

RESPOSTA MORFOLÓGICA DO CORAÇÃO DE ZEBRAFISH (*Danio rerio*) DECORRENTES DE DIETA HIPERCALÓRICA E EXERCÍCIO FÍSICO

MORPHOLOGICAL RESPONSE OF THE HEART OF ZEBRAFISH (*Danio rerio*) RESULTING FROM HYPERCALORIC DIET AND PHYSICAL EXERCISE

G. P. MENDES¹; P. H. S. SILVA¹; P. V. P. GONÇALVES¹; SANTOS, C. R.¹;
E. M. M. LIMA^{1*}; A. R. C. BARRETO-VIANNA²

RESUMO

Foi avaliada quantitativamente a estrutura dos cardiomiócitos, núcleos de cardiomiócitos e fibras colágenas cardíacas de 48 Zebrafish, adultos, submetidos a dieta hipercalórica e exercício físico. A densidade volumétrica (Vv%) de cardiomiócitos foi de $54,71\% \pm 5,42$ no GM-dieta manutenção e de $44,31\% \pm 6,21$ no GMex dieta manutenção + exercício físico, $P=0,0142$; de $62,71\% \pm 7,4$ no GH-dieta hipercalórica e de $65,21\% \pm 2,29$ no GHex-dieta hipercalórica e exercício físico, $P=0,028$. A densidade volumétrica (Vv%) de núcleos de cardiomiócitos foi de $18,29\% \pm 5,28$ no GM e de $16,71\% \pm 1,25$ no GMex, $P=0,5384$; de $16,14\% \pm 5,69$ no GH e de $14,14\% \pm 1,21$ para os animais do GHex, $P=0,3738$. A densidade volumétrica (Vv%) das fibras colágenas foi de $7\% \pm 0,86$ no GM e de $4,89\% \pm 2,14$ no GMex, $P=0,0391$; de $4\% \pm 1,73$ no GH e de $3,33\% \pm 2,23$ no GHex, $P=0,0412$. A estrutura cardíaca sofreu modificações estruturais das células musculares e ainda nas quantidades de tecido conjuntivo. Comprovando desta forma a efetividade do modelo utilizado e protocolo imposto.

PALAVRAS-CHAVE: Cardiomiócitos. Peixes. Cardiovascular. Overfeeding.

SUMMARY

The structure of cardiomyocytes, cardiomyocyte nuclei, and cardiac collagen fibers in 48 adult Zebrafish was quantitatively evaluated under conditions of high-calorie diet and physical exercise. The volumetric density (Vv%) of cardiomyocytes was $54.71\% \pm 5.42$ in the GM (maintenance diet) group and $44.31\% \pm 6.21$ in the GMex (maintenance diet + physical exercise) group, $P=0.0142$. For the GH (high-calorie diet) group, the volumetric density was $62.71\% \pm 7.4$, and for the GHex (high-calorie diet + physical exercise) group, it was $65.21\% \pm 2.29$, $P=0.028$. The volumetric density (Vv%) of cardiomyocyte nuclei was $18.29\% \pm 5.28$ in the GM group and $16.71\% \pm 1.25$ in the GMex group, $P=0.5384$. For the GH group, it was $16.14\% \pm 5.69$, and for the GHex group, it was $14.14\% \pm 1.21$, $P=0.3738$. The volumetric density (Vv%) of collagen fibers was $7\% \pm 0.86$ in the GM group and $4.89\% \pm 2.14$ in the GMex group, $P=0.0391$. For the GH group, it was $4\% \pm 1.73$, and for the GHex group, it was $3.33\% \pm 2.23$, $P=0.0412$. The cardiac structure underwent structural modifications in the muscle cells and in the amounts of connective tissue, thus confirming the effectiveness of the model and protocol used.

KEY-WORDS: Cardiomyocytes. Fish. Cardiovascular. Overfeeding.

¹ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

² Universidade Federal do Paraná, Palotina, Paraná, Brasil.

*Autor para correspondência: limaemm@unb.br

INTRODUÇÃO

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura subcutânea e visceral. Uma das principais causas dessa condição é uma dieta desequilibrada, combinada com a ingestão excessiva de calorias e a falta de atividade física. Quando associada a distúrbios metabólicos e doenças, a obesidade pode levar a altos índices de morbidade e mortalidade.

O aumento da massa corporal, relativo a obesidade, promoveu danos na estrutura e função do coração (REN et al., 2021). As doenças cardiovasculares, incluindo o infarto do miocárdio, representaram um dos maiores problemas de saúde globalmente. A relação entre a epidemia de obesidade e hábitos não saudáveis sugeriu que a prevalência dessas doenças continuará aumentando ao longo do tempo (BRAUNWALD, 2015).

Além dos benefícios diretos na composição corporal, o exercício físico, melhorou da sensibilidade à insulina e redução do risco de desenvolver doenças metabólicas. Desempenhou o fortalecimento do coração, melhorando a capacidade de bombeamento sanguíneo, reduzindo a pressão arterial e diminuindo o risco de doenças cardiovasculares, como doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca e acidente vascular cerebral. A prática regular de exercício físico demonstrou proteger o coração contra doenças de forma comparável ao uso de medicamentos (NACI e IOANNIDIS, 2013). O exercício melhorou a função cardíaca e aumentou a massa miocárdica, diretamente devido ao aumento do tamanho dos cardiomiócitos (LERCHENMÜLLER e ROSENZWEIG, 2014).

O Zebrafish (*Danio rerio*) foi amplamente reconhecido como um modelo de estudo para investigação do desenvolvimento cardiovascular devido às suas características regenerativas (HU et al., 2000). Em particular, parte do tecido cardíaco foi regenerado por meio da proliferação e diferenciação de cardiomiócitos pré-existent (NUNES et al., 2022). Sendo então, estratégia terapêutica relevante para a regeneração do coração em mamíferos, incluindo humanos.

Uma alimentação saudável e a prática regular de exercícios físicos são elementos essenciais para manter a saúde do coração. Enquanto uma dieta hipercalórica aumenta o risco de hipertensão e doenças cardiovasculares, o exercício físico regula e promove hipertrofia cardíaca fisiológica, com melhora evidente da função do miocárdio. Neste estudo, o objetivo foi quantificar as estruturas presentes no coração do Zebrafish, observando as modificações estruturais decorrentes da disponibilidade de uma dieta hipercalórica e da imposição de exercício físico. Para tanto, foram avaliadas as densidades dos cardiomiócitos, dos núcleos dos cardiomiócitos e das fibras de colágeno.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental

Quarenta e oito peixes da espécie *Danio rerio*, trinta e oito machos e dez fêmeas, adultos, foram utilizados no experimento. Os animais foram obtidos de criação comercial, sem distinção de sexo, mas com idade

aproximada de 13 meses. Todos os peixes foram mantidos em aquários com temperatura constante de 24 ± 2 °C e pH = 7,0-7,5 (teste Labcon). Os níveis de amônia e nitrito foram verificados e corrigidos com frequência. Submetidos a aclimação e quarentena por 15 dias, foram então alojados em quatro grupos de 12 animais, em um aquário com quatro divisões de 19 litros de água estabilizada, mantido na temperatura ideal e adequadamente oxigenado. Todas as etapas do experimento foram realizadas por veterinários, seguindo as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA (2018) e do Comitê de Ética no Uso de Animais do Setor Palotina da UFPR (Protocolo número 32/2020).

Durante os períodos de aclimação e quarentena do experimento, os animais foram submetidos a um ciclo de 14 horas luz e 10 horas de escuro. Foram alimentados duas vezes ao dia com ração comercial em flocos (Alcon Basic®) - 5% de gordura, 45% de proteína, 5% de material fibroso e 15% de material mineral - criados em aquários com sistema de circulação fechada, à temperatura constante de 26 ± 2 °C controlada (Atman®). A água dos dos aquários foi submetida a circulação, por meio de bomba submersa para oxigenação (HBO-300) e filtração empregando-se filtro externo (Alife 500). Cada um dos aquários foi submetido a troca semanal de 10% do seu volume da água total, bem como, limpeza.

Ao longo deste período, a qualidade da água foi avaliada: a cada dia, pH = 6,8-7,0 (pH Tropical, LabconTest), semanalmente amônia = 0 ppm (Amônia Tóxica, LabconTest) e mensalmente oxigênio dissolvido = 6-8 mg/L (Oxigênio dissolvido, LabconTest). Quando necessário, os parâmetros foram corrigidos utilizando o corretivo de pH Discus Buffer (Seachem) e o removedor de amônia Am Guard (Seachem).

Administração das dietas e exercício físico

Mantendo as mesmas condições da aclimação e quarentena os animais foram submetidos a uma modificação gradual da sua dieta, por duas semanas, recebendo artêmias congeladas (AquaSmart - 22% de lipídios, 16% de carboidrato e 44% de proteínas), conforme proposto por Oka et al. (2010), até atingirem a quantidade representada:

1. Dieta Manutenção (GM): 5 mg cistos de artêmias/peixe/dia, uma vez ao dia (n=24). Durante treze semanas; 20 Kcal/dia por animal.

2. Dieta Hipercalórica (GH): 60mg cistos de artêmias/peixe/dia, duas vezes ao dia (n=24). Durante treze semanas; 240 Kcal/dia por animal.

Conforme protocolo proposto por Oka et al. (2010), após oito semanas cada grupo foi dividido em dois novos grupos para o estabelecimento do protocolo de imposição de exercício. Foram determinados quatro grupos, compostos de 12 animais, para tanto, os aquários foram mantidos nas mesmas condições expostas anteriormente. Sendo que, os grupos receberam dieta de manutenção/hipercalórica, conforme exposto abaixo, porém submetidos ou não ao exercício físico. Estes grupos, foram mantidos por treze semanas, em seguida foram eutanasiados por imersão em água gelada, 4 graus Celsius, por 15 minutos, conforme protocolo proposto por Gupta e Mullins (2010).

- GM: Dieta manutenção (n=12);
- GMex: Dieta manutenção + exercício físico (n=12);
- GH: Dieta hipercalórica (n=12);
- GHex: Dieta hipercalórica + exercício físico (n=12).

O protocolo de exercício físico foi realizado com base no trabalho de Van Der Meulen *et al.* (2006), para os animais: GMex: Dieta manutenção + exercício físico (n=12) e GHex: Dieta hipercalórica + exercício físico (n=12). Estes animais foram submetidos a seis horas de exercício físico forçado, estimulado através do fluxo de água controlado na velocidade de cinco centímetros por segundo (5 cm/seg), pelo total de treze semanas em aquário com um tubo para natação. Para diminuir o estresse e otimizar o protocolo imposto, todos os dias, o fluxo de água foi aumentado gradualmente até atingir a velocidade esperada em cerca de 5 minutos, até atingir o máximo de seis horas de exercício, na velocidade de (5 cm/sec) (VAN DER MEULEN *et al.*, 2006).

Ao longo de todo o período do experimento, individualmente, cada um dos animais, foi semanalmente submetido a pesagem, quando foram retirados e colocados em um béquer de vidro 100ml (Nalgon). Os pesos obtidos em gramas, em balança de precisão (Marte AD 1000).

Todos os animais, de cada um dos grupos, ao longo das 13 semanas, foram mensurados em relação ao seu comprimento longitudinal, empregando para tanto, a medida em centímetros, da distância obtida desde a cabeça até a cauda. Empregando para tanto paquímetro universal (Starret).

Avaliação histomorfométrica

Os peixes inteiros, foram fixados em 10% de formalina em solução aquosa por 24 horas, processados utilizando as técnicas histológicas convencionais e incluídos em blocos de paraplast (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Em seguida, cada bloco foi cortado longitudinalmente, com espessura de 4 µm, com auxílio do micrótomo manual (Leica RM 2125RT). As lâminas foram coradas de acordo com as técnicas histológicas de Hematoxilina e Eosina e Tricrômico de Masson.

Imagens digitais de 21 campos aleatórios de cada fragmento foram capturadas, em aumentos de 10x e 40x. As imagens digitais foram obtidas por meio de um microscópio óptico (BX51 Olympus®) juntamente com o programa de captura e análise de imagens (ProgRes® Capture Pro 2.5). Em campos aleatórios de cada fragmento, usando como padrão áreas com as fibras cardíacas longitudinais, foi quantificado os cardiomiócitos e o colágeno.

Para quantificar a área ocupada pelos cardiomiócitos foi utilizado o software de análise STEPanizer® (<http://stepanizer.com/>), utilizando 100 pontos seguindo o princípio de Delesse em que $V_v = A = P_p/P_t$ %, onde P_p são os pontos que incidem sobre a estrutura e P_t o número de pontos totais, deste modo foi obtido no final a área média de cada variável avaliada.

Foi quantificado a densidade de núcleos de cardiomiócitos, densidade de miocárdio e a densidade de fibras de colágeno. Ao contar o número de pontos correspondentes aos núcleos e aos cardiomiócitos dispostos ao longo do átrio e ventrículo, sendo que a diferença da área média de miocárdio pela área média de

tecido conjuntivo, sendo equivalente à área média de cardiomiócitos (N° cardiomiócitos = área média do miocárdio – área média do tecido conjuntivo).

Análise estatística

A massa corporal e comprimento e as densidades volumétricas (Vv%) dos miocárdios, núcleos de cardiomiócitos e das fibras de colágeno, foram testados quanto a normalidade a partir da aplicação do teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov, apresentados como $média \pm desvio$ padrão. A massa corporal e comprimento dos grupos foram testadas pela análise de variância one-way (ANOVA), seguida pelo pós-teste de múltipla comparação de Dunnett's Holm-Sidak, ao longo de 13 semanas. As densidades volumétricas (Vv%) dos miocárdios, núcleos de cardiomiócitos e das fibras colágenas, foram avaliadas entre os grupos (GM-GMex) e (GH e GHex) pela aplicação do teste t pareado. Considerando o valor $P \leq 0,05$, como estatisticamente significativo, para os testes. Foi utilizado o programa GraphPad Prism (Prism versão 6.0c para Mac, GraphPad Software, La Jolla, CA).

RESULTADOS

Ganho de massa e comprimento na imposição ou não ao exercício

GM - Grupo dieta de manutenção

Para os animais do GM, ao longo das 13 semanas, a massa corporal (gramas) e o comprimento (centímetros), mantiveram-se constantes, sem diferença estatística entre as semanas ($P \leq 0,05$), Tabelas 1 e 2.

GMex - Grupo dieta de manutenção e exercício físico

Para o grupo GMex, em relação a massa corporal, verificou-se diferença estatística entre os animais na primeira semana ($0,31g \pm 0,11$), com diminuição: de 30,83% para os da segunda semana; 33,59% para os da quarta semana e de 40,01% para os da sexta semana, Tabela 1. Em relação ao comprimento longitudinal (cm) dos animais deste grupo, não foi observada diferença estatística ao longo do período, Tabela 2.

GH - Grupo dieta hipercalórica

A dieta hipercalórica promoveu aumento da massa corporal (gramas) nos animais, ao longo das semanas. A análise de variância revelou diferenças estatísticas, entre a massa corporal, da primeira semana ($0,32g \pm 0,07$), quando comparados com os dados obtidos da sexta a décima terceira semana, Tabela 1. Incremento relativo de: 45,68% para os animais da sexta semana, 53,27% para os da sétima semana, 40,08% para os da oitava semana, 47,59% para os da nona semana, 63,94% para os da décima semana, 49,80% para os da décima primeira semana, 43,13% para os da décima segunda semana e de 28,89% para os da décima terceira semana. Não foi observada diferença estatística em relação ao comprimento dos animais, ao longo das semanas ($P \leq 0,05$), Tabela 2.

Tabela 1 - Pesos, médias±desvio padrão, obtidos para os Zebrafish submetidos a diferentes dietas e exercício físico.

Semanas	GM	GMex	GH	GHex
1	0,30±0,10	0,31±0,11	0,32±0,07	0,27±0,08
2	0,24±0,07	0,21±0,08*	0,34±0,08	0,27±0,08
3	0,25±0,08	0,24±0,08	0,36±0,08	0,29±0,07
4	0,22±0,07	0,21±0,07*	0,38±0,08	0,33±0,07
5	0,24±0,06	0,23±0,12	0,41±0,08	0,36±0,07
6	0,24±0,07	0,19±0,07*	0,47±0,08*	0,40±0,09*
7	0,20±0,09	0,26±0,08	0,49±0,11*	0,46±0,10*
8	0,21±0,07	0,28±0,07	0,45±0,05*	0,51±0,10*
9	0,22±0,10	0,27±0,06	0,48±0,05*	0,54±0,09*
10	0,23±0,13	0,30±0,05	0,53±0,07*	0,57±0,10*
11	0,22±0,11	0,25±0,03	0,48±0,05*	0,54±0,09*
12	0,21±0,09	0,25±0,05	0,46±0,03*	0,52±0,10*
13	0,21±0,09	0,24±0,07	0,41±0,06*	0,50±0,11*

GM-dieta de manutenção, GMex-dieta de manutenção + exercício físico, GH-dieta hipercalórica e GHex-dieta hipercalórica + exercício físico. Asterisco (*) entre as linhas de uma mesma coluna, sinalizou diferença estatística, quando comparado com os animais da primeira semana. ANOVA one way, pós-teste de múltipla comparação de Dunnett's Holm-Sidak ($P \leq 0,05$).

Tabela 2 - Comprimentos, médias±desvio, obtidos para os Zebrafish submetidos a diferentes dietas e exercício físico.

Semanas	GM	GMex	GH	GHex
1	2,79±0,39	2,62±0,48	2,95±0,14	2,63±0,45
2	2,82±0,30	2,60±0,47	3,19±0,14	2,73±0,34
3	2,95±0,33	2,79±0,38	3,09±0,27	2,95±0,28
4	3,0±0,39	2,83±0,47	3,16±0,26	2,95±0,32
5	2,97±0,34	2,83±0,40	3,18±0,26	2,97±0,34
6	2,95±0,33	2,80±0,34	3,20±0,25	3,07±0,21
7	2,72±0,34	2,88±0,20	3,18±0,24	3,11±0,21
8	2,72±0,41	3,0±0,22	3,18±0,25	3,12±0,33
9	2,60±0,45	3,10±0,20	3,04±0,25	3,29±0,33*
10	2,60±0,46	3,10±0,21	3,04±0,14	3,29±0,33*
11	2,66±0,43	3,10±0,22	3,04±0,15	3,30±0,38*
12	2,68±0,45	3,06±0,17	3,05±0,12	3,31±0,35*
13	2,78±0,39	3,08±0,20	3,25±0,35	3,61±0,33*

GM-dieta de manutenção, GMex-dieta de manutenção + exercício físico, GH-dieta hipercalórica e GHex-dieta hipercalórica + exercício físico. Asterisco (*) entre as linhas de uma mesma coluna, sinalizou diferença estatística, quando comparado com os animais da primeira semana. ANOVA one way, pós-teste de múltipla comparação de Dunnett's Holm-Sidak ($P \leq 0,05$).

GHex – Grupo dieta hipercalórica e exercício físico

Foram observadas diferenças estatísticas das massas corporais (gramas) dos animais do grupo GHex, da primeira semana (0,27g±0,08) em relação as massas corporais dos animais da sexta até a décima terceira semana, Tabela 1. Houve incremento de 45,75% para os animais da sexta semana, 65,66% para os da sétima semana, 85,98% para os da oitava semana, 96,88% para os da nona semana, 104,48% para os da décima semana, 94,59% para os da décima primeira semana, 87,16% para os da décima segunda semana e de 79,69% para os da décima terceira semana. Foi observada diferença estatística em relação ao comprimento dos animais, da

nona até a décima terceira semana, quando comparados com os animais da primeira semana, Tabela 2.

Avaliação histomorfométrica

O tecido cardíaco dos Zebrafish, dos quatro grupos, foi composto por cardiomiócitos, com alto grau de anastomose entre as fibras, Figura 1. E com espaços trabeculares preenchidos por tecido conjuntivo.

A densidade volumétrica dos cardiomiócitos (Vv%) sofreu um incremento, sinalizando uma influência, da dieta (5,09%) e ainda do exercício físico (3,98%), conforme exposto na Tabela 3. Com diferença estatística entre estes $P \leq 0,05$.

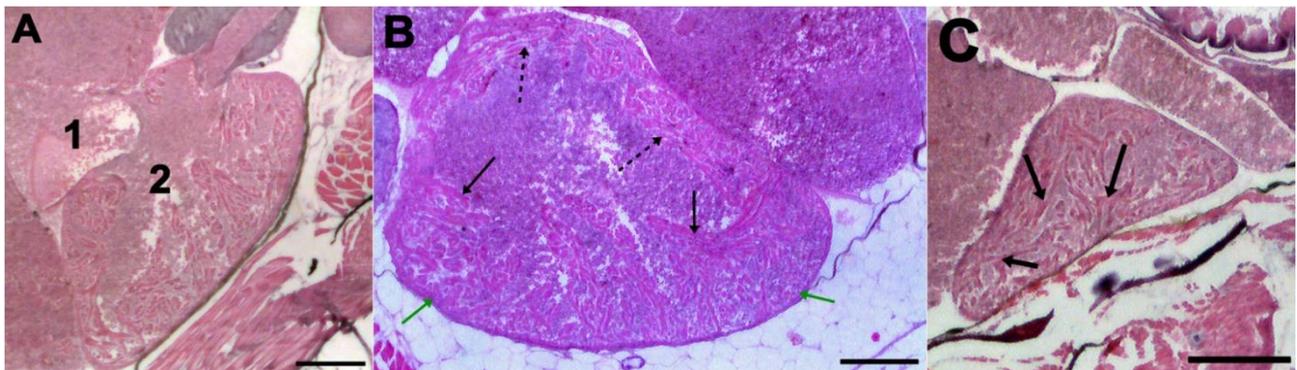


Figura 1 - Fotomicrografias em Hematoxilina-Eosina, do coração do Zebrafish. **A.** átrio (1) e ventrículo (2), GM, barra 25µm; **B.** fibras de colágeno (seta verde), camadas externa (seta segmentada) e interna dos cardiomiócitos (seta contínua), GMex, barra 25µm; **C.** representação de diferentes graus de anastomose evidenciados entre os cardiomiócitos (setas contínuas), GHex, barra 50µm.

Conforme a Tabela 3, a densidade volumétrica dos núcleos dos cardiomiócitos (Vv%) não houve diferença estatística $P \leq 0,05$ entre os grupos avaliados. Para os animais dos GM e GMex, houve diminuição de 8,64%. Já entre GH e GHex esta diminuição foi de 12,39%.

As fibras de colágeno, estiveram dispostas em formato de feixes, de forma desorganizada ao longo dos

espaços trabeculares do tecido cardíaco. Com diminuição e diferença estatística entre os grupos ($P \leq 0,05$). Para os animais dos grupos GM e GMex a diminuição foi de 30,14% e entre os animais dos grupos GH e GHex a diminuição foi de 16,75%, conforme a Tabela 3.

Tabela 3 - Densidades volumétricas (Vv%), média±desvio padrão, dos cardiomiócitos (Cardm), núcleos dos cardiomiócitos (Ncardm) e das fibras de colágeno (Colag) do tecido cardíaco de Zebrafish.

	GM	GMex	P	GH	GHex	P
Cardm	54,71±5,42	57,5±5,49	0,0142	62,71±7,45	65,21±2,29	0,0280
Ncardm	18,29±5,28	16,71±1,25	0,5384	16,14±5,69	14,14±1,21	0,3738
Colag	7±0,86	4,89±2,14	0,0391	4±1,73	3,33±2,23	0,0412

GM-dieta manutenção, GMex-dieta manutenção + exercício físico, GH-dieta hipercalórica, GHex-dieta hipercalórica e exercício físico. Durante 13 semanas. P-probabilidade de significância. Valores de $P \leq 0,05$, indicaram diferença estatística entre os grupos a partir da aplicação do teste t pareado.

DISCUSSÃO

O desempenho dos animais frente a dieta hipercalórica e exercício físico, para os grupos GH e GHex, promoveu aumento significativo da massa corporal, frente as dietas. Com incremento de seus pesos a partir da sexta semana. Coincidindo com estudo com Zebrafish alimentados com dieta hiperlipídica, quando os animais atingiram a obesidade em oito semanas (OKA et al., 2010).

Em relação ao crescimento longitudinal, foi observado no grupo GHex que diferença estatística quando comparados com a primeira semana ($P \leq 0,05$). Esse resultado corrobora com estudo que encontraram efeitos estimuladores do crescimento frente a um protocolo de exercício intenso em Zebrafish (PALSTRA et al., 2010). Sendo determinante para afirmar o efeito positivo, do exercício e da dieta, frente ao crescimento longitudinal dos animais.

No grupo GMex, houve diminuição da massa corporal da segunda, quarta e sexta semanas, em comparação com a primeira semana. Devido as artêmias

serem hiperlipídicas, mas não ter ocorrido “overfeeding”. Coincidindo daí com roedores, que tiveram perda de peso, diante de uma dieta cetogênica e submetidos a exercício de resistência (MA et al., 2018).

Desordens, causadas por dieta com alto teor de gorduras e calorias, foi capaz de promover lesões nos cardiomiócitos ao desencadear apoptose (SLETTEN et al., 2018). Uma dieta hiperlipídica em ratos adolescentes levou a uma supressão fisiológica da maturação do coração (HYNYNEN et al., 2020). Considerando, que a dieta hiperlipídica respondeu pela capacidade ativa de promover a autofagia no coração de camundongos (TONG et al., 2019). Apesar dos relatos, nos animais investigados, a metodologia empregada permitiu observarmos que a densidade volumétrica dos cardiomiócitos se alterou diante da oferta de uma dieta hipercalórica, com incremento. A dieta hiperlipídica certamente foi responsável por promover aumento nas dimensões dos cardiomiócitos. Sinalizado pelo aumento volumétrico dos cardiomiócitos.

O exercício físico, causou incremento da densidade volumétrica dos cardiomiócitos. Garantindo

então, que o exercício físico, poderia ser considerado um mecanismo de proteção do coração, responsável pela melhora da função, aumento da massa miocárdica e do tamanho dos cardiomiócitos (NACI e IOANNIDIS, 2013; LERCHENMÜLLER e ROSENZWEIG, 2014). Com este entendimento, foi observado em ratos que a dieta hiperlipídica respondeu pela hipertrofia do tecido cardíaco (SCIARRETTA et al., 2012). Portanto, o exercício físico regular de corrida, demonstrou em ratos, que houve ormação de novos cardiomiócitos, reforçando o conceito de que o exercício ativou a capacidade endógena de regeneração do coração de mamífero adulto, diante de lesões (VUJIC et al., 2018). No Zebrafish, o exercício estimulou a proliferação dos cardiomiócitos, sem a ocorrência de hipertrofia (ROVIRA et al., 2018).

Foi possível verificar nos animais avaliados, que houve sim, uma hipertrofia do tecido cardíaco, como proposto por Sciarretta et al. (2012). Conforme os valores obtidos para a densidade volumétrica dos cardiomiócitos. Fato que se mostrou contrário as informações de Rovira et al. (2018), quando mesmo diante da imposição do exercício físico, não houve o estabelecimento de uma hipertrofia dos cardiomiócitos. Mesmo quando considerados os valores obtidos para a densidade volumétrica do número de núcleos dos cardiomiócitos, devido a dieta hiperlipídica e o exercício físico, não foi possível afirmar precisamente que novas células surgiram, diferentemente do observado por Vujic et al. (2018).

Em Zebrafish, o exercício físico não aumentou o número de fibras de colágeno, mesmo quando houve lesão cardíaca (ROVIRA et al., 2018). De outra forma, a recuperação de ferida provocada por cirurgia no tecido cardíaco em Zebrafish promoveu aumento na densidade de colágeno, na regeneração, atuando assim, como obstáculo na reposição de tecido cardíaco funcional (BISE et al., 2020). A elevação da concentração de ácidos graxos circulantes, contribuiu sinergicamente, para disfunção endotelial, desencadeando o acúmulo de tecido fibroso (GHOSH et al., 2017). Em ratos obesos, a dieta hiperlipídica causou disfunção cardíaca decorrentes do acúmulo de lipídios e fibrose intersticial (XU et al., 2022). As diferentes dietas e o exercício físico, foram capazes de diminuir significativamente a deposição das fibras de colágeno no coração de Zebrafish.

Com base nos resultados deste estudo, podemos concluir que a dieta hipercalórica e o exercício físico exercem efeitos significativos na estrutura dos cardiomiócitos e fibras de colágeno em Zebrafish. Os achados destacaram a importância da dieta adequada e do exercício físico na manutenção da saúde cardiovascular. O modelo mostrou-se valioso para investigar os efeitos da dieta hipercalórica e do exercício físico nas células cardíacas e fibras de colágeno. Essas descobertas podem contribuir para uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes às alterações cardiovasculares associadas ao overfeeding, bem como, para o desenvolvimento de estratégias preventivas e terapêuticas para doenças cardíacas relacionadas à dieta e ao estilo de vida.

REFERÊNCIAS

- BISE, T.; SALLIN, P.; PFEFFERLI, C.; JAŻWIŃSKA, A. Multiple cryoinjuries modulate the efficiency of zebrafish heart regeneration. **Scientific Reports**, v.10, n.1, p.11551-115578, 2020.
- BRAUNWALD, E. The war against heart failure: the Lancet lecture. **Lancet**, v.385, n.9970, p.812-824, 2015.
- GHOSH, A.; GAO, L.; THAKUR, A.; SIU, P.M.; LAI, C.W.K. Role of free fatty acids in endothelial dysfunction. **Journal of Biomedical Science**, v.24, n.1, p.50-102, 2017.
- GUPTA, T.; MULLINS, M. C. Dissection of Organs from the Adult Zebrafish. **Journal of Visualized Experiments**, v. 37, p. 1717-1727, 2010.
- HU, N.; SEDMERA, D.; YOST, H. J.; CLARK, E. B. Structure and Function of the Developing Zebrafish Heart. **The Anatomical Record**, v. 260, n. 2, p. 148–157, 2000.
- HYNYNEN, H.; MUTIKAINEN, M.; NAUMENKO, N.; SHAKIRZYANOVA, A.; TUOMAINEN, T.; TAVI P. Short high-fat diet interferes with the physiological maturation of the late adolescent mouse heart. **Physiological Reports**, v8, n.13. e.14474, 2020.
- LERCHENMÜLLER, C.; ROSENZWEIG, A. Mechanisms of exercise-induced cardiac growth. **Drug Discovery Today**, v.19, n.7, p.1003-9, 2014.
- MA, S.; HUANG, Q.; YADA, K.; LIU, C.; SUZUKI, K. An 8-Week Ketogenic Low Carbohydrate, High Fat Diet Enhanced Exhaustive Exercise Capacity in Mice. **Nutrients**, v.10, n.6, p.673-698, 2018.
- NACI, H.; IOANNIDIS, J.P. Comparative effectiveness of exercise and drug interventions on mortality outcomes: metaepidemiological study. **BMJ**, v.49, n.21, p.1414-22., 2013.
- NUNES, L.S.; DOMINGUES, W.B.; KREMER, F.S.; PINHAL, D.; CAMPOS, V.F. Reconstruction of regulatory network predicts transcription factors driving the dynamics of zebrafish heart regeneration. **Gene**, v.819, 146242, 2022.
- OKA, T.; NISHIMURA, Y.; ZANG, L.; HIRANO, M.; SHIMADA, Y.; WANG, Z.; UMEMOTO N.; KUROYANAGI, J.; NISHIMURA N.; TANAKA T. Diet-induced Obesity in Zebrafish Shares Common Pathophysiological Pathways with Mammalian Obesity. **BMC Physiology**, v. 10, p.21-51, 2010.
- PALSTRA, A.P.; TUDORACHE, C.; ROVIRA, M.; BRITTIJN, S.A.; BURGERHOUT, E.; VAN DEN THILLART, G.E.; SPAINK, H.P.; PLANAS, J.V. Establishing zebrafish as a novel exercise model: swimming economy, swimming-enhanced growth and muscle growth marker gene expression. **PLoS One**, v.5, n.12, e14483, 2010.

REN, J.; WU, N.N.; WANG, S.; SOWERS, J.R.; ZHANG, Y. Obesity cardiomyopathy: Evidence, mechanisms, and therapeutic implications. **Physiology**, v.101, p1745–1807, 2021.

ROVIRA, M.; BORRÀS, D.M.; MARQUES, I.J.; PUIG, C.; PLANAS, J.V. Physiological Responses to Swimming-Induced Exercise in the Adult Zebrafish Regenerating Heart. **Frontiers in Physiology**, v.9, p.1362-1396, 2018.

SLETTEN, A.C.; PETERSON, L.R.; SCHAFFER, J.E. Manifestations and mechanisms of myocardial lipotoxicity in obesity. **Journal of Internal Medicine**, v.284, p.478–491, 2018.

SCIARRETTA, S.; ZHAI, P.; SHAO, D.; MAEJIMA, Y.; ROBBINS, J.; VOLPE, M.; CONDORELLI, G.; SADOSHIMA, J. Rheb is a critical regulator of autophagy during myocardial ischemia: pathophysiological implications in obesity and metabolic syndrome. **Circulation**, v.125, n.9, p.1134-1146, 2012.

TONG, M.; SAITO, T. ; ZHAI, P.; OKA, S.I.; MIZUSHIMA, W.; NAKAMURA, M.; IKEDA, S.; SHIRAKABE, A.; SADOSHIMA, J. Mitophagy Is Essential for Maintaining Cardiac Function During High Fat Diet-Induced Diabetic Cardiomyopathy. **Circulation Research**, v.124, n.9, p.1360-1371, 2019.

VAN DER MEULEN, T.; SCHIPPER, H.; VAN DEN BOOGAART, J. G. M.; HUISING, M. O.; KRANENBARG, S.; VAN LEEUWEN, J. L. Endurance exercise differentially stimulates heart and axial muscle development in zebrafish (*Danio rerio*). **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 291, n. 4, p. 1040-1048, 2006.

VUJIC, A.; LERCHENMÜLLER, C.; WU, T.D.; GUILLERMIER, C.; RABOLLI, C.P.; GONZALEZ, E.; SENYO, S.E.; LIU, X.; GUERQUIN-KERN, J.L.; STEINHAUSER M.L.; LEE R.T.; ROSENZWEIG A. Exercise induces new cardiomyocyte generation in the adult mammalian heart. **Nature Communications**, v.9, n.1, p.1659-1682, 2018.

XU, Z.; QIN, Y, L.V.B.; TIAN, Z.; ZHANG, B. Intermittent Fasting Improves High-Fat Diet-Induced Obesity Cardiomyopathy via Alleviating Lipid Deposition and Apoptosis and Decreasing m6A Methylation in the Heart. **Nutrients**, v.14, n.2, p.251-274, 2022.