



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Rafael Moura de Almeida

**Efeitos do óleo de capivara no remodelamento cardíaco de camundongos
C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica**

Rio de Janeiro

2019

Rafael Moura de Almeida

Efeitos do óleo de capivara no remodelamento cardíaco de camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor ao Programa de Pós- Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Jorge José de Carvalho

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBA

A447 Almeida, Rafael Moura de.
Efeitos do óleo de capivara no remodelamento cardíaco de camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica / Rafael Moura de Almeida – 2019.
110 f.

Orientador: Jorge José de Carvalho.
Tese (doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia e Clínica e Experimental.

1. Obesidade - Fisiopatologia - Teses. 2. Síndrome metabólica – Fatores de risco - Teses. 3. Coração - Fisiopatologia – Teses. 4. Ácidos graxos insaturados – Uso terapêutico - Teses. 5. Capivara – Teses. 6. Lipídios – Metabolismo – Teses. I. Carvalho, Jorge José de. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 613.288:616-008

Bibliotecária: Kalina Silva CRB7/4377

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

.....
Data

Rafael Moura de Almeida

**Efeitos do óleo de capivara no remodelamento cardíaco de camundongos C57BL/6
alimentados com dieta hiperlipídica**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 15 de julho de 2019.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Jorge José de Carvalho (Orientador)

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof.^a Dra. Alessandra Alves Thole

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof.^a Dra. Suzana Côrte-Real Faria

Fundação Oswaldo Cruz

Prof. Dr. Marciano Viana Paes

Fundação Oswaldo Cruz

Prof. Dr. Rodrigo Neto Ferreira

Fundação Educacional Dom André Arcoverde

Rio de Janeiro

2019

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Maria de Fátima de Almeida e José Rogério Moura de Almeida Filho, por todos ensinamentos e valores transmitidos ao longo da vida.

Aos meus irmãos, Maria Elisa Moura de Almeida e José Rogério Moura de Almeida Neto, por me apoiarem nos momentos difíceis.

A minha esposa, Renata Valente Lisboa, pelo amor e companheirismo.

A minha filha, Fernanda S. Moura, por me motivar a cada dia ser uma pessoa melhor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre estar junto de mim.

Aos meus pais e irmãos, pelo amor, carinho, companheirismo e amizade, todos fundamentais para meu crescimento.

À Renata, minha esposa, amiga, companheira e parceira, por toda a ajuda, paciência e companheirismo ao longo desse período.

À Fernanda, minha filha, simplesmente por existir na minha vida.

Aos meus familiares pelo apoio na formação humana, em especial a minha avó Cidinha e tia Tê.

Aos meus amigos pela amizade e companheirismo, em especial ao meu amigo Rodrigo.

A Jorge José de Carvalho – meu orientador e amigo – pela confiança, paciência e ensinamentos ao longo desses anos de convívio que contribuíram para minha formação profissional.

A todos os amigos do LUBT, em especial a Bianca e Kíssila, pelos ensinamentos, companheirismo e paciência ao longo desses anos de convívio.

Aos meus alunos de iniciação científica Wagner, Vitor, Guilherme, Carolina, Gabriel e Fabiana, sem os quais esse trabalho não seria possível. Espero ter contribuído para a formação profissional de vocês na mesma proporção que vocês contribuíram para a minha.

Ao CESVA, FAPERJ, CNPq e a UERJ, sem o apoio e a oportunidade o doutorado não seria possível.

A todos que me ajudaram de alguma forma ao longo desses anos de doutorado e a todos os professores que despertaram em mim o fascínio pela pesquisa científica e a admiração pela docência.

RESUMO

ALMEIDA, Rafael Moura. **Efeitos do óleo de capivara no remodelamento cardíaco de camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica**. 2019. 110f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

O sobrepeso e a obesidade têm prevalência crescente, causando impacto na saúde pública. Estatísticas mostram que mais de 2/3 da população norte americana é acometida. No Brasil, a frequência de excesso de peso foi de 53,8%, sendo maior entre homens (57,7%) do que entre mulheres (50,5%). O sobrepeso e a obesidade são considerados fatores de risco maiores para doenças cardiovasculares, doença arterial coronariana, acidente vascular cerebral, fibrilação atrial, tromboembolismo venoso e insuficiência cardíaca. A prevalência de obesidade tem aumentado nos últimos 30 anos levando a um aumento das doenças cardiovasculares. A obesidade, em especial a de localização abdominal, está associada à secreção de adipocinas, que levam à resistência insulínica, hiperinsulinemia, hiperglicemia, alteração do perfil lipídico, e consequentemente disfunção endotelial, inflamação vascular, hipertensão arterial sistêmica, que levam ao desenvolvimento de aterosclerose, principal responsável pela mortalidade cardiovascular. Embora grande parte dos estudos indiquem a prevenção como a melhor estratégia para o controle da doença cardiovascular, quando ela se instala, muitas vezes é necessário a utilização de meios farmacológicos para controlar e/ou retardar a sua evolução, requerendo a busca constante por novas alternativas terapêuticas. Os ácidos graxos poliinsaturados já demonstraram efeitos cardiovasculares benéficos, o que têm requerido a busca por novas fontes desses ácidos. Tem sido evidenciado que o óleo da capivara, animal pertencente à fauna brasileira, é rico em ácidos graxos poli-insaturados, o que o torna um alvo interessante para estudo terapêutico. O presente trabalho teve como objetivo investigar os possíveis efeitos da administração do óleo de capivara em camundongos C57Bl/6 alimentados com dietas controle e hiperlipídica. Foram analisados parâmetros inerentes à massa corporal, metabolismo dos carboidratos, metabolismo lipídico, remodelamento dos adipócitos e remodelamento cardíaco. O óleo de capivara apresentou redução da pressão arterial sistólica, redução do colesterol e triglicérides, melhora na morfometria de adipócitos, além da melhora do remodelamento cardíaco em relação a vascularização e redução da hipertrofia ventricular esquerda. Na análise ultra estrutural apresentou redução da fibrose, redução das gotículas lipídicas e maior preservação das mitocôndrias. Nossos achados indicam que o óleo de capivara possui efeitos positivos, sendo necessários mais estudos para validar o uso do óleo de capivara na prevenção ou tratamento das doenças cardiovasculares.

Palavras-chave: Obesidade. Síndrome metabólica. Remodelamento cardíaco. Óleo de capivara.

ABSTRACT

ALMEIDA, Rafael Moura. **Effects of capybara oil on cardiac remodeling of C57BL / 6 mice fed a hyperlipidic diet.** 2019. 110f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Overweight and obesity have a growing prevalence, causing an impact on public health. Statistics show that more than 2/3 of the North American population is affected. In Brazil, the prevalence of overweight was 53.8%, higher among men (57.7%) than among women (50.5%). Overweight and obesity are considered major risk factors for cardiovascular diseases, coronary artery disease, stroke, atrial fibrillation, venous thromboembolism, and heart failure. The prevalence of obesity has increased in the last 30 years leading to an increase in cardiovascular diseases. Obesity, especially abdominal adiposity, is associated with the secretion of adipokines, leading to insulin resistance, hyperinsulinemia, hyperglycemia, altered lipid profile, and consequently endothelial dysfunction, vascular inflammation, and systemic arterial hypertension, leading to the development of atherosclerosis, the main responsible for cardiovascular mortality. Although a large part of the studies indicate that prevention is the best strategy for the control of cardiovascular disease, when it is installed, it is often necessary to use pharmacological means to control and / or delay its evolution, requiring a constant search for new therapeutic alternatives. The polyunsaturated fatty acids have already demonstrated beneficial cardiovascular effects, which have required the search for new sources of these acids. It has been evidenced that the capybara oil, an animal belonging to the Brazilian fauna, is rich in polyunsaturated fatty acids, which makes it an interesting target for therapeutic use. The present study had the objective to investigate the possible effects of the administration of capybara oil on C57Bl / 6 mice fed control and hyperlipidic diets. We analyzed parameters inherent to body mass, carbohydrate metabolism, lipid metabolism, adipocyte remodeling and cardiac remodeling. Capybara oil had a reduction in systolic blood pressure, cholesterol and triglycerides, improvement in adipocyte morphometry, and improvement of cardiac remodeling in relation to vascularization and reduction of left ventricular hypertrophy. In the ultrastructural analysis, fibrosis reduction, reduction of lipid droplets and greater preservation of mitochondria were observed. Our findings indicate that capybara oil has positive effects, and further studies are needed to validate the use of capybara oil in the prevention or treatment of cardiovascular diseases.

Keywords: Obesity. Metabolic syndrome. Cardiac remodeling. Capybara oil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Fatores associados ao aumento da obesidade visceral.....	19
Figura 2 –	Efeitos cardiovasculares das principais adipocinas.....	20
Figura 3 –	Fisiopatologia da síndrome metabólica.....	27
Figura 4 –	7 passos para uma vida saudável.....	32
Figura 5 –	Visão geral dos principais eventos envolvidos no remodelamento cardíaco.....	36
Figura 6 –	Efeitos da obesidade na disfunção cardíaca e insuficiência cardíaca.....	39
Figura 7 –	Classificação dos ácidos graxos de cadeia longa.....	40
Figura 8 –	Efeitos dos ácidos graxos poli-insaturados.....	42
Figura 9 –	Curva de Jackson para camundongos da linhagem C57Bl/6.....	68
Figura 10 –	Massa corporal A pré tratamento (12 semanas); B final tratamento (18 semanas).....	77
Figura 11 –	Expressão de UCP-2 no coração – bandas de western blotting.....	78

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Curva de Jackson para camundongos da linhagem C57Bl/6 (peso em gramas x idade em semanas).....	51
Gráfico 2 –	Massa corporal A pré tratamento (12 semanas); B final tratamento (18 semanas).....	58
Gráfico 3 –	Teste oral de tolerância a glicose.....	59
Gráfico 4 –	Pressão arterial sistólica nos períodos pré (A) e pós tratamento (B).....	60
Gráfico 5 –	Dosagem de colesterol em mg/dL.....	61
Gráfico 6 –	Dosagem de triglicérides mg/dL.....	62
Gráfico 7 –	Massa cardíaca/tíbia (g/cm).....	63
Gráfico 8 –	Gordura retroperitoneal/tíbia (g/cm).....	64
Gráfico 9 –	Gordura Epididimária/tíbia (g/cm).....	65
Gráfico 10 –	Gordura Inguinal/tíbia (g/cm).....	66
Gráfico 11 –	Diâmetro dos adipócitos (μm).....	67
Gráfico 12 –	QA cardiomiócitos ($1/\text{mm}^2$).....	69
Gráfico 13 –	QA vaso ($1/\text{mm}^2$).....	70
Gráfico 14 –	Vv cardiomiócito (%).....	71
Gráfico 15 –	Vv vaso (%).....	72
Gráfico 16 –	Vv tecido conjuntivo (%).....	73
Gráfico 17 –	Área cardiomiócitos (μm^2).....	74
Gráfico 18 –	Vv vaso/cardiomiócito (%).....	75
Gráfico 19 –	Lv vasos - densidade por comprimento (mm/mm^3).....	76
Gráfico 20 –	Quantificação da expressão de UCP-2.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação internacional da obesidade segundo o índice de massa corporal (IMC).....	15
Tabela 2 – Comparativo de 3 definições de síndrome metabólica.....	28
Tabela 3 – Critério para diagnóstico de síndrome metabólica mais utilizado no Brasil.....	29
Tabela 4 – Alguns benefícios dos ácidos graxos poli-insaturados.....	41
Tabela 5 – Composição do óleo de capivara, comparado com óleo de sardinha e de cavala.....	45
Tabela 6 – Composição das rações.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

11 β -HSD	11 β -hidroxiesteroide desidrogenase
A	Área seccional média
ADP	Difosfato de adenosina
A-FABP	Proteína de ligação a ácidos graxos de adipócitos
AG	Ácidos graxos
AHA	Associação Americana de Cardiologia
AIN - 93	Instituto Americano de Nutrição - 93
AIN G	Instituto Americano de Nutrição, dieta padrão gestação
AIN M	Instituto Americano de Nutrição, dieta padrão manutenção
ALA	Ácido α - linoleico
APJ	Receptor da apelina
AT	Área teste
ATP	Trifosfato de adenosina
AUC	Área sob a curva
Bpm	Batimentos por minuto
C	Controle
CA	Circunferência abdominal
CESVA	Centro de Ensino Superior de Valença
CEUA	Comissão de Ética para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais
CMI	Cardiomiócitos
CT	Colesterol total
DCV	Doença cardiovascular
DHA	Ácido docosaexanóico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPA	Ácido eicosapentaenoico
FAA	Fundação Dom André Arcoverde
GPJ	Glicose plasmática de jejum
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HF	High fat / hiperlipídica
HMGCoA	3-hidróxi-3-metilglutaril-coenzima-A redutase
HPA	Eixo hipotalâmico-pituitário
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IDF	International Diabetes Federation
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corporal
LA	Ácido linoleico
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
Lv	Densidade por comprimento
MC	Massa corporal
MCP-1	Proteína de quimioatração de monócitos
MIT	Mitocôndria
NCEP	National Cholesterol Education Program
NHANES	National Health and Human Nutrition Examination Surveys
OC	Óleo de capivara
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAI-1	Inibidor do ativador de plasminogênio
PAS	Pressão arterial sistólica
PCSK9	Proteína convertase subtilisin /quexina tipo 9
PP	Pontos parciais
PPAR	Receptor ativador de proliferação peroxissomal
PT	Pontos totais
QA	Quantidade de um objeto em uma área teste
RI	Resistência à insulina
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SGLT2	Inibidores do Co transportador sódio-glicose 2
SNS	Sistema nervoso simpático
TC	Tecido conjuntivo
TG	Triglicérides
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
TOTG	Teste oral de tolerância à glicose
UCP	Proteína desacopladora
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
Vv	Densidade de volume

LISTA DE SÍMBOLOS

\leq	Menor ou igual
\geq	Maior ou igual
%	Porcentagem
β	Beta
mmHg	Milímetros de mercúrio
α	Alfa
μ	Micro
\neq	Diferente

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	15
1	OBJETIVOS	47
1.1	Geral	47
1.2	Específicos	47
2	METODOLOGIA	48
2.1	Obtenção do Óleo de Capivara	48
2.2.	Grupos experimentais e dieta	48
2.3	Protocolo Experimental	50
2.4	Biometria	51
2.5	Massa corporal	51
2.6	Pressão arterial	52
2.7	Teste de tolerância oral à glicose (TOTG)	52
2.8	Eutanásia	52
2.9	Análise do sangue	53
2.10	Microscopia de Luz	53
2.11	Microscopia Eletrônica	54
2.12	Morfometria dos adipócitos	54
2.13	Estereologia do miocárdio	55
2.14	Western blotting	55
2.15	Análise Estatística	56
3	RESULTADOS	57
3.1	Massa corporal	57
3.2	Teste Oral de Tolerância a Glicose	58
3.3	Pressão Arterial Sistólica (PAS)	59
3.4	Perfil lipídico	60
3.5	Massa Cardíaca	62
3.6	Gordura Retroperitoneal	63
3.7	Gordura Epididimária	64
3.8	Gordura Inguinal	65
3.9	Gordura Subescapular	66

3.10	Morfometria Dos Adipócitos	66
3.11	Microscopia de Luz	68
3.12	Estereologia do Miocárdio	68
3.12.1	<u>QA cardiomiócitos</u>	68
3.12.2	<u>QA vaso</u>	69
3.12.3	<u>Vv cardiomiócito</u>	70
3.12.4	<u>Vv vaso</u>	71
3.12.5	<u>Vv tecido conjuntivo</u>	72
3.12.6	<u>Área cardiomiócito</u>	73
3.12.7	<u>Vv vaso/cardiomiócito</u>	74
3.12.8	<u>Lv vaso</u>	75
3.12.9	<u>Microscopia Eletrônica de Transmissão do Miocárdio</u>	76
3.12.10	<u>Western Blotting</u>	78
	DISCUSSÃO	79
	CONCLUSÃO	83
	REFERÊNCIAS	85
	ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética UERJ.....	108
	ANEXO B – Aprovação do Comitê de Ética CESVA.....	109
	ANEXO C – Comprovação de submissão do 1 ^o artigo científico.....	110

INTRODUÇÃO

A obesidade

A obesidade pode ser definida como o excesso de tecido adiposo, mas é diagnosticada baseada no índice de massa corporal (IMC)⁽¹⁾, que é calculado dividindo o peso em kg pela altura elevada ao quadrado em metros (Tabela 1). Após o cálculo o valor é estratificado em categorias definidas pela Organização Mundial de Saúde⁽²⁾.

Tabela 1 – Classificação internacional da obesidade segundo o índice de massa corporal (IMC)

Classificação	IMC (kg/m²)
Baixo peso	≤ 18,5
Peso normal	18,5-24,9
Sobrepeso/Pré obeso	25,0 a 29,9
Obesidade grau 1	30,0 a 34,9
Obesidade grau 2	35,0 a 39,9
Obesidade grau 3	≥ 40,0

Fonte: Adaptada de Mancini⁽¹⁾.

O sobrepeso e a obesidade têm prevalência crescente, causando impacto na saúde pública. Estatísticas mostram que mais de 2/3 da população norte americana é acometida⁽³⁾ e são considerados fatores de riscos maiores para doenças cardiovasculares, doença arterial coronariana, acidente vascular cerebral, fibrilação atrial, tromboembolismo venoso e insuficiência cardíaca^(4, 5). A prevalência de obesidade tem aumentado nos últimos 30 anos levando a um aumento das doenças cardiovasculares⁽⁶⁻⁸⁾. Estimativas recentes mostram que a prevalência da obesidade está em pelo menos 30% dos homens e 35% das mulheres em vários países, incluindo Estados Unidos, Oriente Médio, Ásia e Austrália^(9, 10). No Brasil, a frequência de sobrepeso e obesidade foi de 53,8%, sendo maior entre homens (57,7%) do que entre mulheres (50,5%)⁽¹¹⁾.

O ganho ponderal e a obesidade são consequências do balanço energético positivo causado por uma ingestão calórica excessiva e depósito de lipídios^(12, 13). Dentre os fatores que contribuem para sua ocorrência estão o aumento do consumo de alimentos, especialmente os alimentos altamente calóricos e palatáveis em grandes quantidades^(14, 15), inatividade física,

utilização do tempo de lazer em atividades sedentárias, tais como assistir televisão^(16, 17), aumento do uso de medicações que promovem o ganho ponderal como hormônios, antidepressivos e antipsicóticos⁽¹⁸⁾, além do sono inadequado⁽¹⁹⁾.

O balanço energético positivo leva ao acúmulo lipídico no tecido adiposo, cujo acúmulo ocorre principalmente sob a forma de triglicérides, no tecido subcutâneo e visceral. Na obesidade visceral há aumento do volume dos músculos esqueléticos, do fígado, do coração e de outros tecidos⁽²⁰⁾. Isso pode ser observado quando comparamos dois indivíduos com massa corporal estável, um obeso e um com massa corporal normal. O obeso tem maior massa adiposa, maior massa magra, além de um maior gasto energético basal, maior débito cardíaco, maior pressão arterial e maior massa de células beta pancreáticas^(20, 21).

Na tentativa de entender os mecanismos da obesidade foi observado que existe a atuação tanto de mecanismos genéticos quanto epigenéticos (mudança na transcrição de genes secundários ao meio sem modificações na sequência do DNA). O mecanismo genético pode ser demonstrado pelo fato de que nem todas as pessoas expostas ao meio rural ou ao meio urbano desenvolvem obesidade, mostrando algum determinante individual. Embora as estimativas apresentem variações, acredita-se que a hereditariedade da obesidade varie de 40 a 70% ⁽²²⁾ sendo atualmente já reconhecidos 11 tipos monogênicos de obesidade⁽²³⁾. Já no tocante a epigenética, estudos demonstram que a exposição pré-natal e pós-natal podem influenciar a saúde metabólica⁽²⁴⁾, sendo, portanto, responsável pelas diferenças entre massa corporal e fenótipos de obesidade⁽²²⁾.

Embora o IMC seja simples para monitorar o crescimento da prevalência de obesidade em termos populacionais, vários estudos metabólicos e clínicos têm revelado que a obesidade, definida com base apenas no IMC, é uma condição heterogênea, apresentando fragilidades para detecção de complicações da obesidade, além de seu aumento não diferenciar aumento de massa adiposa de aumento de massa muscular⁽²⁵⁾. Tal fato pode ser demonstrado pela:

- a) ausência do IMC em ferramentas de cálculo de risco cardiovascular⁽²⁶⁾;
- b) em todos os indivíduos obesos irão desenvolver diabetes mellitus tipo 2 ou doenças cardiovasculares em suas vidas. No estudo NHANES (National Health and Human Nutrition Examination Surveys), 51,3% dos pacientes com sobrepeso e 31,7% dos obesos foram identificados como metabolicamente saudáveis⁽²⁷⁾. São características que ajudam a identificar os obesos metabolicamente saudáveis: idade mais jovem, maior atividade física e melhor condicionamento cardiorrespiratório, melhor qualidade da ingestão nutricional e baixos níveis de obesidade visceral⁽²⁸⁾;

- c) paradoxo da obesidade: foi demonstrado em algumas doentes com IMC aumentado tem desfechos clínicos melhores que pessoas com IMC normal⁽²⁹⁾. São 4 os exemplos clássicos: efeito protetor da obesidade em doenças crônicas; o paradoxo do sobrepeso, que teve efeito protetor na população geral, quando comparado ao IMC normal; o conceito de fat-but-fit (obesidade não é fator de risco em pessoas com boa forma física) e obesos metabolicamente saudáveis⁽³⁰⁻³²⁾.

Em relação à distribuição do tecido adiposo, a obesidade mostra mais uma vez o seu caráter heterogêneo⁽³³⁾. Existem dois depósitos principais de tecido adiposo, um visceral e um subcutâneo. O tecido adiposo subcutâneo é definido como a gordura localizada entre a pele e o músculo, e o tecido adiposo visceral localiza-se no interior das cavidades corporais, principalmente abdominal⁽³³⁾. O armazenamento anormal de gordura na região abdominal relaciona-se diretamente com o acúmulo ectópico de gordura em órgãos alvo do metabolismo como fígado e pâncreas⁽³⁴⁾, com consequentes alterações e desfechos adversos relacionados a obesidade^(35, 36). Já referente à obesidade subcutânea, estudos mostram que essa se associa a um risco reduzido de doenças cardiovasculares⁽³⁷⁻³⁹⁾.

Além disso, o tecido adiposo possui características fisiológicas e metabólicas diferentes, sendo classificado em branco, marrom e bege⁽³⁵⁾. O principal tipo de tecido adiposo é o branco e sua energia é armazenada sob a forma de triglicérides ou ésteres de colesterol através de grandes gotículas lipídicas intracelulares. Além disso são capazes de secretar leptina e adiponectina além de outras adipocinas⁽⁴⁰⁾. O tecido adiposo marrom pode ser encontrado em seres humanos adultos nas regiões supra clavicular, para vertebral e mediastinal. Múltiplas gotículas lipídicas são encontradas, além de proteína desacopladora 1 (UCP1) associada a mitocôndrias. Em caso de exposição ao frio, após ativação do sistema nervoso simpático pode produzir calor⁽⁴⁰⁾. O outro tipo de tecido adiposo é o bege, que pode ser encontrado disperso no tecido adiposo branco. Apresentam múltiplas gotículas lipídicas e são encontradas proteína desacopladora 1 associada a mitocôndrias e células de origem progenitora. Esse tecido pode ser ativado pela exposição ao frio, exercício físico e por alguns hormônios⁽⁴⁰⁾.

Outro ponto a ser salientado é o conceito de disfunção do tecido adiposo, a adiposopatia⁽⁴¹⁾. No passado, o tecido adiposo era considerado um órgão relativamente inerte, que atuava principalmente como depósito do excesso de energia sob a forma de triglicérides, com a única função de acumular ou quebrar o excesso de lipídios em ácidos graxos e glicerol de acordo com a demanda metabólica. Atualmente, o tecido adiposo é considerado um órgão metabolicamente ativo e integrado com diversos outros órgãos. Alterações patológicas a esse

sistema altamente regulado, resulta em uma resposta estimulando ao balanço energético positivo em indivíduos predispostos e indiretamente contribui para o desenvolvimento de doenças metabólicas e cardiovasculares. Os 3 pontos principais da adiposopatia são: depósito de lipídios ectópico (tais como fígado, pâncreas, coração e musculatura esquelética); padrão de distribuição visceral do tecido adiposo (intraperitoneal e retroperitoneal) e desregulação inflamatória, com produção de adipocinas, que levam à resistência insulínica. Portanto, a presença ou ausência de adiposopatia pode ajudar a explicar o padrão heterogêneo da obesidade e suas manifestações, visto que o potencial patológico da obesidade é mais dependente do grau de disfunção do tecido adiposo do que do simples aumento da massa adiposa⁽⁴²⁾.

Outro ponto importante que explica o padrão heterogêneo da obesidade é a distribuição do tecido adiposo, existindo uma grande variação individual, tendo a genética grande influência. A deposição de gordura visceral é um ponto chave para o desenvolvimento da adiposopatia. Na Figura 1 são mostradas as variáveis que estão associadas ao depósito de gordura visceral.

Figura 1 – Fatores associados ao aumento da obesidade visceral



Fonte: Adaptada de Neeland⁽⁴²⁾.

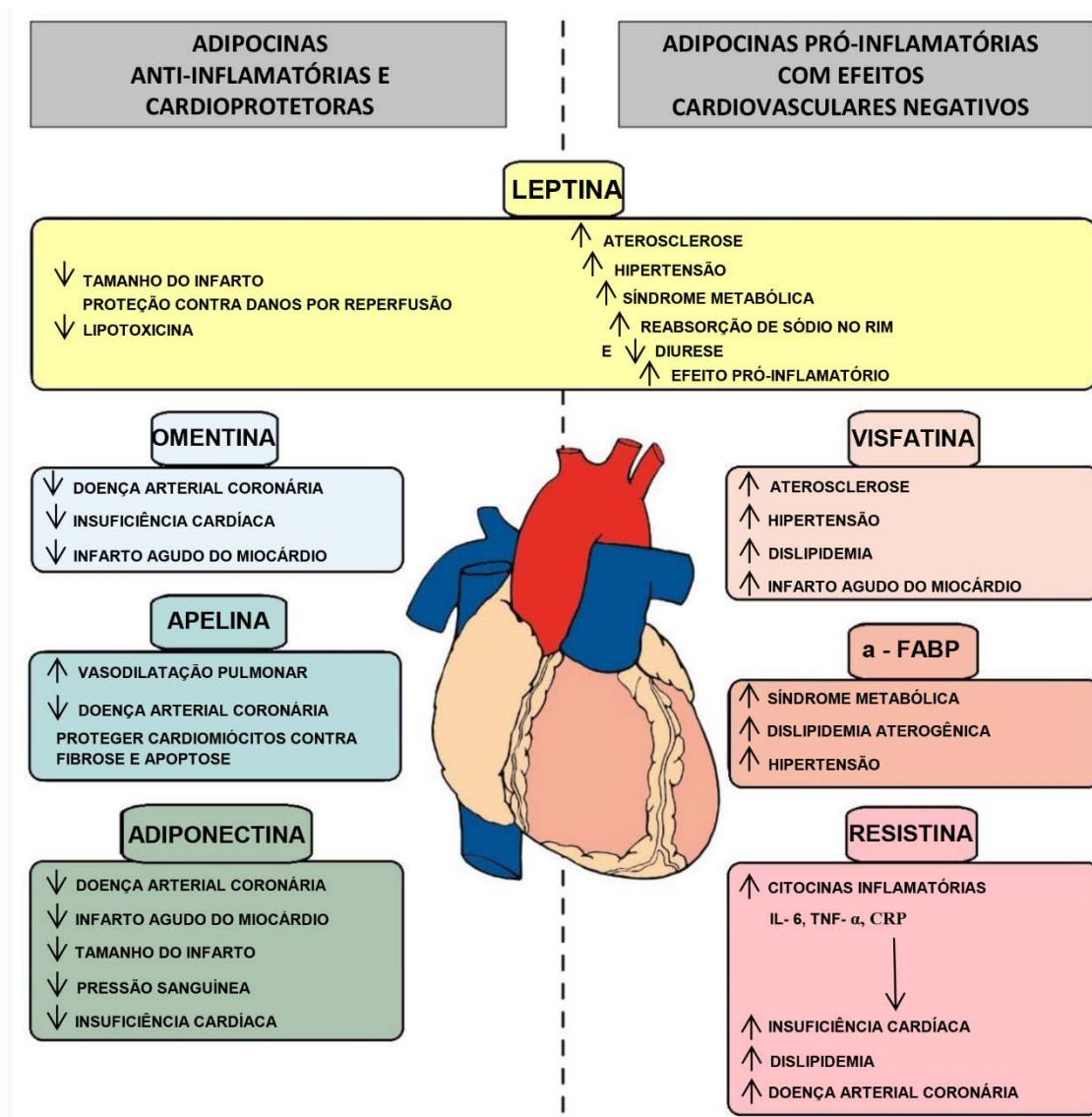
Tecido adiposo como órgão endócrino

A visão tradicional que descrevia a função do tecido adiposo como isolante térmico, proteção mecânica e como reservatório de energia foi modificada na década de 1990, com a descoberta de hormônios produzidos por tecido adiposo, as adipocinas. A compreensão do tecido adiposo como um mero reservatório passivo de energia começou a mudar e suas funções endócrinas no corpo humano vieram à tona⁽⁴³⁾. As adipocinas são hormônios produzidos pelo tecido adiposo. Elas desempenham um papel importante na homeostase energética, no metabolismo do açúcar e da gordura, no controle de termogênese, na reprodução e na imunidade. Eles também influenciam a função do sistema cardiovascular, seja por ação sobre a

parede vascular através de efeitos parácrinos ou através da função endotelial por meio da alteração dos níveis plasmáticos ou tissulares de adipocinas de forma proporcional com o total da massa de tecido adiposo no organismo⁽⁴⁴⁾.

Com base nos efeitos no sistema cardiovascular, adipocinas podem ser divididas em adipocinas cardioprotetoras (anti-inflamatório) e adipocinas que afetam negativamente o sistema cardiovascular (pró-inflamatório) (Figura 2). Contudo, esta divisão não é totalmente precisa, porque uma grande proporção de adipocinas pode ter efeitos protetores, bem como efeitos adversos, e suas funções não estão completamente definidas⁽⁴³⁾.

Figura 2 – Efeitos cardiovasculares das principais adipocinas



Leptina

A primeira adipocina descrita foi a leptina em 1994⁽⁴⁵⁾. Ela suprime a fome, reduz a ingestão de alimentos e aumenta o metabolismo. Atualmente, é mostrado que os níveis de leptina se correlacionam com a gordura corporal e sua concentração está aumentada em pessoas obesas com resistência à insulina. Por outro lado, seus níveis são reduzidos em indivíduos magros⁽⁴⁶⁾. Níveis elevados de leptina na obesidade podem ser parcialmente explicados pela resistência à leptina, causando níveis mais altos de SOCS3, um inibidor da sinalização via da leptina⁽⁴⁷⁾. Níveis mais altos de leptina e resistência a leptina, no entanto, são provavelmente apenas um achado na obesidade sem papel causal na sua patogênese⁽⁴³⁾. A leptina é quase exclusivamente expressa e produzida pelo tecido adiposo branco, especificamente, pelos adipócitos diferenciados⁽⁴⁸⁾. A gordura subcutânea é responsável por 80% do total da produção de leptina.

A literatura descreve alguns dos princípios cardioprotetores da leptina, que incluem redução da extensão do miocárdio infartado e proteção contra injúria de reperfusão pelos efeitos locais autócrinos (o próprio coração também produz leptina) provavelmente mediada pelo NO e também efeitos antilipotóxicos⁽⁴⁹⁾.

No entanto, a maioria dos autores considera a leptina uma adipocina ruim pelo seu efeito sobre o Sistema cardiovascular. Hiperleptinemia na população geral está associada à aterosclerose, à hipertensão e à síndrome metabólica⁽⁵⁰⁾. Os efeitos mediados pela leptina sobre o sistema cardiovascular são sobre a pressão sanguínea, a ativação do sistema nervoso simpático, a resistência insulínica, a agregação plaquetária e aos efeitos pró-inflamatórios⁽⁴³⁾.

A administração intravenosa de leptina de forma crônica aumenta frequência cardíaca e pressão arterial média⁽⁵¹⁾ por ativação do sistema nervoso simpático e aumento da liberação de catecolaminas⁽⁵²⁾. Outro mecanismo descrito no desenvolvimento da hipertensão é a leptina promover a diminuição da diurese e aumento recaptção de sódio nos rins⁽⁵³⁾. Níveis elevados de leptina estão associados com infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral, independentemente de outros fatores de risco tradicionais ou obesidade⁽⁵²⁾ e estão associados com calcificação das artérias coronárias, independentemente sexo⁽⁵⁴⁾ (Figura 2).

Adiponectina

Adiponectina é a adipocina mais abundante no plasma de humanos, é secretado principalmente pelo tecido adiposo, embora pequenas quantidades também possam ser produzidas por outros tecidos⁽⁵⁵⁾. A adiponectina está presente em altas concentrações em indivíduos saudáveis⁽⁵⁵⁾. Adiponectina regula a oxidação de ácidos graxos, a sensibilidade à insulina, a citoproteção e a vasodilatação^(56, 57). Além disso, a adiponectina atua diretamente no endotélio vascular, no músculo esquelético, no fígado e no próprio tecido adiposo (adipócitos diferenciados)^(56, 58).

Os níveis circulantes de adiponectina estão inversamente relacionados aos fatores de risco de doença cardiometabólica, como lipídios, pressão arterial, peso corporal, resistência à insulina e aterosclerose. Ouchi et al. relatou menores níveis de adiponectina em pacientes com doença coronariana e encontrou um papel para adiponectina como novo modulador para moléculas de adesão endotelial⁽⁵⁹⁾. Na população japonesa, uma alteração genética no gene que codifica adiponectina resultou em aumento do risco de diabetes tipo 2⁽⁶⁰⁾. Em estudos humanos, foi demonstrado que os níveis circulantes de adiponectina são regulados negativamente na obesidade, no diabetes tipo 2 e na doença cardiovascular⁽⁶¹⁾.

Vários estudos em ratos e humanos demonstraram que a suplementação de adiponectina tem efeito anti-inflamatório, sensibilizador à insulina e efeito antiaterogênico, bem como redução de peso^(62, 63). Recentemente, muitos estudos propuseram que a adiponectina também teve efeito antineoplásico por afetar diretamente células neoplásicas e modular indiretamente a via inflamatória e a angiogênese tumoral⁽⁶⁴⁾. No futuro, o tratamento com adiponectina poderá fornecer um potencial terapêutico revolucionário para o tratamento de obesidade, aterosclerose, diabetes tipo 2, câncer e doenças cardiovasculares⁽⁶⁵⁾ (Figura 2).

Visfastina

A visfastina foi uma adipocina descoberta em 2005⁽⁶⁶⁾. Seus níveis são elevados na obesidade, em pessoas com resistência à insulina e diabetes tipo 2⁽⁶⁷⁾. Através dos seus efeitos insulino-miméticos, reduz a glicose no sangue⁽⁶⁸⁾, através de mecanismos ainda mal compreendidos. Seus níveis se correlacionam com a quantidade de tecido subcutâneo e de

gordura visceral. Sua produção foi demonstrada em tecido adiposo epicárdico e gordura para-aórtica nas mesmas concentrações da produzida na gordura abdominal e pode, portanto, agir diretamente sobre o sistema cardiovascular via efeitos parácrinos⁽⁴³⁾.

A visfatina está envolvida não apenas na patogênese da diabetes mellitus, obesidade, dislipidemia, hipertensão, insuficiência renal, mas também na aterosclerose⁽⁶⁹⁾. Há evidências clínicas crescentes que mostram o papel da visfatina como um potencial marcador de inflamação e disfunção endotelial tanto em doenças metabólicas⁽⁷⁰⁾ quanto em pacientes com síndrome coronariana aguda⁽⁷¹⁾ (Figura 2).

Resistina

No passado, os efeitos da resistina foram relacionados com o desenvolvimento de resistência insulínica. Esses estudos encontraram uma correlação entre obesidade e resistina⁽⁷²⁾. Mais pesquisas demonstraram, no entanto, que esses estudos eram inconsistentes e muitas vezes conflitantes. Produção excessiva de resistina em pacientes com condições inflamatórias crônicas⁽⁷³⁾ mostra sua relação mais próxima com o desenvolvimento de condições inflamatórias do que à obesidade e resistência à insulina. Isso sugere que a resistina é produzida predominantemente por macrófagos fora do tecido adiposo do que pelos adipócitos⁽⁷⁴⁾. Seus níveis estão elevados em pacientes com doença arterial coronariana e insuficiência cardíaca⁽⁴³⁾ (Figura 2).

Proteína de ligação a ácidos graxos de adipócitos (A-FABP)

A proteína de ligação a ácidos graxos de adipócitos é expressa de forma abundante em adipócitos maduros e macrófagos ativados⁽⁷⁵⁾. A-FABP afeta o metabolismo lipídico, lipólise, sensibilidade à insulina, inflamação, aterosclerose e funciona também como principal indutor na formação de placas vulneráveis⁽⁷⁶⁾. A sua ausência preserva células β e melhora a dislipidemia e a resistência insulínica em ratos obesos. A sua deficiência melhora o metabolismo lipídico e da glicose, além de reduzir a aterosclerose em camundongos⁽⁷⁷⁾.

Muitos estudos clínicos propuseram que a A-FABP está ligada à resistência insulínica e tem papel crucial no desenvolvimento de síndrome metabólica, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (Figura 2). Os níveis séricos foram associados a componentes da síndrome metabólica e obesidade em um estudo transversal⁽⁷⁸⁾. São necessárias mais pesquisas para identificar oportunidades terapêuticas dessa proteína para prevenção ou tratamento das doenças cardiometabólicas.

Omentina

A omentina é uma adipocina descoberta em 2004. É produzida por células vasculares estromais do tecido adiposo visceral, enquanto a sua expressão no tecido adiposo subcutâneo é insignificante⁽⁷⁹⁾. Sua expressão gênica e níveis séricos são reduzidos em pessoas obesas e correlacionam negativamente com o IMC, circunferência da cintura, resistência à insulina e doença arterial coronariana (Figura 2). Em contraste, existe uma correlação positiva com os níveis séricos adiponectina e HDL⁽⁸⁰⁾. A omentina também aumenta recaptção de glicose induzida por insulina e participa da regulação da sensibilidade à insulina⁽⁷⁹⁾ e, portanto, poderia ter papel protetor contra a piora da resistência à insulina.

Em relação à influência da omentina sobre o sistema cardiovascular, níveis mais baixos de omentina foram descritos em pessoas com aterosclerose coronariana⁽⁸¹⁾. Nos casos de insuficiência cardíaca, os níveis de omentina foram significativamente menores em pessoas que tiveram mais eventos cardíacos (morte, re-hospitalização), e também naqueles com sintomas mais graves (com classificação da funcional IV em comparação com a funcional II e III)⁽⁸²⁾.

Apelina

Em 1992, o receptor de apelina, chamado APJ (também conhecido como receptor tipo angiotensina) foi descoberto. Em estrutura é surpreendentemente semelhante ao receptor de angiotensina⁽⁸³⁾. A angiotensina, no entanto, é incapaz de ativar o receptor e, foi chamada de um receptor órfão até 1998, quando a apelina foi descoberta⁽⁸⁴⁾. Apelina é considerada um fator cardioprotetor porque tem efeitos opostos as do sistema renina angiotensina aldosterona. É

expresso em vários órgãos, incluindo hipotálamo, endotélio vascular, coração, pulmões, rins, tecido adiposo e trato gastrointestinal. O receptor APJ é expresso em abundância no endotélio, músculos lisos e miócitos. No sistema circulatório, a apelina induz a vasodilatação dependente do NO, previne a vasoconstrição causada pela angiotensina 2⁽⁸⁵⁾, tem efeitos inotrópicos e cardioprotetores positivos.

Apelina está reduzida após o infarto do miocárdio. Depois de alguns dias, seus níveis começam a subir novamente, mas permanecem reduzidos até 24 semanas após o infarto. O declínio é independente de grau de disfunção ventricular e prognóstico do paciente^(86, 87). Geralmente, os níveis de apelina são menores em indivíduos com doença arterial coronariana. Em pacientes com angina instável e infarto do miocárdio, os níveis de apelina são menores do que em pacientes com formas estáveis de DAC. Os níveis são também reduzidos conforme a gravidade da estenoses⁽⁸⁸⁾.

Outro efeito benéfico da apelina pode ser a redução da fibrose cardíaca induzida pela angiotensina 2⁽⁸⁹⁾ e induzida por isquemia levando a apoptose de cardiomiócitos⁽⁹⁰⁾. Pacientes com hipertensão arterial pulmonar têm níveis plasmáticos mais baixos e redução da expressão de apelina em células endoteliais pulmonares⁽⁹¹⁾. Terapia crônica com apelina reduz a hipertensão pulmonar e aumenta a contratilidade do ventrículo direito que apresenta disfunção contrátil. Tal dado foi demonstrado em camundongos com hipertensão induzida por monocrotalina e hipóxia⁽⁹²⁾.

Apesar de uma série de questões não respondidas, a apelina parece ser potencial efeito terapêutico, particularmente no tratamento da insuficiência cardíaca e hipertensão pulmonar⁽⁴³⁾ (Figura 2).

Síndrome Metabólica

A síndrome metabólica corresponde a uma série de distúrbios metabólicos que são fatores de risco para doenças cardiovasculares⁽³⁴⁾ e desenvolvimento do diabetes mellitus. Foi descrita em 1988 por Reaven, sendo na ocasião denominada síndrome X, estabelecendo a importância da resistência insulínica na caracterização clínica desta síndrome⁽⁹³⁾. Um ano após, Kaplan nomeou a síndrome como “Quarteto Mortal”, composta pela obesidade, resistência insulínica, hipertrigliceridemia e hipertensão arterial, enquanto, outros autores deram o nome de “Síndrome da Resistência à Insulina”^(94, 95). Posteriormente, notou-se a associação do

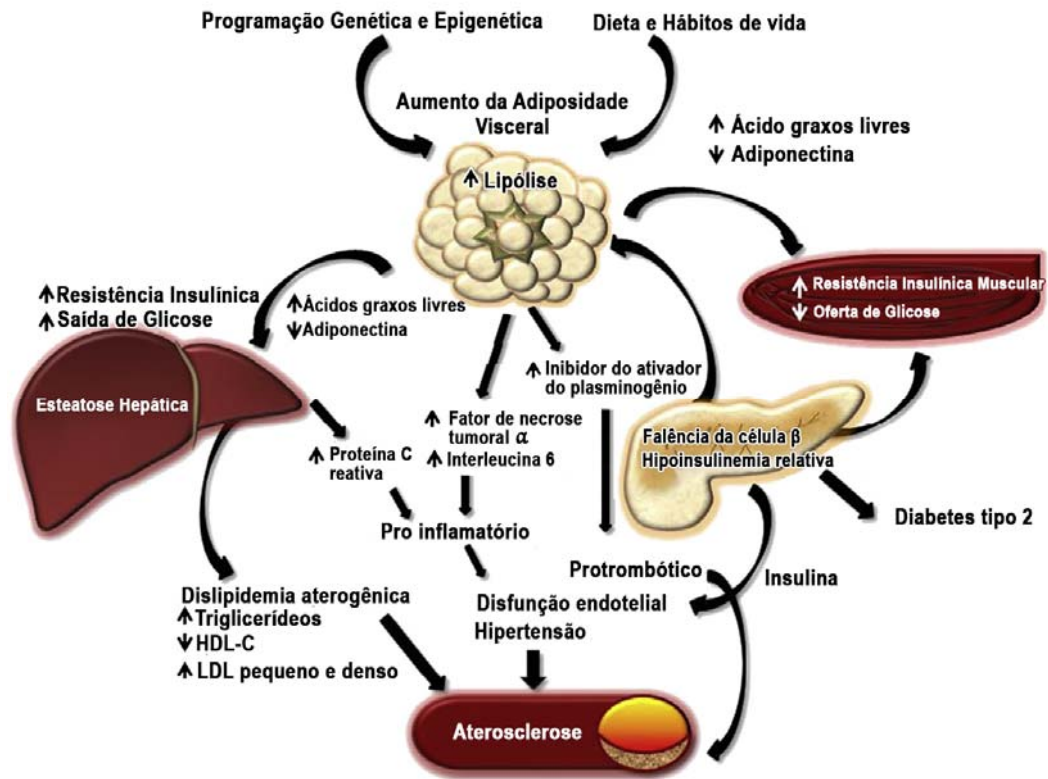
acúmulo de tecido adiposo com as anormalidades metabólicas vista no diabetes mellitus e nas doenças cardiovasculares⁽³⁴⁾.

A ocorrência concomitante de fatores de risco para diabetes mellitus tipo 2 e doença cardiovascular (obesidade abdominal, hiperglicemia, dislipidemia e hipertensão) são compatíveis com o quadro de síndrome metabólica^(34, 93).

A obesidade, em especial a obesidade abdominal, está associada a resistência insulínica e na produção de ácidos graxos, aumentando o risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2^(34, 96). A resistência insulínica, associada a hiperinsulinemia, hiperglicemia e secreção de adipocinas pode levar a uma disfunção endotelial, alteração do perfil lipídico, hipertensão arterial sistêmica e inflamação vascular, e todas essas levam ao desenvolvimento de aterosclerose, principal responsável pela mortalidade cardiovascular^(93, 97-99). Esse perfil de paciente também pode ser identificado em pacientes com obesidade abdominal, porém com índice de massa corporal normal⁽¹⁰⁰⁻¹⁰³⁾.

Existem várias hipóteses propostas para o desenvolvimento da síndrome metabólica (Figura 3). Uma dessas hipóteses sugere que a disfunção do tecido adiposo é a causa primária, demonstrando assim a importância da obesidade para o desenvolvimento da síndrome metabólica. A disfunção do tecido adiposo resulta em um metabolismo anormal de ácidos graxos livres e liberação de adipocinas que são responsáveis por alterações inflamatórias e resistência à insulina^(104, 105). Na presença de resistência à insulina, a mobilização de ácidos graxos livres dos triglicerídeos em estoque no tecido adiposo é acelerada. No fígado, os ácidos graxos livres resultam em produção aumentada de glicose e triglicerídeo, e secreção aumentada da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL). Os ácidos graxos livres também reduzem a sensibilidade à insulina no músculo por inibir a captação de glicose mediada por insulina, além de aumentar a produção de fibrinogênio e inibidor do ativador de plasminogênio (PAI-1) que tem efeito pro trombótico^(96, 106, 107). Todos esses fatores levam a aterosclerose e doenças cardiovasculares⁽⁹⁶⁾.

Figura 3 – Fisiopatologia da síndrome metabólica. Mecanismo proposto para Síndrome Metabólica a aumento do risco cardiovascular e aumento da incidência de Diabetes mellitus tipo 2



Fonte: Adaptada de Samson⁽⁹⁶⁾.

Existe grande diversidade nos critérios diagnósticos de síndrome metabólica e podemos observar na tabela a seguir (Tabela 2):

Tabela 2 – Comparativo de 3 definições de síndrome metabólica

Parâmetro	NCEP ATP3 2005 *	IDF 2006	OMS 1999
Critério essencial	-	Circunferência abdominal \geq 94 cm (homem) ou \geq 80 cm (mulher)*	Resistência insulínica
Número de critérios exigidos	\geq 3	E \geq 2 dos abaixo:	E \geq 2 dos abaixo:
Glicose	\geq 100 mg/dL ou tratamento medicamentoso para hiperglicemia	\geq 100 mg/dL ou tratamento medicamentoso para hiperglicemia	
HDL colesterol	\leq 40 ml/dL(homem) ou \leq 50 mg/dL(mulher) ou tratamento medicamentoso para elevar HDL	\leq 40 ml/dL(homem) ou \leq 50 mg/dL(mulher) ou tratamento medicamentoso para elevar HDL	\leq 35 ml/dL(homem) ou \leq 40 mg/dL(mulher) ou tratamento medicamentoso para elevar HDL
Triglicérides	\geq 150 mg/dL ou tratamento medicamentoso para hipertrigliceridemia	\geq 150 mg/dL ou tratamento medicamentoso para hipertrigliceridemia	\geq 150 mg/dL ou tratamento medicamentoso para hipertrigliceridemia
Obesidade	Circunferência abdominal \geq 102 cm(homem) ou \geq 88 cm (mulher)		Cintura/quadril $>$ 0,9(homens) e $>$ 0,8 mulheres. Ou IMC \geq 30.
Hipertensão	\geq 130/85 mmHg ou tratamento medicamentoso para hipertensão	\geq 130/85 mmHg ou tratamento medicamentoso para hipertensão	\geq 140/90 mmHg

Legenda: circunferência abdominal (CA); International Diabetes Federation (IDF); índice de massa corporal (IMC); lipoproteína de alta densidade (HDL); National Cholesterol Education Program (NCEP); Organização Mundial da Saúde (OMS); * Para pacientes do sul da Ásia e Chineses: CA \geq 90 cm (homens) ou \geq 80 cm (mulheres); Pacientes Japoneses: CA \geq 90 cm (homens) ou \geq 80 cm (mulheres).
 Fonte: Adaptada de Meigs⁽¹⁰⁸⁾ e Alberti et al.⁽¹⁰⁹⁾.

No Brasil o critério mais adotado é o da Federação Internacional de Diabetes (FID), que utiliza para confirmação diagnóstica, a obesidade abdominal, associada a 2 outros critérios, como descrita na tabela abaixo⁽¹¹⁰⁾ (Tabela 3).

Tabela 3 – Critério para diagnóstico de síndrome metabólica mais utilizado no Brasil

Critério	Ponto de corte
Circunferência da cintura aumentada*	específica para cada sexo, população e país. Para população brasileira ≥ 90 cm(homens) e ≥ 80 cm(mulheres)
Triglicérides	maior ou igual a 150 mg/dL, ou tratamento farmacológico para triglicérides séricos elevados
HDL-colesterol	menor que 40 mg/dL em homens e menor que 50 mg/dL em mulheres. O tratamento com medicamentos para aumentar o HDL-colesterol tal como ácido nicotínico é um indicador alternativo
Pressão arterial	PAS ≥ 130 mmHg e/ou PAD ≥ 85 mmHg ou o uso de tratamento farmacológico com anti-hipertensivos.
Glicemia em jejum	Maior ou igual a 100 mg/dL ou o uso de tratamento farmacológico (hipoglicemiantes).

Legenda: *Critérios obrigatório.

Fonte: Adaptada de Egídio⁽¹¹⁰⁾.

Alguns autores questionam se a síndrome metabólica deve ser chamada de síndrome, que por definição implica uma fisiopatologia própria e que apresente um risco adicional, além de seus componentes individuais^(111, 112). Independente do fato da síndrome metabólica ser ou não uma síndrome, existe uma necessidade inquestionável de se identificar e manejar o indivíduo para promoção de redução da morbimortalidade associada a diabetes e doença cardiovascular^(113, 114).

Portanto, devemos salientar que independente do critério utilizado, a identificação da síndrome metabólica leva a instituição de medidas intensivas de manejo do excesso de peso e atividade física, além do tratamento de todas as comorbidades⁽¹¹⁵⁻¹¹⁷⁾.

Modelos experimentais

Modelos animais são utilizados para mimetizar doenças humanas, assim como melhorar o entendimento das causas, progressão e terapia das doenças metabólicas. Contudo, ainda não é esclarecido qual critério deve ser utilizado na definição do modelo animal “ideal”⁽¹¹⁸⁾.

Em seres humanos tanto a obesidade quanto a síndrome metabólica são poligênicos. Portanto devemos ter muita cautela na análise de modelos de obesidade monogênica ou induzidos farmacologicamente. Isso limita a utilização de modelos de obesidade monogênicos em experimentos, além disso não seria possível diferenciar o resultado obtido no experimento como sendo secundário ao fenótipo da obesidade ou secundário ao modelo utilizado⁽¹¹⁸⁾.

O aumento da ingestão de calorias está associado com muitas complicações induzidas por dieta, incluindo síndrome metabólica e doenças cardiovasculares em seres humanos^(119, 120). Baseado nesse princípio o melhor modelo para estudo da síndrome metabólica é o obtido com a manipulação de dietas, induzindo assim a síndrome metabólica e a obesidade.

O Instituto Americano de Nutrição – 93 (AIN-93) publicou um documento que padronizou os requerimentos de macronutrientes e micronutrientes para roedores nas diferentes fases da vida^(121, 122). Dessa forma, dietas ricas em calorias (lipídios ou carboidratos) tem sido utilizada para induzir obesidade, dislipidemia e resistência insulínica em roedores. Em camundongos a dieta hiperlipídica aumenta a pressão arterial sistólica e induz a disfunção endotelial⁽¹²³⁾.

AIN-93M é direcionada aos roedores em fase de manutenção, a partir dos 3 meses de idade, período onde a taxa de crescimento nesses animais reduz drasticamente. A AIN-93 G é uma formulação destinada a roedores na fase da gestação, lactação e nos três primeiros meses de vida (período de intenso crescimento e desenvolvimento)⁽¹²²⁾.

Existem diferentes tipos de dietas hiperlipídicas, e elas utilizam diferentes frações de gordura, variando de 20 a 60 % de energia, assim como a origem da gordura, que pode ser animal (banha de porco) ou óleos de plantas (óleo de oliva ou de coco)⁽¹²⁴⁾. A adição de gorduras a rações comerciais previamente fabricadas é inadequada, pois promove a diluição dos demais nutrientes (proteínas, vitaminas, minerais e fibras)⁽¹²⁵⁾.

Para um modelo experimental de indução de obesidade podemos utilizar as dietas high-fat (30-50% da energia de lipídios) e dieta very high-fat (mais que 50% de energia dos lipídios)⁽¹²⁵⁾. Entretanto devemos considerar que as mudanças em um camundongo em que a

obesidade foi induzida com modelo very high-fat, são mais difíceis de serem revertidas com o tratamento⁽¹¹⁸⁾.

Para um modelo experimental que deseja estudar a síndrome metabólica é essencial a correta escolha da fonte lipídica da dieta⁽¹¹⁸⁾. A utilização de ácidos graxos saturados (banha de porco) como fonte de lipídios vem sendo associada não somente à obesidade, mas também ao desenvolvimento de resistência insulínica, intolerância à glicose e desordem no metabolismo de lipoproteínas⁽¹²⁶⁻¹²⁸⁾.

A escolha da espécie e linhagem animal também influencia nos resultados dos estudos. Os modelos animais mais úteis para o estudo das doenças cardiovasculares e metabólicas são os pequenos roedores. Camundongos C57BL/6 surgem como um modelo ao estudo da síndrome metabólica em roedores visando comparações com humanos. Essa linhagem apresenta vulnerabilidade genética e sofre grande influência de fatores ambientais no desenvolvimento de obesidade, resistência à insulina e diabetes tipo 2^(129, 130). Outros fatores importantes são o desenvolvimento gradual das alterações metabólicas e a deposição seletiva de gordura no mesentério, consistente com o fato de que a obesidade visceral é um fator de risco independente para o diabetes em humanos^(131, 132).

Devido ao resultado obtido com o fornecimento de dieta hiperlipídica aos camundongos C57BL/6, o mesmo vem sendo amplamente utilizado por pesquisadores como modelo de estudo das desordens metabólicas^(129, 133-135).

Doenças cardiovasculares

As doenças cardiovasculares são comuns na população geral, sendo a causa mais comum de mortalidade em países desenvolvidos e afetando a maioria dos adultos com mais de 60 anos⁽¹³⁶⁻¹³⁹⁾. As doenças cardiovasculares são as principais causas de mortalidade nos Estados Unidos, sendo a doença arterial coronariana a principal representante das doenças cardiovasculares, com 43,8% de toda mortalidade cardiovascular^(4, 5). Estimativas, projetam que em 2035, mais de 130 milhões de americanos estarão acometidos por alguma doença cardiovascular^(4, 5).

As doenças cardiovasculares podem ser divididas em 4 grandes áreas⁽¹⁴⁰⁾:

- a) *doença arterial coronariana*, que pode se manifestar como infarto agudo do miocárdio, angina pectoris, insuficiência cardíaca e morte súbita;

- b) *doença cerebrovascular*, que pode se manifestar como acidente vascular cerebral ou como ataque isquêmico transitório;
- c) *doença arterial periférica*, que pode se manifestar como claudicação intermitente;
- d) *aterosclerose da aorta*, que pode se manifestar como aneurisma da aorta torácica ou abdominal.

É importante sabermos que o risco de uma pessoa de 30 anos vir a apresentar alguma doença cardiovascular em sua vida é de 50% (*lifetime risk*)⁽¹³⁹⁾, sendo a doença arterial coronariana responsável por um terço a metade desses casos⁽⁴⁾.

A maioria dos fatores de risco cardiovasculares são modificáveis com medidas preventivas específicas. Em um estudo mundial, chamado INTERHEART, do qual participaram 52 países, 9 fatores de risco potencialmente modificáveis foram responsáveis por 90 % do risco atribuído ao primeiro infarto do miocárdio. São eles: tabagismo, dislipidemia, hipertensão arterial, diabetes mellitus, obesidade abdominal, fatores psicossociais, consumo diário de frutas e vegetais, consumo regular de álcool e atividade física⁽¹⁴¹⁾.

Baseado nesses princípios foi lançada pela Associação Americana de Cardiologia (AHA), o Checklist de uma vida saudável: 7 pequenos passos para grandes mudanças⁽¹⁴²⁾ (Figura 4).

Figura 4 – 7 passos para uma vida saudável



Fonte: My Life Check⁽¹⁴²⁾.

Os 7 passos mostrados na Figura 4 são:

- a) **Realizar atividade física**⁽⁴⁾: realizar 150 minutos de exercícios físicos por semana;
- b) **Controle da pressão arterial**⁽¹⁴³⁾: realizar diagnóstico e tratamento, mantendo seus valores pressóricos dentro da meta;
- c) **Controle do colesterol**⁽¹⁴⁴⁾: realizar diagnóstico e tratamento da dislipidemia;
- d) **Alimentação saudável**⁽⁴⁾: aumentando o teor de vegetais e frutas;

- e) **Controle da glicose**⁽¹⁴⁵⁾: realizar diagnóstico e tratamento do diabetes mellitus;
- f) **Manter um peso saudável, perder excesso de peso**⁽⁴⁾: mantendo uma alimentação saudável e atividade física regular;
- g) **Não fumar**⁽⁴⁾: abstenção total do tabagismo.

Sobrepeso e obesidade são fatores de risco maiores para as doenças cardiovasculares, incluindo doença arterial coronariana, acidente vascular cerebral, fibrilação atrial, tromboembolismo venoso e insuficiência cardíaca⁽⁴⁾. A obesidade também está associada a um aumento da prevalência de diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, dislipidemia, distúrbios do sono, aterosclerose subclínica e demência⁽¹⁴⁶⁾, contribuindo para aumento do risco cardiovascular dos pacientes. Outro fator preocupante é com o crescimento da obesidade. Como exemplo podemos citar estatísticas dos Estados Unidos, que mostraram um crescimento da obesidade de 30,5% para 37,7%, sendo a primeira avaliação realizada em 1999 e 2000 e a segunda em 2013 e 2014⁽¹⁴⁷⁾. Tanto a obesidade quanto a aterosclerose são consideradas doenças inflamatórias crônicas, nas quais a ativação imune tem um papel importante^(148, 149).

A patogênese da obesidade e da aterosclerose tem diversos fatores em comum. Em ambos, lipídios, partículas de LDL oxidado e ácidos graxos livres ativam um processo inflamatório e desencadeiam a doença. A inflamação é precursora e responsável pelas diversas fases da aterosclerose, desde a fase precoce com disfunção endotelial até as complicações das placas ateroscleróticas. Além disso a inflamação está relacionada com a obesidade, resistência insulínica e diabetes mellitus tipo 2. As adipocinas liberadas pelo tecido adiposo, induzem resistência insulínica, disfunção endotelial, hipercoagulabilidade e inflamação sistêmica, facilitando assim o processo aterosclerótico. Na obesidade visceral, as adipocinas inflamatórias (TNF-alfa, Interleucina-6, proteína de quimioatração de monócitos MCP-1, leptina e resistina) estão elevadas em títulos altos. Além disso, o aumento da proteína C reativa está associado a um aumento do risco de infarto do miocárdio, doença vascular periférica e diabetes mellitus⁽¹⁵⁰⁻¹⁵²⁾. É importante entender a relação entre o processo inflamatório e a aterosclerose e o papel da obesidade acelerando esses processos⁽¹⁵³⁾.

Embora grande parte dos estudos indiquem a prevenção como a melhor estratégia para o controle da doença cardiovascular⁽¹⁵⁴⁾, uma vez instalada a mesma, muitas vezes é necessário a utilização de meios farmacológicos para controlar e/ou retardar a evolução da doença. Entre os fármacos utilizados podemos citar os antiplaquetários, anticoagulantes, anti-hipertensivos (principalmente inibidores da enzima conversora de angiotensina, bloqueadores do receptor da

angiotensina 2 e bloqueadores de canais de cálcio) e estatinas, que de forma direta ou indireta podem auxiliar no tratamento de doenças cardiovasculares⁽¹⁵⁴⁾.

A hipertensão arterial é um fator de risco maior para as doenças cardiovasculares e para os acidentes vasculares cerebrais⁽⁴⁾. O seu tratamento inclui tratamento medicamentoso e não medicamentoso, sendo que a maioria dos pacientes necessita da associação de ambos⁽¹⁴³⁾. Diversos estudos randomizados já demonstraram que o ponto mais importante do seu tratamento é a adequada redução da pressão arterial, sendo o benefício independente da medicação empregada para redução da pressão arterial. As medicações das classes dos diuréticos tiazídicos, beta bloqueadores, inibidores do receptor da angiotensina II, bloqueadores do receptor da angiotensina II, já demonstraram em estudos clínicos o benefício da redução da morbimortalidade cardiovascular^(155, 156). Portanto, qualquer droga dessas classes pode ser utilizada para o tratamento em monoterapia ou em associação da hipertensão arterial, mantendo em mente que o mais importante é o controle pressórico.

A dislipidemia é outro fator de risco maior para as doenças cardiovasculares, sendo comprovado que redução do LDL reduz o risco cardiovascular⁽¹⁴⁴⁾. Para isso, as estatinas, ou 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase, são amplamente utilizadas por reduzir os níveis de colesterol no plasma, reduzindo assim, o risco cardiovascular⁽¹⁵⁴⁾. O método de ação das estatinas consiste na competição com a enzima HMG CoA redutase, impedindo a formação do ácido mevalônico e, conseqüentemente, do colesterol. Porém, seus benefícios vão muito além da redução do colesterol, sendo também observados no coração, vasos sanguíneos, pâncreas e fígado entre outros. Esses fatores fazem dessa classe a primeira escolha para controle da dislipidemia⁽¹⁵⁴⁾.

Outra opção para o tratamento da dislipidemia é a utilização dos inibidores seletivos da absorção de colesterol (ezetimibe). Normalmente, só são utilizados como monoterapia em pacientes intolerantes a estatina, mas na maioria das vezes é utilizado em associação com a estatina. O benefício dessa associação foi demonstrado em estudos clínicos⁽¹⁵⁷⁾.

Em relação a novas terapias para redução do LDL colesterol temos os inibidores da PCSK9 (*proprotein convertase subtilisin/kexin type 9*), que são drogas que levam a inibição da degradação dos receptores de LDL no fígado⁽¹⁵⁸⁾. Dessa forma, aumenta o número de receptores de LDL hepáticos, o que leva a uma redução importante do LDL sérico, podendo chegar até 70 % de redução. Normalmente são bem toleradas, mas desconhecemos se é uma droga segura a longo prazo. Essas drogas devem ser utilizadas se as metas não forem atingidas com o uso de estatina e ezetimibe⁽¹⁵⁹⁾

Outro fator de risco maior que tem grande importância na prevenção das doenças cardiovasculares é o diabetes mellitus. Nos últimos anos foram lançadas drogas que são capazes de ter efeito adicional ao controle glicêmico, promovendo a redução do risco cardiovascular, sendo as duas principais representantes a empagliflozina⁽¹⁶⁰⁾, um inibidor da SGLT2 e a liraglutide⁽¹⁶¹⁾ um análogo da GLP1⁽¹⁶²⁾. Isso levou a uma mudança no fluxograma de tratamento do diabetes, sendo feita uma avaliação além da meta de controle glicêmico, incluindo também a redução do risco cardiovascular⁽¹⁶²⁾.

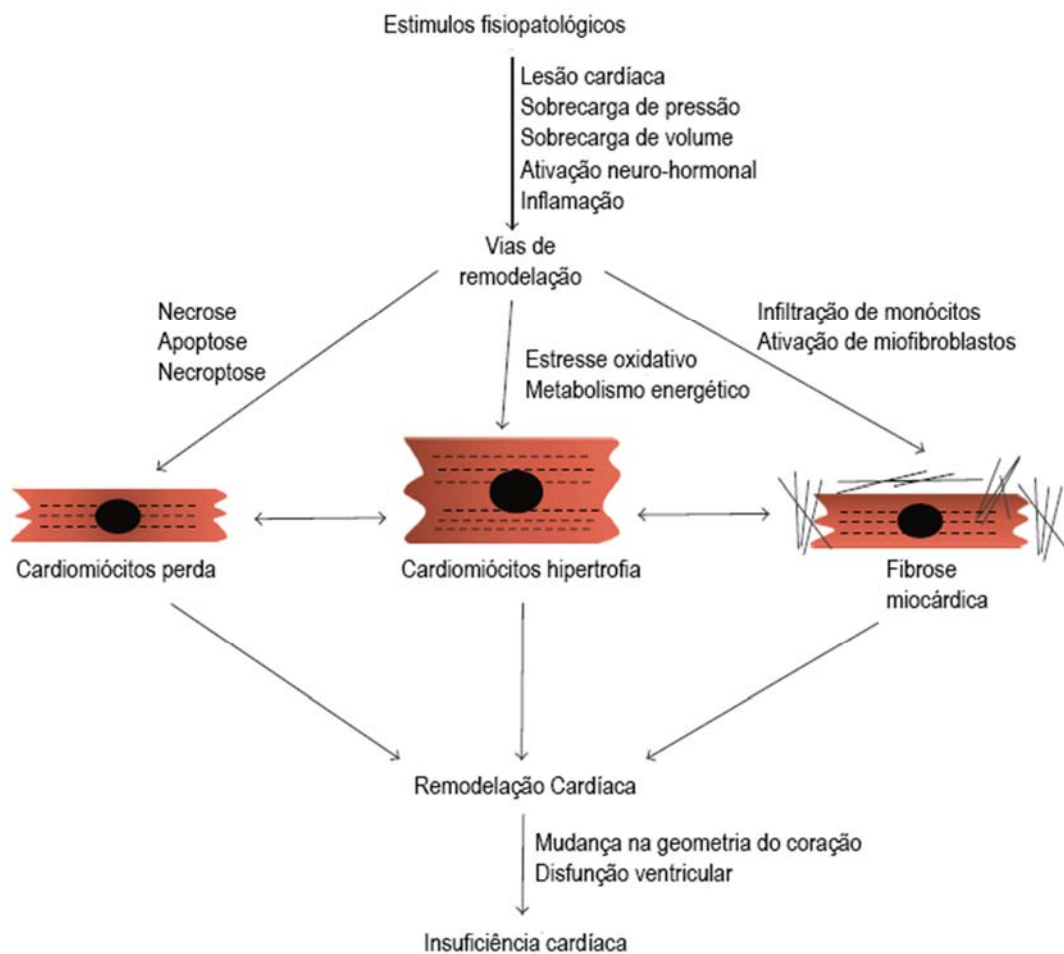
Outra medicação com potencial de redução do risco cardiovascular são os antiplaquetários⁽¹⁵⁴⁾. As plaquetas sanguíneas mantêm a hemóstase adequada sobre a lesão vascular, porém também podem contribuir para a fisiopatologia da trombose. A lesão endotelial que ocorre como parte do processo de instabilização de placas de aterosclerose, desencadeia adesão, ativação e agregação plaquetária, contribuindo para a trombose. Esse é o mais importante mecanismo subjacente de doença cardiovascular e acidente vascular cerebral isquêmico, e a terapia antiplaquetária, conseqüentemente, é fundamental para a prevenção secundária no tratamento de doenças cardiovasculares. No cenário de prevenção secundária a aspirina apresentou redução de 10% da mortalidade global, aumentando também a incidência de sangramentos maiores, mas persistindo o benefício líquido (benefício do uso subtraído do risco do uso)⁽¹⁶³⁾. Já em prevenção primária não é mais recomendada a utilização de antiplaquetários na maioria dos pacientes^(154, 164).

Remodelamento cardíaco

Remodelamento cardíaco é um termo utilizado para se referir a alterações cardíacas secundárias a uma variedade de insultos⁽¹⁶⁵⁾. Múltiplos fatores contribuem para o desenvolvimento e a progressão do remodelamento cardíaco e na maioria das vezes a injúria é multifatorial⁽¹⁶⁵⁾. A morte de cardiomiócitos é evento crucial para o desenvolvimento de eventual disfunção durante o esforço, determinando a progressão de anormalidades cardíacas ao longo do tempo⁽¹⁶⁵⁾ (Figura 5). Além disso, a hipertrofia e a fibrose cardíaca e a progressiva piora das funções contrátil e de relaxamento, agem de forma conjunta a promover um remodelamento cardíaco⁽¹⁶⁵⁾. Já foi demonstrado que após uma lesão cardíaca, ocorre um aumento sustentado da inflamação, através de um aumento de citocinas, que estimulam a proliferação de fibroblastos e ativação de metaloproteinasas⁽¹⁶⁶⁾. Além disso, o estresse

oxidativo e a alteração no metabolismo de energia, desencadeiam uma sequência de eventos, que levam a hipertrofia e fibrose, resultando em morte celular e perda de cardiomiócitos⁽¹⁶⁵⁾. O estresse oxidativo e a inflamação levam a piora da função cardíaca⁽¹⁶⁵⁾. Além disso, a ativação neuro-hormonal, principalmente do sistema renina angiotensina aldosterona, aumenta a síntese de proteínas envolvidas na inflamação, morte celular e fibrose⁽¹⁶⁷⁾.

Figura 5 – Visão geral dos principais eventos envolvidos no remodelamento cardíaco



Nota: Entre as múltiplas vias de sinalização envolvidas, a morte celular, inflamação, estresse oxidativo, alterações no metabolismo energético, perda de cardiomiócitos (apoptose), hipertrofia e fibrose miocárdica, são os principais envolvidos no remodelamento cardíaco.

Fonte: Adaptada de Schirone et al.⁽¹⁶⁵⁾

Para entendermos o remodelamento cardíaco na obesidade, devemos fazer algumas considerações. O aumento da adiposidade leva a uma aumento da massa do ventrículo esquerdo, incluindo a espessura de parede e as dimensões internas, especialmente com IMC maior 30kg/m²⁽¹⁶⁸⁾. O risco de hipertrofia ventricular esquerda, doenças cardiovasculares, fibrilação

atrial, e insuficiência cardíaca, levam a um remodelamento cardíaco, aumentam com o aumento do IMC⁽⁴⁰⁾.

A obesidade abdominal também está associada a um risco cardiovascular^(169, 170). O mecanismo central da associação entre circunferência abdominal e risco cardiovascular é justificado pelo maior acúmulo de gordura mesentérica e o mental, esteatose hepática e outras alterações anatômicas relacionadas ao desarranjo fisiológico, incluindo o remodelamento cardíaco⁽⁴⁰⁾. Atualmente, é sugerido que a circunferência abdominal seja medida em pessoas com IMC entre 25 e 34,9 kg/m², para melhorar a estratificação, com pontos de corte definidos para sexo e etnia. Em IMC maiores que 35kg/m², a circunferência abdominal tem pequena importância⁽¹⁷¹⁾.

A obesidade, associada a síndrome metabólica, hipertensão arterial, dislipidemia e diabetes mellitus, está associada a uma aumento na incidência de doenças cardiovasculares⁽¹⁷²⁾. Entretanto, mesmo na ausência de outros fatores de risco (hipertensão arterial, dislipidemia, diabetes mellitus), a obesidade é considerada um fator de risco independente para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e insuficiência cardíaca⁽¹⁷³⁾. O mecanismo patológico se dá pela perda de cardiomiócitos, pelo aumento da apoptose e consequente substituição dessas células por tecido fibrótico^(174, 175), hipertrofiando os cardiomiócitos⁽¹⁷⁶⁾ restantes e ocorrendo infiltração intracelular de lipídios⁽¹⁷⁷⁾. Funcionalmente ocorre a disfunção ventricular secundária a obesidade, sendo a diástole a fase do ciclo cardíaco mais acometida^(178, 179). Os efeitos adversos da obesidade na estrutura e função cardíaca são explicados pela lipotoxicidade cardíaca⁽¹⁸⁰⁾. A lipotoxicidade cardíaca leva a uma aumento da captação de palmitato para dentro de cardiomiócitos e acúmulo de ceramida, geração espécies reativas de oxigênio (ROS), liberação de citocromo C das mitocôndrias e iniciação de vias apoptóticas^(180, 181).

Uma das formas de se avaliar o estresse oxidativo é a avaliação das UCP (proteínas desacopladoras mitocondriais). Evidências experimentais sugerem fortemente uma regulação da expressão genética de UCP (proteína desacopladora mitocondrial) por ácidos graxos, indicando que ela pode estar relacionada ao metabolismo e oxidação dessas substâncias⁽¹⁸²⁾. As proteínas desacopladoras mitocondriais (UCP) foram descritas em 1984, com a descoberta das propriedades termogênicas da UCP1 no tecido adiposo marrom⁽¹⁸³⁾. A UCP 1 foi descrita como um canal regulado por próton capaz de dissipar o gradiente de prótons da mitocôndria, liberando energia eletroquímica sob a forma de calor. Até hoje 5 isoformas de UCP foram descritas em tecidos de mamíferos e foram nomeadas UCP 1-5, na ordem de sua descrição⁽¹⁸⁴⁾. Em contraste com a UCP 1, que é expressa exclusivamente no tecido adiposo marrom, a UCP 2 é expressa

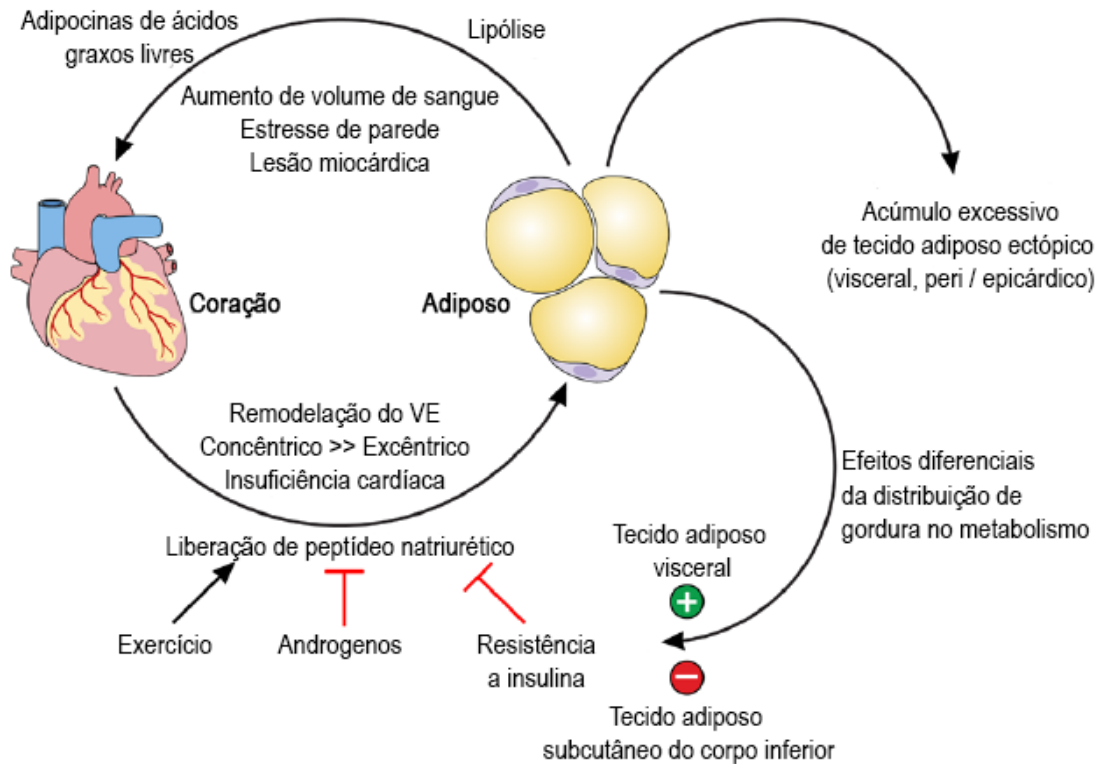
em uma variedade de tecidos, incluindo o coração⁽¹⁸⁵⁾. Um papel fisiológico sugerido para a UCP2 é reduzir a formação de radicais livres como os superóxidos, resultantes do metabolismo do oxigênio na cadeia respiratória transportadora de elétrons para o oxigênio na mitocôndria, principal fonte de radicais livres, formando água, que cria radicais superóxidos e peróxido de hidrogênio⁽¹⁸⁶⁾. Dessa forma o aumento da expressão da UCP2 protege contra o stress oxidativo, evitando danos ao miocárdio.

Em obesos, o débito cardíaco está aumentado para atender uma demanda tecidual maior, justificada pela maior massa corporal⁽¹⁸⁷⁾. Esse aumento é mediado por um aumento da volemia, com aumento das pressões de enchimento, além de uma maior ativação do sistema nervoso simpático, ambas alterações mais comuns em obesos. Isso faz aumentar o consumo de oxigênio e, conseqüentemente, aumenta a demanda tecidual^(188, 189). Em um estudo experimental com camundongos alimentados com dieta high fat, foi demonstrado que a fração de ejeção do ventrículo esquerdo foi reduzida, ocorrendo o remodelamento ventricular, uma diminuição do níveis circulantes de células progenitoras endoteliais e reduzindo a capacidade de recuperação do endotélio⁽¹⁹⁰⁾, demonstrando o remodelamento cardíaco.

A obesidade visceral tem um série de efeitos sobre o miocárdio, tais como hipertrofia dos cardiomiócitos, fibrose miocárdica e ativação de vias inflamatórias associadas a infiltração de macrófagos e expressão gênica de citocinas⁽¹⁹¹⁾. A redução da densidade de cardiomiócitos e a sua hipertrofia são efeitos do remodelamento cardíaco em modelos experimentais de síndrome metabólica^(192, 193). O acúmulo excessivo de tecido adiposo visceral no pericárdio, epicárdio e no fígado resultam de um aumento da volemia e ativação de uma via inflamatória pró-aterogênica que aumenta débito cardíaco, o estresse de parede e a injúria miocárdica, levando a hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo e a disfunção sistólica e diastólica⁽⁴²⁾, conforme demonstra a Figura 6.

Portanto, o aumento dos níveis de ácidos graxos livres e citocinas, o depósito intracelular de lipídios em tecidos não adiposos (lipossomos) e o depósito de tecido adiposo em compartimentos viscerais contribuem para inflamação sistêmica, resistência insulínica e aumento do tônus do sistema nervoso simpático. A cascata fisiopatológica e as doenças associadas são os principais fatores contribuintes para o desenvolvimento do remodelamento/insuficiência cardíaca associada a obesidade⁽¹⁷⁰⁾.

Figura 6 – Efeitos da obesidade na disfunção cardíaca e insuficiência cardíaca



Fonte: Adaptada de Neeland et al.⁽⁴²⁾

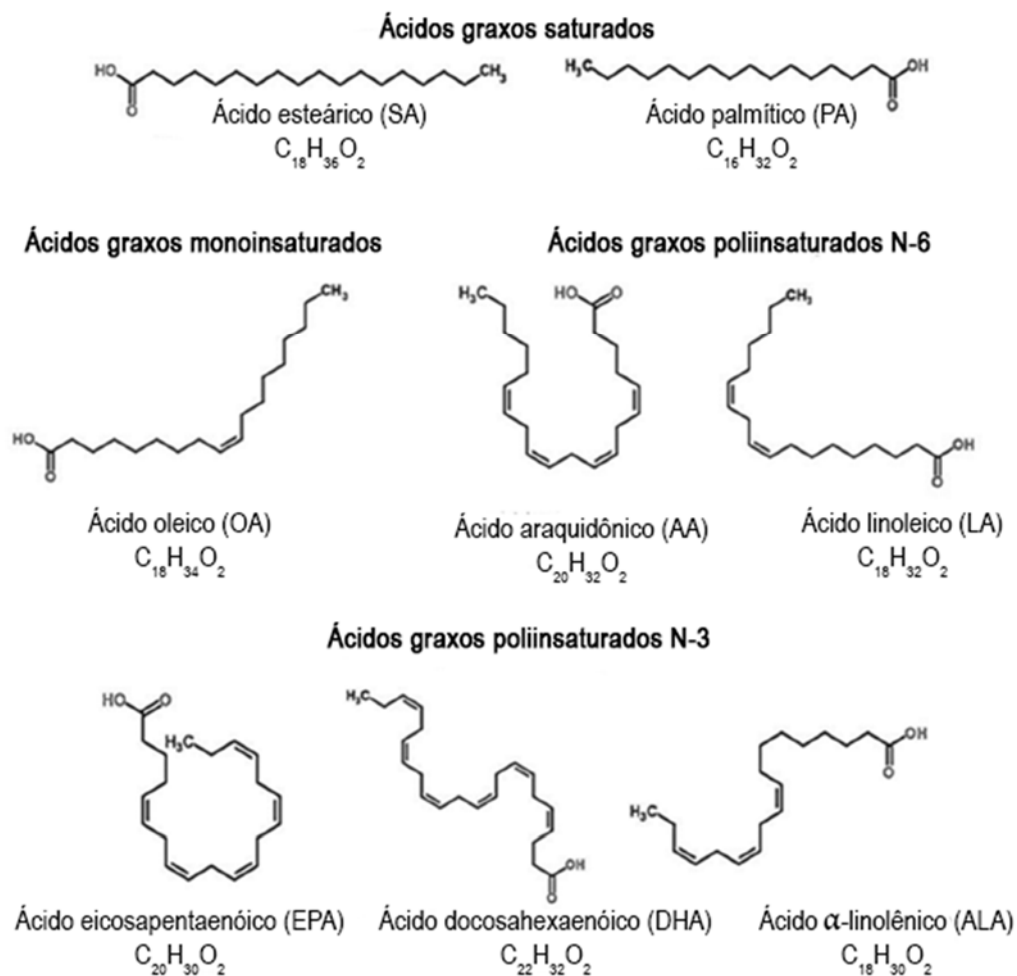
Ácidos graxos poliinsaturados e Doenças Cardiovasculares

Estudos em diferentes populações sugeriram que o consumo de peixe uma a duas vezes por semana está associada a uma redução do risco de doenças cardiovasculares^(194, 195). Uma revisão sistemática em 2002, concluiu que comer o equivalente a 40 a 60 gramas de peixe diariamente (contendo aproximadamente 0,2 a 1,0 gramas de ômega 3) foi associado a uma redução de quase 50 % na mortalidade cardiovascular⁽¹⁹⁶⁾. Entretanto, estudos randomizados de suplementação de ômega 3 mostraram resultados conflitantes nos desfechos cardiovasculares fatais e não fatais⁽¹⁹⁷⁻²⁰¹⁾. Metanálises desses *trials* geralmente não identificaram efeitos benéficos significativos dos ácidos graxos ômega 3 nos eventos cardiovasculares maiores^(202, 203).

Ácidos graxos poliinsaturados, são ácidos orgânicos que naturalmente contém mais de uma dupla ligação da cadeia alifática, são classificados de acordo com o número (>1), posição e configuração da dupla ligação, que também é o determinante de suas propriedades físicas e biológicas (Figura 7). As duas famílias mais relevantes dos ácidos graxos poliinsaturados são

os ômega 3 e ômega 6⁽²⁰⁴⁾. Para mamíferos esses ácidos são essenciais⁽²⁰⁴⁾. Estudos em animais, estudos observacionais e *trials* clínicos avaliaram os efeitos na saúde e identificaram os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa n-3 (n-3 PUFA) no óleo de peixe, com o ácido eicosapentaenoico (EPA, 20: 5n-3) e ácido docosaexaenóico (DHA, 22:6n-3) como seus constituintes ativos.

Figura 7 – Classificação dos ácidos graxos de cadeia longa



Fonte: Adaptada de Sokola-Wysoczanska et al.⁽²⁰⁵⁾

Os ácidos graxos poliinsaturados podem ser encontrados em vegetais e produtos de origem animal. Podemos encontrar em óleos como linhaça, canola, soja e óleo de cânhamo, nozes, bem como nas sementes por exemplo, chia (*Salvia hispanica*), laticínios, ovos e algas. Além disso podem ser encontrados em carnes de origem animal (herbívoros ou carnívoros)⁽²⁰⁵⁾.

Outra fonte estudada de ácidos graxos poliinsaturados é o óleo de krill (crustáceo) que mostrou efeitos benéficos desse óleo na redução da dislipidemia e inflamação em humanos e

animais, supressão da esteatose hepática causada por dietas hiperlipídicas em ratos, está envolvido na modulação de enzimas do metabolismo lipídico⁽²⁰⁶⁾, na melhora da disfunção mitocondrial⁽²⁰⁷⁾ e atenuação da dilatação ventricular após infarto em ratos⁽²⁰⁸⁾.

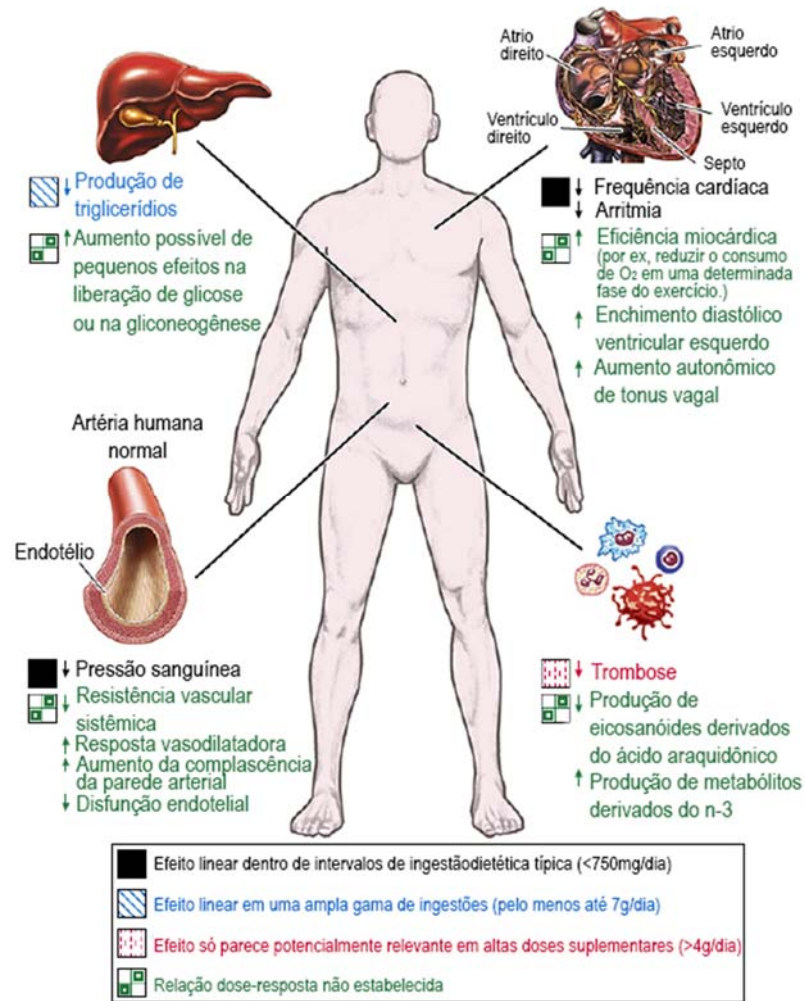
O óleo de peixe é o ácido graxo poliinsaturado mais estudado e atua em diversos fatores de risco cardiovasculares (Tabela 4). Os efeitos fisiológicos parecem ser dose e tempo dependente⁽²⁰⁹⁾ (Figura 8). Por exemplo, em uma ingestão dietética normal, o efeito antiarrítmico predomina, reduzindo o risco de morte súbita em algumas semanas. Em doses maiores, o efeito antiarrítmico é atingido mais rápido, porém outros efeitos têm impacto discreto em desfechos. No caso da redução dos triglicérides, podem ser necessários meses a anos para que o impacto do consumo possa ser visto em algum desfecho.

Tabela 4 – Alguns benefícios dos ácidos graxos poli-insaturados

Variável	Benefício
Lipídios	Redução de 25-30% triglicérides ⁽²¹⁰⁻²¹²⁾ ; Aumento de 3% HDL; aumento 5% LDL ⁽²¹³⁻²¹⁵⁾ .
Pressão arterial	Redução da pressão sistólica em 1,52 mmHg e da diastólica em 0,99 mmHg ⁽²¹⁶⁾ .
Frequência cardíaca	Redução da FC em 1,6 bpm ⁽²⁰⁹⁾ .
Resistência insulínica	Não altera metabolismo da glicose ou sensibilidade a insulina ^(217, 218) .

Fonte: O autor, 2019.

Figura 8 – Efeitos dos ácidos graxos poliinsaturados que podem influenciar o risco cardiovascular



Fonte: Adaptada de Mozaffarian⁽²¹⁹⁾.

Em 2019 ainda há muita controvérsia sobre o papel do ômega 3 na prevenção cardiovascular. Recentemente foram publicados 3 grandes estudos, que apresentaram resultados divergentes. O primeiro foi o ASCEND⁽²²⁰⁾ que incluiu 15480 pacientes diabéticos, sem doença cardiovascular estabelecida para receber 1 g de ômega ou placebo (azeite de oliva). A média de seguimento foi de 7,4 anos. No final do estudo não foi verificada diferença entre os grupos. O segundo estudo publicado foi o REDUCED-IT⁽²²¹⁾ foram incluídos 8179 pacientes com doença cardiovascular estabelecida ou diabetes com fator de risco, que apresentavam triglicérides de jejum entre 135-499 mg/dL e LDL entre 41-100 mg/dL, recebendo estatina. Foram randomizados para receber 4g/dia. Após 4,9 anos, o desfecho primário que era redução de eventos isquêmicos foi reduzido. Esse ano foi publicado o mais recente dos estudos o VITAL⁽²²²⁾, que avaliou homens maiores de 50 anos e mulheres maiores 55 anos em prevenção primária. Foram incluídos 25871 pacientes, com seguimento médio de 5,3 anos, os pacientes receberam 1g de ômega 3 por dia. Ao final do estudo não foi observada mudança no desfecho primário, doença cardiovascular maior ou de neoplasia. Podemos observar que o REDUCED-IT traz uma nova esperança da utilização de ômega 3, e merece salientar a diferença da dosagem utilizada nos 3 estudos, sendo o REDUCED-IT o que utilizou a maior dose de ômega 3.

Óleo de Capivara

A utilização racional ou sustentável da fauna silvestre é um processo benéfico que pode resultar em vantagens econômicas, sociais e, ao mesmo tempo, proteger as espécies silvestres da extinção⁽²²³⁻²²⁵⁾.

Os animais silvestres podem se transformar em fontes renováveis de produtos e medicamentos de grande rentabilidade, contribuindo para a produção de alimentos e concorrendo, em custo de produção, com os animais domésticos. A criação de animais silvestres é controlada pelo IBAMA, podendo ser realizada em criatórios autorizados. Entre as propostas de utilização da fauna silvestre de forma racional, estão: a criação dos animais em cativeiro, a implementação de um plano de manejo extensivo, o turismo ecológico, a exploração integrada de animais silvestres com o gado, o aproveitamento de terrenos marginais além da possível utilização da fauna para fins medicinais^(226, 227).

A capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) é a espécie selvagem nativa mais criada em nosso país⁽²²⁸⁾ e é considerada o maior roedor do mundo⁽²²⁹⁾. Ela tem um grande potencial

econômico, podendo ser utilizada a carne, o óleo e seu couro⁽²³⁰⁾. Na cidade de Cotia no Estado de São Paulo existe um abatedouro, Cerrado Carnes de Caça®, licenciada para fins de abate da capivara. Várias partes do animal são aproveitadas, porém a gordura é desprezada.

O óleo extraído da gordura da capivara é uma fonte lipídica para ácido graxo ômega 3. Esse contém 19.6% ácido linoléico (LA, 18:2n-6) e 17.9% de ácido α -linoléico (ALA, 18:3n-3) e é muito utilizado como óleo dietético para fins medicinais, apesar de seus principais efeitos ainda não serem completamente esclarecidos⁽²³¹⁾ (Tabela 5). Tal óleo também é constituído por AGs oléico (35,6 a 39,8%) e palmítico (20,7% a 24,3%)⁽²³²⁾ conferindo certas características a esse composto. Ele foi usado como um dos componentes do tônico fortificante para crianças (Capivarol) e também é atribuído ao óleo propriedades que auxiliam em doenças respiratórias como bronquite e asma, reumatismo⁽²²⁸⁾, na atuação como cicatrizante de feridas cutâneas⁽²³³⁾ e recentemente foram descritos efeitos benéficos na esteatose hepática⁽²³⁴⁾. O óleo também foi usado como remédio tradicional da dieta no Paraguai⁽²³¹⁾.

Tabela 5 – Composição do óleo de capivara, comparado com óleo de sardinha e de cavala

Ácidos Graxos	Óleo de capivara	Óleo de Sardinha	Óleo de cavala
14:0	3,0	9,6	5,4
16:0	22,7	23,7	26,8
16:1n-7	5,0	9,7	11,7
18:0	4,3	4,5	2,4
18:1n-9	26,5	14,7	31,2
18:2n-6	19,6	2,6	4,3
18:3n-3	17,9	4,0	17,7
20:4n-6	0,7	3,3	0,5
20:5n-3	-	13,5	-
22:6n-3	0,3	14,4	-
n-6/n-3	1,12	0,18	0,27
Ácidos graxos poliinsaturados/saturados	1,5	1,14	0,7
Coolesterol mg/g óleo	0,43	4,02	0,58

Nota: Ácidos graxos poliinsaturados/saturados = $(18:2 + 18:3 + 20:4 + 20:5 + 22:6)/(14:0 + 16:0)$ (231)
 Fonte: Adaptada de Fukushima et al. (231)

Já foi comprovado que esse óleo reduz a concentração de colesterol total (CT) e os níveis sanguíneos de VLDL e lipoproteína de baixa densidade (LDL) em ratos alimentados com dieta rica em colesterol, quando comparados com outros óleos de origem animal⁽²³¹⁾.

A carne da capivara apresenta maior concentração de ácidos graxos poliinsaturados quando comparada com as carnes tradicionais⁽²³⁵⁻²³⁷⁾, caracterizando uma vantagem nutricional. O óleo extraído da gordura da capivara (gordura subcutânea) poderia ser utilizado como medicamento após comprovação de seus benefícios clínicos. Caso comprovado seus benefícios, poderia ser autorizado um maior número de cativeiros para criação de capivaras e assim poderíamos utilizar sua carne, seu óleo, seu couro, entre outros, dessa forma poderíamos aproveitar melhor o potencial biotecnológico do animal.

Para acessibilidade a esse lipídeo, a criação de animais em cativeiro autorizado, tem sido apontada como uma possível fonte para o óleo de capivara, além de oferecer proteína animal para populações principalmente em países em desenvolvimento, como o Brasil⁽²³⁸⁾. Essa prática contribuiria para a diminuição do uso ilegal de fauna com consequente conservação das espécies⁽²³⁹⁾. Esta utilização é ignorada ou subestimada pelos órgãos responsáveis por sua

proteção⁽²⁴⁰⁾, sendo o aproveitamento desses animais feito através da caça descontrolada associada à destruição de habitats e perda desses recursos naturais⁽²⁴¹⁾.

1 OBJETIVOS

1.1 Geral

Avaliar os efeitos da administração do óleo de capivara se é capaz de reverter ou atenuar as alterações metabólicas impostas pelo consumo de dieta hiperlipídica em camundongos C57BL/6.

1.2 Específicos

Comparar os resultados entre os grupos estudados e avaliar o efeito do tratamento com óleo de capivara quanto aos seguintes parâmetros:

- a) massa corporal;
- b) pressão arterial (pletismografia de cauda);
- c) parâmetros bioquímicos: metabolismo glicídico (TOTG), colesterol total e triglicerídeos;
- d) avaliar aspectos morfológicos: análise morfométrica e estereologia do coração e do tecido adiposo;
- e) avaliar aspectos moleculares e ultraestrutural do cardiomiócito: microscopia eletrônica de transmissão e western blotting (UCP – 2).

2 METODOLOGIA

2.1 Obtenção do Óleo de Capivara

A gordura subcutânea de capivara foi doada pelo “Frigorífico Cerrado Carnes de Caça”, situado no Estado de São Paulo, oriunda de animais criados em cativeiro autorizado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). A extração do óleo foi realizada através do processamento hidrotérmico da gordura em banho-maria, obtendo-se o óleo em sua forma líquida⁽²³³⁾ para sua posterior administração por gavagem orogástrica aos animais.

2.2 Grupos experimentais e dieta

Para a realização do protocolo experimental, foram obtidos 48 camundongos da linhagem C57BL/6, machos, com 3 meses de idade, alimentados com dieta padrão (dieta Controle) e dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados (dieta HF). Ambos os grupos foram alimentados primeiramente durante 12 semanas, induzindo assim a obesidade e suas alterações nos animais alimentados com dieta HF (high fat).

Após essas semanas, foi realizada a gavagem orogástrica de óleo de capivara (1,5g/kg/dia), dosagem semelhante a trabalhos que utilizaram óleo de peixe⁽¹³⁵⁾, e assim o experimento teve continuidade por mais 06 semanas. A dosagem em ml de óleo de capivara foi calculada da seguinte forma: Óleo de capivara (ml)= peso(g)x 0,001875 (constante do óleo). Nos grupos controle e HF foi realizada gavagem diária com água (placebo) para que todos os camundongos tivessem o mesmo tipo de influência durante a manipulação.

Para fins de entendimento, o período compreendido até a 12ª semana foi denominado pré-tratamento, o período compreendido entre a 12ª até a 18ª semana foi denominado tratamento.

Os animais foram mantidos no Biotério do Centro de Pesquisa do CESVA/FAA. Os procedimentos foram realizados de acordo com os padrões internacionais de experimentação com animais e com a aprovação do CEUA/UERJ protocolo número CEUA/003/2016 (UERJ)

e CEUA/15/2017 (CESVA). Os animais tiveram livre acesso à água, enquanto a ração foi fornecida diariamente de acordo com o cálculo referente a quantidade de ração por animal (5 gramas de ração por animal ao dia) e conforme o grupo ao qual o animal pertence.

Os animais foram alocados nos seguintes grupos (4 grupos/8 animais por grupo):

- a) C (n=8): dieta padrão para roedores durante todo o experimento;
- b) C+OC (n=8): dieta padrão para roedores durante 12 semanas e dieta padrão com óleo de capivara por gavagem durante 6 semanas;
- c) HF (n=8): dieta hiperlipídica (fonte “banha de porco”) durante todo o experimento;
- d) HF+OC (n=8): dieta hiperlipídica (fonte de lipídios “banha de porco”) durante 12 semanas e dieta HF com óleo de capivara por gavagem durante 6 semanas.

As dietas foram escolhidas de acordo com AIN93⁽¹²²⁾ e manipuladas pela empresa Prag soluções Biociências (São Paulo, www.prag solucoes.com.br). As composições químicas das dietas estão descritas na tabela abaixo (Tabela 6).

Tabela 6 – Composição das rações

Ingredientes (g/Kg)	SC	HF
Caseína (≥ 85% proteína)	140,0	190,0
Amido de Milho	620,692	250,692
Sacarose	100,0	100,0
Oleo de soja	40,0	40,0
Banha de porco	-	320,0
Oleo de capivara	-	-
Oleo de peixe	-	-
Fibra	50,0	50,0
Mix vitamina*	10,0	10,0
Mix mineral**	35,0	35,0
Cistina	1,8	1,8
Colina	2,5	2,5
Antioxidante	0,008	0,008
Total (g)	1000,0	1000,0
Energia (kcal/g)	3807	5407
Carboidrato (%)	76	26
Proteína (%)	14	14
Lipídio (%)	10	60

Legenda: grupo controle (SC); grupo hiperlipídico com banha de porco (HF).

Nota: *Vitaminas e **Minerais presentes no mix estão de acordo com a AIN93M.

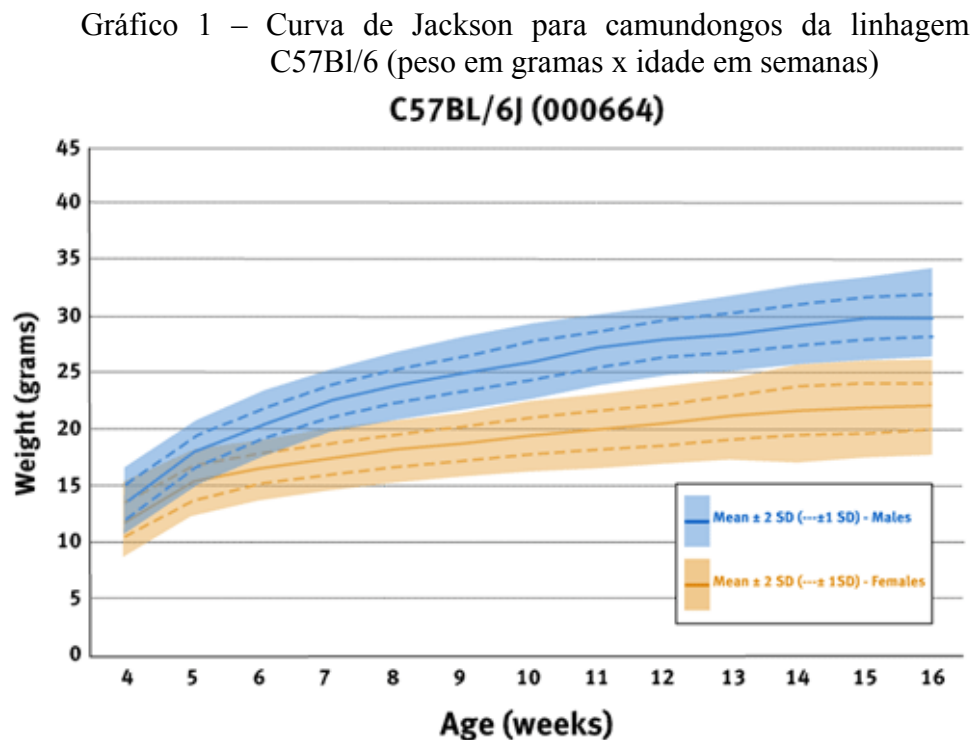
Fonte: O autor, 2019.

2.3 Protocolo Experimental

As colônias foram obtidas do Centro de desenvolvimento de modelos experimentais para Medicina e Biologia da UNIFESP, e mantidas no Biotério do Centro de Pesquisa Experimental do CESVA/FAA.

2.4 Biometria

Todos os animais foram pesados anteriormente ao início do experimento. Diante dos resultados, foi feita uma análise do peso dos animais conforme a curva de Jackson (Gráfico 1), e assim, estando os animais com o peso entre 25 e 30 gramas, foram inseridos no experimento.



Fonte: O autor, 2019.

2.5 Massa corporal

A massa corporal (MC) foi verificada semanalmente durante todo o experimento, em balança digital (precisão 0,01g). As evoluções da MC dos camundongos no decorrer das semanas foram calculadas e traçadas.

2.6 Pressão arterial

A pressão arterial sistólica foi aferida nos camundongos pelo método não invasivo da pletismografia da artéria da cauda (pletismógrafo de cauda com aquecedor V 3.0, Insight, Ribeirão Preto, Brasil), semanalmente durante a fase experimental.

2.7 Teste de tolerância oral à glicose (TOTG)

Foi realizado o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) em dois momentos, quando todos completaram 12 semanas de dieta e uma semana antes da eutanásia (18 semanas). Para a realização do TOTG, foi administrado uma quantidade conhecida de soro glicosado hipertônico (glicose a 25%) por gavagem orogástrica, e depois foi coletado sangue da veia da cauda após 0, 30, 60 e 120 minutos. Nos dias de aferição os animais permaneceram em jejum de seis horas. O sangue foi coletado através de uma incisão pequena na ponta da cauda do camundongo. A determinação dos níveis de glicose no sangue (mg/dL) foi realizada com glicosímetro (Accu-Chek, Roche, São Paulo, SP, Brasil).

2.8 Eutanásia

Os animais foram submetidos ao jejum alimentar de 6h e, em seguida, profundamente anestesiados com pentobarbital sódico intraperitoneal (150 mg / kg). Depois de anestesiados, abdômen e tórax foram abertos e o sangue foi coletado por punção cardíaca no átrio direito, sendo posteriormente centrifugado (120 x g durante 15 minutos) e o soro estocado a -80°C. Após coleta do sangue, os animais foram dissecados e o coração retirado e lavado em solução fisiológica a fim de retirar todo o sangue. O coração teve sua massa aferida em balança de precisão digital (precisão 0,001g). Posteriormente o ventrículo esquerdo foi isolado, e a sua massa e volume foram aferidas como descrito anteriormente. Fragmentos do coração foram seccionados e imersos em solução fixadora adequada e processados para rotina microscópica (microscopia de luz e microscopia eletrônica). Em seguida o tecido adiposo visceral (gordura

epididimária, encontrada ao redor dos ureteres, bexiga e epidídimos; retroperitoneal) e o tecido adiposo subcutâneo (gordura inguinal e subescapular) foram dissecados e retirados. Esses órgãos tiveram sua massa aferida em balança de precisão e posteriormente fragmentos foram fixados em paraformaldeído 4% ou congelados em nitrogênio líquido. A tíbia esquerda foi retirada e o comprimento aferido com auxílio do paquímetro. Os valores obtidos foram utilizados para padronização da massa do coração e de todos os tecidos retirados.

2.9 Análise do sangue

Para a análise perfil lipídico foi utilizado o teste enzimático colorimétrico (Bioclin, Quibasa, Belo Horizonte, MG, Brasil), sendo analisado colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG).

2.10 Microscopia de Luz

Fragmentos do ventrículo esquerdo foram armazenados em solução fixadora (solução de formaldeído tamponado a 10 %). Posteriormente, os fragmentos foram lavados em água corrente e iniciado o processo de desidratação em soluções com concentrações crescentes de álcool etílico (70%, 90% e 100%). Em seguida, os fragmentos foram diafanizados em xilol e embebidos em parafina. Os fragmentos embebidos em parafina foram incluídos em Paraplast plus (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) e seccionados com 5 μ m de espessura. Os cortes obtidos foram corados com hematoxilina-eosina, a fim de estudar a morfologia do ventrículo esquerdo e a distribuição do tecido conjuntivo, respectivamente.

2.11 Microscopia Eletrônica

Fragmentos do ventrículo esquerdo foram fixados em glutaraldeído a 2,5% (Riedel-de-Haen, Alemanha) em tampão de cacodilato 0,1 M (pH 7,2). Após a fixação, as amostras foram lavadas três vezes (15 minutos cada) em 0,1 M de tampão de imidazol (pH 7,5) e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 2% (Sigma Aldrich Louis, EUA) em tampão imidazol durante 30 minutos⁽²⁴²⁾ e, em seguida, novamente lavadas (três vezes, 15 minutos cada) em tampão de imidazol 0,1M e iniciado o processo de desidratação. As amostras foram desidratadas através de uma série gradual de acetona (30%, 50%, 70%, 90% e duas vezes em 100%) e, em seguida, foram embebidas em Epon. Os blocos de Epon foram cortados (cortes semifinos - 1 µm de espessura), e os cortes corados com azul de toluidina (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), e observados em microscópio de luz (Olympus BX 53F, Tóquio, Japão). Seções ultrafinas (70 nm) foram obtidas com um ultramicrótomo (Leica Ultracut-UCT, Leica Mikrosystem e GmbH, Áustria), e contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo. Posteriormente foram examinadas ao microscópio eletrônico de transmissão (Zeiss EM 906 Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha) a 80 Kv.

2.12 Morfometria dos adipócitos

O tecido adiposo epididimário depois de incluído em parafina, foi seccionado (5 µm de espessura) e corado com hematoxilina-eosina. Em seguida, imagens digitais aleatórias foram adquiridas com um sistema consistindo de um microscópio Olympus BX53 (Olympus BX 53F, Tóquio, Japão) e uma câmera digital (Olympus DP72, Tóquio, Japão). Após a aquisição das imagens, os diâmetros dos adipócitos foram medidos e as médias calculadas (um mínimo de 50 adipócitos por animal)⁽¹³⁴⁾. Para a realização da morfometria do tecido adiposo foi utilizado o software Image-Pro Plus versão 7.0 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA).

2.13 Estereologia do miocárdio

Depois do ventrículo esquerdo ser incluído em Parafina e cortado em (5 µm de espessura) e corado Hematoxilina e eosina, imagens digitais foram obtidas com um sistema consistindo de um microscópio Olympus BX53 (Olympus BX 53F, Tóquio, Japão) e uma câmera digital (Olympus DP72, Tóquio, Japão). As imagens obtidas foram analisadas em um sistema-teste constituído por 36 pontos (PT), em uma área teste definida (AT), no qual duas linhas consecutivas da área-teste foram consideradas como “linhas proibidas” para evitar superestimação. Os seguintes parâmetros foram analisados: densidade de volume, V_v [estrutura] = P_p [estrutura] / PT (P_p representa o número de pontos que atingem a estrutura), densidade numérica por área, Q_a [estrutura] = número de perfis / AT; e área seccional média, A [estrutura] = $(V_v) / (2x (Q_a))$. As estruturas analisadas foram os cardiomiócitos (cmi) e o interstício cardíaco (com foco no tecido conjuntivo (tc) do miocárdio)⁽²⁴³⁾.

2.14 Western blotting

As proteínas do ventrículo esquerdo foram extraídas utilizando tampão gelado para homogeneização contendo inibidores de proteases (cloreto de sódio a 150 mM, NP-40 a 1,0%, Tris a 50 mM, pH 8,0, 1 µg/ml de coquetel de inibidor de protease, Sigma-Aldrich, MO, USA). Os homogenados resultantes foram centrifugados a 8640x duas vezes por 15 min a 4°C e os infranadantes aliqotados e armazenados a -80° C até serem usados. Amostras contendo 15 µg/ml de proteínas foram separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS a 10%. Marcadores coloridos (BIO-RAD, Hercules, USA) foram usados como marcadores de pesos moleculares. As proteínas foram, então, transferidas para membranas de fluoreto de polivinilideno (PVDF; Amersham Biosciences, Pi Cataway, NJ, USA), que foram incubadas em albumina de soro bovino à 5% em T-TBS (contendo Tris-HCL a 20 mM com pH 7,5, NaCl a 0,5 mM, Tween 20 a 0,05%) por 1,5 hora em temperatura ambiente para o bloqueio de sítios de ligações inespecíficas. Em seguida, a membrana foi incubada com um dos seguintes anticorpos: anticorpo policlonal para UCP-2 anti-goat (75kDa) (SC-6527, Santa Cruz Biotechnology), e anticorpo monoclonal para β-actina anti-mouse (42 kDa) (SC-130301, Santa Cruz Biotechnology) em T-TBS overnight a 4°C. O anticorpo monoclonal para beta-actina anti-

mouse foi usado para corrigir os valores. Após seguidas lavagens em T-TBS, as membranas foram incubadas por uma hora em temperatura ambiente com anticorpo secundário acoplado a peroxidase anti-goat ou anti-mouse em T-TBS, de acordo com a especificação do anticorpo primário. A membrana foi, então, incubada com reagente de detecção de quimioluminescência aumentada (ECL, Amersham Bio Ciencias, Pi Cataway, NJ, USA) e exposto a um filme de raio-x. A análise densiométrica das imunomarcações foi realizada através do software Image Pro Plus (versão 7.0, Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA) e os valores finais da UCP-2 foram corrigidos pelo número de mitocôndrias íntegras (mitocôndrias totais – mitocôndrias degeneradas).

2.15 Análise Estatística

Os dados são apresentados em média \pm EPM. Os dados biométricos foram testados pela análise de variância (ANOVA) one-way e pós-teste de Tukey. As diferenças para 2 grupos (pré tratamento) foram testadas usando o teste t-pareado. Em todos os casos o nível de significância $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativo.

3 RESULTADOS

3.1 Massa Corporal

A massa corporal (MC) dos camundongos foi verificada semanalmente do tempo zero até o final do experimento (18^o semana) e os resultados foram analisados e expressos como média e erro padrão da média (Gráfico 2).

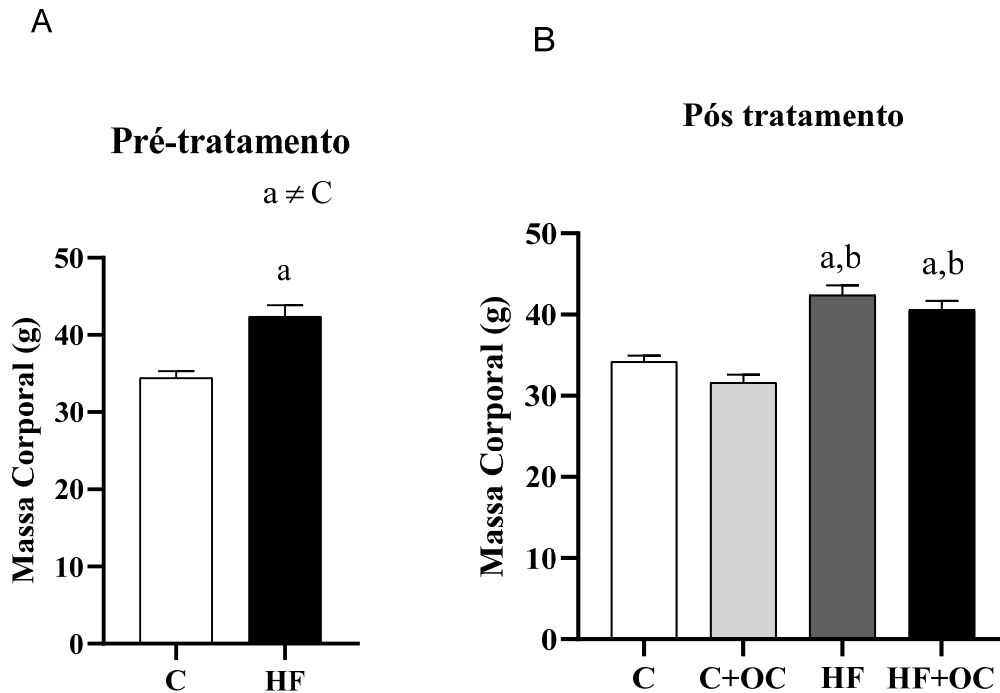
A MC dos camundongos alimentados com dieta hiperlipídica (HF) aumentou progressivamente quando comparados com os camundongos alimentados com dieta controle nas 12 primeiras semanas, de pré tratamento. O grupo HF apresentou um aumento de 23% quando comparado ao grupo controle ($p \leq 0,0001$).

No final das 18 semanas do experimento, a MC permaneceu aumentada nos grupos, 24% HF ($p \leq 0,0001$) e 19% HF+OC ($p \leq 0,001$), quando comparados ao grupo C. A massa corporal foi 34% maior no grupo HF ($p \leq 0,0001$) e 28% maior no grupo HF+OC ($p \leq 0,0001$) quando comparados ao grupo C+OC.

Não houve diferença significativa entre os grupos C e C+OC, assim como entre os grupos HF e HF+OC.

A MC média no pré tratamento nos grupos C e HF foi de 34,45 g e 42,37 g, respectivamente. No período pós tratamento a média nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 34,2 g, 31,62 g, 42,38 g e 40,6 g, respectivamente.

Gráfico 2 – Massa corporal A pré tratamento (12 semanas); B final tratamento (18 semanas)



Legenda: Dados referentes a MC (gramas) de camundongos dos grupos C (Controle), C+OC (Controle tratado com Óleo de Capivara), HF (Hiperlipídica) e HF+OC (hiperlipídica tratado com Óleo de Capivara). Pré tratamento: C x HF $p \leq 0,0001$. Pós tratamento: HF x C $p \leq 0,0001$; HF+OC x C $p \leq 0,001$; HF+OC x C+OC $p \leq 0,0001$; HF+OC x C+OC $p \leq 0,0001$.

Nota: Os dados foram expressos como média \pm erro padrão.

Fonte: O autor, 2019.

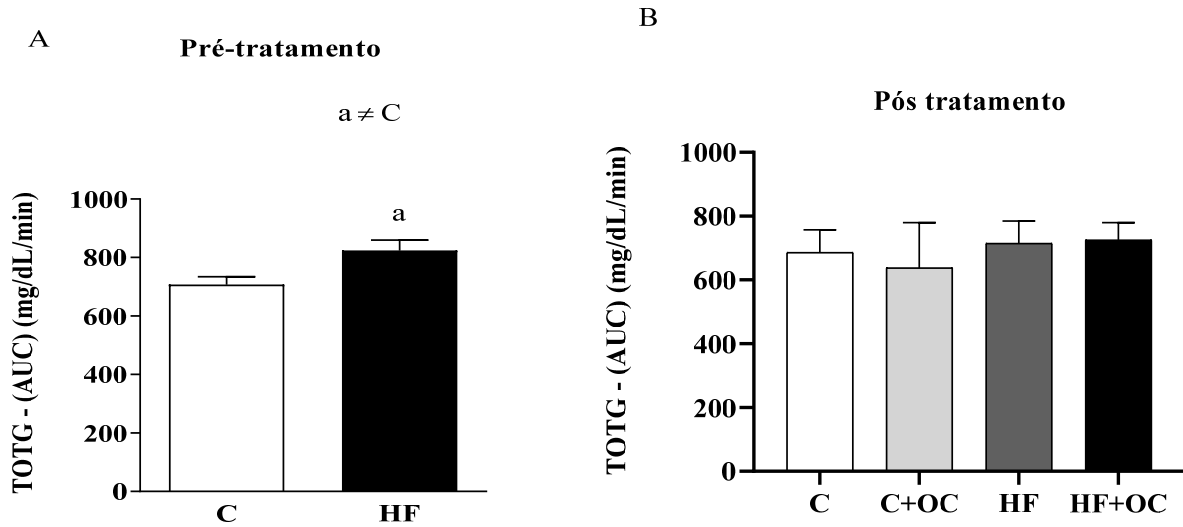
3.2 Teste Oral de Tolerância a Glicose

O teste de tolerância oral a glicose (TOTG) foi realizado nos camundongos no início do experimento para configuração de uma amostra homogênea, na qual não verificamos a inexistência de intolerância à glicose nos animais que foram estudados (Gráfico 3).

Após 12 semanas de indução dietética (período pré-tratamento), foi realizado novamente TOTG, onde foi verificado, através da análise dos dados pela AUC, que os camundongos dos grupos que receberam a dieta hiperlipídica apresentaram intolerância à glicose quando comparados ao grupo C.

Ao final do experimento (período pós-tratamento), foi realizado um novo TOTG a fim de verificar se o tratamento proposto com óleo de capivara atenuou ou reverteu o quadro de intolerância à glicose. Onde observamos que não houve diferença significativa entre os grupos e seus respectivos controles nas duas análises realizadas.

Gráfico 3 – Teste oral de tolerância a glicose



Legenda: A: dados referentes a tolerância à glicose no período pré-tratamento em camundongos dos grupos C (Controle) e HF (Hiperlipídica), avaliados na 12ª semana, onde “a” representa $p \leq 0,05$ em relação ao grupo C. B: dados referentes a tolerância à glicose no período pós-tratamento em camundongos dos grupos C (Controle), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara); não houve diferença significativa entre os grupos.

Nota: Os resultados de A e B foram avaliados pela AUC.

Fonte: O autor, 2019.

3.3 Pressão Arterial Sistólica (PAS)

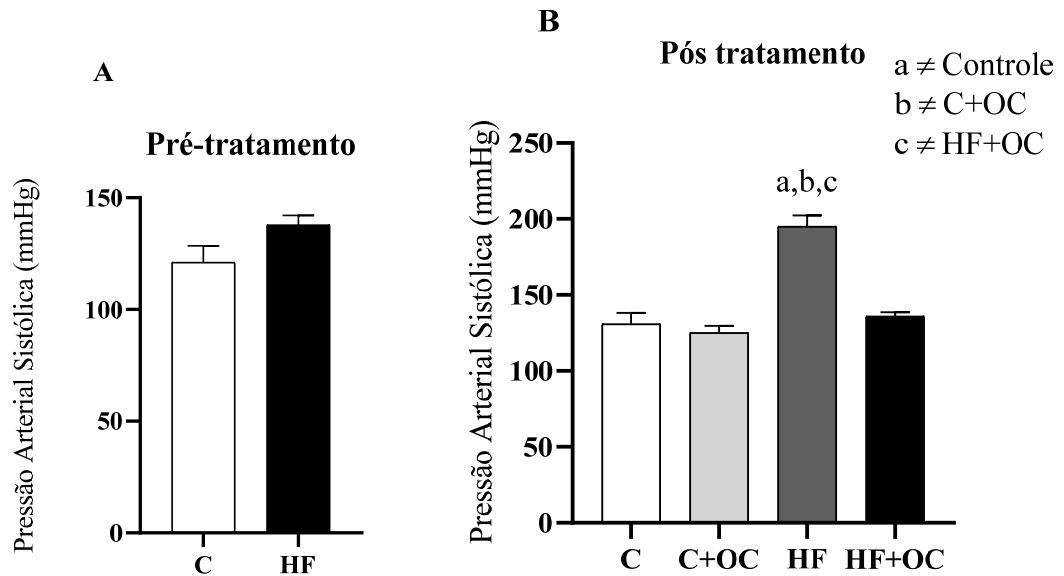
A PAS no início do experimento não demonstrou diferenças significativas quando comparados com seus respectivos grupos (Gráfico 4).

No final do experimento (18ª semana), observamos um aumento de 48% na pressão arterial do grupo HF, quando comparado ao grupo controle ($p \leq 0,0001$), e um aumento de 55% da pressão arterial no grupo HF quando comparado ao grupo C+OC ($p \leq 0,0001$).

Quando comparamos o grupo HF com o grupo HF+OC, o primeiro demonstrou um aumento de 43% da pressão arterial ($p \leq 0,001$), mostrando que o óleo de capivara foi capaz de atenuar a elevação pressórica nos animais pertencentes ao grupo HF+OC.

A PAS média no pré tratamento nos grupos C e HF foi de 121 mmHg e 137,8 mmHg, respectivamente. No período pós tratamento a média nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 131 mmHg, 125,2 mmHg, 195 mmHg e 136 mmHg, respectivamente.

Gráfico 4 – Pressão arterial sistólica nos períodos pré (A) e pós tratamento (B)



Nota: Dados referentes a pressão arterial sistólica aferida pelo método da pletismografia de cauda em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). Sem diferença significativa no período pré tratamento (A). No pós tratamento (B): HF x C $p \leq 0,0001$; HF x C+OC $p \leq 0,0001$; HF x HF+OC $p \leq 0,001$.

Fonte: O autor, 2019.

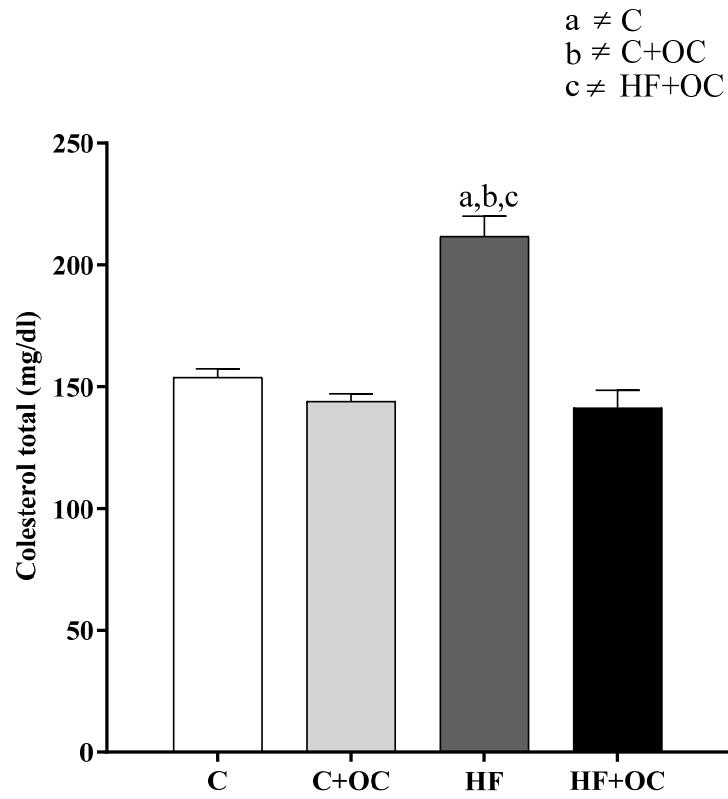
3.4 Perfil lipídico

Os níveis plasmáticos de colesterol total e triglicerídeos foram avaliados no período pós-tratamento (final da 18ª semana) através do kit da Bioclin System II.

Em relação aos níveis de colesterol o grupo HF apresentou aumento em relação a todos os demais grupos. Sendo o colesterol maior em 37,5% quando comparado ao grupo C, com $p \leq 0,0001$; 47% maior quando comparado ao grupo C+OC, com $p \leq 0,001$ e 49,8% maior quando comparado ao grupo HF+OC, com $p \leq 0,0001$. Quando analisamos os demais grupos não houve diferença estatisticamente significativa. A melhora do colesterol no grupo HF+OC quando comparado ao grupo HF mostra um possível efeito benéfico do tratamento experimental proposto (Gráfico 5).

A dosagem do colesterol total média nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 153,8 mg/dL, 143,9 mg/dL, 211,7 mg/dL e 141,3 mg/dL, respectivamente.

Gráfico 5 – Dosagem de colesterol em mg/dL



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídico) e HF + OC (Hiperlipídico + óleo de capivara). "a" HF ≠ C, $p \leq 0,0001$; "b" HF ≠ C+OC, $p \leq 0,001$; HF ≠ HF+OC, com $p \leq 0,0001$.

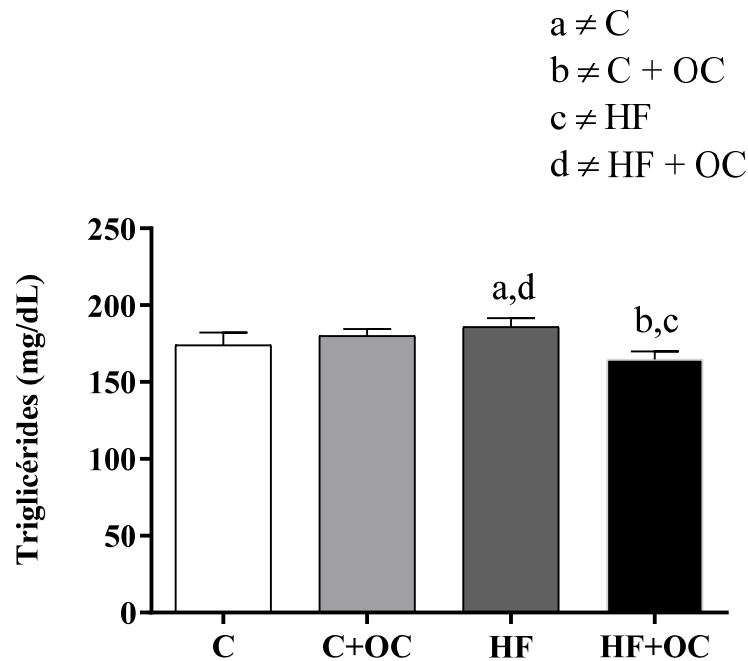
Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

Fonte: O autor, 2019.

Em relação aos níveis de triglicérides, sua dosagem foi maior no grupo HF, quando comparado ao grupo HF+OC em 13%, com $p \leq 0,001$ e quando comparado ao grupo C foi 3,4% maior, com $p \leq 0,05$. A dosagem foi 9% maior no grupo C+OC quando comparado ao grupo HF+OC, com $p \leq 0,01$ (Gráfico 6).

A dosagem de triglicérides média nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 174mg/dL, 180mg/dL, 186mg/dL e 164,6mg/dL, respectivamente.

Gráfico 6 – Dosagem de triglicérides mg/dL



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). Diferença significativa: HF x C com $p \leq 0,05$; HF x HF+OC com $p \leq 0,001$; HF+OC x C+OC com $p \leq 0,01$.

Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

Fonte: O autor, 2019.

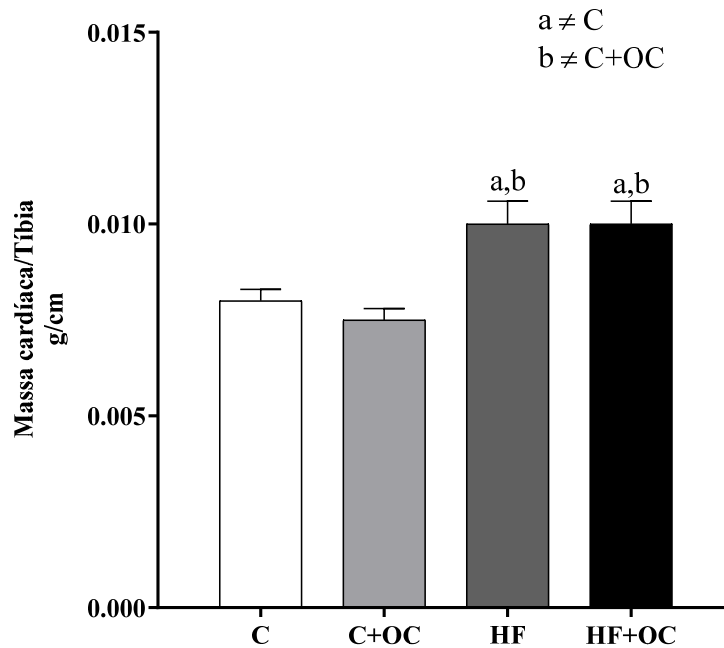
3.5 Massa Cardíaca

A massa cardíaca foi 25% maior no grupo HF quando comparado ao grupo controle ($p \leq 0,05$), mostrando que a dieta apresentou impacto na massa cardíaca. A massa cardíaca também foi 25% maior no grupo HF + OC quando comparado ao grupo C ($p \leq 0,05$) (Gráfico 7).

Comparando os grupos HF e C+OC, a massa cardíaca foi 33% maior no grupo HF ($p \leq 0,01$). Entre os grupos HF+OC e C+OC, a massa cardíaca foi 33% maior no grupo HF+ OC ($p \leq 0,01$), demonstrando que a utilização do óleo de capivara não foi capaz de evitar um remodelamento cardíaco.

A massa cardíaca dividida pela tibia média nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 0,008 g/cm, 0,0075 g/cm, 0,01 g/cm, 0,01 g/cm, respectivamente.

Gráfico 7 – Massa cardíaca/tíbia(g/cm)



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara).
 Diferença significativa: HF x C com $p \leq 0,05$; HF x C+OC com $p \leq 0,001$;
 HF+OC x C com $p \leq 0,05$; HF+OC x C+OC com $p \leq 0,01$.

Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

Fonte: O autor, 2019.

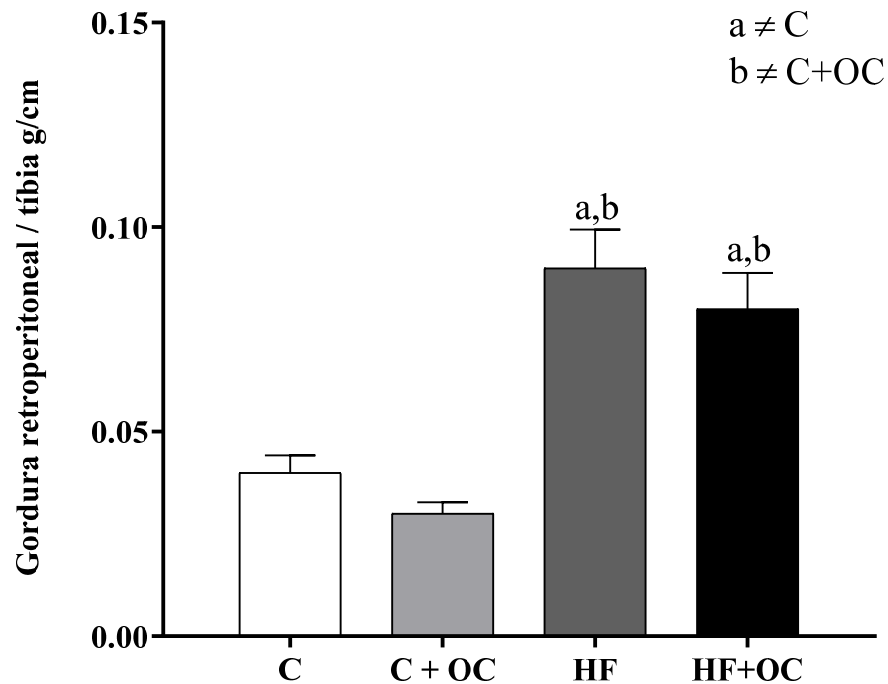
Em relação a massa do ventrículo esquerdo não houve diferença entre os grupos.

3.6 Gordura Retroperitoneal

A gordura retroperitoneal foi pesada e seu valor corrigido pelo comprimento da tibia após eutanásia. Seu peso foi 86% maior no grupo HF quando comparado ao grupo C ($p \leq 0,01$). Sua medida foi 149% maior no grupo HF em relação ao grupo C+OC ($p \leq 0,001$). O grupo HF+OC apresentou um aumento de 149% quando comparado ao grupo C+OC ($p \leq 0,001$) (Gráfico 8). Quando comparado ao grupo C o grupo HF+OC apresentou um aumento de 100% na gordura retroperitoneal ($p \leq 0,01$).

A gordura retroperitoneal dividida pela tibia média nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 0,04 g/cm, 0,03 g/cm, 0,09 g/cm, 0,08 g/cm, respectivamente.

Gráfico 8 – Gordura retroperitoneal/tíbia(g/cm)



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). Diferença significativa: HF x C com $p \leq 0,01$; HF x C+OC com $p \leq 0,001$; HF+OC x C com $p \leq 0,01$; HF+OC x C+OC com $p \leq 0,001$.

Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

Fonte: O autor, 2019.

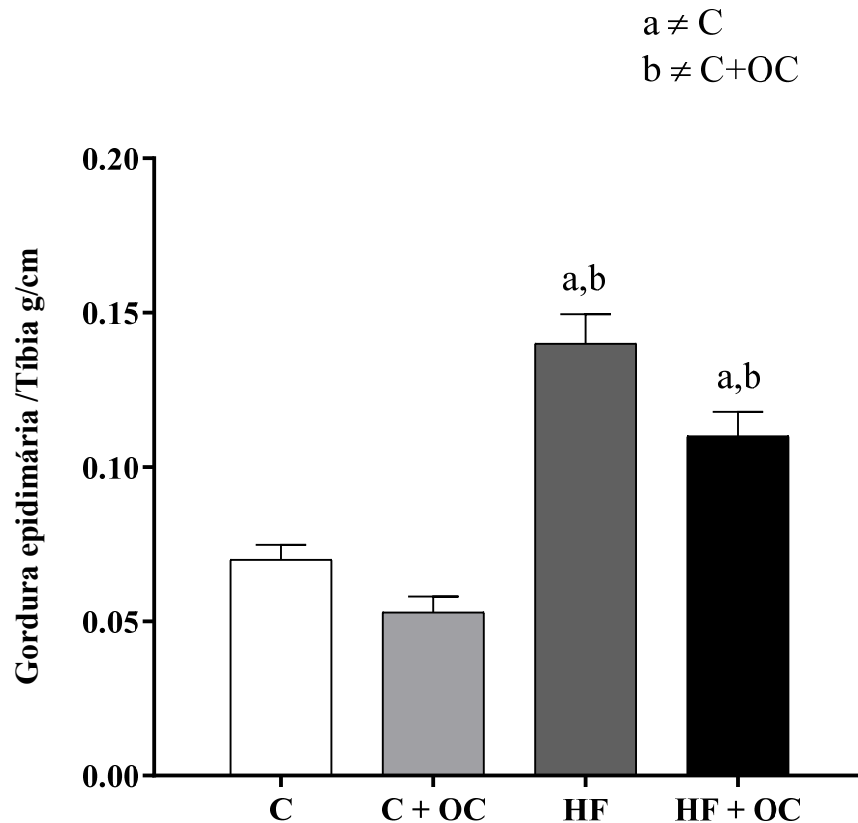
3.7 Gordura Epididimária

A gordura epididimária foi pesada, e seu valor corrigido pelo comprimento da tíbia após eutanásia. O grupo HF apresentou um peso 62% maior quando comparado ao grupo C ($p \leq 0,001$), mostrando que a dieta HF teve impacto no acúmulo de tecido adiposo epididimário. Ao comparar os grupos HF+OC com o grupo C, encontramos um aumento de 48% no grupo HF+OC ($p \leq 0,01$) (Gráfico 9).

Quando comparamos o grupo HF com o grupo C+OC encontramos um aumento de 121% no grupo HF com $p \leq 0,0001$. Na avaliação dos grupos tratados (grupo HF+OC e o grupo C+OC) o peso foi 103% maior no grupo HF+OC, com $p \leq 0,0001$.

A gordura epididimária dividida pela tíbia média nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 0,07 g/cm, 0,053 g/cm, 0,14 g/cm, 0,11 g/cm, respectivamente.

Gráfico 9 – Gordura Epididimária/tíbia (g/cm)



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). Diferença significativa: HF x C com $p \leq 0,001$; HF x C+OC com $p \leq 0,0001$; HF+OC x C com $p \leq 0,01$; HF+OC x C+OC com $p \leq 0,0001$.

Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

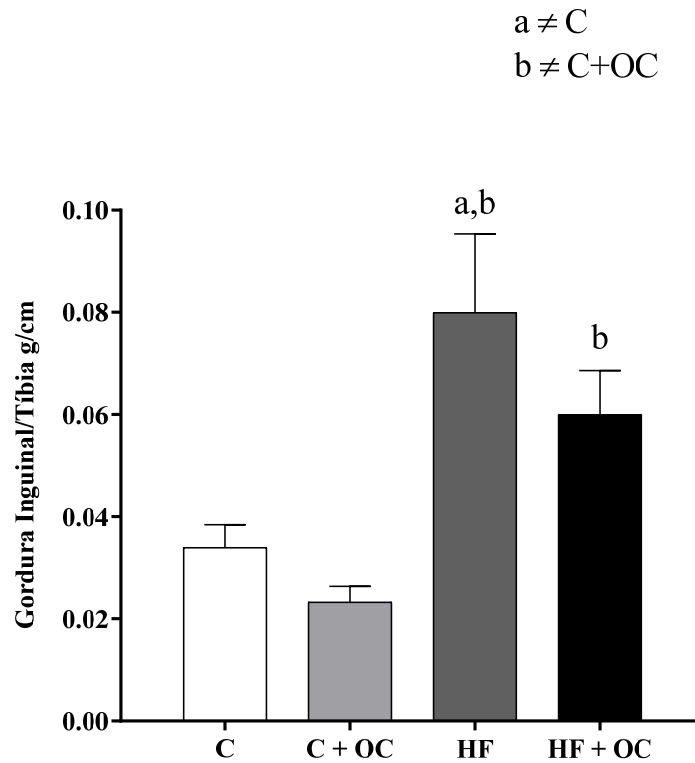
Fonte: O autor, 2019.

3.8 Gordura Inguinal

A gordura inguinal foi pesada, e seu valor corrigido pelo comprimento da tíbia após eutanásia. O grupo HF apresentou um aumento de 161% ($p \leq 0,01$) quando comparado ao grupo C, mostrando que a dieta HF apresentou impacto no acúmulo de gordura inguinal. Quando comparamos o grupo HF com o grupo C+OC, o peso foi 247% maior no grupo HF ($p \leq 0,001$). Quando comparamos o peso da gordura inguinal entre o grupo HF+OC com o grupo C+OC encontramos um aumento de 160% no grupo HF+OC quando comparados ao grupo C+OC ($p \leq 0,05$) (Gráfico 10).

A gordura inguinal dividida pela tíbia média nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 0,034 g/cm, 0,023 g/cm, 0,08 g/cm, 0,06 g/cm, respectivamente.

Gráfico 10 – Gordura Inguinal/tíbia (g/cm)



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). Diferença significativa: HF x C com $p \leq 0,01$; HF x C+OC com $p \leq 0,001$; HF+OC x C+OC com $p \leq 0,05$.

Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

Fonte: O autor, 2019.

3.9 Gordura Subescapular

A gordura subescapular foi pesada, e seu valor corrigido pelo comprimento da tíbia após eutanásia. Não houve diferença significativa entre os grupos.

3.10 Morfometria Dos Adipócitos

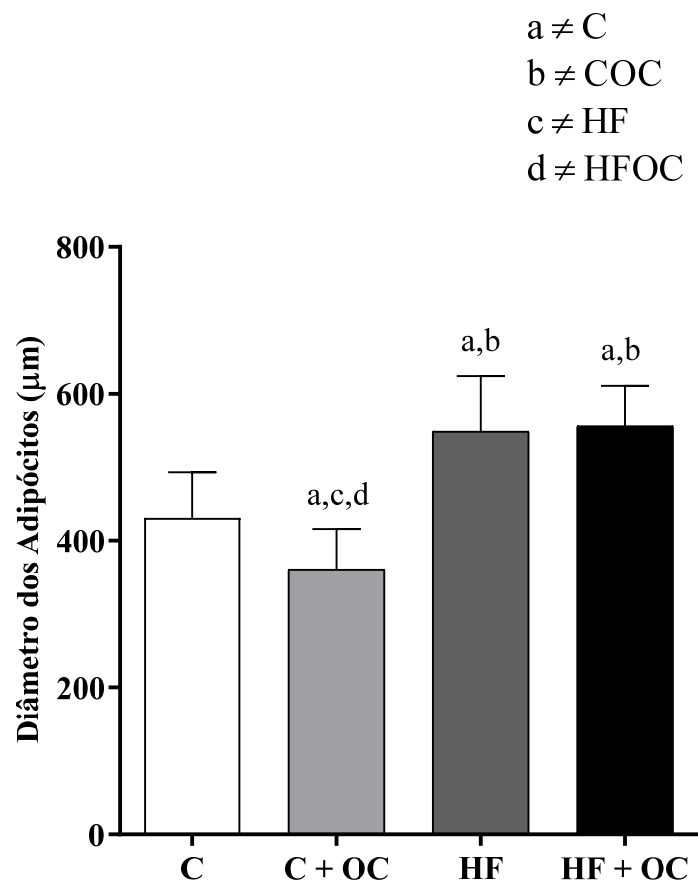
Em relação a morfometria dos adipócitos houve uma redução do diâmetro dos adipócitos de 16% no grupo C+OC quando comparado ao grupo C ($p \leq 0,05$). O grupo HF e o

grupo HF+OC apresentaram um aumento de 52% e 54%, respectivamente, quando comparado ao grupo C+OC, ambos com $p \leq 0,0001$ (Gráfico 11).

Em relação ao grupo C, os grupos HF e HF+OC apresentaram um aumento de 27% e 29%, respectivamente, ambos com $p \leq 0,0001$.

O diâmetro médio dos adipócitos nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 431 μm , 360 μm , 548,8 μm e 556 μm , respectivamente.

Gráfico 11 – Diâmetro dos adipócitos (μm)



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). Diferença significativa: HF x C com $p \leq 0,0001$; HF x C+OC com $p \leq 0,0001$; HF+OC x C com $p \leq 0,0001$; HF+OC x C+OC com $p \leq 0,0001$; C x C+OC com $p \leq 0,05$.

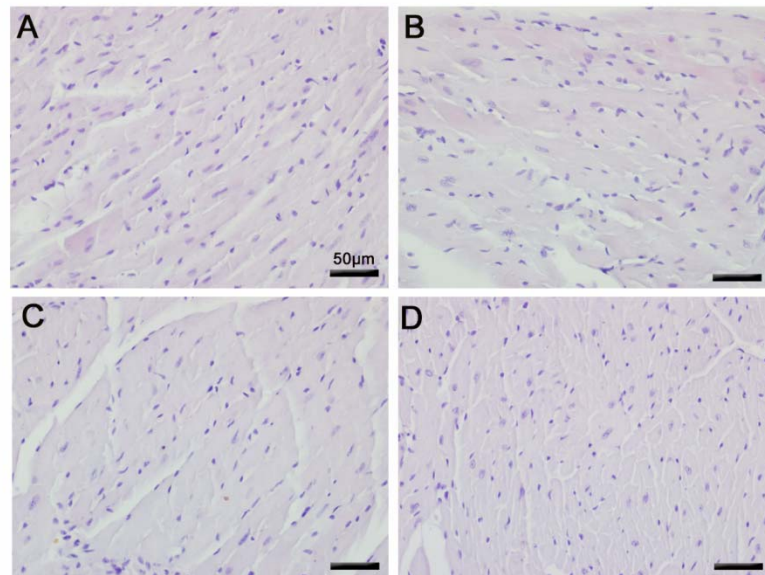
Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

Fonte: O autor, 2019.

3.11 Microscopia de Luz

Na Figura 9 observa-se que no grupo C (controle) mostrado na imagem A e no grupo C+OC mostrado na imagem B, apresentam um número de núcleos acentuadamente mais numerosos do que no grupo HF (high fat) mostrado na imagem C e que no grupo HF+OC mostrado na imagem D. Portanto, os grupos C e C+OC apresentam núcleos mais numerosos que o grupo HF.

Figura 9 – Fotomicrografias de cortes de miocárdio



Legenda: Imagem A grupo controle; Imagem B grupo controle tratado com óleo de capivara; imagem C grupo HF; Imagem D grupo HF tratado com óleo de capivara.

Nota: Técnica de coloração: hematoxilina e eosina.

Fonte: O autor, 2019.

3.12 Estereologia do Miocárdio

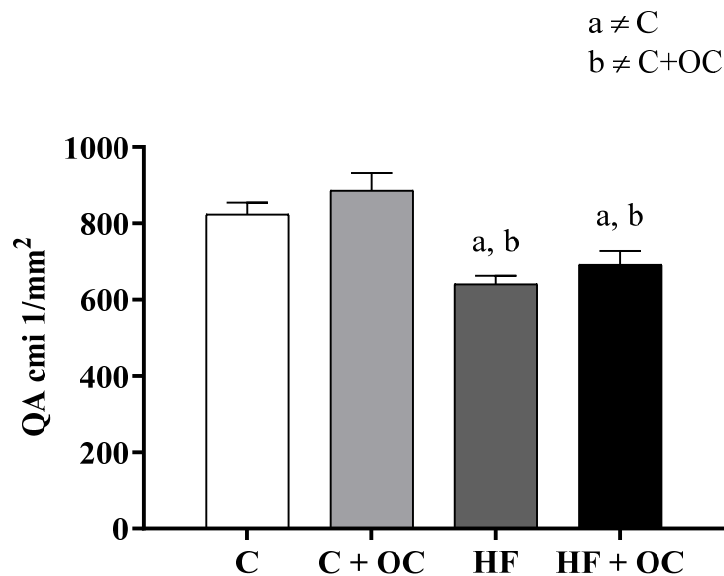
3.12.1 QA cardiomiócitos

Em relação a densidade de cardiomiócitos, houve uma redução de 22% no grupo HF, quando comparado ao C, com $p \leq 0,01$; Uma redução de 16% no grupo HF+OC quando

comparado ao grupo C, com $p \leq 0,05$; Uma redução de 27 % no grupo HF quando comparado ao grupo C+OC, $p \leq 0,0001$; e uma redução de 22% no grupo HF+OC quando comparado ao grupo C+OC, com $p \leq 0,001$; Não houve diferença significativa quando comparamos os grupos C+OC e HF+OC com seus respectivos controles (Gráfico 12).

O QA de cardiomiócitos médio nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 824/mm², 886/mm², 641/mm² e 691,9/mm², respectivamente.

Gráfico 12 – QA cardiomiócitos (1/mm²)



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). Diferença significativa: HF x C com $p \leq 0,01$; HF x C+OC com $p \leq 0,0001$; HF+OC x C com $p \leq 0,05$; HF+OC x C+OC com $p \leq 0,001$.

Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

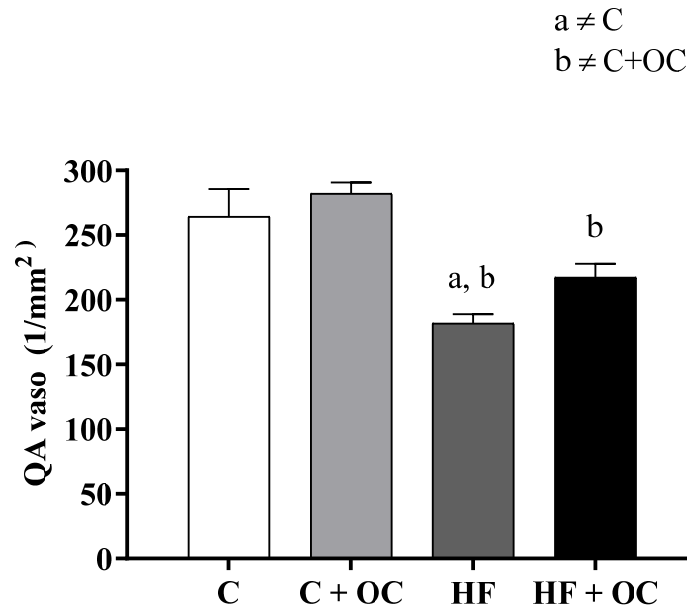
Fonte: O autor, 2019.

3.12.2 QA vaso

O grupo HF apresentou menor densidade de vasos em 31% quando comparado ao grupo C ($p \leq 0,0001$) e 35,5% quando comparado ao grupo C+OC ($p \leq 0,0001$); O grupo HF+OC apresentou menor densidade de vasos que o grupo C+OC com redução percentual de 23% ($p \leq 0,01$); Não houve diferença significativa quando comparamos os grupos tratados com seus respectivos controles (C x C+OC; HF x HF+OC) (Gráfico 13).

O QA de vaso médio nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 264,4/mm², 282,1/mm², 181,8/mm² e 217,3/mm², respectivamente.

Gráfico 13– QA vaso (1/mm²)



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). Diferença significativa: HF x C com $p \leq 0,0001$; HF x C+OC com $p \leq 0,0001$; HF+OC x C+OC com $p \leq 0,01$.

Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

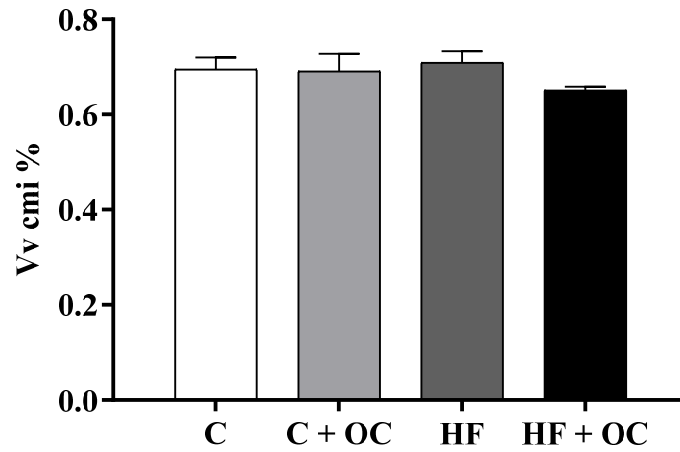
Fonte: O autor, 2019.

3.12.3 Vv cardiomiócito

Os grupos não mostraram nenhuma diferença significativa na densidade de volume dos cardiomiócitos (Vv cmi) (Gráfico 14).

O Vv de cardiomiócitos médio nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 0,695%, 0,691%, 0,7% e 0,65%, respectivamente.

Gráfico 14 –Vv cardiomiócito (%)



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara).

Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

Fonte: O autor, 2019.

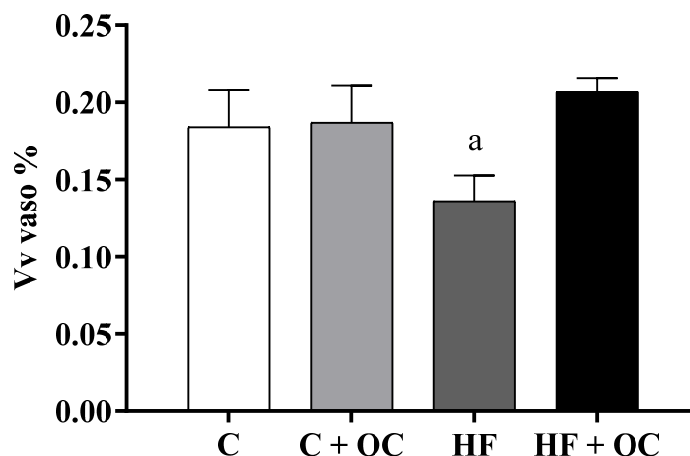
3.12.4 Vv vaso

A densidade de volume de vasos foi menor no grupo HF, quando comparado ao grupo HF+OC em 34%, com $p \leq 0,05$. Não houve diferença significativa entre os demais grupos (Gráfico 15).

O Vv de vaso médio nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 0,184%, 0,187%, 0,136% e 0,207%, respectivamente.

Gráfico 15 – Vv vaso (%)

a ≠ HF OC



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). HF x HF+OC com $p \leq 0,05$.

Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

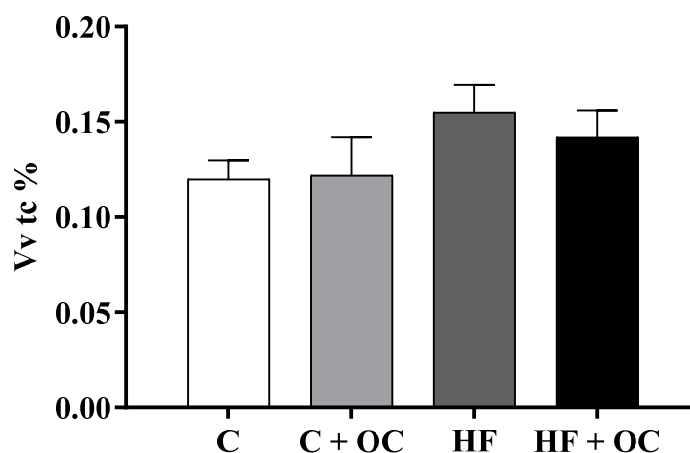
Fonte: O autor, 2019.

3.12.5 Vv tecido conjuntivo

Não houve diferença significativa entre os grupos. Entretanto pela análise do gráfico há uma tendência a redução do tecido conjuntivo no grupo HF+OC quando comparado ao grupo HF, demonstrando um possível benefício que poderá ser demonstrado com maiores amostras (Gráfico 16).

O Vv de tecido conjuntivo médio nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 0,12%, 0,122%, 0,155% e 0,142%, respectivamente.

Gráfico 16 – Vv tecido conjuntivo (%)



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara).

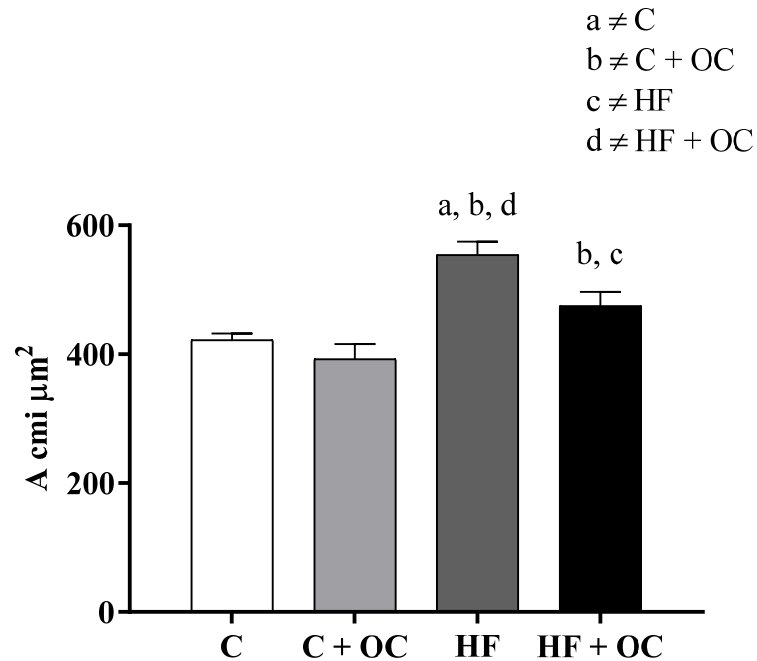
Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

Fonte: O autor, 2019.

3.12.6 Área cardiomiócito

Houve diferença significativa na área de seção de cardiomiócito, medida que reflete a presença de hipertrofia. Houve um aumento da área no grupo HF de 31% quando comparado ao grupo C, com $p \leq 0,0001$. Aumento de 41% no grupo HF quando comparado ao grupo C+OC, com $p \leq 0,0001$; Aumento de 21% no grupo HF+OC quando comparado ao grupo C+OC, com $p \leq 0,05$; Aumento de 16% no grupo HF, quando comparado ao grupo HF+OC, com $p \leq 0,05$ (Gráfico 17).

A área média dos cardiomiócitos nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de $422,3 \mu\text{m}^2$, $392,9 \mu\text{m}^2$, $554,3 \mu\text{m}^2$ e $475,2 \mu\text{m}^2$, respectivamente.

Gráfico 17 – Área cardiomiócitos (μm^2)

Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). Diferença significativa: HF x C com $p \leq 0,0001$; HF x C+OC com $p \leq 0,0001$; HF x HF+OC com $p \leq 0,05$; HF+OC x C+OC com $p \leq 0,05$.

Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

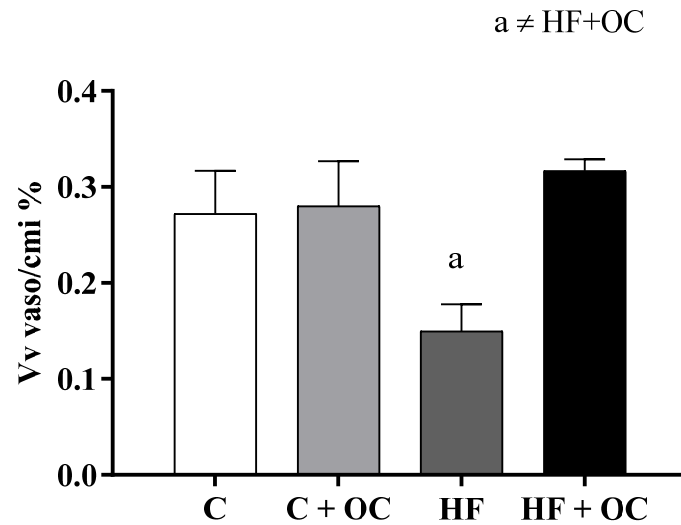
Fonte: O autor, 2019.

3.12.7 Vv vaso/cardiomiócito

Na análise da densidade por volume da relação vaso/cardiomiócito houve um aumento de 111% no grupo HF+OC quando comparado ao grupo HF, com $p \leq 0,01$. Não houve diferença significativa nas demais comparações (Gráfico 18).

O Vv vaso/cardiomiócito médio nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 0,272%, 0,28%, 0,15% e 0,317%, respectivamente.

Gráfico 18 – Vv vaso/cardiomiócito (%)



Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara).
Diferença significativa: HF x HF+OC com $p \leq 0,01$.

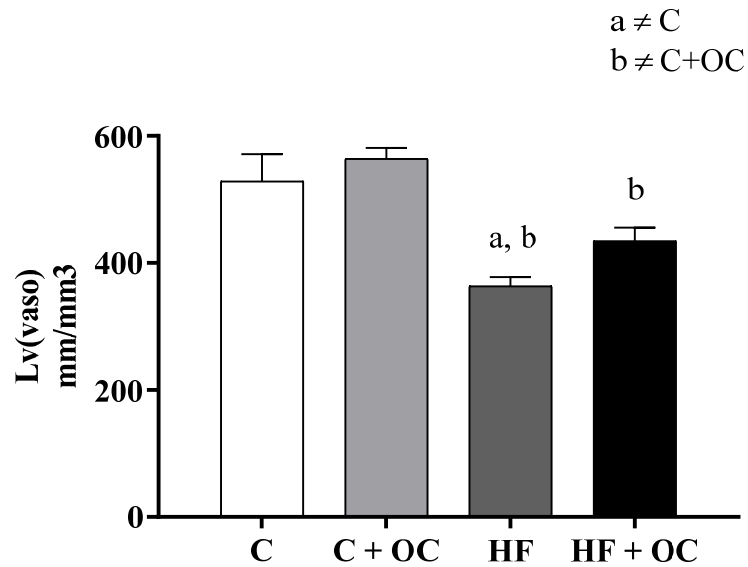
Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

Fonte: O autor, 2019.

3.12.8 Lv vaso

A densidade por comprimento de vasos foi menor no grupo HF quando comparado ao C em 31%, com $p \leq 0,001$; A densidade de vaso foi menor no grupo HF em relação ao grupo C+OC em 35,6%, com $p \leq 0,0001$; A densidade de vasos foi menor no grupo HF+OC em 23% quando comparado ao grupo C+OC, com $p \leq 0,01$. Não houve diferença quando comparamos o grupo C com C+OC e quando comparamos o grupo HF com HF+OC (Gráfico 19).

O Lv vaso médio nos grupos C, C+OC, HF e HF+OC foi de 528,7mm/mm³, 564,7 mm/mm³, 363,6 mm/mm³, 434,6 mm/mm³, respectivamente.

Gráfico 19 – Lv vasos - densidade por comprimento (mm/mm³)

Legenda: Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). Diferença significativa: HF x C com $p \leq 0,001$; HF x C+OC com $p \leq 0,0001$; HF+OC x C+OC com $p \leq 0,01$.

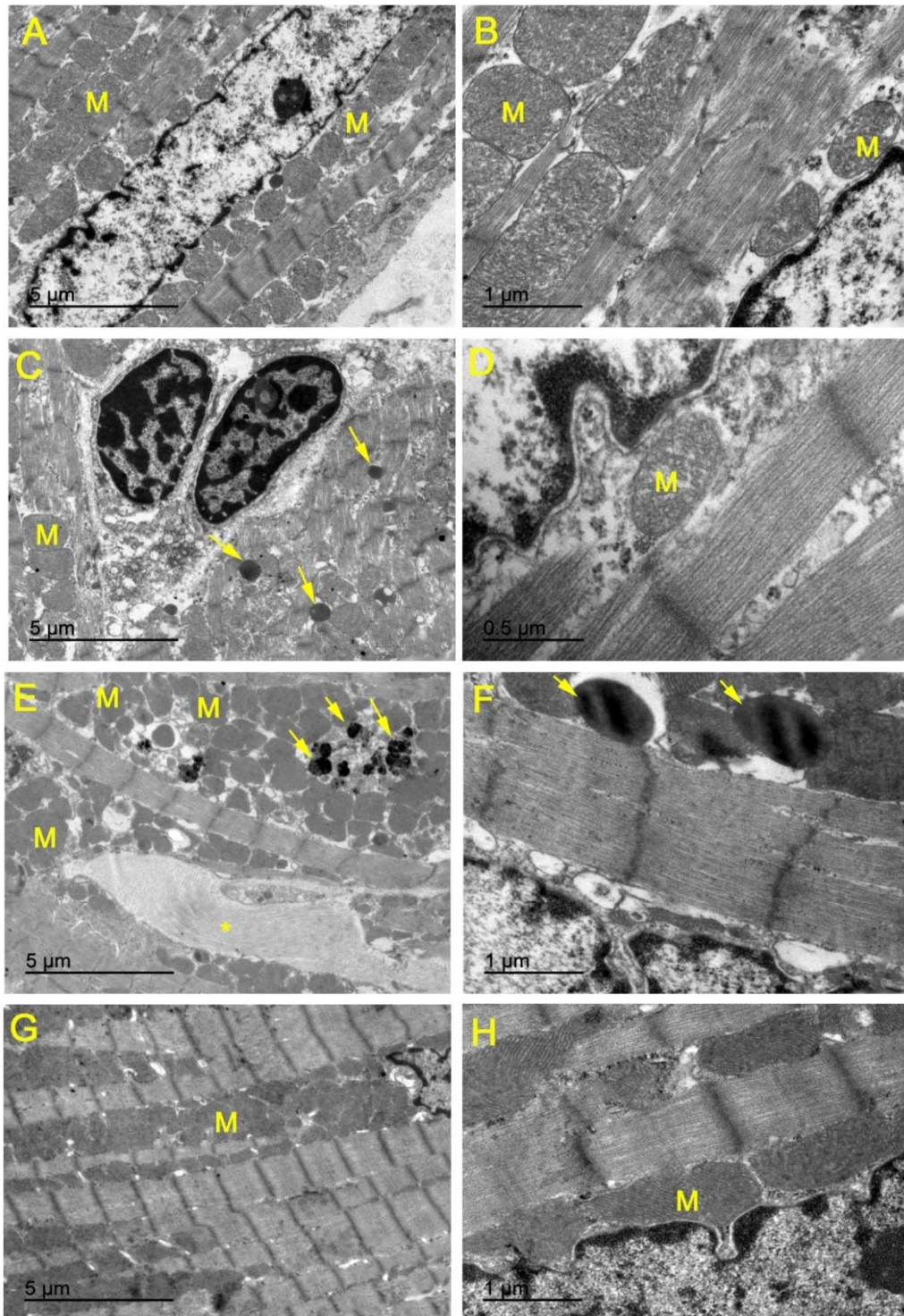
Nota: Valores expressos como média \pm erro padrão.

Fonte: O autor, 2019.

3.12.9 Microscopia Eletrônica de Transmissão do Miocárdio

Observamos na microscopia eletrônica de transmissão (Figura 10) no grupo C mitocôndrias normais como numerosas cristas. No grupo C+OC observamos os mesmos achados do grupo controle acrescidos de raras gotículas lipídicas. Já no grupo HF observamos gotículas lipídicas numerosas, mitocôndrias com redução das cristas e depósito de fibrilas colágenas na matriz extracelular. Em comparação com grupo HF, o grupo HF+OC apresentou menor depósito de gotículas lipídicas, apresentou preservação das cristas mitocondriais e não apresentou depósito de fibrilas colágenas na matriz extracelular.

Figura 10 – Eletromicrografia de cardiomiócitos do ventrículo esquerdo



Legenda: As Figuras A e B são do Grupo C, apresentando cardiomiócitos com ultraestrutura preservada, e com mitocôndrias (M) exibindo numerosas cristas e núcleo eucromático. As Figuras C e D são do Grupo C+OC com núcleo eucromático e presença de poucas inclusões lipídicas (setas), e numerosas mitocôndrias (M). As Figuras E e F são do Grupo HF apresentando várias gotículas lipídicas (setas), mitocôndrias (M) com menor número de cristas, além de fibrilas de colágeno na matriz extracelular (*). As Figuras G e H são do Grupo HF+O e apresentam numerosas mitocôndrias (M).

Fonte: O autor, 2019.

3.12.10 Western Blotting

Houve diferença com significância entre os grupos C+OC e o grupo HF+OC, com uma redução da expressão de UCP 2 no grupo HF de 327% com $p \leq 0,05$. Houve um aumento na expressão de UCP 2 no grupo HF+OC quando comparado ao grupo HF de 3300% com $p \leq 0,01$ (Figura 11 e Gráfico 20).

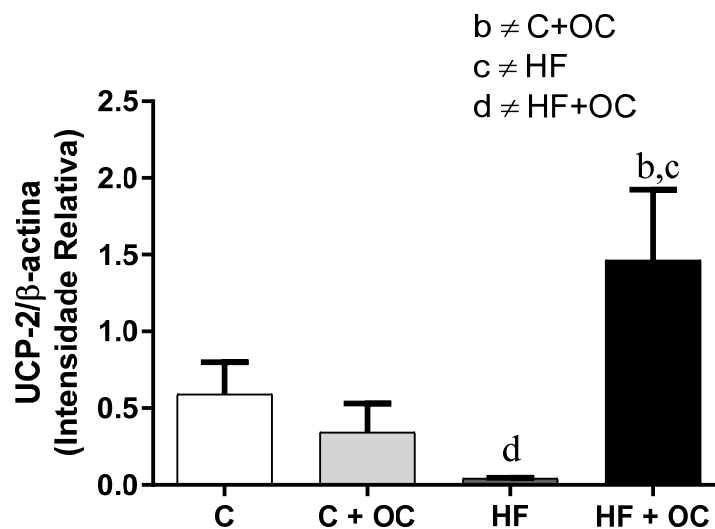
Figura 11 – Expressão de UCP-2 no coração – bandas de westemm blotting



Nota: No painel superior, observa-se as bandas de western blotting correspondentes aos grupos experimentais.

Fonte: O autor, 2019.

Gráfico 20 – quantificação da expressão de UCP-2



Legenda: No painel inferior a quantificação da expressão de UCP-2 padronizada pela expressão de β-actina e normalizadas pelo número de mitocôndrias viáveis. Em camundongos dos grupos C (Controle), C + OC (Controle + óleo de capivara), HF (Hiperlipídica) e HF + OC (Hiperlipídica + óleo de capivara). Diferença significativa: HF x HF+OC com $p \leq 0,01$.

Nota: ANOVA, pós-teste de Tukey.

Fonte: O autor, 2019.

DISCUSSÃO

A dieta HF durante 12 semanas em camundongos C57Bl/6 é um modelo estabelecido de dieta que induz obesidade e síndrome metabólica^(118, 234, 244-248). Em nosso estudo, o grupo alimentado com dieta HF apresentou aumento da massa corporal, elevação da pressão arterial sistólica, aumento dos tecidos adiposos epididimária, retroperitoneal e inguinal. Houve também aumento do colesterol total e triglicérides no grupo HF.

A dieta hiperlipídica causou dislipidemia, aumento de peso, adiposidade visceral, e hipertrofia dos adipócitos. Consistente com trabalhos já publicados⁽²⁴⁷⁻²⁵³⁾, verificou-se que 12 semanas após o início de uma dieta hiperlipídica, os camundongos desenvolveram alterações importantes que se assemelham à síndrome metabólica humana, tais como a obesidade, dislipidemia, intolerância à glicose e resistência à insulina. Estas condições desempenham um papel crucial no desenvolvimento de doença cardíaca, tais como hipertensão arterial, hipertrofia ventricular esquerda e fibrose intersticial^(39, 172, 254-256). O tratamento com óleo de capivara não foi capaz de promover uma perda ponderal nos camundongos tratados.

Diversos trabalhos já publicados referem-se aos efeitos benéficos da suplementação de óleos de origem animal em modelos de obesidade, especialmente aqueles ricos em AGs poliinsaturados^(234, 257, 258). Esses AGs na dieta têm recebido maior atenção por seus proeminentes efeitos anti-obesogênicos⁽²⁵⁷⁾. Estudos com o óleo de peixe relacionam seus efeitos benéficos em animais alimentados com dieta HF^(135, 257-259). Nesse sentido, o óleo de capivara pode agir nas alterações metabólicas impostas pelo modelo experimental em questão, uma vez que esse óleo é rico em ácidos graxos poliinsaturados. O óleo de capivara apresentou uma redução significativa da pressão arterial no grupo HF+OC quando comparado ao grupo HF, sendo 43% maior a pressão arterial no grupo HF quando comparado ao grupo HF+OC. Estudos em animais e estudos observacionais em humanos sugerem que a redução da pressão arterial secundária a ingestão de ácidos graxos poliinsaturados ocorre pela redução da resistência vascular periférica^(260, 261). Os ácidos graxos poliinsaturados aumentam a produção de óxido nítrico, atenuam o efeito vasoconstritor periférico em resposta a angiotensina II e norepinefrina, melhora a complacência vascular e aumenta a resposta vasodilatadora⁽²⁶²⁻²⁶⁶⁾. Esses efeitos, separados ou somados, levam a uma redução da resistência vascular periférica e redução da pressão arterial.

Em relação ao colesterol houve um aumento de sua dosagem no grupo HF quando comparado ao grupo controle. Mas quando comparamos o grupo HF com o grupo HF+OC,

observamos uma redução de 49% do colesterol total no grupo tratado com óleo de capivara. Resultado semelhante foi descrito no primeiro estudo que utilizou o óleo de capivara⁽²³¹⁾. Na dosagem sérica de triglicérides houve uma redução de 11,5% no grupo HF+OC quando comparado ao grupo HF. Os ácidos graxos poliinsaturados possuem a característica de proporcionar uma redução dos triglicérides⁽²¹⁰⁻²¹²⁾, semelhante ao encontrado em nosso estudo com a utilização de óleo de capivara.

Outro parâmetro avaliado foi a massa cardíaca, onde observamos um aumento nos grupos HF e HF+OC 25% e 33% em relação aos seus respectivos grupos controles (C e C+OC). O tratamento com óleo de capivara não foi capaz de reduzir a massa cardíaca no grupo HF+OC. Estudos com suplementação de ácidos graxos poliinsaturados (óleo de peixe e óleo de chia) demonstraram resultados similares aos encontrados em nosso estudo^(172, 267, 268).

No que concerne a adiposidade, os animais que receberam dieta hiperlipídica apresentaram um aumento da distribuição das gorduras corporais, sendo a gordura visceral (retroperitoneal + epididimária) e gordura subcutânea (inguinal). Os grupos HF e HF OC apresentaram um aumento de 86% e 149% na gordura retroperitoneal quando comparados aos seus respectivos grupos controles (C e C+OC), e um aumento 161% e 160% na gordura inguinal, quando comparados a seus respectivos controles (C e C+OC), esses achados são semelhantes a outros estudos desenvolvidos em nosso laboratório (247) que demonstra o imprint metabólico causado pela dieta hiperlipídica. O tratamento adotado não foi capaz de promover a redução da adiposidade, pois a dieta adotada (óleo de capivara + dieta/ banha de porco) é altamente calórica para esses animais. Um estudo que utilizou óleo de girassol (rico em ácidos graxos poli-insaturados) apresentou resultados semelhantes ao estudo⁽²⁴⁶⁾.

Camundongos C57BL/6 tratados com dieta HF apresentam remodelamento do tecido adiposo, através da hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos^(129, 135, 247). Em relação a morfometria de adipócitos encontramos um aumento nos grupos HF e HF+OC quando comparamos com os grupos C e C+OC. Além disso, um resultado relevante foi a redução de 16% na morfometria dos adipócitos no grupo C+OC quando comparado ao grupo C, demonstrando mais um efeito benéfico do óleo de capivara. Esse é um importante achado, uma vez que, o tecido adiposo expressa diversas proteínas secretoras, incluindo a leptina, adiponectina, TNF- α , que estão intimamente envolvidas na regulação do gasto energético, metabolismo lipídico e resistência insulínica⁽¹²⁹⁾. Nos animais tratados com óleo de capivara encontramos uma redução do diâmetro de adipócitos na gordura visceral nos animais tratados com óleo de capivara. Esse resultado é compatível com efeito benéfico do óleo de capivara no remodelamento do tecido adiposo.

Na análise estereológica observamos maior densidade de cardiomiócitos nos grupos C e C+OC em relação aos grupos HF e HF+OC, porém não foram observadas diferenças no grupo tratado quando comparamos com seu respectivo controle. A redução da densidade de cardiomiócitos é compatível com perda de cardiomiócitos e é um dos efeitos do remodelamento cardíaco. Tal achado está em conformidade com a literatura que demonstra que animais com síndrome metabólica apresentam hipertrofia e perda de cardiomiócitos^(192, 193).

A vascularização foi analisada por diversos parâmetros. Um parâmetro analisado foi a densidade por volume de vasos (Vv vasos), em que houve um aumento de 34% neste parâmetro no grupo HF+OC quando comparado ao grupo HF. Outro parâmetro que merece destaque é a densidade por volume da relação vaso dividido por cardiomiócito (Vv vaso/cmi), que demonstrou aumento 111% no grupo HF+OC quando comparado ao grupo HF. Sendo assim, esses dois parâmetros demonstraram o benefício do óleo de capivara em relação a vascularização miocárdica. A redução da vascularização encontrada no grupo HF, foi evidenciada em diversos parâmetros e foi compatível com um remodelamento cardíaco, semelhante ao encontrados em outros modelos experimentais^(172, 267-271). O benefício encontrado com óleo de capivara em nosso trabalho também ocorreu em outros trabalhos utilizando intervenções não lipídicas^(268, 269).

No que concerne a hipertrofia ventricular, foi avaliada a área de cardiomiócitos, onde observamos um aumento nos grupos HF e HF+OC quando comparado aos grupos C e C+OC, respectivamente de 31% e 21%, compatível com o encontrado na literatura^(172, 271, 272). Observamos um aumento de 16% desse parâmetro no grupo HF, quando comparado ao grupo HF+OC. Dessa forma o óleo de capivara foi capaz de promover uma redução da hipertrofia ventricular, benefício encontrado em nosso trabalho semelhante aos encontrados em outros experimentos utilizando intervenções medicamentosas⁽²⁶⁷⁾. Uma possível explicação para tal achado pode ser pela redução da pressão arterial sistólica no grupo tratado com óleo de capivara.

Em modelos experimentais de síndrome metabólica, a literatura demonstra na microscopia eletrônica os seguintes achados: perda de cardiomiócitos, hipertrofia de cardiomiócitos e aumento de tecido conjuntivo, que promove a fibrose perivascular e intersticial^(180, 192, 272-276). Em nosso trabalho observamos aumento do tecido conjuntivo no grupo HF, achado não observado no grupo HF+OC. Tal achado demonstra efeito benéfico do óleo de capivara na redução do tecido conjuntivo. Observou-se, também, um grande acúmulo de inclusões lipídicas em animais do grupo HF não encontrados nos demais grupos. Tal achado sugere uma redução da captação de lipídios pelos cardiomiócitos do grupo HF+OC, quando comparado ao do grupo HF, mostrando mais um benefício do óleo de capivara. Esse achado

mostra que o tratamento com óleo de capivara foi eficaz em reduzir a captação de lipídios pelos cardiomiócitos, mostrando mais um resultado benéfico do tratamento com óleo de capivara^(277, 278).

Outro achado importante do estudo foi a constatação de que a ultraestrutura mitocondrial dos cardiomiócitos muda nos animais do grupo HF. Estes animais apresentaram numerosas alterações na mitocôndria como, por exemplo, distorção da membrana mitocondrial interna com perda das cristas mitocondriais. Estudos prévios observaram os mesmos achados em modelos experimentais de síndrome metabólica^(276, 279). Os animais do grupo HF+OC apresentaram mitocôndrias normais, demonstrando que o óleo de capivara apresentou um efeito protetor mitocondrial. Esses achados foram descritos em estudo semelhante⁽¹⁷²⁾, e mostram mais um possível efeito benéfico do óleo de capivara.

O resultado do western blotting demonstrou uma redução da expressão de UCP2 no grupo HF e aumento da expressão no grupo HF+OC. Para entendermos o resultado devemos fazer uma breve revisão. As proteínas desacopladoras mitocondriais (UCP) foram descritas em 1984, com a descoberta das propriedades termogênicas da UCP1 no tecido adiposo marrom⁽¹⁸³⁾. A UCP 1 foi descrita como um canal regulado por próton capaz de dissipar o gradiente de prótons da mitocôndria, liberando energia eletroquímica sob a forma de calor. Até hoje 5 isoformas de UCP foram descritas em tecidos de mamíferos e foram nomeadas UCP 1-5, na ordem de sua descrição⁽¹⁸⁴⁾. Em contraste com a UCP 1, que é expressa exclusivamente no tecido adiposo marrom, a UCP 2 é expressa em uma variedade de tecidos, incluindo o coração⁽¹⁸⁵⁾. O papel da UCP 2 no coração não está esclarecido, mas ocorre uma elevação de sua expressão em condições patológicas, como insuficiência cardíaca^(280, 281). Foi proposto que uma elevada expressão da UCP 2 deve ter um efeito protetor através da atenuação da formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e estresse oxidativo⁽²⁸²⁾. Em um artigo publicado em 2007, foi sugerido que a proteína UCP2 e/ou UCP3 são componentes essenciais da via de captação de cálcio mitocondrial⁽²⁸³⁾. Nesse estudo, o aumento da expressão dessa proteína aumentou a transferência de cálcio para o citoplasma mitocondrial, estimulando a síntese de ATP, que pode proteger as células do estresse oxidativo. Outros artigos mostraram que o aumento da expressão da UCP2, apesar de proteger contra o estresse oxidativo^(184, 282, 284, 285), também tem efeitos deletérios contribuindo para progressão da insuficiência cardíaca⁽²⁸⁶⁾.

Em nosso resultado foi observado uma maior expressão da UCP2 no grupo HF+OC quando comparado ao grupo HF, o que pode demonstrar o potencial efeito antioxidante do óleo de capivara.

CONCLUSÃO

O presente trabalho conclui que a dieta hiperlipídica em camundongos C57Bl/6 causa alterações metabólicas semelhantes à síndrome metabólica e promove:

- a) aumento da massa corporal;
- b) elevação da pressão arterial sistólica;
- c) resistência à insulina (incremento da área sob a curva do TOTG);
- d) elevação do colesterol total e dos triglicérides;
- e) aumento da massa cardíaca;
- f) aumento das gorduras corporais e hipertrofia dos adipócitos;
- g) perda de cardiomiócitos, redução da vascularização miocárdica e hipertrofia de cardiomiócitos;
- h) análise ultraestrutural: acúmulo de gotículas lipídicas no miocárdio e alterações mitocôndrias nos cardiomiócitos;
- i) redução da expressão de UCP-2 nos cardiomiócitos;

O tratamento com óleo de capivara foi capaz de promover:

- a) redução da pressão arterial sistólica;
- b) redução do colesterol total e redução dos triglicérides;
- c) redução do diâmetro dos adipócitos, promovendo um remodelamento do tecido adiposo;
- d) melhora da vascularização e redução da hipertrofia de cardiomiócitos;
- e) análise ultraestrutural: redução de gotículas lipídicas no miocárdio e preservação da morfologia das mitocôndrias;
- f) aumento da expressão da UCP-2 nos cardiomiócitos.

Portanto, o presente modelo de ganho de peso induzido por dieta high fat em camundongos C57BL/6, gerando um ambiente metabólico de risco propício ao surgimento da doença cardiovascular. Tratamentos farmacológicos e não farmacológicos são estratégias viáveis para controlar a obesidade e o impacto econômico causado pela atual pandemia das doenças cardiovasculares. O presente estudo demonstrou que o óleo de capivara reduz a pressão arterial sistólica, reduz colesterol total e triglicérides, reduz a hipertrofia do tecido adiposo, aumenta a vascularização miocárdica e reduz a hipertrofia de cardiomiócitos. Além disso,

preservou a morfologia de mitocôndrias e aumentou a expressão de UCP-2. São ainda necessários diversos estudos adicionais, mas diante desses dados, a terapia com óleo de capivara pode vir a ser de grande ajuda para pacientes com síndrome metabólica, uma vez que apresenta vários efeitos benéficos ao sistema cardiovascular e metabólico.

REFERÊNCIAS

1. Mancini MC. Diretrizes Brasileiras de Obesidade. São Paulo, SP: Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica; 2016.
2. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser. 2000;894:i-xii, 1-253.
3. National Center for Health S. Health, United States. Health, United States, 2015: With Special Feature on Racial and Ethnic Health Disparities. Hyattsville (MD): National Center for Health Statistics (US); 2016.
4. Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2018;137(12):e67-e492.
5. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2019;139(10):e56-e528.
6. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet*. 2011;377(9765):557-67.
7. Flegal KM, Carroll MD, Kit BK, Ogden CL. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. *JAMA*. 2012;307(5):491-7.
8. Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *JAMA*. 2014;311(8):806-14.
9. Collaborators GBDO, Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, et al. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N Engl J Med*. 2017;377(1):13-27.
10. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014;384(9945):766-81.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (Vigitel). Brasília, DF; 2016.
12. Flatt JP. Dietary fat, carbohydrate balance, and weight maintenance: effects of exercise. *Am J Clin Nutr*. 1987;45(1 Suppl):296-306.

13. Flatt JP. Use and storage of carbohydrate and fat. *Am J Clin Nutr.* 1995;61(4 Suppl):952S-9S.
14. Hall KD, Guo J, Dore M, Chow CC. The progressive increase of food waste in America and its environmental impact. *PLoS One.* 2009;4(11):e7940.
15. Popkin BM, Hawkes C. Sweetening of the global diet, particularly beverages: patterns, trends, and policy responses. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(2):174-86.
16. Church TS, Thomas DM, Tudor-Locke C, Katzmarzyk PT, Earnest CP, Rodarte RQ, et al. Trends over 5 decades in U.S. occupation-related physical activity and their associations with obesity. *PLoS One.* 2011;6(5):e19657.
17. von Loeffelholz C, Birkenfeld A. The Role of Non-exercise Activity Thermogenesis in Human Obesity. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, et al., editors. *Endotext.* South Dartmouth (MA): MDTText.com, Inc.; 2000.
18. Apovian CM, Aronne LJ, Bessesen DH, McDonnell ME, Murad MH, Pagotto U, et al. Pharmacological management of obesity: an endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(2):342-62.
19. McAllister EJ, Dhurandhar NV, Keith SW, Aronne LJ, Barger J, Baskin M, et al. Ten putative contributors to the obesity epidemic. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2009;49(10):868-913.
20. Heymsfield SB, Peterson CM, Thomas DM, Heo M, Schuna JM, Jr., Hong S, et al. Scaling of adult body weight to height across sex and race/ethnic groups: relevance to BMI. *Am J Clin Nutr.* 2014;100(6):1455-61.
21. Hall JE, da Silva AA, do Carmo JM, Dubinion J, Hamza S, Munusamy S, et al. Obesity-induced hypertension: role of sympathetic nervous system, leptin, and melanocortins. *J Biol Chem.* 2010;285(23):17271-6.
22. Bray MS, Loos RJ, McCaffery JM, Ling C, Franks PW, Weinstock GM, et al. NIH working group report-using genomic information to guide weight management: From universal to precision treatment. *Obesity (Silver Spring).* 2016;24(1):14-22.
23. Pigeyre M, Yazdi FT, Kaur Y, Meyre D. Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clin Sci (Lond).* 2016;130(12):943-86.
24. van Dijk SJ, Tellam RL, Morrison JL, Muhlhausler BS, Molloy PL. Recent developments on the role of epigenetics in obesity and metabolic disease. *Clin Epigenetics.* 2015;7:66.
25. Tchernof A, Despres JP. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev.* 2013;93(1):359-404.

26. Goff DC, Jr., Lloyd-Jones DM, Bennett G, Coady S, D'Agostino RB, Gibbons R, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014;129(25 Suppl 2):S49-73.
27. Wildman RP, Muntner P, Reynolds K, McGinn AP, Rajpathak S, Wylie-Rosett J, et al. The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering: prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999-2004). *Arch Intern Med*. 2008;168(15):1617-24.
28. Despres JP. Body fat distribution and risk of cardiovascular disease: an update. *Circulation*. 2012;126(10):1301-13.
29. Lavie CJ, Milani RV, Ventura HO. Obesity and cardiovascular disease: risk factor, paradox, and impact of weight loss. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(21):1925-32.
30. Lainscak M, von Haehling S, Doehner W, Anker SD. The obesity paradox in chronic disease: facts and numbers. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2012;3(1):1-4.
31. Hainer V, Aldhoon-Hainerova I. Obesity paradox does exist. *Diabetes Care*. 2013;36 Suppl 2:S276-81.
32. Standl E, Erbach M, Schnell O. Defending the con side: obesity paradox does not exist. *Diabetes Care*. 2013;36 Suppl 2:S282-6.
33. Catalan V, Gomez-Ambrosi J, Rodriguez A, Salvador J, Fruhbeck G. Adipokines in the treatment of diabetes mellitus and obesity. *Expert Opin Pharmacother*. 2009;10(2):239-54.
34. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005;365(9468):1415-28.
35. Shen W, Wang Z, Punyanita M, Lei J, Sinav A, Kral JG, et al. Adipose tissue quantification by imaging methods: a proposed classification. *Obes Res*. 2003;11(1):5-16.
36. Tchkonja T, Thomou T, Zhu Y, Karagiannides I, Pothoulakis C, Jensen MD, et al. Mechanisms and metabolic implications of regional differences among fat depots. *Cell Metab*. 2013;17(5):644-56.
37. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev*. 2000;21(6):697-738.
38. Wajchenberg BL, Giannella-Neto D, da Silva ME, Santos RF. Depot-specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome. *Horm Metab Res*. 2002;34(11-12):616-21.
39. Despres JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444(7121):881-7.

40. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med*. 2017;376(3):254-66.
41. Bays HE. Adiposopathy is "sick fat" a cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(25):2461-73.
42. Neeland IJ, Poirier P, Despres JP. Cardiovascular and Metabolic Heterogeneity of Obesity: Clinical Challenges and Implications for Management. *Circulation*. 2018;137(13):1391-406.
43. Smekal A, Vaclavik J. Adipokines and cardiovascular disease: A comprehensive review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2017;161(1):31-40.
44. Gualillo O, Gonzalez-Juanatey JR, Lago F. The emerging role of adipokines as mediators of cardiovascular function: physiologic and clinical perspectives. *Trends Cardiovasc Med*. 2007;17(8):275-83.
45. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425-32.
46. Zhang F, Basinski MB, Beals JM, Briggs SL, Churgay LM, Clawson DK, et al. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature*. 1997;387(6629):206-9.
47. Enriori PJ, Evans AE, Sinnayah P, Cowley MA. Leptin resistance and obesity. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14 Suppl 5:254S-8S.
48. Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol*. 2000;62:413-37.
49. Karmazyn M, Purdham DM, Rajapurohitam V, Zeidan A. Signalling mechanisms underlying the metabolic and other effects of adipokines on the heart. *Cardiovasc Res*. 2008;79(2):279-86.
50. Mattu HS, Randeve HS. Role of adipokines in cardiovascular disease. *J Endocrinol*. 2013;216(1):T17-36.
51. Shek EW, Brands MW, Hall JE. Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertension*. 1998;31(1 Pt 2):409-14.
52. Satoh N, Ogawa Y, Katsuura G, Numata Y, Tsuji T, Hayase M, et al. Sympathetic activation of leptin via the ventromedial hypothalamus: leptin-induced increase in catecholamine secretion. *Diabetes*. 1999;48(9):1787-93.
53. Haluzik M, Trachta P, Haluzikova D. [Adipose tissue hormones]. *Vnitr Lek*. 2010;56(10):1028-34.

54. Sierra-Johnson J, Romero-Corral A, Lopez-Jimenez F, Gami AS, Sert Kuniyoshi FH, Wolk R, et al. Relation of increased leptin concentrations to history of myocardial infarction and stroke in the United States population. *Am J Cardiol.* 2007;100(2):234-9.
55. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem.* 1995;270(45):26746-9.
56. Achari AE, Jain SK. Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction. *Int J Mol Sci.* 2017;18(6).
57. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med.* 2002;8(11):1288-95.
58. Palanivel R, Fang X, Park M, Eguchi M, Pallan S, De Girolamo S, et al. Globular and full-length forms of adiponectin mediate specific changes in glucose and fatty acid uptake and metabolism in cardiomyocytes. *Cardiovasc Res.* 2007;75(1):148-57.
59. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation.* 1999;100(25):2473-6.
60. Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, et al. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes.* 2002;51(2):536-40.
61. Ouchi N, Shibata R, Walsh K. Cardioprotection by adiponectin. *Trends Cardiovasc Med.* 2006;16(5):141-6.
62. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115(5):911-9; quiz 20.
63. Ohashi K, Ouchi N, Sato K, Higuchi A, Ishikawa TO, Herschman HR, et al. Adiponectin promotes revascularization of ischemic muscle through a cyclooxygenase 2-dependent mechanism. *Mol Cell Biol.* 2009;29(13):3487-99.
64. Dalamaga M, Diakopoulos KN, Mantzoros CS. The role of adiponectin in cancer: a review of current evidence. *Endocr Rev.* 2012;33(4):547-94.
65. Chung HS, Choi KM. Adipokines and Myokines: A Pivotal Role in Metabolic and Cardiovascular Disorders. *Curr Med Chem.* 2018;25(20):2401-15.
66. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science.* 2005;307(5708):426-30.

67. Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, Shin SJ, et al. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(1):295-9.
68. Chang YH, Chang DM, Lin KC, Shin SJ, Lee YJ. Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: a meta-analysis and systemic review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011;27(6):515-27.
69. Filippatos TD, Randevas HS, Derdemezis CS, Elisaf MS, Mikhailidis DP. Visfatin/PBEF and atherosclerosis-related diseases. *Curr Vasc Pharmacol*. 2010;8(1):12-28.
70. Romacho T, Sanchez-Ferrer CF, Peiro C. Visfatin/Nampt: an adipokine with cardiovascular impact. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:946427.
71. Lu LF, Wang CP, Yu TH, Hung WC, Chiu CA, Chung FM, et al. Interpretation of elevated plasma visfatin concentrations in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Cytokine*. 2012;57(1):74-80.
72. Kusminski CM, McTernan PG, Kumar S. Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109(3):243-56.
73. Scotece M, Conde J, Gomez R, Lopez V, Pino J, Gonzalez A, et al. Role of adipokines in atherosclerosis: interferences with cardiovascular complications in rheumatic diseases. *Mediators Inflamm*. 2012;2012:125458.
74. Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine RV, et al. Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes*. 2001;50(10):2199-202.
75. Krusinova E, Pelikanova T. Fatty acid binding proteins in adipose tissue: a promising link between metabolic syndrome and atherosclerosis? *Diabetes Res Clin Pract*. 2008;82 Suppl 2:S127-34.
76. Boord JB, Fazio S, Linton MF. Cytoplasmic fatty acid-binding proteins: emerging roles in metabolism and atherosclerosis. *Current opinion in lipidology*. 2002;13(2):141-7.
77. Boord JB, Maeda K, Makowski L, Babaev VR, Fazio S, Linton MF, et al. Combined adipocyte-macrophage fatty acid-binding protein deficiency improves metabolism, atherosclerosis, and survival in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 2004;110(11):1492-8.
78. Xu A, Wang Y, Xu JY, Stejskal D, Tam S, Zhang J, et al. Adipocyte fatty acid-binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin Chem*. 2006;52(3):405-13.

79. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, et al. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290(6):E1253-61.
80. de Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, et al. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes.* 2007;56(6):1655-61.
81. Shibata R, Ouchi N, Kikuchi R, Takahashi R, Takeshita K, Kataoka Y, et al. Circulating omentin is associated with coronary artery disease in men. *Atherosclerosis.* 2011;219(2):811-4.
82. Narumi T, Watanabe T, Kadowaki S, Kinoshita D, Yokoyama M, Honda Y, et al. Impact of serum omentin-1 levels on cardiac prognosis in patients with heart failure. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:84.
83. O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, Kennedy JL, et al. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene.* 1993;136(1-2):355-60.
84. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;251(2):471-6.
85. Chandrasekaran B, Dar O, McDonagh T. The role of apelin in cardiovascular function and heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2008;10(8):725-32.
86. Kuklinska AM, Sobkowicz B, Sawicki R, Musial WJ, Waszkiewicz E, Bolinska S, et al. Apelin: a novel marker for the patients with first ST-elevation myocardial infarction. *Heart Vessels.* 2010;25(5):363-7.
87. Tycinska AM, Sobkowicz B, Mroczko B, Sawicki R, Musial WJ, Dobrzycki S, et al. The value of apelin-36 and brain natriuretic peptide measurements in patients with first ST-elevation myocardial infarction. *Clin Chim Acta.* 2010;411(23-24):2014-8.
88. Kadoglou NP, Lampropoulos S, Kapelouzou A, Gkontopoulos A, Theofilogiannakos EK, Fotiadis G, et al. Serum levels of apelin and ghrelin in patients with acute coronary syndromes and established coronary artery disease--KOZANI STUDY. *Transl Res.* 2010;155(5):238-46.
89. Siddiquee K, Hampton J, Khan S, Zadory D, Gleaves L, Vaughan DE, et al. Apelin protects against angiotensin II-induced cardiovascular fibrosis and decreases plasminogen activator inhibitor type-1 production. *J Hypertens.* 2011;29(4):724-31.
90. Zhang Z, Yu B, Tao GZ. Apelin protects against cardiomyocyte apoptosis induced by glucose deprivation. *Chin Med J (Engl).* 2009;122(19):2360-5.
91. Chandra SM, Razavi H, Kim J, Agrawal R, Kundu RK, de Jesus Perez V, et al. Disruption of the apelin-APJ system worsens hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(4):814-20.

92. Andersen CU, Hilberg O, Mellekjær S, Nielsen-Kudsk JE, Simonsen U. Apelin and pulmonary hypertension. *Pulm Circ*. 2011;1(3):334-46.
93. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37(12):1595-607.
94. Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med*. 1989;149(7):1514-20.
95. Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, Mitchell BD, Morales PA, Stern MP. Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (syndrome X). *Diabetes*. 1992;41(6):715-22.
96. Samson SL, Garber AJ. Metabolic syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014;43(1):1-23.
97. DeFronzo RA. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 1991;14(173).
98. Koh KK, Han SH, Quon MJ. Inflammatory markers and the metabolic syndrome: insights from therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(11):1978-85.
99. Lindsay RS, HB. Cardiovascular risk associated with the metabolic syndrome. *Curr Diab Rep*. 2004;4(1):63-8.
100. Richelsen B, Pedersen SB. Associations between different anthropometric measurements of fatness and metabolic risk parameters in non-obese, healthy, middle-aged men. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1995;19(3):169-74.
101. Ruderman N, CD, Pi-Sunyer X, Schneider S. The metabolically obese, normal-weight individual revisited. *Diabetes*. 1998;47(699).
102. St-Onge MP, Janssen I, Heymsfield SB. Metabolic syndrome in normal-weight Americans: new definition of the metabolically obese, normal-weight individual. *Diabetes Care*. 2004;27(9):2222-8.
103. Conus F, Allison DB, Rabasa-Lhoret R, St-Onge M, St-Pierre DH, Tremblay-Lebeau A, et al. Metabolic and behavioral characteristics of metabolically obese but normal-weight women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(10):5013-20.
104. Ye J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33(1):54-66.
105. Dodson MV, Mir PS, Hausman GJ, Guan LL, Du M, Jiang Z, et al. Obesity, metabolic syndrome, and adipocytes. *J Lipids*. 2011;2011:721686.
106. Kahn SE, Prigeon RL, Schwartz RS, Fujimoto WY, Knopp RH, Brunzell JD, et al. Obesity, body fat distribution, insulin sensitivity and Islet beta-cell function as explanations for metabolic diversity. *J Nutr*. 2001;131(2):354S-60S.

107. Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC, Steig AJ, Stob NR, et al. The metabolic syndrome. *Endocr Rev.* 2008;29(7):777-822.
108. B Meigs J. Metabolic Syndrome and risk for type 2 diabetes. *Expert Rev Endocrinol Metab* 1:57-662006. 57-66 p.
109. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009;120(16):1640-5.
110. Egídio J, Paulo de Oliveira RMMJ, Sérgio Vencio, et al. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018: Clannad; 2017. 383 p.
111. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M, American Diabetes A, European Association for the Study of D. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care.* 2005;28(9):2289-304.
112. Ferrannini E. Metabolic syndrome: a solution in search of a problem. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(2):396-8.
113. Eckel RH, Kahn R, Robertson RM, Rizza RA. Preventing cardiovascular disease and diabetes: a call to action from the American Diabetes Association and the American Heart Association. *Diabetes Care.* 2006;29(7):1697-9.
114. Grundy SM. Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(2):399-404.
115. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation.* 2005;112(17):2735-52.
116. Grundy SM, Hansen B, Smith SC, Jr., Cleeman JI, Kahn RA, American Heart A, et al. Clinical management of metabolic syndrome: report of the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association conference on scientific issues related to management. *Circulation.* 2004;109(4):551-6.
117. Rosenzweig JL, Ferrannini E, Grundy SM, Haffner SM, Heine RJ, Horton ES, et al. Primary prevention of cardiovascular disease and type 2 diabetes in patients at metabolic risk: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(10):3671-89.
118. Buettner R, Scholmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity (Silver Spring).* 2007;15(4):798-808.

119. Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, Schwarz JM, Lustig RH. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;7(5):251-64.
120. Massiera F, Barbry P, Guesnet P, Joly A, Luquet S, Moreilhon-Brest C, et al. A Western-like fat diet is sufficient to induce a gradual enhancement in fat mass over generations. *J Lipid Res*. 2010;51(8):2352-61.
121. Reeves PG. AIN-76 diet: should we change the formulation? *J Nutr*. 1989;119(8):1081-2.
122. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC, Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 1993;123(11):1939-51.
123. Kobayasi R, Akamine EH, Davel AP, Rodrigues MA, Carvalho CR, Rossoni LV. Oxidative stress and inflammatory mediators contribute to endothelial dysfunction in high-fat diet-induced obesity in mice. *J Hypertens*. 2010;28(10):2111-9.
124. Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Scholmerich J, et al. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J Mol Endocrinol*. 2006;36(3):485-501.
125. 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.
126. Ikemoto S, Takahashi M, Tsunoda N, Maruyama K, Itakura H, Ezaki O. High-fat diet-induced hyperglycemia and obesity in mice: differential effects of dietary oils. *Metabolism*. 1996;45(12):1539-46.
127. Storlien LH, Higgins JA, Thomas TC, Brown MA, Wang HQ, Huang XF, et al. Diet composition and insulin action in animal models. *Br J Nutr*. 2000;83 Suppl 1:S85-90.
128. Storlien LH, Huang XF, Lin S, Xin X, Wang HQ, Else PL. Dietary fat subtypes and obesity. *World Rev Nutr Diet*. 2001;88:148-54.
129. Fraulob JC, Ogg-Diamantino R, Fernandes-Santos C, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. A Mouse Model of Metabolic Syndrome: Insulin Resistance, Fatty Liver and Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) in C57BL/6 Mice Fed a High Fat Diet. *J Clin Biochem Nutr*. 2010;46(3):212-23.
130. Collins S, Martin TL, Surwit RS, Robidoux J. Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. *Physiol Behav*. 2004;81(2):243-8.
131. Surwit RS, Kuhn CM, Cochrane C, McCubbin JA, Feinglos MN. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes*. 1988;37(9):1163-7.

132. Rebuffe-Scrive M, Surwit R, Feinglos M, Kuhn C, Rodin J. Regional fat distribution and metabolism in a new mouse model (C57BL/6J) of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*. 1993;42(11):1405-9.
133. Fernandes-Santos C, Evangelista Carneiro R, de Souza Mendonca L, Barbosa Aguilá M, Mandarim-de-Lacerda CA. Rosiglitazone aggravates nonalcoholic Fatty pancreatic disease in C57BL/6 mice fed high-fat and high-sucrose diet. *Pancreas*. 2009;38(3):e80-6.
134. Fernandes-Santos C, Carneiro RE, de Souza Mendonca L, Aguilá MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Pan-PPAR agonist beneficial effects in overweight mice fed a high-fat high-sucrose diet. *Nutrition*. 2009;25(7-8):818-27.
135. Nascimento FA, Barbosa-da-Silva S, Fernandes-Santos C, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguilá MB. Adipose tissue, liver and pancreas structural alterations in C57BL/6 mice fed high-fat-high-sucrose diet supplemented with fish oil (n-3 fatty acid rich oil). *Exp Toxicol Pathol*. 2010;62(1):17-25.
136. Laslett LJ, Alagona P, Jr., Clark BA, 3rd, Drozda JP, Jr., Saldivar F, Wilson SR, et al. The worldwide environment of cardiovascular disease: prevalence, diagnosis, therapy, and policy issues: a report from the American College of Cardiology. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(25 Suppl):S1-49.
137. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015;385(9963):117-71.
138. Roth GA, Huffman MD, Moran AE, Feigin V, Mensah GA, Naghavi M, et al. Global and regional patterns in cardiovascular mortality from 1990 to 2013. *Circulation*. 2015;132(17):1667-78.
139. Rapsomaniki E, Timmis A, George J, Pujades-Rodriguez M, Shah AD, Denaxas S, et al. Blood pressure and incidence of twelve cardiovascular diseases: lifetime risks, healthy life-years lost, and age-specific associations in 1.25 million people. *Lancet*. 2014;383(9932):1899-911.
140. Overview of established risk factors for cardiovascular disease [Internet]. 2018 [cited 02/12/2018]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-established-risk-factors-for-cardiovascular-disease/print?search=cardiovascular%20disease&so%E2%80%A6>.
141. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;364(9438):937-52.
142. My Life Check - Life's Simple 7 2018 [cited 2018 20/12/2018]. Available from: http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/My-Life-Check%E2%80%9494Lifes-Simple-7_UCM_471453_Article.jsp#.XCZEVVVKiUl.

143. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE, Jr., Collins KJ, Dennison Himmelfarb C, et al. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2018;138(17):e426-e83.
144. Wilson PWF, Polonsky TS, Miedema MD, Khera A, Kosinski AS, Kuvin JT. Systematic Review for the 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(24):3210-27.
145. American Diabetes A. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care*. 2019;42(Suppl 1):S13-S28.
146. Eckel N, Meidtner K, Kalle-Uhlmann T, Stefan N, Schulze MB. Metabolically healthy obesity and cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Prev Cardiol*. 2016;23(9):956-66.
147. Flegal KM, Kruszon-Moran D, Carroll MD, Fryar CD, Ogden CL. Trends in Obesity Among Adults in the United States, 2005 to 2014. *JAMA*. 2016;315(21):2284-91.
148. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340(2):115-26.
149. Rocha VZ, Libby P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol*. 2009;6(6):399-409.
150. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Jama*. 2001;286(3):327-34.
151. Ridker PM. C-reactive protein and the prediction of cardiovascular events among those at intermediate risk: moving an inflammatory hypothesis toward consensus. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(21):2129-38.
152. Shoelson SE, Herrero L, Naaz A. Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology*. 2007;132(6):2169-80.
153. Csige I, Ujvarosy D, Szabo Z, Lorincz I, Paragh G, Harangi M, et al. The Impact of Obesity on the Cardiovascular System. *J Diabetes Res*. 2018;2018:3407306.

154. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J*. 2016;37(29):2315-81.
155. Law MR, Morris JK, Wald NJ. Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies. *BMJ*. 2009;338:b1665.
156. Zanchetti A, Mancia G. Longing for clinical excellence: a critical outlook into the NICE recommendations on hypertension management--is nice always good? *J Hypertens*. 2012;30(4):660-8.
157. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, McCagg A, White JA, Theroux P, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 2015;372(25):2387-97.
158. Giugliano RP, Sabatine MS. Are PCSK9 Inhibitors the Next Breakthrough in the Cardiovascular Field? *J Am Coll Cardiol*. 2015;65(24):2638-51.
159. Wilson PWF, Polonsky TS, Miedema MD, Khera A, Kosinski AS, Kuvin JT. Systematic Review for the 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol. *Circulation*. 2018;Cir0000000000000626.
160. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, et al. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2015;373(22):2117-28.
161. Marso SP, Daniels GH, Brown-Frandsen K, Kristensen P, Mann JF, Nauck MA, et al. Liraglutide and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2016;375(4):311-22.
162. American Diabetes A. 9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care*. 2019;42(Suppl 1):S90-S102.
163. Baigent C, Blackwell L, Collins R, Emberson J, Godwin J, Peto R, et al. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. *Lancet*. 2009;373(9678):1849-60.
164. Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ, et al. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2019. Epub ahead of print.

165. Schirone L, Forte M, Palmerio S, Yee D, Nocella C, Angelini F, et al. A Review of the Molecular Mechanisms Underlying the Development and Progression of Cardiac Remodeling. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:3920195.
166. Frangogiannis NG. Regulation of the inflammatory response in cardiac repair. *Circ Res*. 2012;110(1):159-73.
167. Sciarretta S, Paneni F, Palano F, Chin D, Tocci G, Rubattu S, et al. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and inflammatory processes in the development and progression of diastolic dysfunction. *Clin Sci (Lond)*. 2009;116(6):467-77.
168. Lauer MS, Anderson KM, Kannel WB, Levy D. The impact of obesity on left ventricular mass and geometry. The Framingham Heart Study. *JAMA*. 1991;266(2):231-6.
169. Shen W, Punyanitya M, Chen J, Gallagher D, Albu J, Pi-Sunyer X, et al. Waist circumference correlates with metabolic syndrome indicators better than percentage fat. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14(4):727-36.
170. Gadde KM, Martin CK, Berthoud HR, Heymsfield SB. Obesity: Pathophysiology and Management. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(1):69-84.
171. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(25 Pt B):2985-3023.
172. Gruber C, Kohlstedt K, Loot AE, Fleming I, Kummer W, Muhlfield C. Stereological characterization of left ventricular cardiomyocytes, capillaries, and innervation in the nondiabetic, obese mouse. *Cardiovasc Pathol*. 2012;21(4):346-54.
173. Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PW, Benjamin EJ, Larson MG, et al. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med*. 2002;347(5):305-13.
174. Gurtl B, Kratky D, Guelly C, Zhang L, Gorkiewicz G, Das SK, et al. Apoptosis and fibrosis are early features of heart failure in an animal model of metabolic cardiomyopathy. *Int J Exp Pathol*. 2009;90(3):338-46.
175. Trivedi PS, Barouch LA. Cardiomyocyte apoptosis in animal models of obesity. *Curr Hypertens Rep*. 2008;10(6):454-60.
176. Hayden MR, Chowdhury N, Govindarajan G, Karuparthi PR, Habibi J, Sowers JR. Myocardial myocyte remodeling and fibrosis in the cardiometabolic syndrome. *J Cardiometab Syndr*. 2006;1(5):326-33.
177. Szczepaniak LS, Victor RG, Orci L, Unger RH. Forgotten but not gone: the rediscovery of fatty heart, the most common unrecognized disease in America. *Circ Res*. 2007;101(8):759-67.

178. Alpert MA. Obesity cardiomyopathy: pathophysiology and evolution of the clinical syndrome. *Am J Med Sci*. 2001;321(4):225-36.
179. Peterson LR, Waggoner AD, Schechtman KB, Meyer T, Gropler RJ, Barzilai B, et al. Alterations in left ventricular structure and function in young healthy obese women: assessment by echocardiography and tissue Doppler imaging. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(8):1399-404.
180. Borradaile NM, Schaffer JE. Lipotoxicity in the heart. *Curr Hypertens Rep*. 2005;7(6):412-7.
181. Wende AR, Abel ED. Lipotoxicity in the heart. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1801(3):311-9.
182. Ricquier D. Uncoupling protein-2 (UCP2): molecular and genetic studies. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1999;23 Suppl 6:S38-42.
183. Nicholls DG, Locke RM. Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiol Rev*. 1984;64(1):1-64.
184. Jezek P, Holendova B, Garlid KD, Jaburek M. Mitochondrial Uncoupling Proteins: Subtle Regulators of Cellular Redox Signaling. *Antioxid Redox Signal*. 2018;29(7):667-714.
185. Nedergaard J, Cannon B. The 'novel' 'uncoupling' proteins UCP2 and UCP3: what do they really do? Pros and cons for suggested functions. *Exp Physiol*. 2003;88(1):65-84.
186. Armstrong MB, Towle HC. Polyunsaturated fatty acids stimulate hepatic UCP-2 expression via a PPARalpha-mediated pathway. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;281(6):E1197-204.
187. Kardassis D, Bech-Hanssen O, Schonander M, Sjoström L, Petzold M, Karason K. Impact of body composition, fat distribution and sustained weight loss on cardiac function in obesity. *Int J Cardiol*. 2012;159(2):128-33.
188. Alvarez GE, Beske SD, Ballard TP, Davy KP. Sympathetic neural activation in visceral obesity. *Circulation*. 2002;106(20):2533-6.
189. Frohlich ED, Susic D. Mechanisms underlying obesity associated with systemic and renal hemodynamics in essential hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2008;10(2):151-5.
190. Tsai TH, Chai HT, Sun CK, Yen CH, Leu S, Chen YL, et al. Obesity suppresses circulating level and function of endothelial progenitor cells and heart function. *J Transl Med*. 2012;10:137.
191. Murase T, Hattori T, Ohtake M, Abe M, Amakusa Y, Takatsu M, et al. Cardiac remodeling and diastolic dysfunction in DahlS.Z-Lepr(fa)/Lepr(fa) rats: a new animal model of metabolic syndrome. *Hypertens Res*. 2012;35(2):186-93.

192. Panchal SK, Poudyal H, Iyer A, Nazer R, Alam A, Diwan V, et al. High-carbohydrate high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2011;57(1):51-64.
193. Rocha VN FR, Mandarim-de-Lacerda CA, de Carvalho JJ. Beneficial Effects of Rosuvastatin in Heart of C57Bl/6 Mice with Diet- Induced Metabolic Syndrome - A Preliminary Study. *Endocrinol Metab Syndr*. (2014);3(121):2161-1017.
194. Kromhout D, Bosschieter EB, de Lezenne Coulander C. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med*. 1985;312(19):1205-9.
195. Shekelle RB ML, MacMillan, Shyrock A ea. Fish consumption and mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med*. 1985;313(13):820-4.
196. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ, American Heart Association. Nutrition C. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*. 2002;106(21):2747-57.
197. Tavazzi L Fau - Maggioni AP, Maggioni Ap Fau - Marchioli R, Marchioli R Fau - Barlera S, Barlera S Fau - Franzosi MG, Franzosi Mg Fau - Latini R, Latini R Fau - Lucci D, et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2008;372(9645):1223-30.
198. Investigators OT, Bosch J, Gerstein HC, Dagenais GR, Diaz R, Dyal L, et al. n-3 fatty acids and cardiovascular outcomes in patients with dysglycemia. *N Engl J Med*. 2012;367(4):309-18.
199. Kromhout D, Giltay EJ, Geleijnse JM, Alpha Omega Trial G. n-3 fatty acids and cardiovascular events after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2010;363(21):2015-26.
200. Burr ML, Ashfield-Watt PA, Dunstan FD, Fehily AM, Breay P, Ashton T, et al. Lack of benefit of dietary advice to men with angina: results of a controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2003;57(2):193-200.
201. Burr ML, Fehily Am Fau - Gilbert JF, Gilbert Jf Fau - Rogers S, Rogers S Fau - Holliday RM, Holliday Rm Fau - Sweetnam PM, Sweetnam Pm Fau - Elwood PC, et al. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet*. 1989(0140-6736 (Print)).
202. Aung T, Halsey J, Kromhout D, Gerstein HC, Marchioli R, Tavazzi L, et al. Associations of Omega-3 Fatty Acid Supplement Use With Cardiovascular Disease Risks: Meta-analysis of 10 Trials Involving 77917 Individuals. *JAMA Cardiol*. 2018;3(3):225-34.

203. Kwak SM, Myung SK, Lee YJ, Seo HG, Korean Meta-analysis Study G. Efficacy of omega-3 fatty acid supplements (eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid) in the secondary prevention of cardiovascular disease: a meta-analysis of randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *Arch Intern Med.* 2012;172(9):686-94.
204. De Caterina R. n-3 fatty acids in cardiovascular disease. *N Engl J Med.* 2011;364(25):2439-50.
205. Sokola-Wysoczanska E, Wysoczanski T, Wagner J, Czyz K, Bodkowski R, Lochynski S, et al. Polyunsaturated Fatty Acids and Their Potential Therapeutic Role in Cardiovascular System Disorders-A Review. *Nutrients.* 2018;10(10).
206. Ferramosca A, Conte A, Burri L, Berge K, De Nuccio F, Giudetti AM, et al. A krill oil supplemented diet suppresses hepatic steatosis in high-fat fed rats. *PLoS One.* 2012;7(6):e38797.
207. Ferramosca A, Conte A, Zara V. Krill Oil Ameliorates Mitochondrial Dysfunctions in Rats Treated with High-Fat Diet. *Biomed Res Int.* 2015;2015:645984.
208. Fosshaug LE, Berge RK, Beitnes JO, Berge K, Vik H, Aukrust P, et al. Krill oil attenuates left ventricular dilatation after myocardial infarction in rats. *Lipids Health Dis.* 2011;10:245.
209. Mozaffarian D, Geelen A, Brouwer IA, Geleijnse JM, Zock PL, Katan MB. Effect of fish oil on heart rate in humans: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Circulation.* 2005;112(13):1945-52.
210. Harris WS. n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr.* 1997;65(5 Suppl):1645S-54S.
211. Balk EM, Lichtenstein AH, Chung M, Kupelnick B, Chew P, Lau J. Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: a systematic review. *Atherosclerosis.* 2006;189(1):19-30.
212. Wang C, Chung M, Lichtenstein A, Balk E, Kupelnick B, DeVine D, et al. Effects of omega-3 fatty acids on cardiovascular disease. *Evid Rep Technol Assess (Summ).* 2004(94):1-8.
213. Friedberg CE, Janssen MJ, Heine RJ, Grobbee DE. Fish oil and glycemic control in diabetes. A meta-analysis. *Diabetes Care.* 1998;21(4):494-500.
214. Minihane AM, Khan S, Leigh-Firbank EC, Talmud P, Wright JW, Murphy MC, et al. ApoE polymorphism and fish oil supplementation in subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(8):1990-7.
215. Griffin MD, Sanders TA, Davies IG, Morgan LM, Millward DJ, Lewis F, et al. Effects of altering the ratio of dietary n-6 to n-3 fatty acids on insulin sensitivity, lipoprotein size, and postprandial lipemia in men and postmenopausal women aged 45-70 y: the OPTILIP Study. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(6):1290-8.

216. Miller PE, Van Elswyk M, Alexander DD. Long-chain omega-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid and blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Hypertens*. 2014;27(7):885-96.
217. Akinkuolie AO, Ngwa JS, Meigs JB, Djousse L. Omega-3 polyunsaturated fatty acid and insulin sensitivity: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Nutr*. 2011;30(6):702-7.
218. Chen C, Yu X, Shao S. Effects of Omega-3 Fatty Acid Supplementation on Glucose Control and Lipid Levels in Type 2 Diabetes: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015;10(10):e0139565.
219. Mozaffarian D, Wu JH. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58(20):2047-67.
220. Group ASC, Bowman L, Mafham M, Wallendszus K, Stevens W, Buck G, et al. Effects of n-3 Fatty Acid Supplements in Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*. 2018;379(16):1540-50.
221. Bhatt DL, Steg PG, Miller M, Brinton EA, Jacobson TA, Ketchum SB, et al. Cardiovascular Risk Reduction with Icosapent Ethyl for Hypertriglyceridemia. *N Engl J Med*. 2019;380(1):11-22.
222. Manson JE, Cook NR, Lee IM, Christen W, Bassuk SS, Mora S, et al. Marine n-3 Fatty Acids and Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. *N Engl J Med*. 2019;380(1):23-32.
223. Alho C, Cleber J. Criação e manejo de capivaras em pequenas propriedades rurais: EMBRAPA-DDT Brasília; 1986.
224. Herrera E. Comportamiento, conservación y manejo de fauna silvestre: el caso del capibara en Venezuela. *Etología*. 1999;7:41-6.
225. Ojasti J. Estudio biológico del chigüire o capibara. Caracas: Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias Caracas; 1973.
226. BRANCO CFA, R.; ALBUQUERQUE, U. P. . Uso e conservação de plantas e animais medicinais no estado de pernambuco (nordeste do brasil): um estudo de caso. *Interciência*. 2002;27(6):276-85.
227. Souto WMS, Vieira WL, Montenegro PFG, Alves HN, Alves RRN. Breve revisão sobre uso de fauna medicinal no Brasil: aspectos históricos, farmacológicos e conservacionistas. *Sitientibus Série Ciências Biológicas*. 2011;11(2):201-10.
228. Pinheiro MS. A criação em sistema semi-intensivo e o manejo sustentável de capivaras na natureza. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; 2008. 36 p.
229. Antonucci A, Ribeiro T. Criação comercial de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) no Brasil. *Archivos de Zootecnia*. 2014;63(241):189-98.

230. Federico P, Canziani GA. Modeling the population dynamics of capybara *Hydrochaeris hydrochaeris*: a first step towards a management plan. *Ecological Modelling*. 2005;186(1):111-21.
231. Fukushima M, Takayama Y, Habaguchi T, Nakano M. Comparative hypocholesterolemic effects of capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris dabbenei*) oil, horse oil, and sardine oil in cholesterol-fed rats. *Lipids*. 1997;32(4):391-5.
232. PINHEIRO MSS, J. J. C.; RODRIGUES, R. C. . Utilização sustentável e domesticação da capivara. . Pelotas: Embrapa Clima Temperado 2001. 86 p.
233. Marinho PC, Neto-Ferreira R, Jose de Carvalho J. Evaluation of therapeutic intervention with a natural product in cutaneous wound healing: the use of capybara oil. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:217198.
234. Marinho PC, Vieira AB, Pereira PG, Rabelo K, Ciambarella BT, Nascimento ALR, et al. Capybara Oil Improves Hepatic Mitochondrial Dysfunction, Steatosis, and Inflammation in a Murine Model of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2018;2018:4956079.
235. Bressan MC, Oda SH, Cardoso M, Miguel GZ, Freitas R, Vieira JO, et al. Composição de ácidos graxos dos cortes comerciais de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris* L. 1766). *Ciências Agrotécnicas*. 2004;28(6):1352-9.
236. Oda SH, Bressan MC, Freitas R, Miguel GZ, Vieira JO, Faria PB, et al. Composição centesimal e teor de colesterol dos cortes comerciais de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris* L. 1766). *Ciência e Agrotecnologia*. 2004;28(6):1344-51.
237. Pinto MF, Ponsano EHG, Almeida APdS, Heinemann RJB, Souza WMd. Características e potencial tecnológico da carne da capivara. *Ciência Rural*. 2007:868-73.
238. Nogueira Filho SLGeN, S.S. da C. . Criação Comercial de Animais Silvestres: Produção e Comercialização da Carne e de Subprodutos na Região Sudeste do Brasil. 2000 abr-jun;31:188-95.
239. Pinheiro MSG, C.A.N.; Pouey, J.L.O.F.; Rodrigues, R.C.; Ruas, J.L.; Silva, J.J.C. da; Sinkoc, A.L.; Wendt, L.W. . Desempenho e manejo de capivaras em sistema semiintensivo na região costeira sul do Rio Grande do Sul. . Pelotas: Embrapa Clima Temperado; 2007. 40 p.
240. Redford KH. The Empty Forest. *BioScience*. 1992;42(6):412-22.
241. Redford KH, Robinson JG. Subsistence and commercial uses of wildlife in Latin America. In: Redford KH, Robinson JG. *Neotropical Wildlife Use and Conservation*. Chicago: University of Chicago Press; 1991.
242. Angermuller S, Fahimi HD. Imidazole-buffered osmium tetroxide: an excellent stain for visualization of lipids in transmission electron microscopy. *Histochem J*. 1982;14(5):823-35.


243. Mandarim-de-Lacerda CA, Del Sol M. Tips for Studies with Quantitative Morphology (Morphometry and Stereology). *International Journal of Morphology*. 2017;35(4):1482-94.
244. Bellanti F, Villani R, Facciorusso A, Vendemiale G, Serviddio G. Lipid oxidation products in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Free Radic Biol Med*. 2017;111:173-85.
245. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev*. 2010;23(2):270-99.
246. Masi LN, Martins AR, Rosa Neto JC, do Amaral CL, Crisma AR, Vinolo MA, et al. Sunflower oil supplementation has proinflammatory effects and does not reverse insulin resistance in obesity induced by high-fat diet in C57BL/6 mice. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:945131.
247. Neto-Ferreira R, Rocha VN, Souza-Mello V, Mandarim-de-Lacerda CA, de Carvalho JJ. Pleiotropic effects of rosuvastatin on the glucose metabolism and the subcutaneous and visceral adipose tissue behavior in C57BL/6 mice. *Diabetol Metab Syndr*. 2013;5(1):32.
248. Vinícius Novaes Rocha RNF, Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda and Jorge José de Carvalho. Beneficial Effects of Rosuvastatin in Heart of C57BL/6 Mice with Diet-Induced Metabolic Syndrome - A Preliminary Study. *Endocrinol Metab Syndr*. 2014;3(1). doi:10.4172/2161-1017.1000121
249. Pu P, Gao DM, Mohamed S, Chen J, Zhang J, Zhou XY, et al. Naringin ameliorates metabolic syndrome by activating AMP-activated protein kinase in mice fed a high-fat diet. *Arch Biochem Biophys*. 2012;518(1):61-70.
250. Cahova M, Dankova H, Palenickova E, Papackova Z, Kazdova L. The opposite effects of high-sucrose and high-fat diet on Fatty Acid oxidation and very low density lipoprotein secretion in rat model of metabolic syndrome. *J Nutr Metab*. 2012;2012:757205.
251. Catta-Preta M, Martins MA, Cunha Brunini TM, Mendes-Ribeiro AC, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguila MB. Modulation of cytokines, resistin, and distribution of adipose tissue in C57BL/6 mice by different high-fat diets. *Nutrition*. 2012;28(2):212-9.
252. Souza-Mello V, Gregorio BM, Relvas-Lucas B, da Silva Faria T, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Pancreatic ultrastructural enhancement due to telmisartan plus sitagliptin treatment in diet-induced obese C57BL/6 mice. *Pancreas*. 2011;40(5):715-22.
253. Fraulob JC, Souza-Mello V, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Beneficial effects of rosuvastatin on insulin resistance, adiposity, inflammatory markers and non-alcoholic fatty liver disease in mice fed on a high-fat diet. *Clin Sci (Lond)*. 2012;123(4):259-70.

254. Poudyal H, Panchal SK, Ward LC, Brown L. Effects of ALA, EPA and DHA in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *J Nutr Biochem*. 2013;24(6):1041-52.
255. Qin F, Siwik DA, Luptak I, Hou X, Wang L, Higuchi A, et al. The polyphenols resveratrol and S17834 prevent the structural and functional sequelae of diet-induced metabolic heart disease in mice. *Circulation*. 2012;125(14):1757-64, S1-6.
256. Charradi K, Sebai H, Elkahoui S, Ben Hassine F, Limam F, Aouani E. Grape seed extract alleviates high-fat diet-induced obesity and heart dysfunction by preventing cardiac siderosis. *Cardiovasc Toxicol*. 2011;11(1):28-37.
257. Go RE, Hwang KA, Park GT, Lee HM, Lee GA, Kim CW, et al. Effects of microalgal polyunsaturated fatty acid oil on body weight and lipid accumulation in the liver of C57BL/6 mice fed a high fat diet. *J Biomed Res*. 2016;30(3):234-42.
258. Lanza IR, Blachnio-Zabielska A, Johnson ML, Schimke JM, Jakaitis DR, Lebrasseur NK, et al. Influence of fish oil on skeletal muscle mitochondrial energetics and lipid metabolites during high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013;304(12):E1391-403.
259. Tishinsky JM, Gulli RA, Mullen KL, Dyck DJ, Robinson LE. Fish oil prevents high-saturated fat diet-induced impairments in adiponectin and insulin response in rodent soleus muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2012;302(5):R598-605.
260. Demaison L, Blet J, Sergiel JP, Gregoire S, Argaud D. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on contractile function of hearts isolated from sedentary and trained rats. *Reprod Nutr Dev*. 2000;40(2):113-25.
261. Mozaffarian D, Gottdiener JS, Siscovick DS. Intake of tuna or other broiled or baked fish versus fried fish and cardiac structure, function, and hemodynamics. *Am J Cardiol*. 2006;97(2):216-22.
262. McVeigh GE, Brennan GM, Cohn JN, Finkelstein SM, Hayes RJ, Johnston GD. Fish oil improves arterial compliance in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb*. 1994;14(9):1425-9.
263. Mori TA, Watts GF, Burke V, Hilme E, Puddey IB, Beilin LJ. Differential effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on vascular reactivity of the forearm microcirculation in hyperlipidemic, overweight men. *Circulation*. 2000;102(11):1264-9.
264. Harris WS, Rambjor GS, Windsor SL, Diederich D. n-3 fatty acids and urinary excretion of nitric oxide metabolites in humans. *Am J Clin Nutr*. 1997;65(2):459-64.
265. Chin JP, Gust AP, Nestel PJ, Dart AM. Marine oils dose-dependently inhibit vasoconstriction of forearm resistance vessels in humans. *Hypertension*. 1993;21(1):22-8.


266. Kenny D, Warltier DC, Pleuss JA, Hoffmann RG, Goodfriend TL, Egan BM. Effect of omega-3 fatty acids on the vascular response to angiotensin in normotensive men. *Am J Cardiol.* 1992;70(15):1347-52.
267. Fernandes-Santos C, de Souza Mendonca L, Mandarim-de-Lacerda CA. Favorable cardiac and aortic remodeling in olmesartan-treated spontaneously hypertensive rats. *Heart Vessels.* 2009;24(3):219-27.
268. Silva-Junior Gde O, Torres Tda S, Mendonca Lde S, Mandarim-de-Lacerda CA. Rosiglitazone (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma) counters hypertension and adverse cardiac and vascular remodeling in 2K1C hypertensive rats. *Exp Toxicol Pathol.* 2011;63(1-2):1-7.
269. Torres Tda S, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Rosiglitazone reverses cardiac adverse remodeling (fibrosis and vascularization) in perinatal low protein rat offspring. *Pathol Res Pract.* 2010;206(9):642-6.
270. Moreira AS, Teixeira Teixeira M, da Silveira Osso F, Pereira RO, de Oliveira Silva-Junior G, Garcia de Souza EP, et al. Left ventricular hypertrophy induced by overnutrition early in life. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2009;19(11):805-10.
271. Salata C, Ferreira-Machado SC, De Andrade CB, Mencialha AL, Mandarim-De-Lacerda CA, de Almeida CE. Apoptosis induction of cardiomyocytes and subsequent fibrosis after irradiation and neoadjuvant chemotherapy. *Int J Radiat Biol.* 2014;90(4):284-90.
272. Costa MV, Fernandes-Santos C, Faria Tda S, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Diets rich in saturated fat and/or salt differentially modulate atrial natriuretic peptide and renin expression in C57BL/6 mice. *Eur J Nutr.* 2012;51(1):89-96.
273. Diwan V, Poudyal H, Brown L. Piperine attenuates cardiovascular, liver and metabolic changes in high carbohydrate, high fat-fed rats. *Cell Biochem Biophys.* 2013;67(2):297-304.
274. Panchal SK, Poudyal H, Arumugam TV, Brown L. Rutin attenuates metabolic changes, nonalcoholic steatohepatitis, and cardiovascular remodeling in high-carbohydrate, high-fat diet-fed rats. *J Nutr.* 2011;141(6):1062-9.
275. Porter KE, Turner NA. Statins and myocardial remodeling: cell and molecular pathways. *Expert Rev Mol Med.* 2011;13:e22.
276. Rocha VN FR, Mandarim-de-Lacerda CA, de Carvalho JJ. Beneficial Effects of Rosuvastatin in Heart of C57Bl/6 Mice with Diet- Induced Metabolic Syndrome - A Preliminary Study. . *Endocrinol Metab Syndr.* 2014;3(121).
277. Abel ED, Litwin SE, Sweeney G. Cardiac remodeling in obesity. *Physiol Rev.* 2008;88(2):389-419.

278. Holloway GP, Snook LA, Harris RJ, Glatz JF, Luiken JJ, Bonen A. In obese Zucker rats, lipids accumulate in the heart despite normal mitochondrial content, morphology and long-chain fatty acid oxidation. *J Physiol*. 2011;589(Pt 1):169-80.
279. Supakul L, Pintana H, Apaijai N, Chattipakorn S, Shinlapawittayatorn K, Chattipakorn N. Protective effects of garlic extract on cardiac function, heart rate variability, and cardiac mitochondria in obese insulin-resistant rats. *Eur J Nutr*. 2014;53(3):919-28.
280. Gaussin V, Tomlinson JE, Depre C, Engelhardt S, Antos CL, Takagi G, et al. Common genomic response in different mouse models of beta-adrenergic-induced cardiomyopathy. *Circulation*. 2003;108(23):2926-33.
281. Murray AJ, Anderson RE, Watson GC, Radda GK, Clarke K. Uncoupling proteins in human heart. *Lancet*. 2004;364(9447):1786-8.
282. Teshima Y, Akao M, Jones SP, Marban E. Uncoupling protein-2 overexpression inhibits mitochondrial death pathway in cardiomyocytes. *Circ Res*. 2003;93(3):192-200.
283. Trenker M, Malli R, Fertschai I, Levak-Frank S, Graier WF. Uncoupling proteins 2 and 3 are fundamental for mitochondrial Ca²⁺ uniport. *Nat Cell Biol*. 2007;9(4):445-52.
284. Cabrera JA, Ziemba EA, Colbert R, Kelly RF, Kuskowski M, Arriaga EA, et al. Uncoupling protein-2 expression and effects on mitochondrial membrane potential and oxidant stress in heart tissue. *Transl Res*. 2012;159(5):383-90.
285. McLeod CJ, Aziz A, Hoyt RF, Jr., McCoy JP, Jr., Sack MN. Uncoupling proteins 2 and 3 function in concert to augment tolerance to cardiac ischemia. *J Biol Chem*. 2005;280(39):33470-6.
286. Turner JD, Gaspers LD, Wang G, Thomas AP. Uncoupling protein-2 modulates myocardial excitation-contraction coupling. *Circ Res*. 2010;106(4):730-8.

ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética UERJ



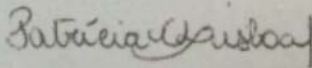
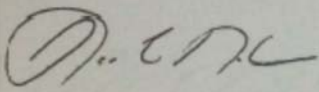
COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO
DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS (CEUA)



CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº CEUA/003/2016 sobre "Efeitos do óleo de capivara no remodelamento cardíaco de camundongos C57BL/6, alimentados com dieta hiperlipídica" sob a responsabilidade de Jorge José de Carvalho, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (CEUA), em 26/01/2016. Este certificado expira em 26/01/2020.

Rio de Janeiro, 26 de Janeiro de 2016.



Prof. Dr. Alex C. Manhães
Coordenador
CEUA/IBRAG/UERJ

Profa. Dra. Patricia C. Lisboa
Vice-Coordenadora
CEUA/IBRAG/UERJ

<http://www.biologiauerj.com.br/comite-de-etica>
ceua.ibrag@yahoo.com.br

ANEXO B - Aprovação do Comitê de Ética CESVA



FUNDAÇÃO EDUCACIONAL D. ANDRÉ ARCOVERDE
CENTRO DE ENSINO SUPERIOR DE VALENÇA
CENTRO DE PESQUISA EXPERIMENTAL / CESVA-FAA
Comissão de Ética no Uso de Animais



Comissão de Ética no Uso de Animais

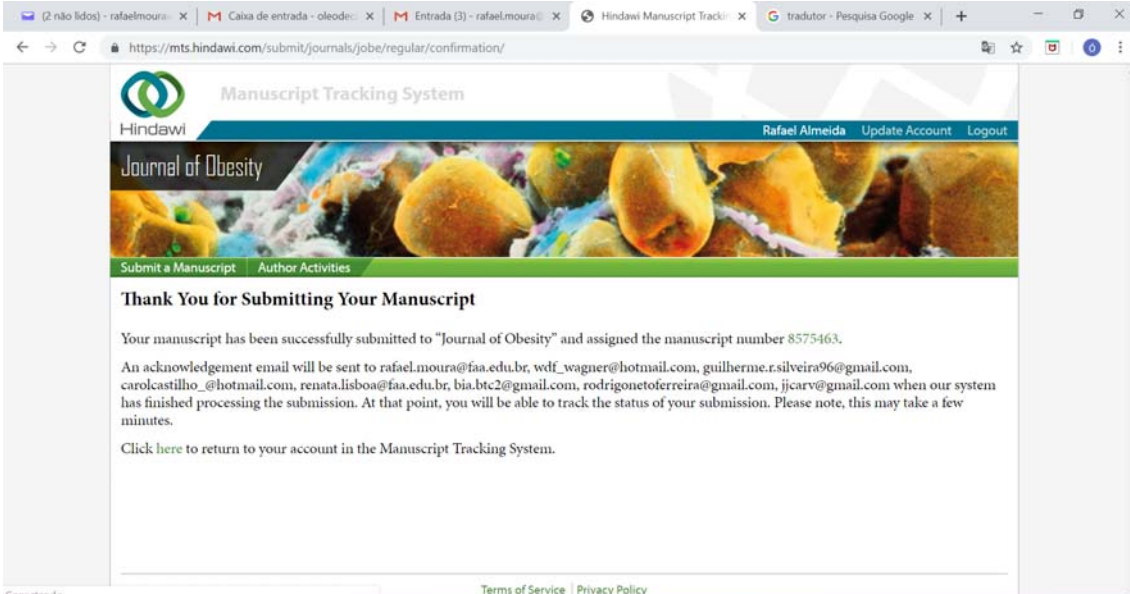
CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº **CEUA/15/2017** sobre “Efeitos do óleo de capivara no remodelamento cardíaco de camundongos C57BL/6, alimentados com dieta hiperlipídica”, sob a responsabilidade do Professor Rafael Moura de Almeida, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido **aprovado** pela **Comissão de Ética no Uso de Animais** do Centro de Ensino Superior de Valença da Fundação Dom André Arcoverde, em **24 de abril de 2017**.

Valença /RJ, 09 de maio de 2017.

Prof. Dr. Ana Paula Aragão
Coordenadora da CEUA
CESVA/ FAA

ANEXO C - Comprovação de submissão do 1º artigo científico



Manuscript Tracking System
Hindawi Rafael Almeida Update Account Logout

Journal of Obesity

Submit a Manuscript Author Activities

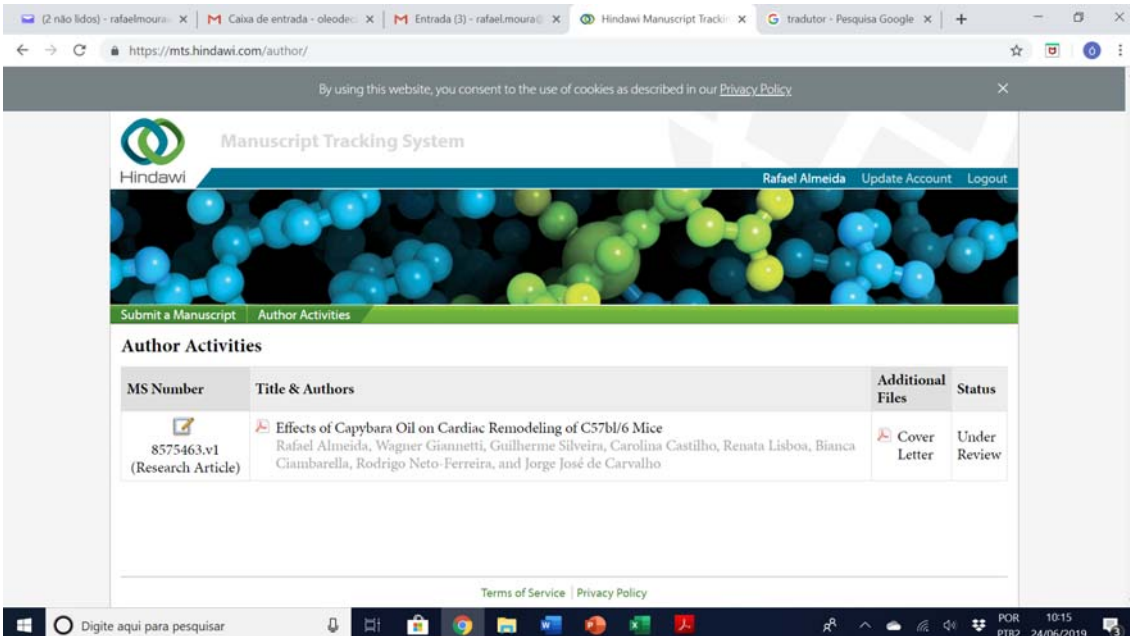
Thank You for Submitting Your Manuscript

Your manuscript has been successfully submitted to "Journal of Obesity" and assigned the manuscript number 8575463.

An acknowledgement email will be sent to rafael.moura@faa.edu.br, wdf_wagner@hotmail.com, guilherme.r.silveira96@gmail.com, carolcastilho_@hotmail.com, renata.lisboa@faa.edu.br, bia.btc2@gmail.com, rodrigonetoferreira@gmail.com, jjcarv@gmail.com when our system has finished processing the submission. At that point, you will be able to track the status of your submission. Please note, this may take a few minutes.

Click [here](#) to return to your account in the Manuscript Tracking System.

Conectando... Terms of Service Privacy Policy



By using this website, you consent to the use of cookies as described in our [Privacy Policy](#)

Manuscript Tracking System
Hindawi Rafael Almeida Update Account Logout

Submit a Manuscript Author Activities

Author Activities

MS Number	Title & Authors	Additional Files	Status
8575463.v1 (Research Article)	Effects of Capybara Oil on Cardiac Remodeling of C57bl/6 Mice Rafael Almeida, Wagner Giannetti, Guilherme Silveira, Carolina Castilho, Renata Lisboa, Bianca Giambarella, Rodrigo Neto-Ferreira, and Jorge José de Carvalho	Cover Letter	Under Review

Terms of Service Privacy Policy