

2.07.02 - Fisiologia / Fisiologia de Órgãos e Sistemas.

EFEITO TEMPORAL DA DIETA CAFETERIA NA VARIABILIDADE DA FREQUENCIA CARDÍACA DE RATOS WISTARLetícia S. Julião-Silva^{1*}, Thaís M. Silva², Gleuber H. Marques-Oliveira³, Daniel P. M. Dias⁴, Valéria E. Chaves⁵.

1. Estudante de Farmácia, Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ-CCO)

2. Mestre pelo PMBqBM, Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ-CCO)

3. Doutor pelo PMBqBM, Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ-CCO)

4. Professor, Centro Universitário Barão de Mauá

5. Orientador, Professor, Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ-CCO)

Resumo

Evidências sugerem que o desbalanço autonômico desempenha um importante papel na patogênese de doenças cardiovasculares. Investigamos o efeito temporal da dieta cafeteria na variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em ratos. O eletrocardiograma foi registrado nos dias 6, 12, 18 e 24 em ratos alimentados com dieta cafeteria ou controle. Os intervalos RR foram calculados e a análise da VFC foi realizada no domínio do tempo e da frequência. Os resultados foram expressos como média \pm EPM e analisados utilizando o teste t-Student ($P < 0,05$). A dieta cafeteria por 6 dias não induziu alterações na VFC, mas a partir do 12º dia de dieta, os ratos apresentaram aumento na frequência cardíaca, na potência de LF e na razão LF/HF, sem alterar a potência de HF e os parâmetros no domínio do tempo. As alterações encontradas foram mantidas no 18º e 24º dia de dieta. Nossos achados mostram que a dieta cafeteria altera o balanço simpátovagal cardíaco, aumentando a modulação simpática a partir do 12º dia.

Autorização legal: O projeto foi aprovado pelo comitê de ética do uso de animais da UFSJ (protocolo 032/2017).

Palavras-chave: Sistema Nervoso Simpático; Dieta Hipercalórica; Adiposidade.

Apoio financeiro: CNPq e UFSJ.

Trabalho selecionado para a JNIC: UFSJ.

Introdução

A Síndrome Metabólica (SM) é um transtorno complexo representado por um conjunto de fatores de risco cardiovasculares relacionados à deposição central de gordura e à resistência à insulina¹. A associação da SM com a doença cardiovascular (DCV) aumenta a mortalidade geral em cerca de 1,5 vezes e a cardiovascular em cerca de 2,5 vezes¹. Devido à alta mortalidade por DCVs, há necessidade de compreender o papel de cada um dos elementos envolvidos na fisiopatologia da obesidade e dos outros fatores de risco para o desenvolvimento da SM. Resultados prévios demonstram que a dieta cafeteria induz esteatose hepática, dislipidemia, hiperinsulinemia e aumento de adiposidade corporal e da frequência cardíaca (FC), sem alterar a pressão arterial em ratos^{2,3,4}.

O sistema cardiovascular é controlado pelo sistema nervoso autônomo (SNA), sendo que o sistema nervoso simpático induz um aumento na FC, enquanto o sistema nervoso parassimpático a reduz⁵. Dentre as técnicas utilizadas para avaliação da modulação autonômica do sistema cardiovascular, a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) tem emergido como uma medida simples e não-invasiva, que além de refletir a atividade do SNA sobre o nódulo sinusal, também é uma ferramenta clínica para avaliar e identificar comprometimentos na saúde⁶. Uma alta VFC é sinal de boa adaptação, caracterizando um indivíduo saudável, com mecanismos autonômicos eficientes, enquanto que, baixa VFC é frequentemente um indicador de adaptação anormal e insuficiente do SNA, implicando a presença de mau funcionamento fisiológico no indivíduo⁶. A VFC é estimada no domínio do tempo através do cálculo da média, desvio padrão (SDNN) e quadrado médio das sucessivas diferenças (RMSSD) e no domínio da frequência, através da análise dos componentes oscilatórios de baixa (LF) e alta frequência (HF). O RMSSD e o HF refletem a atividade parassimpática, enquanto o LF reflete a atividade simpática.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito temporal da dieta cafeteria na modulação autonômica da frequência cardíaca em ratos Wistar utilizando métodos lineares. Especificamente, foi avaliado o efeito da dieta cafeteria após 6, 12, 18 e 24 dias na VFC no domínio do tempo e da frequência.

Metodologia

Ratos Wistar (45-60 gramas, n: 12 por grupo) foram divididos em dois grupos. Ao grupo experimental foi oferecida por 24 dias a dieta cafeteria, obtida pela suplementação da ração Nuvital® com diversos ingredientes palatáveis. A cada dia, quatro ingredientes diferentes, entre doze itens previamente selecionados (Bala de Caramelo, Bacon, Batata Frita, Bis®, Bolacha de Maisena, Castanha do Pará, Chocolate, Chocooky®, Pé de Moleque, Snacks®, Torrada, Torrone) foram oferecidos aos ratos, sendo que todos os itens apresentam

densidade calórica superior à da dieta comercial^{2,3,4}. A água dos ratos do grupo experimental foi acrescida de sacarose 20%. Os ratos controles receberam a ração Nuvilab® e água *ad libitum*^{2,3,4}.

No dia 5 de dieta os ratos foram anestesiados com a mistura de quetamina (50 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg) para a realização do implante do eletrodo de eletrocardiograma. Nos dias 6,12,18 e 24 os pinos do eletrodo foram conectados ao Power Lab® para registro da FC por um período de uma hora para cada rato. Após, os arquivos com o registro da FC foram analisados por um programa computacional (Lab Chart®), que detecta pontos de inflexão em sinais periódicos. Assim, séries temporais da FC foram geradas pelo cálculo do intervalo entre sucessivas ondas R, sendo gerado, portanto, o intervalo R-R.

O estudo da VFC foi realizado a partir dos registros da FC dos ratos dos grupos controle e cafeteria em cada um dos tempos de dieta (6, 12, 18 e 24 dias). A partir destes registros, as variabilidades foram avaliadas no domínio do tempo, pela análise da variância permitindo a estimativa da média, SDNN e RMSSD, e no domínio da frequência, pela análise das médias da Transformada Rápida de Fourier, permitindo estimar as bandas LF e HF⁷. Os componentes oscilatórios foram quantificados nas faixas de baixa frequência (LF), que permite estimar a atividade do SNS, e alta frequência (HF), permite avaliar a atividade do sistema nervoso parassimpático. A análise da variabilidade dos parâmetros cardiovasculares foi realizada com o auxílio dos programas Cardioseries 1.0. e JBios.

Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão e as diferenças foram analisadas pelo teste de t-student. $P < 0,05$ foi considerado para nível de significância.

Resultados e Discussão

A dieta cafeteria não induziu alteração no peso corporal final, mas aumentou o peso dos tecidos adiposos retroperitoneal ($0,76 \pm 0,06$ vs. $3,07 \pm 0,14$) e epididimal ($1,46 \pm 0,08$ vs. $3,21 \pm 0,22$) e as concentrações séricas de triacilglicerol ($87,66 \pm 13,44$ vs. $141,69 \pm 14,75$) e colesterol total ($92,81 \pm 8,54$ vs. $129,26 \pm 10,36$). No nosso estudo, o peso corporal dos ratos alimentados com a dieta cafeteria não teve aumento em relação ao grupo experimental, embora um aumento na adiposidade tenha sido previamente demonstrado⁴. Este resultado corrobora com achados de outros pesquisadores. Em outro estudo foi demonstrado que a dieta cafeteria oferecida a ratas Wistar, com peso inicial de aproximadamente 225g durante 15 dias, não promove alteração no peso corporal final⁸. Entretanto, esse tipo de dieta induz aumento de quantidade de tecido adiposo branco retroperitoneal, epididimal e mesentérico independentemente do tempo de dieta em roedores⁹.

A dieta cafeteria durante 6 dias não induziu alterações na VFC, entretanto a partir do 12º dia de dieta, os ratos apresentaram aumento na FC ($372,58 \pm 6,09$ vs. $423,33 \pm 14,9$), na potência de LF (nu) ($17,77 \pm 2,29$ vs. $38,87 \pm 2,67$) e na razão LF/HF ($0,25 \pm 0,04$ vs. $0,74 \pm 0,07$), sem alterar a potência de HF (ABS) e os parâmetros no domínio do tempo. As alterações encontradas foram mantidas no 18º e 24º dia de dieta. É amplamente conhecido que indivíduos que apresentam uma alta adiposidade apresentam alterações no balanço autonômico para o sistema cardiovascular. Este efeito também é observado em roedores. Ratos Wistar alimentados durante doze semanas com uma dieta *high fat* anestesiados tiveram um aumento da atividade do nervo simpático renal quando comparado ao grupo que recebeu dieta comercial¹⁰. Recentemente nosso grupo de pesquisa demonstrou que a oferta da dieta cafeteria por aproximadamente quatro semanas foi capaz de alterar parâmetros cardiovasculares em roedores⁴. O valor da banda LF dos ratos que receberam esta dieta foi aproximadamente 60% maior em relação aos ratos alimentados com a dieta controle. A razão das bandas LF/HF também teve um aumento (100%) no grupo experimental em relação ao grupo controle. Esses dados sugerem que a dieta cafeteria promove um aumento na atividade do sistema nervoso simpático, um efeito confirmado pela administração de bloqueadores autonômicos. A administração de propranolol demonstrou um aumento de quatro vezes no tono simpático dos ratos cafeteria em relação aos que receberam dieta comercial⁴. O aumento na atividade simpática provavelmente foi responsável pelo aumento de 12,5% na FC basal⁴.

Para o nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo em ratos que avalia o efeito temporal de uma dieta hipercalórica, hiperlipídica e hiperglicídica na VFC. O presente trabalho demonstra que 6 dias de dieta não foram suficientes para causar um desbalanço autonômico nos ratos, mas a partir do 12º dia de dieta os ratos alimentados com a dieta cafeteria não apresentaram diminuição da FC assim como acontece com os ratos alimentados com a dieta comercial, portanto possivelmente há uma alteração no balanço autonômico desses ratos. Através da análise do registro do ECG, foi demonstrado que a dieta cafeteria durante 12, 18 e 24 dias promoveu um aumento da FC e na banda LF, sem alteração no SDNN, RMSSD e na banda HF. Estudo prévio demonstra que cães machos da raça beagle-harrier adultos (idade de $20,6 \pm 4,1$ meses) pesando $12,9 \pm 2,2$ Kg alimentados com dieta hipercalórica e hiperlipídica apresentam a partir da 2ª semana de oferta da dieta uma diminuição significativa na banda de HF da VFC, enquanto a VFC total não foi significativamente modificada¹¹. Este efeito também foi encontrado após 3,4,5,6,7 e 20 semanas de oferta da dieta hipercalórica¹¹. Este estudo corrobora os nossos achados visto que a redução na banda HF indica uma desregulação autonômica através da redução da atividade parassimpática para o sistema cardiovascular.

Nossos achados sugerem alterações autonômicas decorrente do desenvolvimento do roedor, pois os ratos controles no primeiro dia de registro (5 semanas de idade) apresentam uma FC de 410 bpm e a partir da segunda semana de registro houve um declínio para aproximadamente 372 bpm. Este valor da FC se manteve nos demais tempos analisados. Esta alteração autonômica decorrente do desenvolvimento do rato controle está de acordo com dados prévios da literatura. Em um experimento a FC de ratos controles foi obtida nos dias 10, 20, 30, 40, 60 e 90 pós-natal¹². Neste estudo foi demonstrado que a FC de repouso desses animais foi alta nas primeiras três semanas (430 ± 10 bpm) e depois declinou 376 ± 10 bpm e se manteve menor até a idade

de 90 dias¹². A manutenção da FC a partir da 6ª semana de idade também tem sido registrada por outros autores. Em ratos wistar controles, com idade variando de 8 a 10 semanas, mesmo após procedimento cirúrgico placebo, onde o tórax do rato foi aberto e posteriormente fechado, o valor de FC (350 bpm) se mantém após 1, 3, 7 e 28 dias da cirurgia fictícia¹³. Ratos wistar-kyoto normotensos com 14 semanas de idade apresentam FC de 366 ± 28 bpm¹⁴. Este valor é similar ao apresentado por dois outros trabalhos^{12, 13}. Os valores da FC entre ratos wistar-kyoto de 13 a 33 semanas de idade (adultos, n = 10) e 52 a 58 semanas de idade (idosos, n = 6) antes da estimulação do corpúsculo carotídeo são estatisticamente similares, sendo em ratos adultos 405 ± 44 bpm e nos ratos idosos foi de 349 ± 63 bpm¹⁵. Esses dados encontrados na literatura corroboram nosso achado de que a FC de ratos jovens é maior do que de ratos adultos ou idosos.

Em nossos resultados houve alteração da banda LF e da razão LF/HF dos ratos cafeteria a partir do 12º dia de dieta. Corroborando nossos dados, a razão LF/HF de ratos wistar pesando aproximadamente 200g alimentados com dieta high fat por 12 semanas teve um aumento a partir da 8ª semana de experimento, indicando equilíbrio simpato-vagal cardíaco comprometido¹⁶. A banda HF não apresentou diferença estatística entre os grupos experimentais e controles em nenhum dos dias de dieta, assim como o SDNN e o RMSSD. Ratos wistar pesando aproximadamente 164 g após 7, 14, 30, 120 dias da injeção de tampão apresentaram respectivamente os seguintes SDNN: 5 ± 1 , 4 ± 1 , 7 ± 2 , 6 ± 1 , respectivamente e o RMSSD 12 ± 2 , 14 ± 3 , 13 ± 1 , 15 ± 2 , respectivamente¹⁹. Não houve alteração no SDNN e no SDNN ao longo da vida do rato em nossos resultados encontrados o que corrobora com um estudo prévio¹⁷.

Conclusões

A dieta cafeteria oferecida durante 24 dias aos ratos foi suficiente para alterar o equilíbrio simpato-vagal cardíaco. A partir do 12º dia de dieta foi possível observar alterações nos parâmetros cardiovasculares dos ratos. A FC do grupo experimental não reduziu a partir do 12º dia de experimento assim como aconteceu com o grupo controle. A alteração da FC juntamente com outros parâmetros cardiovasculares, como a banda LF e a razão LF/HF aumentada, sugere que há um aumento da atividade simpática nos ratos alimentados com a dieta cafeteria.

Referências bibliográficas

- 1- BRANDÃO et al., I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. **Arq Bras Cardiol.** 84:3-28, 2005.
- 2- CHAVES et al., Glyceroneogenesis Is Reduced and Glucose Uptake Is Increased in Adipose Tissue from Cafeteria Diet-Fed Rats Independently of Tissue Sympathetic Innervation. **J Nutri.** 136:2475–80, 2006.
- 3- MELO et al., Increase in liver cytosolic lipases activities and VLDL-TAG secretion rate do not prevent the non-alcoholic fatty liver disease in cafeteria diet-fed rats. **Biochimie.** 150:16-22, 2018.
- 4- Silva, et al., Cardiac sympathetic drive is increased in cafeteria diet-fed rats independent of impairment in peripheral baroreflex and chemoreflex functions. **Nutr Metab Cardiovasc Dis.** 30:1023-31, 2020.
- 5- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Tratado de fisiologia médica. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.1151, 2011.
- 6- VANDERLEI, L.C.M. et al. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Rev Bras Cir Cardiovasc.** 24:205-17, 2009.
- 7- Cerutti et al. Non linear regularity of arterial blood pressure variability in patient with atrial fibrillation in tilt-test procedure. **Europace.** 141–47, 2014.
- 8- MUNTZEL et al. The cafeteria diet increases fat mass and chronically elevates lumbar sympathetic nerve activity in rats. **Hypertension.** 60:1498–1502, 2012.
- 9- PRADA et al. Western Diet Modulates Insulin Signaling, c-Jun N-Terminal Kinase Activity, and Insulin Receptor Substrate-1ser307 Phosphorylation in a Tissue-Specific Fashion. **Endocrinology.** 146:1576–87, 2005.
- 10- BARNES et al., High fat feeding is associated with increased blood pressure, sympathetic nerve activity and hypothalamic mu opioid receptors. **Brain Res Bull.** 511–19, 2003.
- 11- VERWAERDE et al., Changes in short-term variability of blood pressure and heart rate during the development of obesity-associated hypertension in high-fat fed dogs. **J Hypertens.** 17:1135-43, 1999.
- 12- KUNCOVÁ et al., Neonatal Capsaicin Administration Impairs Postnatal Development of the Cardiac Chronotropy and Inotropy in Rats. **Physiol Res.** 65:S633-42, 2016.
- 13- AIREZ et al., Time course of changes in heart rate and blood pressure variability in rats with myocardial infarction. **Braz J Med Biol Res.** 50:e5511, 2017.
- 14- SLASHCHEVA et al., Dihydroquercetin Does Not Affect Age-Dependent Increase in Blood Pressure and Angiotensin-Converting Enzyme Activity in the Aorta of Hypertensive Rats. **Bull Exp Biol Med.** 161:670-73, 2016.
- 15- KOUCHAKI et al., Hemodynamics changes with acute carotid baroreceptor field stimulation are age-dependent in normotensive rats. **Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.** 2015:2051-4, 2015.
- 16- SUPAKUL et al., Protective effects of garlic extract on cardiac function, heart rate variability, and cardiac mitochondria in obese insulin-resistant rats. **Eur J Nutr.** 53:919-28, 2014.
- 17- SCHAAN et al., Time course of changes in heart rate and blood pressure variability in streptozotocin-induced diabetic rats treated with insulin. **Braz J Med Biol Res.** 30:1081-86, 1997.