

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 15/02/2021.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**Renata Aparecida Candido da Silva**

**Influência da suplementação de jabuticaba na  
remodelação cardíaca após o infarto do miocárdio**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientador: Prof Titular Leonardo A Mamede Zornoff

**Botucatu  
2019**

Renata Aparecida Candido da Silva

**Influência da suplementação de jabuticaba na remodelação cardíaca após o infarto do miocárdio**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientador: Prof Titular Leonardo A Mamede Zornoff

Botucatu  
2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Silva, Renata Aparecida Candido da.

Influencia da suplementação de jabuticaba na remodelacao cardíaca após infarto do miocárdio / Renata Aparecida Candido da Silva. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Leonardo Antonio Mamede Zornoff  
Capes: 40101002

1. Remodelação cardíaca ventricular. 2. Antioxidantes. 3. Jabuticaba. 4. Infarto do miocárdio. 5. Compostos bioativos.

Palavras-chave: antioxidantes ; jabuticaba; remodelação cardíaca.

*Dedicatória*



Aos meus pais *Argemiro* e *Vera*, meu irmão *André*, pelo apoio em todos os momentos da minha vida, pelos valores ensinados, por serem exemplo de dedicação ao que fazem.

Ao meu marido *Rafael* pelo amor, carinho, dedicação, por cuidar sempre do meu bem, por acreditar em mim e em meus sonhos, por ser meu companheiro em todas as horas.

*Agradecimientos*



A *Deus* por me dar luz e força para trilhar meu caminho.

Ao meu orientador *Prof. Titular. Leonardo Antonio Mamede Zornoff* pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa, por sua competência, por se disponibilizar na realização dos procedimentos cirúrgicos, por sua dedicação em ensinar. Agradeço sempre a confiança depositada em mim.

Aos docentes do grupo de pesquisa em Remodelação Cardíaca e Nutrição *Prof. Titular Sergio A Rupp de Paiva, Prof. Adj. Marcos Ferreira Minicucci, Prof. Assist. Dra. Paula S Azevedo Gaiolla, Prof. Assist. Dra. Bertha Furlan Polegato*, pelos ensinamentos ao longo da jornada e na dedicação ao grupo em reuniões científicas.

A todos os docentes do departamento de Clínica Médica, em especial ao Dr. Katashi Okoshi pela realização do ecocardiograma.

Ao *Prof. Titular Sergio A Rupp de Paiva* a me orientar no estágio de docência.

À *Profa Dra Ana Angélica H. Fernandes*, do Departamento de Bioquímica, pela realização das análises referentes ao metabolismo energético e estresse oxidativo.



Aos professores *Marcos Minicucci e Bertha Furlan* pelas valiosas contribuições no exame geral de qualificação.

A todos os funcionários do departamento de Clínica Médica por todo apoio no decorrer da pesquisa.

A todos os funcionários da Unidade de Pesquisa Experimental – Unipex – em especial ao *PC*, pelo auxílio nas etapas de biotério e eutanásia dos animais.

Aos funcionários da Biblioteca Campus de Botucatu e da seção de Pós Graduação por toda competência.

Aos amigos e companheiros de Unipex.

A todos meus colegas de Laboratório de Pesquisa em Remodelação cardíaca e Nutrição , em especial *Bruna Pereira, Amanda, Tatiana, Bruna Camargo*, por compartilhar experiências neste trabalho. Sem vocês eu não teria conseguido.

A todos os amigos e familiares de Botucatu e Tietê, que, mesmo de fora, torceram para dar certo!

A Fundação Capes pela concessão da bolsa de estudo.

**Muito obrigada!**

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”

*Simone de Beauvoir*

*Sumario*



## Sumario

Resumo.....	i
Introdução .....	1
Justificativa .....	8
Hipótese e Objetivo .....	7
Metodologia .....	9
Resultados .....	29
Discussão .....	63
Conclusão .....	73
Referências.....	75

*Resumo*



A remodelação cardíaca tem papel chave na disfunção ventricular após infarto do miocárdio. Alguns mecanismos celulares, como estresse oxidativo, inflamação, dano ao DNA e fibrose modulam esse processo. Assim, o tratamento e reparação dos danos após o infarto tem grande importância clínica. Neste contexto, compostos bioativos ganham interesse, devido suas propriedades cardioprotetoras. A jabuticaba é fonte de compostos fenólicos e antocianinas, como o ácido elágico e a cianidina 3-o glicosídeo, que possuem ação anti-inflamatória, anti-estresse oxidativo e proteção ao DNA. **Objetivo:** analisar a influência da suplementação de jabuticaba na remodelação cardíaca pós infarto do miocárdio (IM) em ratos. **Métodos:** ratos machos com 200-250g foram alocados em 4 grupos: 1) grupo Sham (SC) – animais não submetidos ao IM, recebendo ração padrão (n=16) ; 2) grupo IC – animais submetidos ao IM recebendo ração padrão (n=14); 3) Grupo IJ2% - animais infartados recebendo ração adicionada de jabuticaba na dose de 2% (n=23); 4) Grupo IJ4% - animais infartados recebendo ração adicionada de jabuticaba na dose de 4% (n=18). Após três meses foi realizado ecocardiograma e eutanásia dos animais para coleta de material biológico. No tecido cardíaco analisamos sua morfometria, estresse oxidativo, metabolismo energético, teste de cometa para avaliação de dano ao DNA, expressão de proteínas por western blot. Os valores foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão e as comparações foram feitas por teste ANOVA de uma via, com nível de significância adotado de 5%. **Resultados:** o infarto provocou alterações morfofuncionais e bioquímicas, como esperado. A suplementação com jabuticaba atenuou a peroxidação lipídica, melhorou variáveis do metabolismo energético e diminuiu a fibrose em corações infartados. **Conclusão:** em ratos infartados, a suplementação com jabuticaba atuou em variáveis bioquímicas e estruturais, no entanto, esses benefícios não se traduziram em melhora da geometria ou função cardíaca.

Palavras-chave: jabuticaba, remodelação cardíaca, compostos bioativos, infarto do miocárdio.

*Introdução*

---

As doenças do aparelho circulatório constituem uma das principais causas de morte no Brasil, sendo responsáveis por 349.642 mil óbitos em 2015, segundo o DATASUS (1). Mundialmente, cerca de 17,7 milhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares (DCV) em 2015, representando 31% de todas as mortes globais. Destas mortes, cerca de 7,4 milhões foram devidos a doença coronariana e 6,7 milhões foram decorrentes de acidente vascular cerebral (AVC) (2).

Dentre as DCV, podemos destacar as síndromes coronarianas agudas, principalmente o infarto agudo do miocárdio (IAM). Estudos epidemiológicos mostraram que 40% dos IAM evoluem com disfunção do ventrículo esquerdo (VE) e 25% com sinais e sintomas de insuficiência cardíaca (IC) (3). Diversos fatores influenciam o desenvolvimento de IC após o infarto, sendo que a remodelação cardíaca apresenta papel de destaque nesse cenário.

O termo remodelação cardíaca vem sendo utilizado, nos últimos anos, como variações moleculares, celulares e intersticiais cardíacas, que vão se manifestar clinicamente por alterações no tamanho, massa, geometria e função do coração, em resposta a determinada agressão. Após o IAM, esse processo se caracteriza, clinicamente, por alterações da arquitetura ventricular (4–6).

Os eventos associados ao processo de remodelação podem ser divididos naqueles que ocorrem precocemente após o infarto e naqueles que ocorrem mais cronicamente. Nas primeiras horas após o infarto, simultaneamente à necrose das miofibrilas, a isquemia cardíaca pode ativar enzimas proteolíticas, entre as quais as colagenases, com conseqüente desintegração do colágeno interfibrilar. A perda do tecido de sustentação torna a região mais propensa à distensão e, conseqüentemente, mais susceptível às deformações. Por essa razão, pode ocorrer deslizamento de áreas musculares necróticas, com realinhamento dos miócitos na parede infartada. O resultado desses eventos é o afinamento da região atingida e dilatação



da cavidade. Essa dilatação ventricular da parede infartada, caracterizada por adelgaçamento e distensão da região, caracteriza a expansão do infarto (4,5).

Na fase crônica, por sua vez, nota-se que a cavidade ventricular esquerda pode continuar a aumentar com o tempo, agora às custas da região não infartada. Este fenômeno se deve à hipertrofia cardíaca de padrão excêntrico, sendo resultado da sobrecarga hemodinâmica e da ativação de fatores neurohumorais e inflamatórios (4,5).

Em resumo, o processo de remodelação após o IAM se caracteriza, clinicamente, por aumento da cavidade ventricular. Na fase aguda, a dilatação ventricular é consequência do processo de expansão do infarto, enquanto que a dilatação cavitária tardia é consequência do processo de hipertrofia excêntrica.

As consequências do processo de remodelação vêm sendo estudadas há vários anos. De modo bastante consistente, se aceita que a remodelação está associada à pior prognóstico. O aspecto mais relevante da remodelação pós-infarto, no entanto, é que esse processo desempenha papel fundamental na fisiopatologia da disfunção ventricular, já que a região não infartada é alvo de diversas alterações genéticas, estruturais e bioquímicas, que vão resultar em progressiva deterioração da capacidade funcional do coração (4–7).

Algumas alterações parecem desempenhar papel fisiopatológico de destaque: aumento da morte celular, principalmente por apoptose; modificações nas proteínas responsáveis pelo trânsito de cálcio; acúmulo de colágeno, resultando em fibrose; alterações das metaloproteases, em particular o aumento da atividade das metaloproteases 2 e 9; aumento do estresse oxidativo; déficit energético, com aumento da atividade da via glicolítica e diminuição na utilização de ácidos graxos livres, aumento na produção de citocinas inflamatórias, particularmente interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e alterações da geometria ventricular (7–17) .

Está bem documentado que o infarto do miocárdio (IM) resulta em aumento do

estresse oxidativo tanto na região infartada como não infartada (18,19), e também na fase de expansão do infarto e hipertrofia (20). O estresse oxidativo ocorre quando há desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e das reservas antioxidantes do miocárdio. Sun (2009) descreveu queda progressiva das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase e glutatona peroxidase (GPx) no miocárdio de ratos submetidos ao IM (19).

Após o IM ocorre desequilíbrio entre oferta e consumo de oxigênio, resultando em déficit energético. Em condições normais, os ácidos graxos livres (AGL) são o principal substrato energético do coração, com participação variando de 60% a 90%. Já foram identificadas diversas alterações do metabolismo energético na remodelação, que se manifestam com diminuição da produção de energia: diminuição na utilização dos AGL e aumento da utilização de glicose como substrato energético, diminuição da  $\beta$ -oxidação e alterações funcionais mitocondriais (15,16).

Desse modo, suplementos antioxidantes podem ser benéficos após injúria ao miocárdio: por exemplo, estudos com probucol mostraram proteção da função cardíaca no modelo de cardiomiopatia induzida por adriamicina, maior sobrevida após infarto experimental, melhora do estresse oxidativo (21–23). Em estudos com modelo de infarto, os compostos bioativos presentes no alecrim e antioxidantes como ácido ascórbico, quercetina, alfa-tocoferol exerceram efeito protetor contra danos ao tecido cardíaco (24–26). Em linhagem de ratos hipertensos (SHR) ervas medicinais (*Centella asiatica*, *Justicia gendarussa* e *Imperata cylindrica*) preveniram hipertrofia ventricular esquerda induzida pela hipertensão devido à diminuição do estresse oxidativo (27).

Neste contexto, grande interesse tem sido focado em compostos bioativos de produtos naturais, com propriedades cardioprotetoras como os polifenóis (28).

O nome polifenóis, ou compostos fenólicos referem-se a um amplo e numeroso grupo

de moléculas encontradas em hortaliças, frutas, cereais, chás, café, cacau, vinho, soja e suco de frutas (28–30). A ação dos compostos fenólicos tem sido estudada devido aos seus efeitos biológicos preventivos e com potencial curativo. A jabuticaba, *Myrciaria jaboticaba*, é um fruto nativo do Brasil, que pertence à família Myrtaceae. Possui compostos bioativos, como os polifenóis e antocianinas, concentradas em sua casca de coloração roxa, além de derivados de quercetina e proantocianidinas. Adicionalmente, também contém derivados do ácido elágico, os elagitaninos (31–33).

As principais antocianinas caracterizadas, especialmente na casca da jabuticaba, são cianidina-3-O-glicosídeo e delphinidina-3-O-glicosídeo (33,34), conhecidas por suas propriedades antioxidante e antiinflamatória, bem como sua capacidade de prevenir doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (35–42). Nesse sentido, Leite e colaboradores, em estudo realizado com ratos, mediante administração da casca da jabuticaba, verificaram aumento no potencial antioxidante plasmático nos grupos que ingeriram a fruta (43).

O ácido elágico e seus derivados também possuem atividade antioxidante e outros efeitos biológicos benéficos, tais como antiproliferativo e cardioprotetor. Em estudo realizado por Pinto e colaboradores, verificou-se que o ácido elágico é capaz de inibir a enzima conversora de angiotensina I, reconhecidamente um modulador do processo de remodelação cardíaca (44–46). Nota-se ausência de estudos envolvendo suplementação de jabuticaba e seus efeitos no coração.

Aspecto importante a ser considerado é que, apesar de mecanismos ainda pouco claros, algumas evidências indicam que a elevada capacidade antioxidante de compostos fenólicos, incluindo as antocianinas, pode resultar em redução do estresse oxidativo (46–48). O estresse oxidativo, por sua vez, modularia diversas vias de sinalização envolvidas no processo de inflamação (49).

Portanto, acredita-se que a ingestão de frutas com altos níveis de antocianinas e taninos

está associada a efeitos positivos sobre a saúde humana. Entre os mecanismos envolvidos, se destaca sua atividade antioxidante com consequentes efeitos no processo inflamatório (50–52) .

## *Conclusão*



Conclui-se que, em ratos infartados, a suplementação com jaboticaba atenuou o estresse oxidativo, diminuiu a fibrose nas regiões não infartadas e melhorou variáveis do metabolismo energético cardíaco. No entanto, esses benefícios não se traduziram em melhora da geometria ou função cardíaca.

## *Referências*

---

1. DATASUS. Doenças do sistema circulatório - óbitos por residência segundo região. MS - Rede Interagencial de Informações para a Saúde. 2018.
2. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs) [Internet]. 2018. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
3. Albert NM, Lewis C. Recognizing and managing asymptomatic left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *Crit Care Nurse*. 2008;28(2):20–37.
4. Chon JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35(3):569–82.
5. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation*. 1990;81(4):1161–72.
6. Francis GS. Pathophysiology of chronic heart failure. *Am J Med*. 2001;110(7):37–46.
7. Swynghedauw B. Molecular Mechanisms of Myocardial Remodeling. *Physiol Rev*. 1999;79(1):215–62.
8. Kunapuli S, Rosanio S, Schwarz ER. “How do cardiomyocytes die?” Apoptosis and autophagic cell death in cardiac myocytes. *J Card Fail*. 2006;12(5):381–91.
9. Giordano FJ. Oxygen , oxidative stress , hypoxia , and heart failure. *J Clin Invest*. 2005;115(3):500–8.
10. Takemura G, Fujiwara H. Role of apoptosis in remodeling after myocardial infarction. *Pharmacol Ther*. 2004;104(1):1–16.
11. Cleutjens JP. The role of matrix metalloproteinases in heart disease. *Cardiovasc Res*. 1996;32(5):816–21.
12. Spinale FG. Matrix metalloproteinases: Regulation and dysregulation in the



- failing heart. *Circ Res*. 2002;90(5):520–30.
13. Takimoto E, Kass DA. Role of oxidative stress in cardiac hypertrophy and remodeling. *Hypertension*. 2007;49(2):241–8.
  14. Sawyer DB, Siwik DA, Xiao L, Pimentel DR, Singh K, Colucci WS. Role of oxidative stress in myocardial hypertrophy and failure. *J Mol Cell Cardiol*. 2002;34(4):379–88.
  15. Neubauer S. The failing heart--an engine out of fuel. 2007;1140–51.
  16. Ashrafian H, Frenneaux MP, Opie LH. Metabolic mechanisms in heart failure. *Circulation*. 2007;116(4):434–48.
  17. Anand IS. Ventricular remodeling without cellular contractile dysfunction. *J Card Fail*. 2002;8(6 SUPPL.).
  18. Zornoff LAM, Paiva SAR, Duarte DR, Spadaro J. Remodelação ventricular pós-infarto do miocárdio: conceitos e implicações clínicas. *Arq Bras Cardiol*. 2009;92(2):150–64.
  19. Sun Y. Myocardial repair/remodelling following infarction: Roles of local factors. *Cardiovasc Res*. 2009;81(3):482–90.
  20. Deel ED Van, Lu Z, Xu X, Zhu G, Hu X, Oury TD, et al. Extracellular SOD protects the heart against oxidative stress and hypertrophy after myocardial infarction.pdf. 2009;44(7):1305–13.
  21. Siveski-Iliskovic N, Hill M, Chow DA, Singal PK. Probucol protects against adriamycin cardiomyopathy without interfering with its antitumor effect. *Circulation*. 1996;91(1):10–4.
  22. Fu H, Li G, Liu C, Li J, Wang X, Cheng L, et al. Probucol prevents atrial remodeling by inhibiting oxidative stress and tnf- $\alpha$ /nf- $\kappa$ b/tgf- $\beta$  signal transduction pathway in alloxan-induced diabetic rabbits. *J Cardiovasc*

- Electrophysiol. 2015;26(2):211–22.
23. Xiao X, Hou H, Lin V, Ho D, Tran K, Che B, et al. Probucol Protects Rats from Cardiac Dysfunction Induced by Oxidative Stress following Cardiopulmonary Resuscitation. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017.
  24. Murino Rafacho BP, Dos Santos PP, Gonçalves ADF, 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):1–17.
  25. Buttros JB, Bergamaschi CT, Ribeiro DA, Fracalossi ACC, Campos RR. Cardioprotective actions of ascorbic acid during isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rats. *Pharmacology*. 2009;84(1):29–37.
  26. Punithavathi VR, Prince PS. Pretreatment with a combination of quercetin and alpha-tocopherol ameliorates adenosine triphosphata. *Life Sci*. 2010;86(5):178–84.
  27. Sulistyowati E, Hsu J-H, Cheng Y-B, Chang F-R, Chen Y-F, Yeh J-L. Indonesian herbal medicine prevents hypertension-induced left ventricular hypertrophy by diminishing NADPH oxidasedependent oxidative stress. *Oncotarget*. 2017;8(49):86784–98.
  28. Vasanthi H R, ShriShriMal N, Das D K. Phytochemicals from Plants to Combat Cardiovascular Disease. *Curr Med Chem*. 2012;19(14):2242–51.
  29. Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2010;2(12):1231–46.
  30. Li AN, Li S, Zhang YJ, Xu XR, Chen YM, Li H Bin. Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*. 2014;6(12):6020–47.
  31. Seraglio SKT, Schulz M, Nehring P, Della Betta F, Valesse AC, Daguer H, et al.

- Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening. *Food Chem.* 2018;239:649–56.
32. Plaza M, Batista AG, Cazarin CBB, Sandahl M, Turner C, Ostman E. Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jaboticaba*. *Food Chem.* 2016;211(15):185–97.
33. Pereira LD, Barbosa JMG, Ribeiro Da Silva AJ, Ferri PH, Santos SC. Polyphenol and Ellagitannin Constituents of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and Chemical Variability at Different Stages of Fruit Development. *J Agric Food Chem.* 2017;65(6):1209–19.
34. Kalt W, Blumberg JB, McDonald JE, Vinqvist-Tymchuk MR, Fillmore SAE, Graf BA, et al. Identification of anthocyanins in the liver, eye, and brain of blueberry-fed pigs. *J Agric Food Chem.* 2008;56(3):705–12.
35. Hügel HM, Jackson N, May B, Zhang AL, Xue CC. Polyphenol protection and treatment of hypertension. *Phytomedicine.* 2016;23(2):220–31.
36. Sousa De Brito E, De Araújo MCP, Alves RE, Carkeet C, Clevidence BA, Novotny JA. Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, jambolão, jussara, and guajiru. *J Agric Food Chem.* 2007;55(23):9389–94.
37. Sasaki R, Nishimura N, Hoshino H, Isa Y, Kadowaki M, Ichi T, et al. Cyanidin 3-glucoside ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity due to downregulation of reti. *Biochem Pharmacol.* 2007;74(11):1619–27.
38. Tsuda T, Horio F, Uchida K, Aoki H, Osawa T. Dietary Cyanidin 3-O- $\beta$ -D-Glucoside-Rich Purple Corn Color Prevents Obesity and Ameliorates Hyperglycemia in Mice. *J Nutr.* 2003;133(7):2125–30.
39. Sun C-D, Zhang B, Zhang J-K, Xu C-J, Wu Y-L, Li X, et al. Cyanidin-3-Glucoside-Rich Extract from Chinese Bayberry Fruit Protects Pancreatic  $\beta$  Cells

- and Ameliorates Hyperglycemia in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *J Med Food*. 2012;15(3):288–98.
40. Takikawa M, Inoue S, Horio F, Tsuda T. Dietary Anthocyanin-Rich Bilberry Extract Ameliorates Hyperglycemia and Insulin Sensitivity via Activation of AMP-Activated Protein Kinase in Diabetic Mice. *J Nutr*. 2010;140(3):527–33.
  41. Balisteiro DM, Araujo RL de, Giacaglia LR, Genovese MI. Effect of clarified Brazilian native fruit juices on postprandial glycemia in healthy subjects. *Food Res Int*. 2017;100(Pt 2):196–203.
  42. Batista ÂG, Soares ES, Mendonça MCP, da Silva JK, Dionísio AP, Sartori CR, et al. Jaboticaba berry peel intake prevents insulin-resistance-induced tau phosphorylation in mice. *Mol Nutr Food Res*. 2017;61(10):1–10.
  43. Leite A V., Malta LG, Riccio MF, Eberlin MN, Pastore GM, Maróstica Júnior MR. Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). *J Agric Food Chem*. 2011;59(6):2277–83.
  44. Larrosa M, García-Conesa MT, Espín JC, Tomás-Barberán FA. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. *Mol Aspects Med*. 2010;31(6):513–39.
  45. Pinto MS, Carvalho JE de, Lajolo FM, Genovese MI, Shetty K. Evaluation of antiproliferative, anti-type 2 diabetes, and antihypertension potentials of ellagitannins from strawberries (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) using in vitro models. *J med food*. 2010;13(5):1027–35.
  46. Rozentsvit A, Vinokur K, Samuel S, Li Y, Gerdes AM, Carrillo-Sepulveda MA. Ellagic Acid Reduces High Glucose-Induced Vascular Oxidative Stress Through ERK1/2/NOX4 Signaling Pathway. *Cell Physiol Biochem*. 2017;44(3):1174–87.
  47. Fagundes L, Macedo L, Macedo M, Pereira J, Granato D, Pereira L, et al. Effect

- of red wines with different in vitro antioxidant activity on oxidative stress of high-fat diet rats. *Food Chem.* 2013;137(1–4):122–9.
48. Mullarkey CJ, Edelstei D, Brownlee M. Free radical generation by early glycation products: a mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;173(3):932–9.
  49. Strobel NA, Fassett RG, Marsh SA, Coombes JS. Oxidative stress biomarkers as predictors of cardiovascular disease. *Int J Cardiol.* 2011;147(2):191–201.
  50. Mullen W, McGinn J, Lean ME, MacLean MR, Gardner P, Duthie GG, et al. Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity. *J Agric Food Chem.* 2002;50(18):5191–6.
  51. Priyadarsini KI, Khopde SM, Kumar SS, Mohan H. Free radical studies of ellagic acid, a natural phenolic antioxidant. *J Agric Food Chem.* 2002;50(7):2200–6.
  52. Srinivasan P, Vadhanam M V., Arif JM, Gupta RC. A rapid screening assay for antioxidant potential of natural and synthetic agents in vitro. *Int J Oncol.* 2002;20(5):983–6.
  53. Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, et al. Myocardial Infarct Size and Ventricular Function in Rats. *Circ Res.* 1977;44(4):503–12.
  54. Spadaro J, Fishbein MC, Hare C, Pfeffer MA, Maroko PR. Characterization of myocardial infarcts in the rat. *Arch Pathol Lab Med.* 1980;104(4):179–83.
  55. Sjaastad I, Sejersted OM, Ilebekk A, Bjørnerheim R, Bjørnerheim R. Echocardiographic criteria for detection of postinfarction congestive heart failure in rats. *J Appl Physiol.* 2000;89(4):1445–54.
  56. Fioretto JR, Querioz SS, Padovani CR, Matsubara LS, Okoshi K, Matsubara BB. Ventricular remodeling and diastolic myocardial dysfunction in rats submitted to

- protein-calorie malnutrition. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol*. 2002;282(4):H1327–33.
57. Okoshi K, Matsubara LS, Okoshi MP, Cicogna AC, Fioretto JR, Padovani CR, et al. Food restriction-induced myocardial dysfunction demonstrated by the combination of in vivo and in vitro studies. *Nutr Res*. 2002;22(11):1353–64.
58. Moreira VO, Pereira CA, Silva MO, Felisbino SL, Cicogna AC, Okoshi K, et al. Growth hormone attenuates myocardial fibrosis in rats with chronic pressure overload-induced left ventricular hypertrophy. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009;36(3):325–30.
59. Tei C, Nishimura RA, Seward JB, Tajik AJ. Noninvasive doppler-derived myocardial performance index: Correlation with simultaneous measurements of cardiac catheterization measurements. *J Am Soc Echocardiogr*. 1997;10(2):169–78.
60. Watson LE, Sheth M, Denyer RF, Dostal DE. Baseline Echocardiographic Values for Adult Male Rats. *J Am Soc Echocardiogr*. 2004;17(2):161–7.
61. Slama M. Validation of echocardiographic and Doppler indexes of left ventricular relaxation in adult hypertensive and normotensive rats. *AJP Hear Circ Physiol*. 2005;289(3):H1131–6.
62. Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell BH, Aurigemma GP, Douglas PS. Serial Echocardiographic-Doppler Assessment of Left Ventricular Geometry and Function in Rats With Pressure-Overload Hypertrophy. *Circulation*. 1995;91:2642–54.
63. Kim DO, Jeong SW, Lee CY. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem*. 2003;81(3):321–6.
64. Teixeira LN, Stringheta PC, Oliveira FA De. Comparação de métodos para

- quantificação de antocianinas. *Rev Ceres*. 2008;55(4):297–304.
65. W.Brand-Williams, M.E.Cuvelier, C.Berset. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *food Sci Technol*. 2007;28(1):25–30.
66. Minicucci MF, Azevedo PS, Duarte DR, Matsubara BB, Matsubara LS, Campana AO, et al. Comparison of different methods to measure experimental chronic infarction size in the rat model. *Arq Bras Cardiol*. 2007;89(2):83–7, 93–8.
67. Minicucci MF, Azevedo PS, Martinez PF, Lima ARR, 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.
68. Cassina A, Radi R. Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Arch Biochem Biophys*. 1996;328(2):309–16.
69. Wilkinson JH. *Introduccion al diagnostico enzimatico*. Toray E, editor. Barcelona; 1965.
70. Bass A, Brdiczka D, Eyer P, Hofer S, Pette D. Metabolic Differentiation of Distinct Muscle Types at the Level of Enzymatic Organization. *Eur J Biochem*. 1969;10(2):198–206.
71. Singer TP. Determination of the activity of succinate, NADH, choline, and alpha-glycerophosphate dehydrogenases. *Methods Biochem Anal*. 1974;22:123–75.
72. Fischer JC, Ruitenbeek W, Berden JA, Trijbels JMF, Veerkamp JH, Stadhouders AM, et al. Differential investigation of the capacity of succinate oxidation in human skeletal muscle. *Clin Chim Acta*. 1985;153(1):23–36.
73. Desai VG, Weindruch R, Hart RW, Feuers RJ. Influences of age and dietary restriction on gastrocnemius electron transport system activities in mice. *Arch Biochem Biophys*. 1996;333(1):145–51.

74. Pereira B, Costa-Rosa LFBP, Bechara EJH, Newsholme P, Curi R. Changes in the TBARs content and superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the lymphoid organs and skeletal muscles of adrenalectomized rats. *Brazilian J Med Biol Res.* 1998;31(6):827–33.
75. Zakowsk J, Tappel A L. Purification and properties of rat liver glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta.* 1978;526(1):65–76.
76. Crouch RK, Gandy SE, Kimsey G, Galbraith RA, Galbraith GM BM. The inhibition of islet superoxide dismutase by diabetogenic drugs. *Diabetes.* 1981;30(3):235–41.
77. AZ, Reznick PL. Abstract Oxidative damage to proteins : spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzym.* 1994;233:357–63.
78. Singh NP, McCoy MT, Tice RR SE. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Electrophoresis.* 1988;175(1):184–91.
79. Tice RR, Andrews PW, Hirai O, Singh NP. The Single Cell Gel (SCG) Assay: An Electrophoretic Technique for the Detection of DNA Damage in Individual Cells. 1991;157–64.
80. Idikio HA. Postmyocardial infarct remodeling and heart failure: Potential contributions from pro- and antiaging factors. *Cardiol Res Pract.* 2011;1(1).
81. Csonka C, Kupai K, Kocsis GF, Novák G, Fekete V, Bencsik P, et al. Measurement of myocardial infarct size in preclinical studies. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2010;61(2):163–70.
82. Wu SB, Dastmalchi K, Long C, Kennelly EJ. Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark-colored fruit juices. *J Agric Food Chem.* 2012;60(30):7513–25.
83. Wu SB, Long C, Kennelly EJ. Phytochemistry and health benefits of jaboticaba,



- an emerging fruit crop from Brazil. *Food Res Int.* 2013;54(1):148–59.
84. Reynertson KA, Wallace AM, Adachi S, Gil RR, Yang H, Basile MJ, et al. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). *J Nat Prod.* 2006;69(8):1228–30.
85. Plaza M, Batista ÂG, Cazarin CBB, Sandahl M, Turner C, Östman E, et al. Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jaboticaba* peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: A pilot clinical study. *Food Chem.* 2016;211:185–97.
86. Wu SB, Wu J, Yin Z, Zhang J, Long C, Kennelly EJ, et al. Bioactive and marker compounds from two edible dark-colored *Myrciaria* fruits and the synthesis of jaboticabin. *J Agric Food Chem.* 2013;61(17):4035–43.
87. Nile SH, Park SW. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition.* 2014;30(2):134–44.
88. Gertz EW, Wisneski JA, Stanley WC NR. Myocardial substrate utilization during exercise in humans. Dual carbon-labeled carbohydrate isotope experiments. *J Clin Invest.* 1988;82(6):2017–25.
89. Stanley WC, Lopaschuk GD, Hall JL, McCormack JG. Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischaemic conditions. *Cardiovasc Res.* 1997;33(2):243–57.
90. Wisneski JA, Gertz EW, Neese RA, Gruenke LD, Cymerman Craig J. Dual carbon-labeled isotope experiments using D-[6-14C] glucose and L-[1,2,3-13C3] lactate: A new approach for investigating human myocardial metabolism during ischemia. *J Am Coll Cardiol.* 1985;5(5):1138–46.
91. Wisneski JA, Stanley WC, Neese RA, Gertz EW. Effects of acute hyperglycemia on myocardial glycolytic activity in humans. *J Clin Invest.* 1990;85(5):1648–56.

92. Dávila-Román VG, Vedala G, Herrero P, De Las Fuentes L, Rogers JG, Kelly DP, et al. Altered myocardial fatty acid and glucose metabolism in idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40(2):271–7.
93. Osorio JC, Stanley WC, Linke A, Castellari M, Diep QN, Panchal AR, et al. Impaired myocardial fatty acid oxidation and reduced protein expression of retinoid X receptor- $\alpha$  in pacing-induced heart failure. *Circulation.* 2002;106(5):606–12.
94. Recchia FA, McConnell PI, Bernstein RD, Vogel TR, Xu X, Hintze TH. Reduced nitric oxide production and altered myocardial metabolism during the decompensation of pacing-induced heart failure in the conscious dog. *Circ Res.* 1998;83(10):969–79.
95. Remondino A, Rosenblatt-Velin N, Montessuit C, Tardy I, Papageorgiou I, Dorsaz PA, et al. Altered expression of proteins of metabolic regulation during remodeling of the left ventricle after myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 2000;32(11):2025–34.
96. Sack MN, Rader TA, Park S, Bastin J, McCune SA, Kelly DP. Fatty acid oxidation enzyme gene expression is downregulated in the failing heart. *Circulation.* 1996;94(11):2837–42.
97. Saks VA, Favier R, Guzun R, Schlattner U, Wallimann T. Molecular system bioenergetics: Regulation of substrate supply in response to heart energy demands. *J Physiol.* 2006;577(3):769–77.
98. Neely JR, Morgan HE. Relationship Between Carbohydrate and Lipid Metabolism and the Energy Balance of Heart Muscle. *Annu Rev Physiol.* 1974;36(1):413–59.
99. Wolfe CL, Sievers RE, Visseren FLJ, Donnelly TJ. Loss of myocardial

- protection after preconditioning correlates with the time course of glycogen recovery within the preconditioned segment. *Circulation*. 1993;87(3):881–92.
100. Ventura-Clapier R, Garnier A, Veksler V, Joubert F. Bioenergetics of the failing heart. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*. 2011;1813(7):1360–72.
  101. Hue L, Rider MH. Role of fructose 2,6-bisphosphate in the control of glycolysis in mammalian tissues. *Biochem J*. 1987;245(2):313–24.
  102. Randle PJ. Fuel selection in animals. *Biochem Soc Trans*. 1986;14(5):799–806.
  103. Kodde IF, van der Stok J, Smolenski RT, de Jong JW. Metabolic and genetic regulation of cardiac energy substrate preference. *Comp Biochem Physiol - A Mol Integr Physiol*. 2007;146(1):26–39.
  104. Clarke B, Wyatt KM, McCormack JG. Ranolazine increases active pyruvate dehydrogenase in perfused normoxic rat hearts: Evidence for an indirect mechanism. *J Mol Cell Cardiol*. 1996;28(2):341–50.
  105. Higgins AJ, Morville M, Burges RA, Blackburn KJ. Mechanism of action of oxfenicine on muscle metabolism. *Biochem Biophys Res Commun*. 1981;100(1):291–6.
  106. Kruszynska YT, McCormack JG, McIntyre N. Effects of glycogen stores and non-esterified fatty acid availability on insulin-stimulated glucose metabolism and tissue pyruvate dehydrogenase activity in the rat. *Diabetologia*. 1991;34(4):205–11.
  107. Schwartz GG, Greyson C, Wisneski JA, Garcia J. Inhibition of fatty acid metabolism alters myocardial high-energy phosphates in vivo. *Am J Physiol*. 1994;267(1 Pt 2):H224-31.
  108. Stanley WC. Myocardial Substrate Metabolism in the Normal and Failing Heart. *Physiol Rev*. 2005;85(3):1093–129.

109. Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais Livres: Conceitos E Mecanismo De Lesão. *Rev Ass Med Bras.* 1997;43(1):61–9.
110. MacGregor JT, Heddle JA, Hite M, Margolin BH, Ramel C, Salamone MF, et al. Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. *Mutat Res Toxicol.* 1987;189(2):103–12.
111. Attia SM, Ahmad SF, Zoheir KM, Bakheet SA, Helal GK, Abd-Allah AR, et al. Genotoxic evaluation of chloroacetonitrile in murine marrow cells and effects on DNA damage repair gene expressions. *Mutagenesis.* 2014;29(1):55–62.
112. Vivas N, Laguerre M, Glories Y, Bourgeois G, Vitry C. Structure Simulation of Two Ellagitannins From. *Phytochemistry.* 1995;39(5):1193–9.
113. Zhu H, Itoh K, Yamamoto M, Zweier JL, Li Y. Role of Nrf2 signaling in regulation of antioxidants and phase 2 enzymes in cardiac fibroblasts: Protection against reactive oxygen and nitrogen species-induced cell injury. *FEBS Lett.* 2005;579(14):3029–36.
114. Bayram B, Ozcelik B, Grimm S, Roeder T, Schrader C, Ernst IMA, et al. A Diet Rich in Olive Oil Phenolics Reduces Oxidative Stress in the Heart of SAMP8 Mice by Induction of Nrf2-Dependent Gene Expression. *Rejuvenation Res.* 2012;15(1):71–81.
115. Magesh S, Chen Y, Hu L. Small Molecule Modulators of Keap1-Nrf2-ARE Pathway as Potential Preventive and Therapeutic Agents. *Med Res Rev.* 2012;32(4):687–726.
116. Li J, Ichikawa T, Villacorta L, Janicki JS, Brower GL, Yamamoto M, et al. Nrf2 protects against maladaptive cardiac responses to hemodynamic stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(11):1843–50.
117. Haslam E. Vegetable tannins - Lessons of a phytochemical lifetime.

- Phytochemistry. 2007;68(22–24):2713–21.
118. Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouységu L. Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angew Chemie - Int Ed.* 2011;50(3):586–621.
  119. Schultz JEJ, Witt SA, Glascock BJ, Nieman ML, Reiser PJ, Nix SL, et al. TGF- $\beta$ 1 mediates the hypertrophic cardiomyocyte growth induced by angiotensin II. *J Clin Invest.* 2002;109(6):787–96.
  120. Khalil H, Kanisicak O, Prasad V, Correll RN, Fu X, Schips T, et al. Fibroblast-specific TGF- $\beta$ -Smad2/3 signaling underlies cardiac fibrosis. *J Clin Invest.* 2017;127(10):3770–83.
  121. Desmoulière A, Geinoz AFG. Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured. *JcbRupressOrg.* 1993;122(1):103–11.
  122. Zeisberg M, Yang C, Martino M, Duncan MB, Rieder F, Tanjore H, et al. Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition. *J Biol Chem.* 2007;282(32):23337–47.
  123. Stephen P. Evanko, Susan Potter-Perigo, Loreen J. Petty, Gail A. Workman and TNW. Hyaluronan Controls the Deposition of Fibronectin and Collagen and Modulates TGF- $\beta$ 1 Induction of Lung Myofibroblasts. *Matrix Biol.* 2015;42:74–92.
  124. Ding J, Kwan P, Ma Z, Iwashina T, Wang J, Shankowsky HA, et al. Synergistic effect of vitamin D and low concentration of transforming growth factor beta 1, a potential role in dermal wound healing. *Burns.* 2016;42(6):1277–86.
  125. Poosti F, Bansal R, Yazdani S, Prakash J, Post E, Klok P, et al. Selective delivery of IFN- $\gamma$  to renal interstitial myofibroblasts: A novel strategy for the treatment of

- renal fibrosis. *FASEB J.* 2015;29(3):1029–42.
126. Silva RM, Pereira LD, Vêras JH, Vale CR, Chen-Chen L SS. Protective effect and induction of DNA repair by *Myrciaria cauliflora* seed extract and pedunculagin on cyclophosphamide-induced genotoxicity. *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2016;810:40–7.
127. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB J.* 2008;Mar 22(3):659–61.