

## Perfil Nutricional y Cardiovascular de Ratas Normotensas e Hipertensas bajo Dieta Hiperlipídica

Silvio A. Oliveira Júnior<sup>1</sup>, Katashi Okoshi<sup>1</sup>, Ana Paula Lima-Leopoldo<sup>1</sup>, André S. Leopoldo<sup>1</sup>, Dijon H.S. Campos<sup>1</sup>, Paula F. Martinez<sup>1</sup>, Marina P. Okoshi<sup>1</sup>, Carlos R. Padovani<sup>2</sup>, Maeli Dal Pai-Silva<sup>2</sup>, Antonio C. Cicogna<sup>1</sup>

Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP<sup>1</sup>; Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP<sup>2</sup>, Botucatu, SP - Brasil

### Resumen

**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 y comparar el perfil nutricional y cardiovascular de WKY y SHR tratadas con DH.

**Métodos:** Un total de 20 WKY y 20 SHR se distribuyó en cuatro grupos: WKY-control (WKY-C), WKY-DH, SHR-control (SHR-C) y SHR-DH. Los grupos C y DH recibieron, respectivamente, dieta normocalórica y DH durante 20 semanas. Se evaluaron: peso corporal (PC), adiposidad, glucemia, lípidos séricos, con dosificaciones de colesterol total y triacilglicerol, insulina y leptina. El estudio cardiovascular contempló la presión arterial sistólica (PAS), evaluación cardiopulmonar anatómica, ecocardiograma e histología cardíaca.

**Resultados:** Las SHRs presentaron menor PC, adiposidad, glucosa, colesterol, triacilglicerol, leptina e insulina, cuando comparadas a las WKYs. En las SHR, la ingestión calórica aumentó con la DH. Sin embargo en las WKYs, la DH elevó la eficiencia energética, la adiposidad y la leptina y reduzo la glucemia. En la evaluación cardiovascular, las SHR presentaron mayor PAS, humedad pulmonar, hipertrofia y fibrosis intersticial miocárdica en cuanto a las WKYs ( $p < 0,01$ ); sin embargo la función cardíaca se halló similar entre las cepas. La DH reduzo el diámetro sistólico ventricular en los WKY y acentuó la relación E/A mitral, los espesores diastólicos del septo interventricular y de la pared posterior así como la fibrosis intersticial del ventrículo izquierdo.

**Conclusión:** Aunque no afectó significativamente el perfil nutricional de las SHRs, el tratamiento acentuó la remodelación cardíaca y precipitó el apareamiento de disfunción diastólica ventricular. En los WKY, la dieta aumentó la adiposidad y la leptinemia, y promovió modificaciones cardiovasculares no significantes. (Arq Bras Cardiol 2009; 93(5) : 516-523)

**Palabras clave:** Dieta, hiperlipidemias, ratas, remodelación ventricular, hipertensión.

### Introducción

Las alteraciones del metabolismo de grasas y carbohidratos se asocian a disturbios nutricionales, como obesidad, dislipidemia y resistencia a insulina, y a las afecciones cardiovasculares, como hipertensión arterial sistémica y remodelación cardíaca<sup>1</sup>. En ensayos experimentales, dietas hipercalóricas (DH), con alto tenor de lípidos y/o carbohidratos, conllevan efectos similares a los desarreglos nutricionales humanos<sup>2</sup>; en el contexto cardiovascular, promueven acometimientos hemodinámicos y remodelación cardíaca, con hipertrofia, fibrosis intersticial y disfunción miocárdica<sup>1,3,4</sup>.

Pocos estudios establecieron asociaciones, aunque inconsistentes, entre los perfiles nutricional y cardiovascular en ratas normotensas bajo DH<sup>3-8</sup>. Estudios que no evaluaron la función cardíaca reportaron dislipidemia, alteraciones

glucémicas, hiperinsulinemia e hipertrofia cardíaca<sup>4,5</sup>. Du Toit et al.<sup>3</sup> verificaron aumento de la presión arterial, hipertrofia y disfunción miocárdica post isquémica, con cambios glucémicos, lipidémicos y mantenimientos de la insulinemia. Otros investigadores, aunque evidenciaron dislipidemia, no detectaron efectos glucémicos<sup>6,7</sup>, hemodinámicos<sup>6,7</sup> y remodelación cardíaca<sup>6-8</sup>. Wilson et al.<sup>9</sup>, puesto que no constataran desórdenes nutricionales, relataron disfunción cardíaca progresiva. Ante estas controversias, la influencia de DH sobre el perfil nutricional y cardiovascular de ratas normotensas no está plenamente aclarada.

En investigaciones sobre remodelación cardíaca, se emplea muy espontáneamente a la rata hipertensa (SHR), ya que desarrolla hipertrofia, fibrosis intersticial y disfunción ventricular, consecuentes de la hipertensión arterial<sup>10</sup>. El SHR también es genéticamente más susceptible a disturbios nutricionales, lipidémicos, glucémicos e hiperinsulinemia<sup>11</sup>. Sin embargo, pocos estudios analizaron el influjo de la DH sobre los atributos nutricionales y cardiovasculares de este linaje. Girard et al.<sup>7</sup> constataron dislipidemia y ausencia de alteraciones glucémicas y cardíacas. Sin embargo, otros autores, aunque no evaluaron otros perfiles glucémicos y

**Correspondencia:** 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  
Artículo recibido el 20/08/08; revisado recibido el 23/09/08; aceptado el 21/10/08.

lipidémico, denotaron mayor adiposidad<sup>12,13</sup> y acentuada hipertrofia miocárdica<sup>12-14</sup>, con reducción<sup>12</sup> o aumento<sup>13,14</sup> de la presión arterial. Estudios adicionales, que despreciaron aspectos cardiacos, constataron alteraciones glucémicas<sup>15,16</sup> y lipidémicas<sup>16</sup>, con aumento<sup>15</sup> o mantenimiento<sup>16</sup> de los niveles de presión.

El objetivo de este trabajo fue evaluar y comparar el perfil nutricional y cardiovascular de ratas normotensas Wistar-Kyoto (WKY) y SHR tratadas con DH. La hipótesis es que la DH conlleva alteraciones en ambas cepas, sin embargo, más acentuadas en las SHRs.

### Materiales y métodos

La Comisión de Ética en Experimentación Animal de FMB/UNESPEI protocolo experimental aprobó el protocolo experimental, en conformidad con regimientos del Colegio Brasileño de Experimentación Animal (COBEA).

### Animales y grupos

Muestras de 20 ratas WKY y 20 SHRs, machos, con 60 días de edad, se distribuyeron en cuatro grupos, según linaje y tratamiento: WKY-control (WKY-C), WKY-DH, SHR-control (SHR-C) y SHR-DH. Los grupos C y DH recibieron, respectivamente, dietas normocalórica y hipercalórica, durante 20 semanas. Se alojaron los animales individualmente, bajo condiciones monitoreadas de temperatura (20-24°C), humedad (40-60%) y luminosidad (fases claro/oscuras de 12 horas), con libre acceso al tratamiento designado. La dieta normocalórica consistió de ración comercial para roedores (Purina®), con la siguiente composición de macronutrientes: el 58,72% de carbohidratos, el 32,23% de proteína y el 9,06% de lípidos, totalizando 3,2 Kcal/g. La DH, previamente instituida<sup>17</sup>, constó de una combinación de alimentos industrializados y presentaba el siguiente perfil bromatológico: el 31,7% de carbohidratos, el 24,9% de proteína y el 43,4% de lípidos, totalizando 4,6 Kcal/g. La alta densidad energética de la DH resultó principalmente del elevado aporte de lípidos<sup>17</sup>.

### Perfil nutricional

La evaluación nutricional incluyó ingestión calórica, eficiencia energética, peso corporal (PC), glucemia, lipidemia, insulina, leptina y adiposidad. La ingestión y la eficiencia, obtenidas por la razón entre la variación ponderal y la energía total ingerida<sup>18</sup>, se mensuraron diariamente. El PC se evaluó semanalmente. Tras el período experimental, los animales se mantuvieron en ayuno durante 12 a 14 horas, anestesiados con pentobarbital sódico (50 mg/kg), después los animales se sometieron a eutanasia por decapitación. La sangre se extrajo en tubos con heparina, centrifugado (3000 rpm) durante 15 minutos a 4°C, y almacenado a -80°C. Posteriormente, se evaluaron las fracciones séricas de triacilglicerol, el colesterol total y la glucosa, por método enzimático con kits específicos (Kovalent diagnosis, Kovalent do Brasil Ltda., Rio de Janeiro/RJ). Las concentraciones de leptina e insulina se determinaron por ELISA con ayuda de lector de micro-placa (Spectra MAX 190, Molecular Devices, USA), y kits apropiados (Linco Research Inc., St. Louis, MO, USA)<sup>19</sup>. El índice de adiposidad<sup>20</sup> se obtuvo mediante la fórmula: {[grasa epididimal + grasa

retroperitoneal + grasa visceral]/(peso corporal total – suma de las regiones adiposas)}x100.

### Perfil cardiovascular

El estudio cardiovascular contempló la presión arterial sistólica, el análisis *in vivo* de la estructura y función del corazón y la evaluación *post mortem* de la morfología cardiopulmonar y de la histología miocárdica. El procedimiento de medición de la presión, comúnmente utilizado<sup>21,22</sup>, consistió de la pletismografía, con empleo de un esfigmomanómetro automático (Narco Biosystem, Austin, TX, USA).

La función y estructura del corazón se evaluaron *in vivo* por el ecocardiograma, conforme metodología previamente descrita<sup>23,24</sup>. Se pesaron las ratas y se anestesiaron con clorhidrato de Ketamina (50 mg/kg) y clorhidrato de xilidino (1 mg/kg), administrados por vía intramuscular. Acto seguido, se llevó a cabo una tricotomía en la región anterior del tórax y se posicionaron los animales en decúbito lateral izquierdo para la realización del ecocardiograma. El ecocardiógrafo utilizado fue el modelo ADI 5000 de Phillips, equipado con transductor electrónico de 12 MHz de frecuencia.

Para la medición de las estructuras cardiacas, se obtuvieron imágenes en modo monodimensional (modo-M) con haz de ultrasonido orientado por las imágenes en modo bidimensional, estando el transductor en posición paraesternal eje menor. La imagen del ventrículo izquierdo (VI) se obtuvo posicionando el cursor del modo-M luego abajo del plano de la válvula mitral en el nivel de los músculos papilares<sup>23</sup>. Sin embargo, en las imágenes de la aorta y del atrio izquierdo se obtuvieron con el cursor del modo-M posicionado al nivel del plano de la válvula aórtica. Las imágenes obtenidas se registraron en impresora modelo UP-890 de Sony Co. Posteriormente, las estructuras cardiacas se midieron, manualmente, con la ayuda de un paquímetro de precisión.

En el momento en que el diámetro de la cavidad ventricular fuera máximo, se midieron el diámetro diastólico del VI (DDVI) y los espesores diastólicos de la pared posterior del VI (EDPP) y del septo interventricular (EDSIV). Cuando el diámetro de la cavidad era mínimo, se evaluaron el diámetro sistólico (DSVI) y los espesores sistólicos de la pared posterior (ESPP) y del septo interventricular (ESSIV). El atrio izquierdo (AI) se midió en el momento en que su diámetro era máximo. La masa del VI (MVI) se calculó según la siguiente fórmula:

$$MVI = [(DDVI + EDPP + EDSIV)^3 - (DDVI)^3] \times 1,04;$$

y las siguientes variables se derivaron de las dimensiones descritas anteriormente: espesor relativo del VI (EDPP/DDVI), DDVI/PC, AI/PC e índice de MVI (IMVI, MVI/PC).

La función sistólica del VI se evaluó mediante los siguientes índices: porcentaje de acortamiento mesocárdico (% Enc. Meso):

$$[(DDVI + \frac{1}{2}EDPP + \frac{1}{2}EDSIV) - (DSVI + \frac{1}{2}ESPP + \frac{1}{2}ESSIV)] / (DDVI + \frac{1}{2}EDPP + \frac{1}{2}EDSIV);$$

porcentaje de acortamiento endocárdico (% Enc. Endo):  $[(DDVI - DSVI) / DDVI]$ ; velocidad de acortamiento de la pared posterior (VEPP).

La función diastólica se analizó por los índices razón entre los picos de velocidad de flujo de llenado inicial (onda E) y de

la contracción atrial (onda A) del flujo transmitral (E/A), tiempo de desaceleración de la onda E (TDE) y tiempo de relajación isovolumétrica (TRIV).

Tras la eutanasia, se pesaron los atrios (A), ventrículo derecho (VD) y VI, en valores absolutos y se corrigieron por el PC. Para que se analizara si la DH había alterado la humedad del pulmón, un indicio clínico de disfunción cardíaca<sup>10</sup> ejecutó la evaluación del tenor de agua pulmonar. Después del pesaje *in natura*, muestras pulmonares se sometieron a un secado en estufa. El contenido pulmonar de agua se analizó a partir de la fórmula:  $[(PU-PS)/PU] \times 100$  (%); donde PU = peso en natura y PS = peso seco.

La evaluación histológica del miocardio, implicando el área transversa miocitaria y la fracción intersticial de colágeno, se realizó en muestras del VI. Tras la fijación en solución de formol al 10%<sup>22,24</sup>, los fragmentos se incluyeron en bloques de parafina. Acto seguido, secciones de cuatro  $\mu\text{m}$  de espesor recolectados en láminas histológicas se tiñeron con Hematoxilina-Eosina, para evaluación del área seccional del miocito. En cada animal, se evaluaron de 50 a 70 células. Como principio de análisis, estas células deberían advenir de la camada subendocárdica ventricular, presentar formato elíptico y contener núcleo visible y centralizado<sup>22,24</sup>. El contenido de colágeno se evaluó en secciones tisulares teñidas con Picro-sirius red<sup>22</sup>. Se utilizaron 20 cuadrantes como mínimo y regiones perivasculares no se tuvieron en cuenta. Los cortes histológicos se proyectaron en aumento de 40 veces con la ayuda de microscopio (LEICA DM LS) acoplado a una cámara de video que proyecta imágenes digitales en un microcomputador IBM, equipado con programa analizador de imágenes Image Pro-plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA).

### Análisis estadístico

Se expresaron los resultados en medidas descriptivas. La evolución ponderal en función del tiempo, evaluado en semanas, se analizó mediante modelos de regresión lineal.

Sin embargo, la comparación entre los modelos se llevó a cabo mediante la prueba del coeficiente angular y de la constante de regresión lineal. Las variables nutricionales y cardiovasculares se evaluaron por ANOVA, en el esquema de dos factores, seguida, respectivamente, de la prueba de Tukey, para distribuciones paramétricas, y prueba de Dunn, para datos no-paramétricos. Las conclusiones estadísticas se discutieron bajo nivel de significancia del 5%.

## Resultados

### Perfil Nutricional

La variación ponderal en función del tiempo, evaluada por modelos de regresión lineal, está detallada en la Figura 1. El modelo de regresión construido para el grupo SHR-DH presentó el mejor coeficiente de predicción: el 85,2% (Tabla 1). En todos los grupos, se constató una elevación significativa del peso con relación al momento inicial ( $p < 0,001$ ). En los dos tratamientos, el comportamiento ponderal de las SHRs difirió de las WKYs en todas las semanas consideradas, pero se constató diferencias ponderales significativas entre las dos dietas en ambos linajes.

Los resultados del perfil nutricional están dispuestos en la Tabla 2. El SHR-C reveló menor ingesta calórica que el WKY-C, mientras que el grupo SHR-DH exhibió eficiencia energética inferior a la del WKY-DH. Las WKYs revelaron mayor PC, adiposidad, glucosa, colesterol total (CT), triacilglicerol (TG), leptina e insulina, comparados a las SHRs en los dos niveles de tratamiento. En las WKYs, la eficiencia, adiposidad y leptina aumentaron en el grupo WKY-DH; sin embargo la dieta redujo la glucemia cuando comparado al WKY-C.

### Perfil cardiovascular

En la Tabla 3 se presentan los datos hemodinámicos y estructurales, evaluados por el ecocardiograma. Las variables PAS, IMVI, relaciones AI/PC y DDVI/PC, EDPP, espesor relativo

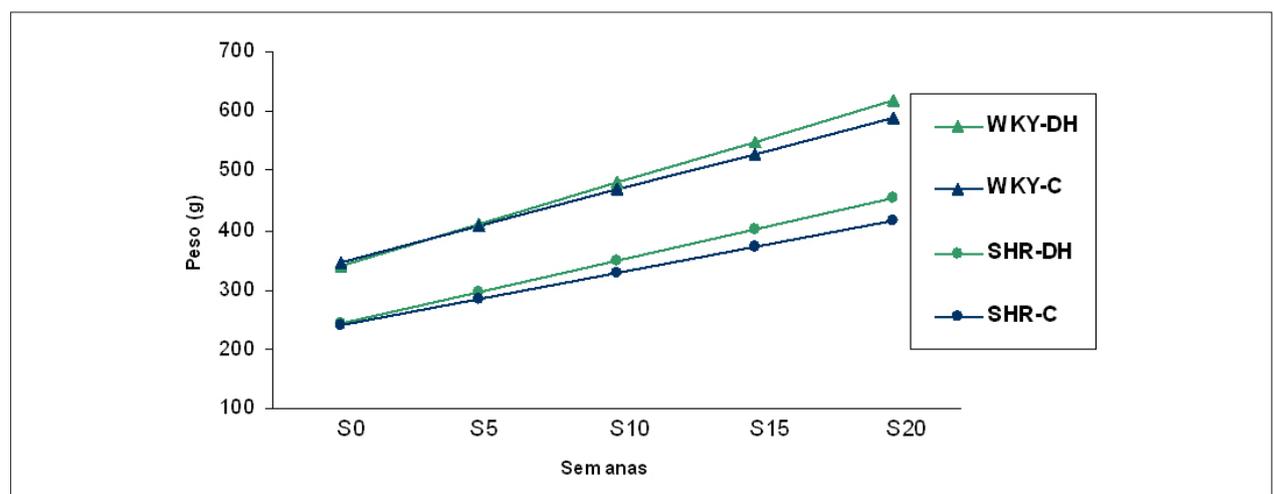


Figura 1 - Modelos de regresión lineal del peso corporal en función de las distintas semanas S0: momento inicial; S5: 5a semana; S10: 10a semana; S15: 15a semana y S20: 20a semana.

**Tabla 1 - Modelos de regresión lineal del comportamiento del peso corporal en función del tiempo de experimentación**

Grupos	Modelo de Regresión Lineal	Coefficiente de Determinación (%)
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 las comparaciones entre las diferentes semanas (S).

de la pared del VI (ERelVI), ESPP, EDSIV y ESSIV se hallaron superiores en las SHRs, en los dos niveles de tratamiento ( $p < 0,01$ ). En las dos cepas hubo baja de la razón DDVI/PC resultante del tratamiento. La DH redujo la FC e incrementó las variables EDPP y EDSIV en las SHRs, y en las WKYs promovió baja del DSVI. En la Tabla 4 están detallados los resultados de la evaluación ecocardiográfica de la función ventricular. Las diferencias de onda E, mayores en el SHR-C comparado al WKY-C ( $p < 0,05$ ), fueron más acentuadas entre los grupos DH ( $p < 0,01$ ). La razón E/A, similar entre los grupos C, fue superior en el SHR-DH comparado al WKY-DH. La dieta conllevó aumento de la E/A entre las SHRs, externando la interacción entre linaje y tratamiento.

En la Tabla 5 están expuestos los hallazgos de morfología cardiopulmonar e histología cardiaca. En los dos niveles de tratamiento, humedad pulmonar, peso del VI, relaciones VD/PC y VI/PC, morfometría y colágeno fueron mayores en las SHRs que en las WKYs. Todavía en las SHRs, la DH incrementó el peso de A, VI y del contenido de colágeno.

## Discusión

Dietas hipercalóricas, ricas en lípidos, se utilizan frecuentemente en ensayos experimentales para inducir disturbios metabólicos comunes en humanos<sup>1,2,19</sup>. Aunque centenas de investigaciones emplean dietas hiperlipídicas, no hay consenso relativo al tenor y a la composición de ácidos grasos, saturados o insaturados, utilizados en estas intervenciones<sup>2</sup>. En la presente investigación, la dieta hipercalórica y hiperlipídica se obtuvo a partir de una combinación de productos industrializados añadidos a la dieta estándar<sup>17</sup>. Tratamientos similares son muy difundidos en experimentos con roedores<sup>3,5,17</sup>.

En este estudio, las SHRs presentaron menor peso que las WKYs al inicio del protocolo; este perfil no se alteró durante el período experimental (Figura 1, Tabla 2). En las dos cepas, la DH no modificó significativamente el peso, no obstante, cuando se evaluó la adiposidad corporal, ocurrieron alteraciones restrictas a las WKYs, evidenciando la interacción entre linaje y tratamiento. En esta cepa, la dieta incrementó la adiposidad, probablemente relacionada a la mayor eficiencia energética (Tabla 2). Teniendo en cuenta estos hallazgos, no se encontraron trabajos que evaluaron el influjo de intervenciones hiperlipídicas sobre los atributos nutricionales de este linaje. Sin embargo, los datos de la presente investigación mantienen concordancia

con autores que analizaron estas respuestas en otras linajes de ratas<sup>5,25,26</sup>. En *Wistar*<sup>5,25</sup> y *Sprague-Dawley*<sup>26</sup>, tratamientos con DH promovieron aumento de la adiposidad corporal, aunque no alteraron el peso corporal. Respecto a las SHRs, la dieta no promovió alteraciones de la adiposidad, aunque la ingesta calórica es superior en las SHR-DH. Comparada a las otras cepas, la SHR es resistente a que se adquiera peso corporal con intervenciones hipercalóricas<sup>13</sup>; cuando presenta alteración ponderal derivada del tratamiento, estas variaciones son más amenas en comparación a las observadas entre ratas normotensas<sup>12</sup>. No obstante, otros autores relataron aumento del peso corporal<sup>14-16</sup> y de la adiposidad<sup>16</sup> en SHRs bajo intervenciones hiperlipídicas más breves, de ocho<sup>15</sup> o 12 semanas<sup>14,16</sup>. Probablemente, estos resultados divergentes trascurren principalmente de las composiciones dietéticas utilizadas en estos estudios, caracterizadas por el alto aporte de ácidos grasos saturados. En nuestro estudio, la DH estaba conformada, mayoritariamente, por ácidos grasos insaturados de origen vegetal como aceite de óleo de maíz y maní<sup>17</sup>.

En cuanto al perfil bioquímico, las SHR-C presentaron menores niveles de glucemia e insulinemia que el grupo WKY-C (Tabla 2). Las SHRs presentan mayor predisposición genética a la hiperglucemia y a la resistencia a la insulina, las que se manifiestan, principalmente, con la maduración<sup>11,27</sup>.

**Tabla 2 - Evaluación del perfil nutricional y bioquímico, según linaje y tratamiento**

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

Valores en promedio ± desviación estándar – TG: triacilglicerol; \* -  $p < 0,05$  vs C; # -  $p < 0,05$ , ## -  $p < 0,01$  vs WKY; ANOVA y prueba de Tukey. Valores de insulina expresados en mediana ± semi-amplitud: ANOVA y prueba de Dunn.

**Tabla 3 - Evaluación de la presión arterial sistólica y ecocardiográfica de la estructura cardiaca, según linaje y tratamiento**

Variable	Linaje	Dieta	
		Estándar (C)	Hipercalórica (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 *
AI (mm)	WKY	5,08 ± 0,62	4,84 ± 0,52
	SHR	5,31 ± 0,68	5,56 ± 0,63 #
AI/PC (mm/Kg)	WKY	9,82 ± 1,14	8,00 ± 0,34
	SHR	13,64 ± 2,05 ##	12,99 ± 1,42 ##
DDVI (mm)	WKY	8,48 ± 0,33	8,19 ± 0,39
	SHR	8,25 ± 0,71	8,09 ± 0,52
DDVI/ PC (mm/Kg)	WKY	15,69 ± 1,94	13,76 ± 1,26 *
	SHR	21,22 ± 2,55 ##	18,88 ± 0,99 * ##
DSVI (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 ##
ERelVI	WKY	0,18 ± 0,01	0,19 ± 0,01
	SHR	0,23 ± 0,02 ##	0,24 ± 0,03 ##
IMVI (g/Kg)	WKY	1,79 ± 0,17	1,61 ± 0,16
	SHR	3,10 ± 0,65 ##	2,91 ± 0,34 ##

Valores en promedio ± desviación estándar – PAS: presión arterial sistólica; FC: frecuencia cardiaca; AI: diámetro del atrio izquierdo; AI/PC: razón entre AI y el peso corporal final; DDVI: diámetro diastólico del VI; DDVI/PC: razón entre el DDVI y el peso corporal; DSVI: diámetro sistólico del VI; EDPP: espesor diastólico de la pared posterior; EDSIV: espesor diastólico del septo interventricular; ESPP: espesor sistólico de la pared posterior; ESSIV: espesor sistólico del septo interventricular; ERelVI: Espesor relativo de la pared del VI; IMVI: índice de masa del ventrículo izquierdo (VI); \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$  vs C; # -  $p < 0,05$ , ## -  $p < 0,01$  vs WKY; ANOVA y prueba de Tukey.

Debido a la edad precoz de las SHRs en este estudio, 7 a 8 meses, es posible que esta predisposición todavía no se haya evidenciado. En la literatura, investigaciones sobre glucemia e insulinemia en ratas WKY y SHR presentaron resultados conflictivos. Mientras que algunos autores<sup>28</sup> constataron hiperglucemia y resistencia a la insulina en SHRs, otros<sup>27</sup> no registraron diferencias entre las dos cepas. Estas discrepancias pueden resultar de inúmeros factores, de entre los que, el grupo de edad de los animales<sup>27</sup>. Comportamiento similar al

**Tabla 4 - Evaluación ecocardiográfica de la función sistólica y diastólica del ventrículo izquierdo, según linaje y tratamiento**

Variable	Linaje	Dieta	
		Estándar (C)	Hipercalórica (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 en promedio ± desviación estándar – Enc: Endocárdico: fracción relativa de acortamiento endocárdico; Enc. Mesocárdico: fracción relativa de acortamiento mesocárdico; VEPP: velocidad de acortamiento de la pared posterior; E mitral: onda E mitral; A mitral: onda A mitral; E/A: razón entre ondas E y A; TDE: tiempo de desaceleración de la onda E; TRIV: tiempo de relajación isovolumétrica del VI. \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ , vs C; # -  $p < 0,05$ ; ## -  $p < 0,01$ , vs WKY; ANOVA y prueba de Tukey.

de los grupos control se pudo constatar entre el WKY-DH y SHR-DH, aunque la dieta redujo la glucemia solamente en las WKYs, recobrando la interacción entre linaje y tratamiento. En estados postprandiales, la hiperinsulinemia que viene de la sensibilización de células  $\beta$ -pancreáticas acentúa la captación glucémica tisular y, con la progresión del ayuno, reduce la glucemia<sup>27</sup>. Este mecanismo explicaría la reducción glucémica constatada en las WKY-DH. Sin embargo, en los dos linajes, no fue posible verificar alteración de los niveles de insulina debido al tratamiento, aunque la diferencia entre las cepas, más evidente bajo dieta estándar ( $p < 0,01$ ), se amenizó entre los grupos DH ( $p < 0,05$ ). Estudios adicionales son necesarios para aclarar este hallazgo.

La evaluación bioquímica que involucra los niveles de leptina y triacilglicerol mostró que estas variables fueron menores en las SHR-C comparado a la WKY-C. La leptina, sintetizada por el tejido adiposo, se asocia con el grado de adiposidad corporal<sup>29</sup>, que fue superior en la WKY-C. Esta hormona tiene influjo lipolítico y, durante ayuno prolongado, disminuye la captación de TG en adipocitos, contribuyendo para el aumento sérico de TG<sup>29</sup>. Por lo tanto, el aumento de leptina, debido a la mayor adiposidad, favorecería a la elevación de TG en la WKY-C con relación a las SHR-C. Comportamiento similar se observó entre los grupos DH, aunque la dieta aumentara la leptina solamente en las WKY-

**Tabla 5 - Evaluación de la humedad pulmonar, morfología cardiaca, según linaje y tratamiento**

Variables	Linaje	Dieta		
		Estándar (C)	D. Hiperclórica (DH)	
Pulmón	PU/PS	WKY	4,37 ± 0,21	4,27 ± 0,47
		SHR	4,90 ± 0,25 #	4,77 ± 0,19 #
	Humedad (%)	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 #	
VI (g)	WKY	0,83 ± 0,10	0,85 ± 0,09	
	SHR	0,94 ± 0,10 ##	1,06 ± 0,05 ** ##	
VI/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 (µm²)	WKY	197,1 ± 7,0	201,3 ± 7,0	
	SHR	272,0 ± 7,0 ##	276,5 ± 7,3 ##	

Variables expresadas en promedio ± desviación estándar. A/PCF: razón entre peso de los atrios y peso corporal final; PU/PS - razón peso húmedo/peso seco; VD: peso do ventrículo derecho; VD/PCF: razón entre VD y el peso corporal final; VI: peso del ventrículo izquierdo; VI/PCF: razón entre peso del VI y peso corporal final. Variables expresadas en promedio ± error estándar: Fibrosis y AST: área seccional transversa dos cardiomiocitos; \* - p<0,05; \*\* - p<0,01, vs C; # - p<0,05; ## - p<0,01, vs WKY; ANOVA y prueba de Tukey.

DH. El triacilglicerol no se alteró en razón del tratamiento en los dos linajes (Tabla 2). Este hallazgo puede transcurrir, posiblemente, de la acción de la insulina, que se mantuvo inalterada por la dieta en las dos cepas. La insulina estimula la captación de TG en los adipócitos, contribuyendo a la adipogénesis, e inhibe la lipólisis, impidiendo, por lo tanto, el aumento de triacilgliceroles plasmáticos<sup>30</sup>.

El colesterol total también fue el menor en las SHRs, en los dos tratamientos. Debido a la mayor excreción de colesterol, aliada a deficiencias en la captación entérica y en el transporte molecular, las SHRs son hipocolesterolémicas en comparación a las WKYs<sup>31</sup>. En las dos cepas, la DH no promovió alteración del colesterol. Ácidos grasos insaturados, componentes de la DH utilizada en la presente investigación<sup>17</sup>, estimulan la captación hepática de colesterol<sup>18</sup>.

Al tenerse en cuenta la evaluación cardiovascular, el ecocardiograma representa una alternativa al estudio de la función ventricular y puede suministrar importantes informaciones sobre la estructura y el desempeño cardiaco en

animales de pequeño porte<sup>32</sup>. Es un método versátil, seguro, indoloro, no invasivo y válido para análisis seriados *in vivo*<sup>23</sup>. La evaluación ecocardiográfica en animales de experimentación se efectúa generalmente bajo acción de agentes anestésicos, que pueden provocar alteraciones fisiológicas en el sistema cardiovascular y respiratorio<sup>21-24</sup>. El clorhidrato de ketamina tiene un mínimo influjo sobre el sistema cardiopulmonar<sup>32</sup>. Este fármaco puede inducir la rigidez muscular, minimizada por la combinación con el clorhidrato de xylazina, droga con acción sedativa y analgésica. La asociación es indicada a innumerables especies animales por inducir analgesia y reducir el tono muscular<sup>23,32</sup>.

En conjunto, los resultados cardiovasculares revelan que el grupo SHR-C presentó remodelación cardiaca caracterizada por dilatación del atrio izquierdo, hipertrofia ventricular izquierda concéntrica, hipertrofia del ventrículo derecho y fibrosis intersticial miocárdica respecto a la WKY-C. En la evaluación funcional, se constató función sistólica preservada con aumento de la onda E mitral en las SHR-C. Estos resultados, asociados a la mayor humedad pulmonar, configuran indicios de disfunción diastólica. En SHRs, la activación neurohormonal vía sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), catecolaminas y endotelinas asociadas a la actividad nerviosa simpática pueden designar retención hídrica y promover alteraciones estructurales del miocardio y de la pared vascular, ocasionando remodelación ventricular<sup>10,21</sup>. Esta combinación de respuestas puede ampliar la rigidez miocárdica, con reducción de la complacencia y del llenado ventricular, las que conllevan hipertensión venocapilar y retención hídrica pulmonar<sup>10,33</sup>. En las SHRs, este evento es común en grupos de edad más avanzados, entre 18 y 24 meses, y se asocia a otras señales clínicas de disfunción ventricular, como remodelación atrial<sup>10,33</sup>. En este sentido, aunque el incremento de la humedad pulmonar verificado en las SHR-C (Tabla 5) constituye un hallazgo inesperado debido a la edad precoz de los animales, entre 7 y 8 meses, no se puede descartar que este resultado indica un desempeño funcional alterado. En paralelo con esta suposición, otros autores constataron indicios de disfunción diastólica en SHR en el grupo de edad de 12 a 14 meses<sup>34,35</sup>. Los resultados realzan que la remodelación presente en las SHR-C mantuvo normalizado el desempeño ventricular sistólico, con posible alteración de la función diastólica.

Las diferencias estructurales cardiacas entre las cepas bajo dieta estándar se mantuvieron en el nivel DH, a excepción del diámetro del atrio izquierdo (Tabla 3) y de la relación A/PC (Tabla 5), que aumentaron en las SHR-DH comparado las WKY-DH. La evaluación funcional ecocardiográfica (Tabla 4) reveló que la onda E y la relación E/A aumentaron en las SHR-DH. El incremento de la razón E/A, cambiada por disturbios de relajación y complacencia ventricular, aliada al aumento del diámetro del atrio izquierdo y de la fracción intersticial de colágeno, evidencian la presencia de disfunción ventricular diastólica<sup>10,33</sup>. La preservación de la función sistólica y de otros índices de desempeño diastólico, como TRIV y TDE, que no se alteraron por el tratamiento, sugiere ocurrencia de estándar pseudonormal<sup>36</sup>. Sin embargo, cabe resaltar la reducción de la frecuencia cardiaca en el grupo SHR-DH comparado a las ratas SHR-C. Este cambio aumenta el influjo sanguíneo mitral

durante la relajación pasiva, lo que ampliaría los valores de onda E y, por lo tanto, de la relación E/A, justificando las respuestas constatadas en el grupo SHR-DH. La caída de la frecuencia cardíaca es un hallazgo inesperado, ya que dietas hipercalóricas e hiperlipídicas promueven hiperactividad del sistema nervioso simpático de SHR<sup>14</sup>, conllevando taquicardia. Investigaciones adicionales podrán contribuir para aclarar la alteración hemodinámica encontrada.

Un resultado importante se refiere a la interacción entre cepa y dieta en la determinación de la fracción intersticial de colágeno (Tabla 5). El tratamiento acentuó, en aproximadamente el 50%, la fibrosis intersticial miocárdica del grupo SHR-DH comparado al grupo SHR-C. La remodelación intersticial resulta de balance entre agentes moleculares estimulantes e inhibidores de la proliferación de la matriz extracelular<sup>37</sup>. Los factores estimulantes engloban moléculas bioactivas e incluyen componentes del SRAA, endotelinas, catecolaminas y citocinas, que se encuentran exacerbados en SHRs<sup>33,37</sup>. Probablemente, estos factores contribuyeron a la remodelación intersticial adicional resultante de la dieta. Földes et al.<sup>38</sup> constataron que dietas ricas en lípidos, saturados o insaturados, indujeron la activación de péptidos implicados en la remodelación cardíaca: activador de proteína 1 (AP-1) y proteínas quinasas activadas del mitógeno (MAPKs). Estos agentes son también activados por el SRAA y, entre sus efectos, está el aumento de fibrosis intersticial vía factor de transformación y crecimiento (TGF- $\beta$ )<sup>37</sup>. Aunque no haya sido posible detectarse diferencia en la adiposidad entre el SHR-C y el SHR-DH ( $p < 0,10$ ), no se puede descartar la influencia del tejido adiposo sobre la remodelación intersticial. El tejido adiposo<sup>39</sup> secreta y regula todos los miembros del SRAA y citocinas, como la interleuquina y el factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$ . Teniendo en cuenta la ampliación del contenido de colágeno en el grupo SHR-DH con relación al SHR-C, aliado a las demás evidencias de remodelación cardíaca y humedad pulmonar con relación al grupo WKY-DH, es muy probable que el SHR-DH haya desarrollado disfunción diastólica del ventrículo izquierdo.

El análisis ecocardiográfico evidenció el aumento de la EDSIV y de la EDPP, índices de hipertrofia miocárdica, en el SHR-DH. Sin embargo, estos hallazgos no se asociaron a la morfometría, que evidenció que el área seccional miocitaria fue inalterada por la DH. Gerdes<sup>40</sup> señala cuatro

factores restrictivos de la precisión técnica que conducen a interpretaciones morfométricas erróneas: variabilidad del ángulo de corte tisular; contractilidad heterogénea de las fibras cardíacas; mediciones llevadas a cabo solamente si considerando el núcleo; y el área seccional aislada, la que no refleja adecuadamente el grado de hipertrofia celular. Otros procedimientos son necesarios para una evaluación más exacta de la hipertrofia miocárdica.

Aunque las WKYs presentasen mayor adiposidad debido al tratamiento ( $p < 0,001$ ), constatamos un leve aumento del contenido de colágeno, desprovisto de significancia estadística ( $p < 0,10$ ). En la evaluación funcional de las WKYs, la DH redujo el DSVI. Aunque este hallazgo pueda indicar mejor vaciamiento ventricular, este dato no condice con los índices de acortamiento, que se mantuvieron similares entre los grupos WKY-C y WKY-DH (Tabla 4). Estudios adicionales pueden contribuir a la aclaración de esta disociación entre las variables.

En conclusión, en las SHRs, aunque no afectara significativamente el perfil nutricional, la dieta hiperlipídica acentuó la remodelación cardíaca y precipitó el apareamiento de disfunción diastólica ventricular. En las WKYs, el tratamiento promovió moderadas alteraciones nutricionales, caracterizadas por el aumento de la adiposidad y de la leptinemia, seguidas de impacto cardiovascular no significativo. Estos hallazgos validan la hipótesis de mayor predisposición de las SHRs a la remodelación cardíaca derivada del tratamiento.

#### Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

#### Fuentes de Financiación

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo financió el presente estudio.

#### Vinculación Académica

Este artículo forma parte de Disertación de Maestría de Sílvio Assis de Oliveira Júnior, por la Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

## Referencias

1. 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.
2. Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity*. 2007; 15: 798-808.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Carroll JF, Zenebe WJ, Strange TB. Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension*. 2006; 48 (1): 65-72.
7. 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.
8. Ricci E, Smallwood S, Chouabe C, Mertani HC, Raccurt M, Morel G, et al. Electrophysiological characterization of left ventricular myocytes from obese Sprague-Dawley rat. *Obesity*. 2006; 14: 778-86.
9. 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.
10. 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.
11. Aitman TJ, Gotoda T, Evans AL, Imrie H, Heath KE, Tremblay 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.
12. Contreras RJ, King S. High fat/sucrose feeding attenuates the hypertension of spontaneously hypertensive rats. *Physiol Behav*. 1989; 46 (2): 285-91.
13. Zhang T, Reid K, Acuff CC, 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. Bregagnollo EA, Mestrinell 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 supravalvar aortic stenosis. *Arq Bras Cardiol*. 2007; 88 (2): 225-33.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. 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.
28. 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.
29. 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.
30. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001; 414: 799-806.
31. 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.
32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. 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.
36. Zile MR, Brutsaert DL. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: part II. Causal mechanisms and treatment. *Circulation*. 2002; 105: 1503-8.
37. Boluyt MO, Bing OH. Matrix gene expression and decompensated heart failure: the aged SHR model. *Cardiovasc Res*. 2000; 46 (2): 239-49.
38. Földes G, Vajda S, Lakó-Futó Z, Sárman B, Skoumal R, Ilves M, et al. Distinct modulation of angiotensin II-induced early left ventricular hypertrophic gene programming by dietary fat type. *J Lipid Res*. 2006; 47 (6): 1219-26.
39. Engeli S, Schling P, Gorzelnik 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.
40. Gerdes AM. Cardiac myocyte remodeling in hypertrophy and progression to failure. *J Card Fail*. 2002; 8 (6): 264-8.