



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE**

Késsia Cristina Carvalho Santos

**INFLUÊNCIA DE CAPSINÓIDES SOBRE O REMODELAMENTO E
BIOMARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO NO CORAÇÃO DE RATOS
COM OBESIDADE**

VITÓRIA

2024

KÉSSIA CRISTINA CARVALHO SANTOS

**INFLUÊNCIA DE CAPSINÓIDES SOBRE O REMODELAMENTO E
BIOMARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO NO CORAÇÃO DE RATOS
COM OBESIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Nutrição e Saúde, na linha de Alimentos, Dietética e Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. André Soares Leopoldo.
Coorientadora: Prof. Dr. Ana Paula Lima Leopoldo.

VITÓRIA

2024

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

S237i Santos, Késsia Cristina Carvalho, 1997-
Influência de capsinóides sobre o remodelamento e biomarcadores do estresse oxidativo no coração de ratos com obesidade / Késsia Cristina Carvalho Santos. - 2024.
81 f. : il.

Orientador: André Soares Leopoldo.

Coorientadora: Ana Paula Lima-Leopoldo.

Dissertação (Mestrado em Nutrição e Saúde) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Nutrição. 2. Obesidade. 3. Estresse oxidativo. 4. Coração. I. Leopoldo, André Soares. II. Lima-Leopoldo, Ana Paula. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 612.3



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO MESTRADO DE
KÉSSIA CRISTINA CARVALHO SANTOS

Às nove horas e trinta minutos do dia vinte e seis de julho de dois mil e vinte e vinte e quatro, com transmissão na plataforma Google Meeting (<https://meet.google.com/feg-nbng-qsh>), reuniu-se a Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado composta pelos Professores Doutores André Soares Leopoldo (orientador e presidente), Ana Paula Lima Leopoldo (Coorientador) Karolini Zuqui Nunes (examinador interno) e Camila Renata Corrêa Camacho (examinador externo) para a sessão pública de Defesa de Dissertação da mestranda Késsia Cristina Carvalho Santos com o tema: “Influência de capsinóides sobre biomarcadores do estresse oxidativo no coração de ratos com obesidade.” Presentes os membros da banca e a examinanda, o Presidente deu início à sessão, passando a palavra à aluna; após exposição de 30 minutos por parte da examinanda, os membros da banca formularam as suas arguições, as quais foram respondidas pela aluna. Em seguida, o Presidente da sessão solicitou que os presentes deixassem a sala para que a banca pudesse deliberar; ao final das deliberações, o Presidente da sessão convocou a mestranda e os interessados para retornar à sala; com a palavra, o Presidente leu a decisão da banca que resultou na **APROVAÇÃO** da examinanda; por fim, o Presidente da sessão alertou que a aprovada somente terá direito ao título de Mestre após o cumprimento das normas regimentais relativas à Concessão de Grau do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde. Nada mais havendo, foi encerrada a sessão da qual se lavra a presente ata, que vai assinada pelos membros da banca examinadora.

Prof. Dr. André Soares Leopoldo
Orientador e Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dra. Ana Paula Lima Leopoldo
Coorientador

Prof. Dra. Karolini Zuqui Nunes
Examinador interno

Prof. Dra. Camila Renata Corrêa Camacho
Examinador externo

Documento assinado digitalmente
gov.br CAMILA RENATA CORREIA CAMACHO
Data: 26/07/2024 13:58:20-0300
verifique em <https://validar.itf.gov.br>

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde – CCS/UFES
Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, Vitória/ES – CEP 29.047-105.
ppgns.ufes@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
KAROLINI ZUQUI NUNES - SIAPE 1215940
Departamento de Enfermagem - DE/CCS
Em 26/07/2024 às 14:25

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/961467?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
ANDRE SOARES LEOPOLDO - SIAPE 2871528
Departamento de Desportos - DD/CEFD
Em 26/07/2024 às 14:29

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/961473?tipoArquivo=O>

À Deus, pelas bênçãos concedidas e à
minha família, pelo amor, incentivo e
suporte.

“E tudo o que fizerdes, seja em palavra, seja em ação, fazei-o em nome do Senhor Jesus, dando por ele graças a Deus Pai.”

Colossenses 3.17

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus. Sou grata pela oportunidade, coragem e sustento que Ele me deu. Por ter me dado uma família que me ama e me ajuda, e por ter me dado amigos que me estimulam a ser uma pessoa e profissional melhor.

Agradeço à minha família. Ao meu pai, por ter me ensinado sobre caráter e trabalho, e por sempre tentar fazer o melhor para a família. Ao meu irmão, por me incentivar neste projeto. À minha irmã, que sempre me apoia e me ensina todos os dias a sonhar. E à minha mãe, que sempre acredita em mim e nas minhas capacidades, mesmo quando eu ainda não acredito. Obrigada por todo apoio, por sonharem comigo e por terem vivido este processo comigo.

Agradeço aos meus amigos, Letícia, Allan, Mirella e Matheus, por todo incentivo desde quando eu disse que tentaria o mestrado. Aos amigos que fiz durante esta curta caminhada em Vitória, em especial Caroline, Amanda, Eduarda e Patrícia, obrigada por sempre me apoiarem, ouvirem meus desabafos e orarem comigo. Os dias difíceis foram mais fáceis de suportar porque eu tinha vocês comigo.

Agradeço também aos meus orientadores, Prof. Dr. André Soares Leopoldo e Profa. Dra. Ana Paula Lima Leopoldo, por terem me aceitado quando eu ainda era uma desconhecida, por toda confiança, incentivo, correções, ensinamentos e preocupações. Aos amigos que fiz durante o mestrado, Lucas, Fabiane e Luisa, vocês fizeram meus dias mais leves e suportáveis. Obrigada por toda amizade, ensinamento e ajuda. Vocês foram imprescindíveis para eu chegar ao fim desta caminhada.

Por fim, agradeço ao Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Experimental da UFES, aos alunos que o compõe e à técnica Raíssa, por terem me proporcionado crescimento e aprendizagem, e pelo espaço ofertado para a realização do meu projeto. Agradeço aos colegas de pesquisa, pela oportunidade de trabalharmos em conjunto. Agradeço aos laboratórios parceiros, Laboratório RedOx e Inflamação da UNESP-Botucatu, LECTA, LHT e LHMI da UFES por terem possibilitado a realização das análises que compõem minha pesquisa. E à FAPES e CAPES pelo suporte financeiro e incentivo à pesquisa.

RESUMO

A obesidade aumenta complicações metabólicas e induz desequilíbrio redox favorecendo o estresse oxidativo no organismo. No sistema cardiovascular, a obesidade e o estresse oxidativo reduzem a flexibilidade metabólica e eficiência cardíaca, bem como acarretam remodelamento e disfunção cardíaca. Neste cenário, os capsinóides, presentes em espécies do gênero *Capsicum*, surgem como compostos com potencial modulação da obesidade e estresse oxidativo, podendo aumentar o metabolismo energético e as defesas antioxidantes e reduzir danos oxidativos. Portanto, este estudo investigou os efeitos da administração crônica de capsinóides sobre biomarcadores do remodelamento e do estresse oxidativo no coração de ratos com obesidade. Inicialmente, ratos machos *Wistar* foram randomizados nos grupos dieta padrão (DP; n = 17) e dieta hiperlipídica (DH; n = 27). O protocolo contemplou 27 semanas divididas em: 1) exposição às dietas experimentais (indução e manutenção da obesidade; 19 semanas) e 2) tratamento com capsinóides (8 semanas). Na semana 19, os animais DP e DH foram redistribuídos em: controle (C), obeso (Ob) e obeso com capsinóides (ObCap). Durante o protocolo foram mensurados a ingestão e eficiência alimentar e o consumo calórico. O perfil nutricional foi acompanhado pela aferição da massa, gordura e índice de adiposidade corporal. O teste de tolerância à glicose, índices de homeostase da insulina e perfil lipídico foram utilizados para avaliação de comorbidades. As concentrações plasmáticas de insulina, leptina, adiponectina e glucagon também foram determinadas. O remodelamento cardíaco foi mensurado pela massa do coração e ventrículo esquerdo; o dano cardíaco foi verificado pela mensuração da troponina I sérica. Os biomarcadores do estresse oxidativo cardíaco (malondialdeído - MDA, proteínas carboniladas - CBO, produtos de oxidação avançada de proteínas - AOPP e capacidade antioxidante - FRAP) e a atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase foram analisados. Os resultados indicam que a dieta hiperlipídica aumentou a massa corporal no grupo DH a partir da 16ª semana. A obesidade elevou a massa adiposa e os níveis de leptina, colesterol e insulina. Com exceção do colesterol, o tratamento com capsinóides não promoveu redução nestes parâmetros. No coração, no Ob houve aumento das massas do coração e VE, porém sem diferença após normalização pelo comprimento da tibia, tampouco houve diferença com ObCap para tais parâmetros. Em relação à troponina I, não houve diferença na obesidade, porém os capsinóides provocaram redução deste marcador. Considerando os marcadores oxidativos, os animais Ob apresentaram maiores quantidades de CBO e AOPP em comparação ao C, entretanto, sem efeitos do tratamento com capsinóides; ratos ObCap apresentaram ainda níveis mais elevados de MDA em relação aos Ob. Em relação à atividade antioxidante, os ratos Ob e ObCap apresentaram FRAP aumentados, mas sem diferenças entre os grupos. Em adição, nos ObCap houve maior atividade das enzimas antioxidantes. Em conclusão, apesar do modelo de obesidade não acarretar remodelamento cardíaco, os capsinóides induziram redução da troponina I e elevação da atividade antioxidante enzimática. Todavia, promoveu maior peroxidação lipídica no coração, sugerindo que na dose analisada, os capsinóides não constituem uma estratégia positiva para modulação nos biomarcadores oxidativos.

Palavras-chave: Obesidade. Dieta hiperlipídica. Estresse oxidativo. Coração. Capsinóide.

ABSTRACT

Obesity increases metabolic complications and induces redox imbalance, favoring oxidative stress in the body. In the cardiovascular system, obesity and oxidative stress reduce metabolic flexibility and cardiac efficiency, as well as causing to cardiac remodeling and dysfunction. In this scenario, capsinoids, present in species of the genus *Capsicum*, emerge as compounds with potential modulation of obesity and oxidative stress, being able to increase energy metabolism and antioxidant defenses, as well as reduce oxidative damage. Therefore, this study investigated the effects of chronic administration of capsinoids on biomarkers of remodeling and oxidative stress in the hearts of rats with obesity. Initially, male *Wistar* rats were randomized into standard diet (SD; n = 17) and high-fat diet (HFD; n = 27). The protocol covered 27 weeks divided into: 1) exposure to experimental diets (induction and maintenance of obesity; 19 weeks) and 2) treatment with capsinoids (8 weeks). At week 19, SD and HFD animals were redistributed into: control (C), obese (Ob) and obese with capsinoids (ObCap). During the protocol, food consumption and efficiency, as well as caloric intake were measured. The nutritional profile was monitored by body weight, fat and body adiposity index. The glucose tolerance test, insulin homeostasis indices and lipid profile were used to evaluate comorbidities. Plasma concentrations of insulin, leptin, adiponectin and glucagon were also determined. Cardiac remodeling was measured by the mass of the heart and left ventricle; cardiac damage was verified by measuring plasma troponin I. The biomarkers of cardiac oxidative stress (malondialdehyde - MDA, carbonyl proteins - CBO, advanced protein oxidation products - AOPP and antioxidant capacity - FRAP) and the activity of the enzymes superoxide dismutase and catalase were analyzed. The results indicate that the high-fat diet increased body weight in the HFD group from the 16th week onwards. Obesity increased adipose mass and levels of leptin, cholesterol and insulin. With the exception of cholesterol, treatment with capsinoids did not promote a reduction in these parameters. In the heart, there was an increase in heart and LV mass in the Ob, but without difference after normalization by the tibia length, nor was there any difference with ObCap for these parameters. Regarding troponin I, there was no difference in obesity, however, capsinoids caused a reduction in this marker. Considering oxidative markers, Ob animals presented higher amounts of CBO and AOPP compared to C, however, without effects of capsinoid treatment; ObCap rats also showed higher levels of MDA compared to Ob. Regarding antioxidant activity, Ob and ObCap rats showed increased FRAP, but without differences between groups. In addition, ObCap presented greater activity of antioxidant enzymes. In conclusion, although the obesity model did not cause cardiac remodeling, capsinoids induced a reduction in troponin I and elevation in enzymatic antioxidant activity. However, it caused greater lipid peroxidation in the heart, so in the concentration offered the capsinoids did not constitute a positive strategy for modulation in the oxidative biomarkers.

Keywords: Obesity. High-fat diet. Oxidative stress. Heart. Capsinoid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da estrutura dos capsinóides.....	
26 Figura 2. Representação do TRPV1 na bicamada lipídica.....	
28 Figura 3. Representação esquemática do protocolo experimental.....	
	32
Figura 4. Evolução da massa corporal durante o período de exposição às dietas experimentais.....	41
Figura 5. Glicemia analisada no período de manutenção da obesidade.....	44
Figura 6. Perfil hormonal pós-tratamento com capsinóides.....	
47 Figura 7. Avaliação da homeostase da glicose e da insulina após tratamento com capsinóides.....	
49 Figura 8. Efeito do tratamento com capsinóides sobre a morfologia cardíaca.....	
50 Figura 9. Efeito do tratamento com capsinóides sobre a troponina I sérica.....	
	51
Figura 10. Efeito do tratamento com capsinóides sobre biomarcadores do estresse oxidativo cardíaco.....	52
Figura 11. Efeito do tratamento com capsinóides sobre enzimas antioxidantes no tecido cardíaco.....	53
Figura 12. Resumo dos resultados do tratamento com capsinóides nos ratos com obesidade.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Perfil nutricional e características gerais durante o período de exposição às dietas.....	42
Tabela 2. Perfil nutricional e características gerais durante a fase de manutenção da obesidade.....	43
Tabela 3. Perfil nutricional e características gerais durante o tratamento com capsinóides.....	45
Tabela 4. Adiposidade após o tratamento com capsinóides.....	46
Tabela 5. Perfil lipídico após o tratamento.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOPP - produtos de oxidação avançada de proteínas
ATP – adenosina trifosfato
AUC - área sob a curva
CAT – catalase
CBO - carbonilação de proteínas
CTE - cadeia de transporte de elétrons
DM2 - diabetes mellitus tipo 2
DCV - doença cardiovascular
EA - eficiência alimentar
EO - estresse oxidativo
ER - espécies reativas
EROs - espécies reativas de oxigênio
FRAP - poder antioxidante de redução do ferro
GTT - teste de tolerância à glicose
HLD - lipoproteína de alta densidade
HOMA- β - índice de homeostase - função das células β
HOMA-IR - índice de homeostase - resistência à insulina
IAC - índice de adiposidade corporal
LDL - lipoproteína de baixa densidade
MCF - massa corporal final
MCI - massa corporal inicial
MDA - malondialdeído
RI - resistência à insulina
RL - radicais livres
SOD - superóxido dismutase
TAB - tecido adiposo branco
TBARS - substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TRPV1 - receptor de potencial transitório vanilóide tipo 1
TyG - índice triglicerídeos-glicose
VE - ventrículo esquerdo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO
2. REFERENCIAL TEÓRICO
 - 2.1 Obesidade
 - 2.2 Estresse oxidativo
 - 2.3 Obesidade, coração e estresse oxidativo
 - 2.4 Capsinóides
3. OBJETIVO
 - 3.1 Objetivo geral
4. METODOLOGIA
 - 4.1 Animais
 - 4.2 Protocolo experimental
 - 4.3 Composição nutricional das dietas
 - 4.4 Administração de capsinóides
 - 4.5 Eutanásia
 - 4.6 Avaliação da composição corporal
 - 4.7 Comorbidades
 - 4.7.1 Teste de tolerância à glicose (GTT)
 - 4.7.2 Perfil lipídico
 - 4.7.3 Índice HOMA-IR
 - 4.7.4 Índice HOMA- β
 - 4.7.5 Índice TyG
 - 4.8 Caracterização hormonal
 - 4.9 Caracterização cardíaca
 - 4.9.1 Remodelamento cardíaco
 - 4.9.2 Dano cardíaco
 - 4.9.3 Biomarcadores do estresse oxidativo no coração
 - 4.9.3.1 Preparo dos homogenatos
 - 4.9.3.2 Dosagem de proteínas pelo método de Bradford
 - 4.9.3.3 Determinação da peroxidação lipídica
 - 4.9.3.4 Determinação dos produtos da oxidação avançada de proteínas
 - 4.9.3.5 Determinação da carbonilação de proteínas
 - 4.9.3.6 Determinação da capacidade antioxidante
 - 4.9.3.7 Determinação da atividade enzimática antioxidante
 - 4.10 Análise estatística
5. RESULTADOS
 - 5.1 Exposição às dietas experimentais
 - 5.1.1 Evolução da massa corporal
 - 5.1.2 Perfil nutricional e características gerais
 - 5.2 Manutenção da obesidade
 - 5.2.1 Perfil nutricional e características gerais

5.2.2 Teste de tolerância à glicose

5.3 Exposição ao tratamento com capsinóides

5.3.1 Perfil nutricional e características gerais

5.3.2 Perfil hormonal

5.3.3 Perfil lipídico

5.3.4 Homeostase da glicose e insulina

5.3.5 Remodelamento cardíaco

5.3.6 Dano cardíaco

5.3.7 Biomarcadores do estresse oxidativo no coração

6. DISCUSSÃO

7. CONCLUSÃO

REFERÊNCIAS

ANEXOS

1. INTRODUÇÃO

A obesidade, definida como acúmulo excessivo de gordura corporal, é um problema mundial de saúde pública, visto que, por volta de 810 milhões de pessoas ao redor do mundo são obesas (WORLD OBESITY FEDERATION, 2024). Somado a esses valores, aproximadamente 42% dos adultos apresentam sobrepeso ou obesidade. Estes dados tornam-se alarmantes uma vez que, mais de 10 milhões de mortes ocorridas no mundo são causadas por doenças não transmissíveis associadas e aceleradas pelo sobrepeso e obesidade (WORLD OBESITY FEDERATION, 2024). Deste modo, a obesidade é um fator independente de risco de comprometimento da saúde e de mortalidade da população (ČOLAK & PAP, 2021; HAWKES, FANZO, UDOMKESMALEE, 2017; MOSQUEDA-SOLÍS *et al.*, 2018; ZHENG *et al.*, 2017; WORLD OBESITY FEDERATION, 2024; WHO, 2021).

Neste contexto, o excesso de tecido adiposo abdominal tem sido apontado como um dos principais fatores de risco para doenças crônicas associadas à obesidade, como hipertensão, dislipidemia e diabetes mellitus tipo 2 (DM2), e conseqüentemente, relacionado ao risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs), doença renal crônica, acidente vascular cerebral, entre outros (ZHENG *et al.*, 2017). Além disso, estudos indicam que o acúmulo excessivo de gordura contribui para o desenvolvimento dos estados pró-oxidantes e pró-inflamatórios no organismo (ČOLAK & PAP, 2021; FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2011). Essa alteração ocorre porque o tecido adiposo naturalmente é capaz de secretar citocinas pró-inflamatórias, as quais induzem a formação de espécies reativas (ER) oxidantes. Deste modo, a expansão tecidual ocorrida na obesidade exacerba a produção de citocinas pró-oxidantes e estimula o estado de estresse oxidativo (EO), por conseguinte, favorece o desenvolvimento de complicações metabólicas (ČOLAK & PAP, 2021; JONES, 2006).

Especificamente sobre as alterações metabólicas ocorridas no coração, a literatura tem observado aumento da captação e oxidação de ácidos graxos e deficiência na utilização de glicose em indivíduos obesos, resultando na dependência de ácidos graxos oxidados como substrato, na redução da flexibilidade metabólica e diminuição da eficiência cardíaca (NIEMANN *et al.*, 2017). Além do mais, no tecido cardíaco, ácidos graxos livres circulantes induzem o aumento do desacoplamento mitocondrial, assim como a baixa eficiência na utilização do oxigênio dessas moléculas, provocando a redução da produção de adenosina

trifosfato (ATP). Sugere-se que estas são algumas alterações relacionadas ao aumento da liberação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (NIEMANN *et al.*, 2017). As EROs podem desencadear hipertrofia e disfunção cardíaca por meio da indução de modificação oxidativa, bem como pela inibição da ATPase de cálcio do retículo sarcoplasmático ou pelo comprometimento do complexo II da cadeia de transporte de elétrons (NIEMANN *et al.*, 2017). Assim, o super estímulo da produção de ER no tecido cardíaco torna-se relevante para o desenvolvimento da disfunção miocárdica e consequente insuficiência cardíaca, entre outras complicações cardiovasculares (MÜNZEL *et al.*, 2017; NIEMANN *et al.*, 2017).

Diante desse contexto, bem como a alta incidência de morbimortalidade e o alto custo do tratamento da obesidade e DCVs, torna-se relevante a busca por alternativas para o tratamento e prevenção destas doenças. Neste cenário, estudos baseados em alimentos funcionais e produtos naturais têm identificado possíveis compostos capazes de serem utilizados como agentes no tratamento e/ou prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) (COTE *et al.*, 2022; TRAN; PHAM; LE, 2020). Esses são conhecidos por conter compostos bioativos com propriedades antioxidantes e antiinflamatórias e, por muitas vezes atuarem em vias metabólicas importantes, como no metabolismo da glicose e lipídeos (COTE *et al.*, 2022; TRAN; PHAM; LE, 2020).

Dentre os produtos naturais bioativos apontados, estão os capsaicinóides, compostos presentes em pimentas do gênero *Capsicum*, pertencentes à família *Solanaceae*. Estudos demonstraram que tais substâncias podem ser utilizadas como analgésico, antioxidante e antiinflamatório. Em adição, podem ser utilizados no tratamento da obesidade, pois promovem elevação no consumo energético e aceleram o metabolismo da gordura (CHAPA-OLIVER & MEJÍA-TENIENTE, 2016; HONG, XIA, XIANGYING, QUAN; 2015; MOSQUEDA-SOLÍS, *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2014; ZHENG *et al.*, 2017). Entretanto, a forte pungência deste grupo limita o uso a médio e longo prazo. Como alternativa, tem sido estudado o grupo dos capsinóides (capsiato, dihidrocapsiato e nordihidrocapisato), moléculas análogas aos capsaicinóides, que não apresentam a característica da pungência (CANSIAN, 2016; SNITKER *et al.*, 2009).

A literatura tem demonstrado que tais compostos análogos podem exercer alguns dos mesmos efeitos dos capsaicinóides, como por exemplo, promoção da termogênese, estímulo do metabolismo energético e lipídico, promoção da perda de

massa corporal e redução do tecido adiposo. Ademais, podem melhorar a tolerância à glicose, ter atividade anti-hiperlipidêmica, e propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (CANSIAN, 2016; GALGANI, RYAN, RAVUSSIN, 2010; SASAHARA *et al.*, 2010; SNITKER *et al.*, 2009).

Deste modo, há indícios de que os capsinóides podem exibir efeitos sobre a obesidade e suas consequências. Porém, a maioria dos estudos não leva em consideração a condição de obesidade associada à doença cardiovascular, de forma que os efeitos dos capsinóides sobre biomarcadores do estresse oxidativo cardíaco induzido pela obesidade e suas consequências são pouco esclarecidos. Isto posto, o presente estudo visou testar a hipótese de que a administração crônica de capsinóides modulam positivamente os biomarcadores de estresse oxidativo no coração induzido pela obesidade, resultando em redução de produtos derivados do dano oxidativo e prevenção de remodelação cardíaca patológica.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Obesidade

A obesidade é uma condição patológica inflamatória de origem multifatorial, resultado da interação entre fatores ambientais, psicossociais, socioeconômicos, genéticos e estilo de vida (ENDALIFER & DIRESS, 2020; FINER, 2003; GADDE *et al.*, 2018; KOENEN *et al.*, 2021; PÉREZ-TORRES *et al.*, 2021; POWELL-WILEY *et al.*, 2021). A etiologia da obesidade ocorre por meio de desbalanço entre consumo e gasto energético, de modo que o indivíduo passa a apresentar quantidade de massa corporal desproporcional à sua altura, caracterizada principalmente pelo aumento da adiposidade corporal (DOULBERIS *et al.*, 2020; GADDE *et al.*, 2018; WLODARCZYK & NOWICKA, 2019).

A literatura relata que os riscos à saúde aumentam com maiores graus de obesidade, bem como com maior acúmulo de gordura central ou visceral (FINER, 2003). Desta forma, o acúmulo de massa gorda corporal e índice de massa corporal (IMC) elevado são importantes preditores de distúrbios metabólicos (ENDALIFER & DIRESS, 2020). Algumas alterações observadas em obesos são o desencadeamento de inflamação crônica, desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão arterial, dislipidemias e síndrome metabólica (SM), tornando pessoas obesas mais propensas à morte (GADDE *et al.*, 2018; PÉREZ-TORRES *et al.*, 2021; POWELL-WILEY *et al.*, 2021; WLODARCZYK & NOWICKA, 2019; ZHENG *et al.*, 2017).

Quanto à fisiopatologia da doença, o desbalanço energético promove a hipertrofia e hiperplasia do tecido adiposo branco (TAB), órgão responsável pelo armazenamento de energia na forma de triglicerídeos e pela secreção de adipocinas e citocinas importantes sistemicamente (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2011; KAWAI, AUTIERI, SCALIA, 2021; KOENEN *et al.*, 2021). Entretanto, os adipócitos deste tecido possuem menor densidade de receptores de insulina e maior quantidade de receptores β -3-adrenérgico, facilitando a infiltração de monócitos neste local (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2011). Deste modo, o estímulo para expansão destes adipócitos impulsiona a entrada de células do sistema imune, como células T reguladoras, T CD8 e macrófagos, influenciando na construção do perfil inflamatório e disfuncional do TAB (KOENEN *et al.*, 2021). Além disso, apesar do TAB produzir e liberar de forma autócrina, parácrina e endócrina, adipocinas

importantes para a homeostase fisiológica, o perfil de receptores existentes no tecido do obeso, induz maior taxa de lipólise, e conseqüentemente, promove aumento da produção de radicais livres, indução da resistência à insulina (RI), lipotoxicidade e inflamação (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2011; KAWAI, AUTIERI, SCALIA, 2021; KOENEN *et al.*, 2021).

Deste modo, a obesidade está associada ao aumento de biomarcadores de morbidade, pois a inflamação induzida sistemicamente no tecido adiposo promove direta ou indiretamente alterações como deposição ectópica de lipídios, elevação de leptina, resistência sistêmica à insulina e diminuição da tolerância à glicose (KAWAI, AUTIERI, SCALIA, 2021). Além disso, as citocinas pró-inflamatórias secretadas pelos adipócitos disfuncionais estimulam a produção de espécies reativas pelas células do sistema imune. Ademais, o fator de necrose tumoral α (TNF- α) liberado pelo tecido inibe a atividade da proteína C reativa (PCR), aumentando a interação dos elétrons com o oxigênio para gerar o ânion $O_2^{\cdot-}$. Em adição, há liberação de Angiotensina II (Ang II) pelo tecido adiposo na obesidade, a qual estimula a nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidase (NOX), a principal via para a produção de EROs nos adipócitos (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2011).

2.2 Estresse oxidativo

Espécies reativas (ER) são átomos, moléculas ou íons que apresentam alta reatividade e instabilidade (MARTELLI & NUNES, 2014). As ER podem ser divididas em dois grupos: radicais livres e compostos não radicalares. Os radicais livres (RL) são átomos ou moléculas que possuem pelo menos um elétron desemparelhado em seus orbitais externos, permitindo a transferência de elétrons com moléculas vizinhas. Os compostos não radicalares não possuem elétrons livres nas últimas órbitas, por isso são mais estáveis, porém ainda podem reagir com moléculas ao seu redor (MARTELLI & NUNES, 2014; POWERS *et al.*, 2020). Algumas espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs) abundantes no corpo são os radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroxila ($\cdot OH$) e óxido nítrico (NO) e os compostos não radicalares peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peroxinitrito ($ONOO^-$) (SALEHI *et al.*, 2018). Por funcionarem como receptores (oxidantes) ou doadores (redutores) de elétrons, tais espécies são capazes de criar alterações no ambiente molecular em que estão inseridos, principalmente quando reagem com outros tipos de compostos (FERREIRA & LUNZ, 2022).

Naturalmente, nosso corpo é capaz de produzir estas espécies por meio da atividade de mitocôndrias, células do sistema imunológico, células epiteliais, entre outras (MARTELLI & NUNES, 2014). Estudos relatam que grande parte das espécies reativas podem ser formadas em consequência da cadeia de transporte de elétrons (CTE) na respiração celular. Especificamente, nas mitocôndrias, o oxigênio normalmente é utilizado para a formação de energia e fosforilação oxidativa, porém, durante o transporte de elétrons mitocondrial, as EROs podem ser formadas por meio do vazamento de elétrons devido a uma diminuição da taxa de fosforilação mitocondrial (FERREIRA & LUNZ, 2022; PANTH; PAUDEL; PARAJULI, 2016; NIEMANN et. al., 2017). Deste modo, moléculas de O_2 podem ser captadas e submetidas à redução, formando ânions superóxido, os quais podem ser dismutados originando H_2O_2 (FERREIRA & LUNZ, 2022). Além da CTE, o sistema imunológico também pode ser responsável pelo aumento da produção de espécies reativas, principalmente quando funciona como mecanismo de defesa. Como por exemplo, as NADPH oxidases (Nox) existentes na superfície dos neutrófilos reduzem O_2 em O_2^- , que no espaço extracelular sofre dismutação, originando peróxido de hidrogênio, que poderá reagir com outras moléculas celulares (FERREIRA & LUNZ, 2022).

Em níveis controlados, tais espécies são essenciais para a sobrevivência celular, pois estão relacionadas ao controle da homeostase corporal por meio de processos celulares fundamentais, como a defesa imunológica, proliferação e diferenciação celular, defesa contra patógenos e ativação de vias de sinalização (FERREIRA & LUNZ, 2022; PRASAD & SRIVASTAVA, 2020; SALEHI *et al.*, 2018). Ademais, podem oferecer auxílio no controle dos níveis hormonais, preservação do equilíbrio químico, fortalecimento da plasticidade sináptica e controle da atividade enzimática (PANTH; PAUDEL; PARAJULI, 2016). Deste modo, em um nível moderado de desequilíbrio redox, podem gerar efeitos benéficos nas respostas celulares adaptativas (SALEHI *et al.*, 2018).

Entretanto, algumas fontes externas são capazes de induzir ao aumento e exacerbação da formação destas espécies reativas, como por exemplo radiação, poluentes, pesticidas, exercício físico, bactérias, vírus e dietas hipercalóricas (MARTELLI & NUNES, 2014). Este estímulo faz com que a resposta adaptativa celular aos impulsos estressores, tenda a ser ineficiente, desencadeando efeito tóxico ao organismo (SALEHI *et al.*, 2018). Deste modo, a produção excessiva destes compostos pode causar efeitos deletérios como alterações em estruturas e

funções de proteínas, danos aos ácidos nucleicos e lipídeos, carcinogênese e inflamação. Ademais, estimula o desenvolvimento de distúrbios redox, conhecidos como estresse oxidativo (EO) (MARTELLI & NUNES, 2014).

Diante deste contexto, o estresse oxidativo (EO) é definido como desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, levando a uma desregulação da sinalização e controle redox e/ou dano molecular (JONES, 2006). Quando induzido, normalmente, acarreta danos oxidativos aos componentes celulares, que de uma forma crônica está associado à patogênese e desenvolvimento do câncer, doenças neurodegenerativas, diabetes mellitus, hipertensão e doenças cardiovasculares (DCVs) (POWERS *et al.*, 2020). No estresse oxidativo, as ER reagem formando ligações covalentes irreversíveis, induzindo a peroxidação lipídica e a oxidação de proteínas, DNA e carboidratos (FERREIRA & LUNZ, 2022; VONA *et al.*, 2019). Desta forma, podem desencadear alterações estruturais e metabólicas como inativação e polimerização de proteínas, alteração de membranas biológicas, modificações e mutações genéticas, despolimerização de carboidratos, entre outros. Além disso, induzem alteração nos mecanismos de transporte pela membrana, podendo gerar a inativação ou destruição de enzimas, perturbações funcionais e alterações genéticas, modificando o comportamento normal das células (FERREIRA & LUNZ, 2022).

Para evitar efeitos adversos de tais espécies, o corpo conta com o auxílio de mecanismos conhecidos como antioxidantes, que são capazes de neutralizar ou prevenir os danos que elas causam, pois competem com substratos oxidáveis, inibindo ou atrasando a oxidação desses substratos (FERREIRA & LUNZ, 2022). Podem ser endógenos ou exógenos, enzimáticos ou não (POWERS *et al.*, 2020; PRASAD & SRIVASTAVA, 2020). Exemplos de antioxidantes endógenos são algumas enzimas, como a superóxido dismutase (SOD), a glutathiona peroxidase (GPX) e a catalase (CAT) (SALEHI *et al.*, 2018). Além destes, outros antioxidantes endógenos não enzimáticos conhecidos são a glutathiona (GSH), o ácido úrico, a bilirrubina, a vitamina E, e a vitamina C (POWERS *et al.*, 2020). Ainda, as vitaminas E e C e o β -caroteno também podem servir como antioxidantes exógenos oriundos da alimentação (PANTH; PAUDEL; PARAJULI, 2016).

Sobre os antioxidantes endógenos enzimáticos, a SOD, presente no citosol ou na mitocôndria, é a primeira linha de defesa contra o excesso de oxidantes. Ela é capaz de dismutar $O_2^{\cdot -}$, formando peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular.

Sendo assim, importante para a saúde vascular, pois permite que tenha óxido nítrico (NO) biodisponível para o relaxamento vascular (FERREIRA & LUNZ, 2022). Além desta, a GPX, presente principalmente no citoplasma ou na matriz mitocondrial, é capaz de catalisar peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos em água e álcool, tornando-se uma estratégia fundamental para a inibição da peroxidação lipídica e prevenção de danos genéticos (FERREIRA & LUNZ, 2022). Outra enzima relevante é a catalase (CAT), a qual pode ser encontrada no citosol, mitocôndria e peroxissomos; essa enzima reduz H_2O_2 em água e oxigênio (FERREIRA & LUNZ, 2022). Estes são exemplos de importantes mecanismos para a defesa celular e manutenção da homeostase corporal.

2.3 Obesidade, coração e estresse oxidativo

A obesidade tem forte associação com doenças cardiovasculares, uma vez que está intimamente associada aos tradicionais fatores de risco coronariano, mas também envolve ação direta no coração, afetando tanto os vasos, quanto cardiomiócitos e interstício cardíaco (CAVALERA, WANG, FRANGOIANNIS, 2014).

Nesta doença, a ativação de sistemas humorais cardiovasculares, como o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), está relacionada à progressão de doenças cardiovasculares ou desenvolvimento de comorbidades associadas ao risco aumentado de eventos cardíacos adversos (HALL, YANES, LONG, KOCH, 2015). Como por exemplo, é sugerido que a Ang II pode promover a resistência à insulina associada à obesidade (HALL, YANES, LONG, KOCH, 2015). Além disso, a liberação de determinados hormônios pode provocar alterações hemodinâmicas e afetar o sistema cardiovascular por meio de mecanismos, como inflamação, estresse oxidativo e efeitos metabólicos (HALL, YANES, LONG, KOCH, 2015). Neste contexto, a própria liberação de Ang II estimula a secreção de aldosterona, que aumenta a pressão arterial por meio da reabsorção de sódio, mas também pode aumentar o estresse oxidativo, a fibrose cardíaca e a hipertrofia ventricular esquerda (HALL, YANES, LONG, KOCH, 2015).

Além disso, como dito anteriormente, o excesso de adiposidade corporal é capaz de provocar inflamação sistêmica no organismo. Esta situação a nível cardiovascular está relacionada ao maior risco de desenvolvimento de hipertrofia do ventrículo esquerdo, hipertensão, distúrbios cardiometabólicos, doenças

cardiovasculares, fibrilação atrial e insuficiência cardíaca (GADDE et al., 2018; KOENEN et al., 2021). Tais efeitos podem ser decorrentes da redução da flexibilidade metabólica, acúmulo ectópico de lipídios no coração, aumento de ácidos graxos e disfunção mitocondrial ocorridas na obesidade (NIEMANN et al., 2017).

Especificamente, o coração é capaz de oxidar qualquer substrato disponível para manter um nível de ATP suficiente para a contração. Predominantemente são utilizados ácidos graxos como substrato no coração, mas o uso de outros substratos como carboidratos, lactato e cetonas pode estar aumentado em algumas condições patológicas. Contudo, na obesidade essa flexibilidade é prejudicada (ILKUN & BOUDINA, 2013). Deste modo, essa situação impacta na utilização inadequada da glicose neste órgão, resultando em dependência de utilização de ácidos graxos oxidados (NIEMANN et al., 2017).

Neste contexto, os ácidos graxos também tendem a estar aumentados, assim como triglicerídeos e ácidos graxos livres circulantes e intramiocárdicos (NIEMANN et al., 2017). Essas alterações estimulam o acúmulo ectópico de lipídios no coração, o qual está associado à hipertrofia, disfunção cardíaca e apoptose (NIEMANN et al., 2017). Ademais, a literatura indica que o aumento de ácidos graxos tecidual pode desencadear a formação de intermediários tóxicos e derivados de lipídios que promovem lipotoxicidade, podendo induzir alterações nas estruturas celulares, disfunção dos cardiomiócitos e modificações na transdução de sinais e conseqüentemente, a morte celular (NIEMANN et al., 2017).

Ainda, juntamente com os transtornos citados, o aumento de ácidos graxos oxidados, a autooxidação da glicose, alteração no metabolismo de poliol e hexosamina, são capazes de induzir a disfunção mitocondrial, desacoplamento da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial (CTE) e redução de ATP, e por conseguinte, influenciar na produção e liberação de EROs no coração (NIEMANN et al., 2017; PANTH, PAUDEL, PARAJULI, 2016). Neste contexto, é importante ressaltar que no indivíduo obeso, por conta da alta quantidade de mitocôndrias nos cardiomiócitos e pela necessidade aumentada de suprimento de energia através da respiração mitocondrial, estas são as principais fontes de produção de espécies reativas de oxigênio nestas células (NIEMANN et al., 2017; PANTH, PAUDEL, PARAJULI, 2016).

Além disso, na obesidade ainda há redução da capacidade antioxidante e aumento da atividade de fontes pró-oxidantes como Nox (Nox2 e Nox4),

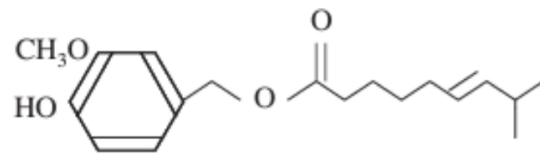
lipoxigenase (LOX), cicloxigenase (COX), óxido nítrico sintase (NOS) e citocromo P450 no sistema cardiovascular, as quais podem desencadear o estresse oxidativo no coração. De modo que o EO pode promover a disfunção contrátil, arritmia e remodelamento cardíaco desadaptativo por meio de hipertrofia e morte celular (HALL, YANES, LONG, KOCH, 2015; MUNZEL *et al.*, 2017; NIEMANN *et al.*, 2017; PANTH, PAUDEL, PARAJULI, 2016).

Desta forma, é de suma importância que no sistema cardiovascular, as terapias antioxidantes busquem estancar o dano tecidual, também controlar a produção de espécies reativas de oxigênio, de modo a aumentar a biodisponibilidade do óxido nítrico, bem como reduzir alterações hemodinâmicas, funcionais e teciduais (HALL, YANES, LONG, KOCH, 2015).

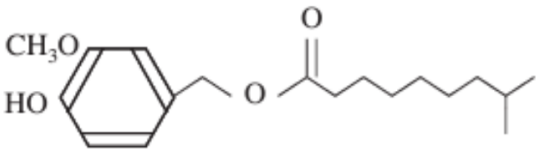
2.4 Capsinóides

Capsinóides refere-se a um grupo de moléculas alcalóides ésteres de álcool vanílico com ácidos graxos (GUPTA *et al.*, 2022). Esses compostos são descritos como capsiato, dihidrocapsiato e nordihidrocapsiato (Figura 1), as quais possuem a respectiva nomenclatura química 4-hidroxy-3-methoxybenzyl(E)-8-methyl-6-nonenoate, 4-hydroxy-3-methoxybenzyl-8-methyloctanoate, e 4-hydroxy-3-methoxybenzyl (DLUDLA *et al.*, 2023). Este grupo possui estrutura análoga à do grupo dos capsaicinóides, o qual é composto por moléculas como capsaicina, dihidrocapsaicina e nordihidrocapsaicina. A diferença é que este segundo grupo é formado por amidas de vanililamina com ácidos graxos de cadeia ramificada (GUPTA *et al.*, 2022) (Figura 1). Além disso, enquanto as moléculas do grupo dos capsaicinóides são pungentes, os capsinóides não possuem tal característica (< 0,01%) (CANSIAN, 2016; OHYAMA & SUZUKY, 2017; SNITKER *et al.*, 2009).

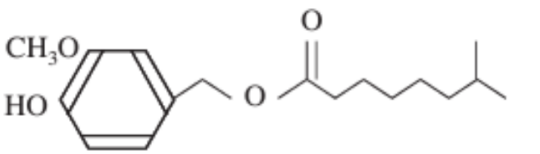
Capsinóides



Capsiato

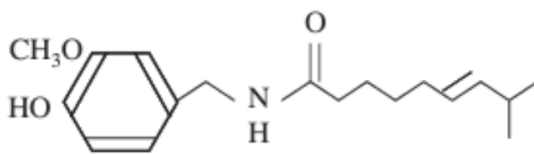


Dihidrocapsiato



Nordihidrocapsiato

Capsaicinóides



Capsaicina

Figura 1. Representação esquemática da estrutura dos capsinóides.
Fonte: Adaptado de SASAHARA et al., 2010.

Ambos os grupos são encontrados em espécies de plantas pertencentes ao gênero *Capsicum*, como *C. annum*, *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., *C. baccatum* L. e *C. pubescens*, conhecidas como “hot pepper”, “chili pepper”, “bell pepper”, etc. (DLUDLA et al., 2023; GUPTA et al., 2022). Dentre os compostos citados, a capsaicina é o composto mais presente nestas espécies, também é o mais estudado.

Reconhecidamente, os capsaicinóides - como a capsaicina, dihidrocapsaicina e nordihidrocapsaicina - possuem atividades como prevenção do balanço energético positivo, redução da obesidade, aumento da atividade do sistema nervoso simpático, aumento do gasto energético e da oxidação de gordura, entre outros benefícios (SASAHARA et al., 2010). Contudo, sua forte pungência limita o uso (GALGANI, RYAN, RAVUSSIN, 2010). Desta forma, estudos para entender os benefícios à saúde de seus compostos análogos não pungentes são importantes.

Diante desse contexto, os capsinóides têm sido investigados, sendo principalmente encontrados na variedade “CH-19 Sweet” (*Capsicum annum* L.), produzida por melhoramento seletivo da pimenta vermelha (GUPTA et al., 2022;

SHINTAKU *et al.*, 2012). A proporção do conteúdo de capsiato, dihidrocapsiato e nordihidrocapsiato nesta espécie é de aproximadamente 5: 3: 1. (GUPTA *et al.*, 2022; HARAMIZU *et al.*, 2011).

Devido à estrutura química, estas moléculas são mais instáveis e mais facilmente degradadas do que os capsaicinóides (OHYAMA & SUZUKY, 2017). Por este motivo, quando consumidas, são hidrolisadas à medida que atravessam a mucosa do trato gastrointestinal, e acabam por ser quase indetectáveis na circulação (GUPTA *et al.*, 2022; OHYAMA & SUZUKY, 2017). Desta forma, tem sido demonstrado que os capsinóides são absorvidos rapidamente no trato gastrointestinal superior (GUPTA *et al.*, 2022). Em adição, os produtos decorrentes da sua hidrólise, são transportados para o fígado, onde são formados por exemplo, o álcool vanílico sulfato e glicuronídeo, que são as principais formas circulantes dos capsinóides, que posteriormente são excretados na urina e fezes (GUPTA *et al.*, 2022).

Independentemente da rápida hidrólise, os capsinóides conseguem ativar receptores de potencial transitório vanilóide tipo 1 (TRPV1) expressos na mucosa gástrica e nos aferentes vagais no intestino (CANSIAN, 2016; SASAHARA *et al.*, 2010, SNITKER *et al.*, 2009). O TRPV1 é um receptor que funciona como canal catiônico transmembrana não seletivo (SASAHARA *et al.*, 2010; SHINTAKU *et al.*, 2012). E, apesar dos capsinóides demonstrarem potência de ativação de cerca de 1/10 da capsaicina, sugere-se que ambos ativam o receptor ligando-se nos mesmos resíduos de aminoácido (Y511 e S512) na região citosólica (SASAHARA *et al.*, 2010; SHINTAKU *et al.*, 2012) (Figura 2). Desta forma, a ativação do TRPV1 pelos capsinóides promove aumento principalmente na concentração intracelular de Ca^{2+} livre, ativando neurônios periféricos e estimulando a liberação de catecolaminas, os quais são responsáveis por parte dos efeitos destes compostos (GUPTA *et al.*, 2022; SASAHARA *et al.*, 2010; SHINTAKU *et al.*, 2012).

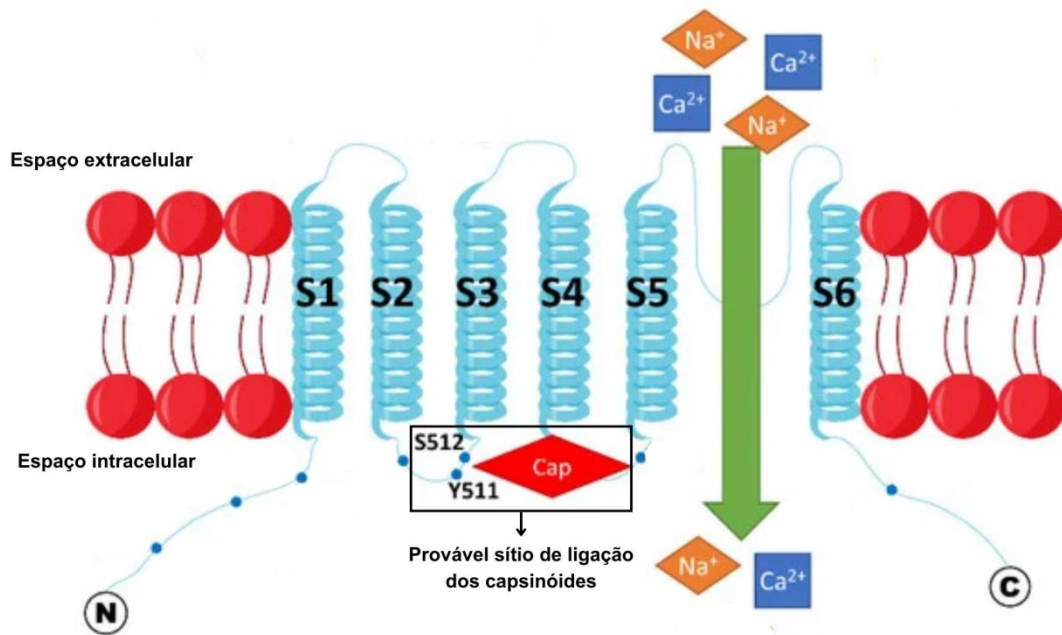


Figura 2. Representação do TRPV1 na bicamada lipídica.
 Fonte: Adaptado de MUNJULURI *et al.*, 2022.

Neste contexto, Shintaku e colaboradores (2012) conseguiram verificar a ativação do TRPV1 e o aumento da concentração de Ca^{2+} nas células provocados pela administração de capsaiato. Em outro estudo elaborado por Sasahara e colaboradores (2010), a administração intravenosa de capsaiato e o dihidrocapsaiato foi capaz de ativar o TRPV1, e estimular a secreção de adrenalina, bem como da noradrenalina (SASAHARA *et al.*, 2010).

No tocante aos efeitos provocados pela administração de capsinóides, o estudo de Kawabata (2009) verificou que a administração intragástrica destes compostos acarretou maior consumo de oxigênio e oxidação de gordura, além da elevação da supressão da oxidação de carboidratos em roedores. Em outro estudo realizado para observar os efeitos do capsaiato em roedores, foi possível verificar redução do acúmulo de gordura corporal, principalmente no que diz respeito às gorduras perirrenal e epididimal (HARAMIZU *et al.*, 2011). O tratamento também foi capaz de reduzir as concentrações de glicose, triglicerídeos e ácidos graxos não esterificados (NEFA) plasmáticos (HARAMIZU *et al.*, 2011). Outros efeitos relevantes destacados, foram o maior consumo de oxigênio e a maior oxidação de gordura no grupo tratado com capsaiato em comparação aos grupos controle e tratado com restrição calórica, sugerindo que a suplementação com capsaiato pode ser uma estratégia mais assertiva para a redução da massa corporal e controle de

comorbidades associada à obesidade (HARAMIZU *et al.*, 2011).

Para além disso, Cansian (2016) conseguiu observar que o tratamento de animais com capsinóides por um período de seis semanas foi capaz de reduzir a glicemia, diminuir a gordura epididimal, e a insulina, além de reduzir os valores dos índices HOMA-IR e HOMA- β . Em outro estudo foi verificado que, o tratamento com capsinóides por 12 semanas, promoveu menor massa corporal e massa gorda nos animais tratados (HONG, XIA, XIANGYING, QUAN, 2015). Ainda, o tratamento aumentou a expressão de proteínas importantes para o metabolismo lipídico, como a hidroximetilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase) e o transportador de glicose GLUT4, tanto no fígado como no tecido adiposo, sugerindo que os capsinóides podem promover regulação positiva do metabolismo lipídico, podendo aumentar a síntese de colesterol, a absorção e ativação da oxidação de ácidos graxos (HONG, XIA, XIANGYING, QUAN, 2015). Estes dados foram apoiados pelos achados histológicos, que no grupo tratado apresentou acúmulo reduzido de gordura nos adipócitos (HONG, XIA, XIANGYING, QUAN, 2015).

Por fim, a suplementação com capsinóides se mostrou eficaz também para reduzir os efeitos do envelhecimento em roedores. Em estudo com roedores idosos, a suplementação de dihidrocapsiato inibiu o ganho de massa e o acúmulo de gordura corporal associado à idade, bem como suprimiu a hipertrofia dos adipócitos e a esteatose hepática. Além disso, o tratamento com dihidrocapsiato suprimiu a regulação gênica relacionada à inflamação e danos hepáticos associados à idade e a expressão de genes de marcadores inflamatórios. Os autores também observaram diminuição do 8-hidroxi-guanosina (8-OHdG), um marcador de dano oxidativo em proteínas e DNA, indicando redução do dano oxidativo decorrente da idade. Ainda, o dihidrocapsiato foi capaz de restaurar os níveis da expressão gênica de enzimas antioxidantes (OHYAMA & SUZUKY, 2017).

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos da administração crônica de capsinóides sobre o remodelamento e biomarcadores do estresse oxidativo no coração de ratos com obesidade induzidos por dieta hiperlipídica.

4. METODOLOGIA

4.1 Animais

Ratos *Wistar* machos ($n = 44$), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) com 30 dias de vida, foram mantidos em gaiolas de polipropileno individuais forradas com maravalha de *Pinus* esterilizada e alocados em ambiente controlado, em temperatura ambiente (24 ± 2 °C), umidade controlada ($55 \pm 5\%$) e ciclo de iluminação invertido (12/12h).

Os procedimentos realizados e protocolo experimental foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Espírito Santo sob protocolo 08/2022 (ANEXO A), sendo executados de acordo com as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA, 2016).

4.2 Protocolo experimental

O protocolo teve duração de 27 semanas consecutivas, sendo dividido em 2 momentos: 1) período de exposição às dietas experimentais, que compreendeu os momentos de indução e manutenção da obesidade (19 semanas) e; 2) período de tratamento com capsinóides (8 semanas) (Figura 3).

Inicialmente, após 7 dias de aclimação no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Experimental (LAFIBE) com dieta padrão (Nuvilab CR), os ratos foram randomizados em dois grupos de acordo com o tipo de alimentação ofertada: DP (dieta padrão normocalórica) e DH (dieta hiperlipídica) (Figura 3). Após o período de exposição às dietas experimentais, o momento inicial da obesidade ocorreu quando o grupo DH apresentou aumento significativo da massa corporal em relação ao DP. A partir deste momento o grupo DP passou a ser denominado como C (grupo controle) e o grupo DH como Ob (grupo obeso). Após essa definição, três semanas foram utilizadas para manutenção da obesidade dos animais, completando, um período de 19 semanas. Assim, ao final da 19ª semana do protocolo experimental, os ratos foram redistribuídos por randomização estratificada em 4 diferentes grupos quanto à ausência e/ou presença do tratamento com capsinóides: grupo controle (C: ração padrão; sem capsinóides), controle suplementado com capsinóides (CCap: ração padrão com capsinóides), obeso (Ob: ração hiperlipídica; sem capsinóides) e obeso suplementado com capsinóides (ObCap: ração hiperlipídica com

capsinóides). Entretanto, considerando que o objetivo do presente estudo foi apenas avaliar os efeitos do tratamento com capsinóides na obesidade, os ratos que compuseram o grupo CCap foram descartados do presente estudo, sendo utilizados em outros projetos do laboratório (Figura 3).

Durante todo o protocolo experimental, foi ofertado diariamente 40 g de ração e água *ad libitum*. Assim, a ingestão alimentar dos grupos pôde ser acompanhada por meio da diferença entre a quantidade de ração ofertada no dia anterior e a consumida. Estes valores multiplicados pela densidade energética das dietas também foram importantes para estimar o consumo calórico diário (KOCH et. al., 2014) e a eficiência alimentar (EA), utilizada para analisar a capacidade de conversão da energia alimentar consumida em massa corporal. A EA foi mensurada a partir da seguinte fórmula: $[EA = \text{ganho total de massa corporal dos animais (g)} / \text{energia total ingerida (kcal)}]$ (IRVING et. al., 2009; KIM et al., 2000).

Ao final do período de exposição crônica ao tratamento foram realizadas as análises *in vivo* nos ratos C, Ob e ObCap, e após a eutanásia, foram coletadas amostras de sangue e realizadas as análises *post mortem* nestes grupos (Figura 1).

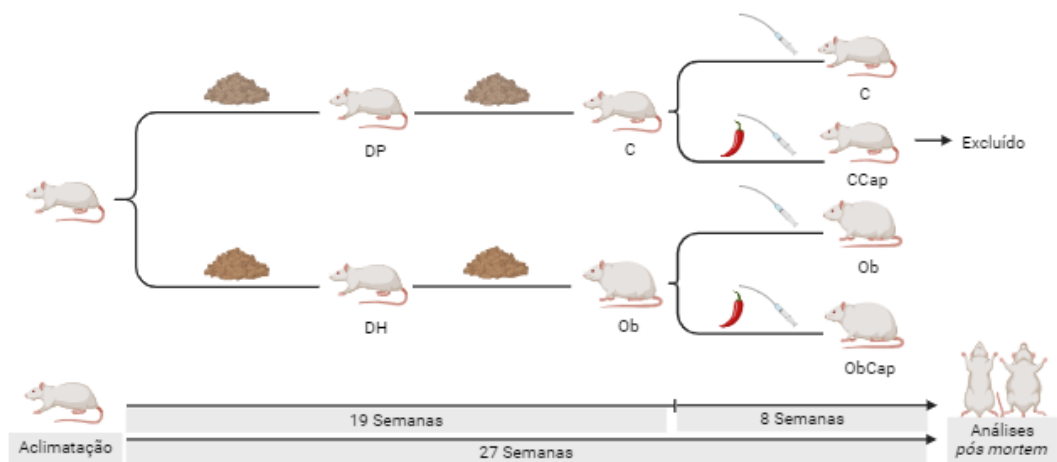


Figura 3. Representação esquemática do protocolo experimental.
Fonte: Autor.

4.3 Composição nutricional das dietas

A dieta padrão para roedores foi baseada nas recomendações AIN 93, sendo composta pelos seguintes ingredientes: amido de milho, caseína, amido dextrinizado, sacarose, óleo de soja, celulose microcristalina, L-cistina, BHT, bitartarato de colina, mix mineral e mix vitamínico (QUADRO 1). Tal dieta foi composta por 9,45 % de lipídeos, 75,66 % de carboidratos e 14,89 % de proteínas

(Pragsoluções biociências ®, São Paulo, Brasil) (QUADRO 2).

A dieta com característica hiperlipídica também foi baseada nas recomendações AIN 93, contudo em sua composição foi adicionada a banha de porco, e sua proporção de macronutrientes conseqüentemente foi alterada. Deste modo, a dieta hiperlipídica apresentou os seguintes ingredientes: amido de milho, caseína, amido dextrinizado, sacarose, óleo de soja, banha, celulose microcristalina, L-cistina, BHT, bitartarato de colina, mix mineral e mix vitamínico (QUADRO 1). A dieta foi composta por 45,33 % de lipídeos, 40,29 % de carboidratos e 14,38 % de proteínas (Pragsoluções biociências ®, São Paulo, Brasil) (QUADRO 2).

Quadro 1 - Composição das dietas

INGREDIENTES	DIETA PADRÃO (g/kg)	DIETA HIPERLIPÍDICA (g/kg)
Amido de milho	465,693	270,996
Caseína	139,998	169,997
Amido dextrinizado	154,998	154,998
Sacarose	99,998	59,999
Óleo de soja	39,999	28,000
Celulose microcristalina	49,999	49,999
Mix mineral	34,999	34,999
Mix vitamina	10,000	10,000
L-cistina	1,800	3,500
BHT	0,016	0,016
Banha	0	214,997
Bitartarato de colina	2,500	2,500
Total	1000	1000

Quadro 2 - Distribuição percentual de macronutrientes e densidade calórica

MACRONUTRIENTES	DIETA PADRÃO	DIETA HIPERLIPÍDICA SATURADA
Proteína (%)	14,89	14,38
Lipídios (%)	9,45	45,33
Carboidratos (%)	75,66	40,29
Densidade Calórica (Kcal/g)	3,81	4,82

4.4 Administração de capsinóides

A literatura aponta que, para verificar o efeito antiobesidade de capsinóides e capsaicinóides em ratos, é necessária a utilização da dose mínima de 10 mg/kg da massa corporal (OKUMURA et al., 2012).

Assim, considerando a dosagem mínima e o fator de correção do produto, este experimento foi construído para que os animais do grupo ObCap recebessem por gavagem orogástrica, 25 mg/kg/dia de capsinóides (Cap; Infinity Pharma, Brasil) diluídos em 1 mL/kg de água, durante 8 semanas. Semelhantemente, os grupos C e Ob receberam gavagem de 1 mL/kg de água durante o mesmo período.

4.5 Eutanásia

Ao final do protocolo experimental, os animais foram submetidos a jejum de 6h, sendo após este período, heparinizados (2000 UI; ip; Hepamax-S ®, Blau Farmacêutica S.A., Cotia, São Paulo, Brasil) (Dantas et al., 2022). Posteriormente, foram anestesiados intraperitonealmente com solução contendo cloridrato de ketamina (90 mg/kg; Dopalen ®, Sespo Indústria e Comércio Ltda - Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg; Anasedan ®, Sespo Indústria e Comércio Ltda - Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo) (UNIFESP, 2019). Quando não verificado o plano anestésico do animal, uma dose anestésica letal foi aplicada, baseando-se na seguinte fórmula: $\{[\text{massa corporal do rato (kg)} \times \text{dose do anestésico (mg/kg)}] / \text{concentração do anestésico (mg/mL)}\} \times 3$ (UNIFESP, 2019).

Em seguida, foi realizada a toracotomia mediana para coleta e análise dos tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e visceral, bem como o coração. O

ventrículo esquerdo (VE) também foi separado e após a pesagem, foi armazenado a - 80 °C para análises posteriores. Ademais, amostras de sangue foram coletadas e armazenadas a - 80 °C.

4.6 Avaliação da composição corporal

Para avaliação da composição corporal e caracterização da obesidade nos roedores foram analisados os valores de massa, gordura e índice de adiposidade corporal (IAC).

Para tal, durante o protocolo experimental, semanalmente foi aferida a massa corporal dos animais, utilizando balança digital Mettler ® modelo Spider 2 (Toledo do Brasil Indústria de Balanças Ltda., São Bernardo do Campo, São Paulo, Brasil). Em relação à quantidade de gordura corporal, a mesma foi determinada por meio da somatória dos depósitos de gordura epididimal, retroperitoneal e visceral. Por fim, o IAC dos animais foi calculado por meio da utilização da seguinte fórmula: [IAC = quantidade de gordura corporal/massa corporal final x 100] (ROLLS & SHIDE, 1992; TAYLOR & PHILLIPS, 1996).

4.7 Comorbidades

Considerando que a obesidade está associada ao diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e outras complicações cardiometabólicas, este estudo verificou parâmetros relacionados ao metabolismo de glicose, perfil lipídico e resistência à insulina (ABESO, 2019).

4.7.1 Teste de tolerância à glicose (GTT)

Na semana anterior ao início do tratamento (19ª semana), e na última semana do protocolo (27ª semana), os animais foram submetidos ao teste de tolerância à glicose. Para tal, permaneceram em jejum durante 6h, para análise dos níveis glicêmicos em condições basais e após sobrecarga de glicose (50%; ip; Sigma-Aldrich, ® St Louis, MO, USA) (MENDES et al., 2022). Assim, foram coletadas amostras sanguíneas da cauda dos animais nos momentos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos da infusão. As amostras sanguíneas foram avaliadas por um glicosímetro portátil Accu-Chek Go Kit (Roche Diagnostic Brazil Ltda., São Paulo, Brasil). A avaliação da tolerância à glicose foi realizada pela área sob a curva (AUC) para glicose.

4.7.2 Perfil lipídico

Os animais foram submetidos à 6h de jejum e após a eutanásia foram coletadas amostras de sangue em tubo Falcon e centrifugadas a 10000 rpm por 10 minutos (Heraeus Megafuge 16R Centrifuge, Thermo Scientific, MA, EUA) e armazenadas em freezer a - 80 °C (Coldlab Ultra Freezer CL374-86V, Piracicaba, São Paulo, Brasil) para posterior avaliação. As concentrações séricas de triglicerídeos (TG), colesterol total (CT) e lipoproteínas de alta densidade (HDL) e baixa densidade (LDL) foram determinadas utilizando kits específicos (Bioclin Bioquímica®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil e Synermed do Brasil Ltda., São Paulo, Brasil) e analisadas por equipamento automatizado BS-200 (Mindray do Brasil - Comércio e Distribuição de Equipamentos Médicos Ltda., São Paulo, Brasil).

4.7.3 Índice HOMA-IR

O índice HOMA-IR é utilizado para verificar a homeostase da resistência sistêmica à insulina. Esse índice é baseado nas concentrações de glicemia e insulina sérica de jejum. Deste modo, foi calculado com o auxílio da seguinte fórmula: [concentração de insulina de jejum ($\mu\text{U/mL}$) x glicemia de jejum (mmol/L) / 22,5] (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2019).

4.7.4 Índice HOMA- β

O índice HOMA- β é utilizado para verificar a função das células β - pancreáticas, sendo também baseado nas concentrações de insulina sérica e glicemia de jejum. O cálculo desse índice foi realizado da seguinte forma: [20 x insulina de jejum ($\mu\text{U/ml}$)/glicemia de jejum (mmol/ml) - 3,5] (SONG et al., 2007).

4.7.5 Índice TyG

O índice triglicerídeos-glicose (índice TyG) é outro indicador para resistência à insulina, o qual leva em consideração as concentrações de glicose e triglicérides séricos. Esse índice foi determinado por meio da seguinte fórmula: [Ln (glicemia de jejum (mg/dL) x triglicérides de jejum (mg/dL)) / 2] (ZHANG et al., 2017).

4.8 Caracterização hormonal

As concentrações séricas de insulina (Elabscience Biotechnology, USA), leptina (R&D Systems, USA), adiponectina (Elabscience Biotechnology, USA) e glucagon (R&D Systems, USA) foram determinadas utilizando kits específicos pelo método ELISA com auxílio de leitor de microplaca (Biochrom EZ Read 800 Plus, Holliston, MA, USA).

4.9 Caracterização cardíaca

4.9.1 Remodelamento cardíaco

O processo de remodelação cardíaca foi avaliado por meio da análise da massa total do coração, ventrículo esquerdo (VE) e suas relações com o comprimento da tíbia (YIN et al., 1982). Para isso, durante a eutanásia, o coração e as câmaras cardíacas foram pesados em balança digital Mettler ® modelo Spider 2 (Toledo do Brasil Indústria de Balanças Ltda., São Bernardo do Campo, São Paulo, Brasil). Além disso, a tíbia foi removida e limpa dos tecidos moles que a circundam para mensuração do comprimento com auxílio de um paquímetro (ZAAS Precision – Amatoools Comercial Importadora Ltda.).

4.9.2 Dano cardíaco

A concentração de troponina I foi determinada utilizando kit específico pelo método ELISA (AFG Scientific, USA) com auxílio de leitor de microplaca (Biochrom EZ Read 800 Plus, Holliston, MA, USA).

4.9.3 Biomarcadores do estresse oxidativo no coração

Os biomarcadores do estresse oxidativo cardíaco foram verificados em fragmentos do VE. A atividade de enzimas antioxidantes e a capacidade antioxidante tecidual foram determinadas, bem como a peroxidação lipídica, carbonilação de proteínas, e produtos da oxidação avançada de proteínas.

4.9.3.1 Preparo dos homogenatos

Fragmentos de tecido cardíaco foram homogeneizados em tampão fosfato de sódio (PBS) na proporção de 1:10 e transferidos para tubos *ependorf*. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm a 4 °C por 10 minutos e

o sobrenadante foi retirado. Os homogenatos foram mantidos em gelo durante o uso.

4.9.3.2 Dosagem de proteínas pelo método de Bradford

Alíquotas dos homogenatos foram diluídas novamente em água destilada na proporção de 1:20. Para as análises, nos poços da microplaca foi construída uma curva padrão utilizando BSA. Nos outros poços foram adicionados os homogenatos de cada animal juntamente com o Bradford. A análise foi feita em triplicata, sendo a leitura realizada a 595 nm no leitor de microplacas Spectra Max 190 (Molecular Devices®, Sunnyvale, CA, USA).

4.9.3.3 Determinação da peroxidação lipídica

A determinação da peroxidação foi realizada pelo método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), onde são quantificadas as concentrações de malondialdeído (MDA), importante produto da peroxidação lipídica. Para isso, foi preparada ao abrigo da luz, 100 ml de solução de trabalho contendo ácido tiobarbitúrico (TBA), ácido tricloroacético 2M (TCA), ácido clorídrico (HCL) e água destilada. Para as análises, foram homogeneizados 200 µL de homogenato do tecido cardíaco com 500 µL de solução de trabalho em centrífuga a 3500 rpm por 10 minutos a 25°C (Eppendorf® Centrifuge 5804-R, Hamburgo, Germany). Os sobrenadantes foram coletados e levados à fervura (100°C) durante 45 min. Então 200 µL de cada sobrenadante foi colocado em microplaca para leitura a 532 nm e 600 nm no leitor Spectra Max 190 (Molecular Devices®, Sunnyvale, CA, USA). A concentração de MDA foi obtida pelo valor de delta referente à diferença entre a absorbância em 600 nm e 535 nm.

4.9.3.4 Determinação dos produtos da oxidação avançada de proteínas

Foi preparada, ao abrigo de luz, uma curva de calibração com cloramina em uma microplaca. Então os homogenatos, do tecido cardíaco, foram colocados nos poços da microplaca juntamente com iodeto de potássio (1,16 M) e ácido acético glacial. A leitura foi realizada a 340 nm.

4.9.3.5 Determinação da carbonilação de proteínas

A determinação da carbonilação de proteínas (CBO) foi mensurada por meio

da utilização do derivatizador 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) e detecção espectrofotométrica de proteínas modificadas pelo processo de carbonilação (MESQUITA *et. al*, 2014). Para tal, foram preparadas duas soluções, uma contendo DNPH e HCL (2M), e outra com NaOH e água destilada. Além disso, cada homogenato foi diluído novamente em PBS na proporção de 1:10. Para as análises, foram utilizados 100 µL do homogenato diluído para 100 µL do DNPH (10 M). As amostras foram incubadas por 10 minutos à temperatura ambiente, depois foram adicionados 50 µL de NaOH (6 M), de modo que as amostras permaneceram por mais 10 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A leitura foi realizada a 450 nm em leitor de microplacas Spectra Max 190 (Molecular Devices®, Sunnyvale, CA, USA), sendo o resultado obtido por meio do seguinte cálculo: $[(\text{abs. da amostra} / 22000) \times 1000000] / \text{abs. da proteína}$.

4.9.3.6 Determinação da capacidade antioxidante

A determinação da capacidade antioxidante do tecido cardíaco foi determinada por meio da técnica do FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Powder), que leva em consideração a capacidade antioxidante para reduzir o ferro férrico. Para tal, foram preparadas 4 soluções: TPTZ, tampão acetato, solução padrão de FeSO₄ e solução de cloreto de ferro. A solução padrão de FeSO₄ foi utilizada para preparar a curva padrão. As outras soluções foram utilizadas como reagentes de FRAP tanto na curva padrão, quanto nos homogenatos. A leitura foi realizada em 594 nm após 30 min de espera.

4.9.3.7 Determinação da atividade enzimática antioxidante

Para a realização das técnicas, as amostras foram preparadas e homogeneizadas na proporção 1:10 em tampão fosfato de sódio (20 mM) contendo KCl (140 mM a pH 7,4). Após, o homogenato foi centrifugado a 3500 rpm por 10 min a 4 °C.

Para análise da atividade da Catalase, as amostras foram diluídas na proporção de 10:1 em solução Triton 10%. Esta preparação ficou em gelo durante 15 min para liberação da catalase. Depois, foi adicionado tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) em temperatura ambiente. Assim, as amostras puderam ser pipetadas na microplaca. Em seguida foi adicionado o meio com peróxido de hidrogênio. Após 2 min foi realizada a leitura a 240 nm durante 3'30" com leitura de

30 em 30 segundos.

Para a realização da atividade da enzima Superóxido Dismutase, foi preparado tampão glicina (pH 10,2) em banho maria a 32 °C. Em seguida, na microplaca foram adicionadas as amostras, o tampão glicina e catalase. Após, foi adicionada solução com adrenalina e HCL PA nos poços. Imediatamente após, foi feita leitura a 412 nm durante 20 min com leitura de 40 em 40 segundos.

4.10 Análise estatística

A distribuição dos dados foi realizada pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Os resultados foram expressos pela média \pm desvio padrão. As comparações entre os grupos DP vs. DH, C vs. Ob e Ob vs. ObCap foram realizadas por meio do teste t de Student para amostras independentes. Entretanto, para análise de evolução da massa corporal e o teste de tolerância à glicose no período de exposição às dietas experimentais foi utilizada análise de variância (ANOVA) two-way para amostras independentes complementada com teste *post hoc* de Bonferroni. Para o acompanhamento da massa corporal e teste de tolerância à glicose durante o período de tratamento com capsinóides foi utilizada ANOVA two-way para amostras independentes complementada com teste *post hoc* de Tukey. O nível de significância adotado foi 5%.

5. RESULTADOS

5.1 Exposição às dietas experimentais

5.1.1 Evolução da massa corporal

A Figura 4 demonstra a evolução da massa corporal durante o período de exposição às dietas experimentais. Durante as 15 semanas iniciais não houve diferença na massa corporal entre os grupos DP e DH. Contudo, a partir da 16ª semana, o grupo DH apresentou massa corporal significativamente maior ao grupo DP, indicando o momento inicial e de caracterização da obesidade; o momento compreendido entre 16ª e 19ª semana foi denominado período de manutenção da obesidade. Neste momento também, o grupo submetido à dieta padrão (DP) passou a ser denominado como grupo Controle (C) e o grupo submetido à dieta hiperlipídica denominado como grupo Obeso (Ob), respectivamente.

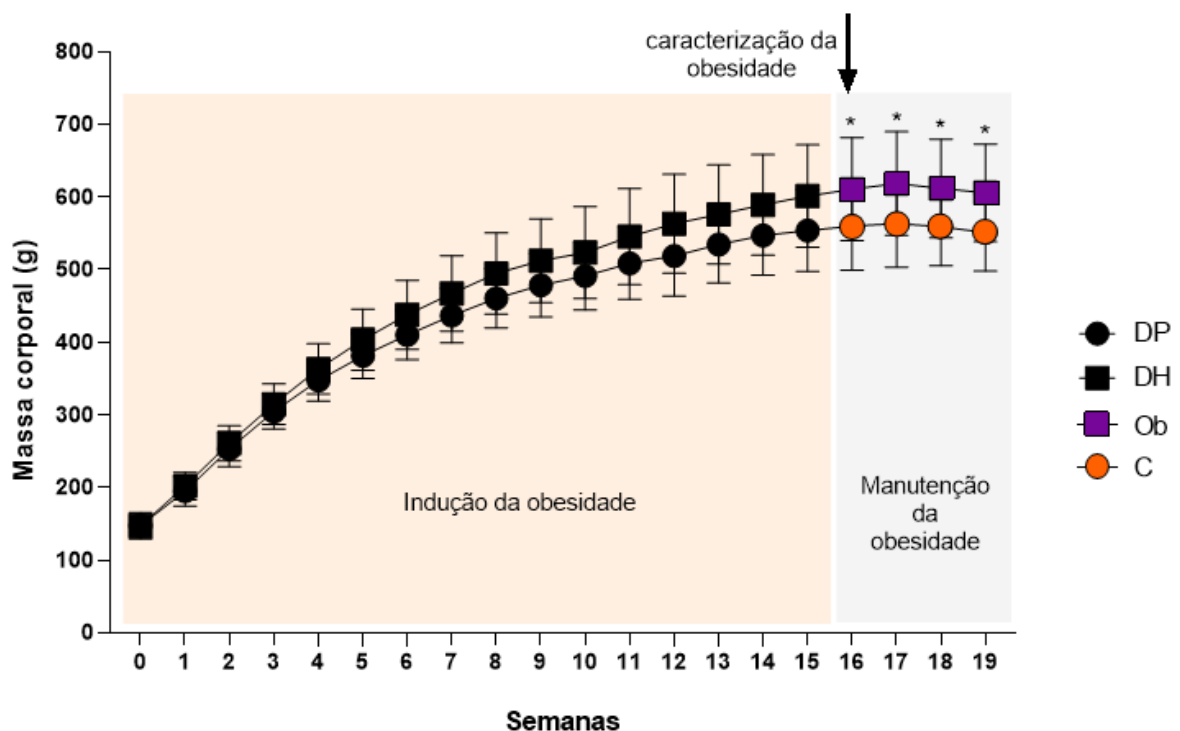


Figura 4. Evolução da massa corporal durante o período de exposição às dietas experimentais. Grupos DP: dieta padrão (n = 17); DH: dieta hiperlipídica (n = 27). Após o início e caracterização da obesidade: Grupos C: controle (n = 17), Ob: obeso (n = 27). Valores expressos como média \pm desvio padrão. ANOVA two-way para amostras independentes complementada com teste post hoc de Bonferroni - * p < 0,05 Ob vs. C.

5.1.2 Perfil nutricional e características gerais

Considerando o perfil nutricional, os resultados mostram que o grupo DH obteve menor ingestão alimentar (-14,5%) durante o período de exposição às dietas (15 semanas). Contudo, devido à maior densidade energética da dieta hiperlipídica, esse grupo apresentou maior consumo calórico (+ 8%). Apesar destes achados, não houve diferença estatística para a eficiência alimentar, indicando que, neste momento de exposição às dietas, a conversão de energia ingerida em massa corporal foi similar entre os grupos (Tabela 1).

A massa corporal inicial (MCI) dos grupos DP e DH não diferiu no período de exposição às dietas, o que é esperado, pois ainda não haviam sido submetidos a qualquer intervenção. Contudo, ao final da 15ª semana, os resultados mostram que a massa corporal final (MCF) (+ 8,5%) e o ganho de massa corporal (+ 11,8%) no grupo DH foram maiores em relação ao grupo DP, ressaltando que a dieta hiperlipídica foi eficiente em induzir obesidade nos roedores (Tabela 1).

Tabela 1. Perfil nutricional e características gerais durante o período de exposição às dietas.

Variáveis	Grupos	
	DP	DH
Ingestão alimentar (g/dia)	21,3 ± 2,3	18,2 ± 2,2*
Consumo calórico (kcal/dia)	81,2 ± 8,8	87,7 ± 10,4*
Eficiência alimentar (%)	4,76 ± 0,32	4,93 ± 0,34
MCI (g)	148 ± 18	147 ± 17
MCF (g)	554 ± 56	601 ± 71*
Ganho de massa corporal (g)	406 ± 52	454 ± 69*

MCI: massa corporal inicial. MCF: massa corporal final. Grupos DP: dieta padrão (n = 17); DH: dieta hiperlipídica (n = 27). Valores expressos como média ± desvio padrão. Teste t de Student para amostras independentes - * p < 0,05 DH vs. DP.

5.2 Manutenção da obesidade

5.2.1 Perfil nutricional e características gerais

Na Tabela 2 está sumarizado o perfil nutricional e características gerais dos grupos C e Ob durante o período de manutenção da obesidade (semana 16 a 19). No que tange ao perfil nutricional, a única diferença observada foi em relação à ingestão alimentar no grupo Ob, sendo observado menor valor neste grupo em relação ao C (- 16,9%). No entanto, o consumo calórico no grupo Ob foi semelhante ao do grupo C devido ao maior aporte calórico proveniente da dieta. Em adição, não houve diferença significativa entre os grupos quando observada a eficiência alimentar.

Ainda, conforme o recorte realizado no período de indução da obesidade na 16ª semana, os resultados apontam que a MCI do período de manutenção da obesidade foi superior no grupo Ob (+ 8,4%) em relação ao C, sendo o mesmo comportamento observado para a massa corporal final (+ 10%; Ob > C). O ganho de massa corporal durante o período de manutenção da obesidade permaneceu inalterado, desde que os valores para esse parâmetro foram similares entre os grupos C e Ob.

Tabela 2. Perfil nutricional e características gerais durante a fase de manutenção da obesidade.

Variáveis	Grupos	
	C	Ob
Ingestão alimentar (g/dia)	20,7 ± 2,2	17,2 ± 1,9*
Consumo calórico (kcal/dia)	78,9 ± 8,6	83,1 ± 9,3
Eficiência alimentar (%)	-0,13 ± 0,67	0,22 ± 0,84
MCI (g)	554 ± 56	601 ± 71*
MCF (g)	551 ± 53	606 ± 67*
Ganho de massa corporal (g)	-2,68 ± 14,13	4,39 ± 17,60

MCI: massa corporal inicial. MCF: massa corporal final. Grupos C: controle (n = 17); Ob: obeso (n = 27). Valores expressos como média ± desvio padrão. Teste t de Student para amostras independentes - p < 0,05 Ob vs. C.

5.2.2 Teste de tolerância à glicose

A Figura 5 ilustra os níveis de glicemia detectados durante o teste de tolerância à glicose (GTT) na fase de manutenção da obesidade. Foram observados valores superiores de glicemia nos ratos Ob em comparação aos C nos momentos basal (tempo 0) e após a administração da sobrecarga glicêmica (30, 90 e 120) (Figura 5A). Esses achados refletiram em uma área sob a curva (AUC) superior no grupo Ob (+ 26,5%), indicando alteração no metabolismo da glicose induzida pela obesidade (Figura 5B).

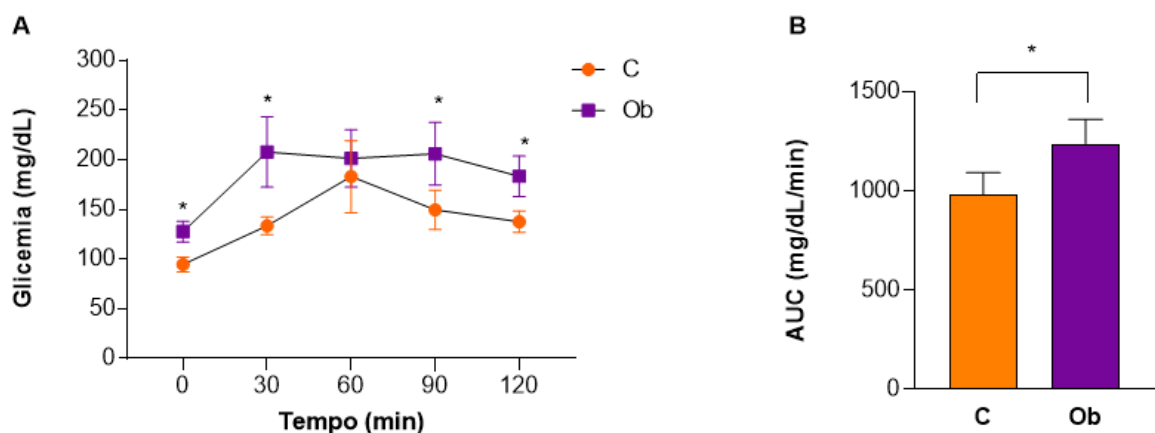


Figura 5. Glicemia analisada no período de manutenção da obesidade. AUC: área sob a curva. Grupos C: controle (n = 6); Ob: obeso (n = 18). Valores expressos como média \pm desvio padrão. (A) Teste de tolerância à glicose (GTT) - ANOVA two-way para amostras independentes complementada com teste post hoc de Bonferroni - * p <0,05 vs. C. (B) Área sob a curva (AUC) para a glicose durante o GTT - Teste t de Student para amostras independentes - * p <0,05 Ob vs. C.

5.3 Exposição ao tratamento com capsinóides

5.3.1 Perfil nutricional e características gerais

Em relação à ingestão alimentar durante o tratamento com capsinóides, os resultados indicam que o grupo C apresentou maior ingestão alimentar em comparação com o grupo Ob (+ 28,5%), e que os valores encontrados para esse parâmetro foram similares entre os grupos Ob e ObCap. Contudo, apesar do maior aporte calórico na dieta hiperlipídica nos grupos obesos, não foram observadas diferenças entre C e Ob quando analisados o consumo calórico e a eficiência alimentar, respectivamente. Ademais, para tais parâmetros o grupo ObCap não apresentou comportamento diferente do grupo Ob.

No tocante aos parâmetros relacionados à massa corporal durante o período de tratamento com capsinóides, os resultados mostram que o grupo Ob apresentou maiores valores de MCI em relação ao C (+ 9%) no início do tratamento, mas sem diferença em relação ao grupo ObCap. Entretanto, ao final do protocolo experimental (semana 27), a massa corporal final (MCF) do grupo Ob foi similar em relação aos grupos C ($p = 0,056$) e ObCap ($p = 0,098$). Esse achado é reforçado quando verificamos que não houve diferença no ganho de massa corporal entre o grupo Ob e os demais grupos no período do tratamento com capsinóides (Tabela 3).

Tabela 3. Perfil nutricional e características gerais durante o tratamento com capsinóides.

Variáveis	Grupos		
	C	Ob	ObCap
Ingestão alimentar (g/dia)	19,4 ± 2,4	15,1 ± 1,5*	15,3 ± 2,2
Consumo calórico (kcal/dia)	74,1 ± 9,1	72,8 ± 7,3	73,6 ± 10,7
Eficiência alimentar (%)	-0,04 ± 0,74	-0,29 ± 0,96	0,08 ± 0,91
MCI (g)	544 ± 50	593 ± 51*	618 ± 79
MCF (g)	543 ± 43	583 ± 51	623 ± 69
Ganho de massa corporal (g)	-0,94 ± 31,71	-9,89 ± 36,89	5,54 ± 40,67

MCI: massa corporal inicial. MCF: massa corporal final. Grupos C: controle (n = 11); Ob: obeso (n = 13); ObCap: obeso tratado com capsinóides (n = 14). Valores expressos como média ± desvio padrão. Teste t de Student para amostras independentes - * $p < 0,05$ Ob vs. C.

Considerando a análise dos depósitos de gordura corporal, os resultados indicam que o grupo Ob apresentou valores elevados para todos os parâmetros em relação ao grupo C, de modo que a obesidade induziu aumento 39,8% na gordura epididimal, 71,6% na gordura visceral, 63,5% na gordura retroperitoneal e 54,6% na gordura corporal total. Em contrapartida, o grupo ObCap apresentou valores mais elevados de gordura epididimal (+ 15,5%), retroperitoneal (+ 34,5%) e gordura corporal total (+ 23,5%) em relação ao grupo Ob, respectivamente. Quando esses valores de gordura corporal total foram normalizados pela massa corporal, o índice

de adiposidade corporal (IAC) indicou diferença estatística entre C e Ob, com aumento de 43% nesse índice no grupo Ob. Contudo, não foi encontrada diferença entre Ob e ObCap para o índice de adiposidade ($p = 0,0598$) (Tabela 4).

Tabela 4. Adiposidade após o tratamento com capsinóides.

Variáveis	Grupos		
	C	Ob	ObCap
Gordura epididimal (g)	8,30 ± 1,85	11,6 ± 1,8*	13,4 ± 2,5 [#]
Gordura visceral (g)	6,82 ± 1,66	11,7 ± 2,3*	13,2 ± 2,7
Gordura retroperitoneal (g)	12,6 ± 1,6	20,6 ± 4,8*	27,7 ± 9,7 [#]
Gordura corporal total (g)	28,4 ± 3,4	43,9 ± 7,9*	54,2 ± 14,0 [#]
IAC (%)	5,26 ± 0,74	7,52 ± 1,11*	8,67 ± 1,83

Grupos C: controle (n = 11); Ob: obeso (n = 13); ObCap: obeso tratado com capsinóides (n = 14). IAC: índice de adiposidade corporal. Valores expressos como média ± desvio padrão. Teste t de Student para amostras independentes - * $p < 0,05$ Ob vs. C, [#] $p < 0,05$ ObCap vs. Ob.

5.3.2 Perfil hormonal

A Figura 6 ilustra o perfil hormonal pós-tratamento nos grupos. Os resultados mostram que houve elevação nos níveis de leptina no grupo Ob (+ 60,5%) em comparação ao C, mas não houve diferença entre Ob e ObCap (Figura 6A). Além disso, não houve diferença nos níveis de glucagon e adiponectina entre o grupo obeso e os demais grupos (Figura 6B e 6C).

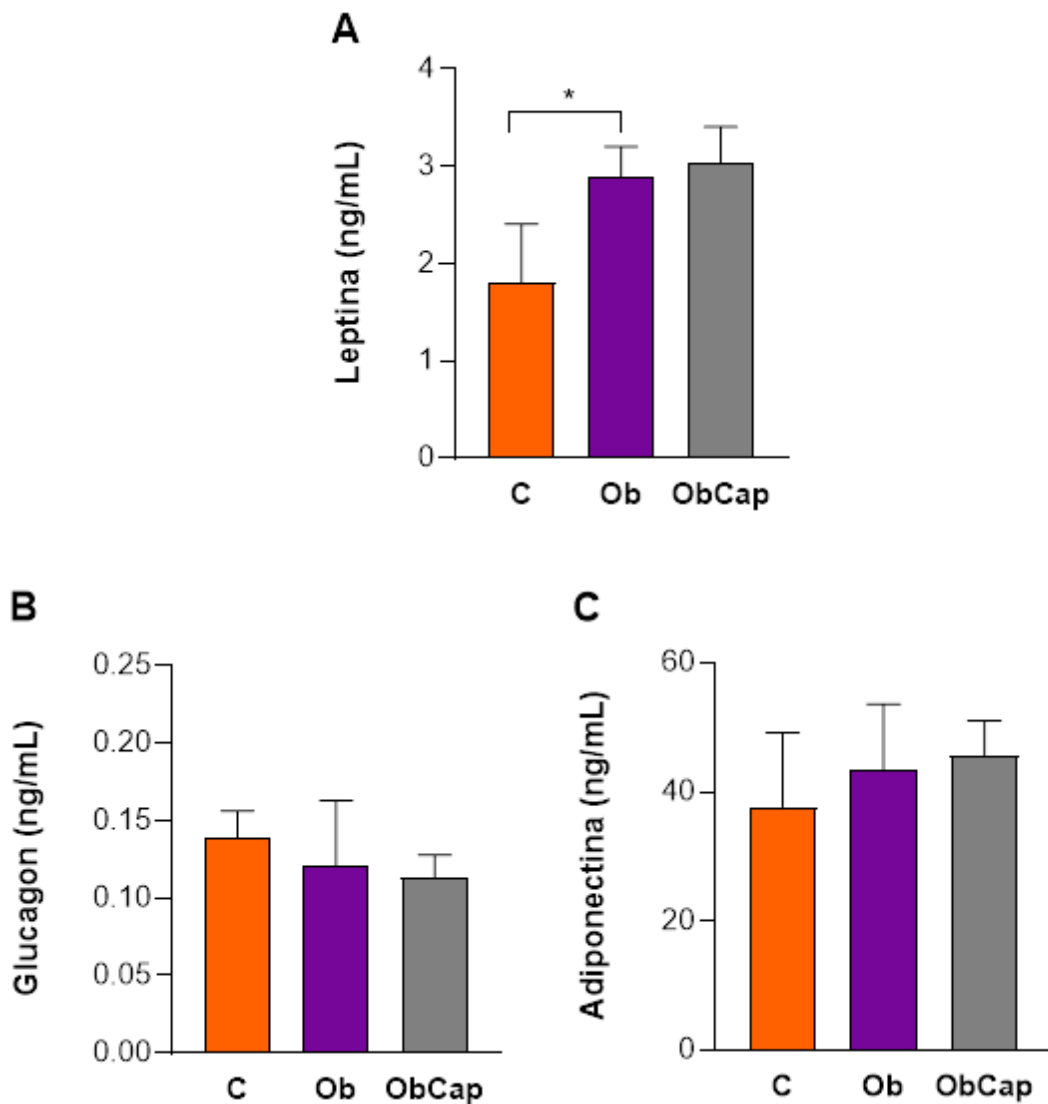


Figura 6. Perfil hormonal pós-tratamento com capsinóides. Grupos C: controle; Ob: obeso; ObCap: obeso tratado com capsinóides. Valores expressos como média \pm desvio padrão. (A) Leptina (C: n = 7; Ob: n = 7; ObCap: n = 7) - Teste t de Student para amostras independentes - * $p < 0,05$ Ob vs. C. (B) Glucagon (C: n = 7; Ob: n = 6; ObCap: n = 7) - Teste t de Student para amostras independentes. (C) Adiponectina (C: n = 7; Ob: n = 6; ObCap: n = 7) - Teste t de Student para amostras independentes.

5.3.3 Perfil lipídico

Quando verificado o perfil lipídico a fim de determinar a presença de comorbidades induzidas pela obesidade e o efeito do tratamento com capsinóides nos roedores, os resultados mostram que o grupo Ob apresentou valores aumentados de colesterol em relação aos grupos C (+ 69,3%) e ObCap (+ 23%), respectivamente. Apesar disso, os resultados indicam que não houve diferença estatística para os triglicerídeos em comparação com o grupo ObCap ($p = 0,053$). Para as demais variáveis do perfil lipídico, o grupo Ob apresentou valores similares

aos grupos C e ObCap, respectivamente. Estes resultados indicam hipercolesterolemia isolada no grupo Ob e reforçam que o tratamento com capsinóides no grupo ObCap foi capaz de reduzir este parâmetro (Tabela 5).

Tabela 5. Perfil lipídico após o tratamento

Variáveis	Grupos		
	C	Ob	ObCap
Colesterol (mg/dL)	41,8 ± 9,0	70,8 ± 6,8*	57,5 ± 18,2 [#]
Triglicerídeos (mg/dL)	25,5 ± 9,2	32,1 ± 17,1	19,5 ± 6,4
HDL (mg/dL)	15,9 ± 3,3	18,2 ± 3,3	17,5 ± 5,3
LDL (mg/dL)	14,9 ± 5,4	13,1 ± 2,7	12,9 ± 3,3

HDL: lipoproteína de alta densidade. LDL: lipoproteína de baixa densidade. Grupos C: controle (n = 9); Ob: obeso (n = 9); ObCap: obeso tratado com capsinóides (n = 9). Valores expressos como média ± desvio padrão. Teste t de Student para amostras independentes - * p <0,05 Ob vs. C; # p <0,05 ObCap vs Ob.

5.3.4 Homeostase da glicose e insulina

A Figura 7 demonstra a avaliação da homeostase da glicose e da insulina após o período de tratamento com capsinóides. No teste GTT realizado, foi observado que no momento basal, o grupo ObCap apresentou valores superiores de glicemia quando comparado ao grupo Ob. No entanto, não foram observadas diferenças entre os grupos C e Ob no mesmo momento (Figura 7A). Após a sobrecarga glicêmica, os resultados apontam que não houve alterações nos valores glicêmicos entre os grupos. Resultado reforçado quando avaliada a AUC da glicemia pós-tratamento (p > 0,05) (Figura 7B).

Considerando os níveis de insulina, os resultados mostram maiores valores no grupo Ob em comparação ao C (+ 128%), entretanto, sem diferença entre os grupos obesos (Figura 7C). O mesmo comportamento é observado em relação ao índice HOMA-IR, no qual o grupo Ob apresentou valores 144% mais altos do que o grupo C, mas sem diferir do grupo ObCap, indicando uma possível resistência à insulina nos grupos obesos (Figura 7D). Os valores de HOMA-β, mostrando maior valor para o grupo Ob (+ 111,5%) em comparação ao C, e valores semelhantes para

ObCap também reforçam essa alteração (Figura 7E). Por fim, não houve diferença entre os grupos quando avaliado o índice TyG (Figura 7F).

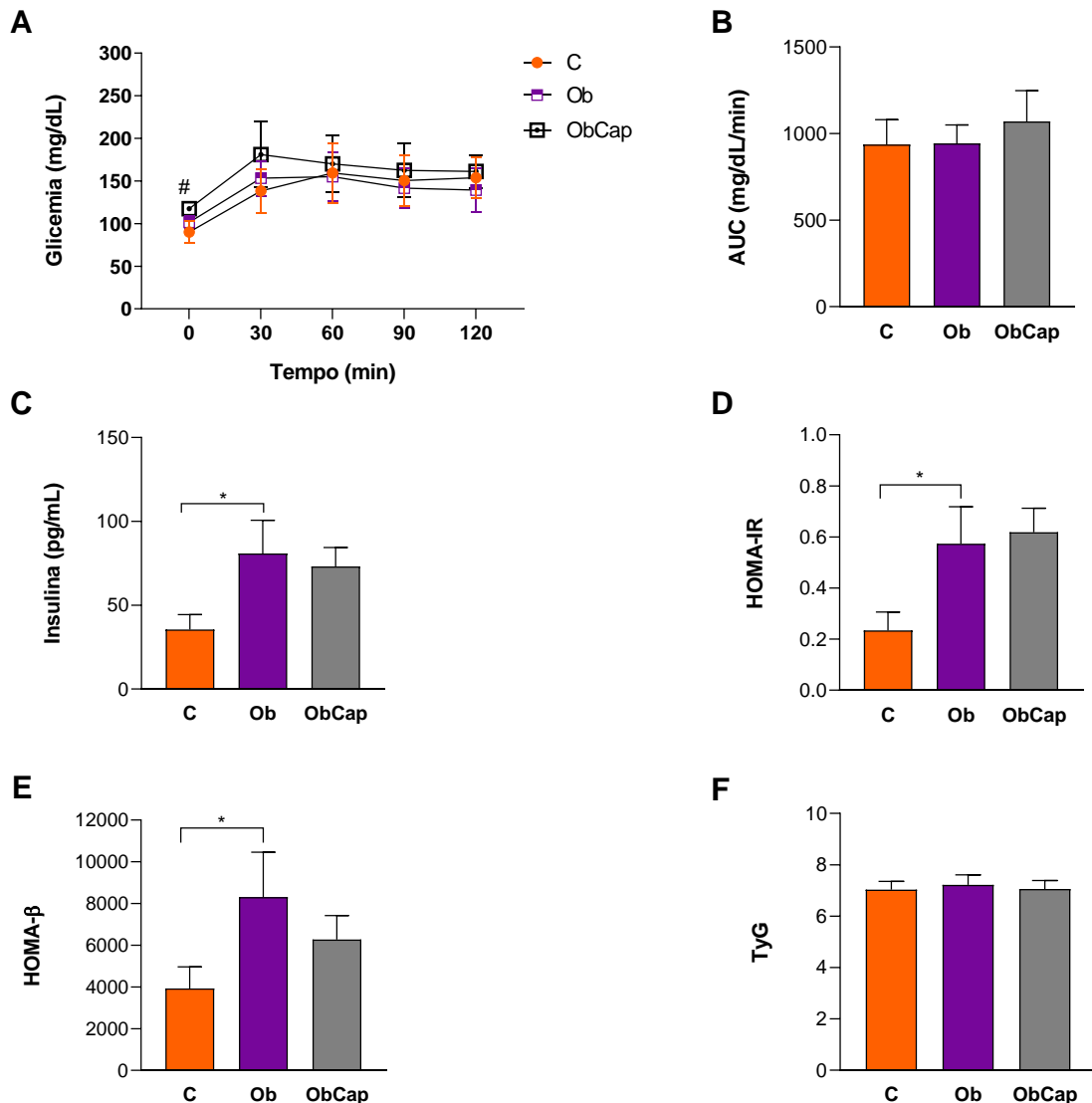


Figura 7. Avaliação da homeostase da glicose e da insulina após tratamento com capsinóides. GTT: Teste de tolerância à glicose. AUC: área sob a curva. Grupos C: controle; Ob: obeso; ObCap: obeso tratado com capsinóides. Valores expressos como média \pm desvio padrão. (A) Teste de tolerância à glicose (GTT) - ANOVA two-way complementada com teste post hoc de Tukey (C: n = 6, Ob: n = 8, ObCap: n = 10) - # p < 0,05 ObCap vs. Ob. (B) Área sob a curva (AUC) da glicose durante o GTT - Teste t de Student para amostras independentes (C: n = 6, Ob: n = 8, ObCap: n = 10). (C) Insulina - Teste t de Student para amostras independentes (C: n = 5, Ob: n = 7, ObCap: n = 5) - * p < 0,05 Ob vs. C. (D) HOMA-IR - Teste t de Student para amostras independentes (C: n = 5, Ob: n = 7, ObCap: n = 5) - * p < 0,05 Ob vs. C. (E) HOMA- β - Teste t de Student para amostras independentes (C: n = 5, Ob: n = 7, ObCap: n = 5) - * p < 0,05 Ob vs. C. (F) Índice TyG - Teste t de Student para amostras independentes (C: n = 7, Ob: n = 7, ObCap: n = 7).

5.3.5 Remodelamento cardíaco

Os resultados mostram que o grupo Ob apresentou elevação da massa do coração em relação ao C (+ 17,8%) (Figura 8A). Entretanto, após normalização pelo

comprimento da tíbia, esta diferença (C vs Ob; $p = 0,08$) não foi mantida (Figura 8C). Para tais parâmetros, não houve diferença entre os grupos Ob e ObCap (Figura 8A e 8C). Considerando os valores de ventrículo esquerdo (VE), o grupo Ob apresentou maior massa de VE (+ 37,2%) em comparação ao grupo C, sem diferença estatística com o ObCap (Figura 8B). Em contrapartida, após a correção da massa do VE pelo comprimento da tíbia, os resultados mostram que o Ob não apresentou diferença para esse parâmetro em relação ao C ($p = 0,056$) (Figura 8D). Destaca-se ainda que não houve diferença significativa entre os grupos em relação ao comprimento da tíbia (*dados não mostrados*).

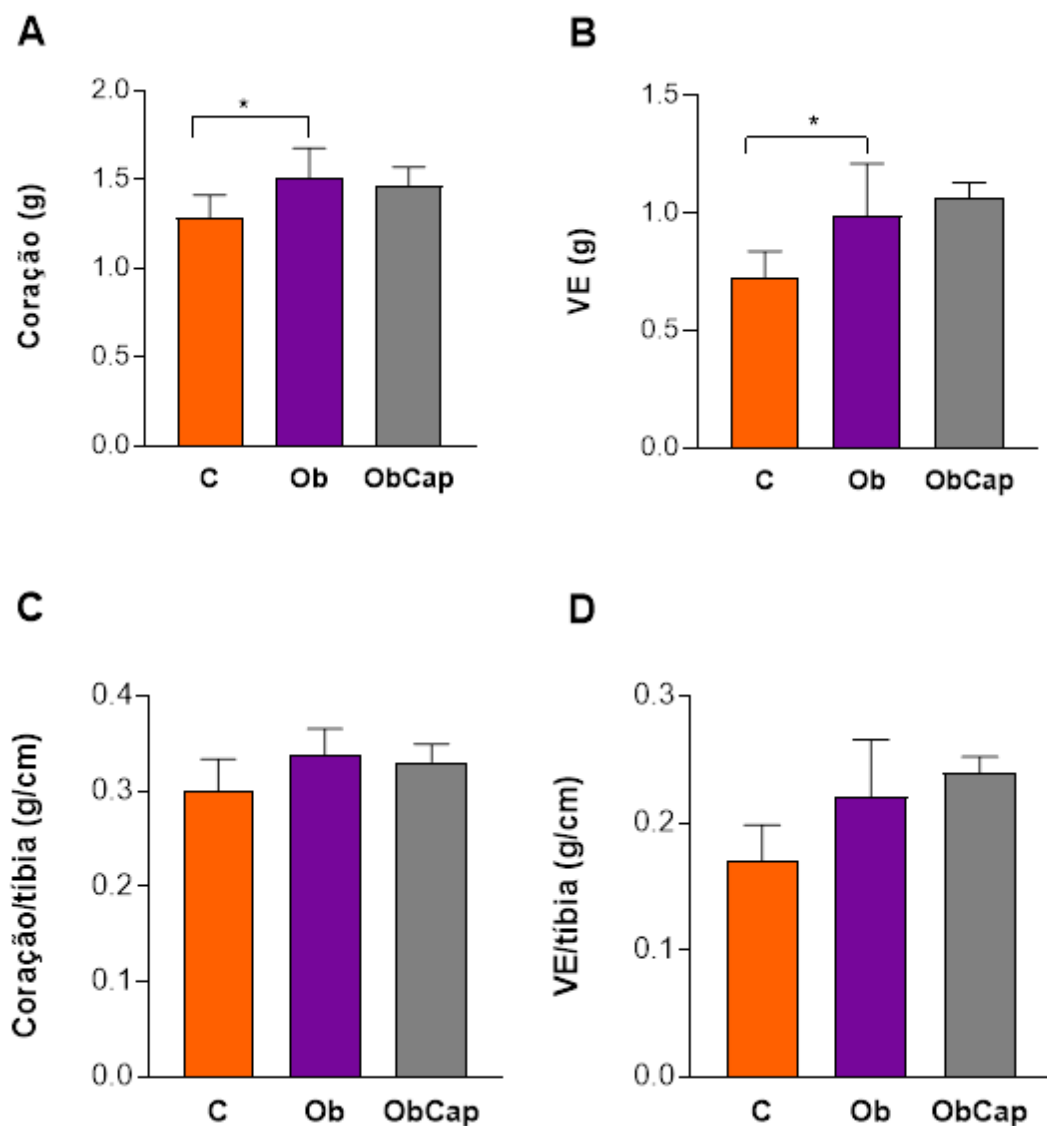


Figura 8. Efeito do tratamento com capsinóides sobre a morfologia cardíaca. VE = ventrículo esquerdo. Grupos C: controle (n = 5); Ob: obeso (n = 6); ObCap: obeso tratado com capsinóides (n = 7). Valores expressos como média \pm desvio padrão. Teste t de Student para amostras independentes - * $p < 0,05$ Ob vs. C.

5.3.6 Dano cardíaco

A dosagem de troponina I sérica foi utilizada para mensurar dano cardíaco. Os dados demonstram que, quando comparados os grupos Ob e C, não houve diferença significativa nos valores deste marcador. Entretanto, o grupo ObCap apresentou valores inferiores (- 33%) aos apresentados pelo grupo Ob, indicando que o tratamento foi eficaz na redução deste marcador de dano cardíaco (Figura 9).

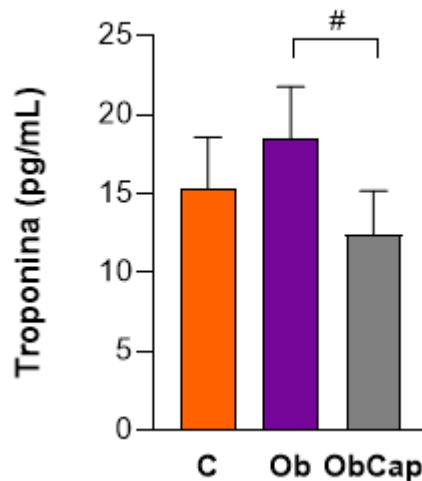


Figura 9. Efeito do tratamento com capsinóides sobre a troponina I sérica. Grupos C: controle (n = 5); Ob: obeso (n = 6); ObCap: obeso tratado com capsinóides (n = 7). Valores expressos como média \pm desvio padrão. Teste t de Student para amostras independentes - # p < 0,05 ObCap vs. Ob.

5.3.7 Biomarcadores do estresse oxidativo no coração

Os resultados mostram que para o marcador de peroxidação lipídica (malondialdeído - MDA) não houve diferença entre os grupos Ob e C, entretanto, os níveis de MDA no coração dos ratos ObCap foram elevados em relação ao grupo Ob (+ 76,9%) (Figura 10A). Os níveis de proteínas carboniladas (CBO) e produtos de oxidação avançada de proteínas (AOPP) estavam aumentados no grupo Ob em relação ao grupo C (+ 265% e + 76,8%, respectivamente), no entanto, sem diferença quando comparado ao ObCap (Figuras 10B e 10C). Em adição, foi observada diferença estatística na capacidade antioxidante (FRAP) entre C e Ob, contudo, não houve diferença entre os grupos Ob (Figura 10D). Desta forma, verifica-se que o tratamento com capsinóides não foi eficiente em reverter modificações e danos oxidativos acarretados pela obesidade.

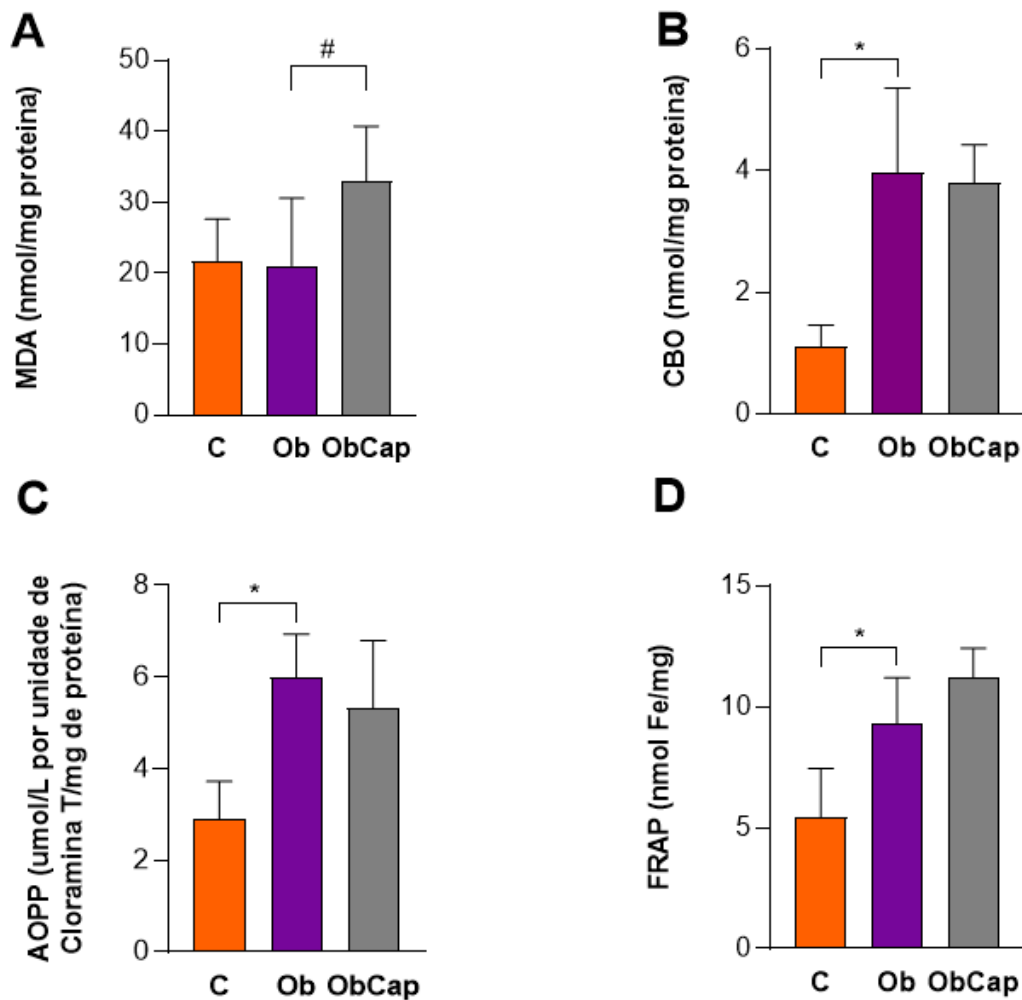


Figura 10. Efeito do tratamento com capsinóides sobre biomarcadores do estresse oxidativo cardíaco. MDA: malondialdeído. CBO: proteínas carboniladas. AOPP: produtos de oxidação proteica avançada. FRAP: capacidade antioxidante de redução do ferro. Grupos C: controle (n = 5); Ob: obeso (n = 6); ObCap: obeso tratado com capsinóides (n = 7). Valores expressos como média \pm desvio padrão. Teste t de Student para amostras independentes - * p < 0,05 Ob vs. C. # p < 0,05 ObCap vs. Ob.

Apesar dos resultados supracitados, foi verificada atividade aumentada da superóxido dismutase (SOD) (+ 62,5%) e da catalase (CAT) (+ 636,4%) no grupo ObCap em relação ao Ob, respectivamente (Figura 11A e 11B), não sendo observadas diferenças entre os grupos C e Ob. Deste modo, apesar do grupo ObCap ter apresentado valores aumentados dos biomarcadores de estresse oxidativo (MDA, CBO, AOPP e FRAP), observa-se que a atividade antioxidante enzimática também foi estimulada. O mesmo comportamento não foi observado no grupo Ob.

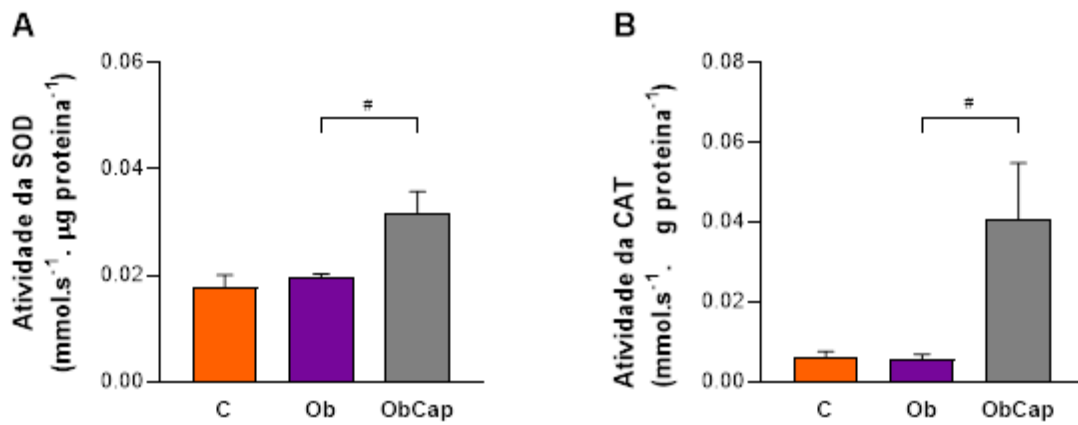


Figura 11. Efeito do tratamento com capsinóides sobre enzimas antioxidantes no tecido cardíaco. SOD: superóxido dismutase. CAT: catalase. Grupos C: controle (n = 5); Ob: obeso (n = 6); ObCap: obeso tratado com capsinóides (n = 7). Valores expressos como média \pm desvio padrão. Teste t de Student para amostras independentes - * p<0,05 Ob vs. C, # p <0,05 ObCap vs. Ob.

6. DISCUSSÃO

O objetivo principal do estudo foi verificar os efeitos do tratamento com capsinóides sobre os biomarcadores do estresse oxidativo no coração de ratos com obesidade. Isto posto, foi verificado que o modelo de obesidade proposto induziu aumento da adiposidade corporal, de leptina, colesterol sérico e valores de insulina e índices relacionados. No coração, apesar de não ter desencadeado remodelação cardíaca, a obesidade promoveu aumento do estresse oxidativo, visualizado pelo aumento das proteínas carboniladas e produtos de oxidação avançada de proteínas. Diante disso, os principais achados mostraram que o tratamento crônico com capsinóides na obesidade não foi capaz de reduzir a massa corporal, tampouco evitou o acúmulo excessivo de gordura corporal e reverteu as alterações metabólicas. Especificamente no coração, o tratamento com capsinóides diminuiu os níveis séricos de troponina I. Em adição, o tratamento com capsinóides promoveu maior peroxidação lipídica no coração dos animais. Neste mesmo grupo, também houve atividade aumentada das enzimas antioxidantes no coração após o período de tratamento.

Modelos experimentais de obesidade têm sido extensivamente utilizados em pesquisas nos últimos anos a fim de estudar a resposta a várias formas da doença (DOULBERIS *et al.*, 2020; GASPARINI *et al.*, 2021; KOBİ *et al.*, 2023; MATIAS *et al.*, 2020). Cabe ressaltar que animais monogênicos com mutação nos genes relacionados à via da leptina geralmente são utilizados para este fim (DOULBERIS *et al.*, 2020). Contudo, considerando que a obesidade observada em humanos é relacionada com mudanças de hábitos de vida, a maioria dos estudos empregados desenvolvem a obesidade por meio da utilização de dietas de cafeteria ou por uso de dietas hiperlipídicas (DOULBERIS *et al.*, 2020; GASPARINI *et al.*, 2021; KOBİ *et al.*, 2023; MATIAS *et al.*, 2020; MOURA e DIAS *et al.*, 2021).

Um aspecto importante que em modelos de obesidade induzido por dieta, assim como ocorre em humanos, a progressão para a obesidade tende a constituir um processo lento (DOULBERIS *et al.*, 2020). Desta forma, a gordura é acumulada vagarosamente, principalmente como consequência do desbalanço energético (DOULBERIS *et al.*, 2020; GASPARINI *et al.*, 2021; KOBİ *et al.*, 2023; MATIAS *et al.*, 2020). Entretanto, diferentemente de como ocorre com os humanos, a partir de critérios específicos como índice de massa corporal (IMC), em modelos animais não há um padrão ou indicador específico para definição da obesidade. Assim,

geralmente a caracterização da obesidade em roedores é baseada no ganho de massa corporal, índice de Lee ou aumento do teor de gordura corporal (HARIRI & THIBAUT, 2010). Neste sentido, na maioria das vezes, esta caracterização é aceita quando há diferença significativa em algum desses parâmetros entre o grupo tratado com dieta hipercalórica e o grupo controle (HARIRI & THIBAUT, 2010), respectivamente. Contudo, os parâmetros mais comumente utilizados para a caracterização da obesidade é a gordura corporal e o índice de adiposidade corporal (GASPARINI *et al.*, 2021; JIN *et al.*, 2013; KOBİ *et al.*, 2023; MATIAS *et al.*, 2020).

Diante deste contexto, tem sido demonstrado que, em modelos submetidos à dieta hiperlipídica, a elevação da massa corporal pode ser obtida a partir de 16-20 semanas após o início da utilização da dieta hipercalórica, podendo alcançar 20-30% a mais de massa corporal do que os animais alimentados com uma dieta balanceada (DOULBERIS *et al.*, 2020). No presente estudo, os resultados demonstram que a obesidade foi caracterizada a partir da 16ª semana do protocolo, sendo observado aumento de 11,8% da massa corporal no grupo DH em comparação ao grupo DP.

Levando em consideração o ganho de massa corporal, estudos anteriores realizados por nosso grupo de pesquisa com ratos submetidos à diferentes dietas experimentais apresentaram resultados interessantes (GASPARINI *et al.*, 2021; KOBİ *et al.*, 2023; MATIAS *et al.*, 2020). GASPARINI *et al.* (2021), mesmo após 20 semanas de exposição à dieta, não verificaram diferença na massa corporal entre os grupos com dieta padrão e com dieta hiperlipídica. Em outras pesquisas, após o mesmo período, foi observado aumento significativo da massa corporal do grupo com DH em relação ao C, indicando o desenvolvimento da obesidade (KOBİ *et al.*, 2023; MATIAS *et al.*, 2020). Contudo, em divergência com os nossos achados, outros estudos caracterizaram a obesidade em menor tempo de exposição às dietas hiperlipídicas (FERIANI *et al.*, 2021; MICHICOTI-MENESES *et al.*, 2021). Michicoti-Meneses e colaboradores (2021) ao exporem ratos *Wistar* à dieta hiperlipídica durante 8 semanas, observaram maior ganho de massa corporal no grupo DH em comparação ao grupo controle. Pelo mesmo período de tempo, Feriani e col. (2021) também submeteram ratos *Wistar* à obesidade, evidenciado pelo ganho significativo de massa corporal em relação ao controle, utilizando dieta hiperlipídica com 10% de manteiga e 1% de colesterol.

Nesse sentido a divergência encontrada nos estudos pode ser explicada por fatores que podem influenciar o ganho de massa corporal e conseqüentemente, a efetividade da indução da obesidade, entre eles a composição das rações e a distribuição de macronutrientes nas mesmas. Diante desse cenário, a literatura indica que dietas experimentais que fornecem 30-60% das calorias totais provenientes das gorduras favorecem o desenvolvimento da obesidade (HARIRI & THIBAUT, 2010; MOURA e DIAS *et al.*, 2021). Em adição, este tipo de dieta pode aumentar a adiposidade corporal, a leptina sérica, bem como provocar o surgimento de morbidades e alterações metabólicas como a hipertensão e intolerância à glicose, respectivamente (MOURA e DIAS *et al.*, 2021).

Além disso, a quantidade e a qualidade dos ácidos graxos são de suma importância para o estabelecimento do modelo de obesidade, de modo que os ácidos graxos saturados e/ou de cadeia longa tendem a provocar maior ressíntese de triglicerídeos e maior inflamação, desencadeando maior acúmulo de gordura corporal quando comparado aos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) e monoinsaturados (MUFA) (HARIRI & THIBAUT, 2010; MOURA E DIAS *et al.*, 2021). Essa situação ocorre porque os ácidos graxos saturados e/ou de cadeia longa normalmente não são empregados como fonte de energia no organismo, sendo mais propensos a serem armazenados no tecido adiposo; os PUFAs e MUFAs são rapidamente utilizados para produção energética e, conseqüentemente, menos aproveitados para armazenamento de energia (HARIRI & THIBAUT, 2010).

No presente estudo, a dieta hiperlipídica (DH) continha 45,33% do valor energético total em lipídios, majoritariamente constituído de ácido graxo saturado na forma de banha de porco, em comparação com 9,45% de lipídios presentes na dieta padrão (DP) na forma de óleo vegetal. Em prévios estudos do nosso grupo envolvendo modelos de obesidade induzidos por dietas experimentais, foram utilizadas dietas DH que continham 37,6% de lipídios (GASPARINI *et al.*, 2021; KOBİ *et al.*, 2023; MATIAS *et al.*, 2020). Apesar da menor quantidade de ácidos graxos comparada ao presente estudo, em todos os estudos foram alcançados parâmetros propícios para a caracterização da obesidade nos animais (GASPARINI *et al.*, 2021; KOBİ *et al.*, 2023; MATIAS *et al.*, 2020). Michicoti-Meneses (2021) e Micucci (2020) alcançaram um fenótipo de obesidade em ratos utilizando dietas com 42% e 34% de lipídeos nas dietas hiperlipídicas em comparação com 4,5% e 5,6% de lipídeos nas dietas padrão, respectivamente.

Além disso, sabe-se que dietas hiperlipídicas, ao induzirem a elevação dos níveis de substratos metabólicos plasmáticos, podem gerar maior saciedade, e conseqüentemente, promover hipofagia em comparação aos que recebem outros tipos de dietas (MOURA E DIAS *et al.*, 2021). Entretanto, mesmo com a menor ingestão alimentar, por conta da densidade energética, a quantidade consumida pelos animais com dieta rica em gordura tende a ser capaz de aumentar eficientemente a massa e a gordura corporal devido ao elevado consumo calórico (MOURA E DIAS *et al.*, 2021). Ademais, independente da ingestão calórica, a alteração na composição nutricional pode influenciar a eficiência da utilização dos nutrientes e levar a um aumento no armazenamento de gordura por caloria consumida (MATIAS *et al.*, 2018).

Associado a isso, no presente estudo, durante o período de indução da obesidade foi verificada menor ingestão alimentar no grupo com dieta hiperlipídica. Apesar desse achado, tal grupo obteve maior consumo calórico que o grupo que recebeu dieta padrão, mesmo sem refletir em aumento da eficiência alimentar. Porém, durante a manutenção da obesidade, após elevação da massa corporal, foi observado que apesar da menor ingestão alimentar induzida pela obesidade, não houve diferença no consumo calórico e na eficiência alimentar. Estes resultados diferem dos encontrados em estudos anteriores do nosso grupo, os quais demonstraram que mesmo quando não houve diferenças no consumo alimentar e na ingestão calórica, a eficiência alimentar foi maior no grupo DH em comparação com DP (GASPARINI *et al.*, 2021; KOBI *et al.*, 2023).

Ademais, no presente estudo foi verificado que durante o período de exposição ao tratamento com capsinóides, a obesidade não acarretou aumento no ganho de massa corporal e MCF. Contudo, houve elevação da adiposidade visualizado pelo aumento nos depósitos de gordura epididimal, visceral, retroperitoneal, gordura corporal total e índice de adiposidade em comparação com os animais que receberam a dieta padrão. No estudo de Nagy e col. (2018), ratos Long-Evans também foram submetidos à obesidade por meio de dieta hiperlipídica ofertada por 24 semanas. Diferentemente do presente estudo, os autores observaram massa corporal ligeiramente superior no grupo com dieta hiperlipídica em comparação ao grupo controle, bem como aumento de 14% da massa corporal ao final do protocolo experimental (NAGY *et al.*, 2018). Em concordância, foi

verificado aumento de gordura visceral, epididimal e subcutânea no grupo induzido à obesidade em relação ao controle (NAGY *et al.*, 2018).

De encontro a isso, os capsinóides têm emergido como compostos com potencial ação para o controle e redução da obesidade, uma vez que são capazes de provocar aumento da expressão de proteínas relacionadas ao metabolismo lipídico, consumo de oxigênio, redução da massa corporal e dos depósitos de gordura corporal (HONG, XIA, XIANGYING, QUAN, 2015; OHNUKI *et al.*, 2001; SNITKER *et al.*, 2009). Neste estudo, entretanto, o tratamento não foi eficiente na redução da adiposidade e dos depósitos de gordura, tampouco provocou redução no índice de adiposidade, indicando ausência de efeito dos capsinóides para reduzir o fenótipo da obesidade. Contudo, um achado importante foi que o tratamento com capsinóides acarretou elevação da gordura corporal total, sugerindo que esse efeito pode estar relacionado com o aumento da leptina circulante no grupo tratado, embora sem diferença estatística (VILARIÑO-GARCÍA *et al.*, 2024).

Considerando ainda que o modelo utilizado foi eficaz para induzir aumento da adiposidade nos animais, torna-se relevante entender os distúrbios bioquímicos e fisiológicos relacionados à doença. Neste contexto, quando há balanço energético positivo e consumo excessivo de ácidos graxos saturados ou carboidratos simples por meio da dieta, pode ocorrer excesso de ácidos graxos e acúmulo de glicerol no fígado e aumento de colesterol livre, desencadeando no aumento da necessidade de síntese e armazenamento de triglicerídeos e colesterol no organismo (BAYS *et al.*, 2024). Tal estímulo provoca o aumento da produção e liberação de lipoproteínas e moléculas aptas a carregarem estes lipídeos para armazenamento no tecido adiposo e tecidos periféricos, de modo a aumentar a presença dos mesmos na circulação (BAYS *et al.*, 2024).

No presente estudo, a obesidade acarretou apenas hipercolesterolemia isolada sem alterações nos triglicérides, HDL e LDL. Em consonância com o esperado, o tratamento com capsinóides foi eficiente para reversão da hipercolesterolemia isolada. Neste contexto, em um estudo anterior, realizado com capsinóides (capsiato e dihidrocapsiato) enzimaticamente sintetizados, também foi observado efeito do tratamento na redução do colesterol sérico, bem como nos lipídios séricos (TANI *et al.*, 2004). Cansian (2016) também observou os efeitos de *Capsicum annum* L (capsici extrato seco 40%) sobre o perfil lipídico de ratos com obesidade tratados durante 6 semanas, entretanto não foram verificadas alterações

nos níveis séricos de colesterol total, HDL e triglicerídeos. Estes resultados indicam que para o estabelecimento de alterações no perfil lipídico de ratos submetidos a dietas hiperlipídicas pode ser necessário um tempo prolongado de exposição e manutenção da obesidade, de modo a contribuir para o surgimento e estabelecimento das comorbidades associadas. Ainda, no tocante aos efeitos dos capsinóides sobre o controle da hipercolesterolemia, sugere-se que tal tratamento pode apresentar efeitos semelhantes aos análogos capsaisinóides, os quais são capazes de induzir no fígado, a redução do mRNA da HMG-CoA redutase (*enzima importante na produção do colesterol*) e aumentar o mRNA da CYP7A1 (*uma colesterol 7alfa-hidroxilase que atua na biossíntese de ácidos biliares a partir do colesterol*), diminuindo a síntese de colesterol e aumentando a sua conversão à ácidos biliares, respectivamente (ZHANG *et al.*, 2013). Entretanto, estudos específicos sobre os efeitos dos capsinóides sobre o metabolismo lipídico são necessários para confirmar este pressuposto.

Além disso, como dito anteriormente, na obesidade ocorre aumento da captação de lipídios pela célula adiposa e aumento do estímulo para a oxidação deste substrato (PEREIRA-LANCHA, CAMPOS-FERRAZ, LANCHÁ JUNIOR, 2012). Entretanto, a oxidação de gordura acaba sendo menor do que a quantidade de lipídeos que entra na célula, resultando em aumento dos adipócitos (PEREIRA-LANCHA, CAMPOS-FERRAZ, LANCHÁ JUNIOR, 2012). Contudo, este efeito induz a hipóxia do tecido adiposo e desencadeia alterações na membrana das células e, conseqüentemente, provoca alteração na produção, liberação e atividade de hormônios secretados pelo tecido adiposo (MOURA E DIAS *et al.*, 2021; PEREIRA-LANCHA, CAMPOS-FERRAZ, LANCHÁ JUNIOR, 2012).

Especificamente, a leptina é uma adipocina normalmente secretada pelo tecido adiposo, muito importante para a inibição do apetite e para o aumento do gasto energético (KAWAI, AUTIERI, SCALIA, 2021). Ela possui ação no hipotálamo, entretanto, acredita-se que a disfunção do TAB ocorrida na obesidade (hipertrofia, hipóxia e mediadores inflamatórios) estimula a liberação excessiva deste hormônio, induz baixos níveis de sinalização do seu receptor e favorece o comprometimento dos mesmos, apontando para o desenvolvimento da resistência à leptina (KAWAI, AUTIERI, SCALIA, 2021; KOENEN, HILL, COHEN, SOWERS, 2021; PEREIRA-LANCHA, CAMPOS-FERRAZ, LANCHÁ JUNIOR, 2012; ZHENG *et al.*, 2017). Outra importante adipocina é a adiponectina, hormônio anti-inflamatório relevante para a

proteção vascular e para a captação adequada de glicose (KAWAI, AUTIERI, SCALIA, 2021; PEREIRA-LANCHA, CAMPOS-FERRAZ, LANCHA JUNIOR, 2012). De forma contrária com o que acontece com a leptina, a indução da obesidade tende a diminuir a secreção deste hormônio, desencadeando em menor sensibilidade à insulina, aumento da inflamação e dos níveis de triglicédeos no sangue (BAYS *et al.*, 2024; HAN *et al.*, 2024; KAWAI, AUTIERI, SCALIA, 2021).

Neste contexto, a literatura indica que o análogo capsaicina pode exibir efeito benéfico diante da obesidade, inibindo a expressão de leptina e induzindo a regulação positiva da adiponectina, suprimindo a adipogênese (ZHENG *et al.*, 2017). Deste modo, era esperado que os capsinóides pudessem atuar de forma semelhante sobre estas adipocinas. No presente estudo, entretanto, apesar do aumento da secreção de leptina, a obesidade não desencadeou resistência hormonal, uma vez que a ingestão alimentar foi reduzida nos animais com obesidade. Em adição, a dieta hiperlipídica ofertada e/ou o tempo de exposição às dietas não foi eficiente em provocar alterações nos níveis séricos de adiponectina. Além disso, quando verificada a efetividade do tratamento com capsinóides, não foi observado melhora nestes parâmetros hormonais, ou seja, redução da leptina e aumento da adiponectina, respectivamente. Uma possível justificativa para a ausência dos efeitos dos capsinóides nestes hormônios é que o tratamento não induziu redução da massa adiposa corporal, de modo que o aumento do tecido poderia continuar estimulando a secreção distorcida de leptina e adiponectina (VILARIÑO-GARCÍA *et al.*, 2024), respectivamente. Além disso, os níveis aumentados de insulina no grupo tratado com capsinóides podem ter exercido efeito sobre a maior expressão e liberação de leptina (VILARIÑO-GARCÍA *et al.*, 2024).

Atrelado às alterações metabólicas ocorridas na obesidade anteriormente citadas, a inflamação no tecido adiposo - principalmente visceral -, está associada à diminuição da expressão de marcadores lipogênicos, provavelmente pela alteração dos adipócitos para um fenótipo mais inflamatório e menos para armazenamento lipídico (KAWAI, AUTIERI, SCALIA, 2021). Assim, a hipertrofia nos adipócitos pode chegar a um nível máximo de capacidade de armazenamento (KOENEN, HILL, COHEN, SOWERS, 2021), sendo tais efeitos, passíveis de induzir o acúmulo ectópico de lipídeos e de ácidos graxos livres e desencadear complicações metabólicas (KAWAI, AUTIERI, SCALIA, 2021). Neste contexto, as alterações metabólicas prejudicam a sinalização da insulina, seja por induzirem estresse das

células β -pancreáticas ou por alterarem a capacidade de ligação do receptor de insulina e dos transportadores de glicose, favorecendo os estados de resistência à insulina e hiperglicemia (MOURA E DIAS *et al.*, 2021; KAWAI, AUTIERI, SCALIA, 2021; PEREIRA-LANCHA, CAMPOS-FERRAZ, LANCHA JUNIOR, 2012). Esses efeitos demonstram que as alterações induzidas pela obesidade provocam um ciclo de retroalimentação que acarreta mais modificações fisiológicas e agravam a saúde da pessoa com obesidade.

Diante do exposto acima, Cansian (2016) observou após 6 semanas de tratamento com *Capsicum annum L.* (capsici extrato seco 40%), redução na glicemia e insulina e índices relacionados em animais com obesidade. Assim, era esperado que o tratamento com capsinóides também proporcionasse efeitos similares. Entretanto, após o período de tratamento não houve alterações nos valores glicêmicos entre os grupos, indicando que os animais com obesidade não desenvolveram hiperglicemia. Apesar disso, foram verificados valores que indicam que foi alcançado um fenótipo resistente à insulina decorrente da obesidade, quando observada a insulina sérica e os índices de homeostase da mesma (HOMA-IR, HOMA- β). Estes resultados sugerem que a resistência à insulina estava presente nos seus estágios iniciais da obesidade (BAYS *et al.*, 2024). Esse efeito tem sido observado em decorrência da normoglicemia como consequência do aumento da insulina basal nos estágios iniciais da resistência à insulina (BAYS *et al.*, 2024). Contudo, ao longo do tempo, a tendência é que a secreção de insulina seja insuficiente para superar a resistência à insulina, resultando na hiperglicemia (BAYS *et al.*, 2024). Porém, nossos resultados demonstraram que o tratamento realizado com capsinóides não reverteu as alterações insulinêmicas e a resistência à insulina induzidas pela obesidade. Tal achado pode ser devido à ativação de TRPV1 no pâncreas, que pode desencadear a liberação de peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e estimular a secreção de insulina (GRAM, HOLST, SZALLASI, 2017; KWON *et al.*, 2013). Ainda, os agonistas de TRPV1 podem aumentar o Ca^{2+} nas células β , aumentar a massa do tecido e provocar maior secreção de insulina (KWON *et al.*, 2013). Entretanto, para entendermos melhor os mecanismos que levaram a este efeito, estudos futuros envolvendo a ação dos capsinóides no pâncreas são necessários.

Cabe ressaltar ainda que a obesidade pode desencadear alterações diretas ou indiretas no sistema cardiovascular (CAVALERA, WANG, FRANGOGIANNIS,

2014; POWELL-WILEY *et al.*, 2021). Neste contexto, quando há aumento da adiposidade corporal há também maior demanda de volume de oxigenação, que requer que ocorram alterações hemodinâmicas no sistema cardiovascular, como aumento do volume sanguíneo e do débito cardíaco e redução da resistência vascular (POWELL-WILEY *et al.*, 2021). Como consequência, há aumento da sobrecarga de volume e pressão, as quais desencadeiam hipertrofia excêntrica e concêntrica do VE, degradação da matriz tecidual e fibrose cardíaca, levando à disfunção e insuficiência cardíaca (CAVALERA, WANG, FRANGOIANNIS, 2014; POWELL-WILEY *et al.*, 2021). Destaca-se também que a obesidade visceral apresenta papel importante nas alterações cardíacas, como por exemplo, pode induzir a hipertrofia dos cardiomiócitos, levar à fibrose miocárdica e ativar vias inflamatórias no tecido (POWELL-WILEY *et al.*, 2021). Ademais, o acúmulo ectópico de lipídios além de aumentar a demanda circulatória, também induz a liberação de fatores pró-aterogênicos, e pode provocar o estresse da parede cardíaca e levar à lesão miocárdica, desencadeando a hipertrofia concêntrica e remodelação do VE, e em última instância levando à insuficiência cardíaca (ILKUN & BOUDINA, 2013; POWELL-WILEY *et al.*, 2021).

Não somente estas alterações, mas os efeitos e modificações metabólicas ocorridas na obesidade, também são de suma importância para o desenvolvimento de alterações cardíacas (CAVALERA, WANG, FRANGOIANNIS, 2014). Neste sentido, distúrbios no padrão de secreção das adipocinas leptina e adiponectina estão relacionados com alterações da estrutura, tamanho e função cardíaca, aumentando o risco de hipertrofia e fibrose (ILKUN & BOUDINA, 2013). Distúrbios glicêmicos e insulínicos também podem produzir anormalidades nos cardiomiócitos, assim como provocar disfunção mitocondrial e ativar vias fibrogênicas no tecido (ILKUN & BOUDINA, 2013). Desta forma, a obesidade é uma doença capaz de acelerar e acentuar agravos como a fibrose e hipertrofia do miocárdio, provocando aumento da rigidez miocárdica, alterações hemodinâmicas e desencadeando muitas vezes a disfunção diastólica e insuficiência cardíaca (CAVALERA, WANG, FRANGOIANNIS, 2014).

Considerando tais informações, neste estudo esperava-se que indicadores de hipertrofia no coração dos animais induzidos à obesidade estivessem aumentados. Entretanto, apesar do coração e o VE dos animais com obesidade terem apresentado elevação da sua massa cardíaca, quando foram normalizados pelo

comprimento da tíbia, a hipertrofia cardíaca não foi visualizada. Diante destes achados, salienta-se ainda que o tratamento com capsinóides não preveniu a elevação da massa do coração e do ventrículo esquerdo induzidas pela obesidade, observadas isoladamente e sem normalização. Estes efeitos podem ser decorrentes da ineficiência da dieta e/ou do tempo em que os animais foram submetidos à mesma para induzir comorbidades cardíacas associadas à obesidade. De forma semelhante, Gasparini e col. (2021) também não observaram alterações na massa do coração e ventrículo em ratos com obesidade submetidos a dietas hiperlipídicas durante 20 semanas. Neste contexto, Cavallera, Wang e Frangogiannis (2014) indicam que em modelos de obesidade a partir de dietas hiperlipídicas, o estabelecimento da fibrose cardíaca pode ser tardio, levando meses para ser desenvolvido no animal. E que, modelos genéticos de obesidade podem ser mais eficazes para induzir fibrose e hipertrofia cardíaca (CAVALERA, WANG, FRANGOIANNIS, 2014). Além disso, a gravidade destas alterações pode depender de variáveis do modelo de obesidade, como por exemplo espécie, idade dos animais, mecanismo da obesidade e presença de outras condições fisiopatológicas (CAVALERA, WANG, FRANGOIANNIS, 2014).

Considerando ainda os efeitos dos capsinóides no processo de remodelação cardíaca, Wang e col. (2014) demonstraram anteriormente que o TRPV1 pode mediar a resposta hipertrófica desencadeada pela sobrecarga de pressão no coração, e que a ação anti-hipertrófica do análogo capsaicina depende justamente da presença de canais TRPV1. Este efeito parece ser mediado pela indução da expressão de PPAR- δ e inibição de NF- κ B por parte do TRPV1 (GAO et al., 2014). Neste cenário, apesar do primeiro ser mais potente, sabe-se que tanto capsaicina quanto o grupo dos capsinóides são agonistas dos receptores TRPV1. (CANSIAN, 2016; SASAHARA *et al.*, 2010; SNITKER *et al.*, 2009). Entretanto, diferentemente da capsaicina, os capsinóides são rapidamente hidrolisados no trato gastrointestinal, possivelmente dificultando a ativação posterior dos receptores TRPV1 presentes em outros tecidos, como no coração (GUPTA *et al.*, 2022; OHYAMA & SUZUKY, 2017). Entretanto, cabe ressaltar que os efeitos da ativação do TRPV1 sobre a hipertrofia cardíaca ainda não estão completamente estabelecidos, e são necessários mais estudos para entender esta questão (WANG *et al.*, 2014).

Atrelado às alterações supracitadas, na insuficiência cardíaca também é possível observar o aumento dos níveis séricos de troponina cardíaca, um marcador

de lesão miocárdica que pode aumentar como consequência do estiramento miocárdio resultante da sobrecarga de volume, isquemia subendocárdica, pressão intracardíaca elevada e/ou arritmias (BHARDWAJ & BARAN, 2023). Neste sentido, neste estudo também foi avaliado este marcador, mas diferentemente do que era esperado, a obesidade não acarretou dano cardíaco, indicando que o modelo de obesidade não foi eficiente em induzir lesão miocárdica. Horiuchi e col. (2023) identificaram anteriormente que em humanos, o índice de massa corporal (IMC) mais alto estava associado a níveis mais baixos de troponina I em comparação com pessoas com sobrepeso ou peso considerado normal, contudo, os motivos por trás deste efeito ainda são incompreendidos. Vale ressaltar que no presente estudo, apesar de não ter sido realizada a verificação do IMC nos animais, o grupo obeso tratado com capsinóides apresentou valores aumentados de adiposidade corporal em comparação ao grupo obeso sem tratamento, podendo ser uma possível explicação para os valores baixos de troponina I no grupo tratado. Ainda, um achado importante deste estudo é que, mesmo sem aumento do marcador de dano cardíaco nos obesos, o tratamento com capsinóides reduziu os valores de troponina I. Relacionado a este efeito, já foi demonstrado que camundongos TRPV1 knockout apresentaram concentração de troponina plasmática mais alta após infarto do miocárdio em comparação com animais sem o TRPV1 silenciado (HUANG *et al.*, 2010). Ainda, que os efeitos cardioprotetores do TRPV1, pelo menos quando avaliado no pós-condicionamento isquêmico, pode estar relacionado à liberação de CGRP e Substância P no coração mediada por este receptor, podendo assim, reduzir marcadores de dano cardíaco como a troponina I (REN *et al.*, 2011). Sugere-se assim, que a expressão e a ativação de TRPV1 no coração possivelmente está relacionada ao efeito dos capsinóides na troponina I.

Na obesidade também há aumento do estresse oxidativo no coração (MÜNZEL *et al.*, 2017; NIEMANN *et al.*, 2017; PANTH, PAUDEL, PARAJULI, 2016). O estresse oxidativo surge quando a geração de espécies reativas como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila ($\cdot OH$) e peroxinitrito ($ONOO^-$), supera a capacidade antioxidante (ILKUN & BOUDINA, 2013; MÜNZEL *et al.*, 2017; PANTH, PAUDEL, PARAJULI, 2016). Na obesidade e em comorbidades associadas têm sido observados maior produção de peróxido de hidrogênio e superóxido em células cardíacas (ILKUN & BOUDINA, 2013). Também, comumente são verificadas a redução da expressão e/ou atividade de enzimas

antioxidantes no coração e circulação de obesos (NIEMANN *et al.*, 2017). Neste contexto, modificações sistêmicas ocorridas na obesidade como hiperglicemia, resistência à insulina, hiperlipidemia, ativação do sistema nervoso simpático e do sistema renina-angiotensina-aldosterona são importantes no aumento da geração de espécies reativas no miocárdio (CAVALERA, WANG, FRANGOIANNIS, 2014; ILKUN & BOUDINA, 2013; MÜNZEL *et al.*, 2017). Modificações locais como o aumento da oxidação de ácidos graxos como substrato energético, disfunção mitocondrial, autooxidação da glicose, estiramento do tecido cardíaco e hipóxia também tendem a aumentar a liberação de espécies reativas no coração (ILKUN & BOUDINA, 2013; MÜNZEL *et al.*, 2017; NIEMANN *et al.*, 2017). Tais efeitos provocam consequências na estrutura (como remodelação e fibrose) e na função contrátil do coração, constituindo assim um processo danoso ao miocárdio (ILKUN & BOUDINA, 2013; MÜNZEL *et al.*, 2017; PANTH, PAUDEL, PARAJULI, 2016).

Diante de tais informações, a literatura sugere que o tratamento com antioxidantes pode constituir uma estratégia para o controle do estado de estresse oxidativo alimentado pela obesidade e suas consequências sistêmicas e locais (MÜNZEL *et al.*, 2017). Neste sentido, estudos já demonstraram efeitos antioxidantes dos capsinóides e seus análogos (ROSA *et al.*, 2005; ROSA *et al.*, 2008; OHYAMA & SUZUKI, 2017; REDDY *et al.*, 2011; YOKOYAMA *et al.*, 2020). Em um dos estudos foi verificado o efeito de vanilóides na quebra de cadeia na eliminação de radicais peroxil lipídicos, reduzindo a peroxidação lipídica (ROSA *et al.*, 2008). Ohyama & Suzuki (2017) também demonstraram redução de dano oxidativo e aumento de enzimas antioxidantes em animais idosos tratados com estes compostos (OHYAMA & SUZUKI, 2017). Entretanto, a literatura ainda carece de pesquisas e informações mais aprofundadas sobre os efeitos dos capsinóides em biomarcadores do estresse oxidativo em modelos experimentais de obesidade. Assim, acreditamos que este estudo seja o primeiro a investigar os efeitos dos capsinóides sobre biomarcadores do estresse oxidativo no coração de ratos com obesidade.

Sobre os danos oxidativos, a produção de radicais livres favorece reações em cadeias que podem desencadear produtos danosos/maléficos e/ou danos ao organismo, principalmente em moléculas presentes no mesmo meio celular (ILKUN & BOUDINA, 2013; SALEHI *et al.*, 2018). Como por exemplo, o desbalanço de espécies reativas pode induzir reações com ácidos graxos constituintes das

membranas, resultando em radical peroxila de ácido graxo, o qual pode atacar a cadeia lateral do ácido graxo adjacente e desencadear a produção de outros radicais lipídicos, induzindo modificação na membrana celular e desencadeando alterações na permeabilidade e função de receptores de membrana, facilitando também o acesso das espécies reativas às proteínas e material genético presentes dentro das células (DEMIRCI-ÇEKIÇ, *et al.*, 2022; PANTH, PAUDEL, PARAJULI, 2016). Além dos lipídeos, as proteínas também são importantes alvos para agentes oxidantes (DEMIRCI-ÇEKIÇ, *et al.*, 2022; VONA, 2019). A interação entre proteína e EROs pode desencadear na oxidação de cadeias laterais de aminoácidos ou da estrutura proteica, culminando na formação de compostos derivados de carbonila e na reticulação, inativação ou quebra de proteínas (DEMIRCI-ÇEKIÇ, *et al.*, 2022). Dentre os efeitos destas reações, podem ocorrer modificações consideradas reversíveis (produtos de oxidação e nitrosação de grupos tiol) ou irreversíveis (carbonilação e nitração), podendo levar à alteração da expressão e da atividade proteica (VONA, 2019).

Diante deste contexto, a literatura já demonstra maior geração de ROS mitocondrial e peroxidação de lipídios e proteínas no miocárdio de camundongos obesos (CAVALERA, WANG, FRANGOIANNIS, 2014). Considerando ainda o potencial tratamento com capsinóides e seus análogos diante do estresse oxidativo, foi demonstrado que o capsiato e seus análogos podem promover proteção contra a oxidação lipídica (ROSA *et al.*, 2005). Também foi verificado que a ativação do TRPV1 por parte de seus agonistas pode aumentar a expressão de proteína desacopladora 2 (UCP2), importante para redução da geração de espécies reativas pela CTE (MCCARTY, DINICOLANTONIO, O'KEEFE, 2015). Ademais, o TRPV1 pode exercer efeito protetor no miocárdio, ao ser capaz de reduzir marcadores da formação endógena de peroxinitrito (GAO *et al.*, 2014).

Deste modo, para verificar o efeito do tratamento diante de tais condições, neste estudo foram avaliados os níveis de MDA, um marcador de peroxidação lipídica, bem como os teores de proteínas carboniladas e produtos de oxidação avançada de proteínas no ventrículo esquerdo de ratos com obesidade. Os resultados indicam ineficiência do tratamento com capsinóides no estresse oxidativo induzido pela obesidade, uma vez que não foi capaz de reduzir os níveis de proteínas carboniladas e produtos de oxidação avançada de proteínas. Algumas razões para estes efeitos podem estar relacionadas à própria aplicação do

tratamento, desde que a dose, a duração do tratamento e o veículo podem influenciar nesse processo. Além disso, MÜNDEL e cols. (2017) sugerem que compostos naturais administrados em modelos biológicos podem não ter sua porção antioxidante direcionada ou acesso facilitado aos sítios de ligação de ROS no miocárdio, principalmente, quando dentro de organelas, o qual dificulta a eficácia do tratamento frente ao estresse oxidativo.

Um achado importante e diferente do esperado foi que, o modelo de obesidade não induziu maior peroxidação lipídica no coração dos animais, entretanto o tratamento com capsinóides nos ratos com obesidade desencadeou tal efeito. Este resultado sugere que possíveis mecanismos compensatórios relacionados à exposição crônica a antioxidantes podem estar envolvidos, que por vezes alteram a homeostase e desencadeiam efeitos maléficos ao organismo, quando expostos a um sistema redox balanceado; esse fato sugere que não havia necessidade de reduzir os compostos oxidantes (MÜNDEL et al., 2017). Neste contexto, já foi observado que o análogo capsaicina, por meio da ativação do TRPV1, é capaz de induzir a liberação de CGRP e substância P e modular o aumento da liberação de espécies reativas por meio da ativação da NADPH oxidase, contribuindo assim para a vasodilatação de vasos (STARR et al., 2008). Considerando que o coração também apresenta nervos que contêm receptores TRPV1, pode ser que os capsinóides funcionem de forma similar e também possam induzir o aumento de espécies reativas neste tecido e conseqüentemente provocar efeitos adversos. Ainda, sugere-se que o tratamento e/ou a ativação do receptor TRPV1 no coração tenha induzido de alguma forma o aumento da peroxidação lipídica enzimática, uma vez que pode modular o funcionamento de enzimas como lipoxigenases (LOX), cicloxigenases (COX) e citocromo P450 (CYPs), que sintetizam moléculas capazes de desencadear a peroxidação, como endoperóxidos lipídicos, ácidos epoxieicosatrienoicos e hidroperóxidos lipídicos, respectivamente ((DEMIRCI-ÇEKIÇ, et al., 2022).

Considerando ainda as alterações supracitadas o nosso organismo apresenta sistemas antioxidantes naturais que trabalham para manter o equilíbrio destas moléculas e reações (MÜNDEL et al., 2017; PANTH, PAUDEL, PARAJULI, 2016). Assim, as espécies reativas são neutralizadas por enzimas antioxidantes intracelulares como a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT) (PANTH, PAUDEL, PARAJULI, 2016). A SOD constitui um grupo de metaloenzimas que

dismuta superóxido em peróxido de hidrogênio (DEMIRCI-ÇEKIÇ, *et al.*, 2022; VONA, 2019), sendo importante para manter um fluxo de peróxido de hidrogênio adequado (VONA, 2019). Enquanto a CAT constitui um grupo de enzimas responsável pela decomposição de peróxido de hidrogênio em produtos não tóxicos e água (DEMIRCI-ÇEKIÇ, *et al.*, 2022; MÜNZEL *et al.*, 2017). Além disso, metais de transição como Fe, Cu e Mn também podem atuar no sistema redox (DEMIRCI-ÇEKIÇ, *et al.*, 2022). Estes metais podem transferir elétrons para formar radicais e causar estresse oxidativo, ao mesmo tempo, quando constituem centro redox ativos nas enzimas anteriormente citadas, podem desempenhar importante papel na defesa antioxidante (DEMIRCI-ÇEKIÇ, *et al.*, 2022).

Em relação aos sistemas antioxidantes, a literatura indica que dietas ricas em gordura, principalmente na faixa de 45-60% do valor energético total, são capazes de causar o estresse oxidativo e diminuir a expressão gênica de antioxidantes (CAVALERA, WANG, FRANGOIANNIS, 2014; LIU & LLOYD, 2013). Além disso, tem sido documentado que a obesidade e a síndrome metabólica são capazes de reduzir a atividade da superóxido dismutase (ILKUN & BOUDINA, 2013). Neste estudo, a capacidade antioxidante realizada pelo FRAP demonstrou-se elevada na obesidade, e o tratamento com capsinóides não produziu alterações neste parâmetro. Tal resposta indica que as alterações oxidativas induzidas pela obesidade provocaram de alguma maneira, uma resposta antioxidante para contrabalancear os danos instalados. Ademais, o aumento de marcadores de oxidação de moléculas não foi acompanhado pelo aumento da atividade das enzimas antioxidantes na obesidade, o que já era esperado. Contudo, o tratamento com capsinóides acarretou elevação da SOD e CAT sugerindo que tal efeito pode não ser necessariamente um efeito protetor isolado dos capsinóides no coração, mas sim como consequência do aumento da peroxidação lipídica. Neste sentido, a literatura relata que os produtos da peroxidação lipídica são capazes de induzir o fator de transcrição Nrf2, importante para a regulação da expressão de enzimas antioxidantes (NIEMANN *et al.*, 2017).

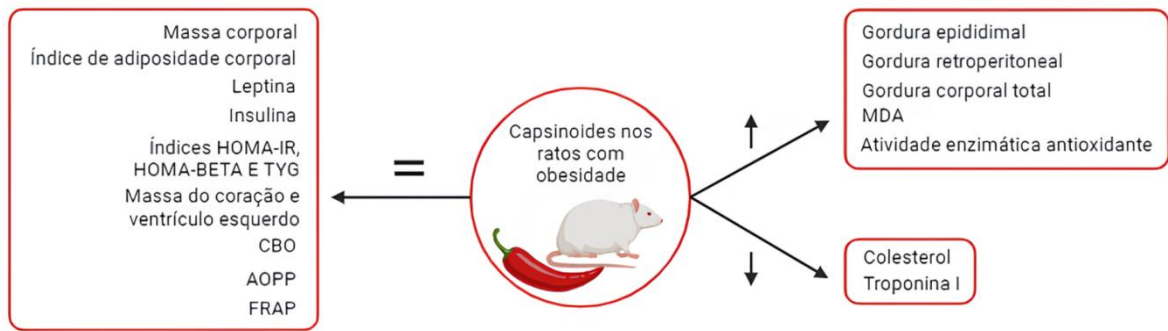


Figura 12. Resumo dos resultados do tratamento com capsinóides nos ratos com obesidade.
Fonte: Autor.

7. CONCLUSÃO

Este estudo demonstra que o tratamento da obesidade com capsinóides na dose de 10 mg/kg, apesar de reduzir os níveis de colesterol, não representa benefícios para o controle da massa e adiposidade corporal, para a redução da leptina, e controle da resistência à insulina nos animais obesos. Além disso, no coração, apesar do tratamento com capsinóides reduzir os níveis de troponina I e desencadear o aumento da atividade antioxidante no tecido, não acarreta modulação positiva nos biomarcadores oxidativos aqui estudados (Figura 12).

REFERÊNCIAS

Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica (ABESO). Doenças desencadeadas ou agravadas pela obesidade. 2019.

BAYS, H.E.; KIRKPATRICK, C.F.; MAKI, K.C.; TOTH, P.P.; MORGAN, R.T.; TONDT, J.; CHRISTENSEN, S.M.; DIXON, D.L.; JACOBSON, T.A. **Obesity, Dyslipidemia, and Cardiovascular Disease: A joint expert review from the Obesity Medicine Association and the National Lipid Association 2024.** *Journal of Clinical Lipidology*. v.18, n. 3, E320-E350. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2024.04.001>.

BHARDWAJ, A.; BARAN, D.A. Biomarkers in HF: How Does the “Weight” Weigh in?. **Journal of Cardiac Failure**. v.29, n.8, p. 1132-1134. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2023.06.003>.

CANSIAN, A. C. C. Efeitos da ingestão de capsinóides sobre a adiposidade corporal em ratos *Wistar*. 2016. 104 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) - Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

CAVALERA, M; WANG, J.; FRANGOIANNIS, N. G. Obesity, metabolic dysfunction and cardiac fibrosis: pathophysiologic pathways, molecular mechanisms and therapeutic opportunities. **Translational Reserach**, v. 164, n. 4, p. 323-335, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.05.001>.

CHAPA-OLIVER, A.; MEJÍA-TENIENTE, L. Capsaicin: from plants to a cancer-suppressing agent. **Molecules**, v. 21, n. 8, p. 931, 2016. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules21080931>.

ČOLAK, E.; PAP, D. The role of oxidative stress in the development of obesity and obesity-related metabolic disorders. **Journal of Medical Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-9, 2021. <http://dx.doi.org/10.5937/jomb0-24652>.

Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). **Normativas do CONCEA para produção, manutenção ou utilização de animais para atividades de ensino ou pesquisa científica**, Brasília, Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações, 3 Ed. 2016.

COTE, B.; ELBARBRY, F.; BUI, F.; SU, J. W.; SEO, K.; NGUYEN, A.; LEE, M.; RAO, D. A. Mechanistic Basis for the Role of Phytochemicals in Inflammation-Associated Chronic Diseases. **Molecules**, v. 27, n. 3, p. 781-807, 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27030781>.

DEMIRCI-ÇEKIÇ, S.; ÖZKAN, G.; AVAN, C.N.; UZUNBOY, S.; ÇAPANOĞLU, E., APAK, R. Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 209, 114477. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114477>.

DLUDLA, P. V.; CIRILLI, I.; MARCHEGGIANI, F.; SILVESTRI, S.; ORLANDO, P.;

MUVHULAWA, N.; MOETLEDIWA, M. T.; NKAMBULE, B. B.; MAZIBUKO-MBEJE, S. E.; HLENGWA, N.; HANSER, S.; NDWANDWE, D.; MARNEWICK, J. L.; BASSON, A. K.; TIANO, L. Bioactive properties, bioavailability profiles, and clinical evidence of the potential benefits of black pepper (*Piper nigrum*), and red pepper (*Capsicum annum*) against diverse metabolic complications. **Molecules**, v.28, n.18, p. 6569, 2023. <https://doi.org/10.3390/molecules28186569>.

DOULBERIS, M.; PAPAETHYMIU, A.; POLYZOS, S. A.; KATSINELOS, P.; GRIGORIADIS, N.; SRIVASTAVA, D. S.; KOUNTOURAS, J. Rodent models of obesity. **Minerva Endocrinology**, v. 45, n. 3, p. 243-263, 2020. <https://doi.org/10.23736/S0391-1977.19.03058-X>.

ENDALIFER, M. L.; DIRESS, G. Epidemiology, predisposing factors, biomarkers, and prevention mechanism of obesity: a systematic review. **Journal of Obesity**, v. 2020, 134362, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6134362>.

FERIANI, A.; BIZZARRI, M.; TIR, M.; ALDAWOOD, N.; ALOBAID, H.; ALLAGUI, M.S.; DAHMASH, W.; TLILI, N.; ALWASEL, S.; HARRATH, A.H. High-fat diet-induced aggravation of cardiovascular impairment in permethrin-treated Wistar rats. **Exotoxicology and Environmental Safety**. v. 222, 112461. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112461>.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, A.; MADRIGAL-SANTILLÁN, E.; BAUTISTA, M.; ESQUIVEL-SOTO, J.; MORALES-GONZÁLEZ, Á.; ESQUIVEL-CHIRINO, C.; DURANTE-MONTIEL, I.; SÁNCHEZ-RIVERA, G.; VALADEZ-VEGA, C.; MORALES-GONZÁLEZ, J. A. Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 5, p. 3117-3132, 2011. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms12053117>.

FERREIRA, L. G.; LUNZ, W. **Tópicos em fisiologia e bioquímica com ênfase no exercício e treinamento físico**, Vitória: Editora da Universidade Federal do Espírito Santo, 2022.

FINER, N. Obesity. **Clinical Medicine**, v. 3, n. 1, p. 23-27, 2003. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.3-1-23>.

GADDE, K. M.; MARTIN, C. K.; BERTHOUD, H.R.; HEYMSFIELD, S. B. Obesity: pathophysiology and management. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 71, n. 1, p. 69-84, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.11.011>.

GALGANI, J. E.; RYAN, D. H.; RAVUSSIN, E. Effect of capsinoids on energy metabolism in humans. **British Journal of Nutrition**, v.103, n. 1, p.38-42, 2010. <https://doi.org/10.1017/S0007114509991358>.

GAO, F.; LIANG, Y.; LU, Z.; LI, L.; ZHU, S.; LIU, D.; YAN, Z.; ZHU, Z. TRPV1 Activation Attenuates High-Salt Diet-Induced Cardiac Hypertrophy and Fibrosis through PPAR- δ Upregulation. **PPAR Research**. 2014, 491963. 2014. <https://doi.org/10.1155%2F2014%2F491963>.

GASPARINI, P.V.F.; MATIAS, A.M.; TOREZANI-SALES, S.; KOBI, J.B.B.S.;

- SIQUEIRA, J.S.; CORRÊA, C.R.; LEOPOLDO, A.P.L.; LEOPOLDO, A.S. High-Fat and Combined High-Fat and Sucrose Diets Promote Cardiac Oxidative Stress Independent of Nox2 Redox Regulation and Obesity in Rats. **Cellular Physiology & Biochemistry**. v.55, p. 618-634. 2021. <https://doi.org/10.33594/000000441>.
- GRAM, HOLST, SZALLASI, 2017 - GRAM, D.X.; HOLST, J.J.; SZALLASI, A. TRPV1: A Potential Therapeutic Target in Type 2 Diabetes and Comorbidities? **Trends in Molecular Medicine**. v. 23, v.11, p. 1002-1013. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.09.005>.
- GUPTA, R.; KAPOOR, B.; GULATI, M.; KUMAR, B.; GUPTA, M.; SINGH, S. K.; AWASTHI, A. Sweet pepper and its principle constituent capsiate: functional properties and health benefits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, n.62, v.26, p.7370-7394, 2022. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1913989>.
- HALL, M. E.; YANES, L.; LONG, R. C.; KOCH, C. A. Hormones of cardiovascular system. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., editors. **Endotext**. South Dartmouth, 2015. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279096/>.
- HAN et al., 2024 - HAN, Y.; SUN, Q.; CHEN, W.; GAO, Y.; YE, J.; CHEN, Y.; WANG, T.; GAO, L.; LIU, Y.; YANG, Y. New advances of adiponectin in regulating obesity and related metabolic syndromes. **Journal of Pharmaceutical Analysis**. v.14, n.5, 100913. 2024. <https://doi.org/10.1016%2Fj.jpha.2023.12.003>.
- HARAMIZU, S.; KAWABATA, F.; MASUDA, Y.; OHNUKI, K.; WATANABE, T.; YAZAWA, S.; FUSHIKI, T. Capsinoids, non-pungent capsaicin analogs, reduce body fat accumulation without weight rebound unlike dietary restriction in mice. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 75, n.1, p.95-99, 2011. <https://doi.org/10.1271/bbb.100577>.
- HARIRI, N.; THIBAUT, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutrition Research Reviews**. v. 23, n.2, p. 270-299. 2010. doi:10.1017/S0954422410000168.
- HAWKES, C.; FANZO, J.; UDOMKESMALEE, E. Nourishing the SDGs: Global Nutrition Report 2017. **Bristol: Development Initiatives Poverty Research Ltd**. 2017.
- HONG, Q.; XIA, C.; XIANGYING, H.; QUAN, Y. Capsinoids suppress fat accumulation via lipid metabolism. **Molecular Medicine Reports**, v. 11, n. 3, p.1669-1674, 2015. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2996>.
- HORIUCHI, Y.; WETTERSTEN, N.; VANVELDHUISEN, D.J.; MUELLER, C.; NOWAK, R.; HOGAN, C.; CONTAS, M.C.; CANNON, C.M.; BIRKHAHN, R.; VILKE, G.M.; MAHON, N.; NUÑEZ, J.; BRIGUORI, C.; DUFF, S.; MURRAY, P.T.; MAISEL, A. The Influence of Body Mass Index on Clinical Interpretation of Established and Novel Biomarkers in Acute Heart Failure. **Journal of Cardiac Failure**, v.29, n. 8, p. 1121-1131, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2023.03.029>.
- HUANG, W.; RUBISTEIN, J.; PRIETO, A.R.; THANG, L.V.; WANG, D.H. TRPV1 gene deletion exacerbates inflammation and atypical cardiac remodeling after

myocardial infarction. **Hypertension**. v. 53, n. 2, p.243-250. 2010.
<https://doi.org/10.1161%2FHYPERTENSIONAHA.108.118349>.

ILKUN, O.; BOUDINA, S. Cardiac dysfunction and oxidative stress in the metabolic syndrome: an update on antioxidant therapies. **Current Pharmaceutical Design**, v. 19, n. 27, p. 4806-4817, 2013. <http://dx.doi.org/10.2174/1381612811319270003>.

IRVING, B. A.; WELTMAN, J. Y.; PATRIE, J. T.; DAVIS, C. K.; BROCK, D.W.; SWIFT, D.; BARRET, E.J.; GAESSER, G. A.; WELTMAN, A. Effects of exercise training intensity on nocturnal growth hormone secretion in obese adults with the metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 94, n.6, p.1979-86, 2009. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-2256>.

JIN, D.; XU, Y.; MEI, X.; MENG, Q.; GAO, Y.; LI, B.; TU, Y. Antiobesity and lipid lowering effects of theaflavins on high-fat diet induced obese rats v.5, n.3, p. 1142-1150. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.03.011>.

JONES, D. P. Redefining Oxidative Stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 8, n. 9-10, p. 1865-1879, 2006. <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2006.8.1865>.

KAWABATA, F.; INOUE, N.; MASAMOTO, Y.; MATSUMURA, S.; KIMURA, W.; HIGASHI, T.; TOMINAGA, M.; INOUE, K.; FUSHIKI, T. Non-pungent capsaicin analogs (capsinoids) increase metabolic rate and enhance thermogenesis via gastrointestinal TRPV1 in mice. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 73, n. 12, p.2690-2697, 2009. <https://doi.org/10.1271/bbb.90555>.

KAWAI, T.; AUTIERI, M. V.; SCALIA, R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 320, n. 3, p. C375-C391, 2021. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00379.2020>.

KIM, C.H.; YOUN, J.H.; PARK, J.Y.; HONG, S.K.; PARK, K.S.; PARK, S.W.; SUH, K.I.; LEE, K.U. Effects of high-fat diet and exercise training on intracellular glucose metabolism in rats. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, v. 278, n.6, E977-84, 2000.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.2000.278.6.E977>.

KOBI, J.B.B.S.; MATIAS, A.M.; GASPARINI, P.V.F.; TOREZANI-SALES, S.T.; MADUREIRA, A.R.; SILVA, D.S.; CORRÊA, C.R.; GARCIA, J.L.; HAESE, D.; NOGUEIRA, B.V.; ASSIS, A.L.E.M.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; LEOPOLDO, A.S. High- fat, high- sucrose, and combined high- fat/high- sucrose diets effects in oxidative stress and inflammation in male rats under presence or absence of obesity. **Physiological Reports**. v.11, n.7, e15635. 2023.
<https://doi.org/10.14814%2Fphy2.15635>.

KOCH, C.E.; LOWE, C.; PRETZ, D.; STEGER, J.; WILLIAMNS, L.M.; TUPS, A. High-fat diet induces leptin resistance in leptin-deficient mice. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 26, n.2, p. 58-67, 2014. <https://doi.org/10.1111/jne.12131>.

KOENEN, M.; HILL, M. A.; COHEN, P.; SOWERS, J. R. Obesity, adipose tissue and vascular dysfunction. **Circulation Research**, v. 128, n. 7, p. 951-968, 2021.

<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318093>.

KWON, D.Y.; KIM, Y.S.; RYU, S.Y.; CHA, M.; YON, G.H.; YANG, H.J.; KIM, M.J.; KANG, S.; PARK, S. Capsiate improves glucose metabolism by improving insulin sensitivity better than capsaicin in diabetic rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. v.24, n.6, p. 1078-1085. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.08.006>.

LIU, J.; LLOYD, S.G. High-fat, low-carbohydrate diet alters myocardial oxidative stress and impairs recovery of cardiac function following ischemia and reperfusion in obese rats. **Nutritional Research**. v. 33, n. 4, p. 311-321. 2013. <https://doi.org/10.1016%2Fj.nutres.2013.02.005>.

MARTELLI, F.; NUNES, F. M. F. Radicais livres: em busca do equilíbrio. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 66, n. 3, p. 54-57, 2014. <http://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252014000300017>.

MATIAS, A.M.; COELHO, P.M.; MARQUES, V.B.; SANTOS, L.; ASSIS, A.L.E.M.; NOGUEIRA, B.V.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; LEOPOLDO, A.S. Hypercaloric diet models do not develop heart failure, but the excess sucrose promotes contractility dysfunction. **Plos One**. v.15, n.2, e0228860. 2020. <https://doi.org/10.1371%2Fjournal.pone.0228860>.

MATIAS, A.M.; ESTEVAM, W.M.; COELHO, P.M.; HAESE, D.; KOBI, J.B.B.S.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; LEOPOLDO, A.S. Differential Effects of High Sugar, High Lard or a Combination of Both on Nutritional, Hormonal and Cardiovascular Metabolic Profiles of Rodents. **Nutrients**. v.10, n.8, 1071. 2018. <https://doi.org/10.3390%2Fnu10081071>.

MCCARTY, M.F.; DINICOLANTONIO, J.J.; O'KEEFE, J.H. Capsaicin may have important potential for promoting vascular and metabolic health. **Open Heart**. v.2, n.1, e000262. 2015. <https://doi.org/10.1136%2Fopenhrt-2015-000262>.

MENDES, B. F.; COSTA-PEREIRA, L. V.; ANDRADE, J. A.; MAGALHÃES, C. O. D.; PEREIRA, R. R. S.; ESTEVES, E. A.; CASSILHAS, R. C.; ANDRADE, E. F.; GRIPP, F.; MAGALHÃES, F. C.; SAMPAIO, K. H.; AMORIM, F. T.; DIAS-PEIXOTO, M. F. Superior cardiometabolic and cellular adaptive responses to multiple versus single daily sessions of high-intensity interval training in Wistar rats. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 21187, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24906-y>.

MESQUITA, C.S; OLIVEIRA, R; BENTO, F; GERALDO, D.; RODRIGUES, J.V; MARCOS, J. C. Simplified 2,4- dinitrophenylhydrazine spectrophotometric assay for quantification of carbonyls in oxidized proteins. **Analytical Biochemistry**, v. 458, p. 69-71, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2014.04.034>.

MICHICOTI-MENESES, M.M.; THOMPSON-BONILLA, M.R.; REYES-LÓPEZ, C.A.; GARCÍA-PÉREZ, B.E.; LÓPEZ-TENORIO, I.I.; ORDAZ-PICHARDO, C.; JARAMILLO-FLORES, M.E. Inflammation Markers in Adipose Tissue and Cardiovascular Risk Reduction by Pomegranate Juice in Obesity Induced by a Hypercaloric Diet in Wistar Rats. **Nutrients**. v.13, n.8, p. 2577. 2021.

<https://doi.org/10.3390%2Fnu13082577>

MICUCCI, M.; BUDRIESI, R.; ALDINI, R.; FATO, R.; BERGAMINI, C.; VIVARELLI, F.; CANISTRO, D.; BOLCHI, C.; CHIARINI, A.; RIZZARDI, N.; PALLAVICINI, M.; FROSINI, M.; ANGELETTI, A. **Phytotherapy Research**. v. 35, n. 4, p. 2145-2156. 2020. <https://doi.org/10.1002/ptr.6967>.

MOSQUEDA-SOLÍS, A.; SÁNCHEZ, J.; REYNÉS, B.; PALOU, M.; PORTILLO, M. P.; PALOU, A.; PICÓ, C. Hesperidin and capsaicin, but not the combination, prevent hepatic steatosis and other metabolic syndrome-related alterations in western diet-fed rats. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 15100, 2018. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-32875-4>.

MOURA E DIAS, M.; REIS, S.A.; CONCEIÇÃO, L.L.; SEDIYAMA, C.M.N.O.; PEREIRA, S.S.; OLIVEIRA, L.L.; PELUZIO, M.C.G.; MARTINEZ, J.A.; MILAGRO, F.I. Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers. **Diabetology & Metabolic Syndrome**. v.13, n. 1, p.32. 2021. <https://doi.org/10.1186%2Fs13098-021-00647-2>.

MUNJULURI, S.; WILKERSON, D. A; SOOCH, G.; CHEN, X.; WHITE, F. A.; OBUKHOV, A. G. Capsaicin and TRPV1 channels in the cardiovascular system: the role of inflammation. **Cells**, v.11, n.1, p.18, 2022. <https://doi.org/10.3390/cells11010018>.

MÜNZEL, T.; CAMICI, G. G.; MAACK, C.; BONETTI, N. R.; FUSTER, V.; KOVACIC, J. C. Impact of Oxidative Stress on the Heart and Vasculature: Part 2 of a 3-Part Series. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 70, n. 2, p. 212-229, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2017.05.035>.

NAGY, C.T.; KONCSOS, G.; VARGA, Z.V.; BARANYAI, T.; TUZA, S.; KASSAI, F.; ERNYEY, A.J.; GYERTYÁN, I.; KIRÁLY, K.; OLÁH, A.; RADOVITS, T.; MERKELY, B.; BUKOSZA, N.; SZÉNÁSI, G.; HAMAR, P.; MATHÉ, D.; SZIGETI, K.; PELYHE, C.; JELEMENSKY, M.; ONÓDI, Z.; HELYES, Z.; SCHULZ, R.; GIRICZ, Z.; FERDINANDY, P. Selegiline reduces adiposity induced by high- fat, high- sucrose diet in male rats. **British Journal of Pharmacology**. v. 175, n.18, p. 3713-3726. 2018. <https://doi.org/10.1111%2Fbph.14437>.

NÄPÄNKANGAS, J.P.; LIIMATTA, E.V.; JOENSUU, P.; BERGMANN, U.; YLITALO, K.; HASSINEN, I.E. Superoxide production during ischemia–reperfusion in the perfused rat heart: A comparison of two methods of measurement. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**. v. 53, n.6, p.906-915. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.09.011>.

NIEMANN, B.; ROHRBACH, S.; MILLER, M. R.; NEWBY, D. E.; FUSTER, V.; KOVACIC, J. C. Oxidative Stress and Cardiovascular Risk: obesity, diabetes, smoking, and pollution: Part 3 of a 3-Part Series. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 70, n. 2, p. 230-251, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2017.05.043>.

OHNUKI, K.; HARAMIZU, S.; OKI, K.; WATANABE, T.; YAZAWA, S.; FUSHIKI, T.

Administration of Capsiate, a Non-Pungent Capsaicin Analog, Promotes Energy Metabolism and Suppresses Body Fat Accumulation in Mice. **Bioscience, Biothecnology, and Biochemistry**. v. 65, n.12, p. 2735-2740. 2001. <https://doi.org/10.1271/bbb.65.2735>.

OHYAMA, K.; SUZUKY, K. Dihydrocapsiate improved age-associated impairments in mice by increasing energy expenditure. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, v.313, n.5, p.E586-E597, 2017. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00132.2017>.

OKUMURA, T.; TSUKUI, T.; HOSOKAWA, M.; MIYASHITA, K. Effect of caffeine and capsaicin on the blood glucose levels of obese/diabetic KK-A mice. **Journal of Oleo Science**, v. 9, n. 61, p. 515-523, 2012. <https://doi.org/10.5650/jos.61.515>.

PANTH, N.; PAUDEL, K. R.; PARAJULI, K. Reactive Oxygen Species: a key hallmark of cardiovascular disease. **Advances In Medicine**, v. 2016, n. 9152732, 2016. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9152732>.

PEREIRA-LANCHA, L.O.; CAMPOS-FERRAZ, P.L.; LANCHA JUNIOR, A.H. Obesity: considerations about etiology, metabolism, and the use of experimental models. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity**. v. 5, p. 75-87. 2012. <https://doi.org/10.2147%2FDMSO.S25026>.

PÉREZ-TORRES, I.; CASTREJÓN-TÉLLEZ, V.; SOTO, M. E.; RUBIO-RUIZ, M. E.; MANZANO-PECH, L.; GUARNER-LANS, V. Oxidative stress, plant natural antioxidants, and obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1786, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22041786>.

POWELL-WILEY, T. P.; POIRIER, P.; BURKE, L. E.; DESPRÉS, J.; GORDON-LARSEN, P.; LAVIE, C. J.; LEAR, S. A.; NDUMELE, C. E.; NEELAND, I. J.; ROSA, A.; DEIANA, M.; CORONA, G.; ATZERI, A.; INCANI, A.; APPENDINO, G.; DESSI, M.A. Protective effect of capsinoid on lipid peroxidation in rat tissues induced by Fe-NTA. **Free Radical Research**. v. 39, n. 11. p. 1155-1162. 2005. <https://doi.org/10.1080/10715760500178094>.

POWERS, S. K.; DEMINICE, R.; OZDEMIR, M.; YOSHIHARA, T.; BOMKAMP, M. P.; HYATT, H. Exercise-induced oxidative stress: friend or foe? **Journal of Sport and Health Science**, v. 9, n. 5, p. 415-425, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jshs.2020.04.001>.

PRASAD, S.; SRIVASTAVA, S. K. Oxidative Stress and Cancer: chemopreventive and therapeutic role of triphala. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, p. 72-86, 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox9010072>.

REDDY K.R.; RAVINDER, T.; PRASAD, R.B.N.; KANJILAL, S. Evaluation of the Antioxidant Activity of Capsiate Analogues in Polar, Nonpolar, and Micellar Media. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.2, p. 564-569. 2011. <https://doi.org/10.1021/jf104244m>.

REN, J.; SONG, J.; LU, M.; CHEN, H. Cardioprotection by ischemic postconditioning

is lost in isolated perfused heart from diabetic rats: Involvement of transient receptor potential vanilloid 1, calcitonin gene-related peptide and substance P. **Regulatory Peptides**, v. 169, n. 1-3, p. 49-57, 2011.
<https://doi.org/10.1016/j.regpep.2011.04.004>.

ROLLS, B.L; SHIDE, D.J. The influence of dietary fat on food intake and body weight. **Nutrition Reviews**, v. 50, n. 10, p. 283-290, 1992. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1992.tb02466.x>.

ROSA, A.; ATZEI, A.; DEIANA, M.; MELIS, M.P.; INCANI, A.; CORONA, G.; LORU, D.; APPENDINO, G.; DESSI, M.A. Protective Effect of Vanilloids against tert-Butyl Hydroperoxide-Induced Oxidative Stress in Vero Cells Culture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 56, n.10, p. 3546-3553. 2008.
[10.1021/jf073448t](https://doi.org/10.1021/jf073448t).

ROSA, A.; DEIANA, M.; CORONA, G.; ATZERI, A.; INCANI, A.; APPENDINO, G.; DESSI, M.A. Protective effect of capsinoid on lipid peroxidation in rat tissues induced by Fe-NTA. **Free Radical Research**. v. 39, n.11, p.1155-1162. 2005.
<https://doi.org/10.1080/10715760500178094>.

SALEHI, B.; MARTORELL, M.; ARBISER, J. L.; SUREDA, A.; MARTINS, N.; MAURYA, P. K.; SHARIFI-RAD, M.; KUMAR, P.; SHARIFI-RAD, J. Antioxidants: positive or negative actors?. **Biomolecules**, v. 8, n.4, p. 124, 2018.
<https://doi.org/10.3390/biom8040124>.

SANDERS, P.; ST-ONGE, M.; AMERICAN HEART ASSOCIATION COUNCIL ON LIFESTYLE AND CARDIOMETABOLIC HEALTH; COUNCIL ON CARDIOVASCULAR AND STROKE NURSING; COUNCIL ON CLINICAL CARDIOLOGY; CONCIL ON EPIDEMIOLOGY PREVENTION; STROKE CONCIL. Obesity and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 143, n. 21, p. e984-e1010, 2021.
<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000973>.

SASAHARA, I.; FURUHATA, Y.; IWASAKI, Y.; INUE, N.; SATO, H.; WATANABE, T.; TAKAHASHI, M. Assessment of the biological similarity of three capsaicin analogs (Capsinoids) found in non-pungent Chilli Pepper (CH-Sweet) fruits. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 74, n. 2, p. 274-279, 2010.
<https://doi.org/10.1271/bbb.90570>.

SHINTAKU, K.; UCHIDA, K.; SUZUKI, Y.; ZHOU, Y.; FUSHIKI, T.; WATANABE, T.; YAZAWA, S.; TOMINAGA, M. Activation of transient receptor potential A1 by a non-pungent capsaicin-like compound, capsiate. **British Journal of Pharmacology**, v.165, n. 5, p.1476-1486, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01634.x>.

SNITKER, S.; FUJISHIMA, Y.; SHEN, H.; OTT, S.; PI-SUNYER, X.; FURUHATA, Y.; SATO, H.; TAKAHASHI, M. Effects of novel capsinoid treatment of fatness and energy metabolism in humans: possible pharmacogenetic implications. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 89, n. 1, p. 45-50, 2009.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26561>.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD). Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020. **Clannad Editora Científica**, 2019.

SONG, Y.; MANSON, J. E.; TINKER, L.; HOWARD, B. V.; KULLER, L. H.; NATHAN, L.; RIFAI, N.; LIU, S. Insulin sensitivity and insulin secretion determined by homeostasis model assessment (HOMA) and risk of diabetes in multiethnic cohort of women: the women's health initiative observational study. **Diabetes Care**, v.30, n.7, p.1747-1752, 2007. <https://doi.org/10.2337/dc07-0358>.

STARR, A.; GRAEPEL, R.; KEEBLE, J.; SCHMIDHUBER, S.; CLARK, N.; GRANT, A.; SHAH, A.M.; BRAIN, S.D. A reactive oxygen species-mediated component in neurogenic vasodilatation, **Cardiovascular Research**, v.78, n.1, p. 139–147, 2008. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvn012>

TANI, Y.; FUJIOKA, T.; SUMIOKA, M.; FURUICHI, Y.; HAMADA, H.; WATANABE, T. Effects of capsinoid on serum and liver lipids in hyperlipidemic rats. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**. v.50, n.5, p.351-355. 2004. <https://doi.org/10.3177/jnsv.50.351>.

TAYLOR, B.A; PHILLIPS, S.J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. **Genomics**, v. 34, n. 3, p.389-98, 1996. <https://doi.org/10.1006/geno.1996.0302>.

TRAN, N.; PHAM, B.; LE, L. Bioactive Compounds in Anti-Diabetic Plants: from herbal medicine to modern drug discovery. **Biology**, v.9, n.9, p. 252-283, 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/biology9090252>.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO (UNIFESP). **Guia de eutanásia para animais de ensino e pesquisa**. São Paulo. 2019.

VILARIÑO-GARCÍA, T.; POLONIO-GONZÁLEZ, M.L.; PÉREZ-PÉREZ, A.; RIBALTA, J.; ARRIETA, F.; AGUILAR, M.; OBAYA, J.C.; GIMENO-ORNA, J.A.; IGLESIAS, P.; NAVARRO, J.; DURÁN, S.; PEDRO-BOTET, J.; SÁNCHEZ-MARGALET, V. Role of Leptin in Obesity, Cardiovascular Disease, and Type 2 Diabetes. **International of Molecular Sciences**. v. 25, v.4, 2338. 2024. <https://doi.org/10.3390%2Fijms25042338>.

VONA, R.; GAMBARDILLA, L.; CITTADINI, C.; STRAFACE, E.; PIETRAFORTE, D. Biomarkers of oxidative stress in metabolic syndrome and associated diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**., v.2019, 8267234, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/8267234>.

WANG, Q.; MA, S.; LI, D.; ZHANG, Y.; TANG, B.; QIU, C.; YANG, Y.; YANG, D. Dietary Capsaicin Ameliorates Pressure Overload-Induced Cardiac Hypertrophy and Fibrosis Through the Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1. **American Journal of Hypertension**, v. 27, n. 12, p. 1521-1529, 2014. <http://dx.doi.org/10.1093/ajh/hpu068>.

WŁODARCZYK, M.; NOWICKA, G. Obesity, DNA damage, and development of obesity-related diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 5,

p. 1146, 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20051146>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity and overweight. 2021.**

Available in: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Access in May 2023.

WORLD OBESITY FEDERATION (WOF). World obesity atlas 2024. 2024.

Disponível em: <https://data.worldobesity.org/publications/?cat=22>. Access in mar 2024.

YIN, F.C.; SPURGEON, H.A.; RAKUSAN, K.; WEISFELDT, M.L.; LAKATTA, E.G.

Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: application in the aging rat.

American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology, v. 243, n. 6, H941-H947, 1982. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1982.243.6.H941>.

YOKOYAMA K.; YAMADA, Y.; AKAMATSU, Y.; YOSHINAKA, Y.; YAMAMOTO, A.;

KOIZUMI, T.; OHYAMA, K.; SUZUKI, K.; HASHIMOTO, M.; SATO, H.; KIMURA, M.

Effects of Capsinoids on Daily Physical Activity, Body Composition and Cold Hypersensitivity in Middle-Aged and Older Adults: A Randomized Study. **Nutrients**, v. 12, n.1, p. 212. 2020. <https://doi.org/10.3390/n12010212>.

ZHANG, L.; FANG, G.; ZHENG, L.; CHEN, Z.; LIU, X. The hypocholesterolemic effect of capsaicinoids in ovariectomized rats fed with a cholesterol-free diet was mediated by inhibition of hepatic cholesterol synthesis. **Food & Function**. n. 4, p. 738-744. 2013. <https://doi.org/10.1039/C3FO30321G>.

ZHANG, S.; DU, T.; ZHANG, J.; LU, H.; LIN, X.; XIE, J.; YANG, Y.; YU, X. The triglyceride and glucose (TyG) is an effective biomarker to identify nonalcoholic fatty liver disease. **Lipid in Health and Disease**, v.16, n.15, 2017.

<https://doi.org/10.1186/s12944-017-0409-6>.

ZHENG, J.; ZHENG, S.; FENG, Q.; ZHANG, Q.; XIAO, X. Dietary capsaicin and its anti-obesity potency: from mechanism to clinical implications. **Bioscience Reports**, v. 37, n. 3, BSR20170286, 2017. <http://dx.doi.org/10.1042/bsr20170286>.

ANEXOS

ANEXO A - Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **INFLUENCIA DA CAPSAICINA SOBRE A CONTRATILIDADE, MORFOLOGIA E ESTRESSE CARDIOVASCULAR**

Registrada sob o n.º 08/2022

sob a responsabilidade de **ANDRÉ SOARES LEOPOLDO**

que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.167 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO, em reunião no dia 04 de novembro de 2022 .

Vigência da autorização: setembro/2022 a agosto/2026

Finalidade: Pesquisa

Espécie(s): Rato - Rattus norvegicus albinus

Linhagem(ns)/raça(s): Wistar

Sexo: Macho

Idade: 30 dias

Peso: 100 a 150 gramas

Número de animais: 76

Origem: Biotério Central, CCS-UFES.

Raquel Spinassé Dettogni
Coordenadora da CEUA-UFES
SIAPE 1134154

Este Certificado revoga o certificado 02 de setembro de 2022
aprovado na reunião de

Vitória-ES, 04 de novembro de 2022