterenol. Os dados analisados foram expressos em valores absolutos (g/mm^2) e relativos (%).

Após o término das manobras de avaliação da função miocárdica e do sistema β -adrenérgico, os músculos papilares foram retirados da preparação e usados para a avaliação da área seccional. Os parâmetros morfológicos utilizados para caracterizar os músculos papilares serão: comprimento (mm), peso (mg) e área seccional (mm^2). O comprimento *in vitro*, ($L_{\text{máx}}$) foi medido com auxílio de um catetômetro Gartner (Gartner Scientific Corporation, Chicago, USA). A porção muscular entre os anéis de aço foi cortada, submetida à secagem com papel filtro e pesada. Considerando-se que o músculo papilar tem forma cilíndrica, uniforme e peso

específico aproximadamente unitário, a área seccional foi calculada dividindo-se o peso pelo comprimento determinado em $L_{máx}$.

3.9.3- Determinação do teor de água nos tecidos cardíaco, pulmonar e hepático

Em razão da obesidade influenciar no aumento na volemia corporal dos ratos⁽⁹³⁾, o que poderia promover acúmulo de líquido nos tecidos, foi realizada a avaliação do teor de água tecidual nas amostras de ventrículos esquerdo e direito, átrio, pulmão e fígado. Após a remoção do tecido, realizou-se a pesagem *in natura*. Em seguida, as amostras foram submetidas à secagem em estufa (Kamp Metalúrgica, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil), sob temperatura de $55 \pm 5^{\circ}\text{C}$, por um período de 48 horas. A determinação do teor de água foi expressa em valores relativos e calculada pela seguinte fórmula: $[(\text{PN}-\text{PS})/\text{PN}] \times 100\%$, onde PN representa o peso *in natura* e o PS o peso seco.

3.10 - Análise estatística

As características gerais, comorbidades associadas à obesidade, análises macro e funcionais referentes à remodelação cardíaca foram expressas por meio de medidas descritivas de posição e variabilidade⁽⁹⁴⁾. A comparação dos grupos experimentais foi realizada pelo test-t de *Student* e/ou *Mann Whitney* para amostras independentes.

A comparação dos perfis evolutivos do peso corporal e do perfil glicêmico entre os grupos foi realizada pela técnica de análise de variância (ANOVA) para o modelo de medidas repetidas em grupos independentes (dieta e tempo), complementada com teste de comparações múltiplas de Bonferroni⁽⁹⁵⁾.

As variáveis relacionadas ao estudo funcional do músculo papilar em condição basal e após a realização das diferentes manobras inotrópicas e lusitrópicas foram analisadas pelo test-t de *Student* e pela ANOVA no modelo de medidas repetidas para esquema de dois

fatores independentes⁽⁹⁶⁾, respectivamente. O teste de comparações múltiplas de Tukey foi utilizado quando a ANOVA apresentou diferença estatística para os fatores avaliados. O nível de significância considerado para todas as variáveis foi de 5%.

4. RESULTADOS

4.1- Caracterização do momento inicial de obesidade

O peso corporal foi semelhante nas duas primeiras semanas de tratamento em ambos os grupos C e Ob (Figura 5) entretanto, durante a 3ª semana, o peso corporal dos animais Ob foi maior do que o peso corporal dos animais do grupo C. Este momento foi caracterizado como o momento inicial de obesidade.

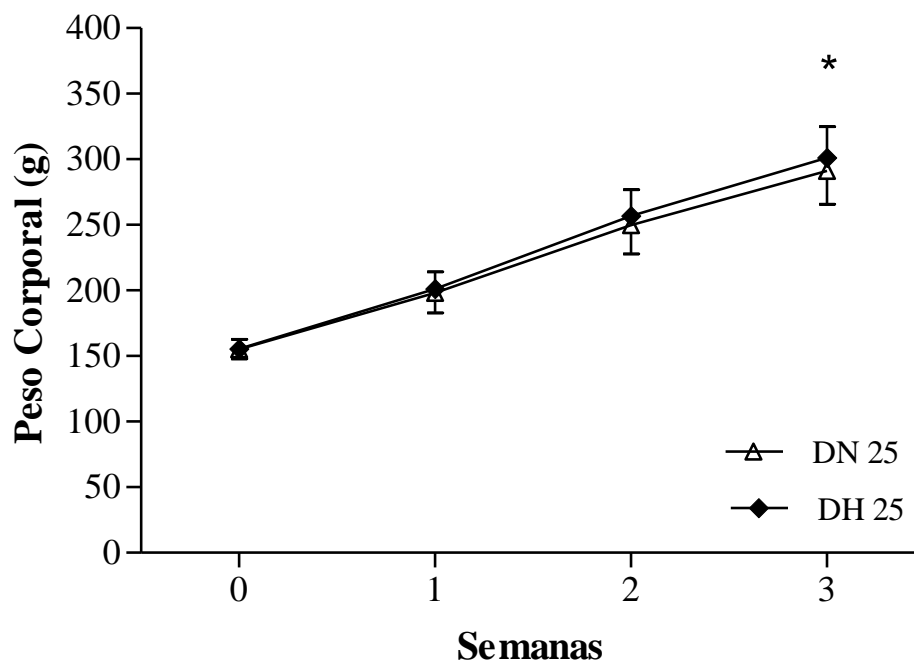


Figura 5. Evolução semanal do peso corporal dos animais alimentados com dietas normocalóricas (DN, n=25) ou hiperlipídicas (DH, n=25). Dados expressos em média \pm desvio-padrão. ANOVA para o modelo de medidas repetidas em grupos independentes e complementada com o teste *post-hoc* de Bonferroni. * $p < 0,05$ vs DN.

4.2- Características gerais dos grupos experimentais

A partir dos critérios de exclusão estabelecidos para a composição dos grupos foram utilizados: controle (C, n=20) e obeso (Ob, n=17). Neste sentido foram descartados 13 animais, os quais não se enquadraram nos quesitos proposto pelo estudo, sendo 5 animais do grupo controle, pois adquiriram características dos animais obesos, e 8 animais do grupo obeso

que apresentaram resistência ao protocolo de obesidade, não adquirindo assim, as características de animais obesos conforme desejado.

A Figura 6 ilustra a evolução semanal do peso corporal do grupo Ob; este apresentou em todos os momentos diferença estatística quando comparado ao grupo C durante as 15 semanas de tratamento.

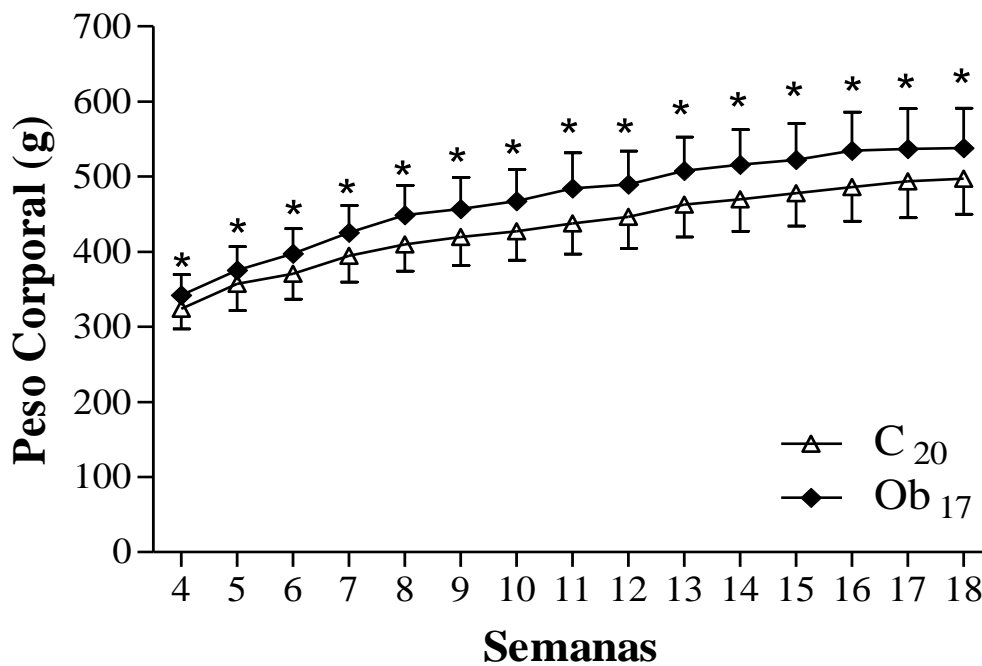


Figura 6. Evolução semanal do peso corporal dos animais controle (C, n=20) e obeso (Ob, n=17), a partir da quarta semana do início da obesidade. Os dados estão expressos em média e desvio-padrão da média. * $p < 0,05$ vs C. Análise de medidas repetidas para dois grupos independentes e complementada com o teste *post-hoc* de Bonferroni. * $p < 0,05$ vs C.

A Tabela 1 mostra as características gerais dos animais C e Ob após 15 semanas de tratamento. Os pesos corporais iniciais (obtido na 3ª semana de tratamento) e finais dos animais obesos apresentaram valores maiores em relação ao grupo C. Os depósitos de gordura epididimal, visceral, retroperitoneal, ganho de peso, gordura corporal total e o índice de adiposidade foram maiores no grupo Ob do que no grupo C (Tabela 1).

Tabela 1. Características gerais após 15 semanas.

Variáveis	Grupos	
	Controle (C= 20)	Obeso (Ob= 17)
PCI (g)	154 ± 7	156 ± 7
PC 3 (g)	288 ± 26	309 ± 19*
PCF (g)	486 ± 37	560 ± 42*
Ganho de peso (g)	198 ± 22	251 ± 39*
Epididimal (g)	6,8 ± 1,9	13,7 ± 4,0*
Retroperitoneal (g)	9,6 ± 2,3	19,4 ± 5,9*
Visceral (g)	5,8 ± 1,6	10,7 ± 3,5*
Gordura corporal total (g)	22,2 ± 5,1	43,8 ± 12,3*
Índice de adiposidade (%)	4,5 ± 0,9	7,8 ± 2,2*

Dados expressos em média ± desvio-padrão. PCI: peso corporal inicial; PC 3 peso corporal a partir da 3ª semana; PCF: peso corporal final; C: grupo controle submetido à dieta padrão (C; n=20) e Ob: grupo obeso submetido à dieta hiperlipídica (Ob; n=17), ambos por 15 semanas de tratamento; Teste “t” de Student para amostras independentes. * p<0,05 vs C.

4.3- Perfil nutricional

A Tabela 2 mostra as características nutricionais dos animais C e Ob após 15 semanas de tratamento. A comparação entre os grupos C e Ob, durante o período experimental, mostrou que os animais Ob ingeriram menor quantidade de ração que os C, no entanto, a eficiência alimentar foi maior nos animais Ob em relação ao grupo C. Não houve diferença estatística na ingestão calórica entre os grupos.

Tabela 2. Características nutricionais após 15 semanas.

Variáveis	Grupos	
	Controle (C= 20)	Obeso (Ob= 17)
Ingestão alimentar (g/dia)	26,4 ± 2,1	20,4 ± 1,4*
Ingestão calórica (Kcal/dia)	77,9 ± 6,4	74,3 ± 5,2
Eficiência alimentar (%)	2,4 ± 0,3	3,2 ± 0,4*

Dados expressos em média ± desvio-padrão. C: grupo controle submetido à dieta padrão (C; n=20) e Ob: grupo obeso submetido à dieta hiperlipídica (Ob; n=17), ambos por 15 semanas de tratamento; Teste “t” de Student para amostras independentes. * p<0,05 vs C.

4.4- Características bioquímicas e pressóricas

A Tabela 3 mostra as características bioquímicas e pressóricas dos animais C e Ob após 15 semanas de tratamento. Os valores séricos de glicose, colesterol total e HDL foram semelhantes entre os grupos C e Ob. Entretanto, os níveis de triglicerídeos, LDL e VLDL apresentaram valores maiores significativos nos grupos Ob em comparação ao grupo C. A PAS dos grupos C e Ob não apresentou diferença significativa.

Tabela 3. Perfil bioquímico e pressão arterial sistólica após 15 semanas.

Variáveis	Grupos	
	Controle (C= 20)	Obeso (Ob= 17)
Glicose (mg/dL)	129 ± 20	133 ± 19
Colesterol total (mg/dL)	63,6 ± 12,6	66,3 ± 15,1
Triglicerídeos (mg/dL)	48,9 ± 23,1	69,9 ± 61,5*#
HDL (mg/dL)	23,7 ± 2,8	25,4 ± 4,4
LDL (mg/dL)	31,1 ± 3,5	35,5 ± 6,9*
VLDL (mg/dL)	10,2 ± 1,9	14,7 ± 5,4*
PAS (mmHg)	126 ± 6	131 ± 12

Dados expressos em média ± desvio-padrão. C: grupo controle submetido à dieta padrão (C; n=20) e Ob: grupo obeso submetido à dieta hiperlipídica (Ob; n=17), ambos por 15 semanas de tratamento; HDL: lipoproteína de alta intensidade; LDL: lipoproteína de baixa intensidade; VLDL lipoproteína de muita baixa intensidade; PAS: pressão arterial sistólica; Teste “t” de Student para amostras independentes. * p<0,05 vs C; # dados apresentados em mediana ± semi-amplitude e submetidos ao teste de Mann Whitney para amostras independentes.

4.5- Perfil glicêmico

A Figura 7 mostra as características glicêmicas dos animais C e Ob após 15 semanas de tratamento. O teste de tolerância à glicose (GTT) realizado nos animais C e Ob promoveu aumento dos níveis glicêmicos somente nos momentos 60, 90 e 120 minutos no grupo Ob em comparação ao grupo C. Não houve diferença significativa entre os grupos no momento basal

e após 15 e 30 minutos. Contudo, a área glicêmica nos animais Ob foi significativamente maior quando comparado com os animais C (Figura 8).

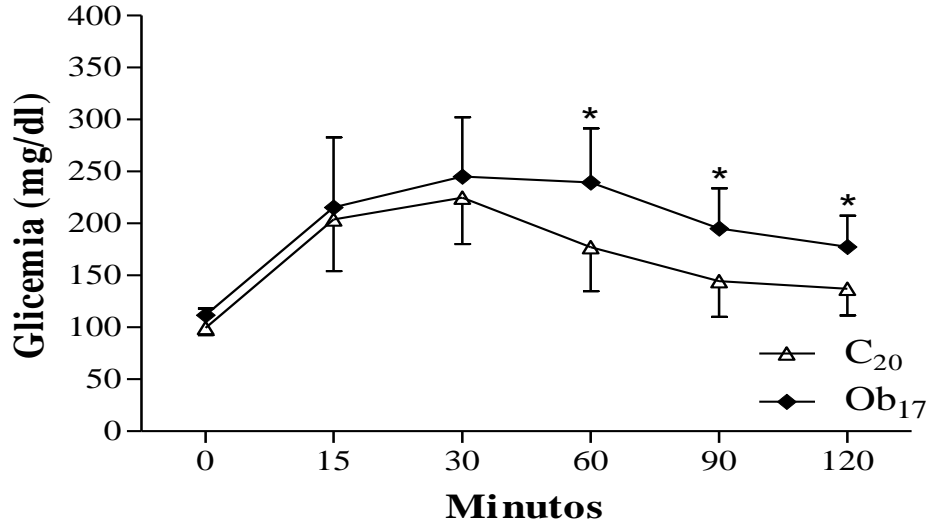


Figura 7. Perfil glicêmico obtido no teste de tolerância a glicose dos animais C (n=20) e Ob (n=17) após 15 semanas de tratamento. Dados expressos em média \pm desvio-padrão. Análise de variância (ANOVA) para o esquema de dois fatores e medidas repetidas, complementada com o teste *post-hoc* de Bonferroni. * $p < 0,05$ vs C.

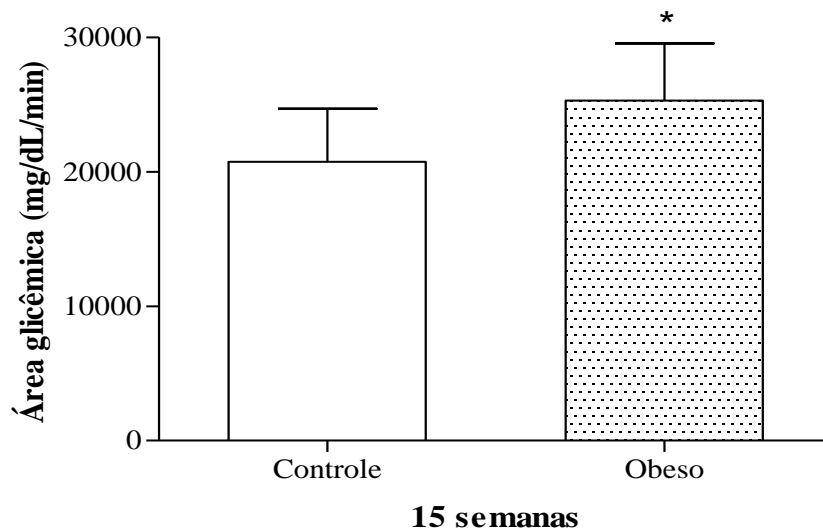


Figura 8. Área glicêmica, obtida no teste de tolerância à glicose, dos animais controle (C, n=20) e obeso (Ob, n=17) submetidos a 15 semanas de tratamento. Dados expressos em média \pm desvio padrão. Teste “*t*” de Student para amostras independentes. * $p < 0,05$ vs C.

4.6- Resistência à insulina

A Figura 9 mostra o resultado do índice de resistência á insulina (HOMA-IR) nos grupos C e Ob. O HOMA-IR não apresentou diferença estatística quando comparado ao grupo C ($p= 0,12$).

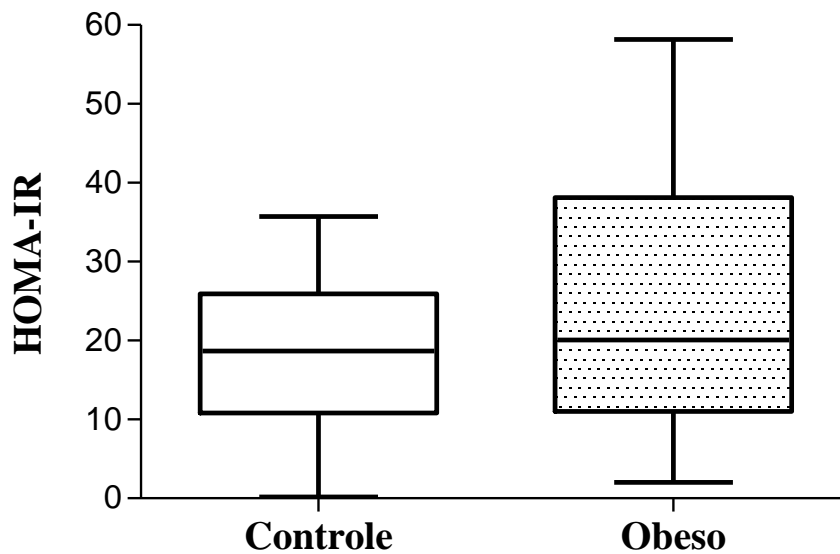


Figura 9. Índice de resistência á insulina (HOMA-IR) dos animais controle (C, n=20) e obeso (Ob, n=17) submetidos a 15 semanas de tratamento. Dados apresentados em mediana \pm intervalos interquartis. Mann Whitney para amostras independentes.

4.7- Análise sérica dos hormônios insulina e leptina

As Figuras 10 e 11 ilustram os resultados séricos de insulina e de leptina realizados nos grupos C e Ob, respectivamente. A Figura 10 mostra que os níveis de insulina no grupo Ob não apresentaram aumento significativo quando comparado ao grupo C ($p=0,08$). A obesidade promoveu aumento da leptina em relação ao grupo C, como mostrado na Figura 11.

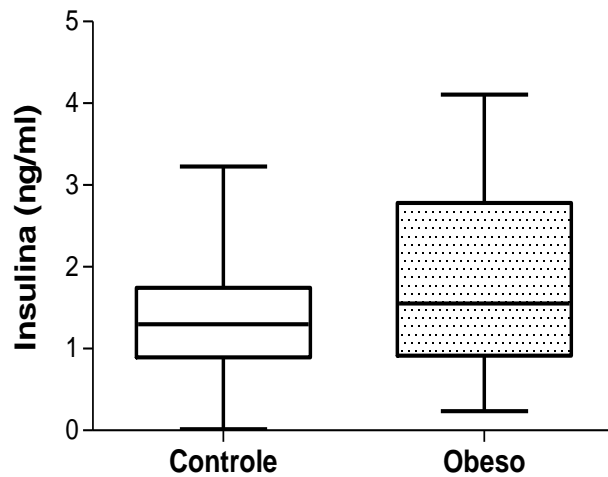


Figura 10. Níveis séricos de insulina dos animais controle (C=20) e obeso (Ob=17) submetidos a 15 semanas de tratamento. Dados apresentados em mediana \pm semi amplitude. Mann Whitney para amostras independentes.

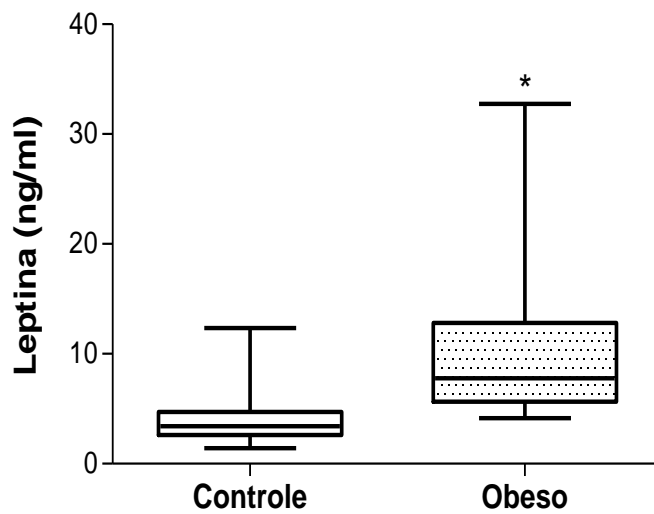


Figura 11. Níveis séricos de leptina dos animais controle (C=20) e obeso (Ob=17) submetidos a 15 semanas de tratamento. Dados apresentados em mediana \pm semi-amplitude. Mann Whitney para amostras independentes. * $p < 0,05$ vs C.

4.8 - Análise macroscópica do coração *post mortem*

A Tabela 4 mostra a estrutura macroscópica cardíaca *post mortem* dos ratos C e Ob. A comparação entre os grupos C e Ob, mostrou que o comprimento da tíbia e os pesos do coração, VE, VD, AT e as relações coração/Tíbia, VD/Tíbia, VE/Tíbia e AT/Tíbia foram maiores no grupo Ob quando comparado ao C.

Tabela 4. Características morfológicas do coração após 15 semanas.

Variáveis	Grupos	
	Controle (C= 20)	Obeso (Ob= 17)
Coração (g)	1,18 ± 0,09	1,32 ± 0,13*
VE (g)	0,86 ± 0,06	0,94 ± 0,08*
VD (g)	0,22 ± 0,03	0,27 ± 0,05*
AT (g)	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,02*
Tíbia (cm)	4,35 ± 0,09	4,43 ± 0,09*
Coração/ Tíbia (g/cm)	0,27 ± 0,02	0,30 ± 0,03*
VE/ Tíbia (g/cm)	0,20 ± 0,01	0,21 ± 0,02*
VD/ Tíbia (g/cm)	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01*
AT/ Tíbia (g/cm)	0,022 ± 0,003	0,025 ± 0,003*

Dados expressos em média ± desvio- padrão. C: controle; Ob: obeso; VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito; AT: átrio; Teste “t” de Student para amostras independentes. * p<0,05 vs C.

4.9- Determinação do teor de água nos tecidos cardíaco, pulmonar e hepático

A Tabela 5 mostra o teor de água nos tecidos cardíaco, pulmonar e hepático dos ratos C e Ob. A comparação entre os grupos, mostrou que a obesidade não modificou o teor de água nos tecidos cardíaco, pulmonar e hepático.

Tabela 5. Teor de água nos tecidos cardíaco, pulmonar e hepático.

Variáveis (%)	Grupos	
	Controle (C= 20)	Obeso (Ob= 17)
VE	75,6 ± 2,7	74,8 ± 0,7
VD	75,0 ± 1,0	75,6 ± 1,2
AT	77,6 ± 1,4	79,2 ± 5,2
Pulmão	77,9 ± 1,8	78,8 ± 1,8
Fígado	66,7 ± 3,0	66,3 ± 3,6

Dados expressos em média ± desvio padrão. C: controle; Ob: obeso; VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito; AT: átrio; Teste “*t*” de Student para amostras independentes. * p<0,05 vs C.

4.10- Avaliação da função cardíaca *in vitro*

A avaliação da função cardíaca *in vitro* dos animais, C e Ob, por meio de músculo papilar isolado do VE, está apresentada nas Tabelas 6, 7, 8, 9 e Figuras 12, 13, 14. A partir dos critérios estabelecidos para a análise do músculo papilar (área seccional) foram utilizados 18 animais no grupo C e 17 no grupo Ob.

4.10.1- Condição basal

A Tabela 6 mostra os dados funcionais do músculo papilar obtidos em condições basais com concentração de Ca⁺² de 2,5 mM. Os resultados indicam que a obesidade não acarretou alteração funcional, desde que as variáveis analisadas apresentaram comportamento semelhante entre os grupos. Os valores da área seccional transversa do músculo papilar não apresentaram diferença entre os grupos.

Tabela 6. Contração isométrica basal.

Variáveis	Grupos	
	Controle (C= 18)	Obeso (Ob= 17)
TD (g/mm²)	6,03 ± 1,77	5,30 ± 1,15
TR (g/mm²)	0,94 ± 0,33	0,88 ± 0,37
+ dT/dt (g/mm²/s)	71,0 ± 21,7	63,9 ± 14,4
-dT/dt (g/mm²/s)	23,9 ± 5,6	22,5 ± 5,0
TPT (ms)	169 ± 12	162 ± 12
TR₅₀ (ms)	178 ± 23	168 ± 17
AST MP (μm²)	1,07 ± 0,26	1,21 ± 0,28

Dados expressos em média ± desvio-padrão. C: controle; Ob: obeso; TD: tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso; TPT: tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de variação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de variação de decréscimo da tensão desenvolvida; TR₅₀: tempo para a tensão desenvolvida decrescer 50% de seu valor máximo; AST MP: Área Seccional transversa do músculo papilar (μm²). Teste “t” de Student para amostras independentes.

4.10.2- Potencial pós-pausa

Os efeitos do potencial pós-pausa durante o período de tratamento de 15 semanas sobre a função do músculo papilar em valores absolutos e relativos estão ilustrados na Tabela 7 e Figura 12, respectivamente. Os resultados em valores absolutos demonstraram que não houve alteração funcional entre os grupos no momento basal e após 10, 30, 60 e 90 segundos de cessação do estímulo, desde que, as variáveis analisadas apresentaram comportamento semelhante (Tabela 7). No entanto, a avaliação do comportamento funcional, a partir de valores relativos, demonstrou que a derivada negativa (-dT/dt) foi diferente entre os grupos nos períodos de 30, 60 e 90 segundos, apresentando-se menor no grupo Ob (Figura 12). Não houve diferença estatística para os demais parâmetros funcionais TD, TR, +dT/dt, TPT e TR₅₀.

A análise do comportamento funcional em valores absolutos, fixado os grupos, a partir da manobra do potencial pós-pausa (PPP) demonstrou que houve aumento significativo das variáveis TD, +dT/dt e a -dT/dt até o momento de cessação do estímulo de 30 segundos em

ambos os grupos, permanecendo estável a partir desse momento. A TR apresentou comportamento diferente no grupo Ob após cessação do estímulo de 10 segundos. O PPP não modificou o comportamento da variável TPT em ambos os grupos. A TR₅₀ apresentou comportamento diferente no grupo Ob após cessação do estímulo de 60 segundos; no grupo C a TR₅₀ mostrou elevação após cessação do estímulo de 10.

Tabela 7. Potencial Pós Pausa

Variáveis	Grupo	Potencial Pós Pausa (Segundos)				
		basal	PP 10''	PP 30''	PP 60''	PP 90''
TD (g/mm ²)	C	4,10 ± 0,98 ^a	5,26 ± 1,20 ^b	5,96 ± 1,32 ^c	6,23 ± 1,40 ^c	6,30 ± 1,57 ^c
	Ob	3,91 ± 0,63 ^a	4,92 ± 0,80 ^b	5,54 ± 0,91 ^c	5,76 ± 0,99 ^c	5,78 ± 1,19 ^c
TR (g/mm ²)	C	0,82 ± 0,28 ^a	0,79 ± 0,28 ^a	0,76 ± 0,30 ^a	0,74 ± 0,29 ^{ab}	0,78 ± 0,22 ^a
	Ob	0,74 ± 0,26 ^a	0,73 ± 0,25 ^b	0,71 ± 0,23 ^{ab}	0,67 ± 0,23 ^{ab}	0,65 ± 0,21 ^{ab}
+dT/dt (g/mm ² /s)	C	45,6 ± 11,5 ^a	58,6 ± 13,2 ^b	67,9 ± 14,8 ^c	72,3 ± 16,1 ^c	74,3 ± 18,9 ^{cd}
	Ob	43,2 ± 6,7 ^a	52,9 ± 9,9 ^b	61,7 ± 10,0 ^c	64,8 ± 11,0 ^c	66,3 ± 13,1 ^c
-dT/dt (g/mm ² /s)	C	18,8 ± 4,1 ^a	22,0 ± 4,7 ^b	24,8 ± 4,8 ^c	26,2 ± 4,9 ^c	27,3 ± 5,1 ^{cd}
	Ob	18,9 ± 4,0 ^a	21,3 ± 4,6 ^b	23,2 ± 5,2 ^c	24,4 ± 6,0 ^c	25,5 ± 6,6 ^{cd}
TPT (ms)	C	176 ± 16 ^a	173 ± 14 ^a	179 ± 17 ^a	180 ± 15 ^a	172 ± 12 ^a
	Ob	172 ± 12 ^a	169 ± 12 ^a	174 ± 12 ^a	175 ± 13 ^a	171 ± 14 ^a
TR ₅₀ (ms)	C	154 ± 14 ^a	174 ± 17 ^b	173 ± 16 ^b	174 ± 20 ^b	169 ± 23 ^b
	Ob	144 ± 11 ^a	160 ± 15 ^b	167 ± 15 ^b	172 ± 24 ^c	162 ± 17 ^{bc}

Dados expressos em média ± desvio- padrão. C: controle (n= 18); Ob: obeso (n=17); TD: tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso; TPT: tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de variação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de variação de decréscimo da tensão desenvolvida; TR₅₀: tempo para a tensão desenvolvida decrescer 50% de seu valor máximo. Letras minúsculas indicam comparação entre os momentos fixado o grupo. Análise de variância (ANOVA) para o esquema de dois fatores, complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey.

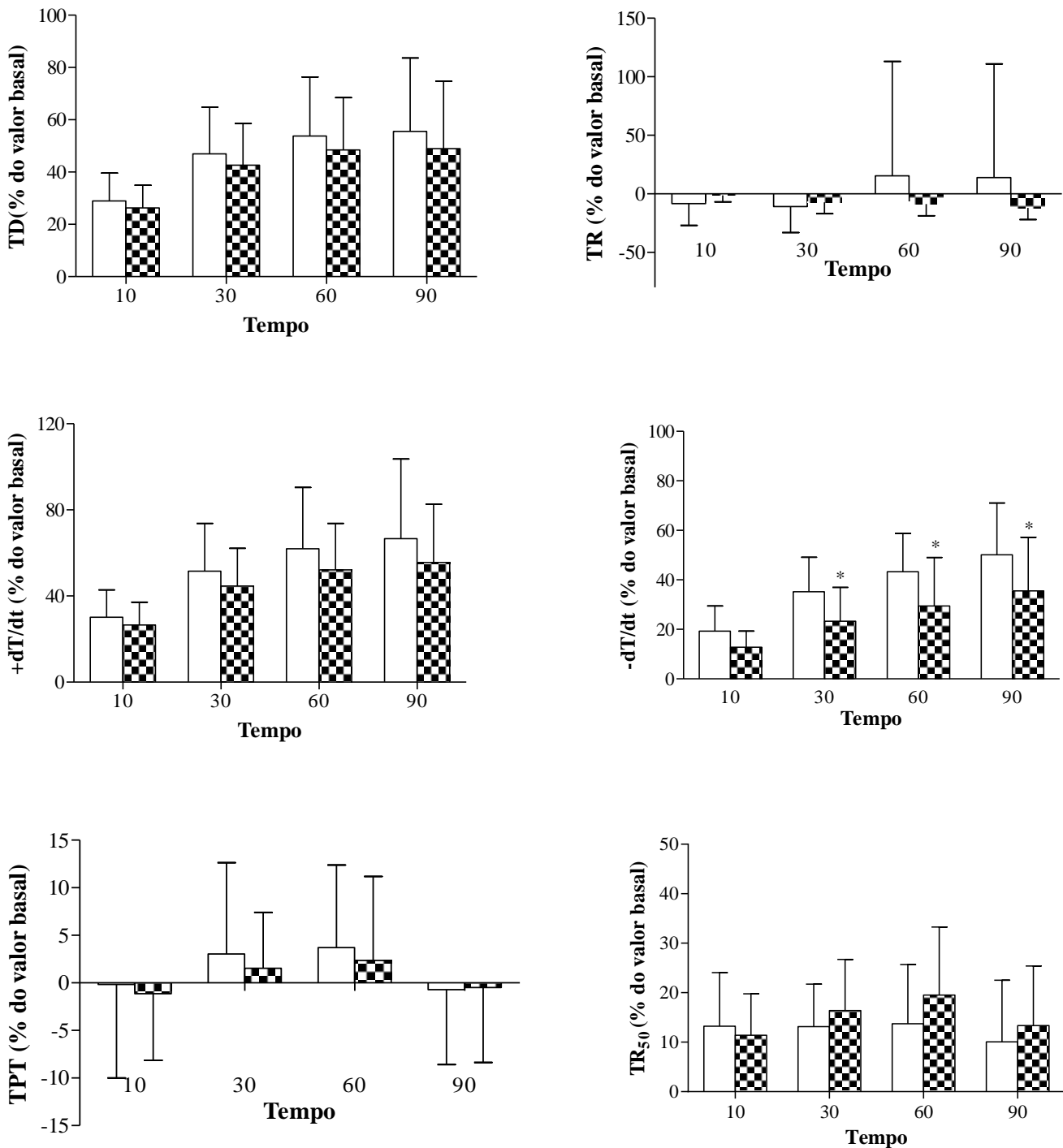


Figura 12. Efeitos do potencial pós-pausa no miocárdio de coração de ratos controles (barras brancas; n = 18) e obesos (barras quadriculadas; n = 17) após o estímulo ser cessado por 10, 30, 60 e 90 segundos. TD - tensão máxima desenvolvida; TR - tensão de repouso; +dT/dt - velocidade máxima de variação positiva da tensão desenvolvida; -dT/dt - velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida; TPT - tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; TR₅₀ - tempo para a tensão desenvolvida decrescer 50% de seu valor máximo. Dados apresentados em percentuais médios em relação ao valor basal \pm DP; * $p < 0,05$ versus grupo controle; Análise de variância (ANOVA) no modelo de medidas repetidas para esquema de dois fatores independentes; teste *post hoc* de comparações múltiplas de Tukey.

4.10.3- Elevação da concentração de cálcio extracelular

Os efeitos da elevação da concentração de cálcio extracelular durante o período de tratamento de 15 semanas na função do músculo papilar em valores absolutos e relativos estão mostrados na Tabela 8 e na Figura 13, respectivamente. Os resultados em valores absolutos demonstram que não houve alteração mecânica após elevação das concentrações de cálcio intracelular (Tabela 8). No entanto, a Figura 13 mostra que a derivada negativa ($-dT/dt$) em valores percentuais foi menor no Ob após elevação das concentrações de Ca^{+2} (2,0; 2,5 e 3,0 mM) em relação ao grupo C.

O comportamento funcional em valores absolutos, a partir da manobra de elevação da concentração de cálcio extracelular, demonstrou que houve aumento significativo das variáveis TD e $+dT/dt$ na transição do momento basal até a elevação da concentração para 1,5 mM em ambos os grupos. A TR no grupo Ob diminuiu a partir da elevação da concentração de cálcio extracelular de 2,5 mM; no grupo C este comportamento foi visualizado com a elevação da concentração de cálcio de 1,0 mM. A $-dT/dt$ no grupo Ob aumentou a partir da elevação da concentração de cálcio extracelular de 1,0 mM; no grupo C este comportamento foi visualizado com a elevação da concentração de cálcio de 1,5mM. O comportamento da TR_{50} foi modificado em ambos os grupos a partir da elevação da concentração de cálcio de 1,5mM. A elevação da concentração de cálcio extracelular não modificou o comportamento da variável TPT em ambos os grupos (Tabela 8).

Tabela 8. Elevação da concentração de cálcio extracelular.

Variáveis	Grupos	Elevação de Cálcio					
		Basal	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
TD (g/mm ²)	C	3,99 ± 1,30 ^a	4,89 ± 1,11 ^b	5,60 ± 1,23 ^c	5,96 ± 1,34 ^c	6,22 ± 1,40 ^{cd}	6,16 ± 1,44 ^c
	Ob	3,74 ± 0,64 ^a	4,69 ± 0,84 ^b	5,20 ± 0,98 ^c	5,50 ± 1,07 ^c	5,69 ± 1,09 ^c	5,61 ± 1,22 ^{cd}
TR (g/mm ²)	C	0,75 ± 0,22 ^a	0,71 ± 0,21 ^b	0,69 ± 0,20 ^b	0,68 ± 0,21 ^b	0,66 ± 0,19 ^{bc}	0,64 ± 0,20 ^c
	Ob	0,63 ± 0,2 ^a	0,59 ± 0,2 ^a	0,58 ± 0,22 ^{ab}	0,55 ± 0,20 ^{ab}	0,55 ± 0,22 ^b	0,55 ± 0,23 ^b
+dT/dt (g/mm ² /s)	C	43,0 ± 11,0 ^a	56,8 ± 13,3 ^b	65,8 ± 15,3 ^c	71,1 ± 16,8 ^c	76,4 ± 18,9 ^{cd}	75,2 ± 19,7 ^{cd}
	Ob	41,7 ± 7,2 ^a	53,5 ± 9,1 ^b	60,1 ± 11,5 ^c	64,5 ± 12,3 ^c	68,5 ± 13,1 ^{cd}	67,3 ± 15,1 ^c
-dT/dt (g/mm ² /s)	C	20,0 ± 5,0 ^a	24,7 ± 5,1 ^b	26,9 ± 5,1 ^c	27,6 ± 5,3 ^c	28,7 ± 5,8 ^{cd}	28,4 ± 5,7 ^c
	Ob	19,8 ± 4,0 ^a	23,9 ± 5,2 ^b	25,3 ± 5,5 ^b	25,6 ± 5,7 ^b	26,0 ± 5,7 ^{bc}	25,7 ± 6,3 ^{bc}
TPT (ms)	C	167 ± 14 ^a	164 ± 11 ^a	164 ± 15 ^a	160 ± 10 ^a	167 ± 10 ^a	163 ± 14 ^a
	Ob	165 ± 11 ^a	159 ± 13 ^a	156 ± 11 ^a	161 ± 11 ^a	156 ± 11 ^a	159 ± 11 ^a
TR ₅₀ (ms)	C	138 ± 15 ^a	139 ± 10 ^a	148 ± 12 ^b	157 ± 13 ^c	153 ± 16 ^{bc}	158 ± 16 ^c
	Ob	131 ± 8 ^a	138 ± 10 ^a	143 ± 8 ^{ab}	147 ± 11 ^{ab}	150 ± 9 ^{bc}	151 ± 14 ^{bc}

Dados expressos em média ± desvio padrão. C: controle (n= 18); Ob: obeso (n= 17); TD: tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso; TPT: tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de variação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de variação de decréscimo da tensão desenvolvida; TR₅₀: tempo para a tensão desenvolvida decrescer 50% de seu valor máximo. Letras minúsculas indicam comparação entre os momentos fixado o grupo. Análise de variância (ANOVA) para o esquema de dois fatores, complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey.

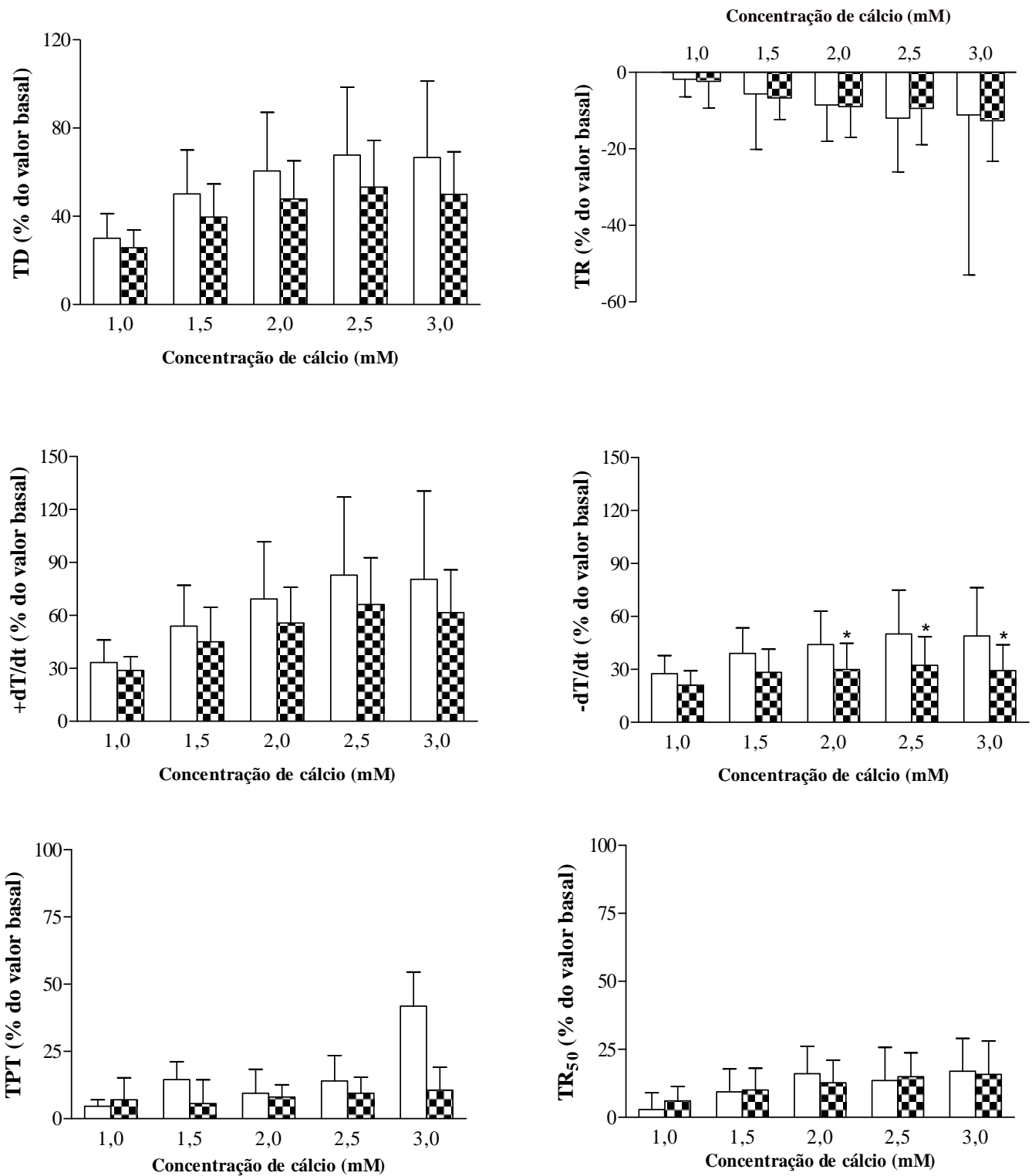


Figura 13. Efeitos da elevação da concentração de cálcio extracelular (1,0 até 3,0mM) nas respostas inotrópicas de miocárdios controles (barras brancas; n=18) e obesos (barras quadriculadas; n = 17). Concentração de cálcio basal (0,5 mM) representa 100%. TD - tensão máxima desenvolvida; TR - tensão de repouso; +dT/dt - velocidade máxima de variação positiva da tensão desenvolvida; D: -dT/dt - velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida; TPT - tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; TR₅₀ - tempo para a tensão desenvolvida decrescer 50% de seu valor máximo. Os dados são apresentados em percentuais médios em relação ao valor basal \pm DP; * $p < 0,05$ versus grupo controle; Análise de variância (ANOVA) no modelo de medidas repetidas para esquema de dois fatores independentes; teste de comparações múltiplas de Tukey.

4.10.4- Estimulação do sistema β -adrenérgico

Os efeitos da estimulação β -adrenérgica durante o período de tratamento de 15 semanas na função do músculo papilar em valores absolutos e relativos estão demonstrados na Tabela 9 e na Figura 14, respectivamente. No momento basal (concentração de $\text{Ca}^{+2} = 1,0$ mM) houve alteração funcional apenas na TR_{50} , sendo este parâmetro menor no grupo Ob em relação ao grupo C. Os efeitos obtidos com estimulação β -adrenérgica a partir do isoproterenol demonstram que os grupos apresentaram comportamento funcional semelhante (Tabela 9). Contudo, os valores da TR_{50} após estimulação de isoproterenol (10^{-7} M) foram menores, quando comparado com o grupo C. No entanto, a Figura 14 mostra que após estimulação β -adrenérgica com isoproterenol (10^{-7} M), a derivada negativa ($-\text{dT}/\text{dt}$) no grupo Ob foi maior do que o C. Embora não houve diferença estatística entre os grupos na concentração de isoproterenol (10^{-5}), os ratos Ob apresentaram maior percentual de resposta na $-\text{dT}/\text{dt}$ ($p=0,06$).

Tabela 9. Estimulação β -Adrenérgica.

Variáveis	Grupos	Isoproterenol			
		Basal	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}
TD (g/mm^2)	C	$5,30 \pm 1,2^a$	$5,60 \pm 1,47^{ab}$	$5,87 \pm 1,49^b$	$5,70 \pm 1,52^{ab}$
	Ob	$4,95 \pm 0,93^a$	$5,37 \pm 1,09^{ab}$	$5,53 \pm 1,13^b$	$5,59 \pm 1,16^b$
TR (g/mm^2)	C	$0,58 \pm 0,22^a$	$0,58 \pm 0,20^{ab}$	$0,59 \pm 0,17^a$	$0,53 \pm 0,18^b$
	Ob	$0,53 \pm 0,21^a$	$0,55 \pm 0,21^a$	$0,53 \pm 0,23^{ab}$	$0,48 \pm 0,23^b$
+dT/dt ($\text{g}/\text{mm}^2/\text{s}$)	C	$62,7 \pm 15,1^a$	$72,9 \pm 19,8^b$	$82,3 \pm 19,9^c$	$85,7 \pm 20,3^c$
	Ob	$57,2 \pm 10,6^a$	$69,6 \pm 14,5^b$	$76,9 \pm 15,6^c$	$79,3 \pm 16,4^c$
-dT/dt ($\text{g}/\text{mm}^2/\text{s}$)	C	$26,5 \pm 5,4^a$	$33,9 \pm 8,3^b$	$46,5 \pm 9,4^c$	$51,5 \pm 11,8^d$
	Ob	$24,6 \pm 5,3^a$	$35,5 \pm 10,5^b$	$47,0 \pm 12,3^c$	$52,8 \pm 13,4^d$
TPT (ms)	C	164 ± 16^a	147 ± 17^b	134 ± 9^c	129 ± 12^c
	Ob	161 ± 11^a	144 ± 14^b	129 ± 10^c	$128 \pm 9,7^c$
TR ₅₀ (ms)	C	147 ± 15^a	120 ± 14^b	$91,6 \pm 11,0^c$	$83,9 \pm 9,6^d$
	Ob	$137 \pm 10^{*a}$	$105 \pm 14^{*b}$	$86,2 \pm 8,4^c$	$77,5 \pm 8,3^d$

Dados expressos em média \pm desvio padrão. C: controle (n= 18); Ob: obeso (n= 17); TD: tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso; TPT: tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de variação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de variação de decréscimo da tensão desenvolvida; TR₅₀: tempo para a tensão desenvolvida decrescer 50% de seu valor máximo. Letras minúsculas indicam comparação entre os momentos fixado o grupo. Análise de variância (ANOVA) para o esquema de dois fatores, complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey.

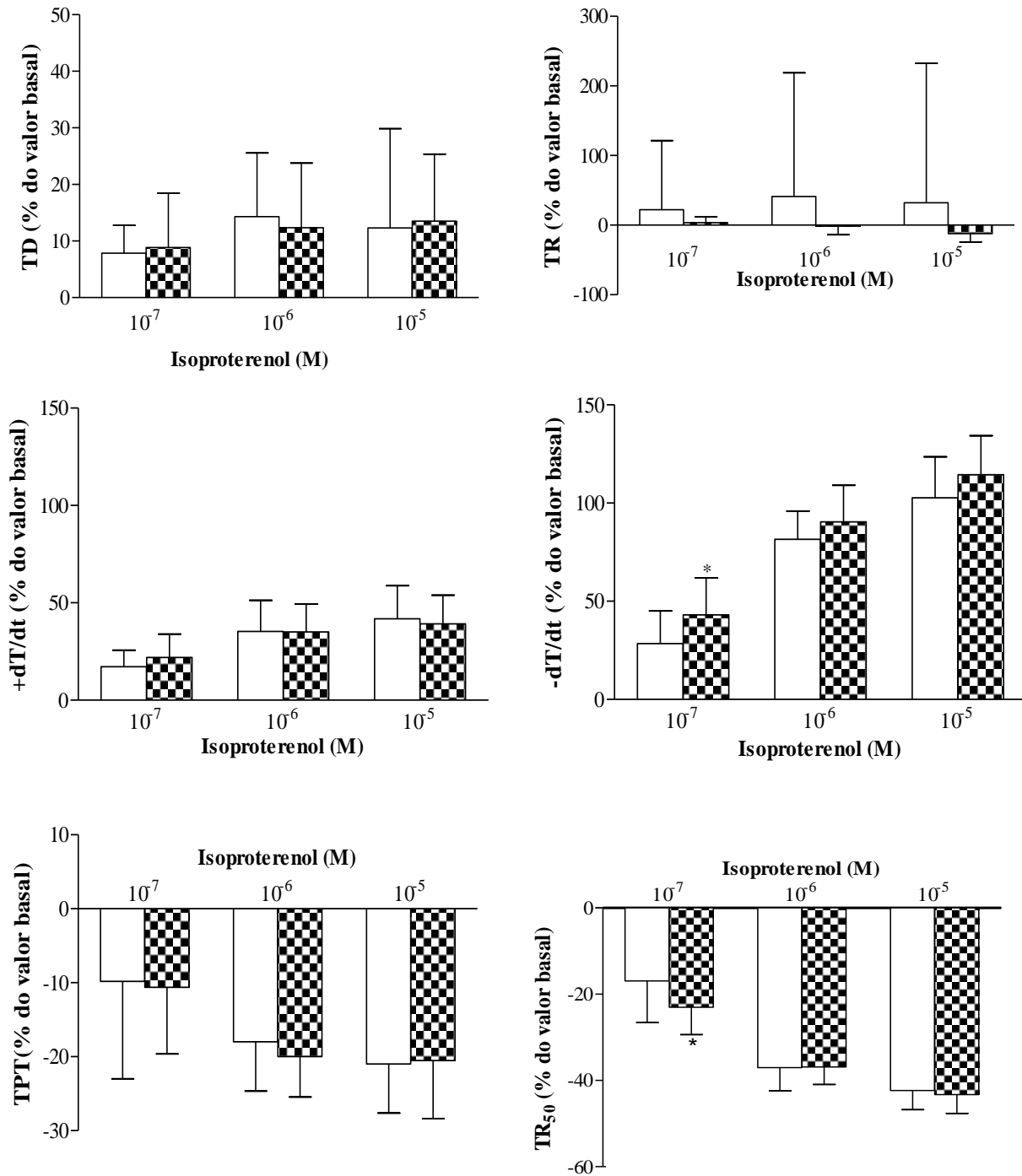


Figura 14. Efeitos do aumento da concentração de isoproterenol (10⁻⁷ até 10⁻⁵ M) sobre as respostas inotrópicas de miocárdios controles (barras brancas; n = 18) e obesos (barras quadriculadas; n = 17). Concentração de cálcio basal (1,0mM) representa 100%. TD - tensão máxima desenvolvida; TR - tensão de repouso; +dT/dt - velocidade máxima de variação positiva da tensão desenvolvida; -dT/dt - velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida; TPT - tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; TR₅₀ - tempo para a tensão desenvolvida decrescer 50% de seu valor máximo. Dados apresentados em percentuais médios em relação ao valor basal ± DP; * p < 0,05 versus grupo controle; Análise de variância (ANOVA) no modelo de medidas repetidas para esquema de dois fatores independentes; teste *post hoc* de comparações múltiplas de Tukey.

5. DISCUSSÃO

5.1- Momento inicial da obesidade

A determinação do momento inicial da obesidade torna-se fundamental para controle da duração do tratamento experimental. Dentro deste contexto, no presente estudo, corroborando com dados anteriores visualizados em nosso laboratório⁽³³⁾, o momento inicial da obesidade ocorreu na terceira (3ª) semana de tratamento. Após o início da obesidade, os animais permaneceram mais 15 semanas em protocolo experimental, o qual visou o desenvolvimento de um modelo consistente de obesidade induzido por dieta hiperlipídica insaturada em ratos *Wistar*. Poucos estudos, utilizando protocolos de indução à obesidade por meio de dieta hiperlipídica, verificaram o início da elevação de adiposidade^(27,28,73). Levin et al.⁽⁷⁵⁾, Brandão et al.⁽⁹⁷⁾, Yanga et al.⁽⁹⁸⁾ e Zarzoso et al.⁽³⁵⁾ definiram o momento inicial da obesidade após constatarem que animais alimentados com dieta hiperlipídica tornavam-se obesos na 4ª semana de tratamento.

5.2- Constituição dos grupos controle e obeso

Com a finalidade de diferenciar e caracterizar os animais como verdadeiramente obesos e controles, utilizou-se neste estudo critério de classificação dos grupos a partir do índice de adiposidade. Este critério foi baseado em estudos anteriores realizados em modelos de obesidade^(27,28,33,40,73). Em estudos experimentais, mesmo quando mantidas as condições laboratoriais semelhantes, não estão assegurada uma homogeneidade de resposta. Neste sentido, animais alimentados com ração padrão e hiperlipídica podem apresentar, em maior ou menor escala, características comuns de resposta, como, por exemplo, o índice de adiposidade. Este resultado poderia levar a resultados discrepantes por ocorrência da homogeneidade dos dados entre os grupos.

Os descartes por não adesão ao procedimento utilizado para a composição dos grupos foram, respectivamente, no grupo controle (C= 5) e no grupo obeso (Ob= 8), representando 20% e 32%, respectivamente. Nascimento et al.⁽⁷³⁾ utilizando critério semelhante, a partir da mensuração da gordura corporal na carcaça para a constituição dos grupos controle e obeso após 15 semanas, verificaram resultados divergentes dos encontrados em nosso estudo, sendo obtidos descartes inferiores a 20%.

Cabe ressaltar que mesmo com algumas exclusões dos animais nesse estudo, é fundamental elucidar que a literatura não realiza este tipo de separação e admite que todos os animais apresentam características distintas quando alimentados com dietas diferentes^(99,100). A ausência de um procedimento como o empregado neste estudo, poderia acarretar erros de classificação, ou seja, animais do grupo C adquirir características de ratos Ob ou vice-versa. Dentro deste contexto, a finalidade do presente estudo foi avaliar a obesidade em animais classificados como verdadeiramente obesos.

5.3- Características Gerais

De acordo com os dados obtidos de elevação no peso e na gordura corporal total, observou-se o desenvolvimento de um modelo viável e reprodutível de obesidade induzida por dieta hiperlipídica em ratos *Wistar*. O peso corporal final dos animais Ob após 15 semanas de tratamento foi 15,2% maior em relação ao grupo C. Esses dados corroboram com achados de outros autores que visualizaram elevação no peso corporal dos animais Ob em relação ao controle^(97,101,102). Em contraste, Lima-Leopoldo et al.⁽⁷¹⁾ e outros autores^(70,101) não demonstraram diferença estatística no peso corporal final entre os grupos controle e obeso. Apesar da elevação do peso corporal nos animais obesos, alguns pesquisadores^(27,28,33) relatam que o peso corporal pode não ser um indicador fidedigno de obesidade. Nesse sentido, a quantidade de gordura corporal total visualizada nos animais obesos após 15 semanas de

tratamento, representou 97,3% a mais que os respectivos controles. Estes dados quando comparados com o peso corporal, indicam que esta variável pode, realmente, subestimar o grau de obesidade. Outros estudos utilizando dieta hiperlipídica, também encontraram aumento nos níveis de gordura corporal^(27,28,33), Carroll et al.⁽²³⁾, Ghibaudi et al.⁽¹⁰³⁾ e Nascimento et al.⁽¹⁰⁴⁾ alimentando animais por 12, 28 e 30 semanas com dieta rica em lipídeos, respectivamente, mostraram elevação de 96,3%, 137% e 41,2% na quantidade de gordura corporal.

A variação no ganho de peso corporal é dependente da razão entre a ingestão e gasto energético. Neste estudo, o grupo Ob foi alimentado por dieta com elevada densidade energética, fator responsável pelo acúmulo de adiposidade nesses animais. A literatura mostra que o consumo de gordura elevado pode não ser acompanhado do aumento na sua oxidação, o que favorece o maior acúmulo de tecido adiposo em animais alimentados com dietas hiperlipídicas^(105,106). Nossos achados demonstraram um ganho de peso corporal maior nos animais Ob (26,7%) quando comparado com o grupo C. Estes resultados estão de acordo com os achados de Ghibaudi et al.⁽¹⁰³⁾, onde os animais Ob tratados por 28 semanas apresentaram elevação de 23,4% no peso corporal quando comparado com o grupo C.

5.4 - Perfil nutricional

As principais causas de obesidade humana são a maior oferta e ingestão de alimentos altamente energéticos e palatáveis acompanhadas por redução no gasto calórico⁽¹⁰⁷⁾. Enquanto o conteúdo energético da dieta hiperlipídica, utilizada no tratamento do grupo Ob foi 3,65 Kcal/g, a dieta empregada no grupo C apresentou 2,95 Kcal/g, representando diferença de 24% no teor energético por grama. A adoção de dietas hipercalóricas ou hiperlipídicas têm sido amplamente utilizadas em modelos animais de indução obesidade^(28,33,73,97,99). Neste estudo os animais submetidos ao protocolo de obesidade por meio de dieta hiperlipídica

apresentaram elevação na quantidade de gordura corporal total (97,3%) devido ao alto teor energético, no entanto, a ingestão alimentar foi menor no grupo Ob. Em contraste, Carroll et al.⁽²³⁾, utilizando ratos obesos por 12 semanas, verificaram que o consumo alimentar foi similar entre os grupos C e Ob.

Uma explicação possível para a menor ingestão alimentar no grupo Ob foi a elevação dos níveis de leptina apresentados por esses animais. A literatura relata que o tecido adiposo desempenha papel importante no aumento da leptina^(108,109) e, conseqüentemente, influencia no controle da ingestão alimentar. Contudo, a menor ingestão alimentar associada à diferença no aporte calórico das rações propiciou ingestão calórica semelhante entre os grupos. A eficiência alimentar do grupo Ob foi 33,3% maior que a do grupo C, corroborando com outros achados de indução à obesidade por meio de dieta rica em gordura^(99,110,111).

Algumas pesquisas apontam que a eficiência alimentar é empregada na conversão da ingestão alimentar em ganho de peso corporal^(28,110). Embora o grupo Ob tenha ingerido menos ração, o maior ganho de peso corporal exibido por esses animais ocorreu provavelmente devido à eficiência alimentar em relação ao grupo C^(27,28,33). Estudos mostram que uma dieta hiperlipídica pode não ser acompanhada da elevação na oxidação lipídica, favorecendo maior acúmulo de adiposidade nos animais Ob^(105,111). Em síntese, o aumento da densidade da dieta a partir dos lipídios pode resultar em maior depósito de gordura corporal⁽¹¹²⁾.

5.5- Comorbidades

O estudo avaliou algumas comorbidades associadas com a obesidade como intolerância à glicose, resistência à insulina, hiperinsulinemia, hiperleptinemia, dislipidemias e hipertensão arterial sistólica^(18,23,26-28,33,38,39).

O teste de tolerância à glicose (GTT) realizado nos animais C e Ob, mostrou semelhança na capacidade metabólica da glicose em situação basal e nos momentos 15 e 30 minutos após sobrecarga de glicose, no entanto, nos momentos 60, 90 e 120 minutos, os níveis glicêmicos foram elevados no grupo Ob em comparação ao C. Este achado acrescido dos valores obtidos pelo cálculo da área glicêmica, maior no grupo Ob em relação ao grupo C, demonstram que a obesidade promoveu intolerância à glicose. No entanto, a obesidade não acarretou resistência à insulina, uma vez que, o índice HOMA-IR, frequentemente utilizado como indicador de resistência à insulina⁽⁸³⁾, não apresentou diferença estatística no grupo Ob quando comparado ao grupo C ($p=0,12$).

A resistência à insulina ocorre quando, concentrações fisiológicas de insulina provocam resposta subnormal na captação de glicose pelas células, especialmente nas musculares e gordurosas, em consequência da menor captação de glicose. Dentro desse contexto, torna-se necessário maior produção de insulina pelo pâncreas para a manutenção da concentração glicêmica normal, aumentando-se desta forma os níveis circulantes de insulina^(18,34). Em favor desta afirmação são os resultados séricos da insulina; embora não tenha sido encontrada diferença estatística entre os grupos nos níveis séricos de insulina ($p=0,08$), os resultados sugerem que possivelmente tenha ocorrido um estado de hiperinsulinemia nesses animais na tentativa de aumentar a captação de glicose circulante e, conseqüentemente, normalizar a glicemia. Esses resultados corroboram com os estudos de Lima-Leopoldo et al.⁽⁷¹⁾, Leopoldo et al.^(27,28) e outros autores^(113,114).

Os achados deste estudo demonstram que a obesidade acarretou hiperleptinemia após 15 semanas de tratamento. Sendo esse hormônio secretado pelo tecido adiposo, diversos autores têm descrito que os níveis de leptina apresentam relação direta com a quantidade de gordura corporal^(115,116). No presente estudo houve aumento de 155% nos níveis de leptina dos animais Ob em relação aos animais C. A hiperleptinemia, frequentemente observada em

modelos humanos e experimentais de obesidade^(110,115-117), é acompanhada por um rompimento de atividades usuais do hormônio, possivelmente em diferentes estágios na sinalização da cascata e no transporte circulatório. O prejuízo da sinalização da leptina no hipotálamo resulta em obesidade e confirma o papel central deste hormônio na manutenção do balanço energético. No entanto, os resultados observados neste estudo sugerem que não houve resistência a ação da leptina, uma vez que, os ratos obesos apresentaram menor ingestão alimentar.

Um aspecto importante visualizado foi que a obesidade não acarretou hipertensão arterial conforme verificado em outros estudos^(118,119). Diversos mecanismos pelo qual a obesidade é capaz de promover hipertensão arterial têm sido descritos, entre eles: sistema renina-angiotensina-aldosterona, ativação do sistema nervoso simpático e prejuízo na homeostase metabólica como hiperinsulinemia, hiperleptemia, desequilíbrio dos níveis de adipocinas e aumento de citocinas inflamatórias^(1,77,118,120,121,122). No presente estudo, o aumento nos níveis de leptina no grupo Ob ao final do tratamento pode ter sido fator determinante para que não houvesse elevação da hipertensão arterial. A ausência de hipertensão visualizada neste estudo vai de encontro com os outros estudos^(104,123). Os autores elucidam que a leptina é capaz de ativar diretamente a produção de óxido nítrico (NO) em vasos e que esta ativação é dependente da integridade endotelial. Além disso, os autores sugerem que a melhora da via de produção do NO pela leptina pode estar associada à ausência de mudanças na pressão arterial de ratos obesos. Martins et al.⁽¹²⁴⁾, utilizando diferentes tipos de dietas (saturada e insaturada) com alto teor de gordura compostas por banha, azeite extra virgem, óleo de girassol e óleo de canola, durante 10 semanas, verificaram melhora no relaxamento endotelial, juntamente ao aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO). A dieta rica em azeite extra virgem (monoinsaturada), induz ativação total do transportador de L-arginina associada a um aumento da atividade basal e da expressão da enzima de óxido

nítrico sintase (NOS), em comparação com uma dieta padrão. No entanto, quando o tratamento era realizado com dieta rica em banha (gordura saturada), ocorria inibição total do NO via L-arginina e, portanto, podendo elevar os níveis pressóricos⁽¹²⁴⁾. Estes resultados sugerem que a atividade e afinidade aos transportadores incorporados na membrana da célula, podem ser moduladas pelo tipo de lipídio na dieta⁽¹²⁴⁾.

A adoção de dietas hipercalóricas ou hiperlipídicas têm sido muito utilizadas em roedores para fornecer modelos experimentais de síndrome metabólica que, promovem, entre outros, obesidade e dislipidemias^(18,27,28,32-34,73,75,76). Desta forma, um aspecto importante foi a constituição dos ácidos graxos insaturados na dieta hiperlipídica utilizada para a indução à obesidade, sendo observado maior concentração de ácidos linoléicos (ômega-6) e quantidades reduzidas de α -linolênico (n-3). Alguns estudos têm mostrado que a maior ingestão de ácido α -linolênico (n-3) tem sido recomendada para diminuição da incidência de doença arterial coronariana (DAC) e outras doenças inflamatórias⁽¹²⁵⁻¹³¹⁾. Além disso, Harris⁽¹³²⁾ relata outros efeitos positivos na ingestão dos ácidos graxos α -linolênico (n-3), tais como: redução das concentrações sanguíneas de triacilglicerol e VLDL colesterol. No entanto, no presente estudo, a indução à obesidade por 15 semanas por meio de ácidos graxos insaturados linoléicos (ômega-6) acarretou alterações do perfil lipídico, desde que, foram observados níveis elevados de triglicerídeos plasmáticos (43%), LDL (14%) e VLDL (44%), embora não tenha modificado os níveis de colesterol total e HDL. Em concordância com estes achados, outros estudos têm mostrado que a ingestão de dieta rica em ácido linoléico promove diminuição e/ou manutenção nas concentrações de colesterol^(133,134)

A literatura relata que a hipertrigliceridemia induzida pela dieta hiperlipídica pode ser resultado do aumento da absorção dos triglicerídeos (TG) na forma de quilomícrons, da elevação da produção endógena das VLDL, e/ou diminuição da captura de TG pelos tecidos periféricos⁽¹³⁵⁾. Os TG possuem influência indireta sobre a aterogênese por apresentarem

efeitos sobre LDL e HDL. Em estados hipertrigliceridêmicos, existe transferência de triglicérides plasmáticos oriundos de lipoproteínas ricas em triglicérides para LDL e HDL em troca de ésteres de colesterol. Os triglicérides enriquecidos de partículas de LDL e HDL tornam-se substratos preferidos para a enzima lipase hepática que os converte em menores e mais densas partículas de LDL e HDL. Enquanto as partículas de LDL, pequenas e mais densas, são particularmente aterogênicas, os fragmentos de HDL são catabolizados mais facilmente, dando origem a um baixo colesterol HDL ⁽¹³⁶⁾. Nascimento et al. ⁽⁷⁶⁾ utilizando o modelo de indução de obesidade por meio da dieta hipercalórica insaturada durante 14 semanas também encontrou elevação nos valores de triglicérides e manutenção nos valores de colesterol total. No entanto, quando mensurado os níveis de HDL, os autores verificaram aumento nos níveis plasmáticos de HDL no grupo Ob.

5.6- Influência da obesidade sobre a remodelação cardíaca e suas estruturas

Alguns autores definem a remodelação cardíaca quando o coração sofre algumas alterações moleculares, celulares e intersticiais que se manifestam clinicamente por modificações no tamanho, na forma e função do coração após uma agressão ^(12,15,26,30,84,137-139).

Segundo Kempf e Wollert ⁽¹³⁹⁾, a hipertrofia causada por sobrecargas hemodinâmicas pode conduzir à hipertrofia adaptada (fisiológica) ou mal-adaptada (patológica). A hipertrofia do miócito ocorre como resposta adaptativa às variações de cargas pressóricas e volume e/ou alterações metabólicas ^(84,138-144). Neste sentido, a remodelação cardíaca apresenta como finalidade adaptar o coração às sobrecargas de trabalho impostas, por exemplo, pela obesidade ^(12,15,117). Alguns trabalhos mostram que longos períodos de obesidade estão associados com hipertrofia excêntrica, no entanto, poucos estudos reportam remodelação concêntrica do coração na ausência de comorbidades como a hipertensão arterial ^(12,145). A hipertrofia cardíaca do tipo excêntrica ^(139,143) ocorre em resposta à sobrecarga de volume,

acarretando aumento dos sarcômeros em série. No entanto, pode ocorrer hipertrofia do tipo concêntrica, onde o padrão geométrico do VE se altera por adição de sarcômeros em paralelo, em virtude de sobrecarga pressórica^(139,143).

Nesse trabalho, a partir dos resultados obtidos, sugere-se que a obesidade acarretou remodelação cardíaca excêntrica de magnitude fisiológica, uma vez que, os animais Ob apresentaram aumento de peso do coração total de apenas 12% em comparação com o grupo C. A hipertrofia do miócito, provavelmente, ocorreu em resposta à sobrecarga de volume. Leopoldo⁽¹⁴⁶⁾ identificaram, por meio do ecocardiograma, aumento no volume sistólico e débito cardíaco após 15 semanas de obesidade. A literatura relata que em condição normal, nos seres humanos, o coração aumenta de forma proporcional com o crescimento do corpo em uma relação quase linear, de tal modo que o peso em gramas do ventrículo esquerdo é de 3 a 4 vezes o peso do corpo em quilogramas. Embora o peso do ventrículo esquerdo no grupo Ob apresentou aumento de 9,3%, a proporção de crescimento do ventrículo esquerdo em relação ao peso corporal foi de 0,61, indicando um aumento quase linear do ventrículo esquerdo. Dentro deste contexto, no presente estudo, os resultados sugerem que o coração sofreu um processo de remodelação cardíaca fisiológica do tipo excêntrica. Estes achados estão em consonância com diversos estudos^(12,15,27,30,147).

Alguns marcadores podem estar envolvidos no processo de remodelação cardíaca induzido pela obesidade, entre eles, a leptina e a insulina⁽¹⁴⁷⁻¹⁵¹⁾. A leptina, um dos hormônios mais conhecidos da obesidade, exerce inúmeras ações pleiotrópicas no organismo, dentre elas, atua no sistema cardiovascular. O aumento dos níveis de leptina pode acarretar elevação da pressão arterial, aterosclerose, depressão da função contrátil e hipertrofia cardíaca⁽¹⁴⁸⁾.

Embora diversos autores relatem que o principal papel fisiológico da leptina é a comunicação com o sistema nervoso central (SNC), estudos clínicos tem demonstrado correlação positiva entre os níveis de leptina e a massa ventricular esquerda independente dos

níveis pressóricos, sugerindo papel direto da leptina na patogênese da obesidade associada com a cardiopatia^(122,147,150,152,153). Os resultados do presente estudo sugerem que a hiperleptinemia pode ter participado do processo de remodelação cardíaca induzido pela obesidade. Xu et al.⁽¹⁴⁰⁾ demonstram que a leptina eleva os níveis de endotelina-1 (ET-1) e espécies reativas de oxigênio (ROS), promovendo hipertrofia cardíaca em ratos neonatos. Esta sinalização hipertrófica demonstra um crescimento evidente de que a ET-1, aumentada em indivíduos obesos, apresenta papel importante no processo de hipertrofia cardíaca. Outra via sugerida referente à participação da leptina no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca pode ser encontrada nos trabalhos de Zeidan et al.⁽¹⁴¹⁾. Os autores demonstram que a hipertrofia cardíaca induzida pela leptina parece ser dependente de ativação da proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK, p38) e pela sinalização da RhoA (Qinase associada a Rho), uma pequena GTPase. No entanto, a literatura tem descrito a via JAK/STAT (Janus Quinase/Transdutor de sinal e ativador de transcrição) como principal via de sinalização da leptina no processo de remodelação cardíaca^(141,149,151,154). Futuros estudos são necessários para verificar a participação da leptina no processo de remodelação cardíaca induzido pela obesidade a partir de um modelo de dieta hiperlipídica insaturada.

Outro sinalizador importante no processo de remodelação cardíaca é a insulina, uma vez que, este hormônio estimula a síntese de proteínas⁽¹⁵³⁻¹⁵⁸⁾. Alguns estudos têm observado uma relação positiva entre insulina e hipertrofia cardíaca do VE^(143,158-160). A insulina está relacionada com ativação da via AKT/mTOR (proteína quinase B/ proteína alvo da rapamicina em mamíferos), ligando-se ao seu receptor de superfície (IR). Quando ativada, a via AKT-mTOR aumenta a síntese protéica, acarretando hipertrofia cardíaca^(143,158-160). O aumento nos pesos dos componentes cardíacos, visualizados no presente estudo, sinalizam que houve hipertrofia cardíaca em decorrência de outros sinalizadores, desde que, não foi visualizado aumentos dos níveis de insulina. Outro aspecto importante visualizado neste

estudo refere-se ao teor de água nos tecidos cardíaco, pulmonar e hepático, o qual foi semelhante entre os grupos. Este achado permite inferir que houve aumento na síntese de proteínas e, conseqüentemente, hipertrofia do músculo cardíaco⁽¹⁴³⁾.

5.7- Influência da obesidade sobre a função cardíaca

A avaliação da função cardíaca *in vitro* dos animais foi realizada a partir da técnica de músculo papilar isolado do VE. O presente estudo mostrou que a obesidade, após 15 semanas, não promoveu alterações na função do músculo papilar em situação basal, desde que os parâmetros funcionais foram similares entre os grupos. Estes achados corroboram com diversos estudos prévios observados na literatura^(23,27,28). Carroll et al.⁽²³⁾ por meio de análise ecocardiográfica e coração isolado, bem como Leopoldo⁽²⁸⁾ por meio da técnica de músculo papilar isolado do VE, não identificaram alterações funcionais em situação basal em ratos *Wistar* obesos alimentados com dieta hiperlipídica por 12 e 15 semanas, respectivamente. Em contraste, outros estudos verificaram que a obesidade induzida por dieta rica em gordura após, 12 e 16 semanas, respectivamente, acarretou prejuízo da função cardíaca em situação basal em cardiomiócitos e coração isolado^(22,24,30).

Embora não houve disfunção miocárdica em situação basal nos animais Ob, as manobras inotrópicas e lusitrópicas do PPP e elevação de cálcio extracelular demonstraram que a obesidade acarretou prejuízo funcional após 15 semanas. Estes achados foram visualizados na manobra do PPP, momentos 30, 60 e 90 segundos e após elevação da concentração de Ca^{+2} extracelular (2,0, 2,5 e 3,0 mM), sendo que ambas as manobras promoveram menor velocidade de relaxamento ($-dT/dt$) no grupo Ob. Estes dados corroboram com estudos que avaliaram a função cardíaca a partir de manobras inotrópicas e lusinotrópicas^(24,71). Relling et al.⁽²⁴⁾, utilizando ratos *Sprague-Dawley* induzidos à obesidade por 12 semanas, verificaram diminuição do inotropismo e lusitropismo cardíaco (prejuízo da

+dT/dt e -dT/dt) em cardiomiócitos isolados de ratos obesos. Lima-Leopoldo⁽⁷¹⁾, utilizando *Wistar* por 15 semanas induzidos à obesidade, verificaram a partir de análise do músculo papilar isolado do VE durante as manobras do PPP e elevação da concentração de Ca^{+2} extracelular, diminuição no lusitropismo (-dT/dt) e inotropismo (TD) cardíaco.

Uma possível explicação para a menor resposta da -dT/dt nos animais Ob pode estar relacionado com alterações na recaptura e/ou na extrusão de Ca^{+2} citosólico. O relaxamento do tecido cardíaco é mediado pela remoção simultânea de Ca^{2+} a partir de citosol para o compartimento extracelular, principalmente através do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ (NCX) e; a recaptura de cálcio para o retículo sarcoplasmático por meio da SERCA2a⁽⁶⁹⁾. A atividade da SERCA2a é maior no ventrículo de ratos do que em humanos, sendo a remoção de Ca^{+2} citosólico por meio do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ menor, o qual resulta em um balanço de 92% para a SERCA2a, 7% para o trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ e 1% para os sistemas lentos⁽⁴²⁾. Desta forma, os resultados do presente estudo sugerem que a disfunção miocárdica acarretada pela obesidade pode ser decorrente de alterações na cinética do Ca^{+2} intracelular envolvida no processo de relaxamento, tais como: a) menor fosforilação da bomba de sódio na membrana plasmática o que diminui o efluxo de cálcio via NCX; b) diminuição da fosforilação da PLB, o que diminui a atividade da bomba do SR, prejudicando a remoção de cálcio a partir do citosol e; c) maior sensibilidade ao Ca^{+2} à troponina C, o qual pode acarretar diminuição do cálcio recaptado e, conseqüentemente, menor velocidade no relaxamento cardíaco (-dT/dt). Contudo, no presente estudo, o prejuízo no relaxamento visualizado nos animais obesos sugere que houve diminuição da fosforilação da PLB, conforme observada pela menor -dT/dt nos animais Ob.

Estudos anteriores realizados em nosso laboratório demonstram que a atividade e/ou níveis de SERCA2a não foram comprometidos pela obesidade, no entanto, os níveis de fosfolambam (PLB) fosforilado na serina¹⁶ apresentaram menor resposta^(28,161). A fosforilação da PLB na serina¹⁶, via proteína quinase (PKA) dependente de AMPc, ocorre devido à

estimulação β -adrenérgica, a qual aumenta o relaxamento cardíaco. A interação das catecolaminas com o receptor adrenérgico estimula os receptores β , os quais ativam a proteína G e promovem à dissociação de uma de suas subunidades α que estimula a enzima adenilato ciclase (AC). Em seguida, esta enzima converte a adenosina trifosfato (ATP) em adenosina monofosfato cíclico (AMPc), que liga-se à PKA, acarretando fosforilação de diversas proteínas que promovem aumento da liberação e recaptura do Ca^{+2} citosólico. Dentro deste contexto, os resultados do presente estudo sugerem que o sistema β -adrenérgico poderia estar envolvido na disfunção miocárdica induzida pela obesidade.

O sistema β -adrenérgico apresenta efeitos lusitrópicos sobre o coração, sendo essencial para a recaptura de Ca^{+2} de forma mais rápida em face ao aumento na entrada do mesmo⁽¹⁶²⁾. Carroll et al.^(39,162) induzindo animais por 12 semanas ao protocolo de obesidade por dieta hiperlipídica, demonstraram que a função cardíaca estava reduzida frente a estimulação β -adrenérgica. No presente estudo, os resultados não identificaram prejuízos no sistema β -adrenérgico, desde que, houve aumento pontual na fase de relaxamento ($-\text{dT}/\text{dt}$) quando administrado 10^{-7}M de isoproterenol. Além disso, Carroll et al.⁽⁶⁸⁾, afirma que o prejuízo contrátil frente ao isoproterenol não estão associadas às alterações na densidade e afinidade do receptor β . A ausência de prejuízo na sensibilidade dos receptores β -adrenérgicos pode ser devido à hiperleptinemia visualizada nos animais Ob. Shek et al.⁽¹⁶³⁾ forneceram evidências que a infusão crônica de leptina exerce influência sobre o sistema cardiovascular por meio de estimulação do sistema nervoso simpático. Esse hormônio também atua na modulação da atividade da AC em células cardíacas, tornando-se um dos principais efetores dos receptores β -adrenérgico⁽¹⁶⁴⁾. Minhas et al.⁽¹⁶⁵⁾, relataram em seus estudos que a deficiência de leptina, mediada pelo rompimento do sinal de transdução do sistema β -adrenérgico, acarreta depressão da contratilidade dos miócitos em camundongos *ob/ob*, no entanto, este prejuízo foi corrigido com a reposição de leptina. A deficiência de leptina

ocasionou prejuízos funcionais frente às respostas inotrópicas cardíacas β -adrenérgicas por um mecanismo envolvendo a atividade da PKA e a recaptação de Ca^{2+} pelo RS. Raju et al.⁽¹⁶⁶⁾ utilizando miócitos isolados de camundongos *ob/ob* com 10 semanas de idade, mostraram que após infusão de leptina em animais com deficiência neste hormônio, ocorre restabelecimento do prejuízo funcional em resposta a estimulação ao isoproterenol e ao forskolin.

A atividade cardíaca também pode ser modulada pela disponibilidade de substratos energéticos que influenciam a força, intensidade autonômica e a composição lipídica da membrana celular⁽¹⁶⁷⁾. A literatura demonstra que os ácidos graxos são as principais fontes de energia para o coração⁽¹⁶⁷⁾. No entanto, os mecanismos que determinam os efeitos protetores dos PUFAs tem sido bem estabelecidos⁽¹⁶⁸⁾. Pinotti et al.⁽³²⁾ utilizando ratos *Wistar* induzidos por 8 semanas à dieta insaturada e saturada não encontraram prejuízos funcionais após estimulação β -adrenérgica, sugerindo que a ração insaturada atuou como fator cardioprotetor. Lima-Leopoldo⁽⁷¹⁾ utilizando ratos *Wistar* induzidos por 15 semanas à dieta hipercalórica e adição de sacarose na água não observaram alterações na função cardíaca entre os grupos após estimulação β -adrenérgica. Contudo, esses efeitos da adição de ácidos graxos mono e poliinsaturados sobre a resposta inotrópica β -adrenérgica, os quais influenciam a composição dos fosfolipídios da membrana plasmática, indicam que esta modulação pode influenciar na cinética do Ca^{+2} . A literatura tem relatado que a incorporação de PUFAs na membrana do miócito pode prevenir o aumento excessivo de Ca^{+2} citosólico e reduzir o prejuízo no sistema β -adrenérgico^(169,170).

Outros componentes da via β -adrenérgica têm sido sugeridos como responsáveis pelo prejuízo cardíaco em modelos de obesidade. Carroll et al.⁽¹⁶²⁾, induzindo coelhas brancas da raça Nova Zelândia hipertensas por 12 semanas à obesidade sugere a existência de um possível defeito de sinalização pós-receptor no complexo β -adrenérgico; esse prejuízo seria

decorrente da ativação da AC e do AMP cíclico. No entanto, Carroll et al.⁽⁶⁸⁾, induzindo coelhas brancas da raça Nova Zelândia por 12 semanas à obesidade demonstraram que a estimulação da AC pelo isoproterenol, tanto na condição basal quanto após estímulo máximo, não apresentou diferença entre os coelhos magros e obesos. Paulino et al.⁽¹⁷¹⁾ analisando outros componentes da via de sinalização adrenérgica como PKA, expressão e atividade da calmodulina quinase II (CaMKII) verificaram que ratos *Wistar* alimentados com uma dieta rica em gordura e sacarose por 25 semanas não apresentaram alterações na nessas vias. Carroll et al.⁽¹⁶²⁾, sugerem em modelos de hipertrofia cardíaca, principalmente por meio de sobrecarga pressórica, que um ou mais componentes da via pós β receptor-AMPC promovem redução da resposta contrátil.

6. CONCLUSÃO

A obesidade induzida por dieta hiperlipídica, durante 15 semanas, acarreta disfunção miocárdica, no entanto, sem prejuízo da sensibilidade dos receptores β -adrenérgicos. Esses achados sugerem que outros componentes da via β -adrenérgica podem estar envolvidos na disfunção miocárdica induzida pela obesidade.

7. REFERÊNCIAS

1. Mathew B, Patel SB , Resmas GP , Freeman RH , Lança RM , Villarreal D. Obesity-hypertension: emerging concepts in pathophysiology and treatment. *Am. J. Med. Sci.* 2007; 334(1):23-30.
2. Souza CG, Böhmer AE , AP Müller , Oses JP , Viola GG , Lesczinski DN, et al. Effects of a highly palatable diet on lipid and glucose parameters, nitric oxide, and ectonucleotidases activity. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism.* 2010;35(5): 591-97.
3. 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):2923-28.
4. O' Brien PE; Dixon JB. The extent of the problem of obesity. *Am. J. Surg.* 2002;184(6B):4S-8S.
5. 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):3081-87.
6. World Health Organization. Obesity and Overweight. Geneva: WHO. [access 2014 Ago 07]. Disponível em : <http://www.who.int/en/>
7. Brasil. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003. Antropometria e análise do estado nutricional de crianças e adolescentes no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2006.
8. Vigitel,2011 (Vigitel Brasil 2011: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico

http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/pdf/2012/Dez/18/vigitel_2011_final_18_12_12.pdf

9. Rolls BJ, Shide DJ. The influence of dietary fat on food intake and body weight. *Nutr. Ver.*1992;50(10):283-90,
10. Erlanson-Albertsson C. How palatable food disrupts appetiti regulation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.*2005;97(2):61-73.
11. Stein CJ, Colditz GA. The epidemic of obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*2004;89(6):2522-25.
12. Alpert MA, Lambert CR, Panayiotou H, Terry BE, Cohen MV, Massey CV, et. al. Relation of duration of morbid obesity to left ventricular mass, systolic function, and diastolic filling, and effect of weight loss. *Am. J. Cardiol.*1995;76(16):1194-97.
13. Scaglione R, Dichiara MA, Indovina A, Lipari R, Ganguzza 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. Abel ED, Litwin SE, Sweeney G. Cardiac remodeling in obesity. *Rev. Physiology* 2008; 88(2):389-419.
15. De Simone G, Devereux RB, Roman MJ, Alderman MH, Laragh JH. Relation of obesity and gender to left ventricular hypertrophy in normotensive and hypertensive adults. *Hypertension.*1994;23:600–6.
16. Fedak PW, Verma S, Weisel RD, Li RK. Cardiac remodeling and failure From molecules to man (Part II). *Cardiovasc Pathol.*2005;14(2):49-60.
17. Krauss RM , Eckel RH , Howard B , Appel LJ , Daniels SR , Deckelbaum RJ, et al. AHA Dietary Guidelines Revision 2000: A Statement for Healthcare Professionals From the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation.* 2000;102(18):2284-99.

18. Wensley I, Salaveria K, Bulmer AC, DG Donner, du Toit EF. Myocardial structure , function and ischaemic tolerance in a rodent model of obesity with insulin resistance. *Exp Physiol.*2013;98(11):1552-64.
19. Brauer PR e Cai DH. Expression of tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs) during early cardiac development. *Mech Dev.* 2002;113(2):175-9.
20. Messerli FH. Cardiovascular effects of obesity and hypertension. *Lancet.* 1982 May 22;1(8282):1165-8.
21. Dong F, Zhang X, Yang X, Esberg LB, Yang H, Zhang Z, et al. Impaired cardiac contractile function in ventricular myocytes from leptin-deficient ob/ob obese mice. *J. Endocrinol.*2006;188(1):25-36.
22. Ren J, Walsh MF , Jefferson L , Natavio M , LLg KJ , Sowers JR, et al. Basal and ethanol-induced cardiac contractile response in lean and obese zucker rat hearts. *J. Biomed. Sci.*2000;7(5):390-400.
23. Carroll JF, Zenebe WJ, Strange TB. Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension.*2006;48(1):65-72.
24. Relling DP, Esberg LB, Fang CX, Johnson WT, Murphy EJ, Carlson EC, et al. High-fat diet-induced juvenile obesity leads to cardiomyocyte dysfunction and upregulation of Foxo3a transcription factor independent of lipotoxicity and apoptosis. *J. Hypertens.* 2006;24(3):549-61.
25. Fitzgerald SM, Henegar JR, Brands MW, Henegar LK, Hall JE. Cardiovascular and renal responses to a high-fat diet in Osborne-Mendel rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*2001;281(2): R547-52.
26. Carroll JF, Dwyer TM, Grady AW, Reinhart GA, Montani JP, Cockrell K, et al. Hypertension, cardiac hypertrophy, and neurohumoral activity in a new animal model of obesity. *Am. J. Physiol.*1996;271(1):H373-H8.

27. 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):423-29.
28. Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Sugizaki MM, do Nascimento AF, de Campos DH, Luvizotto Rde A, et al. Involvement of L-type calcium channel and SERCA2a in myocardial dysfunction induced by obesity. *J. Cell. Physiol.* 2011;226(11):2934–42.
29. Pereira LO, De Francischi RP, Lancha Junior AH. Obesidade: Hábitos Nutricionais, Sedentarismo e Resistência à Insulina. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2003;47(2):111-27.
30. Du Toit EF, Nabben M, Lochner A. A potential role for angiotensin II in obesity induced cardiac hypertrophy and ischaemic/reperfusion injury. *Basic Res. Cardiol.* 2005;100(4):346-54.
31. 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.* 2008;16(11):2417-23.
32. Pinotti MF, Silva MD, Sugizaki MM, Novelli YS, Sant'ana LS, Aragon FF et al. Influences of rich in saturated and unsaturated fatty acids diets in rat myocardium. *Arq Bras Cardiol* 2007;88(3):346-53.
33. Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Silva DC, Nascimento AF, Campos DH, Luvizotto RAM, et al. Influência de prolongados períodos de obesidade sobre a expressão gênica miocárdica. *Arq. Bras. Cardiol.* 2013;100(3):229-37.
34. Calligaris SD, Lecanda M, Solis F, Ezquer M, Gutiérrez J, Brandan E, et al. Mice Long-Term High-Fat Diet Feeding Recapitulates Human Cardiovascular Alterations: An Animal Model to Study the Early Phases of Diabetic Cardiomyopathy. *PLoS One.* 2013;8(4):e60931.

35. Zarzoso M, Mironov S, Guerrero-Serna G, Willis BC, Pandit SV. Ventricular remodelling in rabbits with sustained high-fat diet. *Acta Physiol (Oxf)*.2013;211(1):36-47.
36. Ricci E, Smallwood S, Chouabe C, Mertani HC, Raccurt M, Morel G, et al. Electrophysiological characterization of left ventricular myocytes from obese Sprague-Dawley rat. *Obesity*. 2006;14(5):778-86.
37. 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.
38. Carroll JF, Summers RL, Dzielak DJ, Cockrell K, Montani J-P, Mizelle HL. Diastolic compliance is reduced in obese rabbits. *Hypertension*. 1999;33(3):811-5.
39. Carroll JF, Jones AE, Hester RL, Reinhart GA, Cockrell K, Mizelle HL. Reduced cardiac contractile responsiveness to isoproterenol in obese rabbits. *Hypertension*. 1997;30(6):1376-81.
40. 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):1652-59.
41. Opie LH. Myocardial contraction and relaxation. In: OPIE, L. H. *The Heart. Physiology from cell to circulation*. 3. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven.1998.p.209-231.
42. Bers, D. M. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*.2002;415(6868):198-205.
43. Lee S, Grafweg S, Schneider T, Jimenez M, Giacobino JP, Ghanem A, et al. Total beta-adrenoceptor deficiency results in cardiac hypotrophy and negative inotropy. *Physiol Res*.2010;59(5):679-89,
44. Saucerman JJ, Mcculloch AD. Cardiac beta-adrenergic signaling: from subcellular microdomains to heart failure. *Ann. N. Y. Acad. Sci*.2006;1080:348-61.

45. Calvert JW and Lefer DJ. Role of β -Adrenergic Receptors and Nitric Oxide Signaling in Exercise-Mediated Cardioprotection. *Physiology*.2013;28:216–24.
46. Lympopoulos A. Physiology and pharmacology of the cardiovascular adrenergic system. *Frontiers in Physiology*.2013;4(4):240.
47. Brodde OE Beta 1-and beta 2-adrenoceptors in the human heart: properties, function and alterations in chronic heart failure. *Pharmacol. Rev.*1991;43(2):203-42.
48. Zerkowski HR, Ikezono K, Rohm N, Reidemeister JC, Brodde OE. Human myocardial beta-adrenoceptors: demonstration of both beta 1-and beta 2-adrenoceptors mediating contractile responses to beta-agonists on the isolated right atrium. *Naunyn. Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol.*1986;332(2):142-47.
49. Gauthier C, Tavernier G, Charpentier F, Langin D, Le Marec H. Functional beta3-adrenoceptor in the human heart. *J. Clin. Invest.*1996;98(2):556-62.
50. Heubach JF, Rau T, Eschenhagen T, Ravens U, Kaumann AJ. Physiological antagonism between ventricular beta1-adrenoceptors and alpha1-adrenoceptors but no evidence for beta 2- and beta 3-adrenoceptor function in murine heart. *Br. J. Pharmacol.* 2002;136(2):217-29.
51. Zhao XL, Gutierrez LM, Chang CF, Hosey MM. The α 1-subunit of skeletal muscle L-type Ca channels is the key target for regulation by A-kinase and protein phosphatase-1C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*1994;198(1):166-73.
52. Gerhardstein BL, Puri TS, Chien AJ, Hosey MM. Identification of the sites phosphorylated by cyclic AMP-dependent protein kinase on the beta 2 subunit of L-type voltage-dependent calcium channels. *Biochemistry*.1999;38(32):10361-70.
53. Simmerman HK, Jones LR. Phospholamban: protein structure, mechanism of action and role in cardiac function. *Physiol. Rev.*1998;78(4):921-47.

54. Sulakhe PV, Vo XT. Regulation of phospholamban and troponin-I phosphorylation in the intact rat cardiomyocytes by adrenergic and cholinergic stimuli. *Mol. Cell. Biochem.*1995;149-150:103-26.
55. Marx SO, Reiken S, Hisamatsu Y, Jayaraman T, Burkhoff D, Rosemlit N, et al. PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor) defective regulation in failing hearts. *Cell.*2000;101(4):365-76.
56. Brum PC, Rolim NP, Bacurau AV, Medeiros A. Neurohumoral activation in heart failure: the role of adrenergic receptors. *An. Acad. Bras. Cienc.*2006;78(3):485-503.
57. Altan VM, Arioglu E, Guner S, Ozcelikay AT. The influence of diabetes on cardiac beta-adrenoceptor subtypes. *Heart. Fail. Rev.*2007;12(1):58-65.
58. Brixius K, Savvidou-Zaroti P, Mehlhorn U, Bloch W, Kranias EG, Schwinger RH. et al. Increased Ca^{2+} -sensitivity of myofibrillar tension in heart failure and its functional implication. *Basic Res. Cardiol.* 2002;97(Suppl.1): I111-17.
59. Van der Velden J, Papp Z, Zaremba R, Boontje NM, de Jong JW, Owen VJ, et al. Increased Ca^{2+} -sensitivity of the contractile apparatus in end-stage human heart failure results from altered phosphorylation of contractile proteins. *Cardiovasc. Res.*2003;57(1):37-47.
60. Maclennan DH, Kranias EG. Phospholamban: a crucial regulator of cardiac contractility. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*2003;4(7):566-77.
61. Evora PR, Nobre F. The role of G-proteins in the pathophysiology of the cardiovascular diseases. *Arq. Bras. Cardiol.*1999;72(2):209-29.
62. Adams JW, Brown JH. G-proteins in growth and apoptosis: lessons from the heart. *Oncogene.*2001;20(13):1626-34.

63. Dinçer UD, Bidasee KR, Güner S, Tay A, Özçelikay AT, Altan VM. The effect of diabetes on expression of beta-1, beta-2, and beta-3 adrenoreceptors in rat hearts. *Diabetes*.2001;50(2):455-61.
64. Moniotte S, Kobzik L, Feron O, Trochu JN, Gauthier C, Balligand JL. Upregulation of beta(3)-adrenoceptors and altered contractile response to inotropic amines in human failing myocardium. *Circulation*.2001;103(12):1649-55.
65. Salazar NC, Chen J, Rockman HA. Cardiac GPCRs: GPCR signaling in healthy and failing hearts. *Biochim. Biophys. Acta*.2007;1768(4):1006-18.
66. Lamba S, Abraham WT. Alterations in adrenergic receptor signaling in heart failure. *Heart. Fail. Rev*.2000;5(1):7-16.
67. Fischer V, Gabauer I, Tillinger A, Novakova M, Pechan I, Krizanova O, et al. Heart adrenoceptor gene expression and binding sites in the human failing heart. *Ann. N. Y. Acad. Sci*.2008;1148:400-8.
68. Carroll JF, Kyser CK, Martin MM. Beta-Adrenoceptor density and adenylyl cyclase activity in obese rabbit hearts. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord*.2002;26(5):627-32.
69. Bögeholz N, Muszynski A, Pott C. The physiology of cardiac calcium handling. *Wien Med Wochenschr*.2012;162(13-14):278–82.
70. Burneiko RC, Diniz YS, Galhardi CM, Rodrigues HG, Ebaid GM, Faine LA, et al. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food Chem Toxicol*. 2006;44(7):1167-72.
71. Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Sugizaki MM, Bruno A, Nascimento AF, Luvizotto RA, et al. Disfunção Miocárdica e Alterações no Trânsito de Cálcio Intracelular em Ratos Obesos. *Arq Bras Cardiol* 2011; 97(3):232-40.
72. National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington, DC: National Academy Press, 1996.

73. Nascimento AF, Sugizaki MM, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Luvizotto RA, Nogueira CR, et al. A hypercaloric pellet-diet cycle induces obesity and comorbidities in Wistar rats. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*2008;52(6):968-74.
74. Taylor BA, Phillips SJ. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. *Genomics.*1996;34(3):389-98.
75. Levin BE, Richard D, Michel C, Servatius R. Differential stress responsivity in diet-induced obese and resistant rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*2000;279(4):R1357-64.
76. Nascimento AF, Sugizaki MM, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Nogueira CR, Novelli EL, et al. Misclassification probability as obese or lean in hypercaloric and normocaloric diet. *Biol. Res.*2008;41(3):253-59.
77. 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.
78. Akiyama T, Tachibana I, Shirohara H, Watanabe N, Otsuki M. High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. *Diabetes. Res. Clin. Pract.*1996;31(1-3):27-35.
79. Dourmashkin JT, Chang GQ, Gayles EC, Hill JO, Fried SK, Julien C, et al. Different forms of obesity as a function of diet composition. *Int. J. Obes.*2005;29(11):1368-78.
80. Woods SC, Seeley RJ, Rushing PA, D'Alessio D, Tso P. et al. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *J. Nutr.*2003 ;133(4):1081-87.
81. 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.

82. De Assis AM, Rieger DK, Longoni A, Battu C, Raymundi S, da Rocha RF, et al. High fat and highly thermolyzed fat diets promote insulin resistance and increase DNA damage in rats. *Exp. Biol. Med.*2009;234(11):1296-304.
83. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.*1985;28(7):412-19.
84. Matsubara LS, et al. Myocardial remodeling in chronic pressure or volume overload in the rat heart. *Arq. Bras. Cardiol.*2006;86(2):126-30.
85. Matsubara LS, Narikawa S, Ferreira AL, Paiva SA, Zornoff LM, Matsubara BB. Alterations in myocardial collagen content affect rat papillary muscle function. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*2000;279(4):H1534-39.
86. Cicogna AC, Padovani CR, Okoshi K, Aragon FF, Okoshi MP. Myocardial function during chronic food restriction in isolated hypertrophied cardiac muscle. *Am. J. Med. Sci.*2000;320(4):244-48.
87. Krebs HA, Henseleit K. Studies on urea formation in the animal organism. *Hoppe-Seylers. Z. Physiol. Chem.*1932;210:33-66.
88. Yamato T, Yamasaki S, Misumi Y, Kino M, Obata T, Aomine M. Postrest contraction in the ventricular papillary muscle of spontaneously diabetic WBN/Kob rat. *Exp. Anim.* 2001;50(1):19-31.
89. Urthaler F, Walker AA, Reeves DN, Hefner LL. Maximal twitch tension in intact length-clamped ferret papillary muscles evoked by modified postextrasystolic potentiation. *Circ. Res.*1988;62(1):65-74.
90. Chan KM, Delfert D, Junger KD. A direct colorimetric assay for Ca^{2+} -stimulated ATPase activity. *Anal Biochem* 1986;157(2)375-80.

91. Fioresi M, Furieri LB, Simões MR, Ribeiro RF Jr, Meira EF, Fernandes AA, et al. Acute exposure to lead increases myocardial contractility independent of hypertension development. *Brazilian journal of medical and biological research*.2013;46(2):178-85.
92. David JS, Vivien B, Lecarpentier Y, Coriat P, Riou B. Interaction of protamine with alpha-and beta-adrenoceptor stimulations in rat myocardium. *Anesthesiology*.2002;96(2):521.
93. Defronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*.1991;14(3):173-94.
94. Norman GR, Streiner Di. *Biostatistics: The bare essentials*. St. Louis (Mosby) 1994.
95. Bayley BJR. Tables of the Bonferroni "t" statistic. *J. Am. Stat. Assoc*.1977;72:469-78.
96. Johnson RA. Wichern, D. W. *Applied multivariate statistical analysis*. 4. ed. New Jersey: Prelice-Hall, 1998:816.
97. Brandão BB, Souza LM, Trombetta BN, Pastre CM, Papoti M, Seraphim. Uso do teste de duplos esforços para avaliação da capacidade aeróbia de ratos obesos induzidos por dieta. *Rev Bras Med Esporte*.2013;19(3):214-18.
98. Yang SJ, Choi JM, Kim L, Park SE, Rhee EJ, Lee WY, et al. Nicotinamide improves glucose metabolism and affects the hepatic NAD sirtuin pathway in a rodent model of obesity and type 2 diabetes. *Journal of Nutritional Biochemistry*.2014;25(1):66–72.
99. White PA, Cercato LM, Araújo JM, Souza LA, Soares AF, Barbosa AP, et. al. Model of high-fat diet-induced obesity associated to insulin resistance and glucose intolerance. *Arq Bras Endocrinol Metab*.2013;57(5):339-45.
100. Duarte AC, Fonseca DF, Manzoni MSJ, Soave CF, Sene-Fiorese M, Dâmaso AR, et. al. High-fat diet and secretory capacity of insulin in rats. *Re. Nutr. Campinas*.2006;19(3): 341-48.

101. Zambon L, Duarte FO, Freitas LF, Scarmagnani FR, Damaso AR, Oliveira Duarte AC et al. Efeitos de dois tipos de treinamento de natação sobre a adiposidade e o perfil lipídico de ratos obesos exógenos. *Rev Nutr.*2009;22(5):707-15.
102. Gollisch KS, Brandauer J, Jessen N, Toyoda T, Nayer A, Hirshman MF, et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;297:495-504.
103. Ghibaudi 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.
104. Nascimento TB, Baptista RF, Pereira PC, Campos DH, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, et al. Alterações Vasculares em Ratos Obesos por Dieta Rica em Gordura: Papel da Via L-arginina/NO Endotelial. *Arq. Bras. Cardiol.*2011;97(1):40-5.
105. Tentolouris N, Pavlatos S, Kokkinos A, Perrea D, Pagoni S, Katsilambros N. Diet-induced thermogenesis and substrate oxidation are not different between lean and obese women after two different isocaloric meals, one rich in protein and one rich in fat. *Metabolism.*2008;57(3):313-20.
106. Schrauwen P, Westerterp KR. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. *Br J Nutr.*2000;84(4):417-27.
107. Astrup A, Buemann B, Western P, Toubro S, Raben A, Christensen NJ. Obesity as an adaptation to a high-fat diet: evidence from a cross-sectional study. *Am J Clin Nutr.*1994;59(2):350-5.
108. Mantzoros CS. The Role of Leptin in Human Obesity and Disease: A Review of Current Evidence. *Ann Intern Med.*1999;130:671-80.

109. Ogier V, Ziegler O, Méjean L, Nicolas JP, Stricker-Krongrad A. Obesity is associated with decreasing levels of the circulating soluble leptin receptor in humans. *International Journal of Obesity*.2002;26(4):496–503.
110. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal model. *Nutri. Res. Rev.* 2010;23(2):270-99.
111. Jequier E. Pathways to obesity. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*2002;26(2):S12-7.
112. Lancha, O.P.L. Exame geral de qualificação, doutorado, Curso de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual da Universidade de São Paulo, USP; 2009.
113. Maegawa H, Kobayashi M, Ishibashi O, Takata Y, Shigeta Y. Effect of diet change on insulin action: difference between muscles and adipocytes. *Am. J. Physiol.*1986;251(5Pt1):E616-23.
114. Pedersen O, Kahn CR, Flier JS, Kahn BB. High fat feeding causes insulin resistance and a marked decrease in the expression of glucose transporters (Glut-4) in fat cells of rats. *Endocrinology*.1991;129(2):771-7.
115. Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Löllmann B, Lowell BB, Flier JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med*.1995;1(12):1311–14.
116. Lin S, Thomas TC, Storlien LH, Huang XF. Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. *J Obes Relat Metab Disord*.2000;24(5):639-46.
117. Perego L, Pizzocri P, Corradi D, Maisano F, Paganelli M, Fiorina P, et al. Circulating leptin correlates with left ventricular mass in morbid (grade III) obesity before and after weight loss induced by bariatric surgery: a potential role for leptin in mediating human left ventricular hypertrophy. *J Clin Endocrinol Metab*.2005;90(7):4087–93.

118. Becton LJ, Shatat IF, Flynn JT. Hypertension and Obesity: Epidemiology, Mechanisms and Clinical Approach. *Indian J Pediatr.*2012;79(8):1056–61.
119. Silva DC. Influência da atividade das metaloproteinases 2 e 9 na diminuição do colágeno tipo I miocárdico em ratos obesos. [Dissertação]. Botucatu. Faculdade de Medicina Universidade Estadual Paulista, UNESP; 2013.
120. Shatat IF, Freeman KD, Vuguin PM, Dimartino-Nardi JR, Flynn JT. Relationship between adiponectin and ambulatory blood pressure in obese adolescents. *Ped Res.* 2009;65(6):691–5.
121. Kang YS. Obesity associated hypertension: new insights into mechanism.2013;11(2):46-52.
122. Narkiewicz K, Somers VK, Mos L, Kato M, Accurso V, Palatini P. An independent relationship between plasma leptin and heart rate in untreated patients with essential hypertension. *J Hypertens.*1999;17(2):245–49.
123. Kimura K, Tsuda K, Baba A, Kawabe T, Boh-oka S, Ibata M, et al. Involvement of nitric oxide in endothelium-dependent arterial relaxation by leptin. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 273: 745–49.
124. Martins MA, Catta-Preta M, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguila MB, Brunini TC, Mendes-Ribeiro AC. High fat diets modulate nitric oxide biosynthesis and antioxidant defence in red blood cells from C57BL/6 mice. *Archives of Biochemistry and Biophysics.*2010;499(1-2):56–61.
125. Djoussé L, Pankow JS, Eckfeldt JH, Folsom AR, Hopkins PN, Province MA, et al. Relation between dietary linolenic acid and coronary artery disease in the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Am J Clin Nutr.*2001;74(5):612-9.

126. Dewailly E E, Blanchet C, Gingras S, Lemieux S, Sauvé L, Bergeron J, et al. Relations between n-3 fatty acid status and cardiovascular disease risk factors among Quebecers. *Am J Clin Nutr.*2001;74(5):603-11.
127. Kang JX and Leaf A. Prevention of fatal cardiac arrhythmias by polyunsaturated fatty acids¹⁻³. *Am J Clin Nutr* 2000;71(suppl):202S–7S.
128. Welch AA, Shakya-Shrestha S, Lentjes MA, Wareham NJ, Khaw KT. Dietary intake and status of n-3 polyunsaturated fatty acids in a population of fish-eating and non-fish-eating meat-eaters, vegetarians, and vegans and the product-precursor ratio [corrected] of α -linolenic acid to long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids: results from the EPIC-Norfolk cohort. *Am J Clin Nutr* 2010;92(5):1040–51.
129. Lee JH, O'Keefe JH, Lavie CJ, Marchioli R, Harris WS. Omega-3 fatty acids for cardioprotection. *Mayo Clin Proc* 2008;83(3):324–32.
130. Hooper L, Thompson RL, Harrison RA, Summerbell CD, Ness AR, Moore HJ, et al. Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review. *BMJ* 2006;332(7544):752–60.
131. Von Schacky C, Harris WS. Cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. *Cardiovasc Res* 2007;73(2):310–5.
132. Harris WS. Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: a critical review. *J Lipid Res* 1989;30(6):785–807.
133. Herrmann W, Biermann J, Kostner GM. Comparison of effects of n-3 to n-6 fatty acids on serum level of lipoprotein(a) in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1995;76(7)459–62.
134. Bonna KH, Bjerve KS e Nordoy A. Habitual fish consumption, plasma phospholipid fatty acids, and serum lipids: the Tromso Study. *Am J Clin Nutr* 1992;55(6):1126-34.

135. Zammit VA, Waterman IJ, Topping D, McKay G. Insulin stimulation of hepatic triacylglycerol secretion and the etiology of insulin resistance. *J Nutr.*2001;131(8):2074-7.
136. Ooi TC e Ooi DS. The atherogenic significance of an elevated plasma triglyceride level. *Crit Rev Clin Lab Sci.*1998;35(6):489-516.
137. Yin FC, Spurgeon HA, Rakusan K, Weisfeldt ML, Lakatta EG. Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: application in the aging rat. *Am J Physiol.* 1982;243(6):H941-7.
138. Okoshi K, Ribeiro HB, Okoshi MP, Matsubara BB, Gonçalves G, Barros R, et al. Improved systolic ventricular function with normal myocardial mechanics in compensated cardiac hypertrophy. *Jpn Heart J.*2004;45(4):647-56.
139. Kempf T, Wollert KC. Nitric oxide and the enigma of cardiac hypertrophy. *Bioessays.* 2004;26(6):608-15.
140. Xu FP, Chen MS, Wang YZ, Yi Q, Lin SB, Chen AF, et al. Leptin induces hypertrophy via endothelin-1-reactive oxygen species pathway in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circulation* 2004;110(10):1269-75.
141. Zeidan A, Javadov S, Chakrabarti S, Karmazyn M. Leptin-induced cardiomyocyte hypertrophy involves selective caveolae and RhoA/ROCK-dependent p38 MAPK translocation to nuclei. *Cardiovascular Research.*2008;77(1):64-72
142. 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.
143. Garcia JA e Incerpi EK. Fatores e Mecanismos Envolvidos na Hipertrofia Ventricular Esquerda e o Papel Anti-Hipertrófico do Óxido Nítrico. *Arq Bras Cardiol* 2008;90(6):443-50.

144. Ozaki M, Kawashima S, Yamashita T, Hirase T, Ohashi Y, Inoue N, et al. Overexpression of endothelial nitric oxide synthase attenuates cardiac hypertrophy induced by chronic isoproterenol infusion. *Circ J*.2002;66(9):851-6.
145. Alpert MA. Obesity cardiomyopathy: pathophysiology and evolution of the clinical syndrome. *Am J Med Sci*.2001;321(4):225-36.
146. Leopoldo AS. Avaliação da função miocárdica de ratos obesos. [Dissertação]. Botucatu. Faculdade de Medicina Universidade Estadual Paulista, UNESP;2007.
147. Leifheit-Nestler M, Wagner NM, Gogiraju R, Didié M, Konstantinides S, Hasenfuss G et al. Importance of leptin signaling and signal transducer and activator of transcription-3 activation in mediating the cardiac hypertrophy associated with obesity. *Journal of Translational Medicine*.2013;11:170.
148. Yang R, Barouch LA. Leptin Signaling and Obesity: Cardiovascular Consequences. *Circulation Research*,2007;101(6)545-59.
149. Chen J, Mo H, Guo R, You Q, Huang R, Wu K. Inhibition of the leptin-induced activation of the p38 MAPK pathway contributes to the protective effects of naringin against high glucose-induced injury in H9c2 cardiac cells. *Int J Mol Med*.2014;33(3):605-12.
150. Barba G, Russo O, Siani A, Iacone R, Farinaro E, Gerardi MC et al. Plasma leptin and blood pressure in men: graded association independent of body mass and fat pattern. *Obesity Res*.2003;11(1):160–6.
151. Haghikia A, Ricke-Hoch M, Stapel B, Gorst I, Hilfiker-Kleiner D. STAT3, a key regulator of cell-to-cell communication in the heart. *Cardiovascular Research*.2014;102(2), 281–89.
152. Paolisso G, et al. Plasma leptin level is associated with myocardial wall thickness in hypertensive insulin-resistant men. *Hypertension*.1999;34(5):1047–52.

153. Perego L, Tagliamonte MR, Galderisi M, Zito GA, Petrocelli A, Carella C, et al. Circulating leptin correlates with left ventricular mass in morbid (grade III) obesity before and after weight loss induced by bariatric surgery: a potential role for leptin in mediating human left ventricular hypertrophy. *J Clin Endocrinol Metab.*2005;90(7):4087–93.
154. Bates SH, Myers MG. The role of leptin-STAT3 signaling in neuroendocrine function: an integrative perspective. *J Mol Med.*2004;82(1):12–20.
155. Brownsey RW, Boone AN, Allard MF. Actions of insulin on the mammalian heart: metabolism, pathology and biochemical mechanisms. *Cardiovasc Res.*1997;34(1):3-24. 158.
156. McNulty PH, Jacob R, Deckelbaum LI, Young LH. Effect of hyperinsulinemia on myocardial aminoacid uptake in patients with coronary artery disease. *Metabolism.*2000; 49(10):1365-9.
157. Young LH, Dahl DM, Rauner D, Barrett EJ. Physiological hyperinsulinemia inhibits myocardial protein degradation in vivo in the canine heart. *Circ Res.*1992;71(2):393-400.
158. Carvalheira JBC, Zecchin HG, Saad MJA. Vias de sinalização da insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab.*2002;46(4):419-25.
159. Proud CG. Ras, PI3-kinase and mTOR signaling in cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res.* 2004;63(3):403-13.
160. Kemi OJ, Ceci M, Wisloff U, Grimaldi S, Gallo P, Smith GL, et al. Activation or inactivation of cardiac Akt/mTOR signaling diverges physiological from pathological hypertrophy. *J Cell Physiol.*2008; 214(2):316-21.
161. Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, da Silva DC, do Nascimento AF, de Campos DH, Luvizotto RA, et al. Long-Term Obesity Promotes Alterations in Diastolic

- Function Induced by Reduction of Phospholamban Phosphorylation Serine16 without Affecting Calcium Handling. 2014 Jun 26. pii: jap.00088.2014. [Epub ahead of print]
162. Carroll JF. Post β -receptor defect in isolated hearts of obese rabbits. *Int J Obes Relat Metab Disord.*1999;23(8):863–6.
 163. Shek EW, Brands MW, Hall JE. Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertension* 1998;31(1Pt2):409–14.
 164. Illiano G, Naviglio S, Pagano M, Spina A, Chiosi E, Barbieri M, et al. Leptin affects adenylate cyclase activity in H9c2 cardiac cell line: effects of short- and long-term exposure. *Am J Hypertens.*2002;15(7Pt1):638-43.
 165. Minhas KM, Khan SA, Raju SV, Phan AC, Gonzalez DR, Skaf MW, et. al. Leptin repletion restore depressed β -adrenergic contractility in *ob/ob* mice independently of cardiac hypertrophy. *J Physiol.*2005,565(Pt 2):463–74.
 166. Raju SV, Zheng M, Schuleri KH, Phan AC, Bedja D, Saraiva RM, et al. Activation of the cardiac ciliary neurotrophic factor receptor reverses left ventricular hypertrophy in leptin-deficient and leptin-resistant obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:4222-27.
 167. London B, Albert C, Anderson ME, Giles WR, Van Wagoner DR, Balk E, Billman GE, et al. Omega-3 Fatty acids and cardiac arrhythmias: prior studies and recommendations for future research. a report from the National Heart, Lung, and Blood Institute and Office of Dietary Supplements Omega-3 Fatty Acids and Their Role in Cardiac Arrhythmogenesis Workshop. *Circulation.*2007;116(10):30-35
 168. Ponsard B, Durot I, Fournier A, Oudot F, Athias P, Grynberg A. Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids Influence Both β -and α -Adrenergic Function of Rat Cardiomyocytes.*JAOCS.*1998;75(2):247-54.

169. Skúladóttir GV and Jóhannsson M. Inotropic response of rat heart papillary muscle to α_1 -and β -adrenoceptor stimulation in relation to dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) and age. *Pharmacol Toxicol.* 1997;80(2):85-90.
170. Hallaq H, Sellmayer A, Smith TW, Leaf A. Protective effect of eicosapentaenoic acid on ouabain toxicity in neonatal rat cardiac myocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1990;87(20), 7834-8.
171. Paulino EC, Ferreira JC, Bechara LR, Tsutsui JM, Mathias W Jr, Lima FB, et al. Exercise training and caloric restriction prevent reduction in cardiac ca^{2+} -handling protein profile in obese rats. *Hypertension.* 2010;56(4):629-635.