



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Leonardo de Souza Mendonça

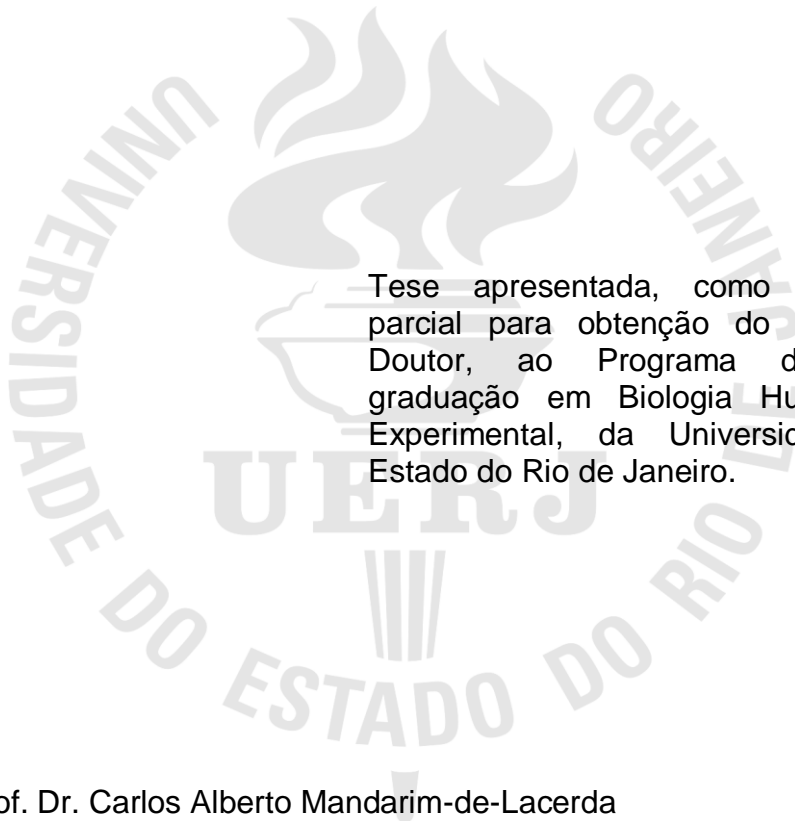
**Alteração do tecido adiposo e fígado em modelo experimental
de síndrome metabólica: ação de agonista PPAR-gama e
bloqueador de receptor AT1 da angiotensina 2**

Rio de Janeiro

2011

Leonardo de Souza Mendonça

Alteração do tecido adiposo e fígado em modelo experimental de síndrome metabólica: ação de agonista PPAR-gama e bloqueador de receptor AT1 da angiotensina 2



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

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda

Rio de Janeiro

2011

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBB

M539 Mendonça, Leonardo de Souza.

Alteração do tecido adiposo e fígado em modelo experimental de síndrome metabólica: ação de agonista PPAR-gama e bloqueador de receptor AT1 da angiotensina 2/ Leonardo de Souza Mendonça. – 2011. 84 f.

Orientador: Carlos Alberto Mandarim de Lacerda.

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental.

1. Síndrome metabólica – Teses. 2. Tecido adiposo – Teses. 3. Fígado – Teses. 4. PPAR-gama – Agonistas. 5. Camundongos Endogâmicos C57BL. I. Lacerda, Carlos Alberto Mandarim de. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 611-018.26

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

Assinatura

Data

Leonardo de Souza Mendonça

Alteração do tecido adiposo e fígado em modelo experimental de síndrome metabólica: ação de agonista PPAR-gama e bloqueador de receptor AT1 da angiotensina 2

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

Aprovada em 28 de fevereiro de 2011.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda (Orientador)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof^a. Dra. Eliete Bouskela
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof. Dr. Egberto Gaspar de Moura
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof. Dr. Claudio Buarque Benchimol
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Prof. Dr. Eduardo Vera Tibiriça
Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Rio de Janeiro

2011

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Carlos e Glória, à Isadora e ao meu orientador,
Prof. Mandarin.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pelo apoio e amor incondicional. Por prezarem e lutarem sempre pela educação de seus filhos.

À Isadora Salvucci, amiga, ouvinte, que torce, vibra, acolhe, que está ao meu lado nos melhores e também nos difíceis momentos. Você como ninguém sabe como foi dura essa batalha e sem você, com certeza seria muito mais difícil. Muito obrigado por tudo!

Ao meu irmão Alex e minha cunhada Ana Cristina, pelo carinho e torcida.

A toda minha família pelo apoio e torcida. E incluo aqui, a família Darriba Macedo Salvucci que me “adotou” e me trata da melhor maneira possível, obrigado!

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Mandarim de Lacerda, meu eterno orientador, que durante esses dez anos me incentivou, me colocou à prova, me orientou com muita seriedade e mostrou como caminhar em busca do sucesso. Espero ter correspondido às suas expectativas. Obrigado pelos quase dez anos de engrandecimento pessoal e profissional.

À Profa. Dra. Márcia Barbosa Águila, por ter me acolhido e “adotado” como orientado. Obrigado pelas conversas em momentos difíceis.

À Profa. Dra. Leila Maria Meirelles Pereira, pela aula inesquecível de anatomia cardiovascular e pelo convite que me despertou o interesse pelo Laboratório de Morfometria e Morfologia Cardiovascular (LMMC) da UERJ.

Às amigas de longa data Caroline Fernandes e Mariana Catta-Preta, por toda a ajuda e apoio, não só cientificamente, mas pessoalmente. Vocês sempre estiveram presentes e sempre me ajudaram, sei que posso contar com vocês por toda a vida. Obrigado minhas grandes amigas!

À amiga Isis Hara, pela amizade e ajuda na biologia molecular. Não tenho como agradecer por toda consultoria no western blott. Obrigado pela amizade sincera e alegre de sempre!

Aos amigos de “curta data” cultivados ao longo do doutorado, Victor Motta, Thiago Torres, Fernanda Amorim, Sandra Barbosa, Alini Schultz, Ana Maria Volpato, Júlio Fraulob e Geraldo Oliveira que contribuíram inúmeras

vezes não só para o andamento do trabalho, mas fizeram os meus dias no laboratório mais harmônicos, me ajudaram no projeto, nas aulas, na informática, muito obrigado!

Aos meus amigos “Leks” pelos momentos de diversão, descontração e discussões científicas. Obrigado pela amizade de vocês

À equipe “Titanic”! Esse barco não afundará!

À futura bióloga Thais Ceciliano e à futura médica Rafaela Capelli que participaram deste trabalho como alunas de Iniciação Científica, por toda a ajuda. Aos técnicos William Lanes, Thatiany Marinho e Angélica Figueiredo por toda a assistência durante o desenvolvimento deste trabalho.

A todos do LMMC por todo o apoio e torcida ao longo do desenvolvimento deste projeto.

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.

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro pelo apoio financeiro durante o doutoramento.

Ama-se mais o que se conquista com esforço.

Benjamim Disraeli

RESUMO

MENDONÇA, Leonardo de Souza. *Alteração do tecido adiposo e fígado em modelo experimental de síndrome metabólica: ação de agonista PPAR-gama e bloqueador de receptor AT1 da angiotensina 2*. 2011. 84 f. Tese (Doutorado em Biologia Humana e Experimental) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

Este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos da telmisartana (agonista PPAR-gama parcial), losartana (puro bloqueador do receptor AT1 da angiotensina II) e rosiglitazona (agonista PPAR-gama) em modelo experimental de síndrome metabólica. Os alvos do estudo foram a pressão arterial, metabolismo de carboidratos, resistência insulínica, inflamação, tecido adiposo e fígado. Camundongos C57BL/6 (a partir de 3 meses de idade) foram alimentados com dieta padrão (SC, n = 10) ou dieta hiperlipídica rica em sal (HFHS, n = 40) por 12 semanas. Após esse tempo, os animais do grupo HFHS foram subdivididos em 4 grupos (n = 10): HFHS (sem tratamento), ROSI (HFHS tratado com rosiglitazona), TELM (HFHS tratado com telmisartana) e LOS (HFHS tratado com losartana) por 5 semanas. O grupo HFHS apresentou um significativo ganho de peso e aumento da pressão arterial sistólica, hiperinsulinemia com resistência insulínica, hiperleptinemia, hipertrofia de adipócitos bem como um quadro de esteatose hepática e níveis aumentados da citocina inflamatória interleucina-6 (IL-6). Os animais tratados com telmisartana chegou ao final do experimento com massa corporal similar ao grupo SC, com reversão do quadro de resistência insulínica, com pressão arterial normal, adipócitos de tamanho normal e sem apresentar esteatose hepática. Além disso, o tratamento com telmisartana aumentou a expressão de PPAR γ e adiponectina no tecido adiposo epididimal. A expressão da proteína desacopladora-1 (UCP-1) no tecido adiposo branco (TAB) também foi aumentada. O tratamento com losartana diminuiu a pressão arterial para valores normais, porém com menores efeitos nos parâmetros metabólicos dos animais. O presente modelo experimental de ganho de peso e hipertensão induzidos por dieta mimetiza a síndrome metabólica humana. Neste modelo, a telmisartana aumentou a expressão de UCP-1 no TAB, preveniu o ganho de peso e melhorou a sensibilidade à insulina e a esteatose hepática dos camundongos C57BL/6, provavelmente devido à ativação PPAR-gama.

Palavras-chave: Síndrome metabólica. PPAR-gama. C57BL/6. Tecido adiposo. Fígado.

ABSTRACT

The study aimed to investigate the effects of telmisartan (a partial PPAR gamma agonist), losartan (a pure angiotensin II receptor blocker) and rosiglitazone (PPAR gamma agonist) in a mice model of metabolic syndrome (MetS). The targets of this study were blood pressure (BP), carbohydrate metabolism, insulin resistance, inflammation, white adipose tissue (WAT) and liver. Male C57BL/6 mice were studied over 17 weeks after being separated into two major groups according to diet: standard chow (SC, 10% fat, n = 10) or high-fat high-salt chow (HFHS, 60% fat, 7% salt, n = 40). In the last 5 weeks of the experiment, the HFHS group was divided into four groups (n = 10): untreated HFHS, ROSI (HFHS plus rosiglitazone), TELM (HFHS plus telmisartan), and LOS (HFHS plus losartan). The HFHS group had significantly greater body mass and BP, in addition to hyperinsulinemia with insulin resistance, hyperleptinemia, adipocyte hypertrophy and hepatic steatosis as well as increased inflammatory cytokine levels. Animals treated with telmisartan had body weights similar to the SC group, in addition to reversed insulin resistance, reduced hypertension, reduced adipocyte hypertrophy, ameliorates hepatic steatosis and decreased IL-6. Telmisartan increased PPAR γ and adiponectin expression in white adipose tissue. Interestingly, the expression of UCP-1 in white adipose tissue was also increased by treatment with telmisartan. Losartan decreased BP but had smaller effects on metabolic parameters. The present model of diet-induced weight gain and hypertension in mice mimics human features of MetS. In this model, telmisartan enhances UCP-1 expression in WAT, prevented weight gain and ameliorates insulin sensitivity and hepatic steatosis in C57Bl/6 mice, probably due to PPAR gamma activation.

Keywords: Metabolic syndrome. PPAR-gamma. C57BL/6. Adipose tissue. Liver.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Ativação do PPAR e transcrição gênica.....	31
Figura 2 –	Sistema renina-angiotensina-aldosterona.....	33
Figura 3 –	Morfometria do adipócito.....	43
Figura 4 –	Análise de imagem para esteatose hepática.....	44
Figura 5 –	Evolução da massa corporal.....	48
Figura 6 –	Evolução da pressão arterial sistólica.....	49
Figura 7 –	Adipócitos na gordura branca epididimal.....	56
Figura 8 –	Expressão protéica de PPAR-gama na gordura epididimal.....	58
Figura 9 –	Expressão protéica de leptina na gordura epididimal.....	59
Figura 10 –	Expressão protéica de adiponectina na gordura epididimal.....	60
Figura 11 –	Expressão protéica de UCP-1 na gordura epididimal.....	61
Figura 12 –	Fotomicrografias de fígado coradas com <i>oil red</i>	64
Figura 13 –	Expressão protéica de SREBP-1 no fígado.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Definições para diagnóstico da síndrome metabólica.....	21
Tabela 2 – Substâncias produzidas pelo tecido adiposo.....	26
Tabela 3 – Massa corporal, consumo energético, metabolismo de carboidrato e análises bioquímicas.....	53
Tabela 4 – Adipocinas e morfometria do tecido adiposo.....	55
Tabela 5 – Biometria hepática, esteatose e análises bioquímicas.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácido graxo
AGL	Ácido graxo livre
AgRP	Peptídeo agouti
ALT	Alanina transaminase
ANG II	Angiotensina II
AST	Aspartato transaminase
AT1	Receptor tipo 1 da angiotensina II
AT2	Receptor tipo 2 da angiotensina II
AUC	Área sob a curva
BRA	Bloqueador do receptor tipo I da angiotensina II
CART	Transcrito relacionado à cocaína e anfetamina
DAC	Doença aterosclerótica coronariana
ECA	Enzima conversora de angiotensina
FAL	Fosfatase alcalina
HDL-C	Lipoproteína de alta densidade colesterol
HFHS	Grupo alimentado com dieta hiperlipídica e rica em sal
HOMA-IR	Modelo de avaliação da homeostase (do inglês <i>homeostatic model assessment</i>),
IDF	Federação internacional de diabetes
IL-6	Interleucina – 6

IMC	Índice de massa corporal
LDL-C	Lipoproteína de baixa densidade colesterol
LOS	Grupo alimentado com dieta hiperlipídica e rica em sal tratado com losartana
NAFLD	Doença hepática gordurosa não alcoólica (do inglês <i>non-alcoholic fatty liver disease</i>)
NPY	Neuropeptídeo Y
OMS	Organização mundial da saúde
ON	Óxido nítrico
ORO	Coloração por <i>oil red O</i>
PAI-1	Inibidor do ativador de plasminogênio – 1
PAS	Pressão arterial sistólica
POMC	Pro-ópio-melanocortina
PPAR	Receptor ativador de proliferação peroxissomal
ROSI	Grupo alimentado com dieta hiperlipídica e rica em sal tratado com rosiglitazona
SC	Grupo alimentado com dieta controle
SMet	Síndrome Metabólica
SNC	Sistema nervoso central
SNS	Sistema nervoso simpático
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
TAB	Tecido adiposo branco
TAC	Triacilglicerol
TAM	Tecido adiposo marrom

TELM	Grupo alimentado com dieta hiperlipídica e rica em sal tratado com telmisartana
TGF- β	Fator transformador de crescimento beta
TITI	Teste intraperitoneal de tolerância à insulina
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TOTG	Teste oral de tolerância à glicose
TZD	Tiazolidinedionas
UCP-1	Proteína desacopladora – 1
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
Vv	Densidade de volume

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	16
1 OBJETIVOS	18
1.1 Objetivo geral	18
1.2 Objetivos específicos	18
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 Síndrome Metabólica	19
2.2 Tecido adiposo	22
2.2.1 <u>Tecido adiposo marrom</u>	24
2.2.2 <u>Tecido adiposo branco</u>	24
2.3 Leptina	27
2.4 Adiponectina	28
2.5 Receptores ativadores de proliferação peroxissomal	28
2.6 Sistema renina-angiotensina-aldosterona	32
2.7 Modelos experimentais de doenças metabólicas	35
3 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1 Animais e dietas	37
3.2 Pressão arterial	38
3.3 Massa corporal e ingestão alimentar	38
3.4 Metabolismo de carboidratos	38
3.4.1 <u>Teste oral de tolerância à glicose</u>	38
3.4.2 <u>Teste intraperitoneal de tolerância à insulina</u>	39
3.5 Eutanásia	39
3.6 Análises bioquímicas	40
3.7 Triglicérides hepáticos	40
3.8 Elisa e análise milliplex	40
3.9 HOMA-IR	41
3.10 Tecido adiposo e morfometria	41
3.11 Tecido hepático e esteatose	41
3.12 Western blotting	45
3.12.1 <u>Tecido adiposo branco</u>	45
3.12.2 <u>Fígado</u>	45
3.13 Análise de dados	46

4 RESULTADOS	47
4.1 Massa corporal e ingestão alimentar	47
4.2 Pressão arterial	49
4.3 Metabolismo de carboidratos	50
4.3.1 <u>Teste oral de tolerância à glicose</u>	50
4.3.2 <u>Teste intraperitoneal de tolerância à insulina</u>	50
4.4 Análises bioquímicas	51
4.5 Triglicérides hepáticos	51
4.6 Elisa e análise milliplex	51
4.7 HOMA-IR	52
4.8 Morfometria do tecido adiposo	54
4.9 Western blotting do tecido adiposo	57
4.10 Tecido hepático e esteatose	62
4.11 Western blotting do fígado	62
5 DISCUSSÃO	66
6 CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIA	72
APÊNDICE – Publicações	83
ANEXO - Carta de submissão	84

INTRODUÇÃO

Principalmente após a revolução industrial e as duas grandes guerras, as maiores disponibilidades de alimentos com alto valor energético aliado ao crescente hábito de vida sedentário introduziram uma ameaça a sobrevivência humana: a obesidade e as comorbidades associadas a ela. Esse hábito alimentar vai de encontro ao “genótipo econômico”, que promove o armazenamento de energia nas células adiposas na forma de triacilglicerol para atingir a demanda energética em tempos de necessidades (1).

A obesidade é uma doença heterogênea quanto à distribuição regional do tecido adiposo. Estudos mostram que a obesidade visceral está associada a um maior risco de comorbidades ligados à obesidade, enquanto a obesidade subcutânea está associada a um risco reduzido de doenças cardiovasculares (2-4).

A síndrome metabólica (SMet) é uma união de distúrbios que incluem intolerância à glicose, resistência à insulina, obesidade (particularmente obesidade central), hipertensão, triglicerídeos séricos elevados, baixos níveis de HDL colesterol (HDL-C)(5).

A doença hepática gordurosa não alcoólica (*NAFLD*, do inglês *non-alcoholic fatty liver disease*) tem sido apontada como o componente hepático da SMet. A *NAFLD* envolve aumento do aporte de ácidos graxos livres (AGL) concomitante a um decréscimo da beta-oxidação, tendo como consequência uma maior suscetibilidade à fibrose hepática (6). A *NAFLD* tem como consequência a resistência insulínica. Essa observação enfatiza a necessidade de encontrar novas estratégias para o controle da obesidade, aumentar a sensibilidade insulínica e melhorar a função dos hepatócitos (7).

Os fármacos que bloqueiam a ação do peptídeo angiotensina II (Ang II) no seu receptor AT1 têm sido amplamente utilizados para o tratamento de hipertensão arterial sistêmica (8). Pesquisas recentes sugerem que alguns bloqueadores dos receptores da Ang II (BRAs) têm efeitos benéficos que não estão relacionados ao bloqueio do receptor AT1 da AngII, e sim, possivelmente, devido a seus efeitos pleiotrópicos sobre receptores ativadores de proliferação peroxissomal (PPAR)-gama, uma vez que alguns BRAs são agonistas parciais deste isotipo PPAR (9).

Os PPARs fazem parte de uma família de fatores de transcrição intimamente relacionada ao metabolismo celular de lipídios, carboidratos e proteínas, além de promoverem a diferenciação celular. Há três isotipos de PPAR: PPAR-alfa, PPAR-beta/delta e PPAR-gama. As tiazolidinedionas (TZDs), tais como a rosiglitazona são agonistas PPAR-gama utilizada para tratar o diabetes, uma vez que reduz a glicose sanguínea e melhora a sensibilidade à insulina (10).

A utilização de fármacos destinados ao tratamento das doenças associadas ao tratamento da SMet não deve ser descartado (11). Estudos experimentais são necessários para avaliar a viabilidade da utilização desses fármacos, analisar seus outros efeitos e estabelecer doses seguras.

Os camundongos C57BL/6 alimentados com uma dieta rica em gordura representam um modelo experimental para o estudo da SMet humana, pois estes animais têm resistência à insulina, sobrepeso, *NAFLD*, e *doença pancreática gordurosa não alcoólica* (12, 13). No entanto, uma dieta rica apenas em lipídios não aumenta significativamente a pressão arterial em camundongos. Assim, a adição de sal a uma dieta rica em gordura parece ser uma alternativa útil para mimetizar a SMet humana.

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo Geral

Este estudo foi realizado para investigar três diferentes classes químicas de fármacos frequentemente usados na medicina, um BRA e agonista parcial de PPAR-gama (telmisartana), um puro BRA (losartana) e um puro agonista PPAR-gama (rosiglitazona), em camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica e rica em sal e seus efeitos em órgãos alvo da síndrome metabólica.

1.2 Objetivos Específicos

Avaliar a capacidade da dieta hiperlipídica e rica em sal em mimetizar nos camundongos C57BL/6 a SMet;

Estudar a pressão arterial, o metabolismo de carboidratos, resistência à insulina, inflamação, tecido adiposo e fígado;

Avaliar a eficácia e mecanismos do tratamento com os três medicamentos nesses parâmetros.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Síndrome Metabólica

No homem, a SMet é uma união de distúrbios que incluem intolerância à glicose, resistência à insulina, obesidade (particularmente obesidade central), hipertensão arterial, triglicérides séricos elevados, baixos níveis de HDL colesterol (HDL-C).

A SMet é comum nos países industrializados (32% nos EUA, 26% na Europa), devido principalmente à obesidade e o sedentarismo. Na literatura ainda é um pouco controversa se a SMet é uma verdadeira síndrome ou uma mera associação de fenótipos relacionados, mas há um consenso geral de que a obesidade e suas complicações, incluindo a síndrome metabólica, estão associadas com um risco aumentado para a saúde.

A SMet pode estar presente em diversas formas, de acordo com a combinação dos diferentes componentes desta síndrome, e está bem estabelecido que aumente o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e câncer (5, 14, 15). Do ponto de vista epidemiológico, devemos destacar sua importância, sendo responsável pelo aumento da mortalidade cardiovascular estimada em 2,5 vezes.

A partir de 1988, quando Reaven descreveu a síndrome metabólica (como síndrome X) (16), várias definições têm sido publicadas por diversas organizações. O NCEP (*National Cholesterol Education Program*), a OMS (Organização Mundial da Saúde), a IDF (Federação Internacional de Diabetes), o EGIR (Grupo Europeu para o Estudo da Resistência à Insulina) entre outras organizações têm suas próprias definições para a classificação da SMet.

A OMS preconiza como ponto inicial a avaliação da resistência à insulina ou distúrbio do metabolismo da glicose, o que dificulta sua utilização na área clínica diariamente.

Já a definição do NCEP-ATP III foi desenvolvida para o uso clínico e não exige o diagnóstico da resistência à insulina, facilitando sua utilização (17). Pela classificação do NCEP, o paciente precisa ter pelo menos três componentes

(obesidade abdominal, triglicerídeos elevados, baixos valores de HDL-C, pressão arterial elevada e glicemia de jejum elevada) para ser classificado como portador da síndrome metabólica. Pela simplicidade e praticidade de uso, essa é a definição recomendada pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (18).

Em 2005, o IDF concluiu que a obesidade era um dos cinco critérios requeridos para o diagnóstico, juntamente com dois dos outros quatro critérios propostos pelo NCEP-ATP III. Porém, a IDF propôs pontos de corte para obesidade (cintura abdominal) diferente de acordo com a população estudada. A tabela 1 apresenta os diversos parâmetros para classificação da SMet de acordo com cada organização.

Em relação à cronologia da descrição da síndrome metabólica, ela foi primeiramente descrita em 1923, por Kylin, como sendo a associação da pressão arterial elevada, hiperglicemia e a gota (19). Passados 20 anos, foi notado por Vague que a adiposidade concentrada na porção superior do corpo (andróide) era o tipo mais frequente associado com as anormalidades metabólicas vistas no diabetes e na doença cardiovascular (20). Reaven, em 1988, utilizou o nome “Síndrome X” e estabeleceu a importância clínica desta síndrome, apesar da obesidade não ter sido incluída (16). Kaplan, em 1989, renomeou como “Quarteto Mortal” e outros atribuíram o nome de “Síndrome da resistência à insulina” (21, 22). Atualmente, o nome “Síndrome Metabólica” é a descrição mais aceita e utilizada.

Apesar de não fazerem parte dos critérios de diagnóstico da síndrome metabólica, várias condições clínicas e fisiopatológicas estão frequentemente associadas a ela, tais como: síndrome de ovários policísticos, *acanthosis nigricans*, doença hepática gordurosa não alcoólica, microalbuminúria, estados pró-inflamatórios, disfunção endotelial e hiperuricemia (23).

A predisposição genética (24), a alimentação inadequada (25) e a inatividade física (26) estão entre os principais fatores que contribuem para o surgimento da SMet, cuja prevenção primária é um desafio mundial contemporâneo, com importante repercussão para a saúde.

É importante destacar o aumento da prevalência da obesidade em todo o Brasil e uma tendência especialmente preocupante do problema, em crianças em idade escolar, em adolescentes e nos estratos da sociedade de mais baixa renda (27).

Tabela 1: Definições para o diagnóstico da síndrome metabólica no homem

OMS, 1999	NCEP-ATPIII, 2001	IDF,2005	EGIR, 1999
Resistência à insulina + pelo menos dois dos seguintes critérios:	Três ou mais dos seguintes critérios:	Obesidade central* + pelo menos dois dos critérios abaixo:	Resistência à insulina + pelo menos dois dos critérios abaixo:
Obesidade: IMC > 30 ou razão cintura/quadril > 0,90 (H) e > 0,85 (M)	Obesidade abdominal: circunferência da cintura > 102 cm (H) ou > 88 cm (M)	Dislipidemia: triglicérides > 150 mg/dL ou HDL < 50 mg/dL (M) ou < 40 mg/dL (H)	Obesidade abdominal: circunferência da cintura > 94 cm (H) ou > 80 cm (M)
Dislipidemia: triglicérides > 150 mg/dL ou HDL < 40 mg/dL (M) ou < 35 mg/dL (H)	Dislipidemia: triglicérides > 150 mg/dL ou HDL < 50 mg/dL (M) ou < 40 mg/dL (H)	Hipertensão: > 130 mmHg sistólica ou > 85 mmHg diastólica	Dislipidemia: triglicérides > 200 mg/dL ou HDL < 40 gm/gL
Hipertensão: > 140 mmHg sistólica ou > 90 mmHg diastólica	Hipertensão: > 140 mmHg sistólica ou > 85 mmHg diastólica	Glicemia de jejum: > 100 mg/dL	Hipertensão: > 140 mmHg sistólica ou > 90 mmHg diastólica
Microalbuminúria: excreção de albumina > 20 µg/min	Glicemia de jejum: > 110 mg/dL		Glicemia de jejum: > 110 mg/dL

*valores de referência diferentes de acordo com o grupo étnico. IMC: índice de massa corporal; HDL: lipoproteína de alta densidade; H: homens; M: mulheres

Com a SMet instalada, metas de tratamentos devem ser traçadas. Como é uma síndrome com diversos componentes presentes, nem sempre é uma tarefa fácil para o clínico escolher quais medidas tomar.

O primeiro passo a ser tomado no que se concerne à SMet, é mudança no estilo de vida. Ênfase deve ser dada à perda de peso, à correção das anormalidades metabólicas e à atividade física regular (17, 28). Medidas como a adoção de uma dieta balanceada é uma das principais a ser preconizada em indivíduos com síndrome metabólica. A dieta deve estar direcionada para a perda de peso e da gordura visceral, com o objetivo de normalização dos níveis pressóricos, da correção das dislipidemias e da hiperglicemia e conseqüentemente a redução do risco cardiovascular. As evidências favorecem as dietas ricas em fibras, pobres em gorduras saturadas e colesterol e com reduzida quantidade de açúcares simples (29-31). A dieta do tipo Mediterrâneo (32, 33) mostrou-se capaz de reduzir eventos cardiovasculares e a dieta DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) (30, 31) mostrou-se eficaz na redução da pressão arterial.

Porém, quando mudanças no estilo de vida não forem capazes de resultar em medidas eficazes no tratamento da SMet, situação muito frequente na prática clínica, o tratamento medicamentoso estará indicado. O custo para tratar esse tipo de paciente é alto, porque até agora não há uma única droga capaz de tratar todas as doenças relacionadas à SMet. Isso dificulta a adesão ao tratamento, principalmente das classes menos favorecidas. Assim, um medicamento único capaz de melhorar e / ou impedir todos os efeitos adversos da síndrome metabólica é desejável.

2.2 Tecido adiposo

O tecido adiposo é um tipo de tecido conjuntivo no qual predominam células adiposas (adipócitos). Em pessoas de massa corporal com valores normais, o tecido adiposo corresponde a 20-25% do peso corporal na mulher e 15-20% no homem.

Além de adipócitos, o tecido adiposo é formado por outros componentes, dentre os quais, temos, matriz de tecido conjuntivo (fibras colágenas e reticulares), fibras nervosas, estroma vascular, nódulos linfáticos, células imunes (leucócitos, macrófagos), fibroblastos e pré-adipócitos (células adiposas indiferenciadas) (34).

Os mamíferos por possuírem tecido adiposo, conseguem armazenar o excesso de energia. Esse armazenamento é em forma de lipídios como triacilgliceróis (TAG). Os lipídios carregam duas vezes mais energia por unidade de massa que os demais nutrientes.

Além do papel de reserva energética, o tecido adiposo possui outras funções. Ao se localizar embaixo da pele, modela a superfície, sendo responsável em parte, pelos contornos diferentes dos corpos de homens e mulheres. Nas regiões palmar e plantar, principalmente, formam coxins absorventes de choques. Serve como isolante térmico do organismo, pois as gorduras não são boas condutoras de calor. Com isso, durante muitos anos, essas foram as únicas funções reconhecidas para o tecido adiposo.

Entretanto, com a descoberta nos últimos anos de sua capacidade produtora e secretora de hormônios, grande importância foi atribuída à função endócrina do tecido adiposo. Esses hormônios foram denominados adipocinas e revolucionaram os conceitos sobre a função biológica do tecido adiposo, consolidando a idéia dele não ser apenas um reservatório e fornecedor de energia ou atuar apenas como isolante térmico, mas sim, ser um órgão dinâmico e central da regulação metabólica.

Os adipócitos são células de renovação lenta nas pessoas não obesas e a expansão desse tecido adiposo que ocorre durante o desenvolvimento (da idade jovem a meia idade) é resultado, principalmente, do seu aumento uniforme pela hipertrofia (3, 35). A obesidade que ocorre na criança e no adolescente é geralmente hiperplásica, ou seja, há um aumento do número de células adiposas (3, 35, 36). Entretanto, a obesidade que ocorre no adulto está relacionada principalmente ao aumento da célula, a hipertrofia dos adipócitos pré-existentes (3, 35).

Estudos sobre o tecido adiposo e sua celularidade mostram que os adipócitos tornam-se resistentes à insulina quando armazenam mais de 1,0 μg de conteúdo de lipídio por célula. Quando o conteúdo lipídico da célula atinge cerca de 0,7 μg , um novo recrutamento de adipócitos ocorre. Esse recrutamento acontece pela proliferação e diferenciação dos pré-adipócitos com ativação / inativação de genes específicos (37).

Os adipócitos grandes são mais resistentes à insulina que os adipócitos pequenos. Eles secretam mais citocinas inflamatórias, são mais lipolíticos e secretam menos adiponectina (38, 39). Este tipo de adipócito é achado de forma freqüente em indivíduos com distúrbios metabólicos relacionados a obesidade (40).

Os mamíferos possuem dois tipos de tecido adiposo: o tecido adiposo branco e o tecido adiposo marrom. As células adiposas desses tecidos apresentam diferenças importantes.

2.2.1 Tecido adiposo marrom

A principal função do tecido adiposo marrom (TAM) é utilizar lipídios para produzir calor num processo chamado de termogênese. O TAM é especializado na termogênese adaptativa, a parte do gasto energético induzido pela exposição ao frio ou a dieta (41). É encontrado em fetos e recém nascidos humanos, mas está praticamente ausente nos adultos. Em mamíferos, na fase neonatal, hibernantes e roedores, a termogênese induzida pelo frio no TAM contribui para a manutenção da temperatura corporal. O adipócito do tecido marrom é menor que o do branco, com diâmetro médio de 30-40 μm . Apresenta várias gotículas lipídicas citoplasmáticas de diferentes tamanhos, núcleo esférico, citoplasma relativamente abundante com numerosas mitocôndrias (responsáveis pela coloração do tecido) (42).

As mitocôndrias liberam calor pela oxidação de ácidos graxos. A produção de calor é garantida pela UCP-1 (proteína desacopladora-1) localizada na membrana mitocondrial interna, que atua como um canal de prótons que descarrega o potencial gerado pelo acúmulo de prótons no espaço intermembrana durante o ciclo de Krebs, impedindo a síntese de ATP e permitindo que se dissipe em forma de calor (43, 44).

2.2.2 Tecido adiposo branco

O tecido adiposo branco (TAB) é especializado no armazenamento de energia em períodos de balanço energético positivo e mobilização desta energia química quando necessário para atender a demanda energética do corpo.

O TAB tem uma enorme capacidade de expansão, que pode ser visto como um mecanismo adaptativo para os períodos de escassez de alimentos. A energia é armazenada como triglicerídeos constituídos por ácidos graxos (AG) esterificados

em glicerol. A célula adiposa branca madura armazena TAG em uma grande e única gota lipídica que ocupa praticamente toda a célula (85-90%), deslocando o citoplasma, núcleo e demais organelas para a periferia, onde se acomodam numa fina camada de citosol. As células adiposas uniloculares são grandes, medindo em geral 50-150 μm de diâmetro (45). Oficinas de triglicerídeos liberam glicerol e AG para a corrente sanguínea, um processo chamado lipólise.

Nas últimas duas décadas, cada vez mais, têm se estudado o papel do tecido adiposo como um tecido com função endócrina que produz e secreta diversas substâncias importantes, as adipocinas. Elas compreendem desde proteínas relacionadas ao sistema imune – TNF- α (fator de necrose tumoral alfa) e IL-6 (interleucina 6) –, fatores de crescimento – TGF- β (fator transformador de crescimento beta) –, proteínas da via alternativa de complemento (adipsina), adipocinas envolvidas na regulação da pressão arterial (angiotensinogênio), na coagulação sanguínea (PAI-1, inibidor do ativador de plasminogênio), da homeostase glicêmica (adiponectina, resistina, visfatina, leptina) e da angiogênese (VEGF, fator de crescimento entotelial vascular). As adipocinas desempenham papel importante na homeostase energética, sensibilidade à insulina, doença vascular e resposta imunológica (46-50) (Tabela 2).

Entre as adipocinas, a leptina e a adiponectina são as mais estudadas atualmente, e ambas exercem efeitos regulatórios no hipotálamo, fígado, ilhotas pancreáticas e músculo esquelético.

Tabela 2: Principais substâncias produzidas e secretadas pelo tecido adiposo

Substância	Efeitos biológicos
Leptina	Sinaliza o SNC sobre os estoques corporais de energia
Adiponectina	Aumenta a sensibilidade à insulina, anti-inflamatória
Resistina	Aumenta a resistência à insulina
TNF- α	Lipolítico, reduz a sensibilidade à insulina, aumenta o consumo energético
IL-6	Pró-inflamatório, lipolítico, reduz a sensibilidade à insulina
Angiotensinogênio	Precursor da angiotensina II, envolvido na regulação da pressão arterial
PAI-1	Inibe a ativação do plasminogênio, bloqueando a fibrinólise
VEGF	Estimula a proliferação vascular no TAB
TGF- β	Regula proliferação de pré-adipócitos, diferenciação, desenvolvimento e apoptose de adipócitos
Apo-E	Componente protéico das lipoproteínas, especialmente das VLDL
Prostaglandinas	Reguladores de diversos processos celulares, como inflamação e coagulação sanguínea.
Estrógenos	Produzido pela ação da aromatase, sendo a principal fonte estrogênica em homens e mulheres após a menopausa
ASP	Estimula a síntese de triacilgliceróis no TAB

2.3 Leptina

A leptina é um hormônio que foi descoberto em 1994, produto do gene *ob* do camundongo obeso (*ob/ob*) (51). A leptina é codificada por um gene que apresenta três exons e dois íntros. É uma proteína pequena, com 167 resíduos de aminoácidos e 16 kDa de peso molecular. Possui um importante papel na regulação do balanço energético apresentando duas ações. Nos neurônios do núcleo hipotalâmico arqueado, estimula a expressão de neuropeptídeos ligados aos mecanismos anorexigênicos, de inibição da ingestão alimentar (POMC – pro-ópio-melanocortina, e CART – transcrito relacionado à cocaína e anfetamina) e aumento do gasto energético total, via inervação simpática. Em outros neurônios do núcleo arqueado, inibe a expressão de NPY (neuropeptídeo Y) e AgRP (peptídeo *agouti*), envolvidos em mecanismos orexigênicos, de aumentar a ingestão alimentar e reduzir o gasto energético.

A transcrição e tradução da leptina ocorrem no tecido adiposo, placenta e trato gastrointestinal, porém sua maior produção é pelo tecido adiposo (52). Sua produção é diretamente relacionada à massa de tecido adiposo. Alguns fatores metabólicos e endócrinos contribuem para a regulação de sua transcrição. A insulina possui relação direta com os níveis de leptina. Glicocorticóides, estrógenos, citocinas inflamatórias, aumentam seus níveis, enquanto baixas temperaturas, estimulação adrenérgica, hormônio do crescimento, hormônios tireoidianos, esteróides, androgênios, melatonina e fumo parecem diminuir os níveis (53).

Os efeitos da leptina se estendem ao metabolismo lipídico, com ativação da adenil-ciclase e aumento da oxidação lipídica no músculo e, no fígado, suprimindo a atividade da esterol-CoA dessaturase e reduzindo a síntese de TAG a partir de ácidos graxos monoinsaturados.

2.4 Adiponectina

A adiponectina é uma proteína descrita em 1995, cujo gene está localizado no cromossoma 3q27. É a proteína mais abundante produzida pelo tecido adiposo, de peso molecular igual a 30 kDa, que em sua estrutura molecular primária possui um domínio globular (gADP), um domínio colágeno e uma região variável (54).

A adiponectina é uma proteína de produção específica de adipócitos. Ao contrário dos outros fatores secretados pelo tecido adiposo, age como fator protetor para doenças cardiovasculares e aumenta a sensibilidade à insulina. Esta produção depende do estado nutricional. Existe uma correlação negativa entre o grau de obesidade e níveis circulantes de adiponectina assim como com resistência insulínica e hiperleptinemia. Porém, com redução de peso, seus valores aumentam (48-50, 55, 56).

Diversos efeitos têm sido atribuídos à adiponectina, como aumento da sensibilidade à insulina, efeitos moduladores de NFkB, inibição de TNF- α , aumento da vasodilatação endotélio-dependente, efeito antiateroesclerótico, aumento da produção de óxido nítrico (ON), entre outros. A sua ação antiinflamatória e antiaterogênica ocorre pela diminuição da expressão de moléculas de adesão tipo 1, diminuição da quimiotaxia ao macrófago para formação de células gordurosas e inibição da sinalização inflamatória no tecido endotelial (52, 57, 58).

A adiponectina aumenta a sensibilidade à insulina pelo aumento da oxidação de ácidos graxos e da captação e utilização de glicose pelo músculo esquelético e pelo tecido adiposo, reduz a liberação de glicose hepática, ácidos graxos livres e triglicérides (59).

2.5 Receptores Ativadores de Proliferação Peroxissomal

Os PPARs (receptores ativadores de proliferação peroxissomal) fazem parte de uma família de receptores nucleares hormonais esteróides. O primeiro receptor ativador de proliferação peroxissomal a ser descrito foi o PPAR α (NR1C1) (60, 61).

Após a descoberta do PPAR α , dois outros genes pertencentes à mesma família foram clonados em 1992, o PPAR β/δ (NR1C2) e o PPAR γ (NR1C3) (62).

O receptor PPAR α é expresso predominantemente no fígado e pode ser encontrado também em tecido muscular esquelético, coração, endotélio e nos rins. Os principais ligantes endógenos do PPAR α são os ácidos graxos livres. O principal papel do PPAR α é a regulação da homeostase energética (63). Especialmente no fígado, o PPAR α ativa o catabolismo dos ácidos graxos, estimula a gliconeogênese, a síntese de corpos cetônicos, e está envolvido no controle da montagem das lipoproteínas (64-67).

O receptor PPAR β/δ apresenta uma distribuição mais ampla, sendo expresso no fígado, músculo, intestino, tecido adiposo e sua ação fisiológica é mais relacionada ao metabolismo lipídico atuando na oxidação dos ácidos graxos (68). O PPAR β/δ possui um papel importante no controle da proliferação, diferenciação e sobrevivência celular, assim como no reparo tecidual (69-72).

Já o PPAR γ é expresso principalmente no tecido adiposo, embora também seja expresso nas células beta pancreáticas, endotélio, macrófago e células hematopoiéticas (68, 73). Seu principal ligante endógeno é um derivado da prostaglandina D2 resultante do metabolismo do ácido araquidônico (68). Também são descritos como ligantes metabólitos, derivados de ação da 15-lipoxigenase no ácido linoléico.

Diversos fármacos ligantes de PPAR já são conhecidos e utilizados na prática clínica. Os fibratos são fármacos ativadores de PPAR α . São os medicamentos de escolha no tratamento da hipertrigliceridemia e têm um papel importante no controle das dislipidemias mistas. Estudos clínicos revelaram que os fibratos podem reduzir o risco de doença aterosclerótica coronariana (DAC) em pacientes com hipercolesterolemia e também, em indivíduos no pós infarto do miocárdio com níveis de LDL-colesterol (LDL-c) pouco elevados, de HDL-colesterol (HDL-c) baixos e com discretos aumentos de triglicérides (TG) (74-76).

Fármacos ativadores de PPAR β/δ ainda não estão disponíveis no mercado, porém há fortes evidências mostrando que eles podem diminuir o tamanho dos adipócitos e a massa de gordura corporal total (77, 78).

As tiazolidinedionas ou glitazonas (TZDs) são fármacos ativadores PPAR γ e atuam aumentando a sensibilidade dos tecidos à ação da insulina em pacientes diabéticos. Funcionam regulando a transcrição de múltiplos genes envolvidos no

metabolismo da glicose e de lipídios melhorando assim o diabetes tipo 2 (79). Comercialmente são conhecidos dois fármacos ativadores do PPAR-gama hoje em dia: a rosiglitazona e a pioglitazona. Esses medicamentos representavam 20% das prescrições para pacientes com diabetes mellitus tipo 2 nos EUA e 5% na Europa nos últimos anos (80). Entretanto, desde 2007, estudos vinham alertando para o risco cardiovascular aumentado para pacientes que utilizavam rosiglitazona, principalmente infarto miocárdico e insuficiência cardíaca (81, 82). Em 2010, o FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou restrições ao uso do Avandia (nome comercial da rosiglitazona) e na Europa o medicamento foi banido (83). Em setembro de 2010, no Brasil, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) cancelou o registro do medicamento Avandia por considerar que os riscos superam os benefícios (RE N° 4.466/2010). A pioglitazona continua no mercado, porém será avaliada periodicamente por novos estudos.

As TZDs, sendo agonistas seletivos, têm como mecanismo de ação a ligação aos receptores nucleares PPARs do tipo γ . Com a ligação ao receptor, há uma mudança conformacional no receptor, que permite a ligação com o receptor do ácido retinóico (RXR) e recrutamento de um ou mais co-ativadores (Figura 1). A interação deste complexo heterodímero com regiões nucleares responsivas irá determinar a transcrição de 500 genes aproximadamente, sendo relacionados principalmente ao metabolismo lipídico, glicídico e diferenciação celular (84).

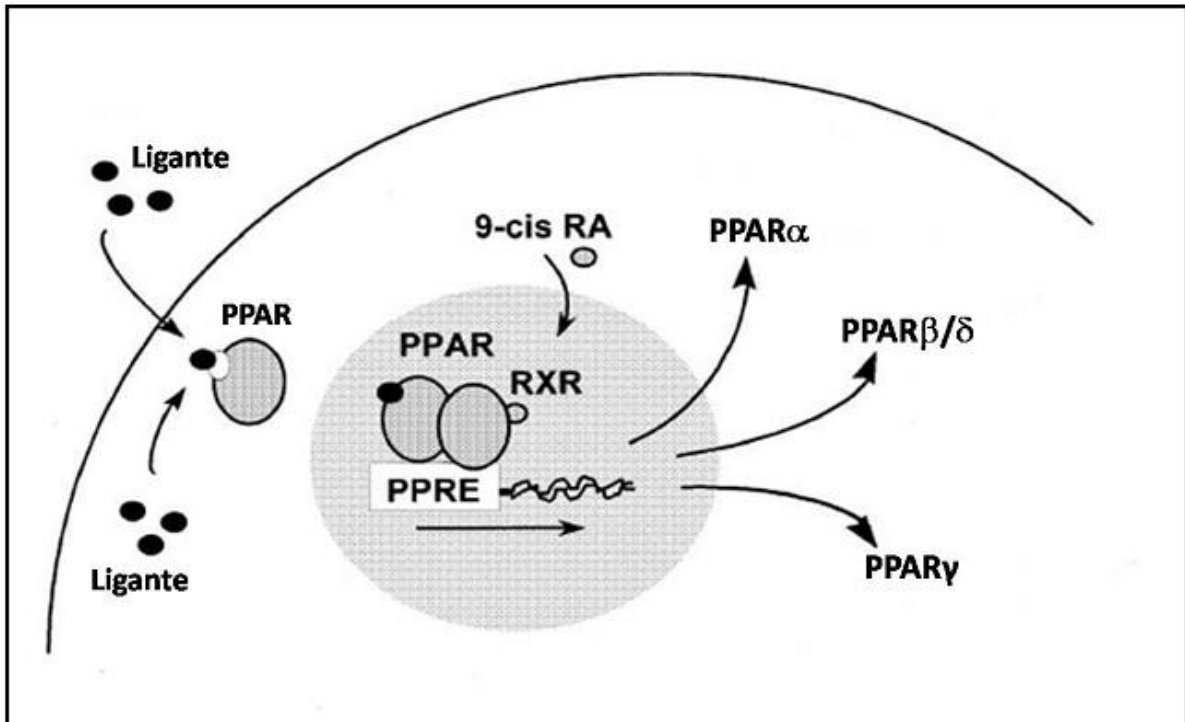


Figura 1 – Ativação do PPAR e transcrição gênica. A ativação do receptor PPAR leva a sua acumulação no núcleo, onde ele forma um heterodímero com o RXR. O heterodímero PPAR/RXR se liga a seqüência PPRES do DNA, induzindo a transcrição gênica dos diferentes isotipos do PPAR. Abreviações: PPAR, receptor ativador de proliferação peroxissomal; RA, ácido retinóico; RXR receptor X retinóico; PPRES, elemento responsivo ao PPAR. Adaptado de Bishop-Bailey e col. 2000.

2.6 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

O Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) é uma cascata hormonal envolvida no controle da pressão arterial, da volemia, e equilíbrio hidroeletrólítico. A desregulação desse sistema desempenha papel importante na patogênese de doenças renais, cardiovasculares e a hipertensão arterial. A SMet está relacionada com a estimulação do SRAA e ao risco de doença cardiovascular e renal. O SRAA é expresso no tecido adiposo e pacientes obesos com síndrome metabólica parecem ter uma ativação do SRAA (85, 86).

Os principais elementos desse sistema são o angiotensinogênio, a renina, a angiotensina I, a enzima conversora de angiotensina (ECA) e a angiotensina II. O angiotensinogênio é uma α -globulina secretada pelo fígado, que circula pelo plasma como um peptídeo inativo e serve de substrato para a renina. Sua produção é estimulada em resposta aos glicocorticóides, estrogênios e citocinas inflamatórias (87).

A renina é produzida pelas células justaglomerulares e tem como função clivar o angiotensinogênio, formando assim o peptídeo angiotensina I (Ang. I), um decapeptídeo inativo.

A ECA foi descrita em 1956, estando presente no endotélio vascular sistêmico e pulmonar. A ECA tem como função converter a Ang I em Ang II, um vasoconstrictor potente. Além disso, exerce um efeito vasoconstrictor, por inativar o sistema de cininas (bradicinina e substância P) (88).

A Ang II é um octapeptídeo biologicamente ativo que tem origem no pulmão e localmente em vários tecidos (rins, coração, vasos, cérebro, adrenais). Promove seus efeitos através de sua ligação a dois principais receptores transmembrana: o receptor tipo 1 (AT1) e o receptor tipo 2 (AT2) (89).

Os receptores AT1 promovem a maioria dos efeitos fisiológicos e patológicos atribuídos à angiotensina II. A ligação entre a Ang II e o receptor AT1 promove vasoconstrição, inflamação, stress oxidativo, proliferação celular, aumento da contratilidade miocárdica, hipertrofia ventricular, aumento da reabsorção de sódio, entre outros (88-91).

Os receptores AT2 são abundantes durante o período fetal em vários tecidos, porém após o nascimento, seu número diminui. Ao contrário do que ocorre com o

receptor AT1, a Ang II quando se liga ao receptor AT2 promove efeitos benéficos como vasodilatação, anti-proliferação celular, diminuição da reabsorção de sódio pelos rins e melhora da função cardíaca (92).

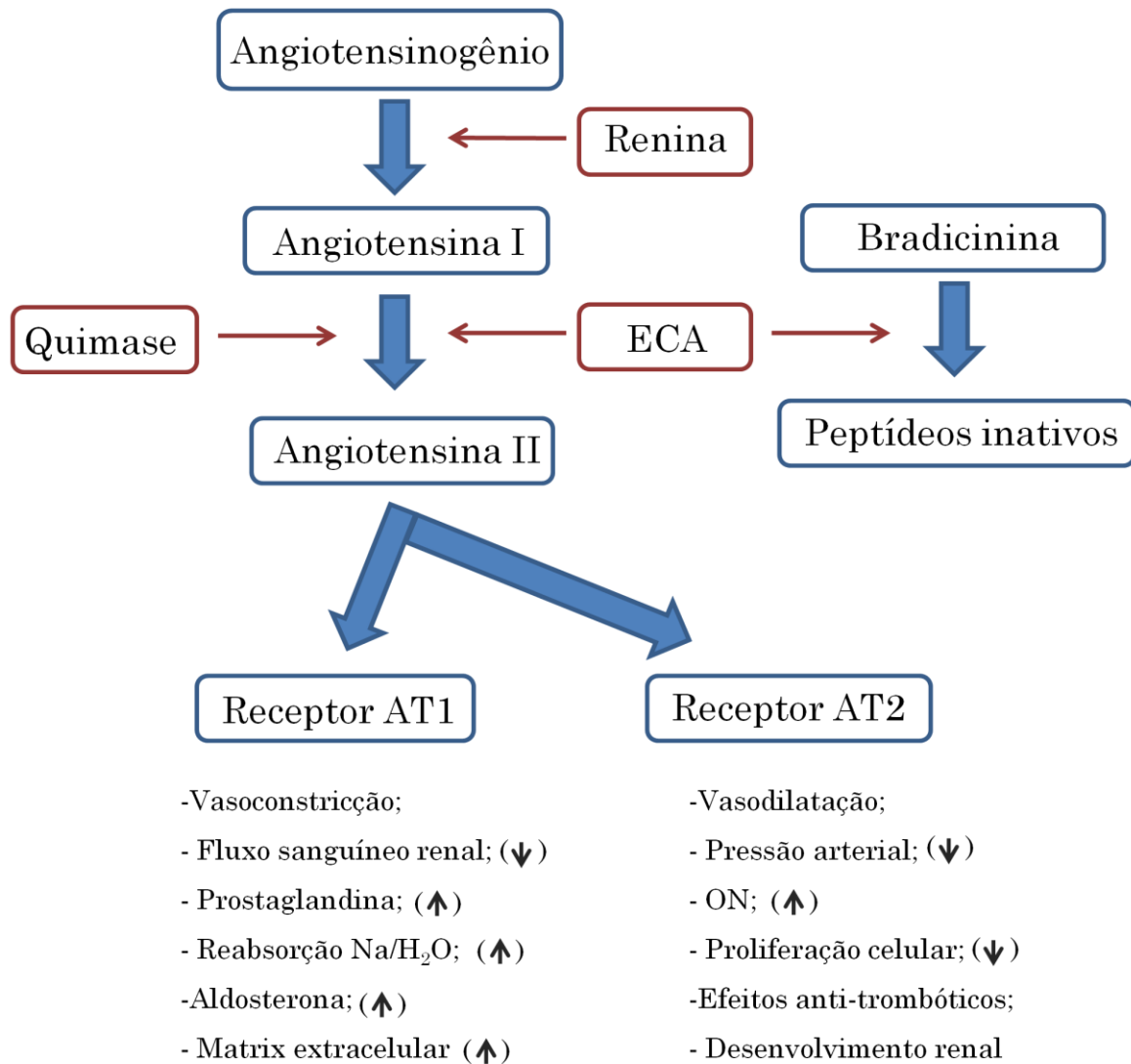


Figura 2 –Esquema do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

A hiperativação / desregulação desse sistema tem como causa ou consequência a hipertensão arterial sistêmica. Com isso, diversos medicamentos que atuam no SRAA estão disponíveis no mercado. Os primeiros a surgirem, na década de 60, foram os inibidores da enzima conversora de angiotensina (iECA), que atuam inibindo a enzima (ECA) transformar angiotensina I em angiotensina II. O bloqueio a curto prazo da ECA leva à redução dos níveis de Ang I, aldosterona e atividade do sistema nervoso simpático (SNS). Porém, a longo prazo, as concentrações de Ang II e aldosterona normalizam devido a vias alternativas do SRAA (93). Alguns efeitos colaterais, principalmente tosse seca por acumulação de bradicinina podem estar presentes (94).

Uma classe de fármacos que também atuam no SRAA começaram a ser desenvolvidos a partir dos anos 90, os bloqueadores do receptor tipo 1 (AT1) da angiotensina II, os BRAs. Apresentam vantagens sobre os iECAs pois não passam pelo problema do escape da ECA a longo prazo (93). Dentre os BRAs disponíveis no mercado, temos diversos exemplos como: losartana, candesartana, irbesartana, olmesartana, telmisartana, entre outros.

Porém, nos últimos anos, muitos estudos tem focado nas ações pleiotrópicas que algumas dessas drogas têm, já que suas ações hipotensoras são inquestionáveis. Contudo, a telmisartana vem se diferenciando dos outros BRAs porque além do seu papel hipotensor, ela vem se destacando no controle de outras comorbidades devido a sua ação de agonista PPAR-gama (95).

A telmisartana tem sido descrita como agonista PPAR-gama parcial, pois não ativa esse receptor completamente, o que leva a uma expressão seletiva dos genes ativados por esse receptor. A telmisartana é lipofílica, permitindo um alto poder de penetração no núcleo celular mesmo em baixas concentrações e ativar o PPAR. Essa é uma das vantagens da telmisartana em relação aos outros medicamentos da mesma classe farmacológica (95, 96).

Essa característica de ser um agonista parcial PPAR-gama traz vantagens comparada às tiazolidinedionas pois não produz os efeitos colaterais da ativação total PPAR-gama, como ganho ponderal e retenção hídrica (95, 97).

Além da sua ação agonista parcial PPAR-gama, recentemente foi identificado um papel agonista PPAR-alfa da telmisartana, principalmente no fígado. Esse papel de agonista PPAR- α ajuda a esclarecer a melhora no quadro de esteatose hepática com o tratamento com telmisartana (98). Essa ativação do PPAR- α no fígado

promove uma maior taxa de beta oxidação de ácidos graxos livres no interior das mitocôndrias hepáticas (99).

Além dessa ação no fígado, em 2010, He e colaboradores identificaram uma ação de agonista PPAR-delta pela telmisartana, que estaria relacionada com a perda ponderal por ativação de proteínas desacopladoras e vias lipolíticas e inibição da lipogênese (100).

2.7 Modelos Experimentais de Doenças Metabólicas

Em virtude da crescente prevalência mundial das doenças crônicas e metabólicas, não apenas da síndrome metabólica mas como de seus componentes isolados, se faz cada vez mais necessário modelos animais para pesquisa que mimetizem da melhor maneira possível a fisiopatologia da doença humana (101).

Devido à natureza da síndrome metabólica em humanos ser poligênica, modelos animais de obesidade monogênica ou induzidos farmacologicamente devem ser analisados com cuidado, pois na maioria das vezes é difícil definir o quanto o resultado é decorrente de um fenótipo de obesidade ou do modelo genético/farmacológico em questão (102).

Como em humanos, os fatores ambientais são cruciais para o desenvolvimentos das características envolvidas na SMet, a utilização de dietas manipuladas é a ferramenta mais utilizada para induzir / antecipar essas características em modelos animais (103).

Os pesquisadores vêm utilizando dietas ricas em lipídios, denominadas dietas hiperlipídicas (104), com a finalidade de gerar modelos de obesidade nos roedores. O primeiro relato de intervenção dietética para gerar modelo de obesidade data da década de 40. Estudos posteriores, demonstraram que essas dietas hiperlipídicas promovem glicemia elevada, resistência à insulina, e com isso, diversos pesquisadores vêm utilizando essas dietas para estudar efeitos na fisiologia hepática, muscular e adiposa em relação à sinalização da insulina.

Porém, um grande problema que envolvia e ainda envolve os trabalhos com dietas experimentais, é que não existe uma padronização por parte dos pesquisadores quanto a manipulação dietética destas, pois muitas dietas não eram

compatíveis nos macro e micro nutrientes entre si. Para tentar solucionar esses problemas, no final da década de 70, foi confeccionado um documento, a AIN-76, que determinou as formulações adequadas para os roedores mantidos em laboratório (105). Entretanto, alguns anos depois, alguns detalhes passaram a ser questionados quanto à formulação indicada e em 1993 um novo documento foi publicado, a AIN-93, que é utilizado até os dias de hoje e que determina a quantidade de todos os macro e micro nutrientes necessários para os roedores (106). Esse documento postula tanto a formulação dietética para animais em fase de gestação, lactação e início da vida (primeiros 3 meses de vida), como uma formulação dietética para o período de manutenção (fase adulta dos animais).

A cepa animal utilizada no estudo é de extrema importância. Diversos estudos já mostraram que os camundongos C57BL/6 apresentam vulnerabilidade genética e sofrem fortes influências de fatores ambientais, para desenvolver obesidade, resistência insulínica e diabetes mellitus tipo 2 (107, 108). Alimentar esses animais com dieta hiperlipídica é um bom modelo para estudar essas desordens metabólicas (12, 109-111).

Porém, uma limitação para o estudo da SMet nesses modelos animais, com camundongos C57BL/6 é o componente hipertensão arterial. Esses animais desenvolvem discretos aumentos na pressão arterial, muitas vezes não detectáveis. Com a finalidade de obter esse componente da síndrome, a adição de sódio na dieta pode ser uma boa alternativa, porém poucos estudos ainda exploram esse modelo (112, 113).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e dietas

Foram utilizados cinquenta camundongos da cepa C57BL/6 com doze semanas de vida. Os animais foram mantidos em biotério com temperatura (20-23°C) e umidade controladas, com ciclo de luz claro-escuro (12-12h, iniciando às 13:00h) e com livre acesso à comida e água filtrada.

Os procedimentos foram realizados em conformidade com as orientações convencionais para a experimentação animal (NIH Pu. 85-23, revisado em 1996) e com aprovação do comitê de ética animal da Universidade do Estado do Rio de Janeiro para todos os protocolos experimentais.

Inicialmente os animais foram separados aleatoriamente em dois grandes grupos de acordo com o conteúdo de lipídios e sal na ração e foram alimentados durante 12 semanas:

- a. Grupo Controle (SC, n = 10): animais receberam dieta balanceada de acordo com o protocolo da AIN-93M, contendo 10% de lipídios (106);
- b. Grupo Hiperlipídica com adição de sal (HFHS, n = 40): animais alimentados com dieta hiperlipídica com adição de sal (protocolo da AIN-93M ajustado para 60% de lipídios e 7% de sal).

Após as doze primeiras semanas recebendo as dietas, o grupo HFHS foi dividido em 4 grupos, de acordo com o tratamento farmacológico que receberam:

- c. Grupo HFHS: animais continuaram recebendo dieta hiperlipídica rica em sal sem tratamento (n = 10);
- d. Grupo ROSI: animais que receberam dieta hiperlipídica rica em sal e tratados com fármaco agonista PPAR-gama, rosiglitazona, na dose de 5 mg/kg/dia (n = 10);
- e. Grupo TELM: animais que receberam dieta hiperlipídica rica em sal e tratados com fármaco bloqueador do receptor AT1 da angiotensina II e agonista parcial PPAR-gama, telmisartana, na dose de 10 mg/kg/dia (n = 10);

f. Grupo LOS: animais que receberam dieta hiperlipídica rica em sal e tratados com fármaco bloqueador do receptor AT1 da angiotensina II, losartana, na dose de 10 mg/kg/dia (n = 10);

3.2 Pressão arterial

A pressão arterial sistólica (PAS) foi aferida semanalmente pelo método não invasivo da pletismografia da artéria da cauda em animais conscientes (Letica LE 5100; Panlab, Barcelona, Espanha).

3.3 Massa corporal e ingestão alimentar

A massa corporal foi mensurada semanalmente (segunda-feira, 12:00h) e a ingestão alimentar de todos os grupos foi avaliada diariamente (13:00h). Dietas frescas foram ofertadas diariamente após serem pesadas, e sobras de dietas do dia anterior foram pesadas e descartadas.

A ingestão energética acumulada foi calculada pela soma da ingestão calórica por animal durante todo o período experimental.

3.4 Metabolismo de carboidratos

3.4.1 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

O TOTG foi realizado na décima sétima semana experimental. Os animais ficaram em jejum por 6 horas e receberam por gavagem orogástrica solução de glicose a 25% diluída em solução salina na dose de 1g /kg de massa corporal. A glicose sanguínea foi mensurada através de uma pequena incisão na parte distal da

cauda do animal com auxílio de um glicosímetro (Accu-Check Performa, Roche, Brasil) nos tempos: 0 (antes da administração de glicose), 15, 30, 60 e 120 minutos (após administração da glicose). A área sob a curva (AUC) foi calculada para avaliar a tolerância à glicose e sensibilidade à insulina.

3.4.2 Teste intraperitoneal de tolerância à insulina (TITI)

O TITI foi realizado ao final de 17 semanas experimentais. Após 4 horas de jejum, os animais receberam insulina (1 U/kg) intraperitoneal e a resposta glicêmica foi acompanhada com a aferição da glicose plasmática pelo glicosímetro nos tempos 0 (antes da injeção de insulina), 15, 30, 60 e 120 minutos. A AUC foi calculada para avaliar a resistência insulínica.

3.5 Eutanásia

Após 17 semanas recebendo dietas, das quais as cinco últimas semanas adicionadas com o tratamento farmacológico, o protocolo experimental foi encerrado. Os animais ficaram 6 horas de jejum e foram profundamente anestesiados com pentobarbital sódico (150 mg/kg). O sangue foi coletado do átrio direito e amostras do soro foram obtidas após centrifugação (120xg por 15 minutos) em temperatura ambiente, aliqüotadas e estocadas a -20°C e -80°C para posteriores análises bioquímicas e de ELISA.

Os depósitos de tecido adiposo (epididimário, inguinal e marrom) foram cuidadosamente dissecados, pesados e diversos fragmentos foram separados para microscopia de luz e Western blotting. Os fígados foram cuidadosamente dissecados, seu volume foi aferido por deslocamento líquido (princípio de Arquimedes, método de Scherle) (114) e vários fragmentos de todos os lobos hepáticos foram separados para microscopia de luz em corte congelado (emblocadas em OCT), dosagem de triglicerídeos e Western blotting.

3.6 Análises Bioquímicas

Alíquotas de plasma sanguíneo congelados a -20°C foram utilizadas para as análises bioquímicas. O colesterol total e triglicerídeo foi dosado por método enzimático colorimétrico. Marcadores da função hepática como a ALT (alanina transaminase), AST (aspartato transaminase) e FAL (fosfatase alcalina) foram dosados. As análises bioquímicas foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático e com os respectivos kits de análises (Bioclin, Belo Horizonte, Brasil).

3.7 Triglicerídeos hepáticos

Fragmentos do fígado congelados a -80°C foram utilizados para dosagem dos níveis de triglicerídeos hepáticos. Resumidamente, 50 mg de tecido hepático congelado foi colocado no processador ultra-sônico com 1 mL de isopropanol. O homogenato foi centrifugado a 2000 xg e 5 μL do sobrenadante foi utilizado com o kit para triglicerídeos (K55, Bioclin, Belo Horizonte, Brasil) em analisador bioquímico semi-automático (BA-88A, Bioclin, Belo Horizonte, Brasil).

3.8 ELISA e análise Milliplex

Os níveis de adiponectina sérica foram quantificados por teste de ELISA (Millipore, Billerica, MA, EUA, cat. no. EZMADP-60k). As adipocinas IL-6 e Leptina, e o hormônio insulina foram dosados por *Milliplex Map Immunoassay* (Millipore, Billerica, MA, EUA, cat. no. MADPK-71K).

3.9 HOMA-IR

O índice HOMA-IR (*homeostasis model assessment of insulin resistance*) foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Homa IR} = \text{glicemia de jejum} \times \text{insulina de jejum} / 22,5$$

para estimar resistência à insulina (115).

3.10 Tecido adiposo e morfometria

Amostras de tecido adiposo epididimário foram fixadas em solução de formaldeído a 4% em tampão fosfato a 0,1M, pH de 7,2, por 48 horas em temperatura ambiente e processadas e incluídas em Paraplast Plus (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), seccionadas a 5 µm e coradas com hematoxilina-eosina (HE) para microscopia de luz.

Após processamento e coloração histológica, as lâminas foram observadas ao microscópio óptico (microscópio Olympus BX51). O diâmetro médio dos adipócitos foi mensurado em dez campos microscópicos não consecutivos por animal com um total de 250 adipócitos por grupo nas imagens digitais adquiridas (câmera LC Evolution, formato TIFF, colorido de 36-bits, 1280x1024 pixels) utilizando o software Image Pro plus 7.01 (Media Cybernetics, Silver Springs, MD, EUA) (Figura 3).

3.11 Tecido hepático e esteatose

Amostras de fígado foram emblocadas em OCT *Tissue Tek* (Finitechical Sakura, Tóquio, Japão) em moldes de alumínio, rapidamente congelados em nitrogênio líquido e estocados a -80 °C para microtomia. Cortes congelados com 10

μm de espessura foram obtidos em criostato (SLEE SEM, Mainz, Alemanha). As lâminas com os cortes foram ambientalizadas por 60 minutos, fixadas com solução de formalina por 10 min e ambientalizadas por mais 60 min. Após estas etapas, as lâminas passaram por banhos em propileno glicol absoluto por 3 min, coradas com solução de *Oil red* pré-aquecida a 60 °C por 8min, diferenciadas em propileno glicol a 85% por 3 min, lavadas em água destilada e montadas com lamínula e glicerina.

As lâminas foram examinadas ao microscópio Olympus BX51 e 10 imagens não consecutivas foram adquiridas por animal (câmera LC Evolution, formato TIFF, colorido de 36-bit, 1280x1024 pixels) .

A quantificação de esteatose hepática (V_v [esteatose]) foi realizada por *análise de imagens* (116) (Figura 4).

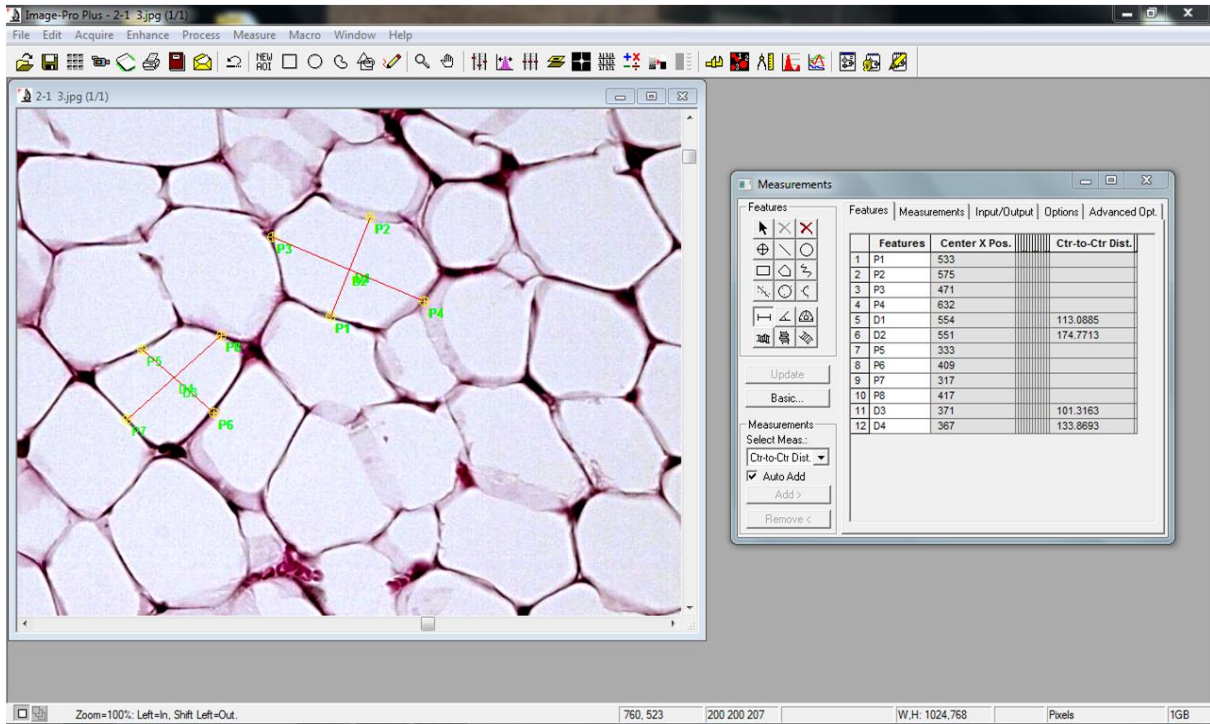


Figura 3 – Morfometria do adipócito. No software Image-Pro Plus, uma imagem digital do tecido adiposo foi adquirida e duas medidas de diâmetro por adipócito foram realizadas, para o cálculo do diâmetro médio. No quadro à direita estão os valores dos diâmetros mensurados.

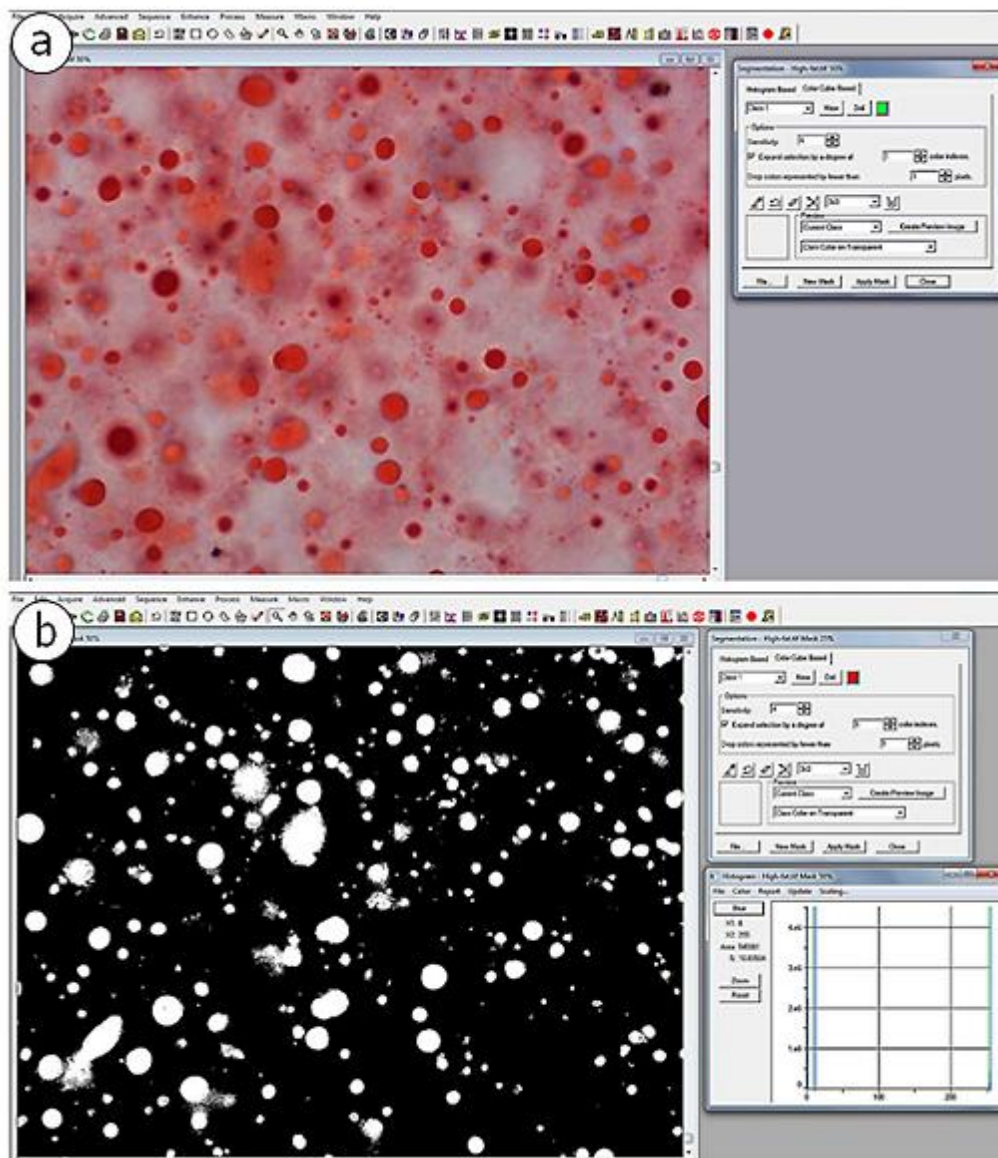


Figura 4 – Duas etapas do método de análise de imagem para avaliar a esteatose hepática (imagem digital, corte congelado corado pelo Oil Red-O): (a) imagem foi adquirida pelo software; (B) após a segmentação da imagem (transformação em imagem preto e branco puro, branco atribuído a vesículas de gordura e preto atribuído ao tecido hepático remanescente), a fração de área relativa de cor "branca" foi determinada automaticamente com a ferramenta histograma (canto inferior direito).

3.12 Western blotting

3.12.1 Tecido adiposo branco

As proteínas do tecido adiposo epididimário foram extraídas utilizando um tampão para homogeneização contendo inibidores de proteases. Os homogenatos foram centrifugados duas vezes por 20 minutos a 4°C. Em seguida, os infranadantes foram coletados. A concentração protéica dos homogenatos foi determinada com kit de determinação de proteínas BCA (Thermo Scientific, Rockford, IL, EUA). As proteínas foram separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) e transferidas para membrana de nitrocelulose. Anticorpos específicos para PPAR-gama, adiponectina, leptina e UCP-1 foram utilizados no tecido adiposo epididimário. As bandas imunoreativas foram detectadas com kit reagente ECL (GE Healthcare BioSciences, Buckinghamshire, UK). Os sinais foram visualizados por autoradiografia e analisados e quantificados utilizando o software ImagePro Plus7.01 (Media Cybernetics, Silver Springs, MD, EUA). Western blotting da proteína estrutural beta-actina foi realizado para corrigir os resultados dos blots.

3.12.2 Fígado

As proteínas do fígado foram extraídas utilizando um tampão para homogeneização contendo inibidores de proteases. Os homogenatos foram centrifugados por 20 minutos a 4°C. Em seguida, os sobrenadantes foram coletados. A concentração protéica dos homogenatos foi determinada com kit de determinação de proteínas BCA (Thermo Scientific, Rockford, IL, EUA). As proteínas foram separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) e transferidas para membrana de nitrocelulose. Anticorpo específico para SREBP-1c foi utilizado no fígado. As bandas imuno-reativas foram detectadas com kit reagente ECL (GE Healthcare BioSciences, Buckinghamshire, UK). Os sinais foram visualizados por autoradiografia e analisados e quantificados utilizando o software ImagePro Plus7.01

(Media Cybernetics, Silver Springs, MD, EUA). Western blotting da proteína estrutural beta-actina foi realizado para corrigir os resultados dos blots.

3.13 Análise de dados

Os dados serão mostrados como Média \pm EPM. Nos casos em que foi confirmada a distribuição normal dos dados e a homocedasticidade das variâncias, a comparação entre os grupos foi feita pelo teste de variância one-way com pós-teste de Tukey ou teste-t não pareado. Em todos os casos foi considerado o nível de significância de 0,05. Todas as análises e gráficos foram feitos utilizando o programa de análise estatística *GraphPad Prism* versão 5.03 para *Windows* (*GraphPad Software*, São Diego, Califórnia, EUA).

4 RESULTADOS

4.1 Massa corporal e ingestão alimentar

No início do experimento, o grupo SC possuía uma massa corporal de $27,75 \pm 0,94$ g (Média \pm EPM) e o grupo HFHS, $28,89 \pm 0,31$ g, sem diferença significativa entre eles. Após 12 semanas de dieta, os animais do grupo HFHS apresentaram sobrepeso de 10% ($32,63 \pm 0,36$ g) quando comparados ao grupo SC ($29,70 \pm 0,65$ g) ($P = 0,0001$, teste-t) (Figura 5).

Ao final do protocolo experimental, o grupo HFHS não tratado atingiu peso de $34,53 \pm 0,40$ g, o que representa um sobrepeso de 18% quando comparado ao grupo SC ($29,29 \pm 0,67$ g) ($P < 0,001$, ANOVA one-way e teste post hoc de Tukey) (Figura 5). O tratamento com telmisartana (TELM) impediu o ganho de peso, com os animais chegando ao fim do experimento com peso semelhante ao do grupo SC e diferente do grupo HFHS (9% menor, $P < 0,05$) (Figura 5).

Os grupos ROSI e LOS terminaram o experimento com massa corporal semelhante ao grupo HFHS ($32,88 \pm 0,74$ g e $34,26 \pm 0,80$ g, respectivamente). Os grupos ROSI e LOS tiveram um aumento de 12% e 17% da massa corporal, respectivamente ($P < 0,01$), quando comparados ao grupo SC (Figura 5, Tabela 3).

A ingestão alimentar acumulada foi maior no grupo HFHS não tratado e no grupo LOS do que no grupo SC ($P < 0,001$, ANOVA one-way e teste post hoc de Tukey). Por outro lado, os grupos ROSI e TELM tiveram uma redução na ingestão alimentar, de -20,8% e -22,9% respectivamente, quando comparados ao grupo HFHS não tratado ($P < 0,05$, ANOVA one-way e teste post hoc de Tukey) (Tabela 3).

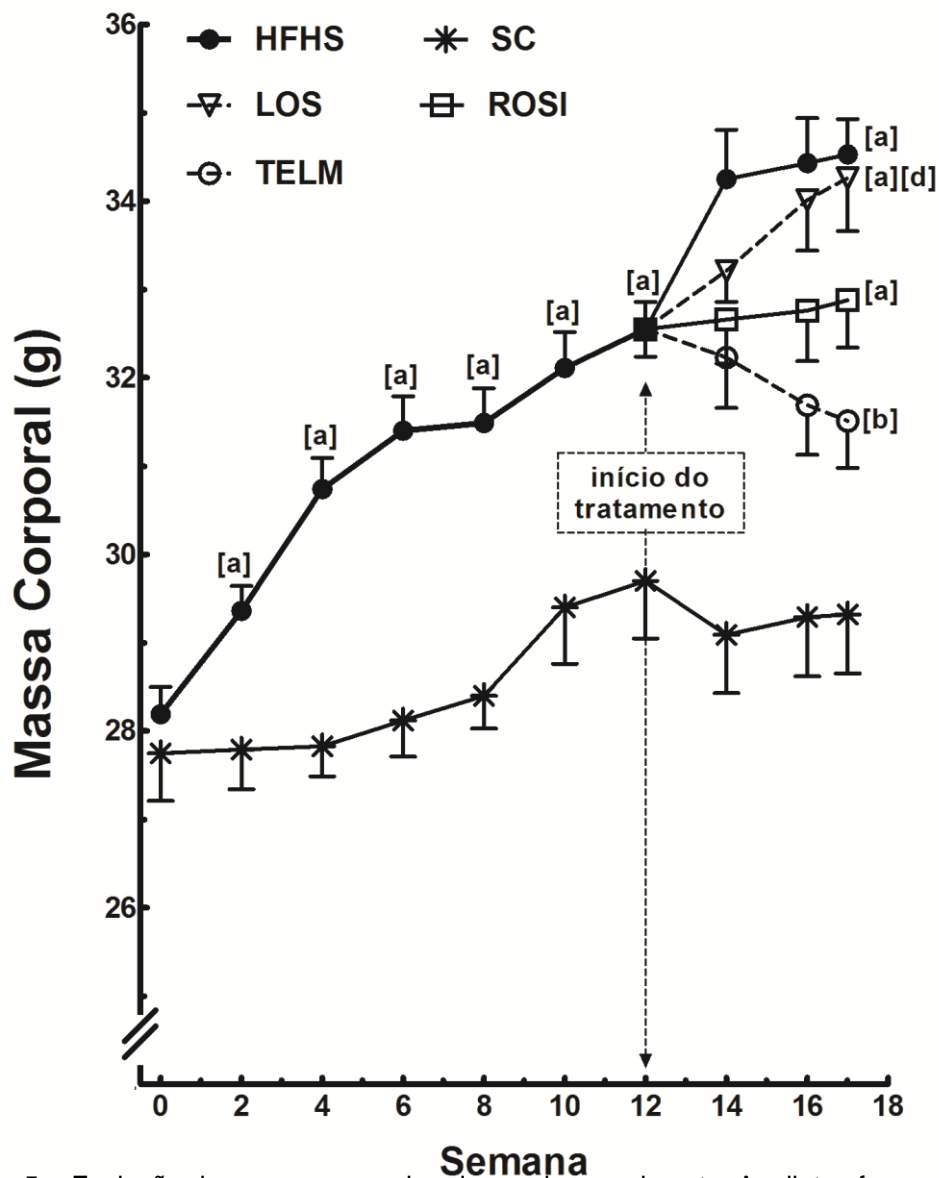


Figura 5 – Evolução da massa corporal ao longo do experimento. As dietas foram administradas por 17 semanas e os medicamentos da 12^a à 17^a semana. Grupos: SC, dieta padrão; HFHS, dieta rica em lipídios e sal; ROSI, HFHS tratado com rosiglitazona; TELM, HFHS tratado com telmisartana e; LOS, HFHS tratado com losartana. Os símbolos representam diferença estatística com: (a) SC, (b) HFHS, (c) ROSI e (d) TELM, $P < 0,05$.

4.2 Pressão arterial

Os animais do grupo HFHS apresentavam aumento da pressão arterial sistólica (163 ± 2 mmHg) em relação ao grupo SC (115 ± 2 mmHg) ao final do experimento. Todos os tratamentos diminuíram a PAS, mas os tratamentos com telmisartana e losartana foram os mais eficientes, com valores de pressão arterial semelhantes ao grupo SC. Houve uma diminuição da PAS no grupo ROSI (-18%), mas os valores ainda eram 14% maiores que os do grupo SC (Figura 6).

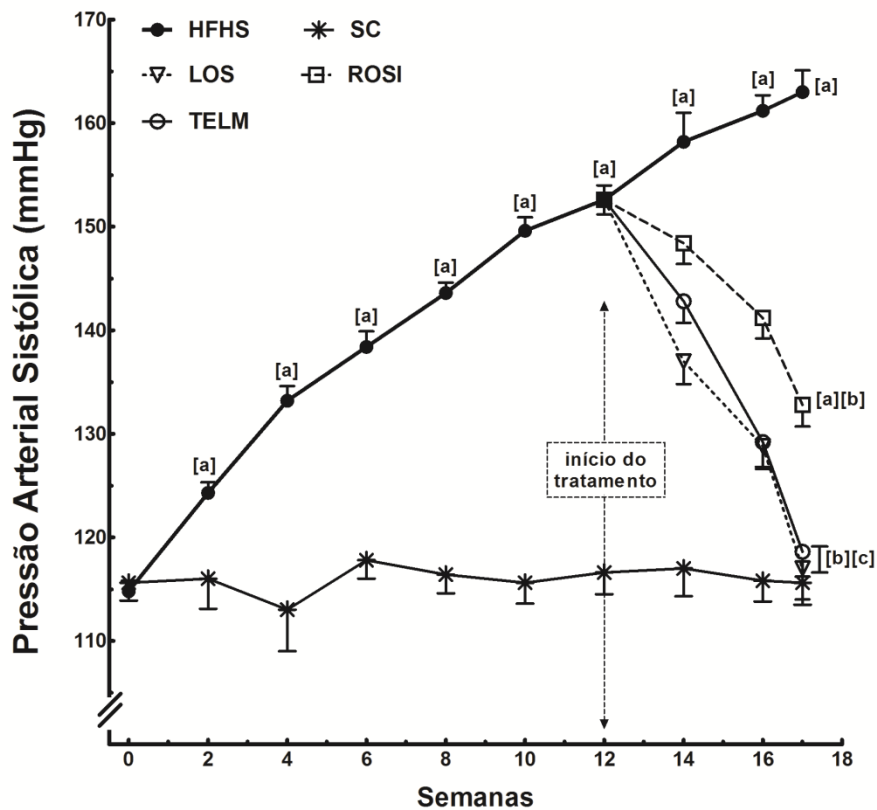


Figura 6 – Evolução da pressão arterial sistólica ao longo do experimento. As dietas foram administradas por 17 semanas e os medicamentos da 12^a à 17^a semana. Grupos: SC, dieta padrão; HFHS, dieta rica em lipídios e sal; ROSI, HFHS tratado com rosiglitazona; TELM, HFHS tratado com telmisartana e; LOS, HFHS tratado com losartana. Os símbolos representam diferença estatística com: (a) SC, (b) HFHS, (c) ROSI e (d) TELM, $P < 0,05$.

4.3 Metabolismo de carboidratos

4.3.1 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

Análise da área sob a curva (AUC) do TOTG demonstra um valor maior para o grupo HFHS (48%) quando comparado ao grupo SC, sugerindo que esses animais têm uma intolerância à glicose. Os valores do grupo ROSI foram equivalentes ao grupo SC, porém, 21% menor do que o grupo HFHS (Tabela 3).

4.3.2 Teste intraperitoneal de tolerância à insulina (TITI)

Avaliando a AUC do TITI é possível perceber que a dieta HFHS induz resistência à insulina nos animais, uma vez que o grupo não tratado apresentou um aumento da AUC do TITI (+113%) em comparação ao grupo SC. O tratamento com rosiglitazona foi capaz de prevenir e/ou reverter esta situação, já que os números observados foram semelhantes aos do grupo SC. Por outro lado, o grupo TELM ainda apresentou valores superiores ao do grupo SC (59%), mas menor do que no grupo HFHS não tratado (-25%) (Tabela 3).

4.4 Análises bioquímicas

Todos os animais alimentados com uma dieta hiperlipídica rica em sal apresentaram aumento do colesterol total em relação ao grupo SC. A única droga que foi capaz de alterar os níveis de colesterol total foi a rosiglitazona, com uma redução de 19% em comparação ao grupo SC ($P < 0,05$). Os animais HFHS apresentaram hipertrigliceridemia (+145%, $P < 0,05$) quando comparados com os animais do grupo SC, cujos valores foram equivalentes aos grupos ROSI e TELM ($44,7 \pm 3,0$ mg/dL, $58,8 \pm 1,8$ mg/dL, respectivamente) (Tabela 3).

As enzimas hepáticas foram alteradas no grupo alimentado com dieta HFHS e não tratado. A AST aumentou significativamente (+210%) e ALT (+60%) quando comparadas com o grupo SC ($P < 0,05$). O grupos ROSI e TELM apresentaram redução significativa das duas enzimas, quando comparados ao grupo HFHS. A fosfatase alcalina não se alterou em nenhum dos grupos experimentais (Tabela 5).

4.5 Triglicerídeos hepáticos

O grupo HFHS apresentou triglicerídeo hepático aumentado em 151% quando comparado ao grupo SC ($499,6 \pm 91,7$ mg / dl versus $199,4 \pm 24,2$ mg / dL). Os tratamentos com rosiglitazona e telmisartana foram eficazes na redução do conteúdo de triglicerídeo hepático, com esses grupos apresentando valores semelhantes aos do grupo SC ($133,6 \pm 17,3$ mg / dL, ROSI e $121,6 \pm 11,7$ mg / dL, TELM). O grupo LOS apresentou valores intermediários entre o grupo HFHS e o grupo SC, sendo esse tratamento não muito eficaz para este parâmetro (Tabela 5).

4.6 ELISA e análise Milliplex

A dieta hiperlipídica rica em sal induziu hiperinsulinemia e hiperleptinemia nos animais. Isto foi demonstrado por um aumento de 135% e 1.300% sobre os valores

de insulina plasmática e leptina, respectivamente, no grupo HFHS não tratado comparado ao grupo SC. Os tratamentos com rosiglitazona e telmisartana provaram ser eficazes na diminuição dos valores de insulina (-48% no grupo ROSI e -33% no grupo TELM, comparados ao grupo HFHS). Pelo contrário, só telmisartana pôde diminuir os níveis de leptina, em comparação ao grupo HFHS (-46%). O tratamento com losartana foi ineficaz para os parâmetros mencionados acima (Tabela 4).

Os grupos ROSI e TELM apresentaram níveis séricos de adiponectina maiores do que o grupo HFHS (148% e 78%, respectivamente). Novamente, a losartana foi ineficaz para modificar este parâmetro. Um fato interessante foi que todos os tratamentos reduziram os níveis de IL-6, que está aumentada em animais do grupo HFHS não tratado (Tabela 4).

4.7 HOMA-IR

Corroborando os achados do TITI, o grupo HFHS não tratado apresentou maior valor de HOMA-IR (241%) do que o grupo SC, o que indica a resistência à insulina nesse grupo. Por outro lado, os grupos ROSI e TELM apresentaram baixos valores desse parâmetro, quando comparado ao grupo HFHS (-60% e -45%, respectivamente). No grupo LOS a resistência à insulina não foi revertida e/ou impedida (Tabela 3).

Table 3: MC, consumo energético, metabolismo de carboidrato e análises bioquímicas

Os valores estão expressos em média \pm EPM. Símbolos representam uma diferença significativa ($P < 0,05$) em comparação ao grupo SC (a), com o grupo HFHS não tratado (b), com o grupo ROSI (c) e com o grupo TELM (d), ANOVA com post-hoc teste de Tukey.

Data	HFHS				
	SC	Não tratado	ROSI	TELM	LOS
MC (g)	29,3 \pm 0,7	34,5 \pm 0,4 ^a	32,9 \pm 0,7 ^a	31,5 \pm 0,6 ^b	34,3 \pm 0,8 ^{a,d}
Ingestão (Kcal/animal)	1577,0 \pm 18,1	2477,0 \pm 18,4 ^a	1963,0 \pm 58,7 ^b	1911,0 \pm 4,1 ^b	2495,0 \pm 5,0 ^{a,c,d}
TOTG (a.u.)	13890,0 \pm 501,0	20597,0 \pm 826,0 ^a	16341,0 \pm 666,7 ^b	17769,0 \pm 736,0 ^a	21681,0 \pm 1320,0 ^{a,c,d}
TITI (a.u.)	9176,0 \pm 214,1	19527,0 \pm 1161,0 ^a	12167,0 \pm 739,1 ^b	14555,0 \pm 464,5 ^{a,b}	18837,0 \pm 1354,0 ^{a,c,d}
Insulina (μ U/mL)	17,9 \pm 0,7	41,8 \pm 1,0 ^a	21,6 \pm 2,3 ^b	28,0 \pm 2,0 ^{a,b}	43,1 \pm 2,4 ^{a,c,d}
HOMA-IR	4,7 \pm 0,2	15,9 \pm 0,8 ^a	6,3 \pm 0,8 ^b	8,8 \pm 0,9 ^{a,b}	16,6 \pm 0,7 ^{a,c,d}
Colesterol total (mg/dL)	120,0 \pm 1,9	180,4 \pm 6,7 ^a	148,4 \pm 6,1 ^{a,b}	171,4 \pm 3,1 ^a	163,8 \pm 11,3 ^a
Triglicérides (mg/dL)	48,0 \pm 4,2	117,8 \pm 30,9 ^a	44,7 \pm 3,0 ^b	58,8 \pm 1,8 ^b	66,0 \pm 4,2

MC: massa corporal; TOTG: teste oral de tolerância à glicose; TITI: teste intraperitoneal de tolerância à insulina; HOMA-IR: (do inglês homeostatic model assessment), modelo de avaliação da homeostase

4.8 Morfometria do tecido adiposo

Os depósitos de gordura epididimária (visceral) e inguinal (subcutânea) foram significativamente maiores em animais HFHS não tratados que no grupo SC: 386% de gordura epididimal, e 221% de gordura inguinal, ($P = 0,001$). Um importante achado foi que os grupos tratados com rosiglitazona e telmisartana apresentaram um declínio da quantidade de gordura epididimal (-32% e -49%, respectivamente), e com o grupo TELM atingindo valores do grupo SC. Mais uma vez a losartana não foi capaz de melhorar um parâmetro, onde a quantidade de tecido adiposo deste grupo foi comparável ao do grupo HFHS (+307% comparado ao grupo SC, $P = 0,001$) (Tabela 4). Avaliando apenas o conteúdo de gordura inguinal, o grupo TELM foi o único que apresentou valores semelhantes ao grupo SC (49% menor que o grupo HFHS). Os grupos HFHS, ROSI e LOS tinham uma quantidade maior de gordura inguinal quando comparado com o grupo SC (+221%, +179%, +132%, respectivamente) (Tabela 4).

A morfometria dos adipócitos revelou hipertrofia dessas células em animais HFHS quando comparado ao grupo SC (diâmetro dos adipócitos variou de $53,6 \pm 0,3 \mu\text{m}$ no grupo SC para $62,3 \pm 1,0 \mu\text{m}$ no grupo HFHS, +16%, $P < 0,05$). O grupo TELM apresentou uma diminuição de -7% no tamanho dos adipócitos quando comparado ao grupo HFHS, igualando aos valores do grupo SC. De forma oposta, adipócitos hipertrofiados, como os encontrados no grupo HFHS, foram observadas no grupo LOS: um aumento de +15% em comparação ao grupo SC ($P < 0,05$) (Tabela 4, Figura 7).

Tabela 4: Adipocinas e morfometria do tecido adiposo

Os valores estão expressos em média \pm EPM. Símbolos representam uma diferença significativa ($P < 0,05$) em comparação ao grupo SC (a), com o grupo HFHS (b), com o grupo ROSI (c) e com o grupo TELM (d), ANOVA com post-hoc teste de Tukey.

Tecido Adiposo	SC	HFHS			
		Não tratado	ROSI	TELM	LOS
<i>Adipocinas</i>					
Adiponectina (pg/mL)	11,3 \pm 1,0	6,0 \pm 0,8 ^a	14,8 \pm 1,7 ^b	10,6 \pm 0,7 ^b	6,4 \pm 1,0 ^{a,c}
Leptina (ng/mL)	225,8 \pm 86,3	3372,0 \pm 1044,0 ^a	2807,0 \pm 497,6 ^a	1825,0 \pm 179,4	2663,0 \pm 461,1 ^a
IL-6 (pg/mL)	4,8 \pm 1,3	45,3 \pm 8,5 ^a	7,3 \pm 0,3 ^b	5,1 \pm 1,1 ^b	12,7 \pm 2,4 ^b
<i>Morfometria do tecido adipose</i>					
Tecido adiposo epididimário (mg)	56 \pm 8	272 \pm 27 ^a	185 \pm 25 ^{a,b}	139 \pm 8 ^b	228 \pm 20 ^{a,d}
Tecido adiposo inguinal (mg)	19 \pm 2	61 \pm 8 ^a	53 \pm 7 ^a	31 \pm 3 ^{b,c}	44 \pm 5 ^a
Diâmetro do adipócito (μ m)	53,6 \pm 0,3	62,3 \pm 1,0 ^a	58,2 \pm 3,0	52,2 \pm 1,6 ^b	61,5 \pm 1,8 ^{a,d}

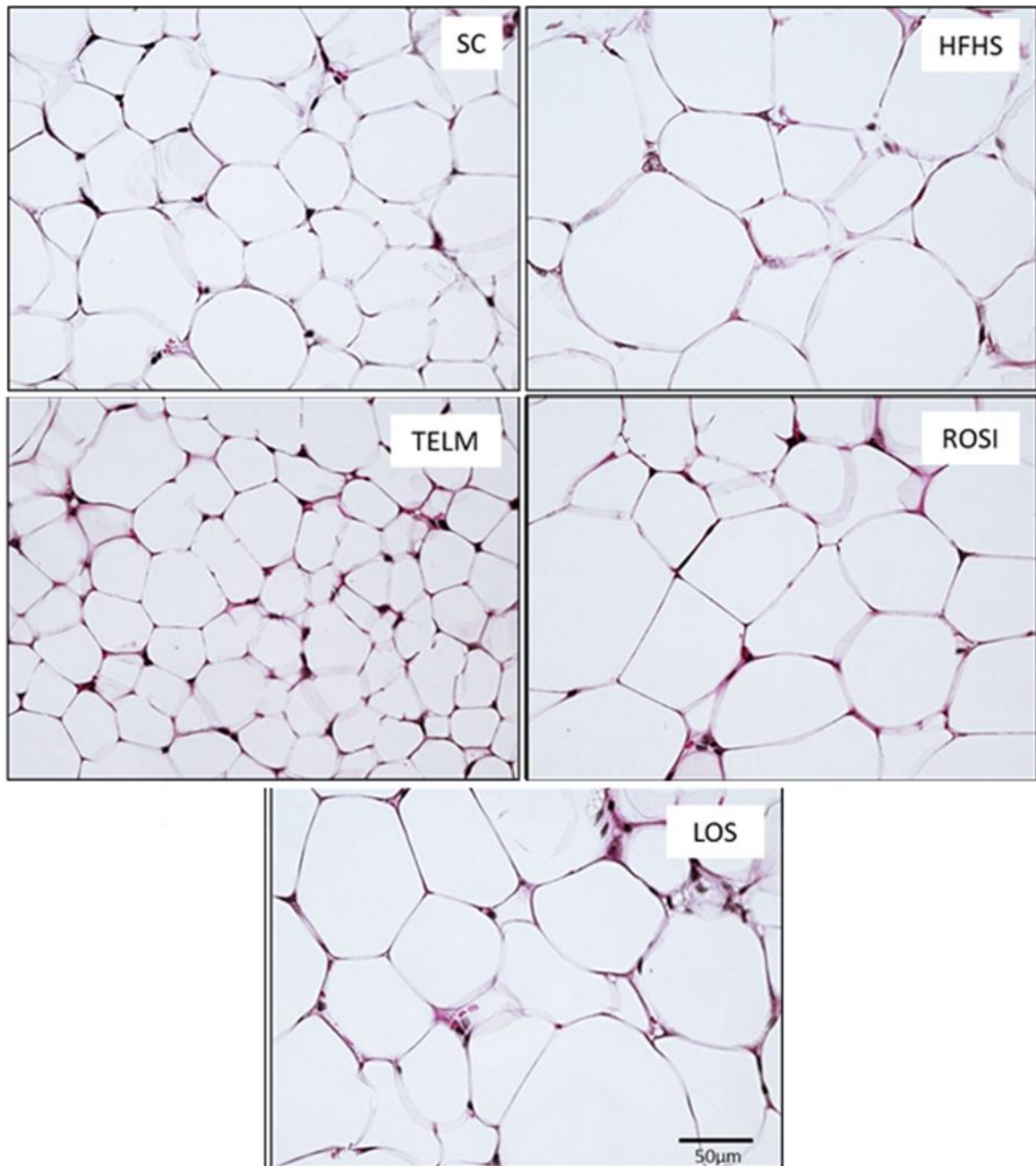


Figura 7 – Adipócitos na gordura branca epididimal. Grupos: SC, dieta padrão; HFHS, dieta rica em lipídios e sal; TELM, HFHS tratado com telmisartana; ROSI, HFHS tratado com rosiglitazona e; LOS, HFHS tratado com losartana. Observe os adipócitos hipertrofiados em HFHS e adipócitos com morfologia similar ao grupo SC em TELM. Barra medindo 50µm.

4.9 Western blotting do tecido adiposo

Primeiramente, a expressão da proteína PPAR-gama no tecido adiposo epididimal foi analisada. Os resultados (Figura 8) evidenciaram uma menor expressão da proteína PPAR-gama em animais alimentados com uma dieta hiperlipídica rica em sal (-73%, $P < 0,001$) do que no grupo SC. Os tratamentos com rosiglitazona e telmisartana ativam PPAR-gama, aumentando a sua expressão no tecido adiposo (+247% e +226%, respectivamente) quando comparado ao grupo HFHS. Entretanto, a losartana não foi capaz de aumentar a expressão de PPAR-gama no tecido adiposo epididimário (Figura 8).

Após este primeiro passo, a expressão de leptina e adiponectina no tecido adiposo epididimal foi avaliada. O resultado foi uma maior expressão de leptina no grupo HFHS em relação ao grupo SC (+370%, $P < 0,001$). Os tratamentos com rosiglitazona e telmisartana diminuíram a expressão protéica de leptina (-206% e -595%, respectivamente) quando comparado ao grupo HFHS. Os animais que receberam losartana apresentaram níveis de leptina tão elevados quanto os do grupo HFHS não tratado (Figura 9).

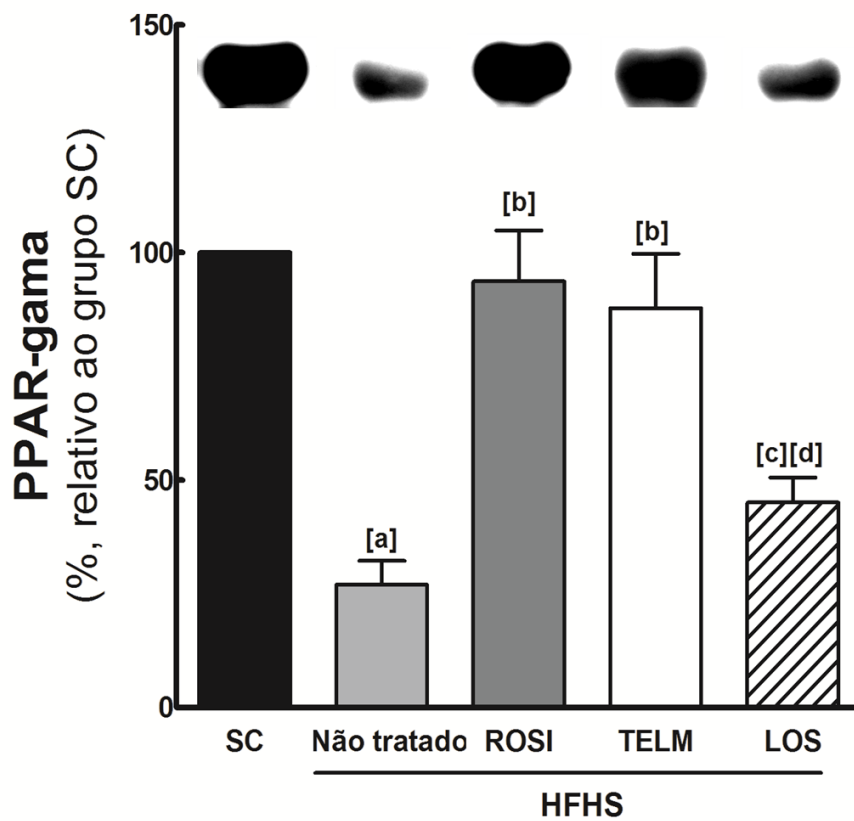


Figura 8 – Expressão protéica de PPAR-gama no tecido adiposo epididimal. Imunoblot representativo é mostrado, com a quantificação das bandas abaixo. Valores são apresentados em média \pm EPM (n = 6 por grupo). Os símbolos representam diferença estatística com: (a) SC, (b) HFHS, (c) ROSI e (d) TELM, $P < 0,05$, ANOVA one-way e pós teste de Tukey.

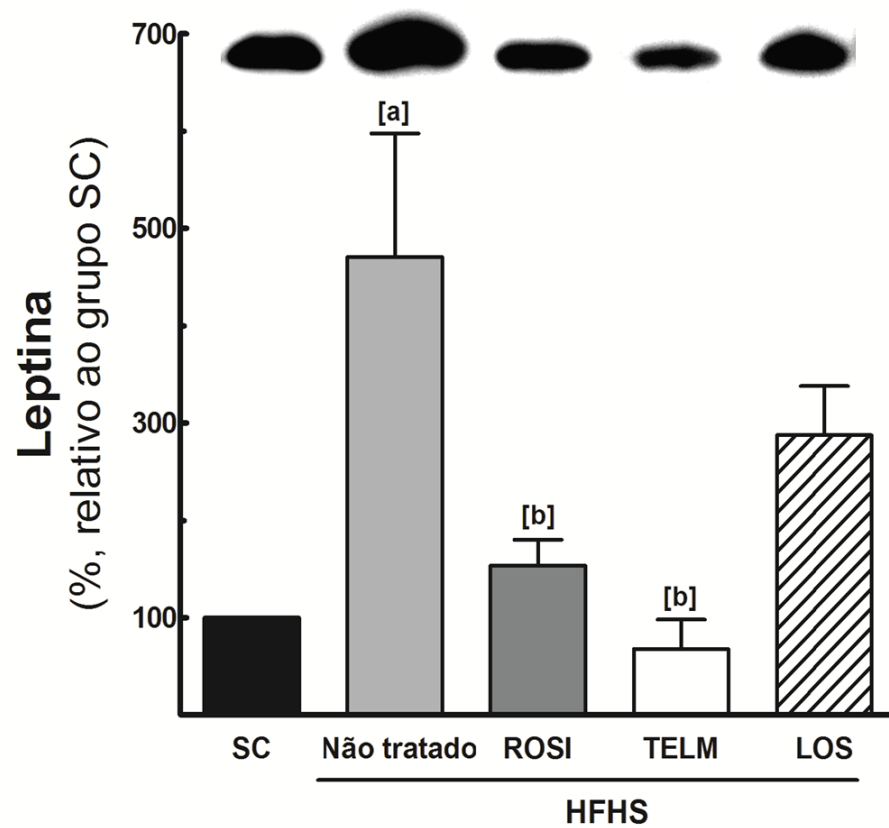


Figura 9 – Expressão protéica de leptina no tecido adiposo epididímal. Imunoblot representativo é mostrado, com a quantificação das bandas abaixo. Valores são apresentados em média \pm EPM (n = 6 por grupo). Os símbolos representam diferença estatística com: (a) SC, (b) HFHS, (c) ROSI e (d) TELM, $P < 0,05$, ANOVA one-way e pós teste de Tukey.

Ao contrário do que aconteceu com a expressão da leptina, os animais alimentados com uma dieta HFHS reduziram a expressão da proteína adiponectina no tecido adiposo (-81%) em relação ao grupo SC. Camundongos tratados com telmisartana e rosiglitazona apresentaram um aumento da expressão de adiponectina (+387% e +440%) em comparação com o grupo HFHS. Mais uma vez, a losartana não foi uma droga influente nesta variável (Figura 10).

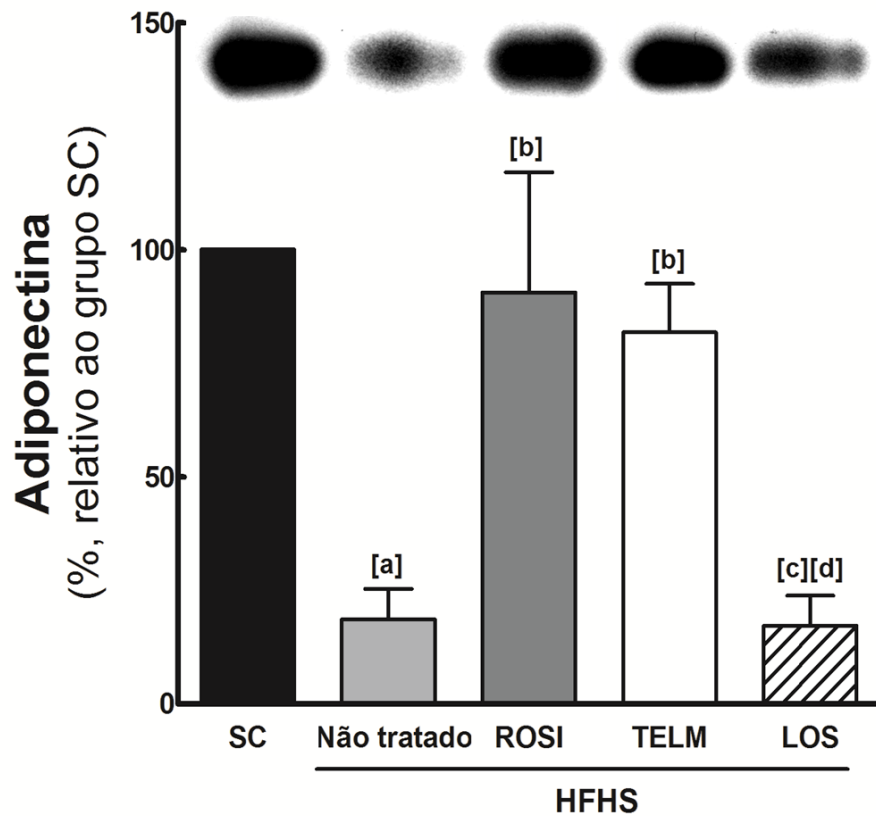


Figura 10 – Expressão protéica de adiponectina no tecido adiposo epididimal. Imunoblot representativo é mostrado, com a quantificação das bandas abaixo. Valores são apresentados em média \pm EPM (n = 6 por grupo). Os símbolos representam diferença estatística com: (a) SC, (b) HFHS, (c) ROSI e (d) TELM, $P < 0,05$, ANOVA one-way e pós teste de Tukey.

A expressão de UCP-1 no tecido adiposo branco foi muito baixa nos grupos SC e HFHS. Porém, houve um impressionante aumento da expressão de UCP-1 no tecido adiposo epididimal dos grupos ROSI e TELM, que foi estatisticamente superior à expressão dos grupos SC e HFHS ($P < 0,05$). Por outro lado, foi observada uma baixa expressão de UCP-1 no grupo LOS, não havendo diferenças quando comparado com os grupos SC e HFHS (Figura 11).

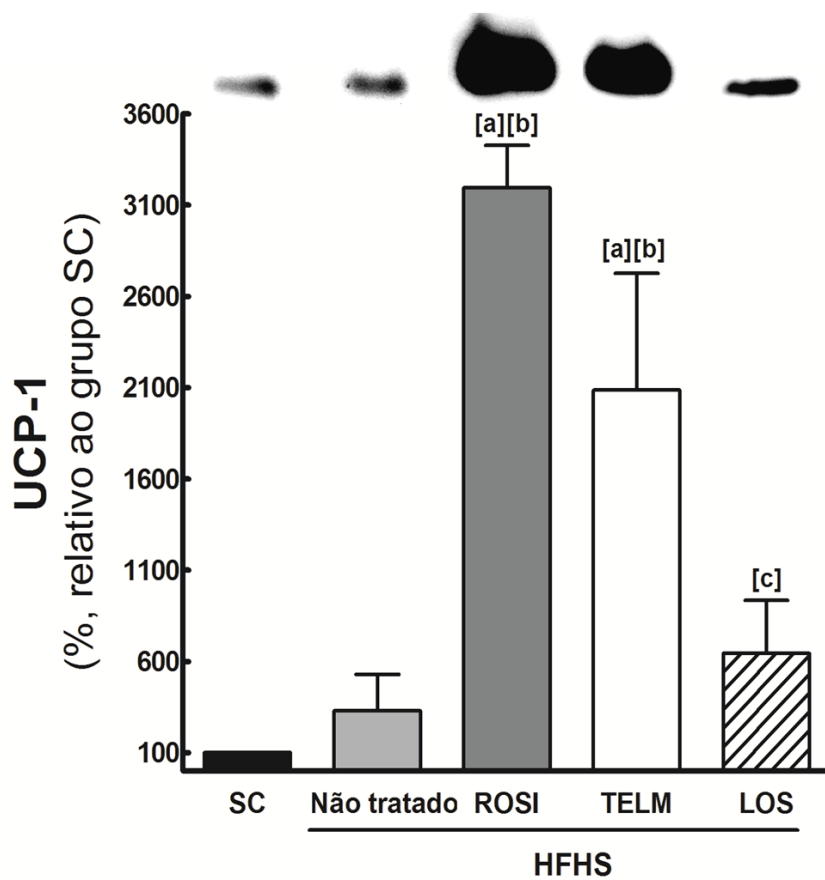


Figura 11 – Expressão protéica de UCP-1 no tecido adiposo epididimal. Imunoblot representativo é mostrado, com a quantificação das bandas abaixo. Valores são apresentados em média \pm EPM ($n = 6$ por grupo). Os símbolos representam diferença estatística com: (a) SC, (b) HFHS, (c) ROSI e (d) TELM, $P < 0,05$, ANOVA one-way e pós teste de Tukey.

4.10 Tecido hepático e esteatose

A massa do fígado corrigida pelo comprimento da tíbia foi significativamente maior no grupo HFHS ($1,06 \pm 0,04$ mg / cm) em relação ao grupo SC ($0,90 \pm 0,02$ mg / cm) ($P < 0,01$). Os grupos tratados: ROSI, TELM e LOS apresentaram uma redução de volume do fígado em relação ao grupo HFHS (-28%, -28% e -21%, respectivamente) (Tabela 5).

A quantificação de esteatose hepática por análise de imagem com ORO mostrou que o grupo HFHS têm grande acúmulo de gotículas de gordura intra-hepática, com um aumento de mais de 1300% quando comparado ao grupo que recebeu dieta padrão ($24,73 \pm 0,88\%$ vs $1,86 \pm 0,24\%$, respectivamente) condizente com um quadro de doença hepática gordurosa não alcoólica. Todos os grupos tratados apresentaram Vv[esteatose hepática] reduzidos comparados ao grupo HFHS ($3,85 \pm 0,39\%$ no grupo ROS, $1,93 \pm 0,22\%$ no grupo TELM e $7,67 \pm 0,85\%$ no grupo LOS) (Figura 12).

4.11 Western blotting do fígado

A expressão protéica de SREBP-1 no fígado de animais alimentados com dieta HFHS aumentaram (+38%, $P < 0,05$) quando comparado com o grupo SC. Todos os tratamentos diminuíram a expressão de SREBP-1 (-49% para o grupo ROS, -49% para o grupo TELM, -29% para o grupo LOS) em relação ao grupo SC (Figura 13).

Tabela 5: Biometria hepática, esteatose e análises bioquímicas

Os valores estão expressos em média \pm EPM. Símbolos representam uma diferença significativa ($P < 0,05$) em comparação ao grupo SC (a), com o grupo HFHS (b), com o grupo ROSI (c) e com o grupo TELM (d), ANOVA com post-hoc teste de Tukey.

Parâmetro	Grupo				
	SC	HFHS	ROS	TELM	LOS
<i>Fígado</i>					
Fígado (g)/tibia (cm)	0.90 \pm 0.02	1.06 \pm 0.04 ^a	0.77 \pm 0.03 ^b	0.76 \pm 0.03 ^{a,b}	0.84 \pm 0.03 ^b
Esteatose (%)	1.86 \pm 0.24	24.73 \pm 0.88 ^a	3.85 \pm 0.39 ^b	1.93 \pm 0.22 ^b	7.67 \pm 0.85 ^{b,c,d}
Triglicerídeo hepático (mg/dL)	199.4 \pm 24.2	499.6 \pm 91.7 ^a	133.6 \pm 17.3 ^b	121.6 \pm 11.7 ^b	327.6 \pm 34.6 ^d
<i>Análises Bioquímicas</i>					
AST (U/L)	57.0 \pm 2.3	176.8 \pm 36.2 ^a	79.6 \pm 3.2 ^b	111.8 \pm 8.4	146.2 \pm 23.3 ^a
ALT (U/L)	28.0 \pm 1.4	44.8 \pm 3.5 ^a	31.4 \pm 2.1 ^b	34.8 \pm 2.3 ^b	32.2 \pm 1.0 ^b
FAL (U/L)	49.2 \pm 1.7	67.6 \pm 7.1 ^{NS}	56.6 \pm 8.6 ^{NS}	50.0 \pm 2.5 ^{NS}	55.2 \pm 3.2 ^{NS}

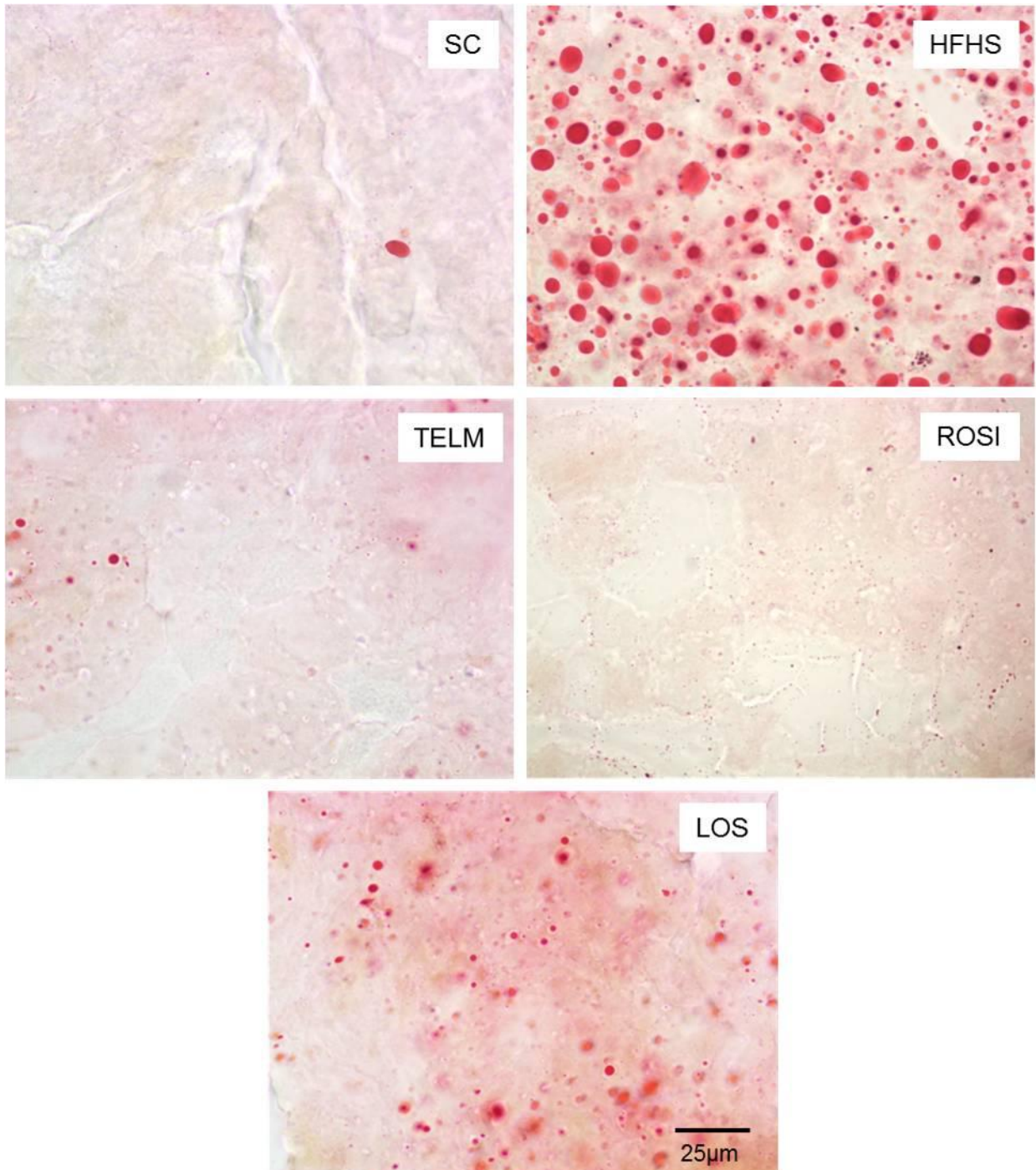


Figura 12 – Fotomicrografias de cortes congelados de fígado (aumento igual para todas as secções) corados pelo Oil Red-O. O grupo HFHS apresentou um intenso acúmulo de gotículas de gordura intra-hepáticas.

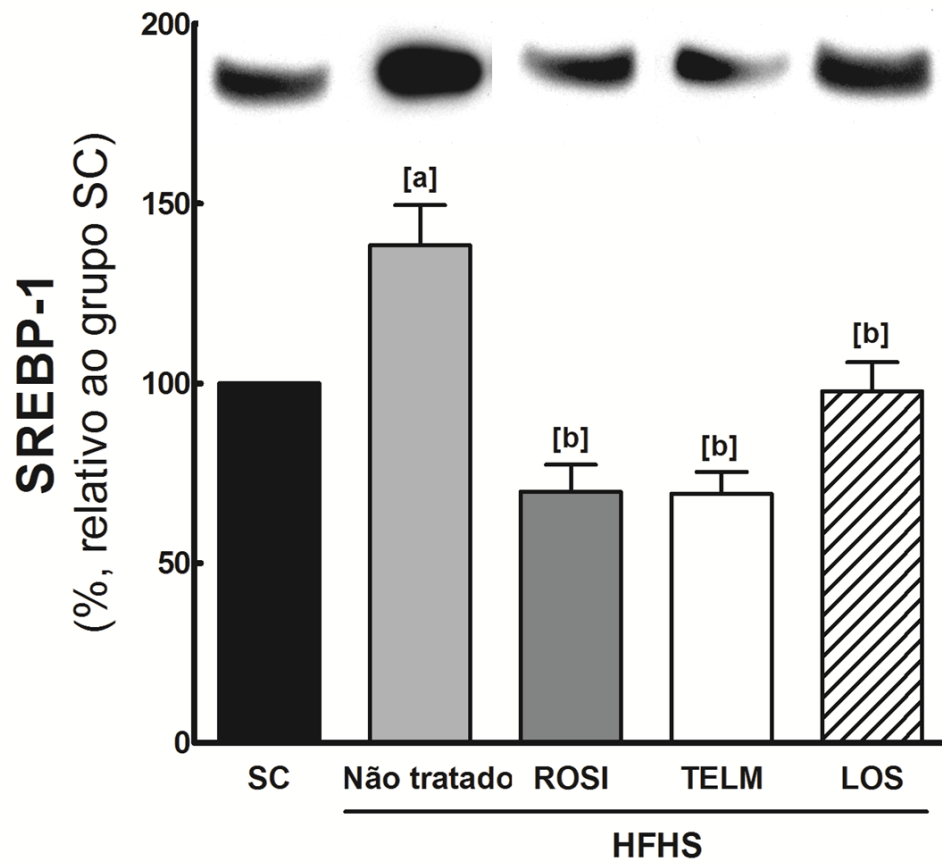


Figura 13 – Expressão protéica de SREBP-1 no fígado. Imunoblot representativo é mostrado, com a quantificação das bandas abaixo. Valores são apresentados em média \pm EPM ($n = 6$ por grupo). Os símbolos representam diferença estatística com: (a) SC, (b) HFHS, (c) ROSI e (d) TELM, $P < 0,05$, ANOVA one-way e pós teste de Tukey.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, o medicamento telmisartana apresentou efeitos benéficos em um modelo animal de sobrepeso/obesidade, resistência à insulina e hipertensão arterial induzidos por dieta. A telmisartana não só reduziu a pressão arterial (como o esperado), mas também apresentou efeitos pleiotrópicos, como: evitar o ganho de peso, aumento dos níveis de adiponectina sérica e tecidual e melhora da sensibilidade à insulina e tolerância à glicose. Nenhum desses efeitos foi obtido pelo tratamento com o medicamento losartana, o que sugere que esses resultados ocorreram pela ativação do PPAR-gama pela telmisartana. A descoberta mais interessante do estudo é que a telmisartana aumenta a expressão de UCP-1 no tecido adiposo branco epididimário, um efeito ligado à ativação de PPAR-gama, resultado este ainda não descrito na literatura.

A hipertensão arterial frequentemente coexiste com o diabetes, obesidade e os distúrbios de risco cardiometabólico. Portanto, uma droga capaz de melhorar e/ou impedir todos os efeitos adversos da síndrome metabólica é desejável. A telmisartana é uma candidata potencial, uma vez que tanto pode reduzir a PA e melhorar anormalidades metabólicas, como provado por outros pesquisadores (117-119) e pelo presente estudo.

Em nosso trabalho, com dieta hiperlipídica e adição de sal, com finalidade de aumentar a pressão arterial, os animais apresentaram um fenótipo mais completo dos sinais que são característicos da síndrome metabólica humana. Os camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e rica em sal apresentaram aumento acentuado da pressão arterial. Como esperado, os anti-hipertensivos BRAs telmisartana e losartana foram capazes de diminuir a pressão arterial para níveis compatíveis a normotensos. Curiosamente, a rosiglitazona induziu uma diminuição significativa da pressão arterial, apesar dela ainda ser maior do que a PA dos camundongos tratados tanto com telmisartana como com a losartana. Trabalhos anteriores do nosso laboratório também mostraram uma redução significativa da PA pela rosiglitazona em ratos (120, 121). O mecanismo parece estar relacionado com o restabelecimento ou a melhora da função endotelial através da enzima óxido nítrico sintase (eNOS) com aumento da produção de óxido nítrico (ON), e com uma

diminuição do receptor AT1 da AngII na camada de células musculares lisas na parede dos vasos (120).

O presente estudo foi capaz de demonstrar que o anti-hipertensivo BRA telmisartana aumenta a expressão de PPAR-gama no tecido adiposo branco epididimário de camundongos alimentados com HFHS em comparação aos animais não tratados. Esses achados ratificam que a telmisartana é um agonista PPAR-gama, como a rosiglitazona. Por outro lado, a expressão de PPAR-gama, foi apenas ligeiramente aumentada pelo losartana, mas sem significância estatística. A eficácia da rosiglitazona em tratar a intolerância à glicose e resistência à insulina tem sido comprovada por diversos estudos, e estes efeitos são devidos à ativação do PPAR-gama (122). A ativação do PPAR-gama aumenta a expressão do transportador de glicose tipo 4 (GLUT 4) no tecido adiposo, diminui os níveis de TNF-alfa e aumenta a secreção de adiponectina (123, 124). No presente estudo, o metabolismo da glicose dos animais tratados com telmisartana foi semelhante aos animais tratados com rosiglitazona.

O medicamento anti-hipertensivo telmisartana aumentou a adiponectina sérica e a expressão de adiponectina no depósito de gordura visceral, melhorando a sensibilidade à insulina e a tolerância à glicose. Como a adiponectina é capaz de melhorar a sensibilidade à insulina dos tecidos, seus níveis mais elevados nos animais tratados com telmisartana pode ter impedido o desenvolvimento de resistência à insulina. Em relação a losartana, têm sido relatados melhora da sensibilidade à insulina com redução da adiponectina (125), a melhora da sensibilidade à insulina e dos níveis de adiponectina (126) ou nenhuma melhora (127). No presente estudo, a losartana não induziu melhora da sensibilidade à insulina e dos níveis de adiponectina, o que sugere que os efeitos benéficos da telmisartana sobre estes parâmetros são principalmente devido à ativação do PPAR-gama.

A resistência à insulina é uma fator chave na associação da obesidade com outros componentes da SMet como a *NAFLD* (128). Animais HFHS não tratados apresentaram esteatose hepática concomitante à hiperinsulinemia e hipoadiponectinemia. Animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentam esteatose hepática macro e microvesicular com ativação de células estreladas (119) que são marcadores da progressão da injúria hepática (129). Os animais tratados com os diferentes fármacos apresentaram melhora do quadro de esteatose hepática,

merecendo destaque a telmisartana e a rosiglitazona. Uma justificativa plausível está no aumento da beta-oxidação. Foi descrito recentemente o papel da telmisartana como agonista parcial PPAR-alfa no fígado devido a sua propriedade de bloquear a angiotensina II no receptor AT1 (98, 99). Efeitos semelhantes pela losartana merecem investigação futura.

Além disso, um decréscimo da lipogênese também foi observado devido a uma redução da expressão de SREBP-1 no fígado dos animais que receberam todos os três tratamentos. A expressão do SREBP-1 é dependente do estado nutricional, induzido pelo aumento do conteúdo de ácidos graxos saturados (AGS) na dieta, o que foi observado nos animais do grupo HFHS. A indução pelo aumento dos AGS apresenta relação direta com a inflamação, stress oxidativo e possível evolução para um quadro de esteato-hepatite não alcoólica (130-132).

Além disso, a telmisartana pode tanto aumentar a expressão de adiponectina no tecido adiposo branco e da proteína desacopladora-1 (UCP-1) no tecido adiposo marrom (133).

A telmisartana impediu o ganho de peso observado nos animais HFHS, porém a losartana não apresentou esse efeito, achados que concordam com a literatura (133, 134). A eficácia da losartana na prevenção do ganho de peso é ainda contraditória na literatura (95, 135). Além disso, a telmisartana reduziu o conteúdo de todos os depósitos de gordura avaliados, como relatado em outros estudos (100, 119). A rosiglitazona também diminuiu a quantidade de tecido adiposo epididimário, mas sua ação foi menor que o tratamento com telmisartana. O resultado mais interessante do tratamento com rosiglitazona, entretanto, foi o aumento do tecido adiposo inguinal, alterando a proporção entre o tecido adiposo visceral e gordura subcutânea. O tecido adiposo inguinal é um depósito de gordura subcutânea, e hoje é bem estabelecido que tiazolidinedionas como a rosiglitazona aumenta o acúmulo de gordura nessa região, o que é considerado um efeito colateral do tratamento com TZDs como foi demonstrado anteriormente em nosso laboratório (109). Além disso, sabe-se que a rosiglitazona aumenta a retenção de líquidos, a diferenciação dos adipócitos e ganho de peso (95, 136, 137). Como um agonista parcial PPAR-gama, a telmisartana não apresentou estes efeitos colaterais, que é uma vantagem sobre a rosiglitazona, por exemplo, para tratar um paciente obeso com hipertensão, uma vez que a telmisartana pode reduzir a pressão arterial e melhorar a sensibilidade à insulina, sem o efeito colateral de ganho de peso.

Já é descrito que a telmisartana melhora a expressão de UCP-1 no tecido adiposo marrom e o dispêndio de energia (133, 134). Até agora, não existem relatos sobre o efeito da telmisartana sobre a expressão da UCP-1 no tecido adiposo branco. No presente estudo, demonstramos que a telmisartana aumenta a expressão de UCP-1 no tecido adiposo branco epididimário em modelo de ganho de peso induzido por dieta HFHS. Alguns trabalhos já evidenciaram que a rosiglitazona aumenta a expressão de UCP-1 no tecido adiposo branco (138-140). Portanto, isso sugere que a telmisartana induz o aumento da expressão de UCP-1 pelo seu potencial em ativar o PPAR-gama. A UCP-1 é uma proteína característica das células do tecido adiposo marrom e sua expressão está ligada a termogênese.

Há evidências que mostram que o adipócito branco maduro, incluindo células humanas, pode ser convertido em adipócitos com características de células da gordura marrom, e que o fenótipo típico de armazenamento de ácidos graxos dos adipócitos brancos pode ser alterado para um fenótipo de utilização de gordura (141). Assim, no presente estudo o aumento da expressão da UCP-1 em gordura branca epididimária poderia explicar porque os animais tratados com telmisartana e alimentados com dieta HFHS não ficaram obesos. Os animais tratados com rosiglitazona também apresentaram aumento de expressão da UCP-1, porém como teve um incremento de gordura subcutânea, o impacto da UCP-1 sobre o peso corporal é menos evidente. Além disso, foi demonstrado recentemente que a telmisartana tem um efeito anorexígeno central, diminuindo o neuropeptídeo orexígeno AgRP independentemente do receptor AT1 (142), um mecanismo que poderia ajudar a explicar melhor a ação da telmisartana sobre a massa corporal.

De acordo com a literatura, tratamento com telmisartana pode reduzir os níveis de triglicerídeos (133, 143) e os níveis de colesterol total e LDL (144, 145). Em nosso estudo, a telmisartana apresentou efeitos benéficos sobre os níveis de triglicerídeos em animais HFHS, mas não nos níveis de colesterol total. Inoue e colaboradores sugerem que a telmisartana reduz o colesterol e os níveis de LDL-c por inibição da absorção intestinal do colesterol (144).

No presente estudo, todos os grupos tratados apresentaram uma melhora do perfil inflamatório, com redução dos níveis plasmáticos de IL-6. Efeitos anti-inflamatórios, tais como redução de IL-6 e aumento da adiponectina podem ser conseqüências do bloqueio do receptor AT1 da AngII e da ativação do PPAR-gama. A AngII aumenta a expressão e liberação de citocinas pró-inflamatórias (146) e

reduz os níveis plasmáticos e expressão gênica de adiponectina (147). O tratamento com telmisartana reduziu os níveis de IL-6 e melhorou os níveis de adiponectina, uma adipocina anti-inflamatória.

6 CONCLUSÃO

O presente modelo de ganho de peso e hipertensão induzidos por dieta em camundongos C57BL/6 mimetiza a síndrome metabólica de humanos. Neste modelo, o tratamento com telmisartana aumentou a expressão da proteína desacopladora-1 no tecido adiposo branco, evitou o ganho de peso induzido pela dieta e melhorou a sensibilidade insulínica desses animais, provavelmente devido à ativação PPAR-gama. No fígado, a telmisartana impediu e/ou melhorou o quadro de esteatose hepática, provavelmente pela ativação PPAR-alfa. Mais estudos são necessários para o entendimento das melhoras observadas nos fígados dos grupos tratados e para melhor compreensão do papel da expressão da UCP-1 no tecido adiposo branco.

REFERÊNCIAS

1. Prentice, A.M. and S.E. Moore, *Early programming of adult diseases in resource poor countries*. Arch Dis Child, 2005. 90(4): p. 429-32.
2. Despres, J.P. and I. Lemieux, *Abdominal obesity and metabolic syndrome*. Nature, 2006. 444(7121): p. 881-7.
3. Wajchenberg, B.L., *Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome*. Endocr Rev, 2000. 21(6): p. 697-738.
4. Wajchenberg, B.L., et al., *Depot-specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome*. Horm Metab Res, 2002. 34(11-12): p. 616-21.
5. Eckel, R.H., S.M. Grundy, and P.Z. Zimmet, *The metabolic syndrome*. Lancet, 2005. 365(9468): p. 1415-28.
6. Marchesini, G., et al., *Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome*. Diabetes, 2001. 50(8): p. 1844-50.
7. Duvnjak, M., et al., *Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease*. World J Gastroenterol, 2007. 13(34): p. 4539-50.
8. Perret-Guillaume, C., et al., *Benefits of the RAS blockade: clinical evidence before the ONTARGET study*. J Hypertens Suppl, 2009. 27(2): p. S3-7.
9. Erbe, D.V., et al., *Molecular activation of PPARgamma by angiotensin II type 1-receptor antagonists*. Vascul Pharmacol, 2006. 45(3): p. 154-62.
10. Gastaldelli, A., et al., *Thiazolidinediones improve beta-cell function in type 2 diabetic patients*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2007. 292(3): p. E871-83.
11. Wassink, A.M., J.K. Olijhoek, and F.L. Visseren, *The metabolic syndrome: metabolic changes with vascular consequences*. Eur J Clin Invest, 2007. 37(1): p. 8-17.
12. Fraulob, J.C., et al., *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): p. 212-23.
13. Gallou-Kabani, C., et al., *C57BL/6J and A/J mice fed a high-fat diet delineate components of metabolic syndrome*. Obesity (Silver Spring), 2007. 15(8): p. 1996-2005.
14. Caterson, I.D., et al., *Prevention Conference VII: Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke: Group III: worldwide comorbidities of obesity*. Circulation, 2004. 110(18): p. e476-83.

15. Galassi, A., K. Reynolds, and J. He, *Metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis*. Am J Med, 2006. 119(10): p. 812-9.
16. Reaven, G.M., *Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease*. Diabetes, 1988. 37(12): p. 1595-607.
17. *Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III)*. JAMA, 2001. 285(19): p. 2486-97.
18. SBH, *I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica*. Hipertensão, 2004. 7(4): p. 123-59.
19. Kylin, E., *Studien ueber das Hypertonie-Hyperglyka "mie-Hyperurika" miesyndrom*. Zentralblatt Fuer Innere Med, 1923. 44: p. 105-27.
20. Vague, J., *[Not Available]*. Presse Med, 1947. 55(30): p. 339.
21. Haffner, S.M., et al., *Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (syndrome X)*. Diabetes, 1992. 41(6): p. 715-22.
22. Kaplan, N.M., *The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension*. Arch Intern Med, 1989. 149(7): p. 1514-20.
23. Bloomgarden, Z.T., *Definitions of the insulin resistance syndrome: the 1st World Congress on the Insulin Resistance Syndrome*. Diabetes Care, 2004. 27(3): p. 824-30.
24. Bouchard, C., *Genetics and the metabolic syndrome*. Int J Obes Relat Metab Disord, 1995. 19 Suppl 1: p. S52-9.
25. Liese, A.D., E.J. Mayer-Davis, and S.M. Haffner, *Development of the multiple metabolic syndrome: an epidemiologic perspective*. Epidemiol Rev, 1998. 20(2): p. 157-72.
26. Lakka, T.A., et al., *Sedentary lifestyle, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome*. Med Sci Sports Exerc, 2003. 35(8): p. 1279-86.
27. Monteiro, C.A., et al., *The nutrition transition in Brazil*. Eur J Clin Nutr, 1995. 49(2): p. 105-13.
28. *Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report*. Circulation, 2002. 106(25): p. 3143-421.
29. Ard, J.D., et al., *The effect of the PREMIER interventions on insulin sensitivity*. Diabetes Care, 2004. 27(2): p. 340-7.

30. McKeown, N.M., et al., *Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham Offspring Cohort*. *Diabetes Care*, 2004. 27(2): p. 538-46.
31. Riccardi, G. and A.A. Rivellese, *Effects of dietary fiber and carbohydrate on glucose and lipoprotein metabolism in diabetic patients*. *Diabetes Care*, 1991. 14(12): p. 1115-25.
32. de Lorgeril, M., et al., *Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease*. *Lancet*, 1994. 343(8911): p. 1454-9.
33. de Lorgeril, M., et al., *Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study*. *Circulation*, 1999. 99(6): p. 779-85.
34. Ahima, R.S. and J.S. Flier, *Adipose tissue as an endocrine organ*. *Trends Endocrinol Metab*, 2000. 11(8): p. 327-32.
35. Kissebah, A.H. and G.R. Krakower, *Regional adiposity and morbidity*. *Physiol Rev*, 1994. 74(4): p. 761-811.
36. Karelis, A.D., et al., *Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: what do we know?* *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. 89(6): p. 2569-75.
37. Gregoire, F.M., C.M. Smas, and H.S. Sul, *Understanding adipocyte differentiation*. *Physiol Rev*, 1998. 78(3): p. 783-809.
38. Le Lay, S., et al., *Cholesterol, a cell size-dependent signal that regulates glucose metabolism and gene expression in adipocytes*. *J Biol Chem*, 2001. 276(20): p. 16904-10.
39. Sopasakis, V.R., et al., *High local concentrations and effects on differentiation implicate interleukin-6 as a paracrine regulator*. *Obes Res*, 2004. 12(3): p. 454-60.
40. Krotkiewski, M., et al., *Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution*. *J Clin Invest*, 1983. 72(3): p. 1150-62.
41. Himms-Hagen, J., *Brown adipose tissue thermogenesis: interdisciplinary studies*. *FASEB J*, 1990. 4(11): p. 2890-8.
42. Cannon, B. and J. Nedergaard, *Brown adipose tissue: function and physiological significance*. *Physiol Rev*, 2004. 84(1): p. 277-359.
43. Argyropoulos, G. and M.E. Harper, *Uncoupling proteins and thermoregulation*. *J Appl Physiol*, 2002. 92(5): p. 2187-98.
44. Hagen, T. and A. Vidal-Puig, *Mitochondrial uncoupling proteins in human physiology and disease*. *Minerva Med*, 2002. 93(1): p. 41-57.

45. Stern, J.S. and M.R. Greenwood, *A review of development of adipose cellularity in man and animals*. Fed Proc, 1974. 33(8): p. 1952-5.
46. Fruhbeck, G., et al., *The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2001. 280(6): p. E827-47.
47. Fantuzzi, G., *Adipose tissue, adipokines, and inflammation*. J Allergy Clin Immunol, 2005. 115(5): p. 911-9; quiz 920.
48. Gregoire, F.M., *Adipocyte differentiation: from fibroblast to endocrine cell*. Exp Biol Med (Maywood), 2001. 226(11): p. 997-1002.
49. Prins, J.B., *Adipose tissue as an endocrine organ*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2002. 16(4): p. 639-51.
50. Xu, H., et al., *Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance*. J Clin Invest, 2003. 112(12): p. 1821-30.
51. Zhang, Y., et al., *Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue*. Nature, 1994. 372(6505): p. 425-32.
52. Frayn, K.N., et al., *Integrative physiology of human adipose tissue*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2003. 27(8): p. 875-88.
53. Kershaw, E.E. and J.S. Flier, *Adipose tissue as an endocrine organ*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. 89(6): p. 2548-56.
54. Scherer, P.E., et al., *A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes*. J Biol Chem, 1995. 270(45): p. 26746-9.
55. Berg, A.H. and P.E. Scherer, *Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease*. Circ Res, 2005. 96(9): p. 939-49.
56. Drevon, C.A., *Fatty acids and expression of adipokines*. Biochim Biophys Acta, 2005. 1740(2): p. 287-92.
57. Arner, P., *Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues*. Ann Med, 1995. 27(4): p. 435-8.
58. Kawanami, D., et al., *Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions*. Biochem Biophys Res Commun, 2004. 314(2): p. 415-9.
59. Rajala, M.W. and P.E. Scherer, *Minireview: The adipocyte--at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis*. Endocrinology, 2003. 144(9): p. 3765-73.
60. *A unified nomenclature system for the nuclear receptor superfamily*. Cell, 1999. 97(2): p. 161-3.

61. Issemann, I. and S. Green, *Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators*. *Nature*, 1990. 347(6294): p. 645-50.
62. Dreyer, C., et al., *Control of the peroxisomal beta-oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors*. *Cell*, 1992. 68(5): p. 879-87.
63. Lefebvre, P., et al., *Sorting out the roles of PPAR alpha in energy metabolism and vascular homeostasis*. *J Clin Invest*, 2006. 116(3): p. 571-80.
64. Kersten, S., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the adaptive response to fasting*. *J Clin Invest*, 1999. 103(11): p. 1489-98.
65. Reddy, J.K. and T. Hashimoto, *Peroxisomal beta-oxidation and peroxisome proliferator-activated receptor alpha: an adaptive metabolic system*. *Annu Rev Nutr*, 2001. 21: p. 193-230.
66. Staels, B., et al., *Fibrates downregulate apolipoprotein C-III expression independent of induction of peroxisomal acyl coenzyme A oxidase. A potential mechanism for the hypolipidemic action of fibrates*. *J Clin Invest*, 1995. 95(2): p. 705-12.
67. Vu-Dac, N., et al., *Fibrates increase human apolipoprotein A-II expression through activation of the peroxisome proliferator-activated receptor*. *J Clin Invest*, 1995. 96(2): p. 741-50.
68. Willson, T.M., et al., *The PPARs: from orphan receptors to drug discovery*. *J Med Chem*, 2000. 43(4): p. 527-50.
69. Di-Poi, N., et al., *Antiapoptotic role of PPARbeta in keratinocytes via transcriptional control of the Akt1 signaling pathway*. *Mol Cell*, 2002. 10(4): p. 721-33.
70. Letavernier, E., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta exerts a strong protection from ischemic acute renal failure*. *J Am Soc Nephrol*, 2005. 16(8): p. 2395-402.
71. Michalik, L. and W. Wahli, *Involvement of PPAR nuclear receptors in tissue injury and wound repair*. *J Clin Invest*, 2006. 116(3): p. 598-606.
72. Tan, N.S., et al., *Critical roles of PPAR beta/delta in keratinocyte response to inflammation*. *Genes Dev*, 2001. 15(24): p. 3263-77.
73. Akbiyik, F., et al., *Human bone marrow megakaryocytes and platelets express PPARgamma, and PPARgamma agonists blunt platelet release of CD40 ligand and thromboxanes*. *Blood*, 2004. 104(5): p. 1361-8.
74. Abourbih, S., et al., *Effect of fibrates on lipid profiles and cardiovascular outcomes: a systematic review*. *Am J Med*, 2009. 122(10): p. 962 e1-8.

75. Jun, M., et al., *Effects of fibrates on cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis*. Lancet, 2010. 375(9729): p. 1875-84.
76. Steiner, G., *Atherosclerosis in type 2 diabetes: a role for fibrate therapy?* Diab Vasc Dis Res, 2007. 4(4): p. 368-74.
77. Luquet, S., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor delta controls muscle development and oxidative capability*. FASEB J, 2003. 17(15): p. 2299-301.
78. Wang, Y.X., et al., *Peroxisome-proliferator-activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity*. Cell, 2003. 113(2): p. 159-70.
79. Picard, F. and J. Auwerx, *PPAR(gamma) and glucose homeostasis*. Annu Rev Nutr, 2002. 22: p. 167-97.
80. Yki-Jarvinen, H., *The PROactive study: some answers, many questions*. Lancet, 2005. 366(9493): p. 1241-2.
81. Nissen, S.E. and K. Wolski, *Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes*. N Engl J Med, 2007. 356(24): p. 2457-71.
82. Psaty, B.M. and C.D. Furberg, *Rosiglitazone and cardiovascular risk*. N Engl J Med, 2007. 356(24): p. 2522-4.
83. Woodcock, J., J.M. Sharfstein, and M. Hamburg, *Regulatory action on rosiglitazone by the U.S. Food and Drug Administration*. N Engl J Med, 2010. 363(16): p. 1489-91.
84. Yki-Jarvinen, H., *Thiazolidinediones*. N Engl J Med, 2004. 351(11): p. 1106-18.
85. Kurtz, T.W. and M. Pravenec, *Antidiabetic mechanisms of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor antagonists: beyond the renin-angiotensin system*. J Hypertens, 2004. 22(12): p. 2253-61.
86. Prasad, A. and A.A. Quyyumi, *Renin-angiotensin system and angiotensin receptor blockers in the metabolic syndrome*. Circulation, 2004. 110(11): p. 1507-12.
87. Morgan, L., F. Broughton Pipkin, and N. Kalsheker, *Angiotensinogen: molecular biology, biochemistry and physiology*. Int J Biochem Cell Biol, 1996. 28(11): p. 1211-22.
88. Carey, R.M. and H.M. Siragy, *Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation*. Endocr Rev, 2003. 24(3): p. 261-71.
89. Stanton, A., *Therapeutic potential of renin inhibitors in the management of cardiovascular disorders*. Am J Cardiovasc Drugs, 2003. 3(6): p. 389-94.

90. Ferrario, C.M., *Role of angiotensin II in cardiovascular disease therapeutic implications of more than a century of research*. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2006. 7(1): p. 3-14.
91. Reudelhuber, T.L., *The renin-angiotensin system: peptides and enzymes beyond angiotensin II*. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2005. 14(2): p. 155-9.
92. Hernandez Schulman, I., M.S. Zhou, and L. Raij, *Cross-talk between angiotensin II receptor types 1 and 2: potential role in vascular remodeling in humans*. Hypertension, 2007. 49(2): p. 270-1.
93. Ruilope, L.M., et al., *Angiotensin receptor blockers: therapeutic targets and cardiovascular protection*. Blood Press, 2005. 14(4): p. 196-209.
94. Semple, P.F., *Putative mechanisms of cough after treatment with angiotensin converting enzyme inhibitors*. J Hypertens Suppl, 1995. 13(3): p. S17-21.
95. Benson, S.C., et al., *Identification of telmisartan as a unique angiotensin II receptor antagonist with selective PPARgamma-modulating activity*. Hypertension, 2004. 43(5): p. 993-1002.
96. Kurtz, T.W., *Treating the metabolic syndrome: telmisartan as a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activator*. Acta Diabetol, 2005. 42 Suppl 1: p. S9-16.
97. Kubota, N., et al., *PPAR gamma mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance*. Mol Cell, 1999. 4(4): p. 597-609.
98. Clemenz, M., et al., *Liver-specific peroxisome proliferator-activated receptor alpha target gene regulation by the angiotensin type 1 receptor blocker telmisartan*. Diabetes, 2008. 57(5): p. 1405-13.
99. Nabeshima, Y., et al., *Deletion of angiotensin II type I receptor reduces hepatic steatosis*. J Hepatol, 2009. 50(6): p. 1226-35.
100. He, H., et al., *Telmisartan prevents weight gain and obesity through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-delta-dependent pathways*. Hypertension, 2010. 55(4): p. 869-79.
101. Gadj AM, P.M., Ricci MR, Ulman EA, *Diet-induced metabolic syndrome in rodent model*. Animal Lab News, 2007.
102. Buettner, R., J. Scholmerich, and L.C. Bollheimer, *High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents*. Obesity (Silver Spring), 2007. 15(4): p. 798-808.
103. Thigpen, J.E., et al., *Selecting the appropriate rodent diet for endocrine disruptor research and testing studies*. ILAR J, 2004. 45(4): p. 401-16.

104. Oakes, N.D., et al., *Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding*. *Diabetes*, 1997. 46(11): p. 1768-74.
105. Bieri, J.G., *AIN-76 diet*. *J Nutr*, 1979. 109(5): p. 925-6.
106. Reeves, P.G., F.H. Nielsen, and G.C. Fahey, 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): p. 1939-51.
107. Collins, S., et al., *Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics*. *Physiol Behav*, 2004. 81(2): p. 243-8.
108. Surwit, R.S., et al., *Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice*. *Diabetes*, 1988. 37(9): p. 1163-7.
109. Fernandes-Santos, C., et al., *Pan-PPAR agonist beneficial effects in overweight mice fed a high-fat high-sucrose diet*. *Nutrition*, 2009. 25(7-8): p. 818-27.
110. Fernandes-Santos, C., et al., *Rosiglitazone aggravates nonalcoholic Fatty pancreatic disease in C57BL/6 mice fed high-fat and high-sucrose diet*. *Pancreas*, 2009. 38(3): p. e80-6.
111. Nascimento, F.A., et al., *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): p. 17-25.
112. Mattson, D.L., *Comparison of arterial blood pressure in different strains of mice*. *Am J Hypertens*, 2001. 14(5 Pt 1): p. 405-8.
113. Mills, E., et al., *Hypertension in CB57BL/6J mouse model of non-insulin-dependent diabetes mellitus*. *Am J Physiol*, 1993. 264(1 Pt 2): p. R73-8.
114. Scherle, W., *A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology*. *Mikroskopie*, 1970. 26(1): p. 57-60.
115. Matthews, D.R., et al., *Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man*. *Diabetologia*, 1985. 28(7): p. 412-9.
116. Mandarin-de-Lacerda, C.A., C. Fernandes-Santos, and M.B. Aguilá, *Image analysis and quantitative morphology*. *Methods Mol Biol*, 2010. 611(1): p. 211-25.
117. Makita, S., et al., *Effects of telmisartan on adiponectin levels and body weight in hypertensive patients with glucose intolerance*. *Metabolism*, 2008. 57(10): p. 1473-8.

118. Komiya, N., et al., *Effects of telmisartan therapy on metabolic profiles and serum high molecular weight (HMW)-adiponectin level in Japanese male hypertensive subjects with abdominal obesity*. J Atheroscler Thromb, 2009. 16(2): p. 137-42.
119. Souza-Mello, V., et al., *Comparative effects of telmisartan, sitagliptin and metformin alone or in combination on obesity, insulin resistance, and liver and pancreas remodelling in C57BL/6 mice fed on a very high-fat diet*. Clin Sci (Lond), 2010. 119(6): p. 239-50.
120. Torres, T.S., et al., *Effects of rosiglitazone (a peroxysome proliferator-activated receptor gamma agonist) on the blood pressure and aortic structure in metabolically programmed (perinatal low protein) rats*. Hypertens Res, 2008. 31(5): p. 965-75.
121. Silva-Junior Gde, O., et al., *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): p. 1-7.
122. Hung, Y.J., et al., *Rosiglitazone improves insulin sensitivity and glucose tolerance in subjects with impaired glucose tolerance*. Clin Endocrinol (Oxf), 2005. 62(1): p. 85-91.
123. Olefsky, J.M., *Treatment of insulin resistance with peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists*. J Clin Invest, 2000. 106(4): p. 467-72.
124. Kramer, D., et al., *Insulin-sensitizing effect of rosiglitazone (BRL-49653) by regulation of glucose transporters in muscle and fat of Zucker rats*. Metabolism, 2001. 50(11): p. 1294-300.
125. Guo, L.L., Y. Pan, and H.M. Jin, *Adiponectin is positively associated with insulin resistance in subjects with type 2 diabetic nephropathy and effects of angiotensin II type 1 receptor blocker losartan*. Nephrol Dial Transplant, 2009. 24(6): p. 1876-83.
126. Nishimura, H., et al., *Losartan elevates the serum high-molecular weight-adiponectin isoform and concurrently improves insulin sensitivity in patients with impaired glucose metabolism*. Hypertens Res, 2008. 31(8): p. 1611-8.
127. Bahadir, O., et al., *Effects of telmisartan and losartan on insulin resistance in hypertensive patients with metabolic syndrome*. Hypertens Res, 2007. 30(1): p. 49-53.
128. Festi, D., et al., *Hepatic steatosis in obese patients: clinical aspects and prognostic significance*. Obes Rev, 2004. 5(1): p. 27-42.
129. Friedman, S.L., *Mechanisms of hepatic fibrogenesis*. Gastroenterology, 2008. 134(6): p. 1655-69.

130. Aragno, M., et al., *SREBP-1c in nonalcoholic fatty liver disease induced by Western-type high-fat diet plus fructose in rats*. *Free Radic Biol Med*, 2009. 47(7): p. 1067-74.
131. Shimano, H., *SREBPs: physiology and pathophysiology of the SREBP family*. *FEBS J*, 2009. 276(3): p. 616-21.
132. Shimano, H., *SREBPs: novel aspects of SREBPs in the regulation of lipid synthesis*. *FEBS J*, 2009. 276(3): p. 615.
133. Araki, K., et al., *Telmisartan prevents obesity and increases the expression of uncoupling protein 1 in diet-induced obese mice*. *Hypertension*, 2006. 48(1): p. 51-7.
134. Sugimoto, K., et al., *Telmisartan but not valsartan increases caloric expenditure and protects against weight gain and hepatic steatosis*. *Hypertension*, 2006. 47(5): p. 1003-9.
135. Rosselli, M.S., et al., *Losartan reduces liver expression of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in a high fat-induced rat nonalcoholic fatty liver disease model*. *Atherosclerosis*, 2009. 206(1): p. 119-26.
136. Zorad, S., et al., *Long-term angiotensin II AT1 receptor inhibition produces adipose tissue hypotrophy accompanied by increased expression of adiponectin and PPARgamma*. *Eur J Pharmacol*, 2006. 552(1-3): p. 112-22.
137. Zanchi, A., et al., *Telmisartan prevents the glitazone-induced weight gain without interfering with its insulin-sensitizing properties*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007. 293(1): p. E91-5.
138. Rong, J.X., et al., *Adipose mitochondrial biogenesis is suppressed in db/db and high-fat diet-fed mice and improved by rosiglitazone*. *Diabetes*, 2007. 56(7): p. 1751-60.
139. Petrovic, N., et al., *Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes*. *J Biol Chem*, 2010. 285(10): p. 7153-64.
140. Laplante, M., et al., *PPAR-gamma activation mediates adipose depot-specific effects on gene expression and lipoprotein lipase activity: mechanisms for modulation of postprandial lipemia and differential adipose accretion*. *Diabetes*, 2003. 52(2): p. 291-9.
141. Langin, D., *Recruitment of brown fat and conversion of white into brown adipocytes: strategies to fight the metabolic complications of obesity?* *Biochim Biophys Acta*, 2010. 1801(3): p. 372-6.

142. Aubert, G., et al., *Neuroendocrine characterization and anorexigenic effects of telmisartan in diet- and glitazone-induced weight gain*. *Metabolism*, 2010. 59(1): p. 25-32.
143. Inoue, T. and K. Node, *Telmisartan as a metabolic sartan for targeting vascular failure*. *Expert Opin Pharmacother*, 2008. 9(8): p. 1397-406.
144. Inoue, T., et al., *Inhibition of intestinal cholesterol absorption might explain cholesterol-lowering effect of telmisartan*. *J Clin Pharm Ther*, 2011. 36(1): p. 103-110.
145. Derosa, G., et al., *Effects of telmisartan compared with eprosartan on blood pressure control, glucose metabolism and lipid profile in hypertensive, type 2 diabetic patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled 12-month study*. *Hypertens Res*, 2004. 27(7): p. 457-64.
146. Skurk, T., V. van Harmelen, and H. Hauner, *Angiotensin II stimulates the release of interleukin-6 and interleukin-8 from cultured human adipocytes by activation of NF-kappaB*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004. 24(7): p. 1199-203.
147. Hattori, Y., et al., *Angiotensin-II-induced oxidative stress elicits hypoadiponectinaemia in rats*. *Diabetologia*, 2005. 48(6): p. 1066-74.

APÊNDICE - Publicações

O doutorando teve, durante o período do doutorado (2007-2011) as seguintes co-autorias:

Catta-Preta M, **Mendonca LS**, Fraulob-Aquino J, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. A critical analysis of three quantitative methods of assessment of hepatic steatosis in liver biopsies. *Virchows Archiv* (doi:10.1007/s00428-011-1147-1)

Fernandes-Santos C, Carneiro RE, **Mendonca LS**, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Rosiglitazone aggravates nonalcoholic fatty pancreatic disease in C57BL/6 mice fed high-fat and high-sucrose diet. *Pancreas* 2009;38:e80-86 (doi:10.1097/MPA.0b013e3181987d9d)

Fernandes-Santos C, Carneiro RE, **Mendonca LS**, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Pan-PPAR agonist beneficial effects in overweighed mice fed a high-fat high-sucrose diet. *Nutrition* 2009;25:818-827 (doi:10.1016/j.nut.2008.12.010)

Fernandes-Santos C, **Mendonca LS**, Mandarim-de-Lacerda CA. Favorable cardiac and aortic remodeling in olmesartan-treated SHR. *Heart & Vessels* 2009;24:219-227 (doi:10.1007/s00380-008-1104-3)

Silva-Junior GO, Torres TS, **Mendonca LS**, 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;63:1-7 (doi:10.1016/j.etp.2009.09.001)

Schultz A, **Mendonca LS**, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Swimming training exerts beneficial effects in a mice model of nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Exp Toxicol Pathol* (doi:10.1016/j.etp.2010.08.019)

ANEXO - Carta de submissão**Mandarim**

From: "Metabolism" <metabolism@elsevier.com>
Date: Wednesday, January 26, 2011 8:29 AM
To: <mandarim@uerj.br>
Subject: A manuscript number has been assigned: METABOLISM-D-11-00072
Ms. Ref. No.: METABOLISM-D-11-00072

Title: Telmisartan increases UCP-1 expression in white adipose tissue of C57Bl/6 mice fed a high-fat high-salt diet
Metabolism

Dear Prof. Mandarim,

Your submission "Telmisartan increases UCP-1 expression in white adipose tissue of C57Bl/6 mice fed a high-fat high-salt diet" has been assigned manuscript number METABOLISM-D-11-00072.

To track the status of your paper, please do the following:

1. Go to this URL: <http://ees.elsevier.com/metabolism/>
2. Enter your login details
3. Click [Author Login]
This takes you to the Author Main Menu.
4. Click [Submissions Being Processed]

Thank you for submitting your work to Metabolism.

Sincerely yours,

Dr. Christos Mantzoros, MD, DSc
Editor-in-Chief
Metabolism

Professor of Medicine, Harvard Medical School
Professor in Environmental Health, Harvard School of Public Health