

Perfil Nutricional e Cardiovascular de Ratos Normotensos e Hipertensos sob Dieta Hiperlipídica

Nutritional and Cardiovascular Profiles of Normotensive and Hypertensive Rats kept on a High Fat Diet

Silvio A. Oliveira Júnior¹, Katashi Okoshi¹, Ana Paula Lima-Leopoldo¹, André S. Leopoldo¹, Dijon H.S. Campos¹, Paula F. Martinez¹, Marina P. Okoshi¹, Carlos R. Padovani², Maeli Dal Pai-Silva², Antonio C. Cicogna¹

Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP¹; Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP², Botucatu, SP - Brasil

Resumo

Fundamento: Embora dietas hiperlipídicas (DH) promovam distúrbios nutricionais e cardíacos, poucos estudos avaliaram sua influência em ratos normotensos Wistar-Kyoto (WKY) e espontaneamente hipertensos (SHR).

Objetivo: Avaliar e comparar o perfil nutricional e cardiovascular de WKY e SHR tratados com DH.

Métodos: 20 WKY e 20 SHR foram distribuídos em quatro grupos: WKY-controle (WKY-C), WKY-DH, SHR-controle (SHR-C) e SHR-DH. Os grupos C e DH receberam, respectivamente, dieta normocalórica e DH durante 20 semanas. Foram avaliados: peso corporal (PC), adiposidade, glicemia, lípides séricos, com dosagens de colesterol total e triacilglicerol, insulina e leptina. O estudo cardiovascular contemplou a pressão arterial sistólica (PAS), avaliação cardiopulmonar anatômica, ecocardiograma e histologia cardíaca.

Resultados: Os SHRs apresentaram menor PC, adiposidade, glicose, colesterol, triacilglicerol, leptina e insulina, quando comparados aos WKYs. Nos SHR, a ingestão calórica aumentou com a DH. Já nos WKYs, a DH elevou a eficiência energética, a adiposidade e a leptina e reduziu a glicemia. Na avaliação cardiovascular, os SHR apresentaram maior PAS, umidade pulmonar, hipertrofia e fibrose intersticial miocárdica em relação aos WKYs ($p < 0,01$); mas a função cardíaca foi similar entre as cepas. A DH reduziu o diâmetro sistólico ventricular nos WKY e acentuou a relação E/A mitral, as espessuras diastólicas do septo interventricular e da parede posterior bem como a fibrose intersticial do ventrículo esquerdo.

Conclusão: Embora não tenha afetado significativamente o perfil nutricional dos SHRs, o tratamento acentuou a remodelação cardíaca e precipitou o aparecimento de disfunção diastólica ventricular. Nos WKY, a dieta aumentou a adiposidade e a leptinemia, e promoveu modificações cardiovasculares não significantes. (Arq Bras Cardiol 2009; 93(5) : 526-533)

Palavras-chave: Dieta, hiperlipidemias, ratos, remodelação ventricular, hipertensão.

Summary

Background: Although a high fat diet (HFD) promotes nutritional and heart disorders, few studies have assessed its influence in normotensive Wistar-Kyoto rats (WKY) and spontaneously hypertensive rats (SHR).

Objective: To evaluate and compare the nutritional and cardiovascular profiles of WKY and SHR on a high fat diet.

Methods: 20 WKY and 20 SHR were divided into four groups: Control-WKY (C-WKY), HFD-WKY, Control-SHR (C-SHR) and HFD-SHR. The C and HFD groups received, respectively, a normocaloric diet and a HFD for 20 weeks. The following features were evaluated: body weight (BW), adiposity, blood glucose, serum lipids, with measurements of total cholesterol and triacylglycerol levels, insulin and leptin. The cardiovascular study included the systolic blood pressure (SBP), a cardiopulmonary anatomical evaluation, an echocardiography and heart histology.

Results: The SHR had BW, adiposity, glucose, cholesterol, triacylglycerol, leptin and insulin levels lower than the WKY. In SHR, the caloric intake increased with HFD. In WKY, the HFD increased energy efficiency, adiposity and blood leptin, and reduced glucose. In the cardiovascular assessment, the SHR had SBP, pulmonary moisture, myocardial hypertrophy and interstitial fibrosis higher than the WKY ($p < 0.01$); the cardiac function was similar in both strains. The HFD reduced the ventricular systolic diameter in the WKY and increased the mitral E/A ratio, the diastolic thickness of the interventricular septum and the posterior wall, as well as the interstitial fibrosis of the left ventricle.

Conclusion: Although it had not significantly affected the nutritional profile of the SHR, the treatment increased cardiac remodeling and precipitated the emergence of ventricular diastolic dysfunction. In WKY, the diet increased adiposity and leptinemia, and promoted non-significant cardiovascular changes. (Arq Bras Cardiol 2009; 93(5) : 487-494)

Key words: Hyperlipidemias; rats; ventricular remodeling; hypertension.

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

Correspondência: Silvio A. Oliveira Júnior •

Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, Departamento de Clínica Médica, Rubião Júnior, S/N - 18618-000 - Botucatu, SP - Brasil

E-mail: silviojr_fisio@yahoo.com.br

Artigo recebido em 20/08/2008; revisado recebido em 23/09/2008; aceito em 21/10/2008.

Introdução

Alterações do metabolismo de gorduras e carboidratos se associam com distúrbios nutricionais, como obesidade, dislipidemia e resistência à insulina, e às afecções cardiovasculares, como hipertensão arterial sistêmica e remodelação cardíaca¹. Em ensaios experimentais, dietas hipercalóricas (DH), com alto teor de lipídeos e/ou carboidratos, acarretam efeitos similares aos desarranjos nutricionais humanos²; no contexto cardiovascular, promovem acometimentos hemodinâmicos e remodelamento cardíaco, com hipertrofia, fibrose intersticial e disfunção miocárdica^{1,3,4}.

Poucos estudos estabeleceram associações, ainda que inconsistentes, entre os perfis nutricional e cardiovascular em ratos normotensos sob DH³⁻⁸. Estudos que não avaliaram a função cardíaca reportaram dislipidemia, alterações glicêmicas, hiperinsulinemia e hipertrofia cardíaca^{4,5}. Du Toit e cols.³ verificaram aumento da pressão arterial, hipertrofia e disfunção miocárdica pós-isquêmica, com modificações glicêmicas, lipidêmicas e manutenção da insulinemia. Outros pesquisadores, embora denotassem dislipidemia, não detectaram efeitos glicêmicos^{6,7}, hemodinâmicos^{6,7} e remodelagem cardíaca⁶⁻⁸. Wilson e cols.⁹, conquanto não constatassem desordens nutricionais, relataram disfunção cardíaca progressiva. Diante dessas controvérsias, a influência de DH sobre o perfil nutricional e cardiovascular de ratos normotensos não está plenamente esclarecida.

Em pesquisas sobre remodelamento cardíaco, o rato espontaneamente hipertenso (SHR) é muito empregado, pois desenvolve hipertrofia, fibrose intersticial e disfunção ventricular, decorrentes da hipertensão arterial¹⁰. O SHR também é geneticamente mais susceptível a distúrbios nutricionais, lipidêmicos, glicêmicos e hiperinsulinemia¹¹. Entretanto, poucos estudos analisaram a influência da DH sobre os atributos nutricionais e cardiovasculares dessa linhagem. Girard e cols.⁷ constataram dislipidemia e ausência de alterações glicêmicas e cardíacas. Já outros autores, embora não tenham avaliado os perfis glicêmico e lipidêmico, denotaram maior adiposidade^{12,13} e acentuada hipertrofia miocárdica¹²⁻¹⁴, com redução¹² ou aumento^{13,14} da pressão arterial. Estudos adicionais, que preteriram aspectos cardíacos, constataram alterações glicêmicas^{15,16} e lipidêmicas¹⁶, com aumento¹⁵ ou manutenção¹⁶ dos níveis pressóricos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar o perfil nutricional e cardiovascular de ratos normotensos Wistar-Kyoto (WKY) e SHRs tratados com DH. A hipótese é que a DH acarreta alterações em ambas as cepas, porém, mais acentuadas nos SHRs.

Materiais e métodos

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da FMB/UNESP, em conformidade com regimentos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Animais e grupos

Amostras de 20 ratos WKY e 20 SHRs, machos, com

60 dias de idade, foram distribuídas em quatro grupos, segundo linhagem e tratamento: WKY-controle (WKY-C), WKY-DH, SHR-controle (SHR-C) e SHR-DH. Os grupos C e DH receberam, respectivamente, dietas normocalórica e hipercalórica, durante 20 semanas. Os animais foram alojados individualmente, sob condições monitoradas de temperatura (20-24°C), umidade (40-60%) e luminosidade (fases claro/escuro de 12 horas), com livre acesso ao tratamento designado. A dieta normocalórica consistiu de ração comercial para roedores (Purina®), com a seguinte composição de macronutrientes: 58,72% de carboidratos, 32,23% de proteína e 9,06% de lipídeos, totalizando 3,2 Kcal/g. A DH, previamente instituída¹⁷, constou de uma combinação de alimentos industrializados e apresentava o seguinte perfil bromatológico: 31,7% de carboidratos, 24,9% de proteína e 43,4% de lipídeos, perfazendo 4,6 Kcal/g. A alta densidade energética da DH resultou principalmente do elevado aporte de lipídeos¹⁷.

Perfil nutricional

A avaliação nutricional incluiu ingestão calórica, eficiência energética, peso corporal (PC), glicemia, lipidemia, insulina, leptina e adiposidade. A ingestão e a eficiência, obtidas pela razão entre a variação ponderal e a energia total ingerida¹⁸, foram mensuradas diariamente. O PC foi avaliado semanalmente. Após o período experimental, os animais foram mantidos em jejum por 12 a 14 horas, anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg) e eutanasiados por decapitação. O sangue foi coletado em tubos com heparina, centrifugado (3000 rpm) durante 15 minutos a 4°C, e armazenado a -80°C. Posteriormente, foram avaliadas as frações séricas de triacilglicerol, o colesterol total e a glicose, por método enzimático com kits específicos (Kovalent diagnosis, Kovalent do Brasil Ltda., Rio de Janeiro/RJ). As concentrações de leptina e insulina foram determinadas por ELISA com auxílio de leitor de micro-placa (Spectra MAX 190, Molecular Devices, USA), e kits apropriados (Linco Research Inc., St. Louis, MO, USA)¹⁹. O índice de adiposidade²⁰ foi obtido pela fórmula: {[gordura epididimal + gordura retroperitoneal + gordura visceral]/(peso corporal total - soma dos sítios adiposos)}x100.

Perfil cardiovascular

O estudo cardiovascular contemplou a pressão arterial sistólica, a análise *in vivo* da estrutura e função do coração e a avaliação *post mortem* da morfologia cardiopulmonar e da histologia miocárdica. O procedimento de mensuração pressórica, comumente utilizado^{21,22}, consistiu da pletismografia, com emprego de um esfigmomanômetro automático (Narco Biosystem, Austin, TX, USA).

A função e estrutura do coração foram avaliadas *in vivo* pelo ecocardiograma, conforme metodologia previamente descrita^{23,24}. Os ratos foram pesados e anestesiados com cloridrato de Ketamina (50 mg/kg) e cloridrato de xilidino (1 mg/kg), administrados por via intramuscular. A seguir, foi realizada uma tricotomia na região anterior do tórax e os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo para realização do ecocardiograma. O ecocardiógrafo utilizado

foi o modelo ADI 5000 da Phillips, equipado com transdutor eletrônico de 12 MHz de frequência.

Para a mensuração das estruturas cardíacas, foram obtidas imagens em modo monodimensional (modo-M) com o feixe de ultrassom orientado pelas imagens em modo bidimensional, estando o transdutor em posição paraesternal eixo menor. A imagem do ventrículo esquerdo (VE) foi obtida posicionando o cursor do modo-M logo abaixo do plano da valva mitral no nível dos músculos papilares²³. Já as imagens da aorta e do átrio esquerdo foram obtidas com o cursor do modo-M posicionado ao nível do plano da valva aórtica. As imagens obtidas foram registradas em impressora modelo UP-890 da Sony Co.. Posteriormente, as estruturas cardíacas foram medidas, manualmente, com o auxílio de um paquímetro de precisão.

No momento em que o diâmetro da cavidade ventricular fosse máximo, foram mensurados o diâmetro diastólico do VE (DDVE) e as espessuras diastólicas da parede posterior do VE (EDPP) e do septo interventricular (EDSIV). Quando o diâmetro da cavidade fosse mínimo, foram avaliados o diâmetro sistólico (DSVE) e as espessuras sistólicas da parede posterior (ESPP) e do septo interventricular (ESSIV). O átrio esquerdo (AE) foi medido no momento em que seu diâmetro fosse máximo. A massa do VE (MVE) foi calculada de acordo com a seguinte fórmula: $MVE = [(DDVE + EDPP + EDSIV)^3 - (DDVE)^3] \times 1,04$; e as seguintes variáveis foram derivadas das dimensões acima descritas: espessura relativa do VE (EDPP/DDVE), DDVE/PC, AE/PC e índice de MVE (IMVE, MVE/PC).

A função sistólica do VE foi avaliada pelos seguintes índices: porcentagem de encurtamento mesocárdico (% Enc. Meso): $[(DDVE + \frac{1}{2}EDPP + \frac{1}{2}EDSIV) - (DSVE + \frac{1}{2}ESPP + \frac{1}{2}ESSIV)] / (DDVE + \frac{1}{2}EDPP + \frac{1}{2}EDSIV)$; porcentagem de encurtamento endocárdico (% Enc. Endo): $[(DDVE - DSVE) / DDVE]$; velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP).

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

Após a eutanásia, foram pesados os átrios (A), ventrículo direito (VD) e VE, em valores absolutos e corrigidos pelo PC. Para analisar se a DH alterou a umidade do pulmão, um índice clínico de disfunção cardíaca¹⁰, executou-se a avaliação do teor de água pulmonar. Após a pesagem *in natura*, amostras pulmonares foram submetidas à secagem em estufa. O conteúdo pulmonar de água foi analisado a partir da fórmula: $[(PU-PS)/PU] \times 100$ (%); onde PU = peso *in natura* e PS = peso seco.

A avaliação histológica do miocárdio, envolvendo a área transversa miocitária e a fração intersticial de colágeno, foi realizada em amostras do VE. Após fixação em solução de formol a 10%^{22,24}, os fragmentos foram inclusos em blocos de parafina. Em seguida, seções de quatro μm de espessura coletadas em lâminas histológicas foram coradas com *Hematoxilina-Eosina*, para avaliação da área seccional do miócito. Em cada animal, de 50 a 70 células foram avaliadas. Como princípio de análise, essas células deveriam advir da

camada subendocárdica ventricular, apresentar formato elíptico e conter núcleo visível e centralizado^{22,24}. O conteúdo de colágeno foi avaliado em seções teciduais coradas com *Picro-sírius red*²². Pelo menos 20 quadrantes foram utilizados e regiões perivasculares foram desconsideradas. Os cortes histológicos foram projetados em aumento de 40 vezes com o auxílio de microscópio (LEICA DM LS) acoplado a uma câmera de vídeo que projeta imagens digitais em um microcomputador IBM, equipado com programa analisador de imagens Image Pro-plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA).

Análise estatística

Os resultados foram expressos em medidas descritivas. A evolução ponderal em função do tempo, avaliado em semanas, foi analisada mediante modelos de regressão linear. Já a comparação entre os modelos foi realizada pelo teste do coeficiente angular e da constante de regressão linear. As variáveis nutricionais e cardiovasculares foram avaliadas por ANOVA, no esquema de dois fatores, seguida, respectivamente, do teste de Tukey, para distribuições paramétricas, e teste de Dunn, para dados não-paramétricos. As conclusões estatísticas foram discutidas sob nível de significância de 5%.

Resultados

Perfil Nutricional

A variação ponderal em função do tempo, avaliada por modelos de regressão linear, é apresentada na figura 1. O modelo de regressão construído para o grupo SHR-DH apresentou o melhor coeficiente de predição: 85,2% (tabela 1). Em todos os grupos, constatou-se uma elevação significativa do peso em relação ao momento inicial ($p < 0,001$). Nos dois tratamentos, o comportamento ponderal dos SHRs diferiu dos WKYs em todas as semanas consideradas, mas não se constatou diferenças ponderais significativas entre as duas dietas em ambas as linhagens.

Os resultados do perfil nutricional estão dispostos na tabela 2. O SHR-C revelou menor ingestão calórica do que o WKY-C, enquanto o grupo SHR-DH exibiu eficiência energética inferior à do WKY-DH. Os WKYs revelaram maior PC, adiposidade, glicose, colesterol total (CT), triacilglicerol (TG), leptina e insulina, comparados aos SHRs nos dois níveis de tratamento. Nos WKYs, a eficiência, adiposidade e leptina aumentaram no grupo WKY-DH; mas a dieta reduziu a glicemia quando comparado ao WKY-C.

Perfil Cardiovascular

Na tabela 3 são apresentados os dados hemodinâmicos e estruturais, avaliados pelo ecocardiograma. As variáveis PAS, IMVE, relações AE/PC e DDVE/PC, EDPP, espessura relativa da parede do VE (ERelVE), ESPP, EDSIV e ESSIV foram superiores nos SHRs, nos dois níveis de tratamento ($p < 0,01$). Nas duas cepas houve queda da razão DDVE/PC decorrente do tratamento. A DH reduziu a FC e aumentou as variáveis EDPP e EDSIV nos SHRs, e nos WKYs promoveu queda do DSVE. Na tabela 4 estão apresentados os resultados da avaliação ecocardiográfica da função ventricular. As diferenças de onda

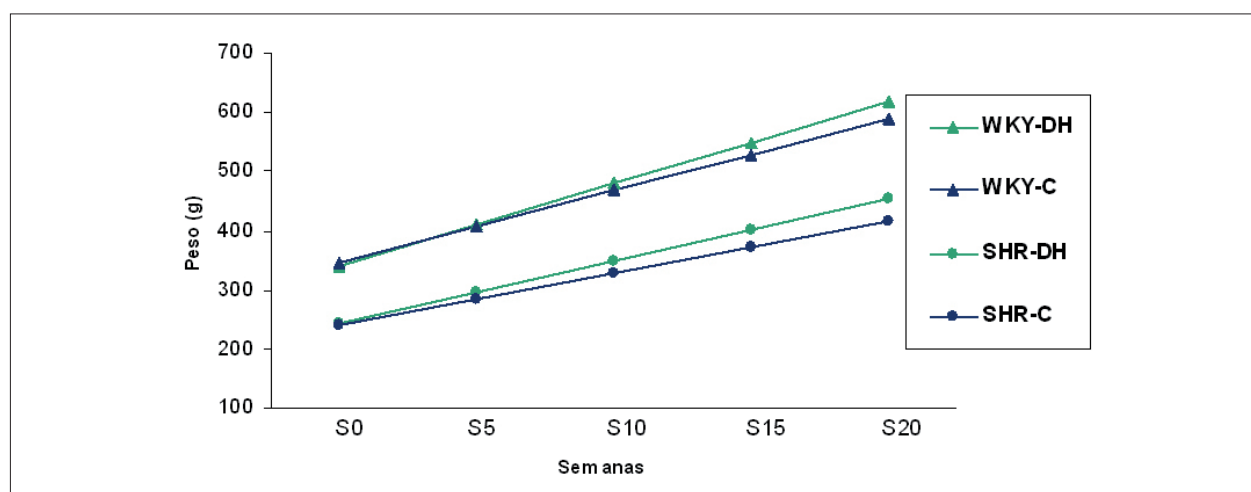


Fig. 1 - Modelos de regressão linear do peso corporal em função das diferentes semanas; S0: momento inicial; S5: 5ª semana; S10: 10ª semana; S15: 15ª semana e S20: 20ª semana.

E, maiores no SHR-C comparado ao WKY-C ($p < 0,05$), foram mais acentuadas entre os grupos DH ($p < 0,01$). A razão E/A, similar entre os grupos C, foi superior no SHR-DH comparado ao WKY-DH. A dieta acarretou aumento da E/A entre os SHRs, externando a interação entre linhagem e tratamento.

Na tabela 5 são expostos os achados de morfologia cardiopulmonar e histologia cardíaca. Nos dois níveis de tratamento, umidade pulmonar, peso do VE, relações VD/PC e VE/PC, morfometria e colágeno foram maiores nos SHRs do que nos WKYs. Ainda nos SHRs, a DH aumentou o peso de A, VE e do conteúdo de colágeno.

Discussão

Diets hipercalóricas, ricas em lipídeos, são frequentemente utilizadas em ensaios experimentais para induzir distúrbios metabólicos comuns em humanos^{1,2,19}. Embora centenas de investigações empreguem dietas hiperlipídicas, não há consenso relativo ao teor e à composição de ácidos graxos, saturados ou insaturados, utilizados nessas intervenções². Na presente investigação, a dieta hipercalórica e hiperlipídica foi obtida a partir de uma combinação de produtos industrializados acrescidos à dieta padrão¹⁷. Tratamentos similares são muito difundidos em experimentos com roedores^{3,5,17}.

Neste estudo, os SHRs apresentaram menor peso do que os WKYs no início do protocolo; esse perfil não se alterou

durante o período experimental (figura 1, tabela 2). Nas duas cepas, a DH não modificou significativamente o peso, entretanto, quando foi avaliada a adiposidade corporal, ocorreram alterações restritas aos WKYs, evidenciando a interação entre linhagem e tratamento. Nessa cepa, a dieta

Tabela 2 - Avaliação do perfil nutricional e bioquímico, segundo linhagem e tratamento

Variáveis	Linhagem	Tratamento	
		Controle (C)	D. Hipercalórica (DH)
Ingestão calórica (Kcal)	WKY	82,3 ± 8,4	83,2 ± 10,8
	SHR	71,5 ± 2,3 ^{##}	78,8 ± 4,5 *
Eficiência energética (g/ Kcal)	WKY	0,15 ± 0,03	0,17 ± 0,02 *
	SHR	0,13 ± 0,01	0,15 ± 0,03 [#]
Peso corporal (g)	WKY	539 ± 69	566 ± 60
	SHR	370 ± 16 ^{##}	409 ± 10 ^{##}
Ind. Adiposidade (%)	WKY	8,55 ± 2,96	11,27 ± 3,45 *
	SHR	3,65 ± 0,30 ^{##}	5,54 ± 0,93 ^{##}
Glicose (mg/dL)	WKY	144 ± 13	128 ± 13 *
	SHR	98 ± 12 ^{##}	95 ± 18 ^{##}
Colesterol Total (mg/dL)	WKY	123,2 ± 21,3	119,1 ± 17,7
	SHR	49,7 ± 5,0 [#]	38,1 ± 7,4 [#]
TG (mg/dL)	WKY	105,2 ± 48,4	94,1 ± 48,6
	SHR	34,7 ± 4,9 [#]	39,8 ± 3,8 [#]
Leptina (ng/ dL)	WKY	8,28 ± 3,36	11,06 ± 4,00 *
	SHR	1,89 ± 0,58 [#]	3,36 ± 1,08 [#]
Insulina (ng/ dL)	WKY	2,21 ± 2,47	1,64 ± 0,57
	SHR	0,63 ± 0,62 ^{##}	0,51 ± 0,93 [#]

Valores em média ± desvio padrão - TG: triacilglicerol; * - $p < 0,05$ vs C; [#] - $p < 0,05$, ^{##} - $p < 0,01$ vs WKY; ANOVA e teste de Tukey. Valores de insulina expressos em mediana ± semi-amplitude: ANOVA e teste de Dunn.

Tabela 1 - Modelos de regressão linear do comportamento do peso corporal em função do tempo de experimentação

Grupos	Modelo de Regressão Linear	Coefficiente de Determinação (%)
WKY-C	Peso = 346,816 + 12,102 S	67,7 *
WKY-DH	Peso = 341,336 + 13,791 S	77,1 *
SHR-C	Peso = 239,900 + 8,752 S	77,3 *
SHR-DH	Peso = 243,827 + 10,477 S	85,2 *

* - $p < 0,001$ para as comparações entre as diferentes semanas (S).

Tabela 3 - Avaliação da pressão arterial sistólica e ecocardiográfica da estrutura cardíaca, segundo linhagem e tratamento

Variável	Linhagem	Dieta	
		Padrão (C)	Hiperclórica (DH)
PAS (mmHg)	WKY	126 ± 13	130 ± 8
	SHR	193 ± 24 ^{##}	195 ± 31 ^{##}
FC (bpm)	WKY	279 ± 32	288 ± 35
	SHR	301 ± 35	270 ± 21 [*]
AE (mm)	WKY	5,08 ± 0,62	4,84 ± 0,52
	SHR	5,31 ± 0,68	5,56 ± 0,63 [#]
AE/PC (mm/Kg)	WKY	9,82 ± 1,14	8,00 ± 0,34
	SHR	13,64 ± 2,05 ^{##}	12,99 ± 1,42 ^{##}
DDVE (mm)	WKY	8,48 ± 0,33	8,19 ± 0,39
	SHR	8,25 ± 0,71	8,09 ± 0,52
DDVE/PC (mm/Kg)	WKY	15,69 ± 1,94	13,76 ± 1,26 [*]
	SHR	21,22 ± 2,55 ^{##}	18,88 ± 0,99 ^{* ##}
DSVE (mm)	WKY	4,69 ± 0,36	4,12 ± 0,58 [*]
	SHR	4,39 ± 0,61	4,06 ± 0,59
EDPP (mm)	WKY	1,52 ± 0,08	1,59 ± 0,08
	SHR	1,84 ± 0,13 ^{##}	1,95 ± 0,16 ^{* ##}
EDSIV (mm)	WKY	1,55 ± 0,06	1,60 ± 0,07
	SHR	1,87 ± 0,08 ^{##}	1,96 ± 0,15 ^{* ##}
ESPP (mm)	WKY	2,61 ± 0,20	2,85 ± 0,17
	SHR	2,98 ± 0,27 ^{##}	3,22 ± 0,38 ^{##}
ESSIV (mm)	WKY	2,40 ± 0,15	2,51 ± 0,11
	SHR	2,73 ± 0,24 ^{##}	2,76 ± 0,12 ^{##}
EReIVE	WKY	0,18 ± 0,01	0,19 ± 0,01
	SHR	0,23 ± 0,02 ^{##}	0,24 ± 0,03 ^{##}
IMVE (g/Kg)	WKY	1,79 ± 0,17	1,61 ± 0,16
	SHR	3,10 ± 0,65 ^{##}	2,91 ± 0,34 ^{##}

Valores em média ± desvio padrão - PAS: pressão arterial sistólica; FC: frequência cardíaca; AE: diâmetro do átrio esquerdo; AE/PC: razão entre AE e o peso corporal final; DDVE: diâmetro diastólico do VE; DDVE/PC: razão entre o DDVE e o peso corporal; DSVE: diâmetro sistólico do VE; EDPP: espessura diastólica da parede posterior; EDSIV: espessura diastólica do septo interventricular; ESPP: espessura sistólica da parede posterior; ESSIV: espessura sistólica do septo interventricular; EReIVE: espessura relativa da parede do VE; IMVE: índice de massa do ventrículo esquerdo (VE); * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ vs C; # - $p < 0,05$, ## - $p < 0,01$ vs WKY; ANOVA e teste de Tukey.

aumentou a adiposidade, provavelmente relacionada com a maior eficiência energética (tabela 2). Considerando-se esses achados, não foram encontrados trabalhos avaliando a influência de intervenções hiperlipídicas sobre os atributos nutricionais dessa linhagem. Entretanto, os dados da presente investigação mantêm concordância com autores que analisaram essas respostas em outras linhagens de ratos^{5,25,26}. Em *Wistar*^{5,25} e *Sprague-Dawley*²⁶, tratamentos com DH promoveram aumento da adiposidade corporal, embora não alterassem o peso corporal. Em relação aos

Tabela 4 - Avaliação ecocardiográfica da função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo, segundo linhagem e tratamento

Variável	Linhagem	Dieta	
		Padrão (C)	Hiperclórica (DH)
Enc. Endocárdico (%)	WKY	44,8 ± 3,1	49,8 ± 5,3
	SHR	46,9 ± 5,0	50,0 ± 4,6
Enc. Mesocárdico (%)	WKY	28,3 ± 2,0	30,6 ± 3,3
	SHR	28,3 ± 3,7	29,9 ± 3,3
VEPP (mm/s)	WKY	37,4 ± 3,1	37,3 ± 3,3
	SHR	35,4 ± 3,7	38,5 ± 2,9
E mitral (cm/s)	WKY	79,2 ± 6,9	78,8 ± 8,8
	SHR	88,0 ± 6,0 [#]	90,5 ± 9,2 ^{##}
A mitral (cm/s)	WKY	34,9 ± 24,1	49,6 ± 5,7
	SHR	57,5 ± 25,2	42,1 ± 21,2
E/A	WKY	1,73 ± 0,31	1,61 ± 0,30
	SHR	1,56 ± 0,46	2,07 ± 0,50 ^{##}
TDE (ms)	WKY	55,3 ± 7,5	52,1 ± 18,1
	SHR	58,9 ± 10,3	53,6 ± 3,0
TRIV (ms)	WKY	28,3 ± 4,8	28,3 ± 5,0
	SHR	32,7 ± 3,3	28,9 ± 5,1

Valores em média ± desvio padrão - Enc. Endocárdico: fração relativa de encurtamento endocárdico; Enc. Mesocárdico: fração relativa de encurtamento mesocárdico; VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior; E mitral: onda E mitral; A mitral: onda A mitral; E/A: razão entre ondas E e A; TDE: tempo de desaceleração da onda E; TRIV: tempo de relaxamento isovolumétrico do VE. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$, vs C; # - $p < 0,05$; ## - $p < 0,01$, vs WKY; ANOVA e teste de Tukey.

SHRs, a dieta não promoveu alterações da adiposidade, embora a ingestão calórica fosse superior no SHR-DH. Comparada às outras cepas, o SHR é resistente a adquirir peso corporal com intervenções hiperclóricas¹³; quando apresenta alteração ponderal derivada do tratamento, essas variações são mais amenas em comparação às observadas entre ratos normotensos¹². Não obstante, outros autores relataram aumento do peso corporal¹⁴⁻¹⁶ e da adiposidade¹⁶ em SHRs sob intervenções hiperlipídicas mais breves, de oito¹⁵ ou 12 semanas^{14,16}. Provavelmente, esses resultados divergentes são decorrentes principalmente das composições dietéticas utilizadas nesses estudos, caracterizadas pelo alto aporte de ácidos graxos saturados. Em nosso estudo, a DH foi, majoritariamente, composta por ácidos graxos insaturados de origem vegetal como óleo de milho e amendoim¹⁷.

Quanto ao perfil bioquímico, o SHR-C apresentou menores níveis de glicemia e insulinemia do que o grupo WKY-C (tabela 2). Os SHRs apresentam maior predisposição genética à hiperglicemia e à resistência à insulina, as quais se manifestam, principalmente, com a maturação^{11,27}. Devido à idade precoce dos SHRs neste estudo, 7 a 8 meses, é possível que esta predisposição ainda não tenha se evidenciado. Na literatura, investigações sobre glicemia e insulinemia em ratos WKY e SHR apresentaram resultados conflitantes. Enquanto alguns autores²⁸ constataram hiperglicemia e resistência à insulina em

Tabela 5 - Avaliação da umidade pulmonar, morfologia cardíaca, segundo linhagem e tratamento

Variáveis	Linhagem	Dieta		
		Padrão (C)	D. Hiperclórica (DH)	
Pulmão	PU/PS	WKY	4,37 ± 0,21	4,27 ± 0,47
		SHR	4,90 ± 0,25 #	4,77 ± 0,19 #
	Umidade (%)	WKY	77,1 ± 1,2	76,4 ± 2,5
		SHR	79,5 ± 1,0 #	79,0 ± 0,8 #
Átrios (g)	WKY	0,092 ± 0,013	0,110 ± 0,015	
	SHR	0,086 ± 0,012	0,120 ± 0,071 *	
A/PCF (mg/g)	WKY	0,17 ± 0,02	0,20 ± 0,03	
	SHR	0,24 ± 0,04	0,30 ± 0,02 #	
VD (g)	WKY	0,21 ± 0,03	0,22 ± 0,03	
	SHR	0,22 ± 0,05	0,24 ± 0,08	
VD/PCF (mg/g)	WKY	0,39 ± 0,03	0,40 ± 0,03	
	SHR	0,60 ± 0,15 #	0,59 ± 0,22 #	
VE (g)	WKY	0,83 ± 0,10	0,85 ± 0,09	
	SHR	0,94 ± 0,10 ##	1,06 ± 0,05 ** ##	
VE/PCF (mg/g)	WKY	1,53 ± 0,11	1,48 ± 0,63	
	SHR	2,54 ± 0,37 ##	2,58 ± 0,15 ##	
Fibrose (%)	WKY	3,70 ± 0,65	5,35 ± 0,65	
	SHR	7,70 ± 0,65 ##	11,31 ± 0,69 ** ##	
AST (µm ²)	WKY	197,1 ± 7,0	201,3 ± 7,0	
	SHR	272,0 ± 7,0 ##	276,5 ± 7,3 ##	

Variáveis expressas em média ± desvio padrão - A/PCF: razão entre peso dos átrios e peso corporal final; PU/PS - razão peso úmido/ peso seco; VD: peso do ventrículo direito; VD/PCF: razão entre VD e peso corporal final; VE: peso do ventrículo esquerdo; VE/PCF: razão entre peso do VE e peso corporal final. Variáveis expressas em média ± erro-padrão: Fibrose e AST: área seccional transversa dos cardiomiócitos; * - p<0,05; ** - p<0,01, vs C; # - p<0,05; ## - p<0,01, vs WKY; ANOVA e teste de Tukey.

SHRs, outros²⁷ não registraram diferenças entre as duas cepas. Essas discrepâncias podem decorrer de inúmeros fatores, dentre os quais, a faixa etária dos animais²⁷. Comportamento similar ao dos grupos controle foi constatado entre o WKY-DH e SHR-DH, embora a dieta tenha reduzido a glicemia somente nos WKYs, reavendo a interação entre linhagem e tratamento. Em estados pós-prandiais, a hiperinsulinemia provinda da sensibilização de células β-pancreáticas acentua a captação glicêmica tecidual e, com a progressão do jejum, reduz a glicemia²⁷. Esse mecanismo explicaria a redução glicêmica constatada no WKY-DH. Entretanto, nas duas linhagens, não foi possível verificar alteração dos níveis de insulina devido ao tratamento, embora a diferença entre as cepas, mais evidente sob dieta padrão (p<0,01), tenha sido amenizada entre os grupos DH (p<0,05). Estudos adicionais são necessários para esclarecer este achado.

A avaliação bioquímica envolvendo os níveis de leptina e triacilglicerol mostrou que essas variáveis foram menores no SHR-C comparado ao WKY-C. A leptina, sintetizada

pelo tecido adiposo, se associa com o grau de adiposidade corporal²⁹, que foi superior no WKY-C. Esse hormônio possui influência lipolítica e, durante jejum prolongado, diminui a captação de TG em adipócitos, contribuindo para o aumento sérico de TG²⁹. Portanto, o aumento de leptina, devido à maior adiposidade, favoreceria a elevação de TG no WKY-C em relação ao SHR-C. Comportamento similar foi observado entre os grupos DH, embora a dieta aumentasse a leptina apenas no WKY-DH. O triacilglicerol não foi alterado pelo tratamento nas duas linhagens (tabela 2). Esse achado pode decorrer, possivelmente, da ação da insulina, que se manteve inalterada pela dieta nas duas cepas. A insulina estimula a captação de TG nos adipócitos, contribuindo para a adipogênese, e inibe a lipólise, impedindo, portanto, o aumento de triacilgliceróis plasmáticos³⁰.

O colesterol total também foi menor nos SHRs, nos dois tratamentos. Devido à maior excreção de colesterol, aliada a deficiências na captação entérica e no transporte molecular, os SHRs são hipocolesterolêmicos em comparação aos WKYs³¹. Nas duas cepas, a DH não promoveu alteração do colesterol. Ácidos graxos insaturados, componentes da DH utilizada na presente investigação¹⁷, estimulam a captação hepática de colesterol¹⁸.

Considerando-se a avaliação cardiovascular, o ecocardiograma representa uma alternativa para o estudo da função ventricular e pode fornecer importantes informações sobre a estrutura e o desempenho cardíaco em animais de pequeno porte³². É um método versátil, seguro, indolor, não invasivo e válido para análises seriadas *in vivo*²³. A avaliação ecocardiográfica em animais de experimentação é geralmente realizada sob ação de agentes anestésicos, que podem provocar alterações fisiológicas no sistema cardiovascular e respiratório²¹⁻²⁴. O cloridrato de ketamina tem mínima influência sobre o sistema cardiopulmonar³². Esse fármaco pode induzir rigidez muscular, minimizada pela combinação com o cloridrato de xylazina, droga com ação sedativa e analgésica. A associação é indicada a inúmeras espécies animais por induzir analgesia e reduzir o tônus muscular^{23,32}.

Em conjunto, os resultados cardiovasculares revelam que o grupo SHR-C apresentou remodelação cardíaca caracterizada por dilatação do átrio esquerdo, hipertrofia ventricular esquerda concêntrica, hipertrofia do ventrículo direito e fibrose intersticial miocárdica em relação ao WKY-C. Na avaliação funcional, constatou-se função sistólica preservada com aumento da onda E mitral no SHR-C. Esses resultados, associados à maior umidade pulmonar, configuram indícios de disfunção diastólica. Em SHRs, a ativação neuro-hormonal via sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), catecolaminas e endotelinas associadas à atividade nervosa simpática podem designar retenção hídrica e promover alterações estruturais do miocárdio e da parede vascular, ocasionando remodelamento ventricular^{10,21}. Essa combinação de respostas pode ampliar a rigidez miocárdica, com redução da complacência e do enchimento ventricular, as quais acarretam hipertensão venocapilar e retenção hídrica pulmonar^{10,33}. Nos SHRs, esse evento é comum em faixas etárias mais avançadas, entre 18 e 24 meses, e se associa com outros sinais clínicos de disfunção ventricular, como

remodelamento atrial^{10,33}. Nesse sentido, embora o aumento da umidade pulmonar verificado no SHR-C (tabela 5) constitua um achado inesperado devido à idade precoce dos animais, entre 7 e 8 meses, não se pode descartar que esse resultado indique desempenho funcional alterado. Em paralelo com essa suposição, outros autores constataram indícios de disfunção diastólica em SHR na faixa etária de 12 a 14 meses^{34,35}. Os resultados realçam que a remodelação presente no SHR-C manteve normalizado o desempenho ventricular sistólico, com possível alteração da função diastólica.

As diferenças estruturais cardíacas entre as cepas sob dieta padrão se mantiveram no nível DH, exceto pelo diâmetro do átrio esquerdo (tabela 3) e pela relação A/PC (tabela 5), que aumentaram no SHR-DH comparado ao WKY-DH. A avaliação funcional ecocardiográfica (tabela 4) mostrou que a onda E e a relação E/A foram aumentadas no SHR-DH. O aumento da razão E/A, modificada por distúrbios de relaxamento e complacência ventricular, aliada ao aumento do diâmetro do átrio esquerdo e da fração intersticial de colágeno, evidenciam a presença de disfunção ventricular diastólica^{10,33}. A preservação da função sistólica e de outros índices de desempenho diastólico, como TRIV e TDE, que não foram alterados pelo tratamento, sugere ocorrência de padrão pseudonormal³⁶. Entretanto, cabe ressaltar a redução da frequência cardíaca no grupo SHR-DH comparado ao SHR-C. Essa mudança aumenta o influxo sanguíneo mitral durante o relaxamento passivo, o que ampliaria os valores de onda E e, por conseguinte, da relação E/A, justificando as respostas constatadas no grupo SHR-DH. A queda da frequência cardíaca é um achado inesperado, pois dietas hipercalóricas e hiperlipídicas promovem hiperatividade do sistema nervoso simpático de SHR¹⁴, acarretando taquicardia. Investigações adicionais poderão contribuir para esclarecer a alteração hemodinâmica encontrada.

Um resultado importante refere-se à interação entre cepa e dieta na determinação da fração intersticial de colágeno (tabela 5). O tratamento acentuou, em aproximadamente 50%, a fibrose intersticial miocárdica do grupo SHR-DH comparado ao SHR-C. A remodelação intersticial resulta de balanço entre agentes moleculares estimulantes e inibidores da proliferação da matriz extracelular³⁷. Os fatores estimulantes abrangem moléculas bioativas e incluem componentes do SRAA, endotelinas, catecolaminas e citocinas, que se encontram exacerbados em SHRs^{33,37}. Provavelmente, esses fatores contribuíram para a remodelação intersticial decorrente da dieta. Földes e cols.³⁸ constataram que dietas ricas em lipídeos, saturados ou insaturados, induziram a ativação de peptídeos envolvidos na remodelação cardíaca: ativador de proteína 1 (AP-1) e proteínas quinases ativadas do mitógeno (MAPKs). Esses agentes são também ativados pelo SRAA e, entre seus efeitos, está o aumento de fibrose intersticial via fator de transformação e crescimento (TGF- β)³⁷. Embora não tenha sido possível se detectar diferença na adiposidade entre o SHR-C e o SHR-DH ($p < 0,10$), não se pode descartar a influência

do tecido adiposo sobre a remodelação intersticial. Todos os membros do SRAA e citocinas, como interleucina e fator de necrose tumoral (TNF)- α , são secretados e regulados pelo tecido adiposo³⁹. Considerando-se a ampliação do conteúdo de colágeno no grupo SHR-DH em relação ao SHR-C, aliado às demais evidências de remodelação cardíaca e umidade pulmonar em relação ao grupo WKY-DH, é muito provável que o SHR-DH tenha desenvolvido disfunção diastólica do ventrículo esquerdo.

A análise ecocardiográfica evidenciou o aumento da EDSIV e da EDPP, índices de hipertrofia miocárdica, no SHR-DH. Contudo, esses achados não se associaram com a morfometria, que mostrou que a área seccional miocitária foi inalterada pela DH. Gerdes⁴⁰ pontua quatro fatores restritivos da precisão técnica que conduzem a interpretações morfométricas errôneas: variabilidade do ângulo de corte tecidual; contratilidade heterogênea das fibras cardíacas; mensurações realizadas somente se considerando o núcleo; e a área seccional isolada, a qual não reflete adequadamente o grau de hipertrofia celular. Outros procedimentos são necessários para uma avaliação mais acurada da hipertrofia miocárdica.

Embora os WKYs apresentassem maior adiposidade devido ao tratamento ($p < 0,001$), constatamos um leve aumento do conteúdo de colágeno, desprovido de significância estatística ($p < 0,10$). Na avaliação funcional dos WKYs, a DH reduziu o DSVE. Embora esse achado possa indicar melhor esvaziamento ventricular, esse dado não condiz com os índices de encurtamento, que se mantiveram similares entre os grupos WKY-C e WKY-DH (tabela 4). Estudos adicionais podem contribuir para o esclarecimento dessa dissociação entre as variáveis.

Em conclusão, nos SHRs, embora não afetasse significativamente o perfil nutricional, a dieta hiperlipídica acentuou a remodelação cardíaca e precipitou o aparecimento de disfunção diastólica ventricular. Nos WKYs, o tratamento promoveu moderadas alterações nutricionais, caracterizadas pelo aumento da adiposidade e da leptinemia, acompanhadas de impacto cardiovascular não significativo. Esses achados validam a hipótese de maior predisposição dos SHRs ao remodelamento cardíaco derivado do tratamento.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pela FAPESP.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Silvio Assis Oliveira Júnior pela Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP.

Referências

- Sharma N, Okere IC, Duda MK, Chess DJ, O'Shea KM, Stanley WC. Potential impact of carbohydrate and fat intake on pathological left ventricular hypertrophy. *Cardiovasc Res*. 2007; 73 (2): 257-68.
- Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity*. 2007; 15: 798-808.
- Du Toit EF, Nabben M, Lochner A. A potential role for angiotensin II in obesity induced cardiac hypertrophy and ischaemic/reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*. 2005; 100 (4): 346-54.
- Akiyama T, Tachibana I, Shirohara H, Watanabe N, Otsuki M. High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. *Diabetes Res Clin Pract*. 1996; 31 (1): 27-35.
- Naderali EK, Fatani S, Williams G. Chronic withdrawal of a high-palatable obesity-inducing diet completely reverses metabolic and vascular abnormalities associated with dietary-obesity in the rat. *Atherosclerosis*. 2004; 172: 63-9.
- Carroll JF, Zenebe WJ, Strange TB. Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension*. 2006; 48 (1): 65-72.
- Girard A, Madani S, Boustani ESE, Belleville J, Prost J. Changes in lipid metabolism and antioxidant defense status in spontaneously hypertensive rats and Wistar rats fed a diet enriched with fructose and saturated fatty acids. *Nutrition*. 2005; 21: 240-8.
- Ricci E, Smallwood S, Chouabe C, Mertani HC, Raccurr M, Morel G, et al. Electrophysiological characterization of left ventricular myocytes from obese Sprague-Dawley rat. *Obesity*. 2006; 14: 778-86.
- Wilson CR, Tran MK, Salazar KL, Young ME, Taegtmeier H. Western diet, but not high fat diet, causes derangements of fatty acid metabolism and contractile dysfunction in the heart of Wistar rats. *Biochem J*. 2007; 406 (3): 457-67.
- Bing OH, Brooks WW, Robinson KG, Slawsky MT, Hayes JA, Litwin SE, et al. The spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from compensated left ventricular hypertrophy to failure. *J Mol Cell Cardiol*. 1995; 27 (1): 383-96.
- Aitman TJ, Gotoda T, Evans AL, Imrie H, Heath KE, Trembling PM, et al. Quantitative trait loci for cellular defects in glucose and fatty acid metabolism in hypertensive rats. *Nature Genetics*. 1997; 16 (2): 197-201.
- Contreras RJ, King S. High fat/sucrose feeding attenuates the hypertension of spontaneously hypertensive rats. *Physiol Behav*. 1989; 46 (2): 285-91.
- Zhang T, Reid K, Acuff CG, Jin CB, Rockhold RW. Cardiovascular and analgesic effects of a highly palatable diet in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 1994; 48 (1): 57-61.
- Sedová L, Berubé J, Gaudet D, Dumont M, Tremblay J, Hamet P et al. Diet-induced obesity delays cardiovascular recovery from stress in spontaneously hypertensive rats. *Obes Res*. 2004; 12: 1951-8.
- Sato T, Nara Y, Kato Y, Yamori Y. Effects of high-calorie diet on blood pressure and sodium retention in spontaneously hypertensive rats and normotensive Wistar-Kyoto rats. *J Diabet Complications*. 1995; 9: 220-3.
- Pausova Z, Sedová L, Berube J, Hamet P, Tremblay J, Dumont M, et al. Segment of rat chromosome 20 regulates diet-induced augmentations in adiposity, glucose intolerance, and blood pressure. *Hypertension*. 2003; 41 (5): 1047-55.
- Nascimento AF, Sugizaki MM, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Luvizotto RAM, Nogueira CR, et al. Ciclo de dietas hipercalóricas induz obesidade e co-morbidades em ratos Wistar. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2008; 52 (6): 968-74.
- Diniz YS, Cicogna AC, Padovani CR, Santana LS, Faine LA, Novelli ELB. Diets rich in saturated and polyunsaturated fatty acids: metabolic shifting and cardiac health. *Nutrition*. 2004; 20: 230-4.
- Dourmashkim JT, Chang GQ, Gayles EC, Hill JO, Fried SK, Julien C, et al. Different forms of obesity as a function of diet composition. *Int J Obes*. 2005; 29: 1368-78.
- Dobrian AD, Davies MJ, Schriver SD, Lauterio TJ, Prewitt RL. Oxidative stress in a rat model of obesity-induced hypertension. *Hypertension*. 2001; 37: 554-60.
- Cicogna AC, Padovani CR, Georgette JC, Aragon FF, Okoshi MP. Effects of protein-calorie restriction on mechanical function of hypertrophied cardiac muscle. *Arq Bras Cardiol*. 1999; 72 (4): 436-40.
- Matsubara LS, Narikawa S, Ferreira ALA, Paiva SAR, Zornoff LAM, Matsubara BB. Remodelação miocárdica na sobrecarga crônica de pressão ou de volume no coração de ratos. *Arq Bras Cardiol*. 2006; 86 (2): 126-30.
- Bregagnollo EA, Mestrinel MA, Okoshi K, Carvalho FC, Bregagnollo IF, Padovani CR, et al. Relative role of left ventricular geometric remodeling and of morphological and functional myocardial remodeling in the transition from compensated hypertrophy to heart failure in rats with supra-aortic stenosis. *Arq Bras Cardiol*. 2007; 88 (2): 225-33.
- Zornoff LAM, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo PS, Campana AO, et al. Cigarette smoke exposure intensifies ventricular remodeling process following myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol*. 2006; 86 (4): 276-81.
- Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Nascimento CMO. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*. 2004; 20: 218-24.
- Smith BK, Kelly LA, Piña R, York DA, Bray GA. Preferential fat intake increases adiposity but not body weight in Sprague-Dawley rats. *Appetite*. 1998; 31 (2): 127-39.
- Natalucci S, Ruggeri P, Cogo CE, Picchio V, Brunori A, Burattini R. Age-related analysis of glucose metabolism in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Exp Physiol*. 2003; 88 (3): 399-404.
- Umeda M, Kanda T, Murakami M. Effects of angiotensin II receptor antagonists on insulin resistance syndrome and leptin in sucrose-fed spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*. 2003; 26 (6): 485-92.
- Ainslie DA, Proietto J, Fam BC, Thorburn AW. Short-term, high-fat diets lower circulating leptin concentrations in rats. *Am J Clin Nutr*. 2000; 71: 438-42.
- Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001; 414: 799-806.
- Yuan YV, Kitts DD. Dietary fat source and cholesterol interactions alter plasma lipids and tissue susceptibility to oxidation in spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive Wistar Kyoto (WKY) rats. *Mol Cell Biochem*. 2002; 232 (1-2): 33-47.
- Schwarz ER, Pollick C, Meehan WP, Kloner RA. Evaluation of cardiac structures and function in small experimental animals: transthoracic, transesophageal, and intraventricular echocardiography to assess contractile function in rat heart. *Basic Res Cardiol*. 1998; 93 (6): 477-86.
- Bing OH, Conrad CH, Boluyt MO, Robinson KG, Brooks WW. Studies of prevention, treatment and mechanisms of heart failure in the aging spontaneously hypertensive rat. *Heart Fail Rev*. 2002; 7 (1): 71-88.
- Radin MJ, Holycross BJ, Sharkey LC, Shiry L, McCune SA. Gender modulates activation of renin-angiotensin and endothelin systems in hypertension and heart failure. *J Appl Physiol*. 2002; 92 (3): 935-40.
- Emter CA, McCune SA, Sparagna GC, Radin MJ, Moore RL. Low-intensity exercise training delays onset of decompensated heart failure in spontaneously hypertensive heart failure rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005; 289 (5): 2030-8.
- Zile MR, Brutsaert DL. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: part II. Causal mechanisms and treatment. *Circulation*. 2002; 105: 1503-8.
- Boluyt MO, Bing OH. Matrix gene expression and decompensated heart failure: the aged SHR model. *Cardiovasc Res*. 2000; 46 (2): 239-49.
- Földes G, Vajda S, Lakó-Futó Z, Sármán B, Skoumal R, Ilves M, et al. Distinct modulation of angiotensin II-induced early left ventricular hypertrophic gene programming by dietary fat type. *J Lipid Res*. 2006; 47 (6): 1219-26.
- Engeli S, Schling P, Gorzelniak K, Boschmann M, Janke E, Ailhaud G, et al. The adipose-tissue renin-angiotensin-aldosterone system: role in the metabolic syndrome? *Int J Biochem Cell Biol*. 2003; 35 (6): 807-25.
- Gerdes AM. Cardiac myocyte remodeling in hypertrophy and progression to failure. *J Card Fail*. 2002; 8 (6): 264-8.