

Influência do Consumo de Suco de Laranja (*Citrus Sinensis*) na Remodelação Cardíaca de Ratos Submetidos a Infarto do Miocárdio

*Influence of Consumption of Orange Juice (*Citrus Sinensis*) on Cardiac Remodeling of Rats Submitted to Myocardial Infarction*

Bruna C. Oliveira,¹ Priscila P. Santos,¹ Amanda M. Figueiredo,¹ Bruna P. M. Rafacho,¹ Larissa Ishikawa,² Silméia G. Zanati,¹ Ana A. H. Fernandes,² Paula S. Azevedo,¹ Bertha F. Polegato,¹ Leonardo A. M. Zornoff,¹ Marcos F. Minicucci,¹ Sergio A. R. Paiva^{1,3}

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho Campus de Botucatu - Faculdade de Medicina de Botucatu,¹ Botucatu, SP - Brasil

Instituto de Biociências Campus de Botucatu (UNESP),² Botucatu, SP - Brasil

Food Research Center FoRC,³ São Paulo, SP - Brasil

Resumo

Fundamento: O suco de laranja (SL) é rico em polifenóis com propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Após o infarto do miocárdio (IM), mudanças complexas ocorrem na estrutura e na função cardíacas, processo conhecido como remodelação cardíaca (RC). O estresse oxidativo e a inflamação podem modular esse processo. Nossa hipótese foi a de que o consumo de SL atenua a RC após o IM.

Objetivos: Avaliar a influência do SL sobre a RC após IM pela análise de variáveis funcionais, morfológicas, de estresse oxidativo, de inflamação, e de metabolismo energético.

Métodos: Um total de 242 ratos machos pesando entre 200 e 250g foram submetidos a um procedimento cirúrgico (ligação da artéria coronária ou cirurgia simulada). Sete dias após a cirurgia, os animais sobreviventes foram divididos para um dos quatro grupos: 1) SM, animais sham que receberam água e maltodextrina (n= 20); 2) SSL, animais sham que receberam SL (n= 20); 3) IM, animais infartados que receberam água e maltodextrina (n= 40); e 4) ISL, animais infartados que receberam SL (n = 40). A análise estatística foi realizada pelo teste de ANOVA com dois fatores com o teste de Holm-Sidak. Os resultados foram apresentados em média \pm desvio padrão, e o nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados: Três meses depois, o IM levou à hipertrofia do ventrículo esquerdo (VE), com disfunção sistólica e diastólica, e aumento nos mediadores inflamatórios e de estresse oxidativo. Os animais que consumiram SL apresentaram menor atividade da glutathione peroxidase e maior expressão da heme-oxigenase-1 (HO-1).

Conclusão: O SL atenuou a RC, e a HO-1 pode exercer um importante papel nesse processo.

Palavras-chave: Infarto do Miocárdio; Sucos de Frutas; *Citrus Sinensis* (laranja); Polifenóis; Remodelação Ventricular; Anti-Inflamatórios; Antioxidantes; Ratos.

Abstract

Background: Orange juice (OJ) is rich in polyphenols with anti-inflammatory and antioxidant properties. After myocardial infarction (MI), complex changes occur in cardiac structure and function, which is known as cardiac remodeling (CR). Oxidative stress and inflammation can modulate this process. We hypothesized that the consumption of OJ attenuates the CR after MI.

Objectives: To evaluate the influence of OJ on CR after MI by analysis of functional, morphological, oxidative stress, inflammation, and energy metabolism variables.

Methods: A total of 242 male rats weighing 200-250 g were submitted to a surgical procedure (coronary artery ligation or simulated surgery). Seven days after surgery, survivors were assigned to one of the four groups 1) SM, sham animals with water and maltodextrin (n= 20); 2) SOJ, sham animals with OJ (n= 20); 3) IM, infarcted animals with water and maltodextrin (n= 40); and 4) IOJ, infarcted animals with OJ (n = 40). Statistical analysis was performed by the two-way ANOVA supplemented by Holm-Sidak. Results are presented as mean \pm standard deviation, the level of significance adopted was 5%.

Results: After 3 months, MI led to left ventricular (LV) hypertrophy, with systolic and diastolic dysfunction, and increased oxidative stress and inflammatory mediators. OJ intake reduced LV cavity and improved systolic and diastolic function. The OJ animals presented lower activity of glutathione peroxidase and higher expression of heme-oxygenase-1 (HO-1).

Correspondência: Sergio A. R. Paiva •

Faculdade de Medicina de Botucatu - Rubião Júnior, CEP 18618-970, Botucatu, SP - Brasil

E-mail: sergio.paiva@unesp.br

Artigo recebido em 17/07/2019, revisado em 29/03/2020, aceito em 10/06/2020

DOI: <https://doi.org/10.36660/abc.20190397>

Conclusion: OJ attenuated CR in infarcted rats and HO-1 may be play an important role in this process.

Keywords: Myocardial Infarction; Fruits Juices (orange); Polyphenols; Ventricular Remodeling; Anti-Inflammatory Agents; Antioxidants. **Full**

texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Introdução

O nome *polifenóis*, ou *compostos fenólicos*, refere-se a um grande grupo de moléculas encontradas em verduras, frutas, cereais, chá, café, cacau, soja, e suco de fruta.¹ Esses compostos têm sido estudados devido ao seu potencial efeito biológico na prevenção e tratamento de diferentes doenças.^{2,3}

Em revisão da literatura, Hyson mostrou que o suco da fruta, definido como suco puro ou 100% suco, reteve a maioria dos nutrientes e fitoquímicos da fruta íntegra e, portanto, pode ser importante no benefício e proteção da saúde humana.⁴ O suco de laranja (SL) é fonte de compostos fenólicos na forma de diferentes flavonoides. O principal flavonoide de interesse é a hesperidina e sua forma hidrolisada, a hesperetina.⁵ O interesse na pesquisa sobre as propriedades do SL aumentou devido à sua ação anti-inflamatória e antioxidante nas doenças crônicas.⁶

Por exemplo, na lesão miocárdica, suplementos de antioxidantes podem ter efeito benéfico na remodelação cardíaca (RC). Em estudos usando modelo de infarto do miocárdio (IM), compostos bioativos presentes no alecrim, tomate, e chá verde, e antioxidantes tais como ácido ascórbico, quercetina, alfa-tocoferol, e vitamina A mostram efeito protetor contra a RC.^{1,3,7-10}

A doença cardíaca isquêmica, incluindo o IM, é uma causa importante de insuficiência cardíaca e morte em todo o mundo. Após o IM, mudanças complexas no ventrículo esquerdo (VE) podem causar alterações no tamanho, na massa, e na geometria do coração, e na função cardíaca.^{11,12} Tais mudanças são definidas como RC e podem levar à insuficiência cardíaca e aumento na mortalidade.¹³ Muitos fatores podem estar envolvidos na RC, incluindo estresse oxidativo, inflamação, fibrose, e apoptose.^{14,15}

No IM, a isquemia inicia a geração de espécies reativas de oxigênio (EROS). As EROS danificam diretamente as membranas celulares, ativam a resposta inflamatória, e levam à morte celular. Elas também podem atuar como sinais de transdução, estimulando o fator nuclear kappa B (NF-κB), o qual estimula a síntese de citocinas pró-inflamatórias.¹⁴⁻¹⁶ Além disso, o sistema KEAP-1/Nrf2 (proteína 1 associada a ECH tipo Kelch/fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2) poderia ser ativado durante o estresse oxidativo celular, e exercer papel crítico na homeostase redox. Esse é um mecanismo universal que atua nos genes-alvo do Nrf2, conhecidos como elementos de resposta antioxidante. A glutathione peroxidase (GPx) e a heme-oxigenase-1 (HO-1) são exemplos de proteínas reguladas por esse sistema.¹⁷

Estratégias terapêuticas para atenuar a RC após o IM têm sido muito estudadas.^{18,19} Bloqueadores de aldosterona, inibidores da enzima conversora de angiotensina e betabloqueadores são algumas dessas estratégias.²⁰ Nesse contexto, os compostos bioativos de produtos naturais, com propriedades cardioprotetoras, tais como os flavonoides,

podem ser importante adjuvante no tratamento de IM. Por outro lado, estudos mostram que um foco em padrões alimentares e dietéticos, e não em nutrientes ou fitoquímicos individuais, é melhor para a saúde cardiometabólica.²¹ Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da ingestão de SL sobre a RC após IM.

Materiais e métodos

Protocolo experimental

Todos os experimentos e procedimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes para o cuidado e o uso de animais em laboratório dos Institutos Nacionais da Saúde (NIH), e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, São Paulo, Brasil (1126/2015). Foram utilizados 242 ratos Wistar machos, pesando 200 - 250 g. O IM foi induzido por ligação da artéria coronária, como descrito previamente.^{22,23}

Após a cirurgia, os animais foram colocados em caixas com seis animais cada. Sete dias depois, o primeiro estudo ecocardiográfico foi realizado para avaliar a eficácia do procedimento cirúrgico.²⁴ Com base nesse ecocardiograma, os animais foram alocados aleatoriamente em caixas com dois animais cada, para receberem SL ou uma solução de maltodextrina (M). Os grupos foram: 1) SM, animais sham que receberam solução de M (n=20); 2) SSL, animais sham que receberam SL (n=20); 3) IM, animais com infarto que receberam solução de M; e 4) ISL, animais com infarto que receberam SL (n=40). O tamanho da amostra utilizada baseou-se em outros estudos realizados em nosso laboratório.^{3,8,25} O número de ratos no grupo infartado foi maior, uma vez que a mortalidade esperada para esses animais durante o período experimental é de aproximadamente 50%. Além disso, somente animais com área infartada do VE maior que 30% foram incluídos no estudo.²⁴

O alimento era oferecido à vontade (*ad libitum*). Os animais foram tratados durante três meses, e a mortalidade foi avaliada nesse período (Figura 1 dos dados suplementares). Os ratos foram condicionados em temperatura controlada (22 ± 2°C), com um ciclo claro-escuro de 12 horas.

Ligação da artéria coronária

O IM foi induzido por ligação da artéria coronária, conforme descrito previamente.^{22,23} Em resumo, os ratos foram anestesiados com cetamina (70mg/Kg) e xilazina (1mg/Kg). Após toracotomia esquerda, o coração foi retirado. O átrio esquerdo foi retraído para facilitar a ligação da artéria coronária esquerda, com fio mononylon 5.0 entre a saída da artéria pulmonar e o átrio esquerdo. O coração foi recolocado no tórax, os pulmões inflados com pressão positiva, seguido por fechamento da toracotomia. Também se criou um grupo

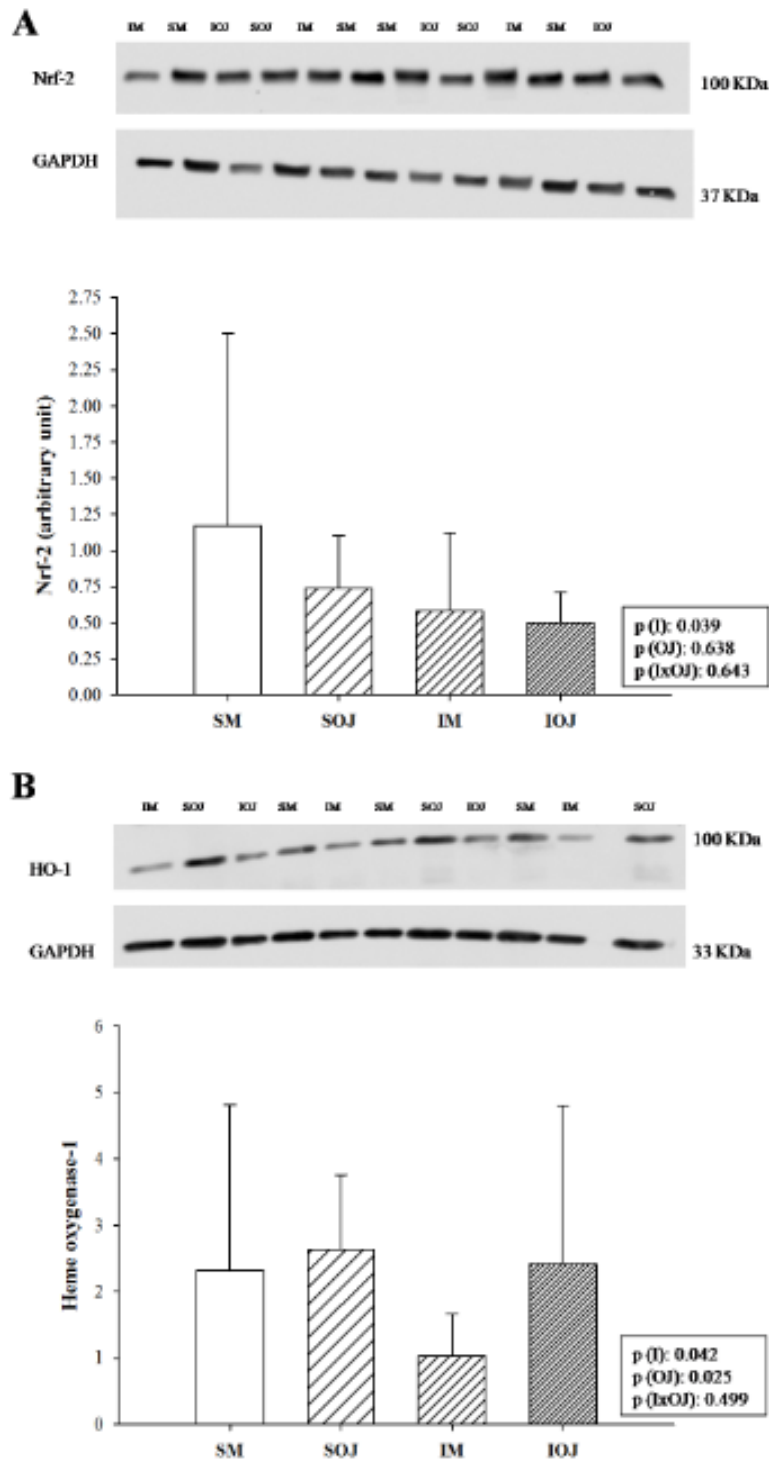


Figura 1 – Expressão de fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) e heme-oxigenase-1 (HO-1) em ratos sham e ratos infartados por Western blot. Gráfico de barras mostrando a expressão de Nrf-2 e de HO-1 em cada grupo (A) expressão do Nrf-2 e Western blot representativo; tamanho da amostra: 8 animais em cada grupo; (B) expressão de HO-1 e Western blot representativo; tamanho da amostra: SM = 5; SSL = 6; IM = 5; ISL = 5; GAPDH gliceraldeído -3-fosfato-desidrogenase; dados expressos em média \pm DP. p(I): valor p entre animais infartados e não infartados; p(SL): valor p entre animais que receberam maltodextrina e animais que receberam suco de laranja; p(IxSL): representa o valor de p quando houve interação entre fatores relacionados a infarto e fatores relacionados ao consumo de suco de laranja

sham, em que os animais foram submetidos à cirurgia sem oclusão coronária. Após o efeito da anestesia, os ratos foram medicados oralmente com Metamizol sódico (30 mg / kg Dipirona®, Biovet, Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil).

Suco de laranja

Os grupos SSL e ISL receberam suco de laranja em regime *ad libitum*. Os grupos controles (SM e IM) receberam uma solução de água e M na concentração de 100g/L. A solução de M foi dada aos animais controle para fornecer a mesma quantidade de carboidratos que o SL. O tratamento foi iniciado sete dias após a cirurgia. O SL e as soluções de M eram trocadas a cada 24 horas, e o consumo foi monitorado diariamente. A composição nutricional do SL é apresentada nos dados suplementares.

Estudo ecocardiográfico

Após três meses, todos os ratos foram pesados e avaliados por ecocardiografia transtorácica.^{26,27} Para o estudo ecocardiográfico, os ratos foram anestesiados com injeção intramuscular de solução de cetamina (50 mg/kg) e xilazina (1 mg/kg). As medidas foram feitas pelo mesmo observador, seguindo o método de última geração recomendado pela Sociedade Americana de Ecocardiografia e a Associação Europeia de Ecocardiografia.²⁸ O ecocardiograma foi realizado com o sistema General Electric Vivid S6 System (GE Medical Systems, Tirat Carmel, Israel), com sonda *phased array* de 5 a 12-MHz.

Após o ecocardiograma, os animais foram eutanasiados com uma alta dose de pentobarbital, e os corações foram removidos. O VE foi isolado e amostras foram retiradas e imediatamente congeladas e armazenadas a -80°C. Um corte transversal do VE foi separado e fixado com formalina tamponada 10%, e embebidos em parafina para estudo histológico.

Análise morfométrica

Cortes de cinco micrômetros de espessura foram marcados com hematoxilina e eosina para cálculo do tamanho do infarto conforme descrito anteriormente. Todos os animais foram incluídos na análise morfométrica. Após o cálculo do tamanho do infarto, os animais infartados com menos de 30% do VE de área infartada foram excluídos das análises. Todas as imagens foram coletadas com câmera de vídeo acoplada ao microscópio (Leica); as imagens foram analisadas usando o software Image-Pro Plus 3.0 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD).

Hidroperóxido lipídico no tecido cardíaco, atividade de enzima antioxidante, e metabolismo energético cardíaco

Amostras do VE (100mg) foram usadas para medidas de proteína total e hidroperóxido lipídico (HL), e atividade das seguintes enzimas antioxidantes – GPx (E.C.1.11.1.9), superóxido dismutase (SOD, E.C.1.15.1.1), e catalase (E.C.1.11.1.6). O metabolismo energético cardíaco foi avaliado pela atividade da 3-hidroxiacil coenzima-A desidrogenase (OHADH; E.C.1.1.1.35.), fosfofrutoquinase (PFK; E.C.2.7.1.11), lactato desidrogenase (LDH;

E.C.1.1.1.27), piruvato desidrogenase (E.C.1.2.4.1), citrato sintase (CS; E.C.4.1.3.7.), e trifosfato de adenosina (ATP) sintase (EC 3.6.3.14).^{3,9} Os testes de atividade enzimática foram realizados a 25°C com um leitor de microplaca (μ Quant-MQX 200-EONC com o software Gen5 2.0 conectado a um sistema de controle; Bio-Tec Instruments, VT, EUA). Todos os reagentes foram obtidos de Sigma (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

Mediadores inflamatórios

Concentrações de interferon- γ (IFN- γ) e interleucina-10 (IL-10) nas amostras do VE foram determinadas por ELISA seguindo-se as instruções do fabricante (R&D Systems, Minneapolis, MN).

Western blot

O teste de Western blot foi realizado para analisar a expressão proteica da GPx-1 (ab 22604 - Abcam Inc, Cambridge), HO-1 (ab13248 - Abcam Inc, Cambridge), NF- κ B total e fosforilada (NF- κ B- sc 8008 e sc 3302- Santa Cruz Biotechnology, Inc, Europa), e sirtuína-1 (Sirt-1- sc 15404-Santa Cruz Biotechnology, Inc, Europa), no extrato celular total. Para determinar o fator nuclear eritroide 2 (Nrf-2-sc 722-Santa Cruz Biotechnology Inc, Europe), amostras do VE foram extraídas utilizando-se tampão de extração nuclear.⁹ As amostras foram separadas em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) a 10%, e as proteínas transferidas para uma membrana de nitrocelulose. A membrana foi bloqueada com leite em pó desnatado (5%) e em seguida incubada com anticorpo primário e anticorpo secundário. Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) (sc 32233, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Europa) foi usada para normalização das proteínas.

Análise estatística

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP). As variáveis com distribuição normal foram analisadas pelo teste de variância com dois fatores, que fornece três valores p: 1) fator 1, presença de IM (I); 2) fator 2, ingestão de SL (SL); e 3) interação entre os fatores I e SL. Na análise de variância com dois fatores, assume-se a normalidade da distribuição dos dados. Se uma variável não se ajusta à distribuição normal, realiza-se transformação dos dados. O teste t de Student não pareado foi usado para análise do ecocardiograma inicial. O teste do qui-quadrado foi usado para avaliar mortalidade, e o teste t de Student não pareado foi usado para avaliar o tamanho do infarto nos animais infartados. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas se o valor de p fosse inferior a 0,05. As análises estatísticas foram realizadas usando o programa SigmaPlot para Windows 12.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA).

Resultados

O ecocardiograma inicial mostrou que os animais dos dois grupos de animais infartados não apresentaram diferenças na

área sistólica e diastólica ou no tamanho do infarto (Tabela 1 do material suplementar).

Durante os três meses de experimento, a mortalidade foi de 5% no grupo SM (um rato morreu), 0% no grupo SSL, 22,5% no grupo IM (9 ratos morreram), e de 22,5% no grupo ISL (9 ratos morreram). Quando todos os grupos foram analisados, observou-se uma diferença na mortalidade entre os grupos ($p=0,04$). Contudo, a mortalidade não foi diferente entre os grupos infartados ($p=0,836$). Após o período de consumo de SL, realizou-se a eutanásia dos animais sobreviventes. Em seguida, efetuou-se a análise histológica do VE dos animais infartados para verificar o tamanho do infarto (Figura 1 do material suplementar) (IM= $40,1 \pm 7,41\%$; ISL= $38,1 \pm 5,76\%$; $p=0,528$). O peso corporal final não foi diferente entre os grupos (Tabela 1).

Efeito do IM nos corações dos ratos

O IM levou à RC. Quanto aos dados morfológicos, o IM causou aumento no diâmetro diastólico do VE/peso corporal final, diâmetro sistólico do VE/peso corporal final, diâmetro do átrio esquerdo/aorta, índice de massa do ventrículo esquerdo (IMVE), peso do VE/peso corporal final (Tabela 1), e espessura da parede posterior do VE/peso corporal final, espessura da parede do septo interventricular/peso corporal final, e diâmetro atrial esquerdo/peso corporal

final (Tabela 1 do material suplementar). Essas mudanças caracterizam o aumento das cavidades esquerdas e hipertrofia do VE. O IM afetou a função cardíaca sistólica, conforme os valores mais baixos da variação de área do VE (*fractional area change*, FAC) e S' média (Tabela 1), encurtamento endocárdico, e fração de ejeção (Tabela 2 do material suplementar). A função diastólica também foi afetada, indicado por uma redução na E' média (Tabela 1), tempo de desaceleração da onda E, E' lateral, e E' septal (Tabela 2 do material suplementar), e aumento na onda A, média da A' , razão E/E' (Tabela 1), índice de Tei, razão E/A , tempo de relaxamento isovolumétrico ajustado pela frequência cardíaca, A' lateral e A' septal.

O IM também aumentou o estresse oxidativo, demonstrado pelo aumento na atividade de LH e SOD (Tabela 2), menor expressão da HO-1 (Figura 1A), e ocorreu a menor expressão do Nrf-2 (Figura 1B). Os mediadores inflamatórios IL-10 e INF- γ foram mais altos no IM (Tabela 2), e não houve diferença nos níveis de NF- κ B ou Sirt-1 entre os animais infartados e não infartados (Tabela 2 e Figura 2 do material suplementar). Observou-se maior oxidação de carboidratos que de ácidos graxos, e menor metabolismo energético, demonstrados por maior atividade de LDH e PFK, e menor atividade de OHADH, CS, e ATP sintase. Não foi observada diferença para a atividade do piruvato desidrogenase (Tabela 3).

Tabela 1 – Tamanho do infarto, ecocardiograma final, e análise morfométrica

Variável	SM (n = 19)	SSL (n = 20)	IM (n = 9)	ISL (n = 9)	p (I)	p (OJ)	p (I×OJ)
Peso corporal (g)	454±47,9	480±56,3	443±66,6	462±25,9	0,338	0,135	0,852
FC (bpm)	290±30,9	296±34,9	268±26,7	324±30,0 ^{aB}	0,756	0,001	0,009
AE/Ao	1,32±0,09	1,21±0,09 ^b	1,78±0,21 ^A	1,42±0,18 ^{Ba}	<0,001	<0,001	0,003
DDVE/BW (mm/kg)	15,9±1,31	15,0±1,79	22,1±2,70	20,2±2,10	<0,001	0,019	0,398
DSVE/BW (mm/kg)	6,67±0,87	6,02±0,89	15,1±2,70	12,8±2,70	<0,001	0,007	0,556
IMVE (g/kg)	1,63±0,22	1,56±0,27	2,62±0,60	2,36±0,36	<0,001	0,124	0,640
FAC (%)	67,3±8,28	67,4±8,27	34,5±8,28	36,6±8,28	<0,001	0,661	0,707
Onda E (ms)	79,7±11,3	81,4±7,16	89,1±10,8	80,7±19,2	0,204	0,325	0,139
Onda A (ms)	49,9±8,28	52,6±7,16	42,5±16,5	62,7±24,9 ^a	0,730	0,004	0,025
S' média (cm/s)	5,78±0,04	5,82±0,31	4,60±0,30	5,01±0,3	<0,001	0,028	0,078
E' média (cm/s)	5,62±0,44	5,82±0,45	4,23±0,60	4,77±0,60	<0,001	0,054	0,357
A' média (cm/s)	3,67±0,44	4,02±0,45	4,54±0,90	5,55±1,20	0,058	0,058	0,28
Razão E/E'	13,7±3,49	14,1±1,79	21,3±3,30 ^A	16,9±2,40 ^{Ba}	<0,001	0,002	0,003
Peso VE/peso corporal (mg/g)	1,85±0,13	1,93±0,27	2,13±0,42	2,10±0,15	0,005	0,550	0,822
Peso VD/peso corporal (mg/g)	0,46±0,09	0,43±0,05	0,65±0,24	0,59±0,27	<0,001	0,294	0,776

Dados expressos em média \pm desvio padrão. n: número de animais incluídos em cada grupo; SM: animais sham que receberam maltodextrina; SSL: animais sham que receberam suco de laranja; IM: animais infartados que receberam maltodextrina; ISL: animais infartados que receberam suco de laranja; FC: frequência cardíaca; AE: diâmetro do átrio esquerdo; Ao: diâmetro da aorta; DDVE: diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo; DSVE: diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo; IMVE: índice da massa do ventrículo esquerdo (massa do ventrículo esquerdo/peso corporal); FAC: fractional area change (variação da área do ventrículo esquerdo); onda E: velocidade de movimentação do anel mitral no início da diástole; onda A: velocidade de movimentação do anel mitral no final da diástole; média S' : velocidade média de movimentação do anel mitral septal e lateral; A' e E' médias: velocidade média de movimentação do anel mitral septal e lateral na diástole (E' : início e A' : final); VE: ventrículo esquerdo/VD: ventrículo direito; pl: valor p do efeito do infarto; pSL: valor p do efeito do consumo de suco de laranja. plxSL: valor p da interação. Números em negrito representam efeitos estatisticamente significativos. ^a: IM≠ISL; ^b: SM≠SSL; ^A: SM≠IM e ^B: SSL≠ISL.

Tabela 2 – Marcadores de estresse oxidativo e marcadores inflamatórios

Variável	SM (n = 8)	SSL (n = 8)	IM (n = 4)	ISL (n = 4)	p (I)	p (OJ)	p (I×OJ)
LH (nmol/g)	209±28,3	215±28,3	256±28,0	277±26,0	<0,001	0,293	0,573
Catalase (µmol/g)	64,4±6,79	61,8±7,07	55,4±7,00	58,1±7,60	0,056	0,993	0,404
SOD (nmol/mg)	12,9±2,83	13,5±2,83	18,7±1,80	17,1±1,40	<0,001	0,639	0,355
Atividade da GSH-px (nmol/mg)	62,5±6,51	50,2±7,07	58,0±7,00	45,3±6,00	0,134	<0,001	0,951
Expressão da GSH-px (unidade arbitrária)	7,56±7,39	7,62±10,8	6,63±5,82	6,37±3,78	0,600	0,649	0,546
IL-10 (pg/mg)	23,9±7,92	39,6±13,0 ^b	42,0±9,60 ^a	34,1±7,60	0,135	0,352	0,008
IFN-γ (pg/mg)	7,1±2,26	13,2±3,96 ^b	17,7±6,80 ^a	11,2±2,00 ^a	0,037	0,928	0,003
NF-κB (unidade arbitrária)	7,03±11,0	4,61±4,98	3,40±3,12	6,80±4,00	0,942	0,330	0,266
p NF-κB (unidade arbitrária)	5,40±10,2	3,18±2,40	3,28±3,12	5,22±3,34	0,587	0,084	0,980
Sirt 1 (unidade arbitrária)	1,81±0,82	2,34±1,41	2,42±1,44	1,65±0,56	0,925	0,813	0,203

Dados expressos em média ± desvio padrão. n: número de animais incluídos em cada grupo; SM: animais sham que receberam maltodextrina; SSL: animais sham que receberam suco de laranja; IM: animais infartados que receberam maltodextrina; ISL: animais infartados que receberam suco de laranja; HL: hidróperóxido lipídico; SOD: superóxido dismutase; GSH-px: glutathione peroxidase; IL-10: interleucina-10; INF-γ: interferon-γ; NF-κB: fator nuclear κB total; e p NF-κB: fator nuclear κB fosforilado; Sirt 1: sirtuína 1. pI: valor p do efeito do infarto; pSL: valor p do efeito do consumo de suco de laranja. pI×SL: valor p da interação. Números em negrito representam efeitos estatisticamente significativos. ^a: IM≠ISL; ^b: SM≠SSL; ^a: SM≠IM e ^b: SSL≠ISL.

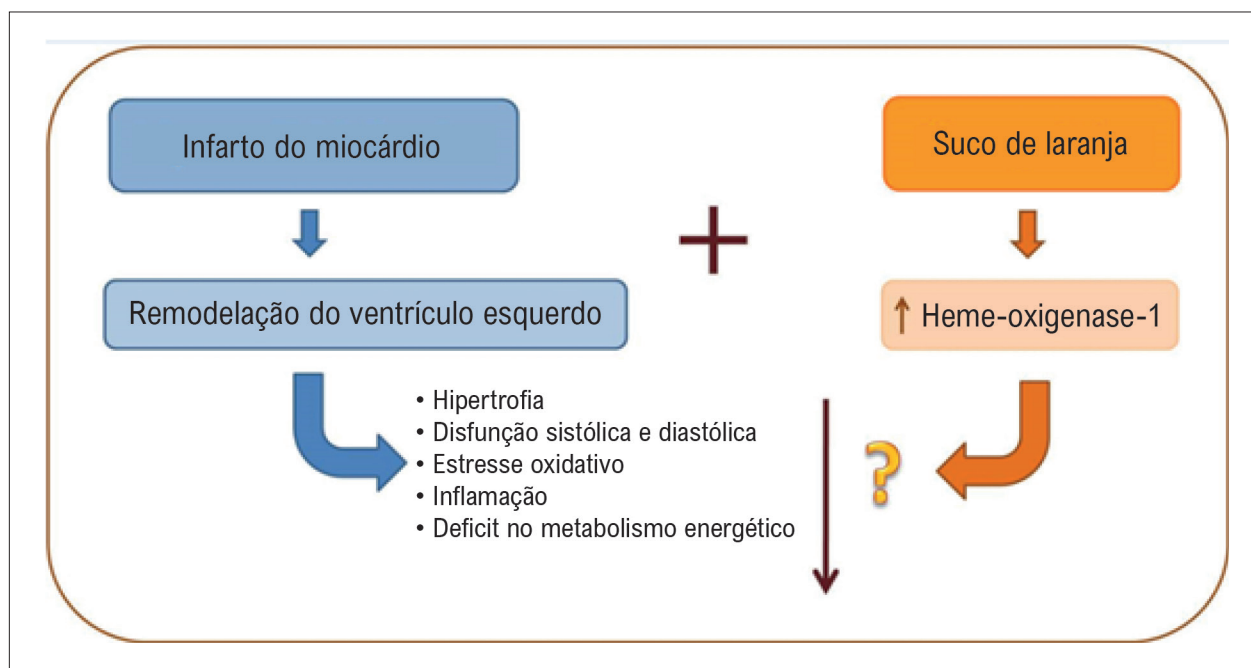


Figura 2 – Esquema ilustrativo dos principais achados do estudo.

Efeito do consumo de SL sobre o coração

A ingestão de SL causou redução da cavidade do VE, com valores mais baixos do diâmetro diastólico final do VE (DDVE) e diâmetro sistólico final do VE (DSVE); melhorou a função sistólica, com valores mais altos de S' médio; e melhorou a função diastólica, com menor diâmetro do átrio esquerdo ajustado para o diâmetro da aorta (Tabela 1)²⁹ após o IM. Não foram observadas diferenças para outras variáveis ecocardiográficas (Tabela 1). As outras variáveis relativas à função não foram valorizadas devido à

elevada frequência cardíaca³⁰ no grupo SL (Tabela 2 do material suplementar).

Além disso, os animais que consumiram SL apresentaram atividade mais baixa da GSH-Px (Tabela 2). Não foram observadas diferenças para atividade de LH, SOD, catalase, ou expressão de GSH-Px (Tabela 2 e Figura 2 do material suplementar).

Quanto aos mediadores inflamatórios, o grupo SSL apresentou IL-10 e INF-γ mais elevados em comparação

Tabela 3 – Enzimas envolvidas no metabolismo energético cardíaco

Variável	SM (n = 8)	SSL (n = 8)	IM (n = 4)	ISL (n = 4)	p (I)	p (SL)	p (I×SL)
PFK (nmol/g)	128±17,0	112±24,6	139±26,0	178±26,0 ^{ab}	<0,001	0,257	0,011
LDH (nmol/mg)	88,5±18,7	82,6±18,1	111±18,6	134±16,	<0,001	0,320	0,092
PDH (nmol/g)	344±53,7	385±31,1	345±100	341±42,0	0,386	0,461	0,376
OHADH (nmol/mg)	33,2±6,22	33,9±6,22	23,8±8,40	24,5±2,80	0,003	0,798	0,992
CS (nmol/mg)	50,0±6,22	49,4±6,51	34,5±7,40	40,5±4,80	<0,001	0,350	0,254
ATP sintase (nmol/mg)	21,0±3,11	27,8±5,37	11,4±1,20	15,9±4,40	<0,001	0,005	0,532

Dados expressos em média ± desvio padrão. n: número de animais incluídos em cada grupo; SM: animais sham que receberam maltodextrina; SSL: animais sham que receberam suco de laranja; IM: animais infartados que receberam maltodextrina; ISL: animais infartados que receberam suco de laranja; PFK: fosfofrutoquinase; LDH: lactato desidrogenase; PDH: piruvato desidrogenase; OHADH: 3-hidroxiacil coenzima-A desidrogenase; CS: citrato sintase; ATP: adenosina trifosfato. pI: valor p do efeito do infarto; pSL: valor p do efeito do consumo de suco de laranja. pI×SL: valor p da interação. Números em negrito representam efeitos estatisticamente significativos. ^a: IM≠ISL; ^b: SM≠SSL; ^A: SM≠IM e ^B: SSL≠ISL.

ao grupo SM (Tabela 2). O grupo ISL apresentou valores de INF- γ mais baixos que o grupo IM (Tabela 2). Não houve diferenças para NF- κ B ou Sirt-1 entre os animais que consumiram e os que não consumiram SL (Tabela 2 e Figura 2 do material suplementar).

Observou-se melhora no uso de substratos nos animais que consumiram SL. Observamos valores mais altos para atividade da PFK no grupo ISL em comparação ao grupo IM, e atividade mais alta da ATP sintase nos animais que consumiram SL. Não se observou diferenças na atividade de outras enzimas do metabolismo energético entre os grupos (Tabela 3).

Um resultado interessante que os animais que consumiram SL apresentaram maior expressão de HO-1 (Figura 1A), apesar de não terem apresentado diferença na expressão de Nrf2 (Figura 1B).

Discussão

No presente estudo, IM induzido por ligação da artéria coronária em ratos resultou em hipertrofia do VE e disfunção diastólica, o que foi compatível com alterações observadas no infarto crônico.¹¹ Nossos dados também mostraram aumento no estresse oxidativo e marcadores inflamatórios, bem como alterações no metabolismo energético, com deficiência na β -oxidação de ácidos graxos. Essas alterações caracterizam o processo de RC.³¹⁻³³ Também observamos redução na expressão de Nrf-2 e HO-1. Na fase crônica do IM, a via do Nrf2 pode estar reduzida por expressão anormal do gene-alvo do Nrf2, afetando a manutenção da homeostase redox via enzimas medidas por elementos de resposta antioxidante.³⁴ Em estudo prévio conduzido em nosso laboratório com modelo de IM, observamos expressão mais baixa de Nrf2 e HO-1.³ Esses achados sugerem ou uma menor expressão ou um maior catabolismo da proteína Nrf2, levando, assim, à menor síntese de HO-1.

No presente estudo, o consumo de SL resultou na atenuação da RC nos animais infartados. Essa atenuação pode ser observada na diminuição da cavidade do VE (DDVE e DSVE), e na melhora da função sistólica, caracterizada pelo aumento no S' médio,³⁵ e na função diastólica (menor diâmetro do átrio esquerdo). No estudo de Yu et al.,³⁶ os ratos infartados por ligação da artéria coronária esquerda, tratados com hesperidina por quatro semanas, apresentaram DDVE e DSVE mais baixos e melhor função sistólica que os animais infartados. Esses dados são similares aos nossos, e podem indicar o efeito da hesperidina do SL sobre o processo de RC. Em outro estudo, outro composto fenólico, a hesperetina, também apresentou efeito sobre o coração. Em um modelo de sobrecarga de pressão, Deng et al.,³⁷ encontraram valores mais baixos de DDVE e de DSVE oito semanas após a administração de hesperetina.

O IM leva a desequilíbrio entre a produção de EROS e defesas antioxidantes, levando a estresse oxidativo. Após isquemia, algumas EROS danificam membranas celulares, iniciando o processo de peroxidação lipídica.³⁸ Por exemplo, Bagatini et al.,³⁹ descreveram aumento na peroxidação lipídica em pacientes com IM. Nossos resultados também mostraram maior concentração de hidroperóxidos lipídicos nos animais infartados em comparação aos animais não infartados.⁴⁰ A enzima SOD é a primeira defesa do organismo contra EROS. Nosso estudo mostrou que os animais infartados, em comparação aos não infartados, apresentaram maior atividade da enzima SOD, conforme descrito anteriormente.^{3,25} Em relação ao consumo de SL, observamos que os animais que consumiram SL apresentaram menor atividade da GSH-Px. Resultado semelhante foi apresentado por Selvaraj e Pugalendi⁴¹ no modelo de isquemia induzida por isoproterenol: os ratos que receberam hesperidina apresentaram atividade mais baixa das enzimas antioxidantes, entre eles, a GSH-Px.⁴¹

Em relação ao metabolismo energético, o coração, assim como outros órgãos, consegue adaptar-se e utilizar o melhor substrato energético em cada situação. A PFK atua na regulação da glicólise, e catalisa a fosforilação de glicose em frutose-6-fosfato e subsequentemente em frutose 1,6-bisfosfato.⁴² A PFK é ativada quando as concentrações de ATP são reduzidas e é inibida quando as células têm reserva suficiente de ATP e de outros substratos, tais como ácidos graxos.⁴² Nossos dados mostraram valores mais altos de PFK em animais infartados com ingestão de SL. Esses dados mostram que atividade aumentada da PFK pode levar à regulação da via glicolítica, fornecendo mais substrato para produção de energia. Outro achado importante que indica maior uso de substrato é a maior atividade da ATP sintase em animais que receberam SL.

Além do estresse oxidativo e alterações metabólicas, observamos que os animais infartados que receberam SL apresentaram valores mais baixos de IFN- γ . Uma vez que a fase crônica da inflamação está relacionada a uma produção aumentada de IFN- γ ,⁴³ nossos resultados sugerem uma fase mais avançada em direção à resolução do processo inflamatório. Um resultado interessante é que animais sham que consumiram SL mostraram efeito imunomodulatório, indicado pelos valores mais altos de IL-10 e INF- γ . Similar aos nossos achados em animais do grupo sham, os quais não sofreram nenhuma lesão cardíaca, estudos com humanos saudáveis, de meia idade, relataram que o SL alterou a expressão gênica em leucócitos para um perfil anti-inflamatório e antiaterogênico,⁴⁴ e promoveu uma proteção precoce de células sanguíneas mononucleares contra dano oxidativo no DNA.⁴⁵ Além disso, o consumo de SL com a refeição rica em carboidratos preveniu o estresse oxidativo e inflamatório induzido pela refeição.⁴⁶

Outro achado interessante em nosso estudo foi os valores mais elevados de HO-1 em animais que consumiram SL. Lin et al.,⁴⁷ em 2005, também mostraram que a hesperetina induziu a expressão proteica de HO-1.⁴⁷ A enzima HO-1 exerce ação importante na homeostase celular devido à sua ação catabólica no grupo heme das hemoproteínas, gerando subprodutos tais como ferro, biliverdina e monóxido de carbono. Por meio desses subprodutos, a HO-1 exerce ação inflamatória antioxidante, e antiapoptótica.^{48,49} Além dessa função clássica, a HO-1 participa na sinalização celular amplificando a ação dos indutores (heme, oxidantes, citocinas, forças hemodinâmicas, fatores de crescimento, hipóxia, e hormônios) de fatores de transcrição.⁴⁸

Wang et al.,⁵⁰ mostraram que a HO-1 é importante para a homeostase cardíaca, protegendo o órgão contra isquemia e lesões induzidas pela reperfusão, e danos oxidativos.⁵⁰ Em outro estudo, a administração de hêmia em camundongos infartados induziu a ativação de HO-1, o que causou uma mudança nos macrófagos para um fenótipo anti-inflamatório (M2), redução da expansão da cicatriz do infarto, e melhora da função cardíaca.⁵¹ Assim, HO-1 aumentada também pode exercer importante papel na atenuação da RC pelo SL (Figura 2). Ainda, esse

aumento foi independente da via do Nrf2, uma vez que o SL não causou alterações na expressão dessa proteína. Similar aos nossos achados, Wang et al.,⁵² encontraram que a isoliquiritina e a isoliquiritigenina, flavonoides derivados do alcaçuz, induziram a expressão de HO-1 independentemente da expressão de Nrf2.⁵² A expressão de HO-1 pode ser induzida por diferentes vias e variar de acordo com o modelo e tratamento utilizado.⁴⁷

Limitações

O SL usado no estudo foi um suco comercial, pronto para consumo, pasteurizado, livre de conservantes e açúcar. A escolha por esse suco foi para garantir a padronização. No entanto, é possível que o uso de outros tipos de sucos, elaborados com outros tipos de laranjas, poderia levar a respostas diferentes.

Conclusão

O SL atenuado por RC após IM, com diminuição do diâmetro do VE e melhora da função sistólica e diastólica; HO-1 pode desempenhar um papel importante neste processo.

Agradecimentos

Este estudo recebeu apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Oliveira BC, Santos PP, Rafacho BPM, Azevedo PS, Polegato BF, Zornoff LAM, Minicucc MFI, Paiva SAR; Obtenção de dados: Oliveira BC, Figueiredo AM, Ishikawa L, Zanati SG, Fernandes AAH; Análise e interpretação dos dados: Oliveira BC, Santos PP, Figueiredo AM, Rafacho BPM, Ishikawa L, Zanati SG, Fernandes AAH, Azevedo PS, Polegato BF, Zornoff LAM, Minicucc MFI, Paiva SAR; Análise estatística e Redação do manuscrito: Oliveira BC, Paiva SAR; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Santos PP, Azevedo PS, Polegato BF, Zornoff LAM, Minicucc MFI, Paiva SAR.

Potenciais conflitos de interesse

Não há conflito com o presente artigo

Fontes de financiamento

O presente estudo foi parcialmente financiado pela CAPES.

Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de tese de mestrado de Bruna Camargo de Oliveira pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho Campus de Botucatu - Faculdade de Medicina.

Referências

1. Punithavathi V, Prince PSM. Pretreatment with a combination of quercetin and α -tocopherol ameliorates adenosine triphosphatases and lysosomal enzymes in myocardial infarcted rats. *Life Sci*. 2010;86(5):178-84.
2. Vasanthi H, ShriShriMal N, Das D. Phytochemicals from plants to combat cardiovascular disease. *Curr Med Chem*. 2012;19(14):2242-51.
3. Rafacho BP, Santos PP, Goncalves AF, Fernandes AAH, Okoshi K, Chiuso-Minicucci F, et al. Rosemary supplementation (*Rosmarinus officinalis* L.) attenuates cardiac remodeling after myocardial infarction in rats. *PLoS One*. 2017;12(5):e0177521.
4. Hyson DA. A review and critical analysis of the scientific literature related to 100% fruit juice and human health. *Adv Nutr*. 2015;6(1):37-51.
5. Vinuesa JC, Faria JB, César TB. Hesperidina diminui o colesterol sanguíneo de ratos alimentados com gordura saturada. *Alim Nutr Araraquara*. 2009;19(4):473-9.
6. Coelho RCLA, Hermsdorff HHM, Bressan J. Anti-inflammatory properties of orange juice: possible favorable molecular and metabolic effects. *Plant Foods Hum Nutr*. 2013;68(1):1-10.
7. Buttros JB, Bergamaschi CT, Ribeiro DA, Fracalossi AC, Campos RR. Cardioprotective actions of ascorbic acid during isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rats. *Pharmacology*. 2009;84(1):29-37.
8. Pereira BLB, Reis PP, Severino FE, Felix TF, Braz MG, Nogueira FR, et al. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) or lycopene supplementation attenuates ventricular remodeling after myocardial infarction through different mechanistic pathways. *J Nutr Biochem*. 2017;46:117-24.
9. Lustosa BB, Polegato B, Minicucci M, Rafacho B, Santos PP, Fernandes AA, et al. Green tea (*Camellia sinensis*) attenuates ventricular remodeling after experimental myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2016;225:147-53.
10. Paiva SA, Matsubara LS, Matsubara BB, Minicucci MF, Azevedo PS, Campana AIO, et al. Retinoic acid supplementation attenuates ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *J Nutr*. 2005;135(10):2326-8.
11. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res*. 1985;57(1):84-95.
12. Zornoff LAM, Paiva SARd, Minicucci MF, Spadaro J. Infarto do miocárdio experimental em ratos: análise do modelo. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93(4):434-40.
13. Opie LH, Commerford PJ, Gersh BJ, Pfeffer MA. Controversies in ventricular remodelling. *The Lancet*. 2006;367(9507):356-67.
14. Zornoff LAM, Cicogna AC, Paiva SAR, Spadaro J. Remodelamento e seu impacto na progressão da disfunção ventricular. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*. 2002;12(3):371-8.
15. Zornoff LA, Paiva SA, Duarte DR, Spadaro J. Ventricular remodeling after myocardial infarction: concepts and clinical implications. *Arq Bras Cardiol*. 2009;92(2):157-64.
16. Sun Y. Myocardial repair/remodelling following infarction: roles of local factors. *Cardiovasc Res*. 2008;81(3):482-90.
17. Raghunath A, Sundarraj K, Nagarajan R, Arfuso F, Jinson B, Kumar AP, et al. Antioxidant response elements: Discovery, classes, regulation and potential applications. *Redox Biol*. 2018;17:297-314.
18. Ferdinandy P, Schulz R, Baxter GF. Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. *Pharmacol Rev*. 2007;59(4):418-58.
19. Csonka C, Kupai K, Kocsis GF, Novák G, Fekete V, Bencsik P, et al. Measurement of myocardial infarct size in preclinical studies. *J Pharmacol Tox Met*. 2010;61(2):163-70.
20. Azevedo PS, Polegato BF, Minicucci MF, Paiva SA, Zornoff LA. Cardiac remodeling: concepts, clinical impact, pathophysiological mechanisms and pharmacologic treatment. *Arq Bras Cardiol*. 2016;106(1):62-9.
21. Mozaffarian D, Appel LJ, Van Horn L. Components of a cardioprotective diet: new insights. *Circulation*. 2011;123(24):2870-91.
22. Zornoff LA, Paiva SA, Minicucci MF, Spadaro J. Experimental myocardium infarction in rats: analysis of the model. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93(4):434-40.
23. Pfeffer JM, Finn PV, Zornoff LA, Pfeffer MA. Endothelin-A receptor antagonism during acute myocardial infarction in rats. *Cardiovasc. Drugs Ther*. 2000;14(6):579-87.
24. Minicucci MF, Azevedo PS, Martinez PF, Lima AR, Bonomo C, Guizoni DM, et al. Critical infarct size to induce ventricular remodeling, cardiac dysfunction and heart failure in rats. *Int J Cardiol*. 2011;151(2):242-3.
25. Gonçalves A, Santos P, Rafacho B, Silva R, Batista D, Claro R, et al. Effects of Zinc Supplementation on Cardiac Remodeling After Experimental Myocardial Infarction. *FASEB J*. 2015;29(1):LB348.
26. Zornoff LA, Matsubara BB, Matsubara LS, Azevedo PS, Minicucci MF, Campana AO, et al. β -Carotene supplementation results in adverse ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Nutrition*. 2006;22(2):146-51.
27. Paiva SA, Novo R, Matsubara BB, Matsubara LS, Azevedo PS, Minicucci MF, et al. β -carotene attenuates the paradoxical effect of tobacco smoke on the mortality of rats after experimental myocardial infarction. *J Nutr*. 2005;135(9):2109-13.
28. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015;16(3):233-71.
29. Spadaro J, Fishbein M, Hare C, Pfeffer M, Maroko P. Characterization of myocardial infarcts in the rat. *Arch Pathol Lab Med*. 1980;104(4):179-83.
30. Burns AT, Connelly KA, La Gerche A, Mooney DJ, Chan J, MacIsaac AI, et al. Effect of heart rate on tissue Doppler measures of diastolic function. *Echocardiography*. 2007;24(7):697-701.
31. Opie LH, Commerford PJ, Gersh BJ, Pfeffer MA. Controversies in ventricular remodelling. *Lancet*. 2006;28;367(9507):356-67.
32. Stanley WC, Recchia FA, Lopaschuk GD. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. *Physiol Rev*. 2005;85(3):1093-129.
33. Goncalves AF, Santos PP, Rafacho BP, Batista DF, Azevedo PS, Minicucci MF, et al. Vitamin D supplementation intensifies cardiac remodeling after experimental myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2014;176(3):1225-6.
34. Yet S-F, Tian R, Layne MD, Wang ZY, Maemura K, Solovyeva M, et al. Cardiac-specific expression of heme oxygenase-1 protects against ischemia and reperfusion injury in transgenic mice. *Circ Res*. 2001;89(2):168-73.
35. Husebye T, Eritsland J, Bjørnerheim R, Andersen GO. Systolic mitral annulus velocity is a sensitive index for changes in left ventricular systolic function during inotropic therapy in patients with acute heart failure. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2018;7(4):321-9.
36. Yu HY, Ahn JH, Park SW, Jung Y-S. Preventive effect of Yuzu and hesperidin on left ventricular remodeling and dysfunction in rat permanent left anterior descending coronary artery occlusion model. *PLoS One*. 2015;10(1):e110596.
37. Deng W, Jiang D, Fang Y, Zhou H, Cheng Z, Lin Y, et al. Hesperetin protects against cardiac remodelling induced by pressure overload in mice. *J Mol Histol*. 2013;44(5):575-85.
38. Hori M, Nishida K. Oxidative stress and left ventricular remodelling after myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 2009;81(3):457-64.
39. Bagatini MD, Martins CC, Battisti V, Gasparetto D, Da Rosa CS, Spanevello RM, et al. Oxidative stress versus antioxidant defenses in patients with acute myocardial infarction. *Heart Vessels*. 2011;26(1):55-63.
40. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli C, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018;13:757.

41. Selvaraj P, Pugalendi KV. Hesperidin, a flavanone glycoside, on lipid peroxidation and antioxidant status in experimental myocardial ischemic rats. *Redox Rep.* 2010;15(5):217-23.
42. Depre C, Rider MH, Hue L. Mechanisms of control of heart glycolysis. *FEBS J.* 1998;258(2):277-90.
43. Krishnamurthy P, Rajasingh J, Lambers E, Qin G, Losordo DW, Kishore R. IL-10 inhibits inflammation and attenuates left ventricular remodeling after myocardial infarction via activation of STAT3 and suppression of HuR. *Circ Res.* 2009;104(2):e9-e18.
44. Milenkovic D, Deval C, Dubray C, Mazur A, Morand C. Hesperidin displays relevant role in the nutrigenomic effect of orange juice on blood leukocytes in human volunteers: a randomized controlled cross-over study. *PLoS One.* 2011;6(11).
45. Guarnieri S, Riso P, Porrini M. Orange juice vs vitamin C: effect on hydrogen peroxide-induced DNA damage in mononuclear blood cells. *Br J Nutr.* 2007;97(4):639-43.
46. Ghanim H, Sia CL, Upadhyay M, Korzeniewski K, Viswanathan P, Abuaysheh S, et al. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and Toll-like receptor expression. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(4):940-9.
47. Lin HY, Shen SC, Chen YC. Anti-inflammatory effect of heme oxygenase 1: Glycosylation and nitric oxide inhibition in macrophages. *J Cell Physiol.* 2005;202(2):579-90.
48. Czibik G, Derumeaux G, Sawaki D, Valen G, Motterlini R. Heme oxygenase-1: an emerging therapeutic target to curb cardiac pathology. *Basic Res Cardiol.* 2014;109(6):450.
49. Takagi T, Naito Y, Mizuhima K, Hirai Y, Harusato A, Okayama T, et al. Heme oxygenase-1 prevents murine intestinal inflammation. *J Clin Biochem Nutr.* 2018:17-133.
50. Wang G, Hamid T, Keith RJ, Zhou G, Partridge CR, Xiang X, et al. Cardioprotective and antiapoptotic effects of heme oxygenase-1 in the failing heart. *Circulation.* 2010;121(17):1912-25.
51. Ben-Mordechai T, Kain D, Holbova R, Landa N, Levin L-P, Elron-Gross I, et al. Targeting and modulating infarct macrophages with heme formulated in designed lipid-based particles improves cardiac remodeling and function. *J Control Release.* 2017;257:21-31.
52. Wang R, Zhang CY, Bai LP, Pan HD, Shu LM, Kong A-NT, et al. Flavonoids derived from liquorice suppress murine macrophage activation by up-regulating heme oxygenase-1 independent of Nrf2 activation. *Int Immunopharmacol.* 2015;28(2):917-24.

*Material suplementar

Para informação adicional, por favor, clique aqui.



Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da licença de atribuição pelo Creative Commons