

Disfunção cardíaca induzida por obesidade genética e dietética: modulação pelo trânsito de cálcio

Cardiac dysfunction induced by genetic and dietetic obesity: modulation by calcium handling

Vitor Loureiro da Silva¹; Antonio Carlos Cicogna²; Ana Paula Lima Leopoldo³; André Soares Leopoldo³

¹Doutorando em Fisiopatologia em Clínica Médica, Laboratório de Músculo Papilar Isolado, FMB/Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Botucatu, SP - Brasil.

²Professor Titular-Emérito, Departamento de Clínica Médica – FMB/Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Botucatu, SP – Brasil.

³Doutores em Fisiopatologia em Clínica Médica – Ciências da Saúde - FMB/Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Docente do Departamento de Desportos e Programa de Pós-Graduação em Educação Física, Centro de Educação Física e Desportos, Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Vitória, ES – Brasil.

Endereço de correspondência:

Vitor Loureiro da Silva,
Departamento de Desportos, Centro de Educação Física e Desportos - Universidade Federal do Espírito Santo – UFES
29075-910 – Vitória – ES [Brasil]
vitorloureiro_ed.fisica@hotmail.com

Resumo

Introdução: A obesidade é considerada importante problema de saúde pública e fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Estudos apontam que o trânsito de cálcio (Ca^{2+}) intracelular e extracelular, mecanismo essencial no acoplamento excitação-contração-relaxamento cardíaco, está envolvido nesse processo patológico. Enquanto o influxo de Ca^{2+} promove aumento da concentração de Ca^{2+} livre no citosol na fase de contração, a recaptura e a extrusão do Ca^{2+} são importantes para a diminuição do Ca^{2+} intracelular durante o relaxamento. **Objetivo:** Identificar, baseado na literatura científica, a modulação da disfunção cardíaca pelo trânsito de cálcio em modelos de obesidade genética e dietética. **Métodos:** A busca de artigos em bases de dados eletrônicas foi realizada com palavras-chaves e seus correspondentes em inglês. **Resultados:** Inicialmente os artigos que apresentassem uma das palavras-chaves no título foram selecionados. Após processo de triagem, foram identificados 23 artigos para leitura na íntegra. Foram selecionados ao debate na seção “Discussão” apenas 18 artigos, visto que apresentaram conteúdo satisfatório sobre o tema abordado. **Conclusão:** A literatura mostra que a obesidade, genética ou dietética, promove disfunções cardíacas moduladas por diversas alterações no trânsito de Ca^{2+} intracelular e em suas proteínas regulatórias.

Descritores: Disfunção cardíaca; Obesidade; Obesidade Genética; Dieta rica em gordura; Cálcio intracelular.

Abstract

Introduction: Obesity is considered an important public health problem that presents increasing prevalence on a global scene. Obese individuals have greater susceptibility to the development of cardiac disease. Studies show that calcium (Ca^{2+}) handling, essential mechanism in the process contraction-relaxation of the cardiac muscle, is associated with cardiac dysfunction in obesity models. While Ca^{2+} influx promotes elevation of free Ca^{2+} concentration in the cytosol in the contraction period, the recapture and extrusion of Ca^{2+} are important to Ca^{2+} reduction during the relaxation. **Objective:** To identify, based on scientific literature, modulation of cardiac function by calcium handling impairments in models of genetic and dietetic obesity. **Methods:** The search for articles in electronic databases was performed with key words. **Results:** Initially studies that showed in title one of the key words were selected for analysis. 23 articles were obtained for reading in full. Then, 18 relevant articles were identified on cardiac dysfunction in obesity, both genetic and dietary and participation of the intracellular calcium handling. **Conclusion:** The literature presents that both genetic and dietetic obesity promotes cardiac dysfunction modulated by various changes in intracellular Ca^{2+} and its regulators protein.

Key words: Cardiac dysfunction; Obesity; Genetic Obesity; High-fat diet; Calcium handling.

Introdução

A obesidade é uma doença metabólica crônica caracterizada pelo aumento excessivo da massa adiposa em relação à massa muscular, caracterizando-se como pró-eminente problema de saúde pública¹. Vários fatores têm sido associados ao desenvolvimento desta doença, entre eles, distúrbios psicológicos, genéticos, endócrinos e ambientais^{1,2}.

Existem evidências sobre o papel de diversos genes, seus receptores e elementos regulatórios pertencentes à rede de estímulo hipotalâmico na regulação do peso corporal, entre eles: leptina, pró-opiomelanocortina (POMC), receptor 4 da melanocortina e pró-hormônio convertase 1 (PC1)^{3,4}. Em modelos animais de obesidade genética, mutações nos genes de leptina (*lep/lep* e *ob/ob*) e seus receptores (*cp/cp* e *fa/fa*) são comumente utilizados, além destes, camundongos transgênicos (UCP-DTA) com ablação de adipócito marrom, induzidos pela toxina diftérica A (DTA) e pela proteína desacopladora (UCP), tornam-se obesos e hiperfágicos^{5,6}. No entanto, a literatura relata que a maior parte dos casos de obesidade humana é consequente a fatores ambientais^{2,7,8}, que incluem maus hábitos de vida, como baixo nível de condicionamento físico e ingestão excessiva de gordura e açúcar.

Dentro deste contexto, pesquisas em modelos animais, a partir de manipulações dietéticas, têm sido utilizadas como ferramenta para o estudo da obesidade e mecanismos oriundos do excesso de gordura corporal⁹⁻¹³. Independente da etiologia da obesidade, seja por predisposição genética ou fatores ambientais, o tempo no qual o indivíduo permanece obeso é fator de risco iminente ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares^{1,2,14,7,8,15,16}.

Na literatura, vários mecanismos têm sido associados à disfunção cardíaca em modelos de obesidade, entre eles, o trânsito de cálcio (Ca^{+2}) intracelular, principal mecanismo regulador da contração e relaxamento miocárdico^{14,15,17}. Diversas proteínas e/ou canais são responsáveis pela homeostase do Ca^{+2} em condições normais e situações patológicas, tais como: canais de cálcio tipo L, receptor de rianodina (RyR_2), fosfolambam (PLB), Ca^{+2} -ATPase do retículo sarcoplasmático

(SERCA2a), calsequestrina (CSQ), trocador sódio/cálcio (NCX) e bomba de Ca^{+2} do sarcolema^{15,16,18}.

A contração cardíaca inicia-se com a fase de despolarização do sarcolema, o que causa abertura dos canais de Ca^{+2} do tipo L e, conseqüente, influxo de Ca^{+2} do meio extracelular para o interior da célula através destes canais¹⁷. O influxo de Ca^{+2} promove aumento da concentração de Ca^{+2} livre no citosol, o que desencadeia a liberação de grande quantidade de Ca^{+2} a partir do retículo sarcoplasmático (RS) por meio dos RyR_2 , mecanismo conhecido como liberação de Ca^{+2} induzida por Ca^{+2} . O aumento do Ca^{+2} citosólico possibilita a ligação desse íon com troponina C (TnC) e a interação actina-miosina. A intensidade da contração depende da quantidade e da sensibilidade dos miofilamentos ao Ca^{+2} . Após o evento excitação-contração, inicia-se o relaxamento miocárdico à custa da diminuição da quantidade de Ca^{+2} citosólico¹⁷. A remoção rápida dos íons Ca^{+2} para dentro do RS ou, alternativamente, a extrusão desses para o meio extracelular são essenciais para o relaxamento. O processo de recaptura de Ca^{+2} para o interior do RS é realizado pela SERCA2a. Outras proteínas, como o NCX e a bomba de Ca^{+2} do sarcolema atuam como reguladores do fluxo de Ca^{+2} do miocárdio¹⁷.

Alguns eventos podem modificar essa dinâmica e prejudicar o processo de contração miocárdica, conforme demonstrado na Figura 1. Prejuízos no trânsito de Ca^{+2} , decorrentes de alterações na atividade e/ou expressão de proteínas envolvidas na contratilidade cardíaca podem contribuir para o desenvolvimento das disfunções cardíacas em modelos de obesidade genética e dietética^{14,15,18}.

Neste estudo, tem-se por objetivo promover uma revisão sistemática com o intuito de identificar, baseado na literatura científica, a participação do trânsito de Ca^{+2} na disfunção cardíaca em modelos de obesidade genética e dietética.

Material e Métodos

Para o desenvolvimento deste estudo foi realizado uma revisão de literatura nas bases de dados eletrônicas (Medline, High-wire, LILACS,

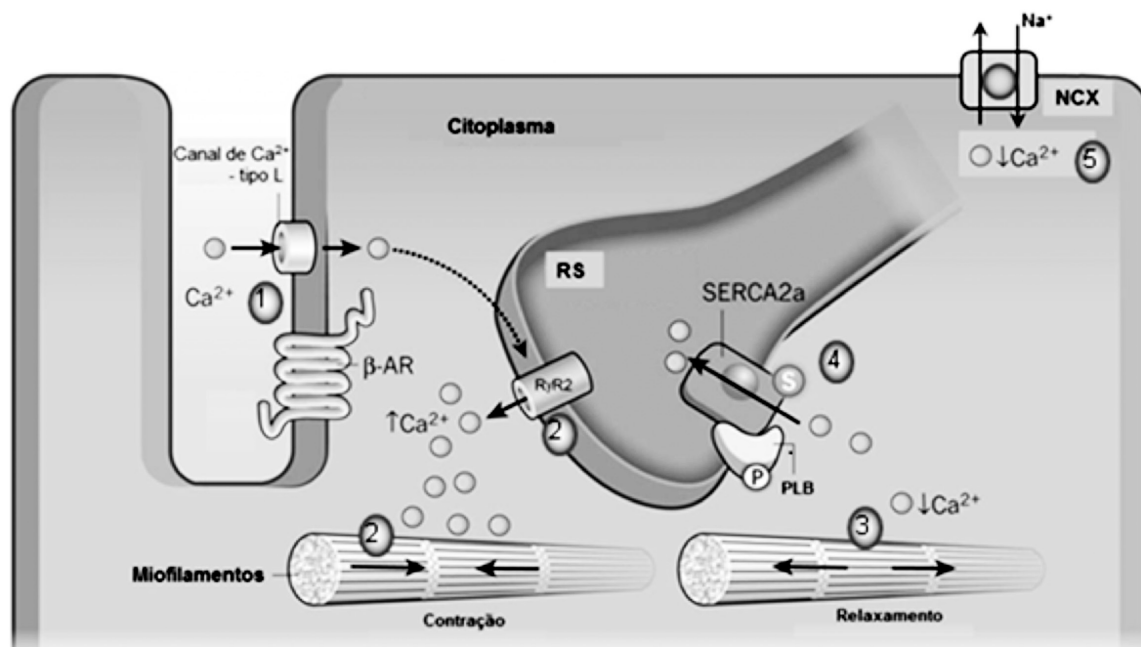


Figura 1: Possíveis modificações no trânsito de Ca^{+2} associadas a prejuízos na homeostase do processo de contração muscular na obesidade. 1) Decréscimo funcional da corrente de Ca^{+2} (ICa); 2) Diminuição da sensibilidade ao Ca^{+2} nos receptores de rianodina (RyR_2) e miofilamentos; 3) Redução da quantidade de Ca^{+2} no citosol; 4) diminuição da recaptura dos íons Ca^{+2} para o retículo sarcoplasmático (RS); 5) prejuízo na extrusão de Ca^{+2} (NCX). Adaptado de Shenoy & Rockman²⁵, *Cardiovascular biology: Heart fails without pump partner. Nature* 477, 546-7, 2011.

Latin Index, Scopus, Scielo), utilizando-se os seguintes descritores (inglês/português): “cardiac dysfunction”, “obesity”, “genetic obesity” “high-fat diet” e “calcium handling”; “disfunção cardíaca”, “obesidade”, “obesidade genética”, “dieta rica em gordura” e “cálcio intracelular”. Os operadores lógicos *and*, *or*, foram usados para combinar os descritores e termos utilizados na busca dos artigos. Durante a pesquisa não foram impostas restrições quanto às datas de publicação dos artigos científicos. Consideraram-se textos publicados em português e inglês.

Foram selecionados estudos que deveriam abordar o processo de desenvolvimento de obesidade por predisposição genética e/ou por maus hábitos de vida, analisando a sua influência sobre a função cardíaca, bem como a participação do trânsito de cálcio intracelular nesse processo. Esta revisão sistemática teve como base de discussão estudos envolvendo modelos experimentais. Foram coletadas informações referentes ao

contexto de realização do estudo e/ou desenvolvimento; característica dos protocolos experimentais; descrição completa do instrumento de avaliação das variáveis estudadas.

Resultados

Os estudos que apresentaram no título pelo menos uma das palavras acima descritas foram inicialmente selecionados para análise. Após processos de triagem, foram obtidos 60 artigos nos quais foi realizada a leitura dos resumos. Em seguida, 23 artigos foram selecionados para a leitura na íntegra, com base nos seguintes critérios: desenho experimental, tipo de amostra (humanos ou animais) e modelo de estudo (obesidade genética ou dietética, repercussões na função cardíaca e relação com o trânsito de Ca^{+2} intracelular).

A partir deste ponto, 18 artigos considerados relevantes ao tema proposto foram utilizados

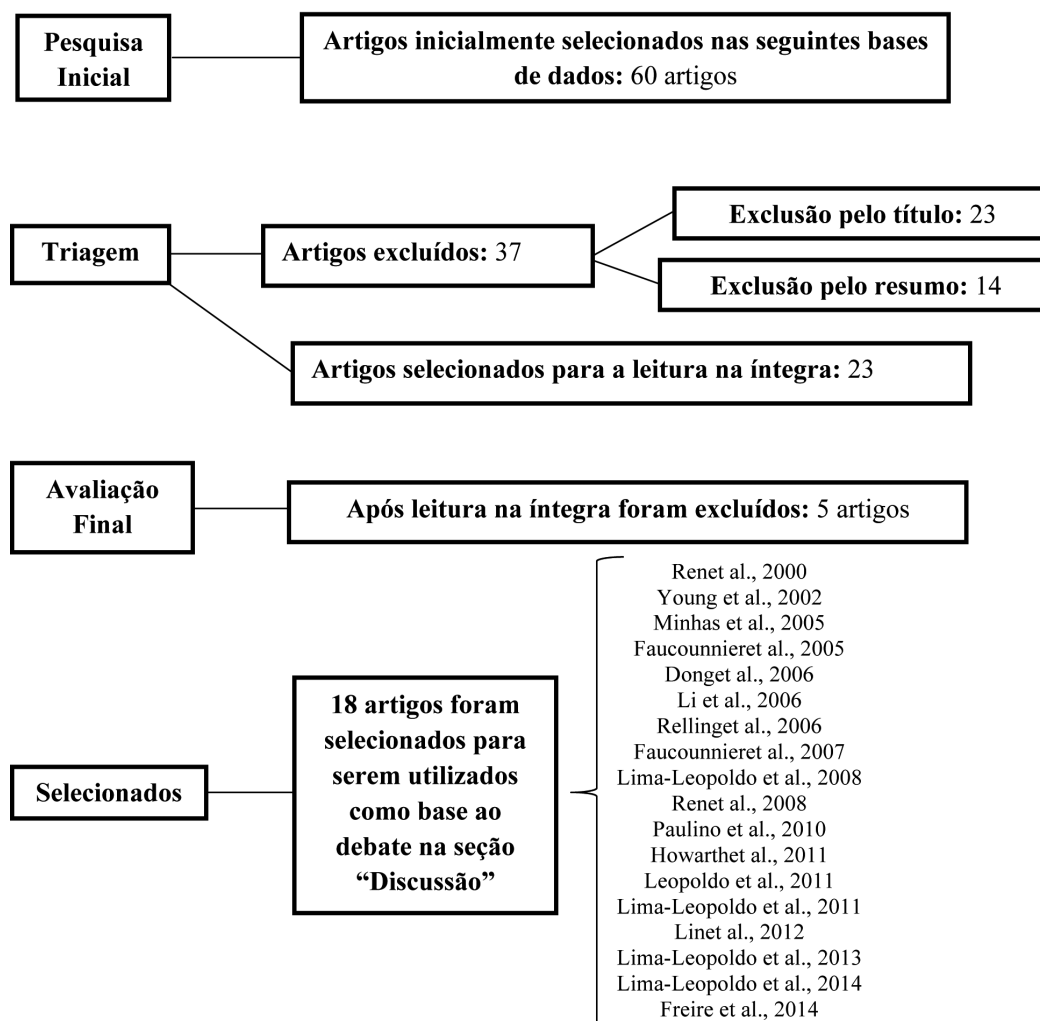


Figura 2: Fluxograma da seleção dos artigos para debate na seção "Discussão"

como base ao debate na seção "Discussão" (Figura 2). A análise das listas de referências destes artigos identificados também foi realizada. É importante ressaltar que, por ser um tema novo, todos os trabalhos utilizados neste estudo foram desenvolvidos na última década, ratificando o grau de importância do tema para a literatura científica atual.

Discussão

Obesidade Genética: Disfunção Cardíaca e Trânsito de Ca^{+2} Intracelular

Mutações genéticas e falhas na sinalização de hormônios específicos associados à obesidade

têm sido extensivamente associadas ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares¹⁹. A literatura demonstra, em maior escala, que o prejuízo funcional cardíaco acarretado nestes modelos está relacionado à alteração da expressão gênica de leptina, bem como de seus receptores^{18,19,20}. Dong et al.¹⁸ e Minhas et al.¹⁹ verificaram que camundongos geneticamente modificados para o desenvolvimento da obesidade (*ob/ob*) desenvolvem hipertrofia cardíaca e disfunção contrátil. Modelos de obesidade genética por deficiência de leptina também podem desenvolver falhas na sinalização de insulina, o que caracteriza outra via prejudicial ao coração^{9,16,21}.

Os mecanismos que acarretam disfunção cardíaca neste modelo de estudo ainda não estão claros, pesquisadores têm apontado o transiente de Ca^{+2} como dinâmica prejudicada nesse processo^{19,20} (Tabela 1). Essas alterações podem estar diretamente relacionadas a desordens intracelulares de Ca^{+2} , como: depressão da fosforilação de fosfolambam, diminuição do Ca^{+2} intracelular em repouso, acúmulo de Ca^{+2} citosólico e comprometimento da liberação, extrusão e sensibilidade do Ca^{+2} . Além disso, mecanismos envolvendo a proteína quinase A (PKA) e a resposta inotrópica β -adrenérgica também são sugeridos. Ren et al.⁹ mostraram que a diminuição da resposta contrátil associada ao aumento da concentração de Ca^{+2} extracelular em ratos geneticamente obesos pode ser consequente à menor sensibilidade do Ca^{+2} aos miofilamentos.

Alguns estudos mostraram que a disfunção cardíaca e anormalidades no transiente de Ca^{+2} associadas à obesidade genética são reversíveis com infusão de leptina exógena e incubação *in vitro*^{18,19}. Além disso, a exposição prolongada de ratos *ob/ob* a altos níveis de ácidos graxos pode melhorar o trânsito de Ca^{+2} e a capacidade contrátil. É possível que isto ocorra por meio de um processo adaptativo, visto que os ácidos graxos são os principais substratos energéticos utilizados no metabolismo cardíaco²². Desta forma, em situações patológicas, nas quais a via glicolítica está prejudicada, a priorização da utilização de ácidos graxos pode proporcionar cardioproteção ao coração²³.

Outro modelo de obesidade genética bastante utilizado pela literatura é a linhagem de ratos *Zucker falfa*^{24,25}. Esses animais são considerados representativos à avaliação das repercussões da obesidade sobre a função cardíaca em seres humanos, visto que as características de resposta à agressão promovida pelo excesso de tecido adiposo são semelhantes, entre as quais podemos citar: a compensação precoce das células β -pancreáticas (hiperplasia) de resistência à insulina, motivada pela obesidade, seguida de descompensação; condição que contribui ao desenvolvimento de hiperinsulinemia, resistência à insulina e consequentes distúrbios cardíacos²⁵. Em consonância, Young et al.²⁴, averiguaram, em

modelo experimental similar, prejuízo da função contrátil miocárdica, sendo, este processo patológico, correlacionado à anormalidades do trânsito de Ca^{+2} intracelular, atestadas a partir da constatação da diminuição da expressão proteica da SERCA2a. Outro aspecto importante é que ratos *Zucker* jovens apresentam prejuízos pós-transcricionais das proteínas reguladoras do trânsito de Ca^{+2} na fase inicial do diabetes mellitus consequente à obesidade, o que pode sinalizar o início da fisiopatologia do músculo cardíaco, bem como o momento para as intervenções corretivas²⁵.

Obesidade Dietética: Disfunção Cardíaca e Trânsito de Ca^{+2} Intracelular

O alto índice de adiposidade corporal, adquirido por meio de dietas com alta densidade energética e percentual lipídico fora dos padrões, acarretam doenças cardíacas^{2,7}. A indução à condição obesa por meio de dietas com alta densidade energética, em estudos experimentais, representa modelo mais realista e apropriado para o estudo das causas e consequências da obesidade humana. Os estudos utilizam dietas hiperlipídicas a partir de ácidos graxos saturados e/ou insaturados.

Pesquisadores têm proposto anormalidades no trânsito de Ca^{+2} como possíveis responsáveis pelo desenvolvimento de disfunções cardíacas em modelos de indução a obesidade por dieta. Os autores relatam prejuízo na dinâmica de Ca^{+2} e alterações na atividade e/ou expressão das proteínas envolvidas na contratilidade cardíaca^{13-15,26-28,29}.

Esses modelos de obesidade demonstram depressão da função cardíaca, tanto na contração quanto no relaxamento^{12-15,26,27} (Tabela 2). Segundo os autores essas alterações podem estar relacionadas com prejuízos na função dos canais tipo L de Ca^{+2} , na atividade da SERCA2a via Ca^{+2} calmodulina-quinase, aumento da expressão de SERCA2a e PLB em paralelo à diminuição dos níveis de fosforilação do PLB e diminuição da expressão proteica do RyR_2 fosforilado na Ser²⁸⁰⁸. No entanto, Lima-Leopoldo et al.²⁸ apontaram que o aumento dos níveis de RNAm das proteínas responsáveis



Tabela 1: Estudos em modelos experimentais que avaliaram o trânsito de Ca^{+2} intracelular na obesidade genética

| Estudos | Linhagem | Alterações Genéticas | Resultados |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ren et al. 2000 | Ratos Zucker (fa/fa) | Mutação nos receptores de leptina hipotalâmicos | Diminuição da velocidade do trânsito de Ca^{+2} ; Diminuição dos níveis de cálcio intracelular em repouso. |
| Young et al. 2002 | Ratos Zucker (fa/fa) | Mutação nos receptores de leptina hipotalâmicos | Diminuição da expressão de SERCA2a. |
| Minhas et al., 2005 | Ratos ob/ob | Deficientes de leptina | Prejuízo da resposta inotrópica; Diminuição dos estoques de Ca^{+2} reticular e depressão da fosforilação de PLB. |
| Fauconnier et al., 2005 | Camundongos C57BL ob/ob | Deficientes de leptina | Diminuição da velocidade do transiente de Ca^{+2} . |
| Dong et al., 2006 | Camundongos ob/ob | Deficientes de Leptina | Redução da liberação intracelular de Ca^{+2} . |
| Li et al. 2006 | Camundongos lep/lep | Deficientes de leptina | Desordem intracelular de Ca^{+2} : Diminuição Níveis de Ca^{+2} intracelular; ↓ Extrusão de cálcio intracelular; Prejuízo da capacidade de resposta ao Ca^{+2} extracelular. |
| Fauconnier et al., 2007 | Camundongos ob/ob | Deficientes de leptina | A exposição de cardiomiócitos de ratos ob/ob ao palmitato melhora o trânsito de Ca^{+2} e a contratilidade. |
| Howarth et al., 2011 | Ratos Zucker (fa/fa) | Mutação nos receptores de leptina hipotalâmicos | Prolongamento do tempo de pico do trânsito de Ca^{+2} e da inativação da I_{Ca} . ↓ Densidade da I_{Ca} . Aumento dos genes codificadores dos canais de Ca^{+2} do tipo L. |
| Lin et al., 2012 | Ratos Zucker (fa/fa) | Mutação nos receptores de leptina hipotalâmicos | ↓ Inativação da I_{Ca} ; Diminuição da expressão proteica de subunidades dos canais de cálcio tipo L miocárdico e calmodulina. |

PLB- Fosfolambam; SERCA2a- ATPase de Ca^{+2} do retículo sarcoplasmático; I_{Ca} - Corrente de Ca^{+2} .

pela liberação e recaptura de Ca^{+2} pelo retículo sarcoplasmático, SERCA2a, PLB e RyR_2 , podem caracterizar um mecanismo compensatório ao prejuízo da função cardíaca.

É importante ressaltar que Freire et al.³⁰ utilizando ratos *Wistar* sob as mesmas condições dos estudos citados no parágrafo anterior não encontraram desequilíbrio entre a fosforilação e desfosforilação do PLB na serina 16. Os autores propõem que o grau de obesidade dos animais pode ter influenciado nos resultados encontrados.

Um aspecto importante é que a literatura relata que o aumento dos níveis de leptina, frequentemente observados na obesidade, apresenta estreita relação com a disfunção cardiovascular. Segundo Ren et al.²⁶ o prejuízo homeostático intracelular do Ca^{+2} junto a respostas contráteis comprometidas está associado a falhas nos re-

ceptores de leptina (Ob-R) consequentes da exposição à obesidade. Estes autores sugerem que o *downregulation* dos receptores de leptina promove prejuízo da homeostase de Ca^{+2} intracelular comprometendo a contratilidade cardíaca em resposta à leptina.

Conclusão

A maioria das pesquisas realizadas aponta que tanto a obesidade genética quanto dietética promove disfunções cardíacas moduladas por alterações no trânsito de Ca^{+2} intracelular. O prejuízo funcional, em ambos os modelos de obesidade, foi associado às mudanças celulares tanto de proteínas responsáveis pelo influxo de Ca^{+2} e, fundamentais no início do processo acoplamento

Tabela 2: Estudos em modelos experimentais que avaliaram o trânsito de Ca^{+2} intracelular na obesidade dietética

| Estudos | Linhagem dos ratos | Tipo de dieta | Tempo de tratamento | Resultados |
|----------------------------|-----------------------|----------------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Relling et al., 2006 | <i>Sprague-Dawley</i> | Hiperclórica (45% de gordura) | 12 semanas | ↑ Expressão proteica de SERCA2a; ↑ Expressão proteica do PLB ↓ Expressão proteica do PLB fosforilado. |
| Lima-Leopoldo et al., 2008 | <i>Wistar</i> | Hiperclórica (45,2% de gordura) | 15 semanas | ↑ RNAm: SERCA2a, RyR2 e PLB. |
| Ren et al., 2008 | <i>Sprague-Dawley</i> | Hiperclórica (45% de gordura) | 12 semanas | Prejuízo da homeostase intracelular de Ca^{+2} . |
| Paulino et al. 2010 | <i>Wistar</i> | Hiperlipídica + sacarose | 25 semanas | ↓ Expressão proteica do RyR2 fosforilado na Ser ²⁸⁰⁸ ; ↓ Expressão proteica do PLB fosforilado na Thr ¹⁷ . |
| Leopoldo et al.; 2011 | <i>Wistar</i> | Hiperclórica (49,2 % de gordura) | 15 semanas | Prejuízo da função dos canais de Ca^{+2} tipo L miocárdico. |
| Lima-Leopoldo et al.; 2011 | <i>Wistar</i> | Hiperclórica (Hiperlipídica) | 15 semanas | Prejuízo funcional pós-elevação do Ca^{+2} extracelular e potencial pós-pausa. |
| Lima-Leopoldo et al., 2013 | <i>Wistar</i> | Hiperclórica (49,2% de gordura) | 15, 30 e 45 semanas | 15 e 45 semanas: ↓ RNAm SERCA2a, NCX e CSQ. 30 semanas: ↑ RNAm canais tipo L de Ca^{+2} , receptor de rianodina, SERCA2a, PLB, NCX e CSQ. |
| Lima-Leopoldo et al., 2014 | <i>Wistar</i> | Hiperclórica (49,2% de gordura) | 30 semanas | ↓ PLB fosforilado na serina 16. |
| Freire et al., 2014 | <i>Wistar</i> | Hiperclórica (49,2% de gordura) | 15 semanas | Não houve desequilíbrio entre a fosforilação e a desfosforilação do PLB miocárdico, via β -adrenérgica. |

SERCA2a- ATPase de Ca^{+2} do retículo sarcoplasmático; RyR₂ - Receptor de rianodina; PLB- Fosfolambam; Thr¹⁷- Treonina 17; Ser²⁸⁰⁸- Serina 2808; CSQ- Calsequestrina; NCX- Trocador Na^{+}/Ca^{+2} .

excitação-contração, como de recaptura e extrusão de Ca^{+2} , envolvidas no relaxamento. Além disso, as pesquisas em modelos de obesidade genéticos e dietéticos evidenciam o papel da leptina sobre as anormalidades no trânsito de Ca^{+2} intracelular com consequente prejuízo da função contrátil.

Referências

- World Health Organization. Obesity and Overweight. Geneva: WHO, 2015 [acesso em 2015 Jan 20]. Available from: <http://www.who.int/en/>.
- Krauss RM, Winston M, Fletcher BJ, Grundy SM. Obesity: impact on cardiovascular disease. *Circulation*. 1998;98:1472-6.
- Rodrigues AM, Suplicy HL, Radominski RB. Controle neuroendócrino do peso corporal: implicações na gênese da obesidade. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2003;47:398-409.
- Walley AJ, Blakemore AI, Froguel P. Genetics of obesity and the prediction of risk for health. *Hum Mol Genet*. 2006;15:R124-30.
- Hamann A, Flier JS, Lowell BB. Decreased brown fat markedly enhances susceptibility to diet-induced obesity, diabetes, and hyperlipidemia. *Endocrinology*. 1996;137: 21-9.
- Abel ED, Litwin SE, Sweeney G. Cardiac Remodeling in Obesity. *Physiol Rev*. 2008;88:389-419.
- Eckel RH. Obesity and heart disease: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation*. 1997;96:3248-50.
- Gielen S, Schuler G, Adams V. Cardiovascular effects of exercise training: molecular mechanisms. *Circulation*. 2010;122:1221-38.
- Ren J, Sowers JR, Walsh MF, Brown RA. Reduced contractile response to insulin and IGF-I in ventricular myocytes from genetically obese Zucker rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279:H1708-14.



10. Fitzgerald SM, Henegar JR, Brands MW, Henegar LK, Hall JE. Cardiovascular and renal responses to a high-fat diet in Osborne-Mendel rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;281:R547-52.
11. Carroll JF, Zenebe WJ, Strange TB. Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension*. 2006;48:65-72.
12. Relling DP, Esberg LB, Fang CX, Johnson WT, Murphy EJ, Carlson EC, 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*. 2006;24:549-61.
13. Paulino EC, Ferreira JCB, Bechara LR, Tsutsui JM, Junior WM, Lima FB, et al. Exercise training and caloric restriction prevent reduction in cardiac Ca²⁺-handling protein profile in obese rats. *Hypertension*. 2010;56:629-35.
14. Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Sugizaki MM, Nascimento AF, Campos DH, Luvizotto RA, et al. Involvement of L-type calcium channel and SERCA2A in myocardial dysfunction induced by obesity. *J Cell Physiol*. 2011;226(11):2934-42.
15. Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Sugizaki MM, Bruno A, Nascimento AF, Luvizotto RA, et al. Myocardial dysfunction and abnormalities in intracellular calcium handling in obese rats. *Arq Bras Cardiol*. 2011;97:232-40.
16. Lin Y-C, Huang J, Kan H, Castranova V, Frisbee JC, YU H-G. Defective calcium inactivation causes long QT in obese insulin-resistant rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;302:1013-22.
17. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*. 2002;415(6868):198-205.
18. Dong F, Zhang X, Yang X, Esberg LB, Yang H, Zhang Z, et al. Impaired cardiac contractile function in ventricular myocytes from leptin-deficient ob/ob obese mice. *J Endocrinol*. 2006;188:25-36.
19. Minhas KM, Khan SA, Raju SVY, Phan AC, Gonzalez DR, Skaf MW, et al. Leptin repletion restores depressed β -adrenergic contractility in ob/ob mice independently of cardiac hypertrophy. *J Physiol*. 2005;565: 463-74.
20. Li SY, Yang X, Ceylan-Isik AF, Du M, Sreejayans N, Ren J. 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*. 2006;49:1434-46.
21. Fauconnier J, Lannier JT, Zhang S-J, Tavi P, Bruton JD, Katz A, et al. Insulin and inositol 1,4,5-trisphosphate trigger abnormal cytosolic ca²⁺ transients and reveal mitochondrial Ca²⁺ handling defects in cardiomyocytes of ob/ob Mice. *Diabetes*. 2005;54:2375-81.
22. Fauconnier J, Andersson DC, Zhang S-J, Lannier JT, Wibom R, Katz A, et al. Effects of palmitate on Ca²⁺ handling in adult control and ob/ob cardiomyocytes: impact of mitochondrial reactive oxygen species. *Diabetes*. 2007;56:1136-42.
23. Campos DH, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Nascimento AF, Oliveira-Junior SA, Silva DC, et al. Obesity preserves myocardial function during blockade of the glycolytic pathway. *Arq Bras Cardiol*. 2014;103(4):330-7.
24. Young ME, Guthrie PH, Razeghi P, Leighton B, Abbasi S, Patil S, et al. Impaired long-chain fatty acid oxidation and contractile dysfunction in the obese Zucker rat heart. *Diabetes*. 2002;51:2587-95.
25. Howarth FC, Qureshi MA, Hassan Z, Al Kury LT, Isaev D, Parekh K, et al. Changing pattern of gene expression is associated with ventricular myocyte dysfunction and altered mechanisms of Ca²⁺ signalling in young type 2 Zucker diabetic fatty rat heart. *Exp Physiol*. 2011;96(3):325-37.
26. Ren J, Zhu B-H, Relling DP, Esberg LB, Ceylan-Isik AF. High-fat Diet-induced Obesity leads to resistance to leptin-induced cardiomyocyte contractile response. *Obesity* 2008;16:2417-23.
27. Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Silva DCT, Nascimento AF, Campos DHS Luvizotto RA et al. Influência de prolongados períodos de obesidade sobre a expressão gênica miocárdica. *Arq Bras Cardiol* 2013;100:229-37.
28. Lima-Leopoldo AP, Sugizaki MM, Leopoldo AS, Carvalho RF, Nogueira CR, Nascimento AF, et al. Obesity induces upregulation of genes involved in myocardial Ca²⁺ handling. *Braz J Med Biol Res*. 2008;41:615-20.
29. Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Silva DC, do Nascimento AF, Campos DH, Luvizotto RA, et al. Long-term obesity promotes alterations in diastolic function induced by reduction of phospholamban phosphorylation at serine-16 without affecting calcium handling. *J Appl Physiol*. 2014;117:669-78.
30. Freire PP, Alves CA, de Deus AF, Leopoldo AP, Leopoldo AS, da Silva DC, et al. Obesity does not lead to imbalance between myocardial phospholamban phosphorylation and dephosphorylation. *Arq Bras Cardiol*. 2014;103(1):41-50.