

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO
TERAPÊUTICA**

MARIA JULIANA DANTAS DE PAULA

**Novo sensibilizador da insulina: avaliação cardiovascular
em ratos espontaneamente hipertensos (SHR)**

**Recife
2014**

MARIA JULIANA DANTAS DE PAULA

**Novo sensibilizador da insulina: avaliação cardiovascular
em ratos espontaneamente hipertensos (SHR)**

**Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Inovação
Terapêutica da Universidade Federal de
Pernambuco, para a obtenção do Título de
Doutor em Inovação Terapêutica**

**Orientador(a): Prof(a). Dra. Glória Isolina B. P.
Duarte**

Co-orientador(a): Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta

Recife

2014

Catálogo na fonte
Teresa Lucena
CRB 1249

Paula, Maria Juliana Dantas de

Novo sensibilizador da insulina: avaliação cardiovascular em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). / Maria Juliana Dantas de Paula. Recife: O Autor, 2014.

109 folhas : il., fig., tab.

Orientador: Glória Isolina Boente Pinto Duarte

Coorientador: Ivan da Rocha Pitta

Tese (doutorado) -- Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica, 2014.

Inclui bibliografia

1. Insulina 2. Alterações cardiovasculares

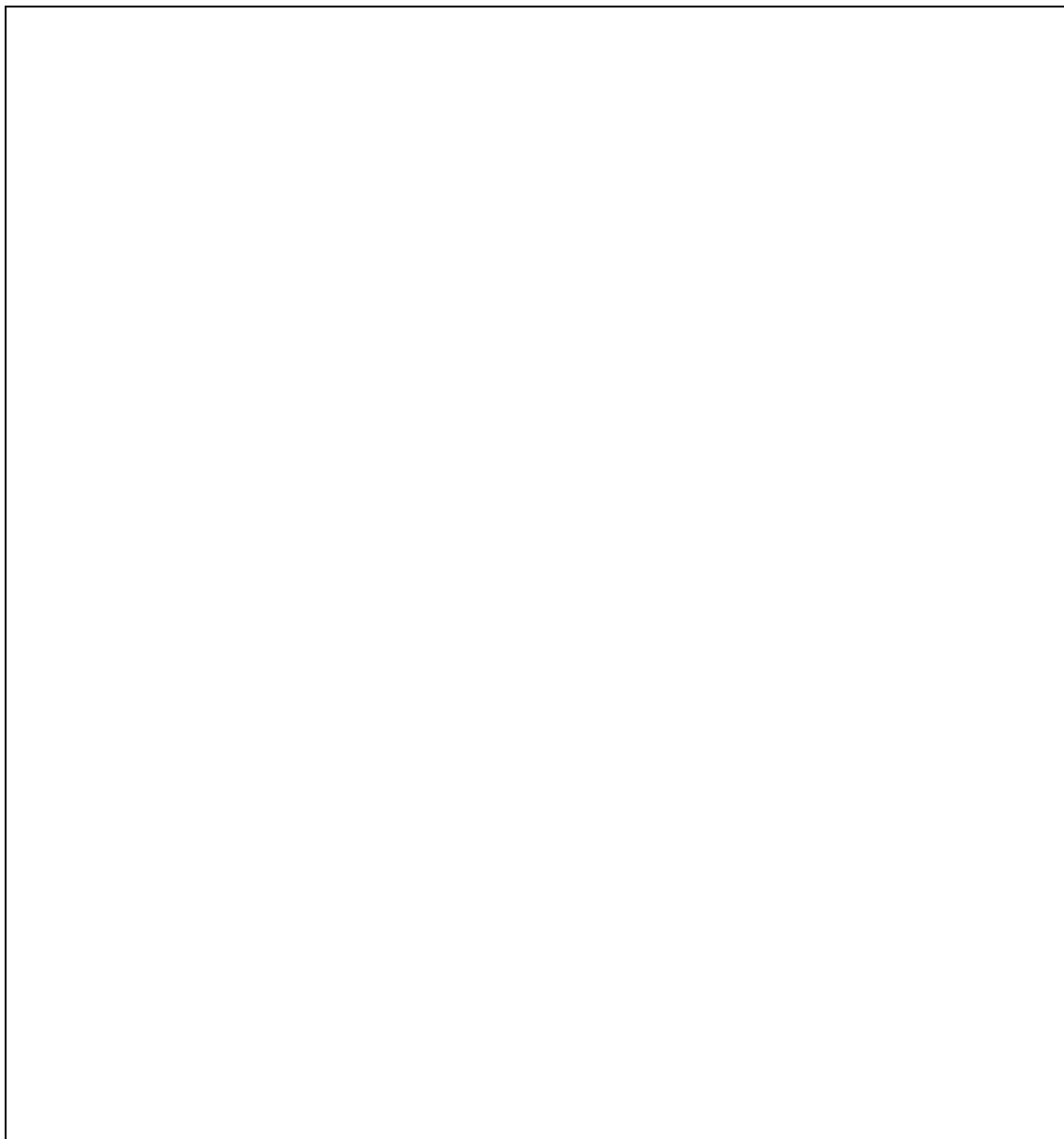
3. *Tiazolinadionas* I. Duarte, Glória Isolina Boente Pinto (orientador) II. Título

615.1

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB- 2014-115

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

REITOR

Prof^o. Dr^o. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof^o. Dr^o. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof^o. Dr^o. Francisco de Sousa Ramos

DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof^a. Dr^a. Maria Eduarda Larrazabal

VICE-DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof^a. Dr^a. Oliane Maria Correia Magalhães

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
INOVAÇÃO TERAPÊUTICA**

Prof^o Dr^o. César Augusto Souza de Andrade

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
INOVAÇÃO TERAPÊUTICA**

Prof^o Dr^o. Luiz Alberto Lira Soares

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: PAULA, Maria Juliana Dantas de

Título: Novos sensibilizadores da insulina: avaliação cardiovascular em ratos espontaneamente hipertensos (SHR)

Tese apresentada à Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Doutor em Inovação Terapêutica

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. Fabiano Elias Xavier

Instituição: UFPE

Assinatura: _____

Prof(a). Dra. Glória Isolina Boente Pinto Duarte

Instituição: UFPE

Assinatura: _____

Prof(a). Dra. Dayane Aparecida Gomes

Instituição: UFPE

Assinatura: _____

Prof. Dr. Mohammed Saad Lahlou

Instituição: UFC

Assinatura: _____

Prof(a). Dra. Maria do Carmo Alves de Lima

Instituição: UFPE

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*A meus pais Eulália e Luiz, meus maiores exemplos de força e perseverança.
Foi com eles que aprendi a lutar, rezar e confiar nos planos de Deus.
Ao meu amado esposo, por toda paciência, carinho, amor e compreensão nos
meus momentos de ausência.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por toda força, perseverança e sabedoria que me deu em todos os momentos que supliquei.

A Prof.^a Dra. Glória Isolina Pinto Duarte, que mesmo não sendo feita a sua vontade, me orientou e ajudou no desenvolvimento deste projeto. Obrigada, professora, por todo conhecimento e orientação dispensados.

Ao Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta por sua orientação e ajuda no desenvolvimento deste projeto.

A Prof.^a Dra. Maria do Carmo Alves de Lima, Nena, por toda atenção e orientação desde minha iniciação científica, até os dias de hoje. Ela, que nos momentos mais difíceis, falou, tenha calma. A ela, meu eterno carinho.

A Prof.^a Dra. Suely Lins Galdino (*in memória*), uma excelente orientadora, em quem sempre me espelhei por sua garra e vontade de fazer ciência. Agradeço por toda orientação e por sempre ter ouvido meus pedidos de socorro. Obrigada por sempre ter acreditado em mim, no meu potencial, e por ter colocado em minha vida uma excelente orientadora, A Prof.^a Dra. Glória Isolina. Sem vocês duas eu não teria chegado até aqui.

Aos professores do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Cardiovascular Fabiano Elias Xavier, Saad Lahlou, Alexandre, Cristina Oliveira pelo incentivo e exemplos de pesquisadores.

Aos professores Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior, Dayane Aparecida e Prof. Eduardo C. Lira, pelo apoio dado em algumas etapas do experimento.

A todos os amigos e companheiros Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Cardiovascular e Laboratório de Reatividade Vascular (Marcelo, Juliana Alves, Mayra, Diego Queiroz, Diego Oliveira, Geórgia Felix, Geórgia Leal, Odair, Jairo, Jean, Francine, Thayane Rebeca, Hicla, Renata, Fernanda Alves, Fabiano Ferreira) que se

fizeram presentes e contribuíram com os momentos alegres e tensos, incentivaram a minha permanência no grupo e me apoiaram desde o mestrado até os dias de hoje.

Aos amigos Thayane Cavalcanti, Luciana Veloso, Tiago Bento, Leidiane Carla, por todo apoio, amizade e carinho dispensados.

Aos funcionários do departamento de Fisiologia e Farmacologia em especial, ao técnico de laboratório Sr. Jackson, por todo apoio no trabalho técnico.

À veterinária Claudia Oliveira pelo apoio e fornecimento dos animais.

*“Tudo tem o seu tempo determinado,
e há tempo para todo o propósito debaixo do céu...
tempo de plantar, e tempo de arrancar o que se plantou;
tempo de chorar, e tempo de rir;
tempo de prantear, e tempo de dançar;
tempo de espalhar pedras, e tempo de ajuntar pedras;
tempo de abraçar, e tempo de
afastar-se de abraçar...”
“Eclesiastes 3”*

RESUMO

Novo sensibilizador da insulina: avaliação cardiovascular em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). 2014. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

A síndrome metabólica consiste na associação entre sobrepeso, elevação da pressão arterial, dislipidemia aterogênica e uma alteração no metabolismo da glicose e insulina, e tem como base a resistência à ação da insulina. A sua prevalência tem sido atribuído ao consumo de dietas ricas em gordura. Em nosso trabalho nos propomos a avaliar o papel de um novo derivado tiazolidínico LPSF/GQ-130 sobre parâmetros cardiovasculares e metabólicos de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) alimentados com dieta hiperlipídica (DH, 57,8% de gordura) durante 14 semanas a partir de dois meses de idade. A pioglitazona (PIO) foi utilizada como padrão positivo. A introdução do tratamento com o LPSF/GQ-130 na 13ª semana levou a uma melhora no quadro de intolerância à glicose e a insulina induzidos pela DH, e reduziu os níveis plasmáticos de PCR. A DH não alterou os níveis pressóricos, porém durante o estudo da reatividade vascular, tanto os anéis aórticos dos animais do grupo DH, quanto os do grupo controle apresentaram claro comprometimento no relaxamento vascular mediado por acetilcolina, contudo o LPSF/GQ-130 desencadeou uma melhora na resposta vasorrelaxante à Ach, ademais através das análises histológicas, observamos uma diminuição significativa ($p < 0,01$) da medida da espessura das camadas íntima e média da artéria aorta após o tratamento com as TZD. Esta melhora pode ser associada à diminuição da RI e da PCR implicando uma atenuação da inflamação vascular. Estes dados são indicadores de que o novo derivado tiazolidínico, GQ-130, é um candidato promissor para o tratamento de distúrbios relacionados à RI, melhorando a resposta vascular.

Palavras-chave: Resistência à insulina, alterações vasculares, tiazolidinadionas.

ABSTRACT

New insulin sensitizer: cardiovascular assessment in spontaneously hypertensive rats (SHR). 2014. Thesis (Ph.D.).Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

Association between obesity, hypertension, dysregulation of plasma glucose and cholesterol levels and all of these conditions united by a common link, insulin resistance have been observed over the years. And the co-existence of these factors appears as a framework known as metabolic syndrome. The thiazolidinediones (TZDs) are potent insulin-sensitizing drugs that improved glycemic control and exert beneficial effects on the cardiovascular risk factors. However, recent literature has been increased risk of myocardial infarction and death in cardiovascular disease during long-term TZD treatment. In this work, we propose to evaluate the role of a novel TZD derivative LPSF/GQ-130 on cardiovascular and metabolic parameters in spontaneously hypertensive rats (SHR) fed a high fat diet (HFD, 57.8% fat) for 14 weeks from two months old. Pioglitazone (PIO) was used as the standard drug. The introduction of treatment with LPSF/GQ-130 at the 13th week led to an improvement in the context of HFD-induced glucose intolerance, insulinresistance, and plasma CRP levels. The HFD did not alter blood pressure levels, but during the study of vascular reactivity, both aortic rings from animals of the HFD and C groups showed clear impairment of vascular relaxation mediated by acetylcholine. However, treatment with LPSF/GQ-130 improvement in the vasorelaxant response to ACh, and through histological analyzes, we observed a significant decrease ($p<0.01$) of aortic intima-media thickness after treatment with TZDs. This improvement may be associated with decreased insulin resistance and CRP, which could result in an attenuation of vascular inflammation. These data are indicative of the new thiazolidine derivative, QA-130, is a promising candidate for the treatment of disorders related to RI by improving vascular reactivity.

Keywords: insulin resistance, vascular changes, thiazolidinediones

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

ACh = Acetilcolina
Acil-CoA = acil co-enzima A
ADA Associação América de Diabetes
AG Ácidos graxos
AGL = Ácidos graxos livres
AGS = Ácido graxo saturado
Akt/PKB = Proteína serina/treonina quinase B
ALT = Alanina aminotransferase
ALX - Aloxana
AMPc = Adenosina monofosfato cíclico
ANG II = Angiotensina II
ANOVA = Análise de variância
AST = Aspartato aminotransferase
ATP = Adenosina trifosfato
COX = Ciclooxygenase
CT = Colesterol total
DG = Diabetes gestacional
DH = Dieta hiperlipídica
DM1 = Diabetes Mellitus tipo 1
DM2 = Diabetes Mellitus tipo 2
DNA = Ácido desoxirribonucléico
EDRF = Fator relaxante derivado do endotélio
EPM = Erro padrão da média
ET-1 = Endotelina-1
EUA = Estados Unidos da América
FC = Frequência cardíaca
FEN = Fenilefrina
g = gramas
GLUT-2 = Glutamina 2
GLUT-4 = Glutamina 4
GQ-1= 3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona

GQ-130=5-(4-Cloro-benzilideno)-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona

HbA_{1c} = Hemoglobina glicada

HDL = Lipoproteína de alta densidade

HDL-c = Colesterol ligado à lipoproteínas de alta densidade

HGP = Glicose hepática

i.p. = Intraperitoneal

IDF = International diabetes federation

IGF-IR - Receptor do fator de crescimento da insulina

IL-6 = Interleucina-6

IMC = índice de massa corpórea

INDO = indometacina

iNOs = Óxido nítrico síntase

IP-19 = 2-ciano-3-(1*H*-indol-3-il)-acrilato de etila

IP3 = Inositol trifosfato

IR = Receptor para insulina

IRS-1 = Substrato 1 do receptor de insulina

IRS-2 = Substrato 2 do receptor de insulina

IRSs = Substratos do receptor de insulina

KITT = Constante de decaimento de glicose

LDL= Lipoprotéina de baixa densidade

LDL-c = Colesterol ligado à lipoproteínas de baixa densidade

L-NAME = Metiléster de L-arginina

LPSF= Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos

M = mmol/L

MAPK = Mitogen-activated protein Kinase

mg/dL = Miligrama por decilitro

mg/dL = Miligrama por decilitro

mmol/L = Milimol por litro

MTP = Poro de permeabilidade de transição

NFκB = Fator de transcrição kappa B

NO = Óxido nítrico

PA = Pressão arterial

PAD = Pressão arterial diastólica

PAI-1 = Inibidor de ativação de plasminogênio-1
PAM = Pressão arterial média
PAS = Pressão arterial sistólica
PG = Prostaglandina
PI3-quinase = fosfatidilinositol 3'-quinase
PKC θ = Proteína quinase theta
PKG = Proteína quinase G
PLC = Fosfolipase C
PPARs = Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma
PPAR γ = Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama
PR = peso relativo (peso do órgão/peso corporal*100)
PUFAs = ácidos graxos poliinsaturados (polyunsaturated fatty acids)
r.p.m. = Rotação por minuto
Rf = Razão de frente
RI = Resistência à insulina
Rmax = Resposta máxima
RMN = Ressonância magnética nuclear
RNA = Ácido ribonucleico
s.c. = via subcutânea
SBC = Sociedade Brasileira de Cardiologia
SBD = Sociedade Brasileira de Diabetes
SHR = Ratos espontaneamente hipertensos
SM = Síndrome metabólica
SNC = Sistema nervoso central
STZ = Estreptozotocina
SUS = Sistema Único de Saúde
Tempol = 4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperideno-N-oxil
TG = Triglicerídeos
TGF = Fator de crescimento tumoral
TNF- α = Fator de necrose de tumor –alfa
TTG = Teste de tolerância à glicose
TTI = teste de tolerância à insulina
TXA2 = Tromboxano A2

TZDs = Tiazolidinadionas

U= Unidades de insulina

UI/mL = unidades internacionais por mililitro

vo = via oral

WHO = World Health Organization

WKY = Wista Kyoto

α = Alfa

β = Beta

γ = Gamma

θ = Theta

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	19
2.0 REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1 Síndrome Metabólica	22
2.2 Hipertensão Arterial	25
2.2.1 Aspectos Epidemiológicos da Hipertensão Arterial	25
2.2.2 O papel do Endotélio da Fisiopatologia da Hipertensão Arterial	26
2.3 Obesidade	29
2.3.1 Epidemiologia da Obesidade e os Fatores de Risco Associados	29
2.3.2 O Papel das Adipocinas na Patogênese da Obesidade	31
2.3.3 A Obesidade como fator causal no diabetes mellitus tipo 2	37
2.4 Diabetes Mellitus	40
2.4.1 Classificação do diabetes	40
2.4.2 Diabetes Mellitus tipo 1	40
2.4.3 Tipos Específicos de Diabetes e Diabetes Gestacional	41
2.4.4 Diabetes Mellitus tipo 2	41
2.4.5 Mecanismos moleculares de ação da insulina	43
2.4.6 Resistência à Insulina e geração do estresse oxidativo	45
2.4.7 O tratamento do diabetes	47
2.5 Modelos Animais	51
2.6 Alterações vasculares na síndrome metabólica	53
3.0 OBJETIVOS	55
3.1 Objetivos Gerais	55
3.2 Objetivos Específicos	55
4.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
5.0 ARTIGO	74
RESUMO	75

INTRODUÇÃO	75
MATERIAIS E MÉTODOS	77
Obtenção do LPSF/GQ-130	77
Síntese dos derivados tiazolidínicos (LPSF/GQ-130)	77
Animais e Tratamento	77
Análises Bioquímicas	78
Testes de Tolerância à glicose (TTG)	78
Testes de Tolerância à insulina (TTI)	78
Determinação dos níveis de proteína C-reativa	79
Determinação dos níveis de pressão arterial em ratos acordados	79
Reatividade Vascular	79
Histologia	80
Processamento do material Biológico	80
Avaliação microscópica e histomorfométrica	80
Análise Estatística	81
RESULTADOS	81
DISCUSSÃO	84
REFERENCIAS	90
Lista de legendas	99
Lista de figuras, tabelas e esquemas	102
6.0 CONCLUSÃO	109

1 INTRODUÇÃO

A obesidade, antes considerada sinal de fartura, saúde e padrão de beleza, deixou de ser vista como uma condição desejável, diante das evidências de morbimortalidade elevada em indivíduos obesos.

A urbanização e a industrialização, acompanhadas de maior disponibilidade de alimentos e menor atividade física, contribuíram para a crescente prevalência da obesidade nas populações. Além de ser fator de risco cardiovascular independente, associa-se a uma série de outros, como a dislipidemia, a hipertensão arterial (HA), o diabetes mellitus (DM) e a resistência à insulina (RI).

Dietas hiperlipídicas têm sido amplamente utilizadas para a reprodução de modelos experimentais de obesidade e síndrome metabólica (FÉRÉZOU-VIALA et al., 2007; SO et al., 2011; CAN et al., 2012; ZHANG et al., 2013). Alterações do metabolismo de gorduras e carboidratos estão associadas com distúrbios nutricionais, como obesidade, dislipidemia e resistência à insulina, e às disfunções cardiovasculares, como hipertensão arterial sistêmica e remodelamento cardíaco, com hipertrofia (BUETTNER, R., et al 2007). Muitas vezes há uma prevalência de casos de diabetes tipo 2 associado a um quadro de obesidade e um estilo de vida sedentário.

A associação de uma dieta balanceada e realização de atividade física relacionam-se diretamente com a melhora na sensibilidade à insulina, diminuição dos níveis plasmáticos de glicose e, de forma expressiva, a gordura visceral (SÃO PAULO, 2011). Essa prática altera de forma positiva o perfil metabólico com redução nos níveis de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), triglicerídeos e aumento de HDL-c (SBD, 2009). Porém, em alguns casos a intervenção farmacológica torna-se necessária, nestes casos faz-se o uso de hipoglicemiantes orais, que em sua maioria tem como efeito principal a redução da glicotoxicidade e podem promover um controle glicêmico a longo prazo por diferentes mecanismos de ação.

Agonistas de PPAR- γ , tais como as tiazolidinadionas (TZDs), podem reduzir o nível de triglicerídeos e ácidos graxos não esterificados reduzindo o risco vascular, o que justifica o uso desta classe terapêutica no diabetes melitus tipo 2 (DM2).

O efeito antidiabético das TZDs está bem estabelecido. Embora, os tecidos alvos e o mecanismo da atividade farmacológica dessas drogas não sejam completamente compreendidos. As TZDs possuem alta afinidade pelos receptores PPAR γ (SPIEGELMAN, 1998), exercendo sua ação principal sobre a glicemia e secundariamente sobre o perfil lipídico.

Na atualidade a TZD mais utilizada clinicamente é a pioglitazona, que parece ter benefícios importantes no controle da glicemia em portadores do DM2, redução da pressão arterial e redução do quadro inflamatório. Paradoxalmente, vários autores têm questionado a segurança cardiovascular e renal do uso da rosiglitazona. Alguns autores tem relacionado o uso de rosiglitazona no DM 2 ao infarto do miocárdio (NISSEN et al., 2007) e ao declínio da função renal (FELDMAN et al., 2010), o que justifica uma investigação mais acurada dos possíveis efeitos colaterais dessas drogas, bem como a busca de alternativas para o tratamento do diabetes.

No presente estudo nós testamos uma nova molécula candidata a fármaco hipoglicemiante da classe das TZDs, denominada LPSF/GQ-130 em um modelo de insulino-resistência e hiperinsulinemia, induzida por uma dieta hiperlipídica, em ratos espontaneamente hipertensos (SHR, um modelo que se aproxima da hipertensão essencial no homem), e se o tratamento com a tiazolidina reverte este efeito.

Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Síndrome metabólica

A associação entre obesidade e hipertensão arterial, alterações nos níveis plasmáticos de glicose e colesterol, e todas essas condições unidas por um elo comum, a resistência insulínica, vem sendo observada desde a década de 80 (REAVEN, 1988).

O termo Síndrome Metabólica descreve um conjunto de fatores de riscos metabólicos que se manifestam num indivíduo e aumentam as chances de desenvolver doenças cardíacas, acidentes vasculares e diabetes, essa síndrome tem como base a resistência à ação da insulina, também conhecida como síndrome de resistência à insulina (RIO DE JANEIRO, 2010). Nas últimas décadas em todo o mundo tem havido um aumento na incidência da síndrome metabólica devido a uma maior prevalência de sobrepeso/obesidade na população geral (FORD et al., 2002).

A síndrome metabólica consiste na associação entre o sobrepeso, elevação da pressão arterial, dislipidemia aterogênica e uma alteração no metabolismo da glicose e insulina (SBEM^b, 2006).

Segundo os dados da Sociedade Brasileira de Endocrinologia Médica em 2010 não existe um único critério aceito universalmente para definir a síndrome. Os dois mais aceitos são os da Organização Mundial de Saúde (OMS) e os do National Cholesterol Education Program (NCEP) - americano. Porém, o Brasil também dispõe do seu Consenso Brasileiro sobre Síndrome Metabólica, e de acordo com este, a Síndrome ocorre quando estão presentes ao menos três dos cinco critérios abaixo:

- ✓ Obesidade central: circunferência da cintura- mulher > 88 cm; homem >102 cm;
- ✓ Hipertensão Arterial: valores de pressão arterial $\geq 130/85$ mmHg
- ✓ Glicemia alterada (glicemia ≥ 110 mg/dL) ou diagnóstico de diabetes;
- ✓ Triglicerídeos ≥ 150 mg/dL;
- ✓ HDL colesterol: homens < 40 mg/dL e em mulheres < 50 mg/dL

Mudanças no estilo de vida, como a ingestão de uma dieta balanceada associada à prática de atividade física regular, são consideradas terapias de primeira escolha para o tratamento da síndrome metabólica. Estas são medidas que favorecem a redução da circunferência abdominal e da gordura visceral, auxiliam na melhora a sensibilidade à

insulina, diminui as concentrações plasmáticas de glicose e triglicerídeos, aumentam os valores de HDL-c, reduzindo assim os fatores de risco para o desenvolvimento de diabetes mellitus do tipo 2 e doenças cardiovasculares (SBH, 2005).

A obesidade associada com a elevação de glicose e ácidos graxos livres desencadeia a formação de radicais livres e por consequência o aumento do estresse oxidativo celular, tais fatores constituem possivelmente os principais causadores da resistência à insulina, o diabetes mellitus e as doenças cardiovasculares (CERIELLO e MOTZ, 2004). A estreita relação entre estas e outras co-morbididades estão representadas na Figura 1.

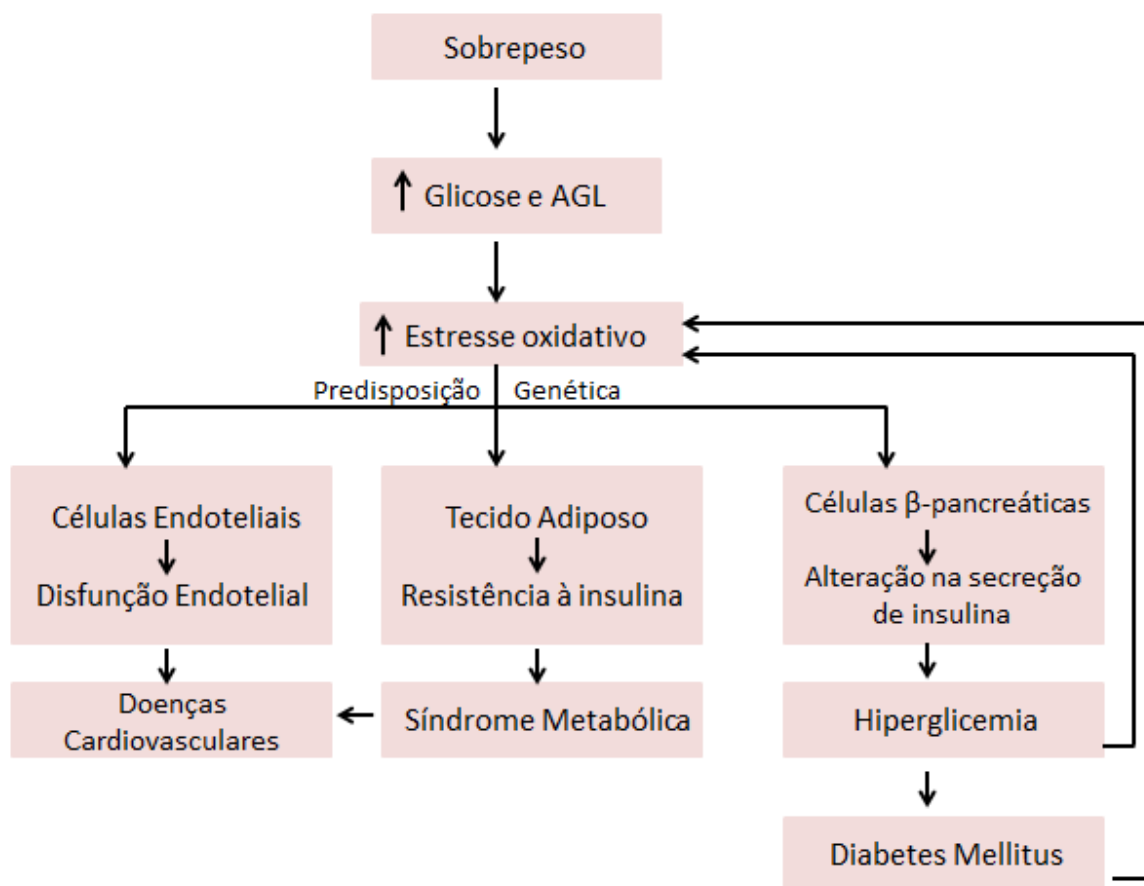


Figura 1- O sobrepeso e o sedentarismo levam ao aumento de glicose e ácidos graxos livres (AGL) nas células, que quando metabolizados e transformados em energia são acompanhados de um aumento na formação de radicais livres e consequentemente estresse oxidativo celular. As células musculares e os adipócitos podem se proteger desta condição, produzindo resistência à ação da insulina com o objetivo de reduzir a entrada de glicose AGL nas células. As células β e o endotélio são tecidos não dependentes de insulina, sendo assim a sobrecarga de glicose e AGL nestas células estresse oxidativo que induz a disfunção endotelial e das células β . A disfunção endotelial pode levar ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A disfunção das células β pode ser caracterizada por uma alteração da secreção de insulina. Esta condição de agrava na presença de resistência insulínica, visto que existe um maior requerimento secretório de insulina para a manutenção das concentrações plasmáticas normais de glicose. A disfunção precoce das células β , caracterizada por uma diminuição da secreção de insulina, e a hiperglicemia pós prandial induz ao estresse oxidativo. A persistência desta condição provoca exaustão das células β e consequentemente, o Diabetes Mellitus (DM). Todos os fatores que acompanham a resistência à insulina também contribuem para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. (Adaptado de Ceriello e Motz, 2004).

2.2 Hipertensão Arterial

2.2.1 Aspectos epidemiológicos da Hipertensão Arterial

Ao longo dos dois últimos séculos, as revoluções tecnológicas e industriais, com consequências econômicas e sociais, resultaram em uma mudança drástica do perfil de morbimortalidade da população com grande predomínio das doenças e mortes devidas às doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), dentre elas o câncer e as doenças cardiovasculares. A carga econômica das DCNT produz elevados custos para os sistemas de saúde e da previdência social devido à mortalidade e invalidez precoces, e, sobretudo para a sociedade, famílias e as pessoas portadoras dessas doenças (BRASIL^d, 2010).

A doença cardiovascular representa hoje no Brasil a maior causa de mortes; o número estimado de portadores de diabetes e de hipertensão é de 23.000.000 e cerca de 1.700.000 pessoas têm doença renal crônica (DRC), sendo o diabetes e a hipertensão arterial responsáveis por 62,1% do diagnóstico primário dos submetidos à diálise (BRASIL^d, 2010). Quase um quarto dos brasileiros adultos desenvolvem a hipertensão arterial, sendo mais comum entre as mulheres (26,9%) do que entre os homens (21,3%) e também varia de acordo com a faixa etária e a escolaridade. Entre os brasileiros com mais de 65 anos de idade, 59,2% se declaram hipertensos, contra apenas 3,8% na faixa de 18 a 24 anos e 8,8% de 25 a 34 anos (BRASIL^e, 2013).

De acordo com a OMS, um pequeno conjunto de fatores de risco responde pela grande maioria das mortes por Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) e por fração substancial da carga de doenças devido a essas enfermidades. Dentre esses fatores, destacam-se o tabagismo, o consumo excessivo de bebidas alcoólicas, dietas inadequadas e a inatividade física (WHO, 2011a).

A Hipertensão Arterial (HAS) é definida como pressão arterial sistólica maior ou igual a 140 mmHg e uma pressão arterial diastólica maior ou igual a 90 mmHg, em indivíduos que não estão fazendo uso de medicação anti-hipertensiva (BRASIL^d, 2010).

A maioria dos casos de hipertensão arterial não apresenta uma causa aparente facilmente identificável, sendo conhecida como hipertensão essencial. Já a hipertensão secundária, que é responsável por uma pequena proporção dos casos de HAS é devida a causas muito bem estabelecidas (glomerulopatia, hipertireoidismo, hipotireoidismo, uso de drogas imunossupressoras, hipoglicemia, hipertensão gestacional), que precisam ser

devidamente diagnosticadas, uma vez que, com a remoção do agente etiológico, é possível controlar ou curá-la (BRASIL^d, 2010).

2.2.2 O papel do Endotélio na Fisiopatologia da Hipertensão Arterial

A regulação do fluxo sanguíneo local e a pressão nos capilares é mediada pela resistência vascular (BUND, 2001). O endotélio vascular, camada monocelular que reveste a superfície luminal de todos os vasos sanguíneos, provê uma interface não-trombogênica entre o vaso e os componentes sanguíneos, mantém a fluidez do sangue e modula a vasomotricidade, ajustando o calibre dos vasos às constantes alterações hemodinâmicas e humorais locais e a própria estrutura vascular (GALLEY e WEBSTER, 2004; BATLOUNI, 2001).

O endotélio, local ativo de síntese, pode ser considerado um verdadeiro sistema autócrino, parácrino e endócrino do organismo humano, que responde a vários estímulos, produzindo e secretando um grande número de compostos metabolicamente ativos, além de modular ou inibir os efeitos de substâncias circulantes (VANE et al., 1990; DAVEL et al., 2011). Sua integridade é essencial à regulação do tono vascular, do fluxo sanguíneo, da perfusão tissular e à proteção contra espasmo, trombose e à própria aterogênese.

As células endoteliais exercem um dinamismo funcional, apresentando um importante papel tanto na síntese quanto no metabolismo de substâncias (GALLEY e WEBSTER, 2004; DAVEL et al., 2011) (Figura 2).

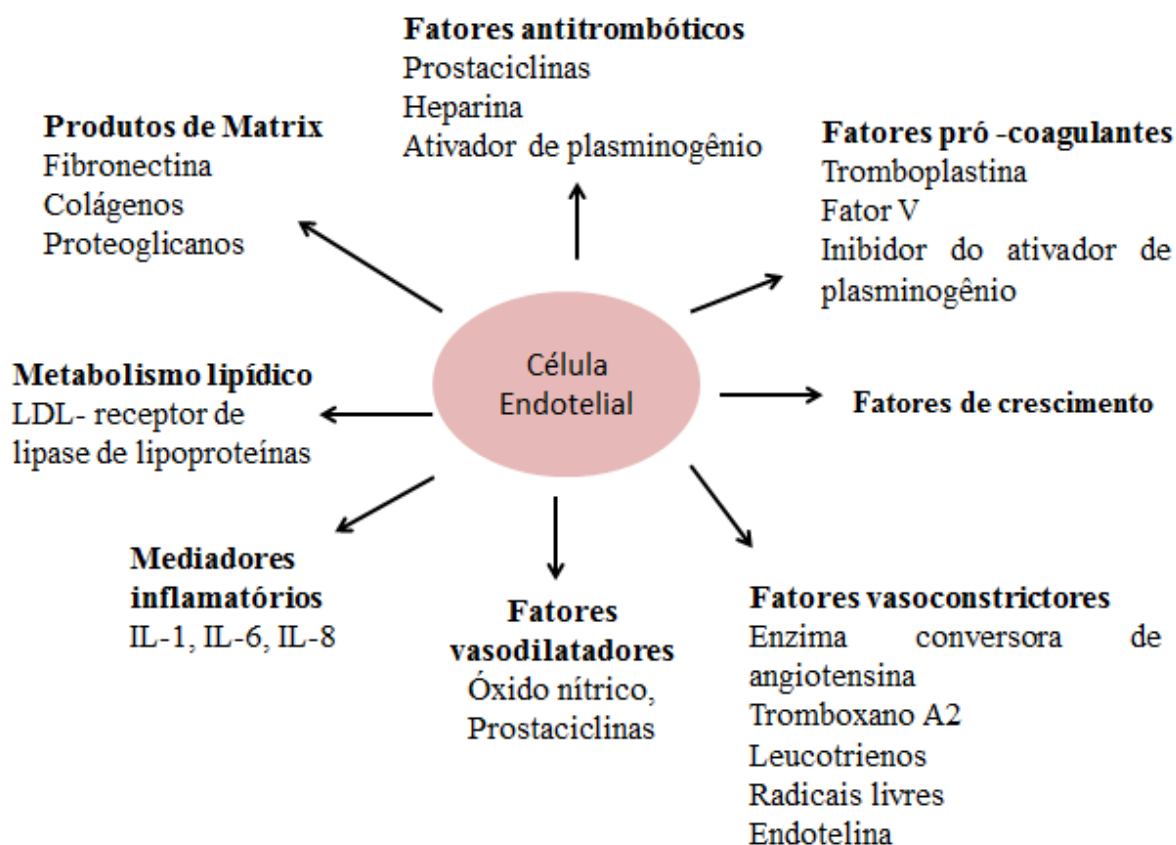


Figura 2- As células endoteliais apresentam tanto funções metabólicas quanto sintéticas. Isso se dá por meio da secreção de uma grande variedade de mediadores que são capazes de influenciar na função celular através do organismo. LDL, lipoproteínas de baixa densidade; IL, interleucinas (Adaptado de Galley e Webster, 2004).

A importância do endotélio na regulação da função vascular foi demonstrada por Furchgott e Zawadzki em 1980. Neste trabalho foi observada a dependência do endotélio no relaxamento induzido pela acetilcolina em aorta isolada de coelho. Estes e outros investigadores também demonstraram que a acetilcolina ativa os receptores muscarínicos nas células endoteliais e que esta ativação libera localmente, de forma controlada, compostos que induzem vasodilatação – fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF), óxido nítrico (NO), fator de hiperpolarização derivado do endotélio (EDHF), prostaciclina e PGE_2 ; compostos que induzem vasoconstrição – endotelina-1 (ET1), PGH_2 , tromboxano A2 (TXA_2) e ânions superóxido (O_2^-); e modula, metaboliza ou inativa a ação de substâncias vasoativas circulantes (catecolaminas e serotoninas) (VANE et al., 1990; DZAU, 1989; GRYGLEWSKI et al., 1988; FURCHGOTT e VANHOUTTE, 1989).

Em condições fisiológicas, observa-se o equilíbrio entre a liberação de fatores vasoconstrictores e vasodilatadores, porém com predomínio deste último (GALLEY e WEBSTER, 2004). A hipertensão pode ser causada pelo desequilíbrio entre a produção

aumentada de fatores vasoconstritores (os nervos simpáticos e as catecolaminas, a angiotensina, a endotelina etc) e/ou pela produção deficiente de fatores vasodilatadores (óxido nítrico, bradicinina, etc.), com o consequente aumento do grau de contração na musculatura das arteríolas (KRIEGER et al., 1996).

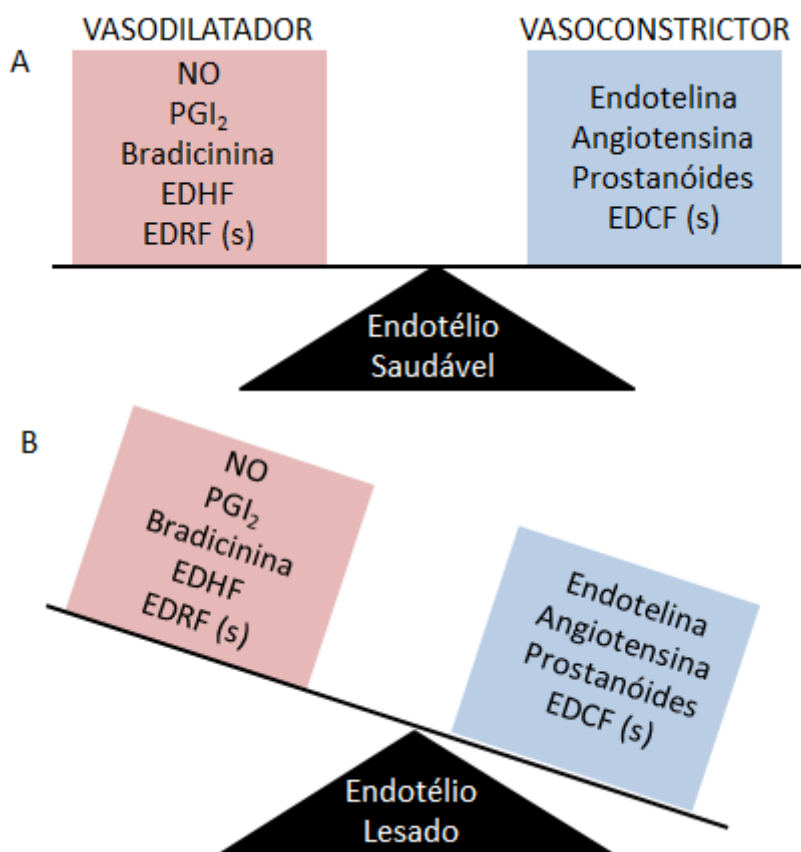


Figura 3- Endotélio saudável versus endotélio lesado. (A) O equilíbrio entre a liberação de fatores de relaxamento derivado do endotélio (EDRFs) e fatores de contração derivados do endotélio (EDCFs) mantém o tônus vascular normal. (B) em condições patológicas, como a hipertensão e o diabetes, o aumento na liberação de EDCFs, bem como um decréscimo dos EDRFs, irá favorecer contração vascular e possivelmente alterações fisiopatológicas como a hipertensão arterial. (Adaptado de TRIGGLE et al., 2012).

Estudos experimentais como o de Rapoport e Williams em 1996 mostram que em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) a geração de EDCFs se dá pelo aumento da expressão de derivados do ácido araquidônico, mais especificamente a COX-1.

O aumento da expressão de prostaciclina sintetase, um dos compostos da via metabólica da cascata do ácido araquidônico, resulta na elevação da produção de prostanóides vasoconstritores (PGI₂) pela via de ativação de receptores de tromboxano TXA₂ /PGH₂ nas contrações endotélio-dependentes induzidas pela acetilcolina, o que resulta em vasoconstrição (GLUAIS et al., 2005).

É importante salientar que prostanóides derivados da isoforma 2 da ciclooxigenase (COX-2) contribuem para a elevação da resistência periférica em vasos de ratos diabéticos (BAGI et al., 2005; RAMOS-ALVES et al., 2012^a; RAMOS-ALVES et al., 2012^b).

Em suma, alterações na síntese de substâncias vasoativas derivadas tanto de COX-1 quanto de COX-2 podem contribuir para disfunção endotelial e vascular no diabetes e na hipertensão.

2.3 Obesidade

2.3.1 Epidemiologia da Obesidade e os Fatores de Risco Associados

A obesidade, definida como um estado em que o percentual de gordura corporal no indivíduo se encontra elevado, é encarada como distúrbio clínico-metabólico de origem multifatorial (WHO, 2010).

Fatores genéticos, emocionais e de estilos de vida estão intimamente relacionados à gênese e/ou manutenção da obesidade. Segundo relatórios da organização Mundial de Saúde, a obesidade é uma epidemia global (WHO, 2010). Atualmente, no mundo, o número de pessoas obesas está acima do dobro descrito em 2008 e quase 43 milhões de crianças menores de cinco anos estavam acima do peso em 2010 (WHO, 2011).

Dados do Ministério da Saúde em 2013 revelam que, pela primeira vez, o percentual de pessoas com excesso de peso supera mais da metade da população brasileira. A pesquisa Vigitel 2012 (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico) mostra que 51% da população (acima de 18 anos) estão acima do peso ideal. Em 2006, o índice era de 43%. Entre os homens, o excesso de peso atinge 54% e entre as mulheres, 48%.

A obesidade tem alcançado proporções epidêmicas no mundo, pelo menos 2,6 milhões de pessoas morrem a cada ano como resultado do excesso de peso. Antes associada a países de alta renda, a obesidade é agora também prevalente nos países de baixa e média renda (WHO, 2010) tornando-se uma das principais ameaças à saúde em todo o mundo.

As Doenças Crônicas Não Transmissíveis – DCNT, incluindo diabetes, hipertensão e obesidade, representam um dos principais desafios de saúde para o desenvolvimento global nas próximas décadas. Estas ameaçam a qualidade de vida de milhões de pessoas representam o maior custo para os sistemas de saúde de todo o mundo com grande impacto econômico para os portadores, suas famílias e a sociedade em geral dos países, especialmente os de baixa e média renda (BRASIL, 2011^a).

Fatores de risco comuns e potencialmente modificáveis como ausência de uma dieta saudável, sedentarismo e uso de cigarro explicam a maior parte das mortes pelas DCNTs, que são expressas através de fatores de risco intermediários como hipertensão arterial, hiperglicemia, deterioração do perfil lipídico e obesidade (BRASIL, 2011^a).

A obesidade é geralmente definida em termos de Índice de Massa Corporal (IMC), cujo cálculo é feito com base no peso e na altura e vale para quem tem de 20 a 60 anos, (ver Tabela 1). O Índice de Massa Corporal (IMC) é uma forma para conhecer o estado nutricional do indivíduo. Para calculá-lo, basta dividir o peso em quilogramas pelo quadrado altura em metros ($IMC = \text{peso} / \text{altura} \times \text{altura}$). O IMC é apenas um indicativo para descobrir se está no peso ideal. Outros fatores como sexo, idade, condicionamento físico devem ser levados em consideração (BRASIL, 2013^b).

Tabela 1- Índice de Massa Corporal (IMC).

IMC (kg/m ²)	Estado Nutricional
Abaixo de 18,5	Baixo peso
18,5 a 24,99	Peso adequado
25 a 29,99	Sobrepeso*
Acima de 30	Obesidade*

* Considera-se excesso de peso para IMC a partir de 25, o que inclui sobrepeso e obesidade (BRASIL, 2013^b).

A obesidade, juntamente com o excesso de peso, é atualmente o fator de risco cardiovascular mais prevalente em indivíduos com doença coronariana estabelecida (BRASIL, 2013^b). Indivíduos obesos têm menor qualidade e expectativa de vida quando comparados aos de peso normal. Estudos epidemiológicos mostram que a obesidade é o principal fator de risco para doenças cardiovasculares, incluindo doenças coronarianas, insuficiência cardíaca, fibrilação atrial, arritmias ventriculares e morte súbita (LOPEZ-JIMENEZ, 2011). É também considerado um fator causal na hipertensão arterial (HA), diabetes mellitus tipo 2 (DM2), osteoartrite obstrutiva, apneia do sono, dislipidemia, refluxo gastroesofágico, doença hepática gordurosa não alcoólica e muitas formas de câncer (TIROSH, 2011).

2.3.2 O Papel das Adipocinas na Patogênese da Obesidade

Os mecanismos fisiopatológicos que levam à obesidade ainda são pouco conhecidos, dentre alguns fatores causais temos os hábitos alimentares incorretos, inatividade física, obesidade secundária alterações neuroendócrinas, obesidade genética-associada a mutações gênicas e alterações cromossômicas. Esse distúrbio fisiológico associa-se a um grau de inflamação no tecido adiposo, sendo este quadro resultado da ativação crônica do sistema imune inato podendo posteriormente levar à resistência à insulina (RI), tolerância à glicose diminuída ou mesmo o diabetes (SILVEIRA, 2009).

O tecido adiposo é um órgão altamente ativo que, além de apresentar funções de armazenamento energético, regulação da termogênese e proteção contra choques mecânicos, exerce uma função endócrina importante, pois secreta uma série de hormônios proteicos que são sintetizados e liberados pelos adipócitos, conhecidos como adipocinas. Entre as mais conhecidas temos: a leptina, adiponectina e resistina (ATHYRO et al., 2010). Estas apresentam diferentes funções, tais como: regulação do apetite e balanço energético, imunidade, sensibilidade à insulina, angiogênese, inflamação e resposta de fase aguda, regulação da pressão sanguínea e do metabolismo de lipídeos (MAFRA et al., 2006).

Muitas adipocinas como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), a interleucina-6 (IL-6), o inibidor de plasminogênio ativado-1 (PAI-1), a proteína –C reativa (PCR), a proteína estimulante de acilação (ASP), fatores envolvidos no sistema renina angiotensina e a resistina, na maioria das vezes, relacionam-se direta ou indiretamente, a processos que contribuem na aterosclerose, hipertensão arterial (HA), resistência insulínica (RI) e diabetes mellitus tipo 2 (DM2), dislipidemias, o que representa o elo entre adiposidade, síndrome metabólica e doenças cardiovasculares (BONORA et al., 1997., HSUEH e LAW, 2003; LYON et al., 2003).

Na obesidade, os depósitos de gordura corporal estão aumentados, apresentando elevada expressão das adipocinas, esse aumento de expressão se dá de forma proporcional ao maior volume das células adiposas (ARNER, 1995).

Uma dessas adipocinas é uma proteína rica em cisteína chamada “resistina”. Inicialmente, em experimentos feitos em roedores, se pensava que essa proteína era produzida especificamente em adipócitos (HERMSDORFF e MONTEIRO, 2004), posteriormente foi demonstrado que em humanos ela é expressa em muitos outros

tecidos, incluindo pré-adipócitos, células endoteliais e células do músculo liso vascular, e é particularmente muito expressa em macrófagos (BARNES e MINER, 2009). A hiperhomocisteína pode ser um fator de risco aumentado para a DCV. A patogenia da hiperhomocisteinemia (HHe) inclui lesão da célula endotelial, aumento da adesão plaquetária, aumento da oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) com deposição na parede vascular e regulação vasomotora prejudicada (HUANG e SHOOK, 2006).

Dentre os diferentes fatores de risco associados à resistência à insulina e, portanto, à hiperglicemia podemos citar a HAS, dislipidemias, presença de um estado pró-coagulante, produção de mediadores inflamatórios e disfunção endotelial (ESPOSITO et al., 2003; KAWANAMI et al., 2004; LORENZO et al., 2006). No entanto, o papel da resistina na resistência à insulina e obesidade em pacientes com DM2 ainda não está bem esclarecido (STOFKOVA, 2010). Alguns estudos têm relatado que há um aumento dos níveis de resistina em associação com obesidade e resistência à insulina no DM2 (DEGAWA-YAMAUCHI et al., 2003; SILHA, 2003; STEPPAN, 2001), enquanto outros não conseguiram detectar qualquer alteração nos níveis de resistina em tais condições (HASEGAWA et al., 2005; HEILBRONN et al., 2004). Em 2010 Laudes e sua equipe mostraram que níveis circulantes de resistina estão envolvidos na promoção de adiposidade, mas não teve efeito sobre o grau de resistência à insulina. Estas observações sugerem que o papel da resistina na patogênese do diabetes ainda é controverso.

Estudos feitos por Steppan e colaboradores em 2001 mostraram que em camundongos, ocorre elevação da resistina na obesidade e a administração desta adipocina diminui a tolerância glicose. Sabe-se também que além de seus efeitos sobre o metabolismo da glicose, a resistina inibe a diferenciação dos adipócitos e pode desempenhar um papel crucial na adipogênese (KIM et al., 2001). Vários fatores humorais têm sido implicados como reguladores da expressão gênica e secreção dessas proteínas.

O aumento da expressão desta adipocina pró-inflamatória ocorre por estimulação de citocinas inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF- α , enquanto o IFN- γ e a leptina parecem não exercer influência. Por outro lado, a produção de resistina é atenuada pelos agonistas dos PPARs, tais como pioglitazonas e rosiglitazonas. Este fato foi verificado pela diminuição dos níveis séricos de resistina em pacientes tratados com estas drogas

(JUGE-AUBRY, et al., 2005, TILG e MOSCHEN, 2006), contudo o tratamento com tiazolidinadionas, em ratos, tem ação controversa (aumento ou diminuição) sobre a expressão dos genes da resistina (STEPPAN et al., 2001; WAY et al., 2001) necessitando assim de maiores investigações.

Um potencial regulador da secreção de resistina é a endotelina-1 (ET-1), um peptídeo que possui 21 aminoácidos com propriedades vasoconstritora, inotrópicas mitogênicas e metabólicas (RAJALA e SCHERER, 2003; LYON, 2003). Níveis elevados de ET-1 foram associados com vários estados de doença, incluindo infarto agudo do miocárdio, aterosclerose, insuficiência cardíaca congestiva, obesidade e diabetes (ARNER, 2005; HERMSDORFF e MONTEIRO, 2004). Em todos os casos, uma correlação significativa entre a elevação de ET-1 plasmática e a gravidade da doença têm sido observados.

Trabalhos como o de Xiong e colaboradores em 2001 mostraram outro fator relevante no estabelecimento da obesidade, trata-se do papel fisiológico da ET-1, no aumento da regulação da expressão de leptina em adipócitos.

A leptina é um hormônio peptídico que possui efeitos pró-inflamatórios, e exerce importantes papéis atuando na produção de citocinas, adesão e na fagocitose em macrófagos, além estimular a proliferação das células T, levando a um aumento da resposta imunológica (FONSECA-ALANIZ, 2006; ALVEZ, 2006).

Fantuzzi em 2005 mostrou que a leptina aumenta produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-6 e IL-12, e estimula a ativação de neutrófilos e a proliferação de monócitos *in vitro* circulantes, e que o óxido nítrico sintetase (NOS) e espécies reativas de oxigênio (ROS), produzidos por este hormônio, também induzem à ativação, proliferação e migração de monócitos circulantes.

Dados da literatura mostram que a leptina, dentre outros papéis desempenhados no organismo (angiogênese, osteogênese, controle da pressão sanguínea), contribui para o quadro de inflamação crônica associada à obesidade e à síndrome metabólica (WISSE, 2004; ANTUNA, 2008). Na Tabela 2 estão as principais adipocinas envolvidas no processo inflamatório da obesidade e seus efeitos.

Tabela 2- Principais adipocinas envolvidas no processo inflamatório da obesidade e seus efeitos.

Adipocinas	Comportamento na Obesidade	Efeitos
TNF- α	Aumentado	Produção de citocinas $\uparrow$ Lipólise $\uparrow$ Captação de glicose $\downarrow$ Resistência insulínica Propriedade aterogênica
IL-6	Aumentado	Obesidade $\uparrow$ Resistência insulínica Lipólise $\uparrow$ Proteínas hepáticas de fase aguda
PCR	Aumentado	Diretamente proporcional ao IMC Obesidade e risco de DM2 e DCV
Leptina	Aumentado	Níveis proporcionais à adiposidade $\uparrow$ Produção de citocinas $\uparrow$ Adesão e fagocitose de macrófagos Efeito regulador sobre a PA
Resistina	Aumentado	$\uparrow$ Resistência insulínica
Adiponectina	Diminuído	Ação antiinflamatória $\uparrow$ Sensibilidade à insulina Favorece à oxidação de ácidos graxos Atenua a progressão de aterosclerose

Adaptado de LEITE, et al., 2009

A etiologia da obesidade é complexa, multifatorial, mas podem-se considerar três componentes primários no sistema neuroendócrino envolvidos neste distúrbio. O

sistema aferente, que envolve a leptina e outros sinais de saciedade e de apetite de curto prazo, a unidade de processamento do sistema nervoso central, e o sistema eferente, um complexo de apetite saciedade efetores autonômicos, termogênicos que leva ao estoque energético (SBD, 2005).

A ingestão de alimentos e o gasto de energia estão sob o controle do sistema nervoso central. Aferências neurais e sinais hormonais surgem predominantemente do trato gastrointestinal, fígado e tecido adiposo, e sinais eferentes e hormonais influenciam na digestão e metabolismo do alimento. Em indivíduos com peso normal, o excesso de calorias é queimado pela oxidação mitocondrial, e a termogênese ocorre como efeito protetor da obesidade (WILDING, 2010).

Em alguns casos a obesidade é causada pela deficiência ou mutação no gene da leptina. No entanto, é comum a hiperleptinemia em obesos. Nestes casos ocorre resistência à ação desse hormônio ocasionando hiperfagia, redução do gasto energético e aumento de peso (RESELAND, 2001).

A leptina é produzida principalmente no tecido adiposo branco, proporcionalmente a quantidade de massa deste tecido, além da função imunológica, apresenta o importante papel de sinalizar ao cérebro sobre os estoques de energia (WISSE, 2004), o que leva à sensação de saciedade após uma refeição, redução da ingestão alimentar e aumento do gasto energético (KIM e MOUSTAID-MOUSSA, 2000). No hipotálamo essa adipocina atua de duas maneiras (Figura 4). A primeira, estimulando a expressão de neuropeptídeos (anorexígenos) ligados aos mecanismos de inibição da ingestão alimentar (pro-ópio-melanocortina– POMC e transcrito relacionado à cocaína e anfetamina – CART) e aumento do gasto energético total, através de inervação simpática (FONSECA-ALANIZ et al., 2006), e a segunda, inibindo a expressão do neuropeptídeo Y (NPY) e peptídeo agouti (AgRP), envolvidos nos mecanismos de aumento da ingestão alimentar e na redução do gasto energético (FONSECA-ALANIZ et al. 2006; GUIMARÃES et al. 2007).

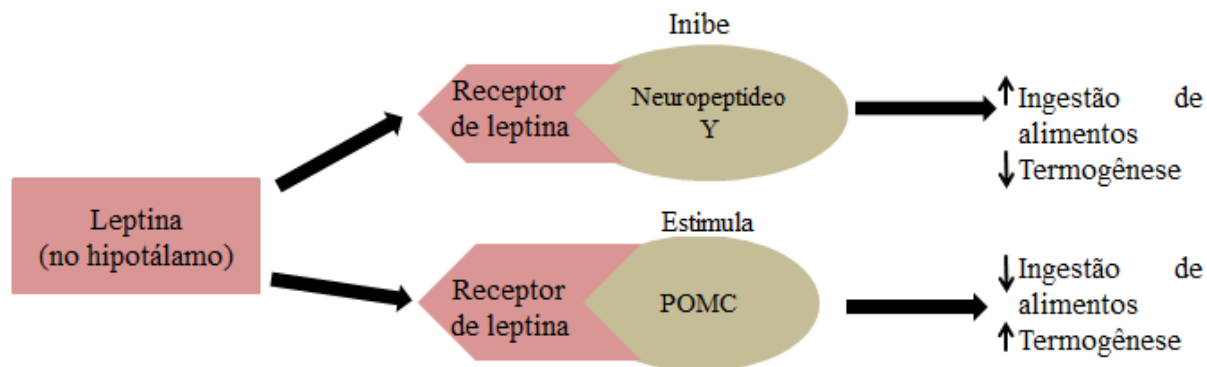


Figura 4- Esquema geral da regulação do balanço energético.

Em curto prazo, a fome se desenvolve em resposta à diminuição de concentrações circulantes de certos nutrientes (glicose, aminoácidos, ácidos graxos). O hormônio grelina, que é secretado pelo estômago entre as refeições, exerce um importante papel na estimulação da ingestão de alimentos. Após uma refeição, a liberação desse hormônio é inibida, e o aumento das concentrações de nutrientes, assim como a concentrações de vários hormônios da saciedade (colecistocinina, GLP-1, polipéptido pancreático, peptídeo YY), atuam sobre o hipotálamo levando a sensação de saciedade (HUDA et al., 2006).

Além de diferentes efeitos sensoriais a ingestão macronutrientes como lipídeos, proteínas e carboidratos têm diferentes ações nos mecanismos pré e pós-absortivos da saciedade. Estudos mostram que pessoas têm menor fome, maior saciedade e apresentam menor ingestão calórica após ingerir proteínas, quando comparada à ingestão de carboidrato e lipídeos (CROVETTI et al., 2008; JOHNSTONE et al., 1996; JOHNSTON 2002). As hipóteses que justificam as diferenças entre a ingestão desses macronutrientes na promoção da saciedade estão relacionadas à hierarquia dos mesmos na resposta oxidativa e termogênica.

O sistema nervoso simpático (SNS) por meio dos adrenoreceptores- $\beta 1$ estimula a resposta termogênica via ativação das proteínas desacopladoras de elétrons (UCP), que liberam a energia eletroquímica advinda da fosforilação oxidativa respiratória na forma de calor, sem geração ATP (SCHWARTZ et al., 1999; REYES et al., 2006). O SNS pode ser estimulado por corticotropina (CRH) ou inibido pelo neuropeptídeo Y (NPY), sendo mediado, portanto, por peptídeos ligados a homeostase energética. Sua atividade também é aumentada em resposta à alimentação principalmente quando o

conteúdo de energia da dieta é aumentado, por exemplo, pelo consumo de alimentos palatáveis.

Em conformidade com o que foi citado anteriormente, duas características podem ser destacadas com relação ao consumo de uma dieta hiperlipídica e seu baixo efeito inibitório sobre saciedade, quando comparado com o consumo de carboidratos e proteínas: (1) Os alimentos gordurosos são muito palatáveis, o que pode causar um feedback positivo na alimentação (maior apetite) e, conseqüentemente menor saciedade ; (2) Este tipo de dieta aumenta a densidade calórica, o que leva a uma menor distensão gástrica, menor estimulação de mecanorreceptores e, conseqüente redução no mecanismo regulatório da saciedade. Em indivíduos obesos, a lipólise e a oxidação de lipídios via ação do SNS é reduzida pela atenuação do número e da sensibilidade dos adrenoreceptores- $\beta 1$ (SCHIFFELERS et al., 2001; BUIJS et al., 2003).

Podemos inferir destas informações que fatores como a composição da dieta (conteúdo calórico e macronutrientes ingeridos) podem influenciar na ingestão calórica pelo grau de palatabilidade e poder de saciedade proporcionado pelos alimentos, sendo isso relevante no controle do peso corporal.

2.3.3 A Obesidade como fator causal no Diabetes Mellitus tipo 2.

O Diabetes melitus tipo 2 (DM2) se tornou um líder mundial em problema de saúde pública. Cerca de 200 milhões pessoas, são portadoras da doença, e esses números devem chegar a 300 milhões em 2025 (YUMUKB et al., 2005). A razão para este aumento é especialmente devido ao aumento do sobrepeso e obesidade no mundo (KING et al., 1998; WHO, 2010).

O DM 2 é uma doença comum, porém preocupante, que está associada a uma morbidade e reduzida expectativa de vida de seus portadores. A adoção do estilo de vida ocidental resultou em populações que tem sua dieta baseada em consumo de alimentos ricos em gordura saturada e açúcar, somado a uma redução na prática de exercícios físicos (YOSHINO et al., 1996). Isso desencadeou o aparecimento de uma epidemia que foi denominado “diabesidade” (ASTRUP e FINER, 2000). Este termo foi criado por Sims e sua equipe na década de 1970, para destacar a estreita relação entre diabetes tipo 2 e obesidade.

O sobrepeso e a obesidade são fatores de risco para o DM2 e as doenças cardiovasculares. O DM2 está fortemente relacionado à redução da expectativa e qualidade de vida e aumento da mortalidade, decorrentes de complicações microvasculares (retinopatia, insuficiência renal, neuropatia) e macrovasculares (acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio, doença vascular periférica, amputações de extremidades inferiores) (American Diabetes Association, 2004; Internacional Diabetes Federation– IDF, 2011).

O envolvimento de um estado inflamatório, induzido pela obesidade, em múltiplos sistemas apresenta um grande desafio para os investigadores (LUMENG e SALTIEL, 2011). É evidente que a inflamação é um link entre a obesidade e as doenças supracitadas. Mediadores celulares da inflamação e da imunidade na obesidade exercem vários efeitos sobre os sistemas fisiológicos causando um desequilíbrio em respostas imunes homeostáticas e pró-inflamatórias. A obesidade desencadeia vias inflamatórias no cérebro e tecido adiposo que desregulam respostas fisiológicas que mantêm a sensibilidade à insulina e leptina. Ao longo do tempo, o acúmulo ectópico de lipídios no músculo, fígado, e nos vasos sanguíneos ativam leucócitos, contribuindo para o estabelecimento de doenças órgão-específicas, e aumento da resistência à insulina sistêmica. Inflamações nas ilhotas pancreáticas mediadas por citocinas aceleram a progressão para o diabetes (Figura 5).

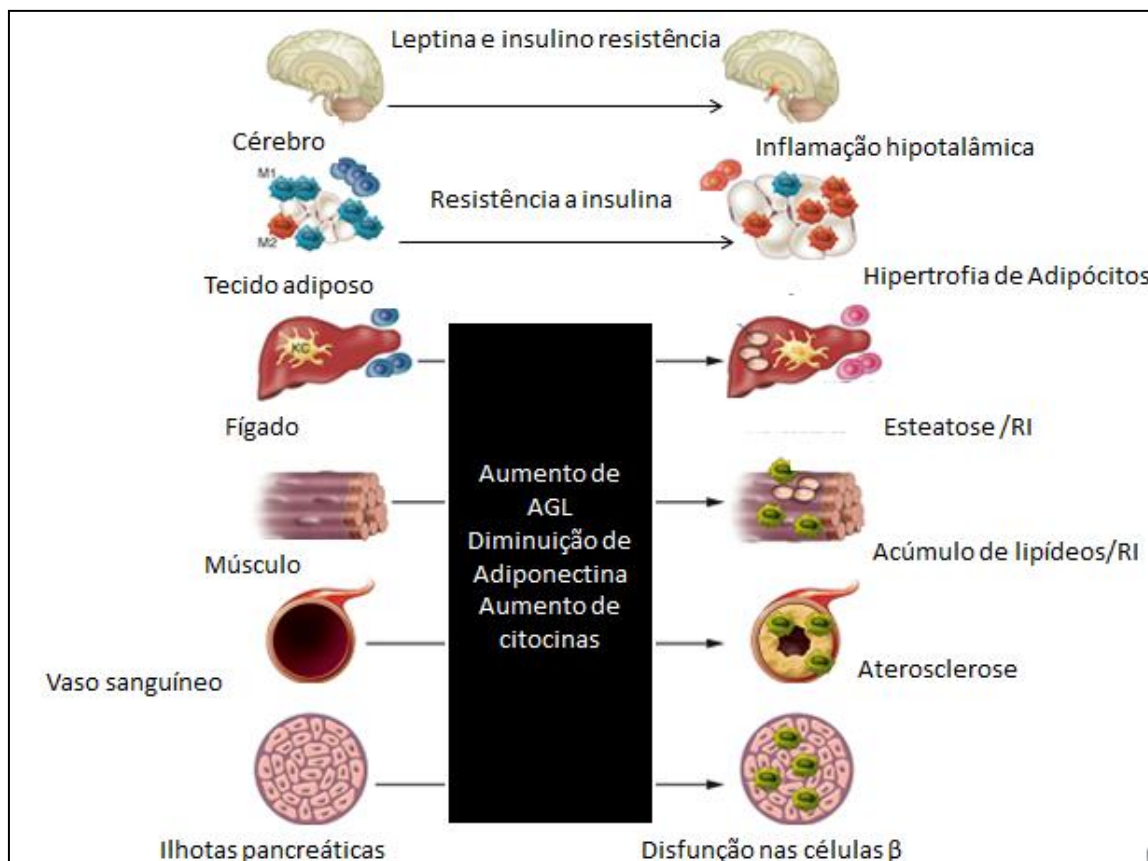


Figura 5- Efeitos sistêmicos da inflamação induzida pela obesidade. AGL: ácidos graxos livres ; RI: resistência à insulina. Adaptado de LUMENG e SALTIEL, 2011.

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é um processo de vários estágios que começa com resistência à insulina (RI), caracterizada pela incapacidade do organismo usar sua própria insulina eficientemente, e termina com o esgotamento das células produtoras de insulina do pâncreas, levando a hiperglicemia (ATHYROS et al., 2010).

Nos últimos anos, embora a etiologia precisa de NIDDM (diabetes mellitus não insulino-dependente) não tenha sido esclarecida, alguns estudos têm sugerido que a obesidade é um dos fatores cruciais que levaram a esta síndrome (HSUEH et al., 2003; RAJALA et al., 2003; ARNER, 1995). O acúmulo de triglicerídeos (TG) no músculo esquelético pode causar resistência à insulina (KELLEY et al., 1999; KELLEY e GOODPASTER, 2001) e a hipertrigliceridemia (HTG) causa um aumento na concentração de ácidos graxos livres (AGL) conduzindo à resistência à insulina hepática (SEPPALA-LINDROOS et al., 2002; FERRAMOSCA et al., 2013).

2.4 Diabetes mellitus

2.4.1 Classificação do Diabetes

O diabetes mellitus pode ser classificado, atualmente, em: i) Diabetes tipo 1 (DM 1); ii) - Diabetes tipo 2; iii) Outros tipos específicos; iv) Diabetes gestacional.

2.4.2 Diabetes Mellitus Tipo 1

O DM é uma desordem metabólica de múltipla etiologia caracterizada por hiperglicemia crônica com distúrbios do metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas, como resultante de defeitos na secreção de insulina, na ação da insulina ou de ambos (ALBERTI et al., 1998). Também conhecida como diabetes “juvenil”, esta desordem é caracterizada por uma deficiência na produção endógena de insulina, mediada por um processo auto-imune (tipo A), onde ocorre a destruição das células produtoras de insulina (células β -pancreáticas), resultando em uma dependência de insulina exógena injetáveis ou por causa desconhecida (forma idiopática ou tipo B).

Na forma auto-imune que é a mais comum, ocorre um processo de insulite e a presença de auto-anticorpos (anti-descarboxilase do ácido glutâmico, anti-ilhotas e anti-insulina), enquanto a forma idiopática caracteriza-se pela ausência de insulite e de auto-anticorpos. Neste tipo de diabetes há ausência de insulina possibilitando um diagnóstico rápido quando comparado com a diabetes tipo 2 (GROSS et al., 2002). Portanto, no desenvolvimento do (DM1) estão envolvidos fatores genéticos, ambientais e infecções virais. Esta doença afeta, no geral, indivíduos mais jovens (SHIMADA et al., 2007), sendo a adolescência um período de grandes mudanças fisiológicas e psicológicas. O controle glicêmico nesta fase da vida exige bastante esforço e raramente é alcançado. Esta dificuldade se dá por fatores como: mudanças hormonais da puberdade, problemas psicossociais, problemas de comportamento, a não-adesão ao regime de tratamento entre outros (KAKLEAS et al., 2009).

Em comparação com a população não diabética, em geral os pacientes DM1 têm um risco aumentado de desenvolver doenças auto-imunes órgão-específicas, como anemia perniciosa e atrofia gástrica, doenças que raramente acometem indivíduos não diabéticos (TZELLOSA et al., 2008).

Entre as complicações do DM1 tem-se a retinopatia diabética, neuropatia periférica e nefropatia o que reduz drasticamente a qualidade de vida dos seus portadores. A nefropatia é uma das principais complicações do diabetes aumentando o risco de mortalidade por doenças cardiovasculares.

A maior parte dos fatores de risco cardiovasculares tais como hipertensão, hiperglicemia e dislipidemia são altamente prevalentes em pacientes com doença renal terminal (JUNGERS et al., 1997). Além disso, fatores não tradicionais como, estresse oxidativo, inflamação e hiperhomocisteinemia também podem contribuir para uma maior morbimortalidade.

2.4.3 Tipos Específicos de Diabetes e Diabetes Gestacional

Ocorrem devido a defeitos genéticos da função da célula beta (β), defeitos genéticos na ação da insulina, doença do pâncreas exócrino, endocrinopatias, infecções, formas incomuns de diabetes imuno-mediado, etc.

O diabetes gestacional (DG) é definido como uma intolerância à glicose que começa ou é diagnosticada durante a gravidez (A.C.O.G., 2001). No diabetes gestacional ocorre tolerância diminuída aos carboidratos, podendo esta tolerância persistir, ou não, após o parto.

Outros critérios para definir o diabetes foram propostos pela Associação Americana de Diabetes (ADA) e levam em consideração estudos epidemiológicos que permitem relacionar os níveis de glicemia e o risco de desenvolvimento de complicações vasculares classificadas em microvasculares (retinopatia, neuropatia e nefropatia) e macrovasculares (isquemia cardíaca, doenças cerebrovasculares e vascular periférica) (PETTIT et al., 1990 ; JARRETT e KEEN, 1976 ; GUILLAUSSAU et al., 1998; RAHMAN et al., 2007).

2.4.4 Diabetes Mellitus tipo 2

O DM 2 é uma doença progressiva e multifatorial que caracteriza-se pelo declínio da função células β , causado por dois tipos de anormalidades fisiopatológicas: a resistência à insulina (RI) e disfunção na secreção da insulina. Isto ocorre por influência de fatores genéticos e ambientais como que contribuem para desordens no

metabolismo de carboidratos e lipídios, glicotoxicidade e lipotoxicidade, respectivamente (GUILLAUSSEAU et al., 1997; DE VRIESE et al., 2000). E geralmente é associada com o aumento da ingestão calórica e sedentarismo.

Fatores genéticos determinam a susceptibilidade para desenvolver esta doença, que muitas vezes, está acompanhada de outras co-morbidades tais como hipertensão e dislipidemia. Juntos, eles constituem a síndrome metabólica (MAASSEN et al., 2007). São aspectos fundamentais na patogênese do DM 2 a diminuição da capacidade da insulina desempenhar as suas funções fisiológicas normais, a RI e a incapacidade da células- β pancreáticas secretar insulina de forma adequada (PHIELIX et al., 2008). O DM 2 causa complicações crônicas a nível microvascular (retinopatias, nefropatias) e macrovascular (doenças coronárias, doenças vasculares periféricas), além de neuropatias, afetando nervos motores, sensoriais e autonômicos (SIMA e SOGIMOTO, 1999).

A glicotoxicidade (Figura 6) é causada por uma hiperglicemia crônica que exerce efeito deletério sobre a função de insulino-secreção das células β que pode ocorrer tanto pela redução da expressão de transportadores de glicose (GLUT-2) nas células β quanto pelo aumento do conteúdo de glicogênio nessas células.

A RI também pode ser acentuada pela redução da expressão do transportador de glicose GLUT-4, assim como pela redução da atividade de glicoquinases, enzimas chaves envolvidas no metabolismo da glicose (KAHN 2001; GIRARD, 2005).

Os ácidos graxos livres (AGL) desempenham um papel importante no desenvolvimento do DM2. Em indivíduos obesos, o acúmulo de triglicerídeos (TG) nas ilhotas de Langerhans, somado ao aumento de AGL e TG no plasma leva a um estado de lipotoxicidade (Figura 7) e à perda de secreção de insulina em resposta ao aumento da glicose.

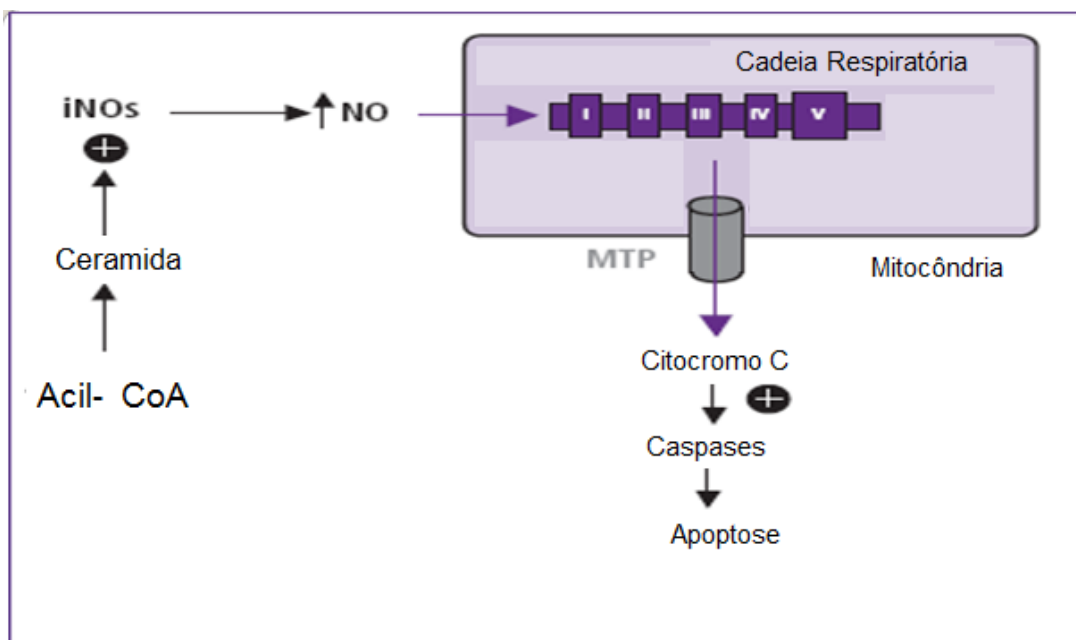


Figura 6- O acúmulo de TG nas células β pancreáticas resulta na produção de radicais citotóxicos, como ceramida e óxido nítrico (NO), cujos efeitos tóxicos desencadeiam a apoptose celular. iNOS: forma induzível da monooxigenase sintase; NO: óxido; MTP: poro de permeabilidade de transição (Girard, 2005).

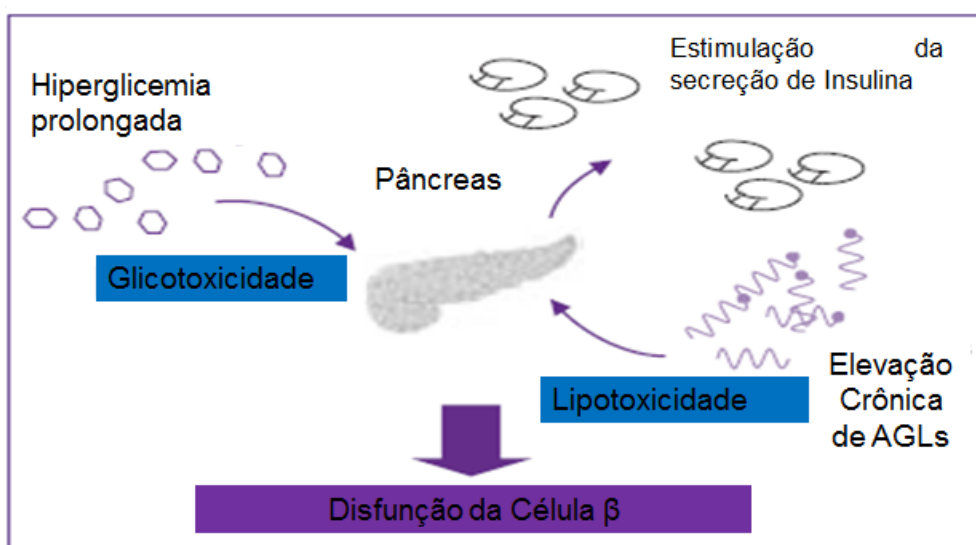


Figura 7- Representação esquemática dos fenômenos de glicotoxicidade e de lipotoxicidade conduzindo a falência progressiva da função das células β -pancreáticas. Adaptado de GIRARD, 2005.

2.4.5 Mecanismos Moleculares de Ação da Insulina

A identificação do pâncreas como a origem do diabetes mellitus por Von Mehring e Minkowski, em 1889, desencadeou com sucesso a extração e introdução do princípio ativo, a insulina, em 1921 por Banting, Best, Collip, e Macleod (OWENS et al., 2001).

A insulina é um hormônio anabólico secretado pelas células β das ilhotas de Langerhans do pâncreas e entre suas funções podem ser destacadas: i) manutenção do crescimento e diferenciação celular; ii) regulação da homeostase da glicose (diminuição da gliconeogênese e glicogenólise); iii) aumento da captação periférica de glicose, principalmente nos tecidos muscular e adiposo; iv) estimulação da lipogênese hepática e nos adipócitos e redução da lipólise; v) aumento da síntese e inibição da degradação proteica (CARVALHEIRA et al., 2002).

A ação da insulina na célula inicia-se pela sua ligação ao receptor de membrana plasmática que é uma glicoproteína heterotetramérica constituída por duas subunidades α e duas subunidades β , unidas por ligações dissulfeto (Figura 8). A subunidade α é inteiramente extracelular e contém o sítio de ligação da insulina. A subunidade β é uma proteína transmembrana responsável pela transdução do sinal e possui atividade tirosina quinase (KAHN, 1985; PATTI e KAHN, 1998).

A ligação da insulina ao seu receptor induz uma autofosforilação no resíduo tirosina em um ou mais substratos protéicos intracelulares, tais como: substratos do receptor de insulina, as proteínas IRS (2), Shc e JAK2 (PESSIN e SALTIEL et al., 2000). A fosforilação de seus substratos dá início a uma série de eventos incluindo a cascata de reações de fosforilação e desfosforilação que regulam os seus efeitos metabólicos e de crescimento (WHITE, 1997).

A fosforilação em tirosina das proteínas IRS cria sítios de reconhecimento para moléculas contendo domínios com homologia a Src2 (SH2), dentre estas se destaca a fosfatidilinositol 3-quinase (PI3-quinase) (CARVALHEIRA et al., 2002). A PI3 quinase pode ativar proteínas como a AKT (proteína quinase B/PKB) (SHEPPERD et al., 1998) que em resposta à insulina no tecido adiposo encontra-se ligada a vesículas contendo o transportador de glicose sensível à insulina – GLUT- 4 (KUPRIYANOVA e KANDOR, 1999).

A AKT diminui a fosforilação da enzima glicogênio-sintetase aumentando a sua atividade de regulação na síntese de glicogênio (CROSS et al., 1995) (Figura 8).

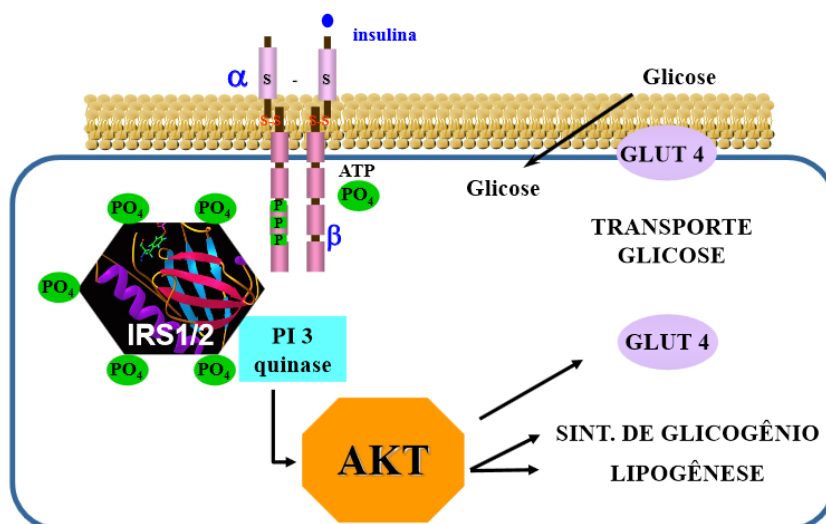


Figura 8 - Mecanismo molecular de ação da insulina (SAAD, 2011)

2.4.6 Resistência à Insulina e a Geração do Estresse Oxidativo

A resistência à insulina (RI) pode ser causada pela fosforilação do seu receptor em serina, o que atenua a transmissão do sinal através da diminuição da capacidade do receptor em fosforilar os resíduos tirosina após estímulo com insulina (HOTAMISLIGIL et al., 1996).

Na RI induzida pela obesidade há um aumento nos níveis de marcadores e mediadores de inflamação de fase aguda, tais como o fibrinogênio, Proteína C-reativa (PCR), quinase inibidora do fator nuclear kB (IKkB), inibidor do ativador de plasminogênio (PAI-1), IL-6, os quais correlacionam-se com a incidência de DM2 (BARZILAY et al., 2001; PRADHAN et al., 2001). O TNF- α e a resistina, são citocinas que participam ativamente deste processo (SHOELSON et al., 2006).

O aumento da adiposidade, com a elevação do TNF- α e IL-1 β , ativam serinas quinases como a c-jun N-terminal quinase (JNK) e a IKK β (AGUIRRE et al., 2000) e diminuem a expressão gênica dos transportadores de glicose (GLUT-4) (LONG e PEKALA, 1996) (Figura 9).

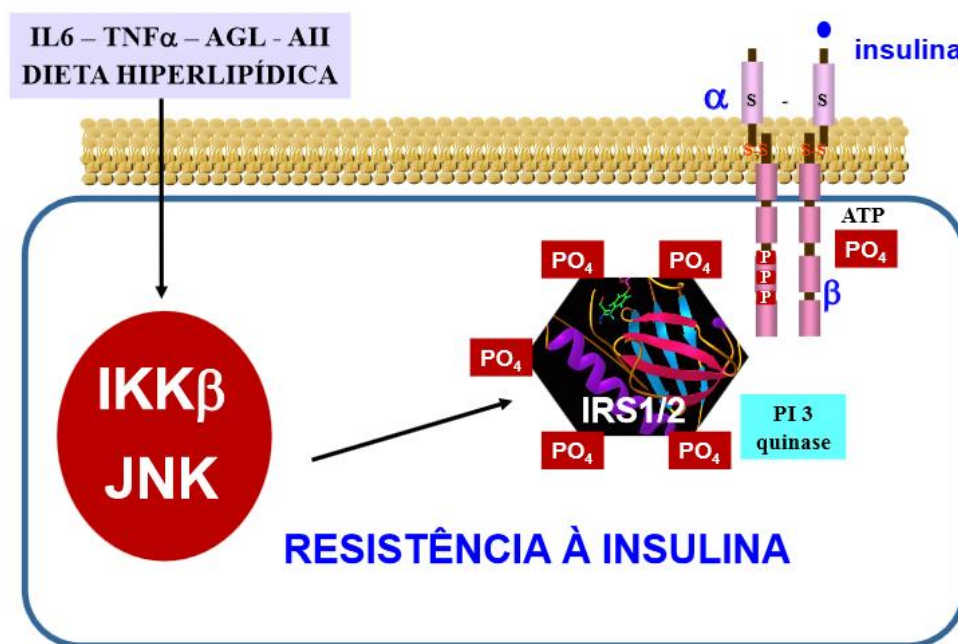


Figura 9- Mecanismos reguladores da sinalização da insulina (SAAD, 2011)

A via JNK e IKK β /NF- κ B também é ativada por receptores para produtos de glicação avançada (RAGE), e um estado de hiperglicemia prolongada somado a produção de quantidades excessivas de AGEs podem ativar o NF- κ B (BIERHAUS et al., 2005).

Os Produtos Finais de Glicação Avançada (AGEs) são um grupo heterogêneo de moléculas produzidas por glicação e oxidação *in vivo* (THORNALLEY et al., 2003). Os AGEs são importantes no desenvolvimento do DM2 porque modificam proteínas de matriz celular e proteínas circulantes (BROWNLEE, 2005), e tanto a hiperglicemia quanto o estresse oxidativo contribuem para a sua formação (FURUKAWA et al., 2004).

A ligação entre estresse oxidativo e AGEs pode, em parte, ser explicada pela relação entre hiperglicemia e disfunção endotelial e dano tecidual, como mostrado no estudo feito por WAUTIER e colaboradores em 1994. Neste trabalho foi demonstrada que a interação entre AGEs e seu receptor (RAGE) induz a ativação de estresse oxidativo, estimula a produção e liberação de citocinas, amplificando seu dano tecidual (WAUTIER et al., 2004).

Apesar da considerável compreensão científica dos mecanismos de ação e das alterações moleculares que levam à resistência à insulina, ainda é necessário a realização de estudos que visem uma melhor definição de algumas das etapas das vias

de transmissão do sinal e a reversão destes bloqueios à sinalização, e o resultados destes estudos podem sugerir uma nova abordagem terapêutica para o tratamento e até mesmo a prevenção dessas doenças.

2.4.7 O Tratamento do Diabetes.

Muitas vezes há uma prevalência de casos de diabetes tipo 2 associado a um quadro de obesidade e um estilo de vida sedentário. Inicialmente é imprescindível estabelecer um plano alimentar saudável e um programa de atividade física. Se isso for insuficiente para controlar o problema, medicações orais ou insulina podem ser prescritas.

O tratamento não-medicamentoso da doença refere-se a orientação nutricional e o estabelecimento de dieta para controlar pacientes com DM, bem como a realização de atividades físicas, estas são considerados terapias de primeira escolha (SÃO PAULO, 2011). Está comprovado que essa associação implica numa melhora na sensibilidade à insulina, diminui os níveis plasmáticos de glicose e, de forma expressiva, a circunferência abdominal e a gordura visceral, altera de forma positiva o perfil metabólico com redução nos níveis de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), triglicerídeos e aumento de HDL-c (SBD, 2009).

Quando o tratamento não-medicamentoso é insuficiente para enfrentar o problema, há a necessidade de intervenção farmacológica. Nestes casos faz-se o uso de hipoglicemiantes orais, que em sua maioria tem como efeito principal a redução da glicotoxicidade e podem promover um controle glicêmico a longo prazo por diferentes mecanismos de ação.

Entre os fármacos de escolha podemos citar os secretagogos de insulina como as sulfonilureias e glinidas que atuam aumentando a secreção de insulina pelas células beta.

A glicazida, que através de experimentos *in vitro* (DEL, G. S. et al 2007) mostrou propriedades antiapoptóticas e antioxidantes na célula beta, quando estas são expostas a altas concentrações de glicose. As biguanidas, como a metformina, são fármacos suprimem a sinalização do glucagon no fígado por diminuição da produção de AMP cíclico, resultando em redução da glicemia de jejum (MILLER, R.A. et al., 2013)

e também protegem as células beta do estresse oxidativo intracelular (MARCHETTI et al., 2004).

Outra opção de drogas para o tratamento do DM2 são inibidores da enzima intestinal α -glicosidase, a acarbose, trata-se de um hipoglicemiante oral que retardar a absorção de polissacarídeos (efeito pós prandial), embora seu uso seja limitado por conta de seus efeitos colaterais tais como: elevação das enzimas hepáticas, dores abdominais entre outros (CHIASSON et al., 2003).

As tiazolidinadionas são uma nova classe de compostos antidiabéticos desenvolvidos para o tratamento de pacientes com DM2. Nesta classe também conhecida como glitazonas, temos os agonistas PPAR- γ , que são fármacos que melhoram a resistência insulínica porque interferem em diferentes mecanismos no tecido adiposo, músculo e fígado. Essas glitazonas promovem um remodelamento do tecido adiposo resultando em melhora na sensibilidade à insulina. As TZD reduzem a produção de citocinas inflamatórias que normalmente estão aumentadas na ocorrência da resistência à insulina e a apoptose de células beta (ZEENDER et al., 2004). A Figura 10 ilustra um esquema geral da regulação fisiológica e farmacológica da homeostase da glicose.

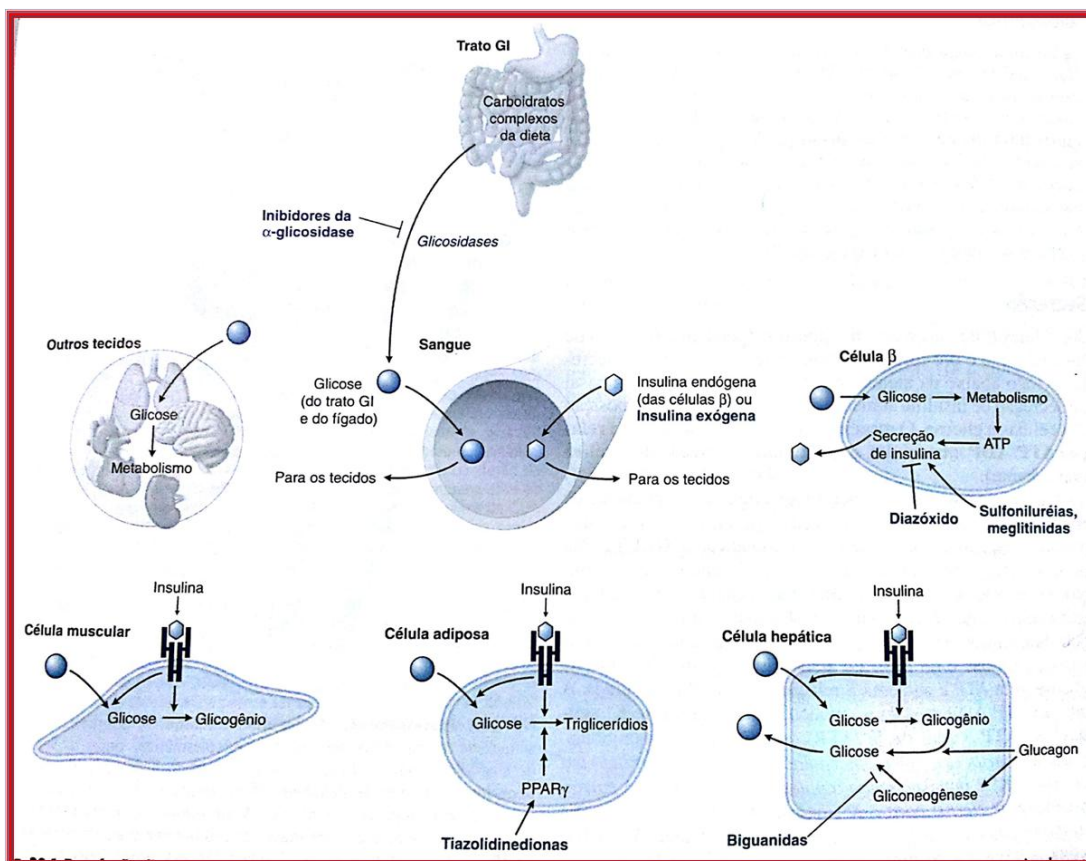


Figura 10- Regulação fisiológica e farmacológica da homeostase da glicose. (Adaptado de Golan, et al., 2009).

- Tiazolidinadionas e Mecanismo de Ação

Nas últimas décadas, os compostos heterocíclicos que apresentam o anel tiazolidínico têm sido alvos de extensos estudos químico e biológico. Dentre estes, destacam-se as tiazolidina-2,4-dionas (a), grupo de compostos bioisósteros da hidantoína (b) estruturalmente diversos (Figura 11).

A importância dessas tiazolidinadionas (TZDS) se dá pela viabilidade de sua síntese, podendo ser preparados em poucas etapas sintéticas, com produtos acessíveis, metodologia eficaz e economicamente viável obtendo-se produtos com bons rendimentos. Estes compostos são capazes de influenciar a regulação de diferentes cascatas moleculares, com implicações importantes no tratamento do câncer, doenças metabólicas, inflamatórias e neurodegenerativas (RAKOWITZ et al., 2006), hipoglicemiantes (ARAÚJO et al., 2012), anti-tumoral atuam em cânceres de cólon e mama (MORETTI et al., 2001; PANIGRAHY et al., 2002), anti-oxidante (JEONG et al., 2004), antichagásica (MOREIRA et al., 2013), anti-inflamatória (VIEIRA et al., 2013) entre outras.

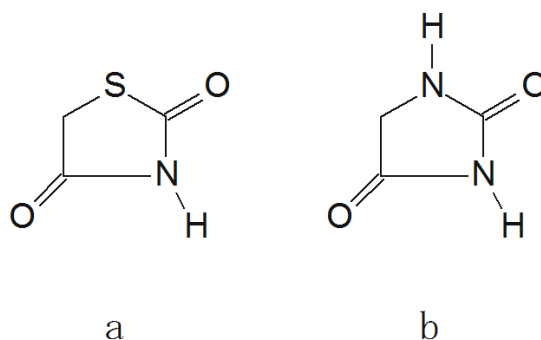
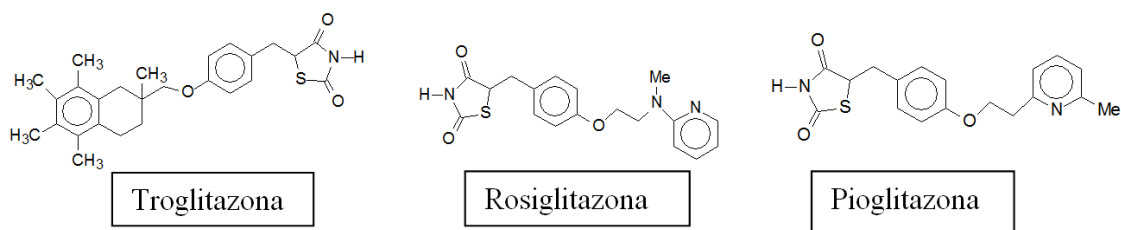


Figura 11 - Compostos bioisósteros tiazolidina-2,4-diona (a) e hidantoína (b).

Há relatos que as tiazolidinadionas melhoram a sensibilidade à insulina em tecidos periféricos e baixam os níveis de glicose e insulina plasmáticas em modelos experimentais de diabetes e em pacientes com DMNID (FUJIWARA, T., et al 1988; SUTER, S.L., et al 1992; SILVA, O.A. 2010; LEITE^b et al., 2007). Foi demonstrado

que um dos alvos moleculares dos derivados tiazolidínicos são os Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissoma Gama (PPAR γ) (LEHMANN et al., 1995). Atuando sobre estes receptores, as TZDs estimulam a diferenciação dos adipócitos e aumentam a insulino- sensibilidade dos tecidos (MOURÃO et al., 2005; LEITE^b et al., 2007).

Os receptores nucleares PPAR γ são responsáveis pelo balanceamento energético e hormonal atuando principalmente no metabolismo de lípidios e glicose. Apresentam atividades antiinflamatórias, imunomoduladora e anti-aterosclerótica. Esses receptores estão associados a várias doenças como DM2, arteriosclerose e obesidade (WILLSON et al., 2001). O papel fisiológico dos receptores PPAR γ revela-se após sua ligação à ligantes específicos. Os receptores PPAR γ são especificamente ligados as tiazolidinas (Figura 12) e apresentam atividade anti-diabética.



Haja vista que a hiperinsulinemia resultante da resistência a insulina em tecidos periféricos pode aumentar a reabsorção de sódio renal (DEFRONZO, R.A. et al, 1975) e/ou aumentar a atividade simpática (ROWE et al., 1981), provocando assim um aumento de pressão arterial em modelos de roedores hipertensos, bem como em pacientes com hipertensão essencial, tais drogas poderiam melhorar não só os distúrbios metabólicos subjacentes, mas também a hipertensão.

Dados da literatura mostram drogas como a ciglitazona (PERHADSINGH et al., 1993) e a troglitazone (YOSHIOKA et al., 1993) exercendo um efeito hipotensor em ratos Zucker obesos. Com base nestas informações o presente estudo teve como objetivo avaliar se a insulino - resistência e hiperinsulinemia, induzida por uma dieta hiperlipídica, contribuem para o aumento da hipertensão arterial em ratos espontaneamente hipertensos (SHR, um modelo que se aproxima da hipertensão essencial no homem), e se o tratamento com tiazolidinas revertem estes efeitos.

2.5 Modelos Animais

A fisiopatologia da obesidade e alterações cardíacas é comumente relacionada ao estresse oxidativo, estresse do retículo endoplasmático, apoptose e dislipidemias, (LI et al., 2006; REN et al., 2010), porém nenhuma das condições acima mencionadas pode ser considerado o fator causal da cardiomiopatia da obesidade.

Estudos demonstram que a obesidade pode estar associada ao aumento do risco de doenças coronarianas, hipertensão arterial, diabetes mellitus, sendo inúmeros os efeitos da obesidade nas doenças cardiovasculares, e a hipertensão é o mais relevante. A incidência de hipertensão arterial aumenta com a obesidade, entretanto, os mecanismos que confirmam essa relação ainda não estão claros (WANG et al., 2003), isto pode se dar primeiramente pela limitação de modelos animais de hipertensão associados com obesidade.

O estudo dos mecanismos pelos quais a obesidade induz as disfunções fisiológicas pode ser facilitado com a utilização de um modelo animal. Existem diferentes modelos, geralmente roedores, que desenvolvem a obesidade a partir de mutações genéticas (ROSINI et al., 2012).

Modelos experimentais com dietas hiperlipídicas que visam induzir um estado pré-diabético com obesidade em animais normotensos ou hipertensos, são utilizados

para entender melhor o mecanismo envolvido nas anomalias cardíacas da obesidade (DOBRIAN et al., 2000; RELLING et al., 2006; SILVA, O.A. 2010).

Trabalhos como o de Zhang et al., 2012, evidenciam que a obesidade induzida por dieta rica em gordura acompanhada pela resistência à insulina e inflamação, levam a hipertrofia cardíaca e disfunção do miocárdio, porém ainda é obscura a patogênese precisa da hipertrofia cardíaca e disfunção contrátil em obesidade induzida por estes modelos.

Os efeitos de uma dieta hiperlipídica sobre os parâmetros cardiovasculares são controversos, pois em modelos animais para o estudo experimental da hipertensão, nem sempre a suplementação calórica repercute em elevação da pressão arterial. O estudo clássico de Contreras e Williams (1989) cita que a suplementação calórica por seis semanas em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) não demonstrou aumento da pressão, mas paradoxalmente, sua redução.

A hipertensão e obesidade coexistem em ratos espontaneamente hipertensos obesos (Koletsky rat) (KOLETSKY e ERNSBERGER, 1991). Os ratos desta linhagem apresentam uma predisposição genética para a hipertensão sobre a qual a síndrome da obesidade genética é fortemente expressa (ERNSBERGER et al., 1994). Nesses animais o fenótipo da obesidade é expresso por um único gene recessivo (FAK) em relação a linhagem Zucker (fa) que trata-se de uma linhagem obesa predisposta a obesidade. Quando há o cruzamento entre dois animais heterozigotos (Fa^k / fa^K), cerca de um quarto da prole serão obesos (fa^K / fa^K). Animais SHR obesos são estéreis, portanto, a cepa Koletsky foi mantida durante mais de 50 gerações do acasalamento entre ratos irmãos heterozigotos magros.

Diferente dos humanos, a gênese da obesidade em animais de laboratório está relacionada, em grande parte, a modificações genéticas que podem alterar ou suprimir a secreção de neuropeptídeos, hormônios relacionados com saciedade ou metabolismo.

Além disso, de acordo com o gene modificado, os animais desenvolvem a obesidade precoce ou tardia, em conjunto com outras patologias associadas como resistência à insulina, diabetes mellitus, hipercolesterolemia, hipertensão arterial e infertilidade, possibilitando a investigação da fisiopatologia da obesidade e das suas comorbidades (ROSINI et al., 2012).

Considerando que o modelo deve ser o mais próximo possível da gênese da obesidade em humanos, a indução desta condição via consumo de uma dieta altamente

palatável e com alto valor energético parece ser o mais apropriado. Assim, um dos objetivos deste trabalho foi apresentar um protocolo de indução da obesidade em ratos espontaneamente hipertensos via consumo de uma nova dieta palatável rica em lipídeos, e verificar as disfunções metabólicas e vasculares induzidas por esta.

2.6 Alterações Vasculares na Síndrome Metabólica

É comum a associação entre obesidade, intolerância à glicose, diabetes não insulino-dependente (NIDDM) e o desenvolvimento de hipertensão arterial (HALL et al., 2010; SIRONI et al., 2008), e há muito tempo sabe-se que a hipertensão essencial relacionada à obesidade está associada com uma disfunção do tecido adiposo, resistência à insulina e dislipidemias (MODAN et al., 1985; FERRANNINI et al., 1987).

Em muitos casos a ocorrência de hiperinsulinemia devido à resistência à insulina em tecidos periféricos, principalmente músculo esquelético, pode aumentar a reabsorção de sódio renal (DEFRONZO, 1975) e/ou aumentar a atividade simpática (ROWE, 1981) provocando uma elevação da pressão arterial.

A função endotelial também pode ser prejudicada pelo acúmulo de gordura visceral ou obesidade. Nesta condição patológica, há uma desregulação na secreção de adipocinas por meio da hipertrofia dos adipócitos, isso promove um estado inflamatório sistêmico e contribui para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DAVEL et al., 2011; TRIGGLE et al., 2012).

O tecido adiposo perivascular (PVAT) pode exercer influência sobre a função endotelial ou do músculo liso vascular por meio da liberação de citocinas, pela via da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH)-oxidase e pela geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) tais como: O_2^- , H_2O_2 (GAO et al., 2007). Além disso, a adiponectina aumenta a liberação de NO pela via da sinalização chave PI3K/AKT e AMPK e contrabalance-a o efeito do estresse oxidativo induzido pela hiperglicemia, indicando que o tecido adiposo pode exercer um importante papel na geração de fatores pró e anti- estresse oxidativo (XIAO et al., 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAIS

Avaliar o potencial terapêutico de um novo derivado tiazolidínico LPSF/GQ-130 sobre parâmetros cardiovasculares e metabólicos de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) alimentados com uma dieta hiperlipídica (DH).

3.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito de 14 semanas de DH sobre a ingestão alimentar, consumo hídrico, peso corporal, e o perfil de gordura visceral de ratos SHRs;
- Avaliar o efeito da DH e do tratamento com TZDs sobre os níveis plasmáticos de glicose, triglicerídeos, colesterol total e frações, enzimas hepáticas, PCR, ureia e creatinina;
- Analisar o efeito da DHL e do tratamento com TZDs sobre a tolerância à glicose, através do teste de tolerância à glicose (TTG), e sobre a sensibilidade à insulina, através do teste de tolerância à insulina (TTI);
- Avaliar o efeito da dieta hiperlipidêmica sobre a reatividade vascular e sobre a pressão arterial.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIRRE, V.; et al. The c-Jun N-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser(307). **J. Biol. Chem.** v. 275, p.9047–9054, 2000.

ALBERTI K, G. Harmonizing the Metabolic Syndrome: A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. v.120, n.16, p.1640-5, 2009.

ALVEZ, M.N.R. Os efeitos da obesidade na resposta imune. **Rev Bras Nutr Clin**; v.21, n.4, p.316-319, 2006.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, Standards of medical care in diabetes, **Diab. Care** 27 (Suppl. 1), S15–S35, 2004.

ANTUNA-PUENTE, B.; et al. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. **Diabetes Metab.**; v.34, n.1, p.2-11, 2008.

ARAÚJO, T. G.; et al. Metabolic effects of benzyldiene thiazolidinedione derivatives in high-fat fed mice. **Medicinal Chemistry Research**; v. 21, p. 2408-2414, 2012.

ARNER P. Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. **Ann Med.** v.27, n.7, p.435-8, 1995.

ASTRUP, A.; FINER, N. Redefining type 2 diabetes: “diabesity” or obesity dependent diabetes mellitus? **Obes. Rev.** v.1, p.57–59, 2000.

ATHYROS, V.G., et al. Should adipokines be considered in the choice of the treatment of obesityrelated health problems? **Curr Drug Targets.** v.11, p.122–35, 2010.

BAGI, Z.; et al. Type 2 diabetic mice have increased arteriolar tone and blood pressure: enhanced release of COX-2-derived constrictor prostaglandins. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* v.25, n.8, p.1610-1616.,doi:10.1161/01.ATV.0000172688.26838.9f. PMID:15947245. 2005

Thromb. Vasc. Biol. v.25, n.8, p.1610-

1616.,doi:10.1161/01.ATV.0000172688.26838.9f. PMID:15947245. 2005

BARNES, K.M.; MINER, J.L. Role of resistin in insulin sensitivity in rodents and humans. *Curr Protein Pept Sci*, v.10, p.96–107, 2009.

BARZILAY, J.I.; et al. The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Diabetes*. v.50, p.2384–2389, 2001.

BATLOUNI, M. Endotélio e hipertensão arterial. *Rev Bras Hipertens* v.8, p.328-38, 2001.

BIERHAUS, A., et al. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J. Mol. Med.* v.83, p.876–886, 2005.

BONORA, E.; et al. Relationships between insulin secretion, insulin metabolism and insulin resistance in mild glucose intolerance. *Diabetes Metab.*, v. 2, p. 116-121, 1987.

BRASIL^a, Ministério da Saúde. **Coordenação Nacional de Hipertensão e Diabetes- CNHD**. 2011.

BRASIL^b, Ministério da Saúde. Portal de Doenças Crônicas Não Transmissíveis. **Pesquisa Vigitel- Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico**. Brasília, 2013. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/13145/893/mais-da-metade-da-populacao-brasileira-tem-excesso-de-peso.html> Acesso em: 04-10-13.

BRASIL^c, Ministério da Saúde. Portal da Saúde. **DOENÇAS CRÔNICAS Hipertensão atinge 24,3% da população adulta 2013**. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/14109/162/hipertensao-atinge-243-da-populacao-adulta.html> Acesso em 06-11-13.

BRASIL^d, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Caderno de Atenção Básica nº 14. **Prevenção Clínica de Doença Cardiovascular, Cerebrovascular e Renal Crônica**. Ministério da Saúde, 2010.

BROWNLEE, M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. **Diabetes**. v.54, n.6, p.1615-25, 2005.

BUIJS, M.M.; Blunted lipolytic response to fasting in abdominally obese women: evidence for involvement of hyposomatotropism. **Am J Clin Nutr.**; v.77,n.3, p.544-50, 2003.

BUND, S.J. Spontaneously hypertensive rat resistance artery structure related to myogenic and mechanical properties. The Biochemical Society and the Medical Research Society. **Clinical Science.**; v.101, p.385–393, 2001.

CARVALHEIRA, J.B.C.; ZECCHIN, H.G.; SAAD, M.J.A. Vias de Sinalização da Insulina. **Arquivos Bras Endocrinol Metab.**; v.46, n.4, Agosto 2002.

CERIELLO, A.; MOTZ, E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revised. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. v.24, n.5, p. 816-23, 2004.

CHIASSEN, J.L.; et al. STOP-NIDDM Trial Research Group. Acarbose Treatment and the risk of cardiovascular disease and hypertension in patients with impaired glucose tolerance: the STOP-NIDDM trial. **JAMA** 2003. v.290, p.486 94, 2003.

CROSS, D.A.; et al. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. **Nature**, v.378, p.785-9, 1995.

CROVETTI, R.; et al. The influence of thermic effect of food on satiety. **Eur J Clin Nutr**, v.52, n.7, p.482-8, 1998.

DAVE, A.P.; et al. Endothelial dysfunction in cardiovascular and endocrine metabolic diseases: an update. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.44, p.920-932, 2011.

DEFRONZO, R.A.; et al. The effects of insulin on renal handling of sodium, potassium, calcium, and phosphate in man. **J Clin Invest.** v.5, p.845-855, 1975.

DEGAWA-YAMAUCHI, M.; et al. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. **J Clin Endocrinol Metab**, v.88:54525, 2003.

DEL, G. S.; et al. Gliclazide protects human islet beta-cells from apoptosis induced by intermittent high glucose. **Diabetes Metab Res Ver**, v.23, p.234-8, 2007. Disponível em: <http://foruns.bc.unicamp.br/Arquivos%20Biblioteca%20Virtual/Palestras/03-11/Mario%20Saad.pdf> Acesso em 12 de novembro de 2013.

DOBRIAN, A.D.; Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. **Hypertension.** v.35, p.1009–1015, 2000.

DZAU, V.J. Significance of endothelial derived vasoactive substances. **J Vasc Med Biol**, v.1, p.43-55, 1989.

ERNSBERGER, P.; **Refeeding hypertension in obese spontaneously hypertensive rats.** Hypertension. v.24, p.699-705, 1994.

ESPOSITO, K.; et al. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women. **JAMA**, v. 289, n. 14, p. 1799-1804, 2003.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines and inflammation. **J Allergy Clin Immunol**, v.115, n.5, p.911-919, 2005.

FERRAMOSCA, A.; et al. Differential effects of high-carbohydrate and high-fat diets on hepatic lipogenesis in rats. **European Journal of Nutrition.** 2013.

FERRANNINI, E.; et al. Insulin resistance in essential hypertension. **N Engl J Med.** v.317, p.350-357, 1987.

FONSECA-ALANIZ MH, TAKADA J, ALONSO-VALE MIC, LIMA FB. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.50, n.2, p.216-229, 2006.

FONSECA-ALANIZ, M.H.; et al. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.50, n.2, p.216-229, 2006.

FORD, E.S.; GILES, W.H.; DIETZ, W.H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. **JAMA**, v.287, p.356–9, 2002.

FUJIWARA, T.; et al. Characterization of CS-045, a new oral antidiabetic agent. II effects on glycemic control and pancreatic islet structure at a late stage of the diabetic syndrome in C57BL/Ksj-db/db mice. **Metabolism**, v.40, p.1213-1218, 1991.

FUJIWARA, T.; et al. Characterization of new oral antidiabetic agent CS-045: studies in KK and ob/ob mice and Zucker fatty rats. **Diabetes**. v.37, p.1549-1558, 1998.

FURCHGOTT, R.F.; VANHOUTTE, P.M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. **FASEB J**, v.3, p.2007-18, 1989.

FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, p.373-376, 1980.

FURUKAWA, S.; et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **J Clin Invest**, v.114, p.1752-61, 2004.

HOTAMISLLIGIL, G.S.; SHARGILL, N.S.; SPIEGELMAN, B.M. Adipose expression of tumor necrosis factor- α direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**, v.259, p.87–91, 1993.

GALLEY, H.F.; WEBSTER, N.R. Physiology of the endothelium. **Br.J.Anaesth.** v. 93, n.1, p.105–113, 2004. doi:10.1093/bja/ae163. PMID:15121728.

GAO,Y.J.; et al. Modulation of vascular function by perivascular adipose tissue: the role of endothelium and hydrogen peroxide. **Br. J. Pharmacol.** v.151, n.3, p.323–331, 2007. doi:10.1038/sj.bjp.0707228. PMID:17384669.

GHARIBEH M.Y.; et al. Correlation of plasma resistin with obesity and insulin resistance in type 2 diabetic patients. **Diabetes & Metabolism**, v.36, p.443–449, 2010.

GLUAIS, P.; et al. Acetylcholine-induced endothelium-dependent contractions in the SHR aorta: the Janus face of prostacyclin. **Br.J. Pharmacol.** v.146, n.6, p.834–845, 2005. .doi:10.1038/sj.bjp.0706390.PMID: 16158068.

GRYGLEWSKI, R.; BOTTING, R.; VANE, J.R. Mediators produced by the endothelial cell. **Hypertension**, v.12, p.530–48, 1988.

GUIMARÃES, D.E.D.; et al. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Rev Nutr**, v.20, n.5, p.549–559, 2007.

KURIYAMA, H.; MATSUZAWA, Y. Molecular mechanism of hyperlipidemia in the OLETF rat, In: K. Shima (Ed), Obesity and NIDDM: Lessons From the OLETF Rat. **Elsevier Science**, Amsterdam, The Netherlands, P.149–157, 1999.

HALL J. E.; et al. Obesity-induced Hypertension: Role of Sympathetic Nervous System, Leptin, and Melanocortins. **J. Biol. Chem**, v.285, p.17271–17276, 2010.

HASEGAWA, G.; et al. Increased serum resistin levels in patients with type 2 diabetes are not linked with markers of insulin resistance and adiposity. **Acta Diabetol**, v.42, p.104–9, 2005.

HEILBRONN LK, et al. Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese, and obese diabetic subjects. **J Clin Endocrinol Metab**, v.89, p.1844–8, 2004.

HERMSDORFF, H. H.M.; MONTEIRO, J.B.R. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema? **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.48, n.6, São Paulo Dec. 2004.

HOTAMISLIGIL, G.S.; et al. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. **Science**, v.271, p.665-8, 1996.

HSUEH, W.A.; LAW, R. The central role of fat and effect of peroxisome proliferator-activated receptor-g on progression of insulin resistance and cardiovascular disease. **Am J Cardiol**, v.93, p.3j-9j, 2003.

WHO, 2011. World Health Organization (03/2011). Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> Acesso em: 22/03/11.

HUANG, E. S.; SHOOK, M.; JIN, L. The impact of patient preferences on the cost-effectiveness of intensive glucose control in older patients with new-onset diabetes. **Diabetes Care**, v. 29, n. 2, p. 259-264, 2006.

HUDA, M.; WILDING, J.P.H.; PINKNEY, J.H. Gut peptides in the regulation of appetite. **Obes Rev**, n.7, p.163-82, 2006.

INTERNATIONAL DIABETES FEDARATION (IDF). International Diabetes Federation's 5th edition of the Diabetes Atlas. Disponível em: <<http://www.idf.org/diabetesatlas/news/fifth-edition-release>>. Acesso em: 14/11/12.

JOHNSTON, C.S.; DAY, C.S.; SWAN, P.D. Postprandial thermogenesis is increased 100% on a high-protein, low-fat diet versus a highcarbohydrate, low-fat diet in healthy, young women. **J Am Coll Nutr**, v. 21, n.1, p.55-61, 2002.

JOHNSTONE, A.M.; STUBBS, R.J.; HARBRON, C.G. Effects of overfeeding macronutrients on day-to-day food intake in man. **Eur J Clin Nutr**, v.50, p.418-430, 1996.

JUGE-AUBRY, C.E.; ELVIRE, H.E.; MEIER, C.A. Adipose tissue: a regulator of inflammation. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**. v.19, n.4, p.547-66, 2005.

KAHN, C.R. Current concepts of the molecular mechanism of insulin action. **Ann Rev Med**, v.36, p.429-51, 1985.

KAWANAMI, D.; et al. Direct reciprocal effects of resitin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions. **Biochem. Biophys Res. Commun.**, v. 314, n. 2, p. 415-419, 2004.

KELLEY, D. E.; GOODPASTER, B. Skeletal Muscle Triglyceride. An aspect of regional adiposity and insulin resistance. **Diabetes Care**, v.24, p.933–941, 2001.

KELLEY, D.E.; et al. Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity, and weight loss. **The American Physiological Society**. 0193-1849/99

KIM, K.H.; et al. A cysteine-rich adipose tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation. **Journal of Biological Chemistry**, v.276, p.11252–11256, 2001.

KIM, S.; MOUSTAID-MOUSSA, N. Secretory, endocrine and autocrine/paracrine function of adipocyte. **Journal of Nutrition**. v.130, p.3110S-5S, 2000.

KING, H.; AUBERT, R.; HERMAN, W. Global burden of diabetes, 1995–2025. Prevalence, numerical estimates and projections, **Diab. Care**, v21, p.1414–1431, 1998.

KISSEBAH, A. Intra-abdominal fat: is it a major factor in developing diabetes and coronary artery disease. **Diab. Res. Clin. Prac.** 30 (Suppl.)S25–S30, 1996.

KOLETSKY, R.J.; ERNSBERGER, P. Obese SHR (Koletsy rat): a model for the interactions between obesity and hypertension. In: Sassard J, ed. Genetic Hypertension. London, UK: John Libbey; p.373-375, 1992.

KRIEGER, E.M.; FRANCHINI, K.G.; KRIEGER, J.E. **Fisiopatogenia da Hipertensão Arterial**. Simpósio: Hipertensão Arterial Capítulo I. Medicina- Ribeirão Preto. v.29, p.181-192, abr./set. 1996.

KUPRIYANOVA, T.A.; KANDOR, K.V. Akt-2 binds to Glut-4-containing vesicles and phosphorylates their component proteins in response to insulin. **J Biol Chem**; v.274, p.1458-64, 1999.

LAUDES, M.; et al. Visfatin/PBEF/Nampt and resistin expressions in circulating blood monocytes are differentially related to obesity and type 2 diabetes in humans. **Horm Metab Res**, v.42, p.268–73, 2010.

LAZAR, M.A. Resistin- and obesity-associated metabolic diseases. **Horm Metab Res** v.39, p.710–6, 2007.

LEHMANN, J.M.; et al. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). **J. Biol. Chem.** v.270, p.12953–12956, 1995.

LEITE, L.D.; ROCHA, E.D.M.; BRANDÃO-NETO, J. Obesidade: uma doença inflamatória. **Revista Ciência & Saúde**, Porto Alegre, v. 2, n. 2, p. 85-95, jul./dez. 2009.

LEITE, L.F.C.C.; Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of arylidene-thiazolidinediones with potential hypoglycemic and hypolipidemic activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, França, v. 42, p. 1263-1271, 2007.

LI, S.Y.; et al. Cardiac contractile dysfunction in Lep/Lep obesity is accompanied by NADPH oxidase activation, oxidative modification of sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase and myosin heavy chain isozyme switch. **Diabetologia**, v.49, p.1434–1446, 2006.

LONG, S.D.; PEKALA, P.H. Regulation of GLUT4 mRNA stability by tumor necrosis factor-alpha: alterations in both protein binding to the 3' untranslated region and initiation of translation. **Chem Biophys Res Commun**, v.220, v.3, p.949-53, 1996.

LOPEZ-JIME'NEZ, F.; et al. Prevalence and secular trends of excess body weight and impact on outcomes after myocardial infarction in the community. **Chest**. v.125, p.1205–12, 2004.

LOPEZ-JIME'NEZ F., BERGODERI MERY CORTE'S. Obesity and the Heart. **Rev Esp Cardiol**. v.64, n.2, p.140–149, 2010.

LORENZO, C.; et al. Trend in the prevalence of the metabolic syndrome and its impact on cardiovascular disease incidence: the San Antonio Heart Study. **Diabetes Care**, v. 29, n. 3, p. 625-630, 2006.

LUMENG, C.N.; SALTIEL, A.R. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. **The Journal of Clinical Investigation**, v.121, n.6, 2011.
Disponível em: <http://www.jci.org> , Acesso em: 11 de março de 2013.

LYON, C.J.; LAW, R.E.; HSUEH, W. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. **Endocrinology**, v.144, n.6, p.2195-200, 2003.

MAFRA, D.; FARAGE, N.E. O papel do tecido adiposo na doença renal crônica. **J Bras Nefrol**, n.28, n.2, p.108-113, 2006.

MARCHETTI, P.; et al. Pancreatic islets from type 2 diabetic Patients have functional defect and increased apoptosis that are ameliorated by metformin. **J Clin Endocrinol Metab**, n.89, p.5535-41, 2004.

MILLER, R.A.; et al. Biguanides suppress hepatic glucagon signalling by decreasing production of cyclic AMP. **Nature**, v.494, p.256–260, 2013.

MODAN, M.; et al. A link between hypertension, obesity and glucose intolerance. **J Clin Invest**, v.75, p.809-817, 1985.

MOREIRA, T. L. B.; et al. Effect of thiazolidine LPSF SF29 on the growth and morphology of *Trypanosoma cruzi*. **International Journal of Antimicrobial Agents** v. 41, p. 183-187, 2013.

MOURÃO, R. H. V.; et al. Synthesis and biological activity of novel acridinylidene and benzylidene thiazolidinediones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, França; v. 40, n. 11, p. 1129-1133, 2005.

OWENS, D.R.; ZINMAN, B.; BOLLI, G.B. Insulins today and beyond. **Lancet**, v.358: p.739–46, 2001.

PATTI, M.E.; KAHN, C.R. The insulin receptor — a critical link in glucose homeostasis and insulin action. **J Basic Clin Physiol Pharmacol**, v.9, p.89-109, 1998.

PERHADSINGH, H.A.; et al. Effects of ciglitazone on blood pressure and intracellular calcium metabolism. **Hypertension**, v.21, p.1020-1023, 1993.

PESSIN, J.E.; SALTIEL, A.R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **J Clin Invest**, v.106, p.165-9, 2000.

PICCINI, R. X.; et al. Promoção, prevenção e cuidado da hipertensão arterial no Brasil. **Rev Saúde Pública**, v.46, n.3. p.543-50, 2012.

PRADHAN, A.D.; et al. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. **JAMA**. v.286, p.327–334, 2001.

RAJALA, M.W.; SCHERER, P.E. Minireview: the adipocyte-at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. **Neuroendocrinol** v.144, n.9, p.3765-73, 2003.

RAKOWITZ, D.; et al. In vitro aldose reductase inhibitor activity of 5-benzyl-2,4-thiazolidinediones. *Bioorganic & SALTIEL A.R., OLEFSKY J.M., Diabetes*; v.45, p. 1661–1669, 1996.

RAMOS-ALVES^a, F.E.; et al. Effect of age and COX-2-derived prostanoids on the progression of adult vascular dysfunction in the offspring of diabetic rats. *British Journal of Pharmacology*, v. 166, p. 2198-2208, 2012

RAMOS-ALVES^b, F.E.; et al. Increased cyclooxygenase-2-derived prostanoids contributes to the hyperreactivity to noradrenaline in mesenteric resistance arteries from offspring of diabetic rats. **Plos One**, v. 7, p. e50593, 2012.

RAPOPORT, R.M.; WILLIAMS, S.P. Role of prostaglandins in acetylcholine-induced contraction of aorta from spontaneously hypertensive and Wistar–Kyoto rats. **Hypertension**, v.28, n.1, p.64–75. PMID:8675266. 1996.

REAVEN, G.M.; BANTING, L. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v.37, n.12, p.1595-607, 1988.

RELLING, D.P.; et al. High-fat diet-induced juvenile obesity leads to cardiomyocyte dysfunction and upregulation of Foxo3a transcription factor independent of lipotoxicity and apoptosis. **J Hypertens**. v. 24, p.549–561, 2006.

REN, J.; et al. Mitochondrial biogenesis in the metabolic syndrome and cardiovascular disease. **J Mol Med**. v.88, p.993–1001, 2010.

RESELAND, J.E.; et al. Effect of long-term changes in diet and exercise on plasma leptin concentrations. **Am J Clin Nutr**. v.73, n.2, p.240-5, 2001.

REYES, J.G.G.; Genómica nutricional y obesidad. **Rev Endocrinol Nutr**. v.14, n.4. p.247- 56, 2006.

RICOTE, M.; et al. The peroxisome proliferator- activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. **Nature**, v.391, p.79–82, 1998.

ROSINI, T.C.; SILVA, A.S.R.; MORAES, C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. **Rev Assoc Med Bras**, v.58, n.3, p.383-387, 2012.

ROWE, J.W.; et al. Effect of insulin and glucose infusions on sympathetic nervous system activity in normal man. **Diabetes**. v.30, p.219-225, 1981.

ROWE, J.W., et al. **Effect of insulin and glucose infusions on sympathetic nervous system activity in normal man.** Diabetes. v.30, p.219-225, 1981.

SAAD, M.J.A. **As múltiplas faces da resistência à insulina.** Palestra ministrada no Fóruns permanente de esporte e saúde. FCM-UNICAMP 2011.

SÃO PAULO (Estado), Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo, Organização Pan-Americana da Saúde. **Manejo do Tratamento de Pacientes com Diabetes.** São Paulo, Fascículo VII, 2011. Disponível em http://new.paho.org/bra/images/stories/BRA02C/fcian%C3%A3o%C3%A9simplescomercio_fasciculo7.pdf acesso em 08 de outubro de 2013.

SATO, T.; et al. Insulin resistance in skeletal muscle of the male Otsuka Long- Evans Tokushima Fatty rat, a new model of NIDDM. **Diabetologia**, v.38, p.1033–1041, 1995.

SBEM^a - SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLISMO **Síndrome Metabólica: Tratamento com Fibratos.** Projeto Diretrizes iniciativa conjunta da Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. 2006 . Disponível em http://www.projetodiretrizes.org.br/5_volume/37-Fibrat.pdf Acesso em 09 de outubro de 2013.

SBEM^b – 2010. **Síndrome metabólica. Cuidados com a saúde.** Sociedade Brasileira de Endocrinologia Médica, Rio de Janeiro, 2010. Disponível em <http://www.endocrino.org.br/a-sindrome-metabolica/> Acesso em 09 de outubro de 2013.

SBH - SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. **Arq Bras Cardiol.** v.84, (Supl 1), p.1-28, 2005.

SCHIFFELERS, S.L.H.; et al. β 1- and β 2- adrenoceptor-mediated thermogenesis and lipid utilization in obese and lean men. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n.5, p. 2191-9, 2001.

SCHWARTZ, M.W.; et al. Model for the regulation of energy balance and adiposity by the central nervous system. **Am J Clin Nutr**, v.69, n.4, p.584-96, 1999.

SHOELSON, S.E.; LEE, J.; GOLDFINE, A.B. **Inflammation and insulin resistance**. The Journal of Clinical Investigation. v.116, n.7, 2006. Disponível em: <http://www.jci.org> Acesso em: 19 outubro de 2012.

SILHA, J.V.; et al. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. **Eur J Endocrinol**, v.149, p.331–5, 2003.

SILVA, O.A. **Estudo dos efeitos de uma nova tiazolidinadiona sobre disfunção metabólica causada por dieta hiperlipídica em ratos wistar. Recife, 2010.** Originalmente apesado como dissertação de mestrado na Universidade Federal de Pernambuco. 2010.

SILVEIRA, M. R.; Correlation between obesity, adipokines and the immune system. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum**, v.11, n. 4, p.466-472, 2009.

SIRONI, A.M.; et al. Early hypertension is associated with reduced regional cardiac function, insulin resistance, epicardial, and visceral fat. **Hypertension**, v. 51, p.282-8, 2008.

STEPPAN C.M.; et al. The hormone resistin links obesity to diabetes, **Nature**, v.409 p.307–312, 2001.

STOFKOVA A. **Resistin and visfatin: regulators of insulin sensitivity, inflammation and immunity**. Endocr Regul 2010;44:25–36.

SUTER, S.L.; et al. Met-abolic effects of new oral hypoglycemic agent CS-045 in NIDDM subjects. **Diabetes Care**. v.15, p.193-203, 1992.

THORNALLEY, P.J.; et al. Quantitative screening of advanced glycation endproducts in cellular and extracellular proteins by tandem mass spectrometry. **Biochem J**. v.1, n.375, p.581-92, 2003.

TILG, H.; MOSCHEN, A.R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and Immunity. **Nature Publishing Group**. v.6, p.772-83, 2006.

TIROSH, A. Adolescent BMI Trajectory and Risk of Diabetes versus Coronary Disease. **N Eng J Med**. v.364, n.14, p.1315-25, 2011.

TRIGGLE, C.R.; et al. The endothelium : influencing vascular smooth Muscle in many ways. **Can.J. Physiol. Pharmacol**. v.90, p.713-38, 2012.

UNGER, R.H. Lipotoxicity in the pathogenesis of obesity dependent NIDDM, genetic and clinical implications, **Diabetes**, v.44, p.863-870, 1995.

VANE, J.R.; ANGARD, E.E.; BOTTING, R.M. Regulatory functions of the vascular endothelium. **N Engl J Med**, v.323, p.27-36, 1990.

VIEIRA, A. C. Q. M.; et al. Physical-chemical characterization of new anti-inflammatory agent (LPSF/GQ-130) and evaluation of its thermal compatibility with pharmaceutical excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 13, p. 3358-3372, 2013.

WANG, M. H.; et al. Downregulation of renal CYP-derived eicosanoid synthesis in rats with diet-induced hypertension. **Hypertension**, v. 42, n. 4, p. 594-599, 2003.

WANG, Y.; et al. Telmisartan prevents high fat diet induced hypertension and decreases perirenal fat in rat. **Journal of Biomedical Research**, v.26, n.3, p.219-225, 2012.

WAUTIER, J.L.; et al. Advanced glycation end products (AGEs) on the surface of diabetic erythrocytes bind to the vessel wall via a specific receptor inducing oxidant stress in the vasculature: a link between surface-associated AGEs and diabetic complications. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v.91, n.16, p.7742-6, 1994.

WAY, J.M.; Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator activated receptor agonists. **Journal of Biological Chemistry**, v.276, p.25651-25653, 2001.

WHITE, M.F. The insulin signaling system and the IRS proteins. **Diabetologia**. v.40, s.2-s17, 1997.

WHO. World Health Organization. Noncommunicable diseases country profiles 2011. Geneva: WHO, 2011a.

WILDING, J.P.H. Pathophysiology and a etiology of obesity. Obesity and metabolic complications. **Medicine**, v.39, p.1 .Elsevier, 2010.

WISSE, B.E. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. **J Am Soc Nephrol**. , v.15, p.2792-800, 2004.

World Health Organization. **Obesity: Preventing and managing the global epidemic report on a WHO consultation**. WHO Technical Report Series 894. Geneva: WHO; 2000.

XIAO,X.; et al. Adiponectin protects endothelial cells from the damages induced by the intermittent high level of glucose. **Endocrine**, v.40, n., p.386–393. doi:10.1007/s12020-011-9531-9.PMID:21948177.

XIONG,H.Y.; et al. Endothelin-1 stimulates leptin production in adipocytes. **Journal of Biological Chemistry**, v.276, p.28471–28477, 2001.

YAMASHITA.; et al. Insulin resistance and body fat distribution. **Diabetes Care**. v.19 p. 287–291, 1996.

YOSHINO, G.; HIRANO, T.; KAZUMI, T. Dyslipidemia in diabetes mellitus, **Diab. Res. Clin. Prac.**, v.33, p.1–14, 1996.

YOSHIOKA, S.; et al. Antihypertensive effects of CS-045 treatment in obese Zucker rats. **Metabolism**. v.42, p.75-80, 1993.

YUMUKB V. D.; et al. High prevalence of obesity and diabetes mellitus in Konya, a central Anatolian city in Turkey. **Diabetes Research and Clinical Practice** v.70, p.151–158, 2005.

ZEENDER, E.; et al. Pioglitazone and sodium salicylate protect human beta cell against apoptosis and impaired function induced by glucose and interleukin 1 beta. **J Clin Endocrinol Metab**, v.89, p.5059-66, 2004.

ZHANG, H.; et al. Collecting duct-specific deletion of peroxisome proliferator-activated receptor γ blocks thiazolidinedione-induced fluid retention. **PNAS**, v.102, p.9406-11, 2005.

ZHANG, Y.; et al. IGF-1 Alleviates High Fat Diet-Induced Myocardial Contractile Dysfunction: Role of Insulin Signaling and Mitochondrial Function. **Hypertension**, v.59, n.3, p.680-693, 2012.

Artigo

5. ARTIGO

Manuscrito a ser submetido na revista científica European Journal of
Pharmaceutical Sciences
Eur. J. Pharm. Sci.

LPSF/ GQ-130, new insulin-sensitizing agent, improves the vascular response in
the metabolic syndrome induced by a fat diet with low carbohydrate

Juliana Dantas-Paula^a, Juliana Santos-Rocha^a, Fernanda Ramos-Alves^a, Odair
Silva^a, Maria Lima^b, Ivan Pitta^b, Aguiar Júnior^c, Luiza Rabelo^d, Fabiano Xavier^a,
Glória Duarte^{a*}.

^a Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia e Farmacologia.,
Av Profº Moraes Do Rego, S/N, Cidade Universitária 50670-901 - Recife, PE - Brasil

^b Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco Universidade Federal de Pernambuco, Centro
de Ciências Biológicas, Departamento de Antibióticos. Av. Moraes Rego 1235 Cidade Universitária 50670-901 -
Recife, PE - Brasil

^c Laboratório de Biotecnologia e Fármacos, Universidade Federal de Pernambuco, Rua Alto do Reservatório, s/n,
Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE- Brasil

^d Department of Physiology, Federal University of Alagoas, Brazil

ABSTRACT

Association between obesity, hypertension, dysregulation of plasma glucose and cholesterol levels and all of these conditions united by a common link, insulin resistance have been observed over the years. And the co-existence of these factors appears as a framework known as metabolic syndrome. The thiazolidinediones (TZDs) are potent insulin-sensitizing drugs that improved glycemic control and exert beneficial effects on the cardiovascular risk factors. However, recent literature has been increased risk of myocardial infarction and death in cardiovascular disease during long-term TZD treatment. In this work, we propose to evaluate the role of a novel TZD derivative LPSF/GQ-130 on cardiovascular and metabolic parameters in spontaneously hypertensive rats (SHR) fed a high fat diet (HFD, 57.8% fat) for 14 weeks from two months old. Pioglitazone (PIO) was used as the standard drug. The introduction of treatment with LPSF/GQ-130 at the 13th week led to an improvement in the context of HFD-induced glucose intolerance, insulinresistance, and plasma CRP levels. The HFD did not alter blood pressure levels, but during the study of vascular reactivity, both aortic rings from animals of the HFD and C groups showed clear impairment of vascular relaxation mediated by acetylcholine. However, treatment with PIO and the LPSF/GQ-130 triggered an improvement in the vasorelaxant response to ACh, and through histological analyzes, we observed a significant decrease ($p<0.01$) of aortic intima-media thickness after treatment with TZDs. This improvement may be associated with decreased insulin resistance and CRP, which could result in an attenuation of vascular inflammation. These data are indicative, though premature, that treatment with TZDs studied here work in the prevention of atherosclerosis and improvement in cardiovascular risk.

1. Introduction

The association between obesity, hypertension, dysregulation of plasma glucose and cholesterol levels, and all of these conditions united by a common factor, insulin resistance, has been observed since the 1980s (Reaven, 1988) . The co-existence of these factors is configured as a known metabolic syndrome (Rio de Janeiro, 2010). In recent decades, it has been observed an increase in the incidence of this syndrome

worldwide due to a higher prevalence of overweight/obesity in the general population (Ford et al., 2002). Dyslipidemia and changes in carbohydrate metabolism are associated with nutritional disorders such as obesity and insulin resistance, and cardiovascular diseases such as hypertension and cardiac remodeling (Sharma et al., 2007). Studies show that obesity may be associated with increased risk of coronary heart disease, diabetes mellitus, endothelial dysfunction and hypertension, the latter being the most relevant (Davel et al., 2011; Triggle et al., 2012). However, the mechanisms that confirm this relationship are still unclear (Wang et al., 2003). One of the limitations is the existence of few animal models of hypertension associated with obesity. Experimental models with high-fat diets aiming to induce a state of pre-diabetic obesity in normotensive or hypertensive animals has been used to better understand the mechanism involved in cardiac abnormalities of obesity (Dobrian et al., 2000; Relling et al., 2006; Silva, 2010). Whereas the model should be as close as possible to the genesis of obesity in humans, the induction of this condition via consumption of highly palatable foods with high energy value seems to be the most appropriate, because they trigger similar effects to human nutritional disorders (Buettner et al., 2007). The nuclear receptor PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) play an important role in energy and hormonal balancing working mainly in the metabolism of lipids and glucose and on the pathogenesis of arteriosclerosis (Willson et al., 2001). Rosiglitazone and pioglitazone are drugs of the class of thiazolidinediones (TZDs), which act by increasing peripheral insulin sensitivity, especially in adipose tissue, by their binding to PPAR- γ (Cariou et al., 2012; Cho and Momose, 2008; Papaetis et al., 2011). Activation of these receptors by TZDs has been related to important physiological activities such as anti-inflammatory, immunomodulatory, anti-atherosclerotic, stimulation of adipocytes differentiation and increased insulin sensitivity in tissues (Collions et al, 2001, Lehmann et al., 1995; Leite et al., 2007; Mourão et al., 2005; Peters, 2001; Ricote et al., 1998; Saltiel et al., 1996). In spite of the beneficial effects described by the treatment with these compounds, recent data have shown an important role of TZDs on the framework of genotoxicity and cytotoxicity (Gul et al ., 2013), development of coronary heart disease (Ziyadeh et al., 2009) and cardiomyopathies (Saraogi et al ., 2011) which justifies the search for new agents with pharmacodynamic hypoglycemic and hypolipidemic activity in an attempt to make them more effective, specific and less toxic, seeking a more satisfactory treatment. Based on this information the present study

aimed to evaluate a protocol for induction of obesity induced by a high fat diet in spontaneously hypertensive rats (SHR, a model that approximates the essential hypertension in man), and verify whether the metabolic and vascular disorders induced by the consumption of this diet can be reversed by treatment with a novelthiazolidinodiones derivative studied here (LPSF/GQ-130).

2. Materials and Methods

2.1 Obtaining of the LPSF/GQ-130

LPSF/GQ-130, 5-(4-chloro-benzidilene)-3-(2,4-diclorobenzil)-thiazolidine 2,4dione, were granted by the *Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF), Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco*. The Molecular characterization and nuclear magnetic resonance were described by Vasconcelos, (2006) and Vieira et al (2013).

2.2 Animals and Treatments

All animal handling was performed in accordance with the guidelines of the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA) and had prior approval from local animal ethics committee (23076024631/02011-05). Male spontaneously hypertensive rats (SHR) were obtained from local colonies maintained at the local animal facilities and were kept under conditions of constant temperature (22 ± 2 °C) with a 12 h light/12 h dark cycle and free access to food and water. At 2 months of age, the animals were randomly divided into experimental and control groups. The first group (C group, n = 8) fed a standard rat chow (3.5 kcal/g – 63.4% carbohydrate, 23.2% protein, and 14% fat), and the second group (HFD group, n = 24) was fed with high-fat diet (5.4 kcal/g – 25.0% carbohydrate, 17.1% protein, and 57.8% fat) for 14 weeks. Part of the HFD group received either Pioglitazone (10 mg/kg/day, HFD+PIO group, n = 8) or LPSF/GQ+130 (20 mg/kg/day, HFD+GQ group, n = 8) orally in the last fifteen days of dietary period. The untreated HFD rats received the vehicle Tween 20 orally for the same time.

2.3 Biochemical analysis

After a 12 h fasting, rats were anesthetized with intraperitoneal (i.p.) injection of sodium pentobarbital (50 mg/kg) and blood samples were collected from retro-orbital sinus with a glass capillary for the determination of serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase level (ALP), Albumin (Alb), urea (U), creatinine (C), total cholesterol (TC) and lipoprotein fractions, triglyceride (TG), and glucose levels using commercial enzymatic kits (LABTEST-BR).

2.3.1 Determination of C-Reactive Protein

For the determination of C-reactive protein levels, high-sensitivity CRP turbidimetric kit (CAT BT 20.017.00, BioTécnica, Minas Gerais) was used. Briefly the principle consists of a reaction of agglutination of latex particles coated with anti-protein C antibody-reactive human, which are mixed with c-reactive protein present in the sample. The change in causes a change in absorbance proportional to the sample concentration of C-reactive protein, quantified by comparison with a calibrator with known concentration following manufacturer's recommendations.

2.3.2 Glucose and insulin tolerance tests

After 12 h fasting, the rats of all groups were anaesthetized (sodium pentobarbital, 50 mg/kg) and tail blood samples were taken immediately before (time 0) and 15, 30, 60, 90 and 120 min after oral administration of a solution of 50% glucose (2 g/Kg). Glucose levels were measured using a glucometer (ACCU-CHEK). After a new overnight fasting, rats were submitted to insulin tolerance test (ITT). 1.5 IU/Kg of regular insulin (Humulina R) was infused intraperitoneally to anaesthetized rats, the blood samples were collected at 0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 min from the tail for serum glucose determination using a glucometer (ACCU-CHEK). The area under the curve (AUC) for glucose and insulin were determined based on blood samples taken before ($t = 0$) and 30, 60, 90, and 120 minutes after oral glucose load and 0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 min after infusion of insulin.

2.4 Arterial blood pressure measurement in conscious rats

Rats were anesthetized with ketamine, xylazine, and acetopromazin mixture (64.9, 3.2, and 0.78 mg/kg⁻¹, respectively, i.p.) and allowed to breathe room air spontaneously. The right carotid artery was cannulated with a polyethylene 46 catheter (PE-50 with heparinized saline) that was exteriorized in the midscapular region. After 24 h, arterial pressure and heart rate were measured in conscious animals by a pressure transducer (model MLT844, ADInstruments Pty Ltd, Castle Hill, Australia) and recorded using an interface and software for computer data acquisition (ADInstruments Pty Ltd, Castle Hill, Australia). Heart rate was determined from the intra-beat intervals.

2.5 Vascular Reactivity Study

Rats were anesthetized with ketamine, xylazine and acetopromazin mixture (64.9; 3.2 and 0.78 mg.Kg⁻¹, respectively, i.p.) and euthanized by exsanguination. The thoracic aorta were carefully removed and placed in cold oxygenated Krebs-Henseleit bicarbonate buffer (KHB). The buffer consisted of (in mM): NaCl 118, KCl 4.7, NaHCO₃ 25; CaCl₂.2H₂O 2.5, glucose 11, KH₂PO₄ 1.2, 1.2 and EDTA MgSO₄.7H₂O 0.01) Arterial segments were mounted between two steel hooks in isolated tissue chambers containing 5 ml of gassed (95% O₂ and 5% CO₂) KHB, at pH 7.4 and 37°C. The thoracic aortic rings were subjected to a resting tension of 1 g (aortic), which was readjusted every 15 min during 45 min of stabilization period before drug administration. The isometric tension was recorded by using an isometric force displacement transducer (Leticia Scientific Instruments, TRI-210, Panlab, S.L., Barcelona, Spain) connected to a data acquisition system (Powerlab, ADInstruments, Bella Vista, Australia). Vessels were initially exposed twice to 75 mmol/L KCl to check their functional integrity. After 30 min, rings were contracted with a concentration of phenylephrine able to induce 50-70% of the contraction induced by KCl. Acetylcholine (0.1 nmol/L to 10 µmol/L) or sodium nitroprusside (SNP, 1 nmol/L to 10 µmol/L) was then added to assess endothelium-dependent or -independent relaxation, respectively.

2.6 Effect of high fat diet on anatomical parameters.

By the end of experiments, hearts, kidneys and long digital extensor muscle (LDE) were excised. The atria and ventricles were excised, while kidneys and LDEs were weighed for fresh weight, then were dried at 70 °C for 48 hours, and reweighed to assess the dry

weight. The dry weight of heart, kidney, and EDLs were determined and used as a measure of atrophy/hypertrophy of heart, kidney and muscle (LDE) and compared between groups. The epididymal, retroperitoneal and perirenal adipose tissue were also collected and relative wet / body weight was recorded in order to assess accumulation of body fat.

2.7 Histological Analysis

2.7.1 Processing of biological material

Kidneys, heart, spleen, liver, aorta, perirenal and retroperitoneal fat were dipped in a solution of 10% neutral buffered formalin (NBF) for 24 hours. Subsequently, the fragments were dehydrated in ethanol at increasing concentrations, diaphanized by xylene, impregnated and embedded in paraffin. For each tissue fragment semi-serial 5µm thick were placed on glass slides coated with albumin and kept in oven at a temperature of 37 ° C for 24 hours to permit drying of cuts.

2.7.2 Microscopic Evaluation

The sections were subjected to staining technique using hematoxylin-eosin (HE) for the preliminary histomorphological description and periodic acid-Schiff (PAS) staining.

2.8 Statistical analysis

Results are expressed as mean $\pm$ SE, and n represents the number of animals used in each

experiment. Concentration–response curves were analyzed by two+way ANOVA followed by the Bonferroni post hoc test. Data were analyzed by paired or unpaired Student t+test, or one+way ANOVA followed by Tukey’s multiple comparison test, as appropriate. Probability values less than 0.05 were considered significant. Software Graph Pad Prism.

3. Results

3.1 Effect of diet and thiazolidinediones treatment on body weight, food intake and water consumption

Figure 1 shows HFD significantly reduced ($p < 0.001$, two-way ANOVA) water intake of HFD group when compared to Control. The correction of fluid intake per 100g body weight has also been reduced (data not shown). The introducing PIO at 13 weeks of exposure to HFD reduced ($p < 0.05$) water intake (17%). Reduction (14%) in the group treated with LPSF/GQ-130 compared to the same period was also observed. The evolution of body weight of the HFD group was significantly ($p < 0.01$) increased from the third week of the beginning of the diet when compared to group C (Figure 2). The final body weight gain was approximately 89% for the HFD group and 58% for group C. In the group treated with PIO, weight gain was only 74%, and treated with GQ-130 was 60 % (data not shown).

3.2 Effect of high fat diet on the anatomical parameters

The HFD increased ($p < 0.01$) epididymal (TAE) and retroperitoneal (TAR) fat, but treatment with PIO or GQ did not influence this parameter (Table 1). The perirenal adipose tissue (PAT) was not different ($p > 0.05$) between groups. There was a significant reduction ($p < 0.05$) on relative weight of wet and dry kidney in group HFD compared to C. The relation between ventricular and LDE weight (dry and wet) remained unchanged ($p > 0.05$, one-way ANOVA) in animals fed with the HFD when compared with group C (Table 1).

3.3 Glucose Tolerance Test-GTT

Fig 3 (panel A) shows that at 22 weeks of age, the peak plasma glucose in all groups occurred at 15min, however, it was higher ($p < 0.01$) in the HFD group. The decay curve of glucose (Panel A) for the HFD group was shifted to the left compared to group C. As indicated by the area under the curve (AUC) treatment with both TZDs improved glucose uptake after overload (Panel B).

3.4 Tolerance Test Insulin-TTI.

The HFD group had plasma glucose concentrations significantly ($p < 0.05$) higher than group C (Figure 4A and B). Treatment with LPSF/GQ-130 reduced the peak of blood glucose at 5 min. From 10 min, the decrease in the glucose curve was higher in groups treated with TZDs than with HFD only (Figure 4A). The area under the curve (AUC) shows that treatment with LPSF/GQ-130 was effective in reducing insulin intolerance.

3.5 Plasma Insulin Concentration

The plasma insulin concentration was significantly increased ($p < 0.05$) in animals exposed to HFD when compared with group C (9.67 ± 0.97 and 3.23 ± 0.81 , respectively). Treatment with IOP decreased ($p < 0.05$) values of circulating insulin without significantly change the fasting glucose levels, and treatment with LPSF/GQ-130 did not show influence on insulin levels.

3.6 Determination of Plasma Biochemical Parameters

HFD group showed significantly higher plasma levels of glucose, total cholesterol, HDL-C, alkaline phosphatase, C-reactive protein (CRP) and urea ($p < 0.05$) compared to group C. Treatment with LPSF / GQ-130 reduced ($p < 0.01$) CRP levels. The positive control PIO while reducing CRP levels, was effective in decreasing plasma total cholesterol levels (Table 2).

3.7 Cardiac parameters in awake rats.

Baseline values of blood pressure (BP) were similar ($p > 0.05$) among all groups (Table 3).

3.8 Vascular Reactivity

The incubation of increasing concentrations of acetylcholine (10^{-10} to 10^{-4} M) induced concentration-dependent relaxation ($p < 0.01$) in the pre- contracted with FEN (Figure 6) aortae rings. Figure 6A shows the results obtained in preparations with segments of aortas from group C or not treated with TZDs and Figure 6B shows the HFD groups

treated or not with TZDs compared with group C. The aortic rings of group C, SHR animals, showed an impairment on endothelium - dependent relaxation induced by ACh, and treatment with PIO (group C + PIO) has shown an improvement from concentration of 3×10^{-8} M , however treatment with LPSF/GQ-130 not exert influence on the relaxation to ACh.

After the period of ingestion of the HFD, the compromising of Ach -induced relaxation was maintained but the treatment with PIO improved vasorelaxant response at 10^{-8} , 10^{-7} and 3×10^{-8} Ach doses, which can also be observed in the treatment with a low dose LPSF/GQ-130 10^{-8} (Figure 6B).

The administration of increasing concentrations of phenylephrine (PHE) (10^{-10} to 10^{-4} M) increased basal tone of the aorta rings in a concentration-dependent manner ($P < 0.01$) in groups C and HFD (Figures 7A and B, respectively). The control group treated with PIO showed a hyporeactivity to FEN dose from 3×10^{-8} and treatment with LPSF/GQ-130 showed this response only in 10^{-7} dose.

HFD group showed a decrease in maximal response compared to the C group, although the groups HFD + PIO and HFD + GQ also had decreased response to $\alpha 1$ -adrenergic agonist, with emphasis to the aortic rings of HFD + GQ whose contraction was significantly reduced ($P < 0.001$) compared to the HFD (Figure 7B).

3.9 Concentration effect curves to sodium nitroprusside

Figures 8A and B show the results of the concentration effect curve (CEC) to sodium nitroprusside (SNP) in groups C and HFD respectively. Treatment with TZDs did not caused active change in maximal response to SNP between groups (Figure 8). HFD did not affect the relaxation induced by NPS compared to C, but the introduction of treatment with PIO induced an improvement in this relaxation. The LPSF/GQ-130 did not alter this parameter.

4.0 DISCUSSION

Fat diets have been widely used for the reproduction of experimental models of obesity and metabolic syndrome (Can et al, 2012;. Férézou-Viala et al., 2007; So et al., 2011; Zhang et al., 2013.). This syndrome is associated with insulin resistance and cardiovascular disorders, which can be reversed with specific diets and exercise, but in some cases pharmacological intervention becomes necessary aiming to improve the metabolic profile.

In this work an experimental model of metabolic syndrome induced by high fat diet in spontaneously hypertensive rats (SHR), characterized by changes in glucose metabolism such as insulin resistance, was used. This framework can lead to the onset comorbidities such as dyslipidemia and vascular dysfunction which justifies the introduction of a pharmacological intervention to improve insulin sensibility.

Among the insulin-sensitizing drugs, the thiazolidinedione (TZDs), pioglitazone, is the most widely used clinically, and appears to have important benefits such as glycemic control in patients with DM 2, lowering blood pressure and reducing inflammation (Chinetti-Gbaughidi et al., 2005; Clementi et al., 2009; Ricote et al., 1998; Schwabl et al., 2014). However, some studies relate the use of TZDs in the treatment of DM 2 with declining of renal function (Feldman et al., 2010) and myocardial infarction (Bell et al., 2013; Nissen et al., 2007) and newer and PIO which justifies a search for drugs with more specific mechanisms of action and fewer side effects.

In our study, we tested a candidate hypoglycaemic drug called LPSF/GQ-130. This molecule was obtained from a reaction of thiazolidine N-alkylation with alkyl halides, followed by Michael addition with Cope intermediate (esquema 1). The methodology applied is already installed in the laboratory of Planning and Synthesis of Pharmaceuticals Department of Antibiotics, where several projects have made it at the same way (Albuquerque et al, 2005;. Brandao et al, 2004;. Pitta et al, 2007, Santos et. al., 2005).

Our results demonstrate that the intake of high-fat diet (HFD) was reduced compared to control diet (Figure 1), confirming data reported by Morens et al. (2005).

However, research findings related to HFD have an intake of a discrepancy likely induced hypophagia by consuming this type of diet. Works such as Kim et al (1998) indicate that diets with high fat content are associated with hyperphagia, while others show no change (Santos and Vianna, 2007), raising therefore the need for further investigation.

The explanation for the hypophagia observed by us is the fact that consumption of a high fat diet alters gut - brain communication and is able to stimulate the signaling satiety, which is predominantly attributed to the action of Cholecystokinin (CCK), released by the gastrointestinal tract in response to the presence of fat and protein (Duca et al , 2013; Melhorn et al , 2010; Schaffhauser et al, 2002). Although exist a series of compensatory mechanisms that regulate the uptake and consumption of nutrients contributing to the maintenance of energy balance, an imbalance between these, as for example in chronic consumption of HFD relates to a significant insulin resistance and hyperleptinemia (West ; York , 1998, Woods et al , 2003.) .

Leptin is secreted primarily by adipocytes and is involved in the regulation of both appetite and energy metabolism and in the same manner that insulin levels are increased in proportion to the number of adipocytes (Xu et al. 2004). In this sense , our results , although the consumption of HFD (g) have been lower than consumption of diet C , the calorie intake was , hence the weight gain and adiposity observed in animals fed the HFD , data were confirmed with weighing adipose tissue. In addition, the HFD significantly increased the amount of epididymal adipose tissue (EPI) and retroperitoneal (RET) (Table 1). These findings are similar to those found by Bernardes et al (2004) and Rozen et al (1994) .

This increase in adipose tissue may be associated with the development of insulin resistance (Lange et al. 2005) and the secretion of leptin, a hormone that increases the expression of uncoupling proteins (UCPs) in adipose tissue, causing the increase in weight this tissue (Margareto et al., 2001). Although we have not made a determination of leptin, we found changes in plasma insulin levels (Figure 5) and a state for insulin resistance (Figure 4) .

The observation that treatment of rodents and humans with TZDs (rosiglitazone and pioglitazone) leads to a gain in body weight due in part to fluid retention (Zhang et al., 2005), led us to assess the implication of this phenomenon in spontaneously hypertensive rats given a high fat diet or not subjected to treatment with the novel PPAR agonist (LPSF/GQ-130) for a period of 14 days. In the present study no difference in body weight nor cardiac hypertrophy among the groups treated or not with TZDs fed the control diet was observed. However, neither treatment with PIO, and with the LPSF/GQ-130 was able to reduce the intake of HFD and increased body weight. The body weight gain caused by the accumulation of visceral fat is the key factor of the metabolic syndrome, and excess fat reduces insulin sensitivity in metabolically active tissues. As seen in our study, chronic intake of saturated fat causes increased adipose tissue, and according to the literature, this triggers an increase in the synthesis and secretion of proinflammatory cytokines such as TNF- α and IL -6, which are important inflammatory mediators causing the decrease of glucose transporters and insulin resistance (Howard, 1999) .

In our experimental conditions, we observed an improvement in the dyslipidemia and insulin resistance after treatment with pioglitazone or its analogue (LPSF/GQ-130). These data are related to Saiki et al (2007) where it was shown that pioglitazone significantly suppressed the accumulation of visceral fat in mice with metabolic syndrome.

Although we have not observed a significant reduction in the amount of fatty tissue in animals fed HFD and treated with TZDs, blood glucose and insulin after overload and areas under the curve of glucose and insulin showed a strong positive correlation with increasing visceral fat, indicating that there are significant changes in glucose metabolism, which could be seen through the glucose tolerance and insulin tests. However, treatment with PIO and LPSF/GQ-130 reversed these pattern.

TZDs increase insulin sensitivity by being selective ligands of the nuclear transcription factor PPAR γ (nuclear receptor activated by peroxisome proliferator γ), more densely expressed in skeletal muscle and adipose tissue, where they exert a central role in controlling gene expression, differentiation adipocytes and increase in glucose transporter (GLUT-4) (Yki - Järvinen , 2004).

In our work we performed in all experimental groups at two months of age, biochemical tests in animals and through these we also noticed that all the biochemical profile within normal limits values thus selected for the experiments. On these biochemical parameters investigated in our study, the group fed the HFD had significantly higher plasma levels of glucose, total cholesterol, HDL-c, phosphatase alkaline, C-reactive protein and urea, when compared to group C. But treatment with PIO was effective in decreasing plasma levels of total cholesterol, HDL-C, CRP, and treatment with LPSF/GQ-130 reduced levels CRP.

These effects observed after treatment with TZDs are explained mainly by its high affinity for union and activation of PPAR receptors, and stimulation of the stock of free fatty acids in adipose tissue, sparing the liver, skeletal muscle, and probably the β cells pancreatic islets from lipotoxicity (Spiegelman, 1998). Furthermore, increase adiponectin levels and HDL-c, exerting anti-inflammatory action (decrease of IL-6) (Schoonjans et al., 1996).

Studies investigating the association between metabolic syndrome and cardiovascular changes show that chronic inflammation may be a determinant of insulin resistance and CRP levels are presented as effective inflammatory markers (Ndumele et al., 2006, Rosenbaum and Ferreira, 2003) . In our study, animals fed with HFD and a state of insulin resistance showed elevated levels of CRP and probably a compensatory hyperinsulinemia, yet has not been verified experimentally, and these data corroborate those of Fröhlich et al., (2000) .

However, as treatment with TZDs reverted insulin resistance, CRP levels were normalized, but only the treatment with PIO values decreased circulating insulin. As in some cases the IR by itself or acting through hyperinsulinemia triggers changes in blood pressure, which highlight the importance of this parameter. In our study we observed that the high-fat diet did not alter the blood pressure of animals, and treatment with TZDs also did not influence these parameters. Scientific findings that relate the intake of high calorie and / or high fat obesity and changes in cardiovascular function in animal models diet had methodological discrepancies that hinder a consensus in this area (Contreras and Williams , 1989; Santos and Vianna, 2007; Zhang et al., 1994).

The hypertension in adult SHR rats is associated, among other factors, with an increase in total peripheral resistance, sympathetic overactivity, and oxidative stress

(Pausova, 2006; Potts et al., 1998). The absence of change in blood pressure in the HFD group probably reflects that obesity did not alter the factors involved in blood pressure control, these data are likely to be confirmed by the study of the baroreflex mechanism.

Despite the HFD and treatment with TZDs have not exercised significant influence on blood pressure levels during the study of vascular reactivity, both the aortic rings of the animals of the HFD group showed clear impairment in vascular relaxation mediated by acetylcholine, resulting in an imbalance between vasoconstrictor and vasodilator factors. But treatment with both pioglitazone and LPSF/GQ-130 shows an improved vasorelaxant response to ACh, this improvement may be associated with decreased insulin resistance and CRP implying an attenuation of vascular inflammation. The decrease in CRP observed in our study has been demonstrated by other authors after the use of TZDs in patients with or without diabetes (Frederich et al., 1995; Frontoni et al., 2003), confirming the anti-inflammatory effect of this therapeutic class. Then, we suggest that the improvement in insulin resistance is most important for the improvement of endothelial function that glucose lowering.

Some mechanisms are described to explain the improvement in endothelial function with the use of PPAR agonists. The decrease in insulin resistance may increase NO production, since under physiological conditions, insulin increases the expression of the enzyme endothelial NO synthase (Zeng et al., 2000). Goya et al., (2004) demonstrated by an *in vitro* experiment that these agonists may directly stimulate expression of the enzyme endothelial NO synthase.

Another possible mechanism for improved endothelial function is the antioxidant effect with decreased free radical generation by monocytes and polymorphonuclear cells (Garg et al., 2000). It is known that into the vascular wall, thiazolidines decrease the production of adhesion molecules, and neutrophil chemotactic proteins matrix metalloproteinase (Qin et al., 2006).

Published data suggest a direct role of CRP in the beginning or progression of atherosclerotic lesions because CRP is a potent stimulator of the production of tissue factor by macrophages, activates the complement system *in vivo*, binds to lipoproteins such as LDL and VLDL facilitating their aggregation, and is expressed by monocytes and accumulate in nascent atherosclerotic lesions in the aorta and human coronary

arteries (Greenfield and Campbell, 2006; Ndumele et al, 2006.). In summary, this study suggests that consumption of DH alters metabolic functions promoting dyslipidemia, weight gain, changes in CRP levels, plasma insulin and IR in SHR, thereby mimicking the metabolic syndrome (MS) observed in humans. The new thiazolidine derivative, QA-130, is a promising candidate for the treatment of disorders related to RI by improving vascular reactivity.

5. REFERENCES

- Adamczak, M., Wiecek, A., 2013. The adipose tissue as an endocrine organ. *Semin. Nephrol.* 33, 2-13
- Aldhahi, W., Hamdy, O., 2003. Adipokines, inflammation, and endothelium in diabetes. *Curr. Diab. Rep.* 3, 293-298.
- Amato, A.A., Rajagopalan, S., Lin, J.Z., Carvalho, B.M., Figueira, A.C., Lu, J., Ayers, S.D., Mottin, M., Silveira, R.L., Souza, P.C., Mourão, R.H., Saad, M.J., Togashi, M., Simeoni, L.A., Abdalla, D.S., Skaf, M.S., Polikarpov, I., Lima, M.C., Galdino, S.L., Brennan, R.G., Baxter, J.D., Pitta, I.R., Webb, P., Phillips, K.J., Neves, F.A., 2012. GQ-16, a novel peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) ligand, promotes insulin sensitization without weight gain. *J. Biol. Chem.* 287, 287.
- Araszkiewicz, A., Sobieska, M., Wierusz-Wysocka, B., 2004. C-reactive protein correlates with markers of endothelial dysfunction in type 1 diabetic patients. *Centr. Eur. J. Immunol.* 29, 10-14.
- Armitage, J.A., Burke, S.L., Prior, L.J., Barzel, B., Eikelis, N., Lim, K., Head, G.A., 2012. Rapid onset of renal sympathetic nerve activation in rabbits fed a high-fat diet. *Hypertension.* 60, 163-171.
- Bauersachs, J., Bouloumié, A., Mülsch, A., 1998. Vasodilator dysfunction in aged spontaneously hypertensive rats: changes in NO synthase III and soluble guanylyl cyclase expression, and, in superoxide anion production. *Cardiovasc. Res.* 37, 772-779.
- Bell, D.S., Patil, H.R., O'Keefe, J.H., 2013. Divergent effects of various diabetes drugs on cardiovascular prognosis. *Rev. Cardiovasc. Med.* 14, 107-122.
- Bell, D.S., Patil, H.R., O'Keefe, J.H., 2013. Divergent effects of various diabetes drugs on cardiovascular prognosis. *Rev. Cardiovasc. Med.* 14, 107-122.
- Bernardes, D., Manzoni, M.S.J., Souza, C.P., Tenório, N., Dâmaso, A.R., 2004. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. *Ver. Bras. Educ. Fis. Esp.* 18, 191-200.
- Bonora, E., Manicardi, V., Zavaroni, I., Coscelli, C., Butturini, U., 1987. Relationships between insulin secretion, insulin metabolism and insulin resistance in mild glucose intolerance. *Diabetes. Metab.* 2, 116-121.
- Brasil, M.S., 2011. Manual técnico para promoção da saúde e prevenção de riscos e doenças na saúde suplementar / Agência Nacional de Saúde Suplementar. 4^o ed.
- Brown, C.D., Higgins, M., Donato, K.A., Rohde, F.C., Garrison, R., Obarzanek, E., Ernst, N.D., Horan, M., 2000. Body mass index and the prevalence of hypertension and dyslipidemia. *Obes. Res.* 8, 605-619.

Buettner, R., Schölmerich, J., Bollheimer, L.C., 2007. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity*. 15, 798-808.

Can, O.D., Ulupinar, E., Ozkay, U.D., Yegin, B., Oztürk, Y., 2012. The effect of simvastatin treatment on behavioral parameters, cognitive performance, and hippocampal morphology in rats fed a standard or a high-fat diet. *Behav. Pharmacol.* 23, 582-592.

Cariou, B., Charbonnel, B., Staels, B., 2012. Thiazolidinediones and PPAR γ agonists: time for a reassessment. *Trends. Endocrinol. Metab.* 23, 205–215.

Chadderdon, S.M., Belcik, J.T., Bader, L., Kirigiti, M.A., Peters, D.M., Kievit, P., Grove, K.L., Lindner, J.R., 2014. Proinflammatory endothelial activation detected by molecular imaging in obese nonhuman primates coincides with onset of insulin resistance and progressively increases with duration of insulin resistance. *Circulation*. 129, 471-478.

Chinetti-Gbaguidi, G., Fruchart, J.C., Staels, B., 2005. Role of the PPAR family of nuclear receptors in the regulation of metabolic and cardiovascular homeostasis: new approaches to therapy. *Curr. Opin. Pharmacol.* 5, 177-183.

Chinetti-Gbaguidi, G., Fruchart, J.C., Staels, B., 2005. Role of the PPAR family of nuclear receptors in the regulation of metabolic and cardiovascular homeostasis: new approaches to therapy. *Curr. Opin. Pharmacol.* 5, 177-183.

Cho, N., Momose, Y., 2008. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists as insulin sensitizers: from the discovery to recent progress. *Curr. Top. Med. Chem.* 8, 1483–1507.

Chui, P.C., Guan, H.P., Leherke, M., Lazar, M.A., 2005. PPAR γ regulates adipocyte cholesterol metabolism via oxidized LDL receptor 1. *J. Clin. Invest.* 115, 2244-2256.

Clementi, F., Di Luozzo, M., Mango, R., Luciani, G., Trivisonno, A., Pizzuto, F., Martuscelli, E., Mehta, J.L., Romeo, F., 2009. Regression and shift in composition of coronary atherosclerotic plaques by pioglitazone: insight from an intravascular ultrasound analysis. *J. Cardiovasc. Med.* 10, 231-237.

Contreras, R. J., Williams, V. L., 1989. Dietary obesity and weight cycling: effects on blood pressure and heart rate in rats. *Am. J. Physiol.* 256, 1209-1219

Cosyns, B., Droogmans, S., Weytjens, C., Lahoutte, T., Van, C. G., Schoors, D., Franken, P.R., 2007. Effect of streptozotocin-induced diabetes on left ventricular function in adult rats: an in vivo Pinhole Gated SPECT study. *Cardiovasc. Diabetol.* 15, 6-30.

Davel, A.P., Wenceslau, C.F., Akamine, E.H., Xavier, F.E., Couto, G.K., Oliveira, H.T., Rossoni, L.V., 2011. Endothelial dysfunction in cardiovascular and endocrine metabolic diseases: an update. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 44, 920-932.

DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., 1991. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes. Care.* 14, 173-194.

Dobrian, A.D., Davies, M.J., Prewitt, R.L., Lauterio, T.J., 2000. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension.* 35,1009–1015.

Dourmashkim, J.T., Chang, G.Q., Gayles, E.C., Hill, J.O., Fried, S.K., Julien, C., Leibowitz, S.F., 2005. Different forms of obesity as a function of diet composition. *Int. J. Obes.* 29, 1368-1378.

Duarte, A. C. G. O., 2006. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em Duca, F.A., Swartz, T.D., Sakar, Y., Covasa, M., 2013. Decreased intestinal nutrient response in diet-induced obese rats: role of gut peptides and nutrient receptors. *Int. J. Obes.* 37, 375–381.

Férézou-Viala, J., Roy, A.F., Sérougne, C., Gripois, D., Parquet, M., Bailleux, V., Gertler, A., Delplanque, B., Djiane, J., Riottot, M., Taouis, M., 2007. Long-term consequences of maternal high-fat feeding on hypothalamic leptin sensitivity and diet-induced obesity in the offspring. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 293, 1056-1062.

Ford, E.S., Giles, W.H, Dietz, W.H., 2002. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA.* 287, 356–359.

Frederich, R.C., et al., 1995. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med.* 1, 1311-1314.

Fröhlich, M., Imhof, A., Berg, G., Hutchinson, W.L., Pepys, M.B., Boeing, H., Muche, R., Brenner, H., Koenig, W., 2000. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population-based study. *Diabetes Care.* 23,1835-1839.

Frontoni, S., Bracaglia, D., Baroni, A., Pellegrini, F., Perna, M., Cicconetti, E., Ciampittiello, G., Menzinger, G., Gambardella, S., 2003. Early autonomic dysfunction in glucose-tolerant but insulin-resistant offspring of type 2 diabetic patients. *Hypertension.* 41, 1223-1227.

Garg, R., Kumbkarni, Y., Aljada, A., Mohanty, P., Ghanim, H., Hamouda, W., Dandona, P., 2000. Troglitazone reduces reactive oxygen species generation by leucocytes and lipid peroxidation and improves flow-mediated vasodilatation in obese subjects. *Hypertension.* 36, 430-435.

Goya, K., Sumitani, S., Xu, X., Kitamura, T., Yamamoto, H., Kurebayashi, S., Saito, H., Kouhara, H., Kasayama, S., Kawase, I., 2004. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonists increase nitric oxide synthase expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24, 658-663.

Greenfield, J.R, Campbell, L.V., 2006. Relationship between inflammation, insulin resistance and type 2 diabetes: 'cause or effect'? *Curr. Diabetes. Rev.* 2, 195-211.

Griffin, K. A., Kramer, H., Bidani, A. K., 2008. Adverse renal consequences of obesity. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 294, 685-696.

Henke, B.R., Blanchard, S.G., Brackeen, M.F., Brown, K.K., Cobb, J.E., Collins, J.L., Harrington, W.W. Jr., Hashim, M.A., Hull-Ryde, E.A., Kaldor, I., Kliewer, S.A., Lake, D.H., Leesnitzer, L.M., Lehmann, J.M., Lenhard, J.M., Orband-Miller, L.A., Miller, J.F., Mook, R.A. Jr., Noble, S.A., Oliver, W. Jr., Parks, D.J., Plunket, K.D., Szewczyk, J.R., Willson, T.M., 1998. N-(2-Benzoylphenyl)-L-tyrosine PPARgamma agonists. 1. Discovery of a novel series of potent antihyperglycemic and antihyperlipidemic agents. *J. Med. Chem.* 41, 5020-5036.

Hogan, S., Canning, C., Sun, S., Sun, X., Kadouh, H., Zhou, K., 2011. Dietary supplementation of grape skin extract improves glycemia and inflammation in diet-induced obese mice fed a western high fat diet. *J. Agric. Food. Chem.* 59, 3035-3041.

Howard, B.V., 1999. Insulin resistance and lipid metabolism. *Am. J. Cardiol.* 84, 28-32.
Jameson, M., Dai, F.X., Lüscher, T.F., Skopec, J., Diederich, A., Diederich, D., 1993. Endothelium-derived contracting factors in resistance arteries of young spontaneously hypertensive rats before development of overt hypertension. *Hypertension* 21, 280-288.

Karandish, M., Amrullah, S.A., Latifi, S.M., 2012. Comparison of changes in postprandial serum leptin between healthy and type 2 diabetic individuals. *Malays. J. Nutr.* 18, 337-343.

Kim, E.M., Welch, C.C., Grace, M.K., Billington, C.J., Levine, A.S., 1998. Effects of palatability induced hyperphagia and food restriction on mRNA levels of neuropeptide Y in the arcuate nucleus. *Brain. Res.* 806, 117-121.

Kratz, M., Baars, T., Guyenet, S., 2013. The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. *Eur. J. Nutr.* 52, 1-24.

Lange, L.A., Norris, J.M., Langefeld, C.D., Nicklas, B.J., Wagenknecht, L.E., Saad, M.F., Bowden, D.W., 2005. Association of adipose tissue deposition and beta-2 adrenergic receptor variants: the IRAS family study. *Int. J. Obes.* 29, 449-457.

Lehmann, J.M., Moore, L.B., Smith-Oliver, T.A., Wilkison, W.O., Willson, T.M., Kliewer, S.A., 1995. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (ppar gamma). *J. Biol. Chem.* 270, 12953-12956.

Leite, L.F.C.C., Mourão, R.H.V., Lima, M.C.A., Galdino, S.L., Hernandez, M.Z., Neves, F.A.R., Vidal, S., Barbe, J., Rocha, I.R., 2007. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of arylidene-thiazolidinediones with potential hypoglycemic and hypolipidemic activities. *Eur. J. Med. Chem.* 42, 1263-1271.

Lessard, S.J., Rivas, D.A., Chen, Z.P., Bonen, A., Febbraio, M.A., Reeder, D.W., Kemp, B.E., Yaspelkis, B.B., Hawley, J.A., 2007. Tissue-specific effects of

rosiglitazone and exercise in the treatment of lipid-induced insulin resistance. *Diabetes*. 56, 1856-1864.

Lopez-Jime'nez, F., Jacobsen, S.J., Reeder, G.S., Weston, S.A., Meverden, R.A., Roger, V.L., 2004. Prevalence and secular trends of excess body weight and impact on outcomes after myocardial infarction in the community. *Chest*. 125, 1205–1212.

Manson, J.E., Colditz, G.A., 1990. A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *N. Engl. J. Med.* 322, 882-889.

Manson, J.E., Willet, W.C., Stampfer, M.J., Colditz, G.A., Hunter, D.J., 1995. Body weight and mortality among women. *N. Engl. J. Med.* 333, 677-685.

Margareto, J., Marti, A., Martinez, J.A., 2001. Changes in UCP mRNA expression levels in brown adipose tissue and skeletal muscle after feeding a high-energy diet and relationships with leptin, glucose and PPARgamma. *J. Nutr. Biochem.* 12, 130-137.

Margoni, A., Perrea, D.N., Vlachos, I., Prokopaki, G., Pantopoulou, A., Fotis, L., Kostaki, M., Papavassiliou, A.G., 2011. Serum leptin, adiponectin and tumor necrosis factor- α in hyperlipidemic rats with/without concomitant diabetes mellitus. *Mol. Med.* 17, 36-40.

Medeiros, M. M. P., 2014. Efeitos cardiometabólicos do enalapril em ratos espontaneamente hipertensos alimentados com dieta hiperlipídica. Originalmente apesado como dissertação de mestrado na Universidade Federal de Pernambuco. Recife, Brazil.

Melhorn, S.J., Krause, E.G., Scott, K.A., Mooney, M.R., Johnson, J.D., Woods, S.C., Sakai, R.R., 2010. Acute exposure to a high-fat diet alters meal patterns and body composition. *Physiol. Behav.* 99, 33–39.

Mondal, D., Liu, K., Hamblin, M., Lasky, J.A., Agrawal, K.C., 2013. Nelfinavir suppresses insulin signaling and nitric oxide production by human aortic endothelial cells: protective effects of thiazolidinediones. *Ochsner. J.* 13,76-90.

Morens, C. M., Keijzer, K. V., Scheurink, A. G., Dijk, V., 2005. Effects of high-fat diets with different carbohydrate-to protein ratios on energy homeostasis in rats with impaired brain melanocortin receptor activity. *Am. J. Phys. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 289, 156-163.

Mourão, R. H. V., Silva, T. G., Soares, A. L. M., Vieira, E. S., Santos, J. N., Lima, M. C. A., Lima, V. L. M., Galdino, S. L., Barbe, J., Pitta, I. R., 2005. Synthesis and biological activity of novel acridinylidene and benzylydene thiazolidinediones. *Eur. J. Med. Chem.* 40, 1129-1133.

Ndumele, C.E., Pradhan, A.D., Ridker, P.M., 2006. Interrelationships between inflammation, C-reactive protein, and insulin resistance. *J. Cardiometab. Syndr.* 1, 190-196.

Oz, G. O., Cinkilic, N., Gul, C.B., Cander, S., Vatan, O., Ersoy, C., Yilmaz, D., Tuncel, E., 2013. Comparative genotoxic and cytotoxic effects of the oral antidiabetic drugs

sitagliptin, rosiglitazone, and pioglitazone in patients with type-2 diabetes: a cross-sectional, observational pilot study. *Mutat. Res.* 757, 31-35.

Papaetis, G.S., Orphanidou, D., Panagiotou, T.N., 2011. Thiazolidinediones and type 2 diabetes: from cellular targets to cardiovascular benefit. *Curr. Drug. Targets.* 12, 1498–1512.

Pausova, Z., 2006. From big fat cells to high blood pressure: a pathway to obesity-associated hypertension. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 15, 173-178.

Peramaiyan Rajendran,¹ Thamaraiselvan Rengarajan,¹ Jayakumar Thangavel,² Yutaka Nishigaki,¹ Dhanapal Sakthisekaran,³ Gautam Sethi,⁴ and Ikuo Nishigaki¹, The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci.* 2013; 9(10): 1057–1069. Peters, A.L., 2001. Using thiazolidinediones: rosiglitazone and pioglitazone in clinical practice. *Am. J. Manag. Care.* 7, 587–595.

Potts, J.T., Mckeown, K.P., Shoukas, A.A., 1998. Reduction in arterial compliance alters carotid baroreflex control of cardiac output in a model of hypertension. *Am. J. Physiol.* 43, 1121-1131.

Qin, K., Ehrmann, D.A., Cox, N., Refetoff, S., Rosenfield, R.L., 2006. Identification of a functional polymorphism of the human type 5 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase gene associated with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 270-276.

Rajendran, P., Rengarajan, T., Thangavel, J., Nishigaki, Y., Sakthisekaran, D., Sethi, G., Nishigaki, I., 2013. The vascular endothelium and human diseases. *Int. J. Biol. Sci.* 9, 1057-1069.

Reaven, G.M., Banting, L., 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes. Ratios. Rev. Nutr.* 37, 1595-1607.

Relling, D.P., Esberg, L.B., Fang, C.X., Johnson, W.T., Murphy, E.J., Carlson, E.C., Saari, J.T., Ren, J., 2006. High-fat diet-induced juvenile obesity leads to cardiomyocyte dysfunction and upregulation of Foxo3a transcription factor independent of lipotoxicity and apoptosis. *J. Hypertens.* 24, 549–561.

Ricote, M., Li, A.C., Willson, T.M., Kelly, C.J., Glass, C.K., 1998. The peroxisome proliferator- activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature.* 391, 79–82.

Rio de Janeiro, 2010. Síndrome metabólica. Cuidados com a saúde. Sociedade Brasileira de Endocrinologia Médica, Rio de Janeiro, 2010. Disponível em <http://www.endocrino.org.br/a-sindrome-metabolica/> Acesso em 09 de outubro de 2013.

Rozem, R., Brigant, L., Apfelbaun, M., 1994. Effects of cycles of food restriction followed by ad libitum refeeding on body composition and energy expenditure in obese rats. *Am J Clin Nutr.* 59, 560-565.

Saltiel, A.R., Olefsky, J.M., 1996. Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes. *Diabetes*. 45, 1661-1669.

Saltiel, A.R., Olefsky, J.M., 1996. Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes. *Diabetes*. 45, 1661-1669.

Santos, I.B.V., 2009. Síntese e atividades antiinflamatória e antinociceptiva de novas tiazolidinadionas. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

Santos, L. C.; Uchôa, F. T.; Moura, R. O.; Lima, M.C.A.; Galdino, S.L.; Pitta, I.R.; Baerbe, J., 2005. Synthesis And Anti-Inflammatory Activity Of New Thiazolidine-2,4-Diones, 4-Thioxothiazolidinones And 2-Thioxoimidazolidinones. *Heterocyclic Communications*. 11, 121-128.

Santos, R. S., Vianna, L. M., 2007. High-calorie and high-fat diet increases arterial hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Brazilian. Soc. Food. Nutr.* 32, 1-9.

Saraogi, P., Pillai, K.K., Singh, B.K., Dubey, K., 2011. Rosiglitazone and pioglitazone aggravate doxorubicin-induced cardiomyopathy in wistar rats. *Biomed. Pharmacother.* 1, 65–71.

Schaffhauser, A.O., Madiehe, A.M., Braymer, H.D., Bray, G.A., York, D.A., 2002. Effects of a high-fat diet and strain on hypothalamic gene expression in rats. *Obes. Res.* 10,1188-1196.

Schoonjans, K., Staels, B., Auwerx, J., 1996. Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (ppar) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J. lipid. Res.* 37, 907-925.

Schwabl, P., Payer, B.A., Grahovac, J., Klein, S., Horvatits, T., Mitterhauser, M., Stift, J., Boucher, Y., Trebicka, J., Trauner, M., Angermayr, B., Fuhrmann, V., Reiberger, T., Peck-Radosavljevic, M., 2014. Pioglitazone decreases portosystemic shunting by modulating inflammation and angiogenesis in cirrhotic and non-cirrhotic portal hypertensive rats. *J. Hepatol.* 168-8278, 100-107.

Sharma, N., Okere, I.C., Duda, M.K., Chess, D.J., O'Shea, K.M., Stanley, W.C., 2007. Potential impact of carbohydrate and fat intake on pathological left ventricular hypertrophy. *Cardiovasc. Res.* 73, 257-268.

Shepherd, P.R., Withers, D.J., Siddle, K., 1998. Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insulin signalling. *Biochem. J.* 333, 471-490.

Sidell, R.J., Cole, M.A., Draper, N.J., Desrois, M., Buckingham, R.E., Clarke, K., 2002. Thiazolidinedione treatment normalizes insulin resistance and ischemic injury in the Zucker fatty rat heart. *Diabetes*. 5, 1110–1117.

- Silva, O. A., 2010. Estudo dos efeitos de uma nova tiazolidinadiona sobre disfunção metabólica causada por dieta hiperlipídica em ratos wistar. Originalmente apresado como dissertação de mestrado na Universidade Federal de Pernambuco. Recife, Brazil.
- So, M., Gaidhu, M.P., Maghdoori, B., Ceddia, R.B., 2011. Analysis of time-dependent adaptations in whole-body energy balance in obesity induced by high-fat diet in rat. *Lipids. Health. Dis.* 16,10- 99.
- Spiegelman, B. M., 1998. PPAR γ : Adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes.* 47, 507-514.
- Spigoni, V., Picconi, A., Cito, M., Ridolfi, V., Bonomini, S., Casali, C., Zavaroni, I., Gnudi, L., Metra, M., Dei Cas, A., 2012. Pioglitazone improves in vitro viability and function of endothelial progenitor cells from individuals with impaired glucose tolerance. *PLoS One.* 7, e48283.
- Timpson, N.J., Harbord, R., Davey, S. G., Zacho, J., Tybjaerg-Hansen, A., Nordestgaard, B.G., 2009. Does greater adiposity increase blood pressure and hypertension risk?: Mendelian randomization using the FTO/MC4R genotype. *Hypertension.* 54, 84–90.
- Triggle, C.R., Samuel, S.M., Ravishankar, S., Marei, I., Arunachalam, G., Ding, H., 2012. The endothelium: influencing vascular smooth Muscle in many ways. *Can.J. Physiol. Pharmacol.* 90,713–738.
- Triggle, C.R., Samuel, S.M., Ravishankar, S., Marei, I., Arunachalam, G., Ding, H., 2012. The endothelium: influencing vascular smooth Muscle in many ways. *Can.J. Physiol. Pharmacol.* 90,713–738.
- Vieira, A.C.Q.M., Marques, G.S., Melo, C.M., Silva, K.E.R., Rolim, L.A., Lima, M.C.A., Galdino, S.L., Pitta, I.R., Neto, P.J., 2013. Physical–chemical characterization of new antiinflammatory agent (LPSF/GQ-130) and evaluation of its thermal compatibility with pharmaceutical excipients. *J. Therm. Anal. Calorim.* 115, 2339-2349.
- Vosselman, M.J., Van der Lans, A.A., Brans, B., Wierds, R., van Baak, M.A., Schrauwen, P., van Marken Lichtenbelt, W.D., 2012. Systemic β -adrenergic stimulation of thermogenesis is not accompanied by brown adipose tissue activity in humans. *Diabetes.* 61, 3106-3113.
- Wang, C.C.L., Goalstone, M.L., Draznin, B., 2004. Molecular mechanisms of insulin resistance that impact cardiovascular biology. *Diabetes.* 53, 2735-2740.
- Wang, M. H., Smith, A., Zhou, Y., Chang, H. H., Lin, S., Zhao, X., Inig, J. D., Dorrance, A. M., 2003. Downregulation of renal CYP-derived eicosanoid synthesis in rats with diet-induced hypertension. *Hypertension.* 42, 594-599.
- Willson, T.M., Lambert, M.H., Kliewer, S.A., 2001. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and metabolic disease. *Annu. Ver. Biochem.* 70, 341-367.

Xu, F. P., Chen, M. S., Wang, Y. Z., Quan, Y., Lin, S. B., Chen, A. F., Luo, J. D., 2004. Leptin induces hypertrophy via endothelin-1-reactive oxygen species pathway in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circulation*. 110, 1269-1275.

Yehkavaara, S., Makimattila, S., Schlenzka, A., Vakkilainen, J., Westerbacka, J., Yki-Jarvinen, H., 2000. Insulin therapy improves endothelial function in type 2 diabetes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20, 545-550.

Yki-Järvinen, H., 2004. Thiazolidinediones. *N. Engl. J. Med.* 351, 1106-1118. Zeng, G., Nyström, F.H., Ravichandran, L.V., Cong, L.N., Kirby, M., Mostowski, H., Quon, M.J., 2000. Roles for insulin receptor, PI3-Kinase, and Akt in insulin-signaling pathways related to production of nitric oxide in human vascular endothelial cells. *Circulation*. 101, 1539-1545.

Zhang, H., Han, S., Cao, P., Zhai, C., Wei, S., Jiu, Y., 2013. Effects of Chinese wild rice on lipid metabolism and lipotoxicity in rats fed with high fat/cholesterol diet. 42, 190-195.

Zhang, T., Reid, K., Acuff, C. G., Jin, C. B., Rockhold, R. W., 1994. Cardiovascular and analgesic effects of a highly palatable diet in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 48, 57-61.

Ziyadeh, N., McAfee, A.T., Koro, C., Landon, J., Arnold, C. K., 2009. The thiazolidinediones rosiglitazone and pioglitazone and the risk of coronary heart disease: a retrospective cohort study using a US health insurance database. *Clin. Ther.* 31, 2665-2677.

World Health Organization. 2010. Obesity: Preventing and managing the global epidemic report on a WHO consultation. WHO Technical Report Series 894.

Legends for figures

Fig. 1. Dietary intake, caloric and water from 2 months of age. Panel A represents the average weekly consumption of the diet (g) and panel B, the average caloric intake during 14 weeks. Panel C shows the water consumption. Control group exposed to standard chow diet or (C) (○) fat diet (DH) (●), DH treated with pioglitazone (10 mg / kg) (DH + PIO) (▲), DH treated LPSF/GQ-130 (20 mg / kg) (DH + GQ) (■). Values are expressed as mean $\pm$ SEM, n = 6-8 animals, * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 (vs. group C); † p <0.05 (vs. DH). One and Two-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test.

Fig. 2. Changes of body weight (grams) over 14 weeks from 2 months of age. Control group exposed to standard chow diet or (C) (○) fat diet (DH) (●), DH treated with pioglitazone (10 mg / kg) (DH + PIO) (▲), DH treated LPSF/GQ-130 (20 mg / kg) (DH + GQ) (■). Values are expressed as mean $\pm$ sem, n = 6-8 animals; ** p <0.01 (vs. group C), † p <0.05 (vs. DH). Two-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test.

Table 1

Weight of adipose tissue and relative weight (g / 100 g of body weight) of the principal organs of the control animals exposed to standard diet (C), high-fat diet (DH), DH treated LPSF/GQ-130 (20 mg / kg) (DH+GQ) DH treated with PIO (10 mg / kg) (DH+PIO). Values are expressed as mean $\pm$ SEM, n = 6-8 animals, * p <0.05, ** p <0.01 (vs. group C)

Fig. 3. Glucose Tolerance Test (GTT) (A) made after the period of exposure to DH and treatment with TZDs (14th week) and comparing the area under the curve (B) the result of TTG. Control group exposed to standard chow diet or (C) (○) fat diet (DH) (●), DH treated with pioglitazone (10 mg / kg) (DH + PIO) (▲), DH treated LPSF/GQ-130 (20 mg / kg) (DH+GQ) (■). Values are expressed as mean $\pm$ SEM, (n = 6-8 animals). * p <0.05, ** p <0.01 (vs. group C), † p <0.05 (vs. DH). Two-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test. (A) ANOVA one way followed by Bonferroni's post hoc test. (B).

Fig. 4. insulin tolerance test (ITT) (A) made after the period of exposure to DH and treatment with TZDs (14th week) and comparing the area under the curve (B) the result of TTI. Control group exposed to standard chow diet or (C) (○) fat diet (DH) (●), DH treated with pioglitazone (10 mg / kg) (DH + PIO) (▲), DH treated LPSF/GQ-130 (20 mg / kg) (DH+GQ) (■). Values are expressed as mean $\pm$ SEM, (n = 6-8 animals). * p <0.05, ** p <0.01 (vs. group C), † p <0.05 (vs. DH). Two-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test. (A), and one way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test. (B).

Fig. 5. Plasma insulin levels after the DH period of exposure and treatment with TZDs (14th week). Control group exposed to standard diet (C), high-fat diet (DH), DH LPSF/GQ-130 treated (20 mg / kg) (DH + GQ), DH treated with PIO (10 mg / kg) (DH + PIO). Values are expressed as mean $\pm$ SEM, (n = 6-8 animals). * p <0.05, ** p <0.01 (vs. group C). One-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test.

Table 2

Effect of high fat diet and pioglitazone (PIO) or LPSF/GQ130 on plasma biochemical parameters. Control group exposed to standard diet (C), high-fat diet (DH), DH LPSF/GQ-130 treated (20 mg / kg) (DH + GQ), DH treated with pioglitazone (10 mg / kg) (DH + PIO). Values are expressed as mean $\pm$ SEM, n = 6-8 animals, * p <0.05, ** p <0.01 (vs. group C); † p <0.05, †† p <0, 01 (vs. HFD). One-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test.

Table 3

Values of systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR). Animals exposed to standard diet (C), high-fat diet (DH), DH LPSF/GQ-130 treated (20 mg / kg) (DH + GQ), DH treated with PIO (10 mg / kg) (DH + PIO) . Values are expressed as mean $\pm$ sem, n = 5 animals per group.

Fig. 6. Curve endothelium-dependent relaxation mediated by ACh in aorta rings. Control group exposed to standard diet (C) (○), C treated with PIO (C + PIO) (Δ), and C treated with GQ-130 (C + GQ) (□) (Panel A), control group exposed to standard chow diet or (C) (○), high fat diet (DH) (●), DH treated with pioglitazone (10 mg / kg) (DH + PIO) (▲), DH LPSF/GQ-130 treated (20 mg / kg) (DH + GQ) (■) (Panel B). Values are expressed as mean $\pm$ sem, n = 6-8 animals. ** p <0.01, *** p <0.001 (vs. group C), †† p <0.01 (vs. HFD). Two-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test.

Fig.7. Concentration-dependent curve to phenylephrine in the aorta rings. Control group exposed to standard diet (C) (○), C treated with PIO (C + PIO) (Δ), and C treated with GQ-130 (C + GQ) (□) (Panel A), control group exposed to standard chow diet or (C) (○) fat diet (DH) (●), DH treated with pioglitazone (10 mg / kg) (DH + PIO) (▲); LPSF/GQ-130 DH treated (20 mg / kg) (DH + GQ) (■) (Panel B). Values are expressed

as mean $\pm$ sem, n = 6-8 animals. * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 (vs. group C); ††† p <0.001 (vs. HFD). Two-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test.

Fig.8. concentration response curve to sodium nitroprusside in aortas rings. Control group exposed to standard diet (C) ($\circ$), C treated with PIO (C + PIO) (Δ), and C treated with GQ-130 (C + GQ) ($\square$) (Panel A), control group exposed to standard chow diet or (C) ($\circ$) fat diet (DH) ($\bullet$), DH treated with pioglitazone (10 mg / kg) (DH + PIO) ($\blacktriangle$); LPSF/GQ-130 DH treated (20 mg / kg) (DH + GQ) ($\blacksquare$) (Panel B). Values are expressed as mean $\pm$ sem, n = 6-8 animals. †† p <0.001 (vs. DH). Two-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test.

List of figures, tables and diagrams.

Scheme 1

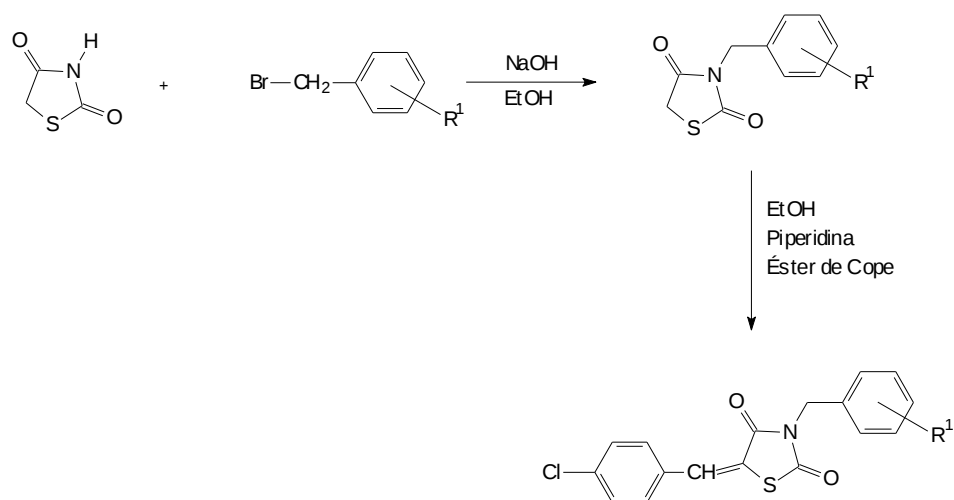


Table 1

Macronutrients (Kcal %)	Diet Control	DHL
Carbohydrates	63,0	26,6
Proteins	23,0	15,0
Lipids	14,0	58,4

The minerálicos and vitamin contents of the DH were added according to the needs of experimental animals described in the AIN 93-G Purified Diet Growth.

Figure 1

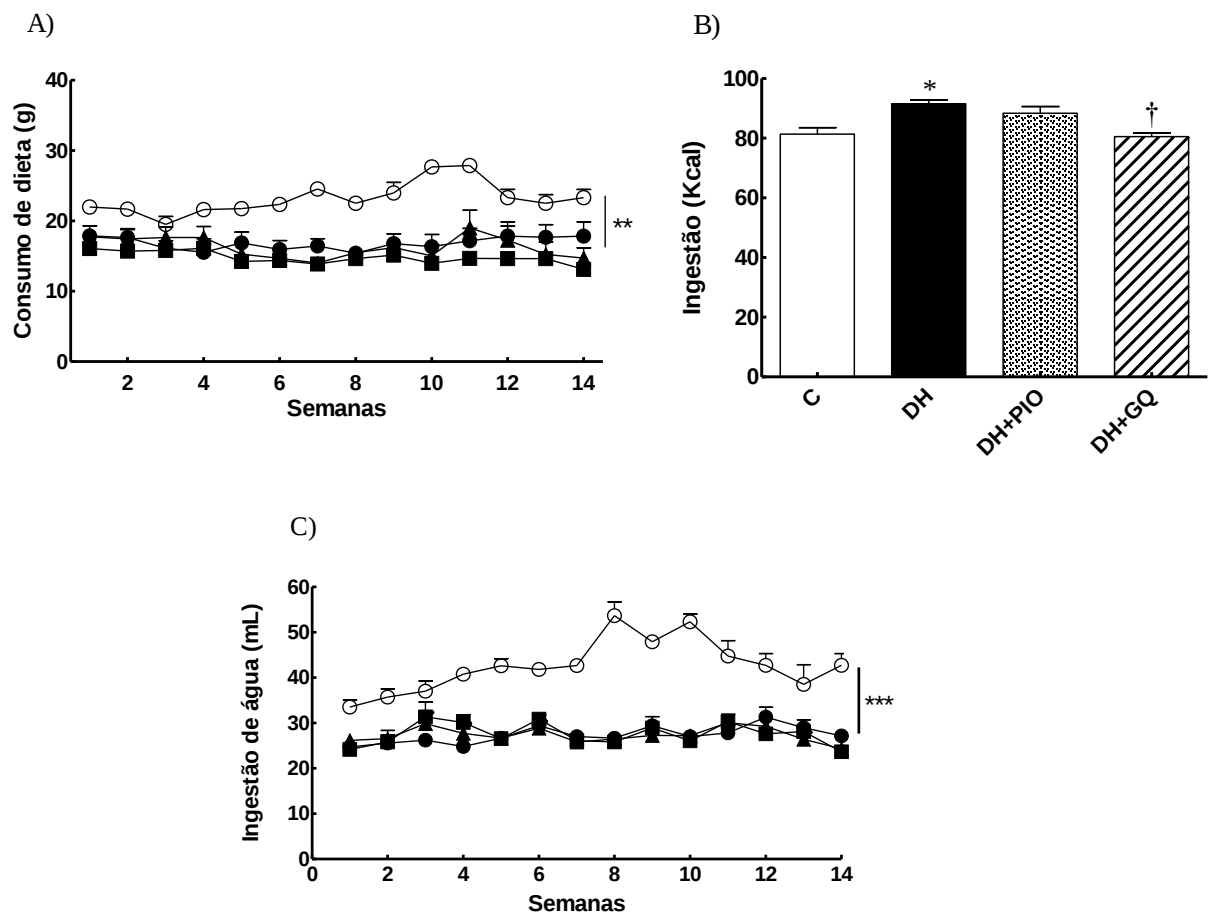


Figure 2

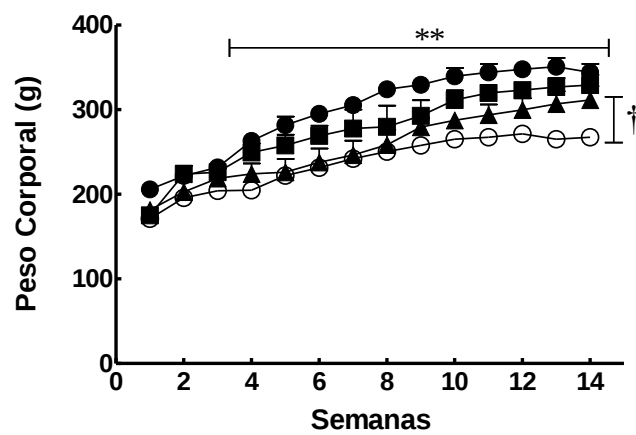


Table 2

Organ (g)	Group C	Relative weight (%)		
		DH	DH+PIO	DH+GQ
Epididymal adipose tissue	1,02±0,1	1,60±0,2*	1,50 ± 0,1	1,56±0,1
Retroperitoneal adipose tissue	0,66±0,1	1,70±0,2*	1,60±0,1	1,90±0,3
Perirenal adipose tissue	0,20±0,0	0,27±0,0	0,27±0,0	0,26±0,0
ventricular wet	0,42±0,0	0,39±0,0	0,37±0,0	0,38±0,0
dry ventricle	0,08±0,0	0,08±0,0	0,08±0,0	0,09±0,0
Right kidney wet	0,40±0,0	0,30±0,0**	0,30±0,0	0,30±0,0
Kidney dry right	0,09±0,0	0,07±0,0**	0,07±0,0	0,08±0,0
Left kidney wet	0,40±0,0	0,30±0,0**	0,34±0,0	0,30±0,0
Dry left kidney	0,09±0,0	0,07±0,0**	0,07±0,0	0,07±0,0
Long digital extensor muscle wet	0,04±0,0	0,04±0,0	0,04±0,0	0,04±0,0
Long digital extensor muscle dry	0,01±0,0	0,01±0,0	0,01±0,0	0,01±0,0

Values are expressed as mean ± e.p.m; n= 6-8 animals; *p< 0,05, **p< 0,01 (vs. group C)

Figure 3

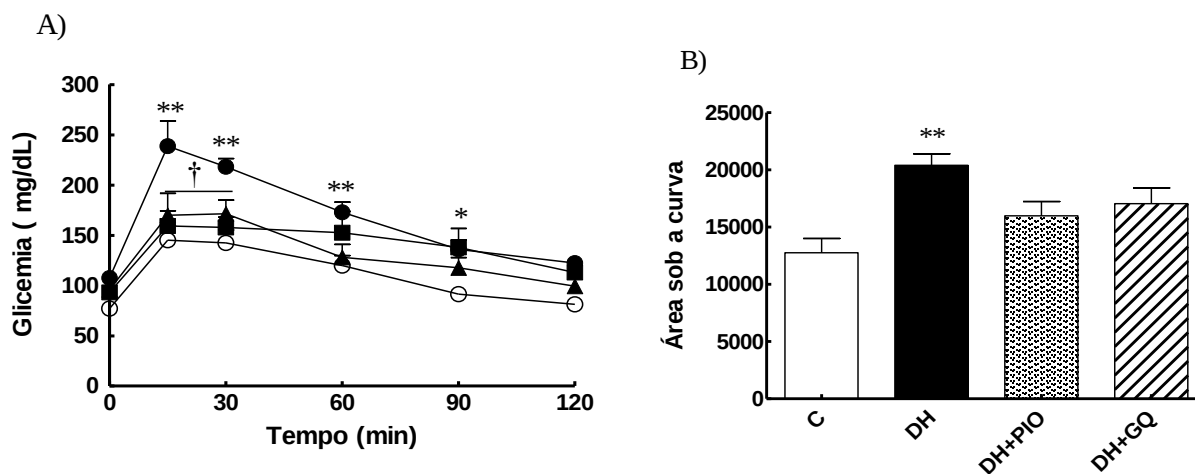


Figure 4

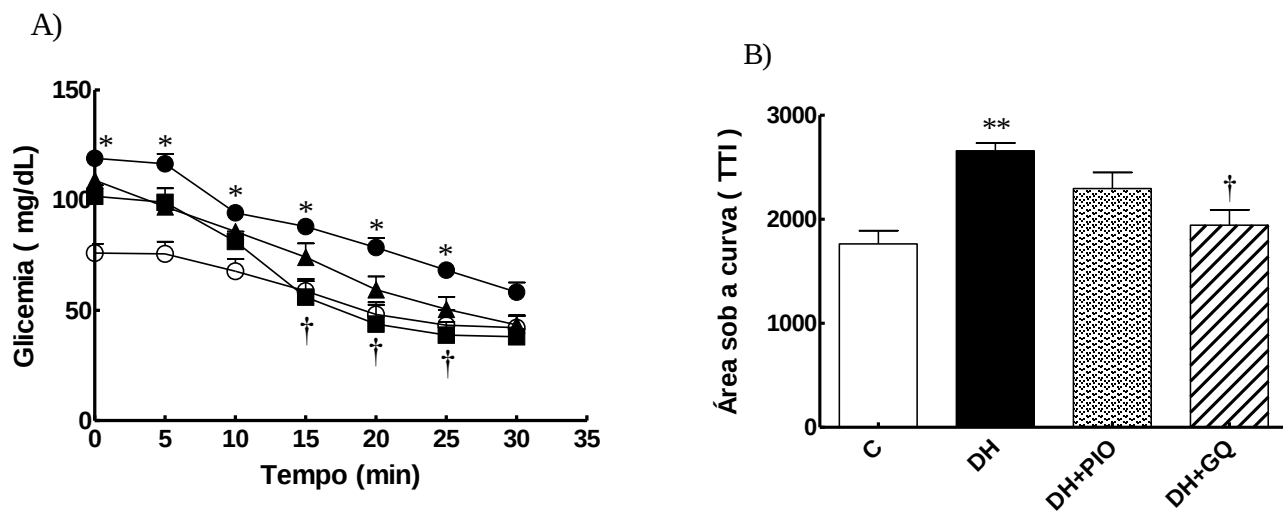


Figure 5

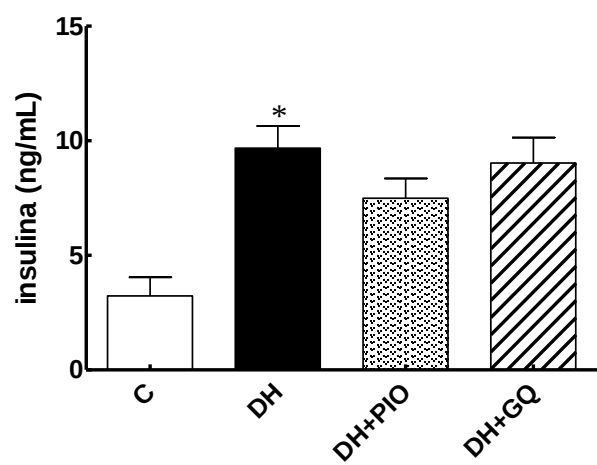


Table 3

	C	DH	DH+PIO	DH +GQ
Glucose (mg/dL)	82,3±1,0	107,0±3,5*	96,0±5,4	101,4±3,9
Total Cholesterol (mg/dL)	44,2±1,3	51,9±2,4**	42,8±3,0†	53,9±1,8
HDL-c (mg/dL)	33,1±1,1	40,7±2,0*	32,5±1,8††	41,7±1,9
LDL-c (mg/dL)	4,7±0,5	6,1±1,6	4,8±0,8	4,0±0,4
VLDL-c (mg/dL)	6,4±0,2	6,3±0,3	7,2±0,7	7,8±0,9
Triglycerides (mg/dL)	32,2±1,4	37,3±1,2	35,9±1,7	33,7±1,3
AST (U/L)	209,8±13,0	161,6±16,6	147,0±10,0	166,6±10,3
ALT (U/L)	73,3±1,8	79,7±2,1	76,8±1,9	83,7±2,4
Alkaline Phosphatase (U/L)	104,6±1,5	147,9±7,8*	135,3±6,3	131,6±4,2
PCR (mg/dL)	0,017±0,0	0,022±0,0*	0,015±0,0††	0,014±0,0††
Creatinine (mg/dL)	0,3±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0
Albumin (g/dL)	3,3±0,1	3,6±0,2	4,0±0,0	3,8±0,3

Control group exposed to standard diet (C), fat diet (DH), DH treated with LPSF/GQ-130 (20 mg/kg) (DH+GQ), DH treated with pioglitazone (10 mg/kg) (DH+PIO). Values are expressed as mean ± e.p.m; n= 6-8 animais, *p< 0,05; **p< 0,01 (vs. grupo C); † p < 0,05, †† p < 0,01 (vs. group DH). ANOVA followed by a road test Bonferroni.

Table 4

	C	DH	DH + PIO	DH +GQ
PAS	209,1± 7,0	191,7± 1,6	190,6± 4,4	195,5± 5,7
PAD	167,9± 7,2	155± 2,4	155,1± 5,1	152,5± 8,3
PAM	181,9± 7,3	167,2± 1,6	166,9± 4,5	167,7± 5,8
FC	355,6± 11,8	394,5± 18	367,1±9,2	368,9± 4,4

Control group exposed to standard diet (C), fat diet (DH), DH treated with LPSF/GQ-130 (20 mg/kg) (DH+GQ), DH treated with pioglitazone (10 mg/kg) (DH+PIO). Values are expressed as mean ± e.p.m; n= 5 animals per group.

Figure 6

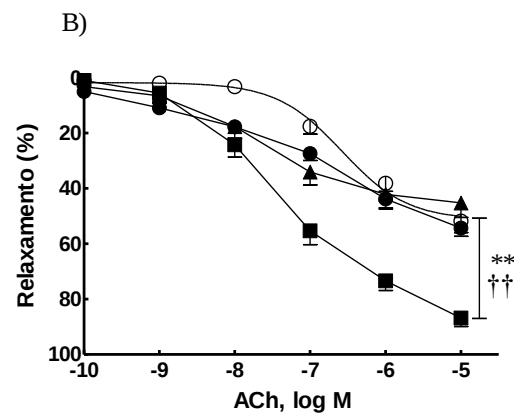
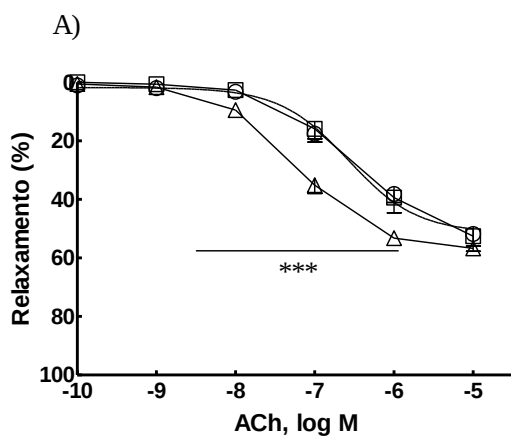


Figure 7

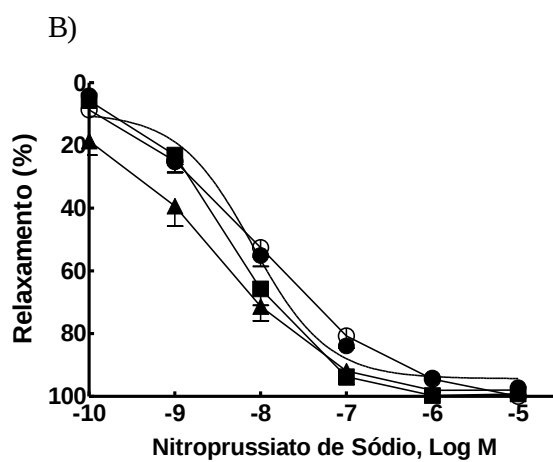
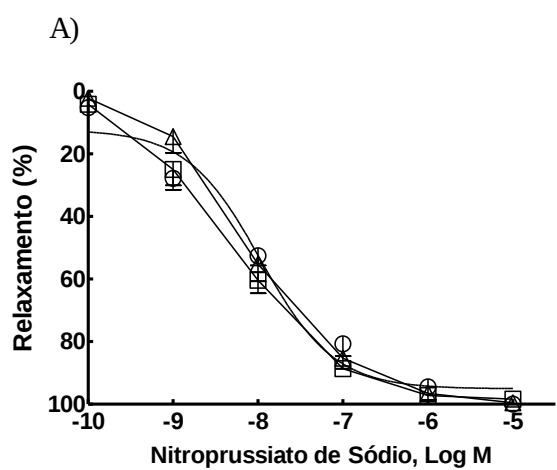
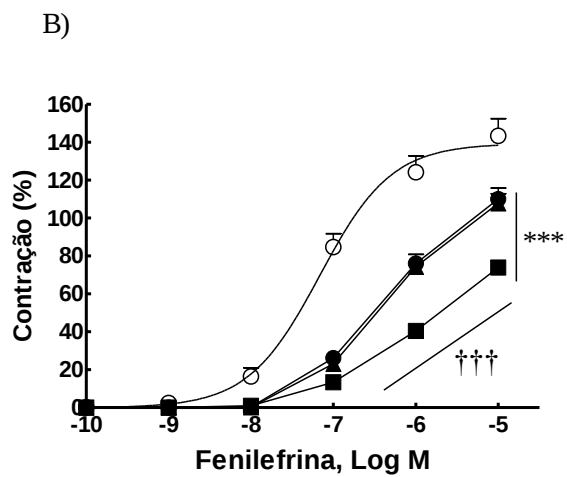
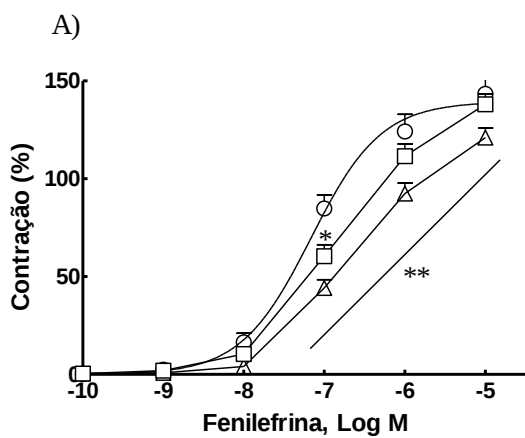
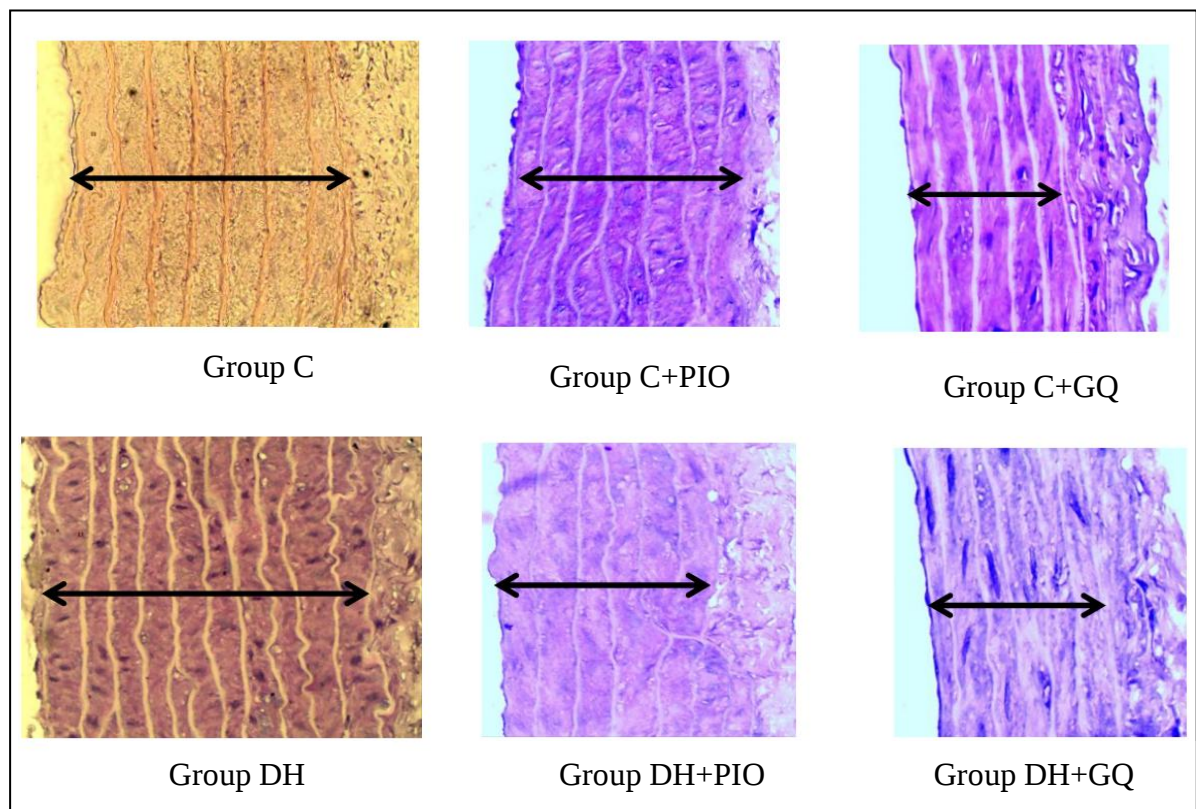
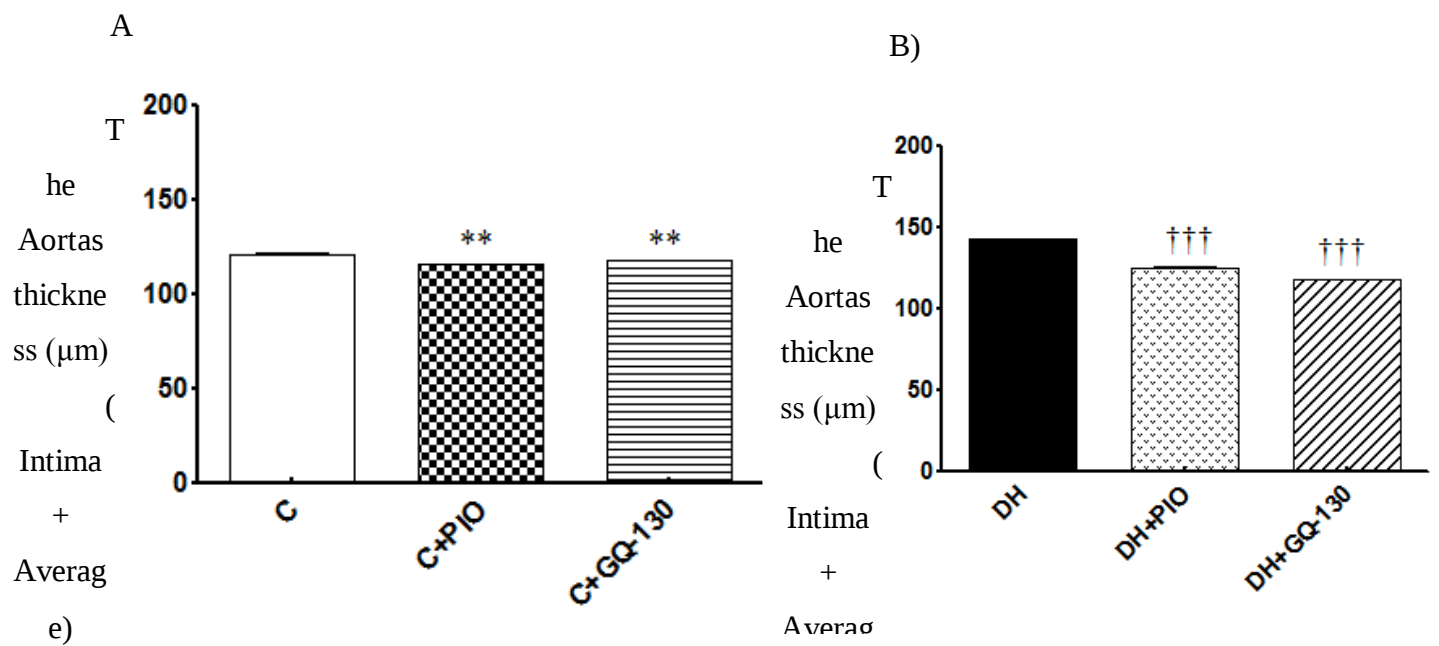


Figure 8





6. CONCLUSÃO

O presente estudo sugere que o consumo da DH altera funções metabólicas promovendo dislipidemias, aumento de peso corporal, alterações nos níveis de PCR, insulina plasmática e RI em ratos SHR, mimetizando desta forma a síndrome metabólica (SM) observada em humanos.

As alterações do metabolismo lipídico e glicídico, assim como os níveis de um importante marcador inflamatório, a PCR podem ter contribuído para o aumento da espessura da parede arterial e inflamação vascular dos animais SHR aqui estudados.

O novo derivado tiazolidínico, GQ-130, é um candidato promissor para o tratamento de distúrbios relacionados à RI, diminuindo os níveis de PCR implicando uma atenuação da inflamação vascular.

Assim, mais estudos utilizando outros marcadores inflamatórios tais como IL-6, TNF- α e expressão de proteínas, podem ser importantes para se definir o papel deste candidato à fármaco na terapia da resistência à insulina e melhora na reatividade vascular.