



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

NAYANE MARIA VIEIRA

**Influência do feijão na remodelação cardíaca após o Infarto Agudo
do Miocárdio em ratos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título
de Mestra em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Ferreira Minicucci

Botucatu
2021

NAYANE MARIA VIEIRA

**Influência do feijão na remodelação cardíaca após o Infarto Agudo
do Miocárdio em ratos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título
de Mestra em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Ferreira Minicucci

**Botucatu
2021**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Vieira, Nayane Maria.

Influência do feijão na remodelação cardíaca após o
Infarto Agudo do Miocárdio em ratos / Nayane Maria Vieira.
- Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de
Botucatu

Orientador: Marcos Ferreira Minicucci
Capes: 40101002

1. Feijão. 2. Infarto do miocárdio. 3. Estresse
oxidativo. 4. Compostos fenólicos. 5. Remodelação
ventricular.

Palavras-chave: Compostos fenólicos; Estresse oxidativo;
Infarto do miocárdio; Phaseolus vulgaris; Remodelação
ventricular.

ΕΠΪΓΡΑΦΕ

Por vezes sentimos
que aquilo que
fazemos não é
senão uma gota
de água no mar.
Mas o mar seria
menor se lhe
faltasse uma
gota.

Madre Teresa de Calcutá

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Joaquim e Janaína, pelo cuidado, amor e conselhos. Meu amor por vocês é incondicional!

Ao meu irmão Diego, pela nossa cumplicidade e carinho, nosso elo é único.

À minha prima irmã Maria Clara, nosso presente mais lindo e desejado.

Ao meu tio Antônio e minha tia Aniele, pelo carinho e apoio em todos os momentos.

Ao meu avô paterno João Berlarmino (*in memoriam*) meu maior exemplo de ser humano, sinto muitas saudades do seu colo, e ao meu avô materno João Antunes, sempre com seu olhar cuidadoso e disposto.

À minha avó paterna Zilda Rosa, pelos conselhos, cuidado e aconchego, e a minha avó materna Conceição Jacira, por ter participado da minha educação na fé, e por sempre me colocar em suas orações.

Às minhas amigas Isadora Martins, Juliana Souza, Maria Júlia Cosin, Marina Gaiato Monte e Tássia Costa, cada qual com seu jeito único, são extremamente especiais na minha vida.

Aos meus amigos do “bonde” e familiares, por festejarem todas as conquistas ao meu lado.

Amo vocês!

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

Ao meu orientador **Prof. Dr. Marcos Ferreira Minicucci**, por ter sido tão atencioso e querido em cada etapa da minha jornada até aqui. Por acreditar na minha capacidade, e por me ensinar a manter calma nos momentos de angústia. Você é um exemplo de dedicação e profissionalismo. Obrigada por transmitir serenidade, principalmente em meio as limitações que vivenciamos em tempos de pandemia.

AGRADECIMENTOS

À Deus que conduz meus passos.

Aos docentes do grupo Remodelação Cardíaca e Nutrição (RECAN), Profa. Dra. Paula S. A. Gaiolla e Prof. Dr. Sergio A. R. de Paiva, pela contribuição no desenvolvimento desse estudo.

Ao Prof. Dr. Leonardo A. M. Zornoff, pela realização do método de infarto experimental, além de compor minha banca no exame de qualificação.

À Profa. Dra. Bertha Furlan Polegato, pelas análises de coração isolado e todos os ensinamentos transmitidos, além de compor minha banca no exame de qualificação.

Ao Prof. Dr. Katashi Okoshi pela colaboração e disponibilidade na realização do ecocardiograma.

À minha ex-professora e amiga Nara Aline Costa, você tem parte fundamental na minha trajetória profissional, sou sua fã.

À minha amiga Marina Gaiato Monte, obrigada por todo companheirismo na minha vida pessoal e profissional, você tem luz.

Aos integrantes e ex-integrantes do RECAN, em especial, Amanda G. Pereira, Ana Paula D. Ribeiro, Anderson S. S. Fujimori, Danilo L. Malmonge, Mariana Dorna, Natália Ferreira, Paola da Silva Balin e Ronny Peterson pela parceria e amizade. Vocês foram essenciais para realização desse estudo.

Aos funcionários da Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX), em especial, Paulo C. Geogerte, José C. Georgete e Dijon H. S. de Campos pelo suporte e serviço prestado com tanta dedicação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo suporte financeiro.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	19
HIPÓTESE.....	26
OBJETIVO.....	28
MATERIAL E MÉTODOS.....	30
RESULTADOS.....	40
DISCUSSÃO	49
CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS	57

Lista de tabelas

Tabela 1. Composição nutricional da farinha de feijão.....	33
Tabela 2. Peso dos órgãos e tecidos dos animais.....	43
Tabela 3. Peso corporal e variáveis ecocardiográficas estruturais.....	44
Tabela 4. Frequência cardíaca e variáveis ecocardiográficas funcionais.....	45
Tabela 5. Coração isolado.....	46
Tabela 6. Área sob a curva do coração isolado.....	46
Tabela 7. Quantificação de carbonilação proteica no coração dos animais.....	48
Tabela 8. Expressão de proteínas no coração dos animais.....	48

Lista de figuras

Figura 1. Representação do delineamento do estudo.....	32
Figura 2. Cortes histológicos corados pela técnica de Picrosirius red, para visualização do tamanho do infarto.....	41
Figura 3. Área da secção transversa dos miócitos.....	47
Figura 4. Expressão das proteínas por western blot no coração dos animais..	48

Lista de gráficos

Gráfico 1. Peso médio dos animais.....	42
Gráfico 2. Ingestão de ração dos animais.....	43
Gráfico 3. Área sob a curva do coração isolado.....	47

Lista de abreviações

DCV	Doenças Cardiovasculares
OMS	Organização Mundial da Saúde
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
SUS	Sistema Único de Saúde
VE	Ventrículo Esquerdo
RC	Remodelação Cardíaca
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
NRF-2	Fator nuclear 2 Relacionado ao Eritroide
TNF-alfa	Fator Necrose Tumoral-alfa
IL-1 β	Interleucina 1-beta
IL-6	Interleucina 6
IL-9	Interleucina 9
IL-17A	Interleucina 17A
IFN	Interferon
IL-10	Interleucina 10
MCP-1	Proteína-1 quimioatraente de monócitos
NFkB	Factor Nuclear Kappa B
SOD	Superóxido dismutase
SRA	Sistema Renina Angiotensina
AST	Aspartato aminotransferase
ALT	Alanina aminotransferase
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
TAG	Triacilglicerol
α -AI	α -amilase
SCFA	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
CEUA	Comissão de Ética na Utilização de Animais
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
UNIPEX	Unidade de Pesquisa Experimental
FMB	Faculdade de Medicina de Botucatu
UNESP	Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho
VET	Valor Energético Total
ITAL	Instituto de Tecnologia de Alimentos
EDPP	Espessura Diastólica da Parede Posterior do VE
DDVE	Diâmetro Diastólico do VE
DSVE	Diâmetro Sistólico do VE
AO	Diâmetro do Átrio Esquerdo
AO	Diâmetro da Aorta
PC	Peso Corporal
TRIV	Tempo de Relaxamento Isovolumétrico do VE
TDE	Tempo de Desaceleração da Onda E mitral

VEPP	Velocidade de Encurtamento da Parede
+dP/dtmax	Posterior do VE
-Dp/dtmax	Derivada + pressão-tempo
ASC	Derivada – pressão-tempo
VD	Área Sob a Curva
HE	Ventrículo Direito
ASM	Hematoxilina Eosina
DNPH	Área Seccional de Miócitos
GAPDH	Dinitrofenilhiazina
ANOVA	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
SC	Análise de Variância
IC	Sham Controle
IF	Infarto Controle
RECAN	Infarto Feijão
	Remodelação Cardíaca e Nutrição

RESUMO

Introdução: a insuficiência cardíaca é uma frequente complicação após o infarto agudo do miocárdio (IAM), sendo que a remodelação cardíaca (RC) tem papel de destaque na disfunção ventricular pós-infarto. Mecanismos como estresse oxidativo, inflamação e fibrose modulam esse processo, visando proteção cardiovascular, afim de reduzir tamanho do infarto e preservar a função cardíaca, pode-se destacar alimentos com propriedades antioxidantes, como o feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Objetivo:** avaliar a influência da suplementação da farinha de feijão na remodelação cardíaca após o IAM em ratos. **Material e Métodos:** ratos Wistar machos, com peso entre 200 e 250g, foram submetidos ao infarto experimental ou à cirurgia simulada e alocados em 3 grupos: 1) Sham alimentado com dieta padrão (SC); 2) IAM alimentado com dieta padrão (IC) e 3) IAM alimentado com dieta suplementada com farinha de feijão (IF) 15%. Após 3 meses os animais foram submetidos ao estudo funcional, morfométrico e bioquímico. Foi realizado o teste de análise de variância de 1 via (ANOVA), o nível de significância adotado foi de 5%. **Resultados:** houve perda de 48 animais dos infartados, sendo que, 3 animais foram descartados, pois não foi induzido o modelo de infarto, e 1 animal no ecocardiograma inicial. Durante os 3 meses de experimento houve perda de 2 animais do grupo IC, e 2 animais do grupo IF. O tamanho médio dos infartos foi de 38% para o grupo IC, e 40% para o grupo IF. Não houve diferença entre a ingestão de ração e ganho de peso dos animais, o peso dos órgãos, do ventrículo esquerdo (VE) e ventrículo direito (VD) foram maiores nos animais com IAM. O IAM induziu alterações no VE, observados pelas variáveis estruturais e funcionais do ecocardiograma. Na análise de coração isolado, as variáveis de derivada positiva pressão-tempo (+dP/dtmax) e a derivada negativa de pressão-tempo (-dP/dtmax) foram menores entre os grupos IAM, enquanto a área sobre a curva (ASC) foi elevada nos animais com IAM. A área da secção transversa de miócitos (AST) foi maior nos grupos IAM, no estresse oxidativo, não foi possível observar diferença na carbonilação proteica total, além disso, não houve diferença nas expressões das proteínas do NRF-2 e colágeno III. **Conclusão:** a suplementação de farinha de feijão não atenuou a RC induzida pelo IAM em ratos.

Palavras-chave: Infarto do Miocárdio, Remodelação Ventricular, Estresse Oxidativo, Compostos Fenólicos, *Phaseolus vulgaris*.

ABSTRACT

Introduction: cardiac failure is a frequent complication after acute myocardial infarction (AMI), and cardiac remodeling (CR) plays an important role in post-infarction ventricular dysfunction. Mechanisms such as oxidative stress, inflammation and fibrosis modulate this process, aiming at cardiovascular protection, in order to reduce infarction size and preserve cardiac function, one can highlight foods with antioxidant properties, such as beans (*Phaseolus vulgaris*). **Objective:** to evaluate the influence of bean flour supplementation on cardiac remodeling after AMI in rats. **Material and Methods:** male Wistar rats, weighing between 200 and 250g, underwent experimental infarction or sham surgery and were allocated into 3 groups: 1) Sham fed a standard diet (SC); 2) AMI fed a standard diet (CI) and 3) AMI fed a diet supplemented with bean flour (IF) 15%. After 3 months the animals were submitted to a functional, morphometric and biochemical study. The 1-way analysis of variance test (ANOVA) was performed, the significance level adopted was 5%. **Results:** there was a loss of 48 animals from the infarctions, and 3 animals were discarded because the infarction model was not induced, and 1 animal in the initial echocardiogram. During the 3 months of the experiment there was a loss of 2 animals from the IC group, and 2 animals from the IF group. The mean infarct size was 38% for the IC group and 40% for the IF group. There was no difference between feed intake and weight gain of the animals, the weight of organs, left ventricle (LV) and right ventricle (RV) were higher in animals with AMI. The AMI induced changes in the LV, observed by the structural and functional variables of the echocardiogram. In the isolated heart analysis, the variables of positive pressure-time derivative (+dP/dtmax) and negative pressure-time derivative (-dP/dtmax) were lower between the AMI groups, while the area under the curve (AUC) was elevated in animals with AMI. The myocyte cross-sectional area (AST) was higher in the AMI groups, under oxidative stress, it was not possible to observe a difference in total protein carbonylation, in addition, there was no difference in the expressions of NRF-2 and collagen III proteins. **Conclusion:** bean flour supplementation did not attenuate the CR induced by AMI in rats. **Keywords:** Myocardial Infarction, Ventricular Remodeling, Oxidative Stress, Phenolic Compounds, *Phaseolus vulgaris*.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos as doenças cardiovasculares (DCV) constituem as principais causas de morte no mundo (1). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que 17,9 milhões de pessoas morreram em 2016 em decorrência a DCV, representando 31% das mortes em todo o mundo, além disso, em 2030, serão responsáveis por aproximadamente 23,6 milhões de mortes (2).

Dentre as DCV podemos destacar as síndromes coronarianas agudas, principalmente o Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) com e sem supradesnivelamento de segmento ST, sendo responsável por mais de 7% dos óbitos no Brasil, e representou 10,2% das internações no Sistema Único de Saúde (SUS) (3). O IAM é uma das causas mais importantes de insuficiência cardíaca, considerado grande problema de saúde, e que se relaciona a piores prognósticos, com incidência e prevalência crescentes nas últimas décadas (4).

Neste contexto, após o IAM, ocorrem eventos complexos no ventrículo esquerdo (VE), envolvendo tanto a região infartada quanto a não infartada, tais alterações são denominadas como remodelação cardíaca (RC) (5, 6, 7). A RC é caracterizada por alterações moleculares, celulares e intersticiais cardíacas, manifestando-se clinicamente por alterações no tamanho, massa, geometria e função do coração, em resposta a determinada agressão (8).

Muitos fatores se associam a RC, incluindo modificações no trânsito de cálcio, alterações da via beta-adrenérgica, alterações das proteínas contráteis, ativação das metaloproteases, perda aguda de miócitos, acompanhada pela degradação do colágeno interfibrilar, especialmente os colágenos tipo I e tipo III, estresse oxidativo, processo inflamatório, alterações no metabolismo energético, alterações de proteínas no citoesqueleto, da membrana e matriz e apoptose (8, 9).

Nesse cenário pode-se destacar o estresse oxidativo, evento complexo caracterizado pelo aumento das espécies reativas de oxigênio (EROS) (10). A geração de EROS em escalas nanomolares é considerada fundamental e atua como um segundo mensageiro intracelular (11). No entanto, em quantidades micromolares, podem lesar os miócitos e desencadear eventos adversos, resultando em aumento de estresse oxidativo e processo inflamatório, que

desencadeiam posteriormente uma cascata de eventos adversos (11).

Em decorrência ao aumento da produção de EROS, destaca-se a importância do fator nuclear 2 relacionado ao eritroide 2 (NRF-2), capaz de induzir a expressão de uma variedade de genes citoprotetores e desintoxicantes. Em condições fisiológicas adequadas a expressão de NRF-2 é menor, no entanto, com o aumento da produção de EROS o NRF-2 é superexpresso (12). Entretanto na fase crônica do IAM, pode estar reduzida por expressão anormal do gene-alvo do NRF-2, afetando a manutenção da homeostase redox via enzimas medidas por elementos de resposta antioxidante (12).

Dentre os efeitos adversos do estresse oxidativo, temos ainda a peroxidação lipídica, oxidação proteica, dano ao DNA, disfunção celular, proliferação de fibroblastos, ativação de metaloproteinases, estímulo à apoptose, alterações nas proteínas responsáveis pelo trânsito de cálcio e ativação de vias de sinalização para hipertrofia, se associando a piores prognósticos (13).

Diante disso, mediadores inflamatórios também devem ser elucidados, pois, se relacionam diretamente a produção de EROS. Citocinas inflamatórias são estimuladas a serem produzidas pelos EROS, e o mesmo ocorre contrariamente. A inflamação desempenha papel crucial na fisiopatologia do IAM, por meio de uma intensa resposta inflamatória ativada pela isquemia cardíaca, dentre as citocinas inflamatórias podemos destacar o fator necrose tumoral-alfa (TNF-alfa) e as interleucinas 1 β e 6 (IL-1 β e IL-6), que atuam nas vias inflamatórias, e podem levar a fibrose e morte celular(14, 15). Dessa maneira, destaca-se o manejo do estresse oxidativo e do processo inflamatório como potenciais alvos para atenuar a remodelação cardíaca após o IAM.

Afim de aprimorar terapêuticas na RC e reduzir a mortalidade após o IAM, tem-se utilizado, nos últimos anos, estratégias como os inibidores da enzima de conversão da angiotensina II, betabloqueadores, inibidores do receptor da neprilisina e da angiotensina II, bloqueadores da aldosterona e inibidores da SGLT2, com benefícios significativos na morbimortalidade (16, 17).

No entanto, devido ao grande impacto sócio econômico, proveniente do IAM e de gastos hospitalares, como o custo elevado do tratamento após o IAM. Novos tratamentos são necessários, visando proteção cardiovascular, afim de reduzir tamanho do infarto e preservar a função cardíaca. Em estudos com

modelo de infarto, alimentos com propriedades antioxidantes como o alecrim, tomate e o suco de laranja mostraram efeitos benéficos e de proteção na RC (18, 19, 20). Neste contexto, pode-se destacar a suplementação de alimentos com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, como o feijão (*Phaseolus vulgaris*) (21).

O feijão é um alimento tradicional, que possui excelente valor nutricional, tornando-se opção interessante para melhorar o aporte nutricional e reduzir as carências de nutrientes, principalmente em regiões com restrições econômicas (22, 23). Embora o consumo de feijão seja amplamente recomendado, eles são pouco consumidos em alguns países. O consumo médio de feijão no mundo atingiu 2,58 kg/habitante/ano em 2017 (24), enquanto no Brasil o consumo é de aproximadamente 15 kg/hab/ano (25).

Existem várias espécies de feijão, sendo *Phaseolus vulgaris* L., conhecido como o feijão do tipo “carioca”, a mais cultivada e consumida. Em geral, feijões apresentam variações de formas e cores, porém com propriedades nutricionais semelhantes. Os grãos são boas fontes de proteínas, carboidratos, fibras alimentares, compostos fenólicos como polifenóis, flavonoides, além de vitaminas e minerais (26). O conteúdo calórico, de macronutrientes e de fibras é muito semelhante entre os diferentes tipos de feijão, ocorrendo algumas variações de difícil padronização, devido à influência da composição do solo, estação do ano e tipo de método utilizado para avaliação (27, 28).

Além disso, apresentam diversidade de micronutrientes, dentre eles, o potássio, magnésio, folato, ferro e zinco. Os feijões também destacam-se por serem fontes fundamentais de proteína em dietas vegetarianas e veganas, pois são alimentos de fonte vegetal capaz de fornecer quantidades significativas do aminoácido essencial lisina e de apresentar baixo custo quando comparado às outras fontes proteicas (29). Ainda neste contexto, o conteúdo de fibras totais e solúveis presentes nos grãos são grandes contribuintes para o baixo índice glicêmico, auxiliando, deste modo, na prevenção de doenças crônicas (27).

Interessantemente destacam-se os compostos fenólicos presentes nos grãos, a quantidade de polifenóis presentes nessa leguminosa é capaz de lhe atribuir elevado potencial antioxidante. Entretanto, o feijão também contém vários compostos classificados como antinutrientes, os quais podem interferir na

digestão e na utilização dos nutrientes. Os inibidores de protease, lectinas, fitatos, oxalatos, (incluindo taninos), anti-vitaminas, galacto-oligosacarídeos, fatores de flatulência, alérgenos, e ácido fítico, configuram antinutrientes presentes no feijão (30).

Os antinutrientes são encontrados em diversos vegetais, e podem ser consumidos com segurança, desde que realizados procedimentos convencionas de lavagem dos grãos, remolho e fervura, pois são capazes de inativar a maior parte deles e, além disso os efeitos prejudiciais são observados em condições de consumo de elevadas quantidades (31).

Diante do exposto, os benefícios do consumo do feijão foram descritos em recentes revisões, como fator preventivo na obesidade, saúde cardiovascular, perfil metabólico, proteção do cólon, diminuir inflamação e estresse oxidativo, além de contribuir no sistema imunológico (32, 33). Em estudos experimentais estão claros os benefícios da suplementação de feijão na saúde cardiovascular, atenuando no processo inflamatório e estresse oxidativo (34, 35, 36), parâmetros vasculares (37, 38, 39), perfil lipídico (40, 41, 42), composição corporal (39, 43) e alterando a microbiota intestinal (44, 45, 46).

Em relação ao processo inflamatório e estresse oxidativo, estudos avaliaram o efeito da farinha integral e do hidrolisado proteico do feijão carioca. A farinha e o hidrolisado de proteína de feijão reduziram a inflamação e fatores de risco para DCV, por meio da redução do processo inflamatório, que foi modulado pela via TNF- α / Factor Nuclear Kappa B (NF κ B), aumentando a atividade de expressão da superóxido dismutase (SOD) e a expressão de HSP72 (34).

Em animais suplementados com proteína de feijão, observou-se diminuição na angiotensina II, aumento da sintase endotelial do óxido nítrico que promove relaxamento vascular, e resulta em prevenção da disfunção endotelial prevenindo inflamação e disfunção do endotélio vascular, além de diminuir o estresse oxidativo (35). A suplementado com feijão em animais, apresentou redução na expressão de mRNA e citocinas inflamatórias do cólon, como a IL-6, interleucina 9 (IL-9), interleucina 17A (IL-17A) e interferon (IFN) e aumentaram da interleucina 10 (IL-10) com potencial anti-inflamatório. Além disso, eles reduziram sistemicamente as citocinas circulantes (IL-1 β , TNF α , IFN e IL-17A),

e reduziram a expressão do mediador pró-inflamatório IL-1 β , IL-6, TNF- α e a proteína-1 quimioatratante de monócitos (MCP-1) e estresse oxidativo (36).

Nos parâmetros vasculares, ao avaliar os efeitos anti-hipertensivos dos extratos de feijão azuki sobre a pressão arterial, sistema renina-angiotensina (SRA) e lesão aórtica em ratos, os animais suplementados diminuíram a concentração de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), triglicérides, colesterol total, pressão arterial sistólica e nível de enzima conversora de angiotensina em comparação com controle. O nível angiotensina II e a expressão de mRNA de renina diminuídos em comparação com controle, sugeriu que o feijão exibe potencial anti-hipertensivo (37).

Ainda nesse cenário, ao suplementar grãos de feijão preto e feijão branco, observou-se que os grãos pretos foram capazes de aumentar a tolerância vascular, e tanto grãos pretos como os brancos, aumentaram a massa magra. Entretanto quando interromperam a suplementação, não se observou mais os achados, e além disso, houve aumento de tecido adiposo (38).

No perfil lipídico, ratos obesos apresentaram queda no colesterol total do plasma e a lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) sem afetar a lipoproteína de alta densidade (HDL-c) ou o triacilglicerol (TAG) total, como efeito secundário ao estudado, observou-se também uma perda de peso significativa nos animais suplementados com dieta contendo o feijão seco cozido (39, 40). Em outro modelo os compostos ativos presentes nos grãos como flavonoides e saponinas extraídas da casca do feijão preto apresentaram melhora no perfil lipídico (41).

Lopes et al. (42) no modelo de hamsters hipercolesterolêmicos, observaram que os compostos bioativos presentes nas leguminosas, atenuaram o estresse oxidativo e a formação de radicais livres, reduzindo os danos ao fígado, causado pelo excesso de deposição de lipídios nos hepatócitos, com redução do colesterol total, colesterol fecal e colesterol não HDL-c.

Na composição corporal o inibidor da α -amilase (α -AI) é estudado por ser um potente aliado no tratamento da obesidade, pode ser extraído da maioria das espécies de feijão. Ratos obesos suplementados com α -AI apresentaram perda de peso significativa, além de melhora no perfil lipídico (43).

Estudos avaliando a estrutura da microbiota intestinal em animais,

observou melhora na modulação da microbiota intestinal e da barreira epitelial intestinal do hospedeiro, assim contribuindo para a homeostase intestinal. Pasta de feijão e farinha de feijão em diferentes doses em camundongos foram capazes de diminuir o peso do tecido adiposo perirrenal e epididimal, controlando o acúmulo de gordura e aumentando o volume das fezes, além de diminuir o colesterol total, o LDL-c e os triglicerídeos séricos e hepáticos, o que pode ser explicado pela menor absorção de ácidos graxos (44, 45).

Em modelos de colite aguda, as amostras fecais apresentaram os maiores teores fenólicos (teor de fenólicos totais e teor de flavonoides totais) e atividade antioxidante em animais suplementados com feijão, houve também um aumento nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (SCFA) cecal, que coincidiram com efeitos benéficos e adversos no cólon e inflamação sistêmica (46).

Os mecanismos pelos quais o feijão e as leguminosas contribuem para a prevenção e tratamento das DCV não estão bem estabelecidos. Todavia, estudos apontam que compostos bioativos e fitoquímicos presentes nas leguminosas modulam favoravelmente fatores de risco à aterogênese, como a obesidade, perfil lipídico, saciedade, glicemia e estresse oxidativo (47).

Poucos estudos clínicos avaliaram o consumo de feijão na saúde cardiovascular, os principais achados incluem diminuição do risco de desenvolvimento de DCV (48, 49), melhora de parâmetros como perfil lipídico, glicemia (50, 51) e antropometria (52), os quais são fatores de risco para o desenvolvimento de DCV e diminuição de mortalidade. Apesar dos possíveis efeitos benéficos do feijão nas DCV, não encontramos dados que avaliaram a suplementação do feijão especificamente na RC após o IAM.

HIPÓTESE

A suplementação de feijão pode atenuar a remodelação cardíaca após o infarto agudo do miocárdio. Dentre os mecanismos fisiopatológicos, acreditamos que a redução do estresse oxidativo possam estar envolvidos nesse processo.

OBJETIVO

Nosso objetivo foi avaliar a influência da suplementação da farinha de feijão na remodelação cardíaca após o infarto agudo do miocárdio em ratos.

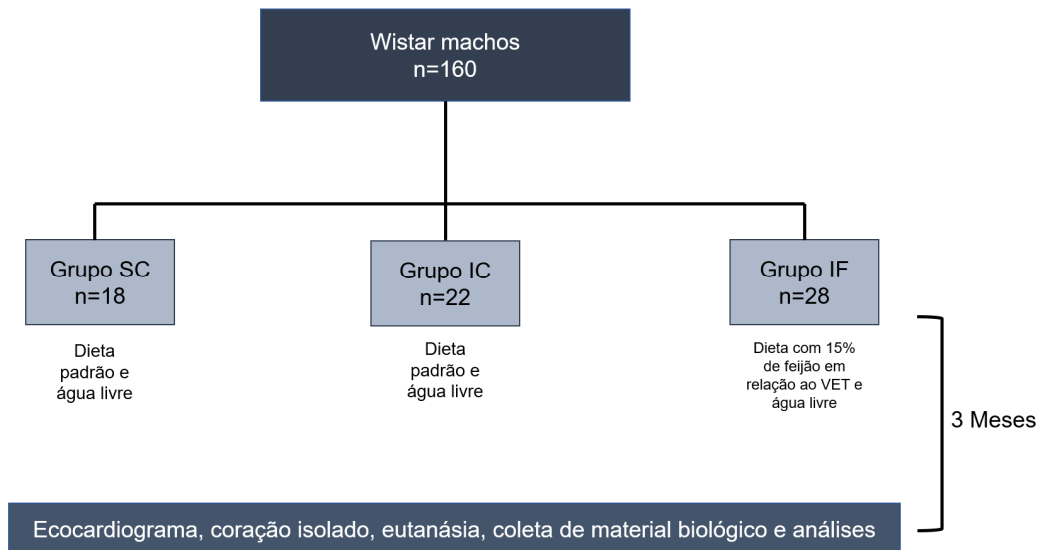
MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp previamente à sua realização (CEUA 1348/2020). Ratos Wistar machos, pesando entre 200-250g, foram adquiridos do biotério da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Os animais foram mantidos no Biotério da UNIPLEX– FMB/UNESP, em gaiolas individuais com livre acesso à água, controle de luz (ciclos de 12 horas), de temperatura (aproximadamente 25°C) e de umidade. Também foi realizado enriquecimento ambiental com tubos de PVC cortados e papel toalha amassado nas caixas. Os animais foram alocados em três grupos: 1) grupo Sham alimentado com dieta padrão (SC); 2) grupo IAM alimentado com dieta padrão (IC); 3) grupo IAM alimentado com dieta suplementada com 15% de farinha de feijão cozido (53) (IF). Os animais foram acompanhados por três meses. Durante esse período foi verificada a ingestão diária de ração e o controle de peso semanal, após esse período, foram incluídos nas análises os animais que tiveram o tamanho de infarto >25%. Os animais foram submetidos a estudo funcional *in vivo* e *in vitro* seguido de eutanásia, realizada por administração de dose excessiva de tiopental sódico (120mg/kg, intraperitoneal) seguida de decapitação de guilhotina como método secundário para coleta do sangue. Foram coletados coração e sangue. O fígado, rins e pulmão foram pesados e desprezados, e o coração foi pesado e armazenado a -80°C até o momento das análises bioquímicas.

Não dispomos de dados experimentais que permitam o cálculo do tamanho amostral. No entanto, trabalhos prévios com IAM experimental realizados em nosso laboratório empregaram tamanho amostral de 20 animais por grupo, considerando que a mortalidade na indução do infarto experimental é em torno de 40-50%, número suficiente para mostrar diferenças significativas entre as variáveis cardíacas estudadas. O tempo de observação também foi definido baseado em trabalhos anteriores do grupo. A figura 1 ilustra de maneira resumida o delineamento experimental acima descrito.

Figura 1. Representação do delineamento do estudo



SC: sham controle; IC: infarto controle; IF: infarto feijão; VET: valor energético total.

Preparação e análise da farinha do feijão

Foram obtidos 30kg de grãos de feijão carioca, adquiridos da empresa Agrocereal®, no interior de São Paulo. Os grãos foram armazenados em local arejado em temperatura ambiente, foram verificados quanto a coloração e se enrugados ou rachados foram desprezados. Após foi realizada a lavagem dos grãos em água corrente e colocados no remolho em água que cobrisse todos os grãos por 24h, após esse período, a água do remolho foi desprezada e os grãos foram colocados em panela de pressão para cozinhar por 15 minutos, para cada 5kg de feijão foi acrescentado 8 litros de água para cozimento, após o cozimento foi retirada a pressão, neste momento foi realizada a coleta de 15mL da água do cozimento. O caldo e os grãos foram colocados em *bowls* onde os grãos foram triturados com o auxílio de um *mixer*, até se tornar uma pasta. Essa pasta foi distribuída em formas de alumínio descartável e alocadas na estufa por 48 horas à 50°C para liofilização da pasta, O feijão foi levado ao liquidificador até atingir consistência semelhante a farinha. A farinha de feijão foi separada em sacos esterilizados, para posterior análises e preparo da ração, armazenados no congelador -80°C. No preparo da ração com farinha de feijão, foi utilizada a ração Nuvilab (Nuvital®), que foi adicionada à farinha de feijão que correspondia a 15%

em relação ao peso total da dieta, e acrescentado 200mL de água para dar liga, após foi misturada em um misturador industrial, e posteriormente peletizada. A ração com farinha de feijão foi armazenada em sacos esterilizados e alocados no congelador -20°, até ser ofertada aos animais.

Na tabela 1 foi descrita a composição final da farinha de feijão, realizada pelo Instituto de tecnologia de alimentos centro de ciência e qualidade de alimentos (ITAL), utilizando para umidade e voláteis o método - MA-CQ.026, Official Method 925.10 (54), cinzas - MA-CQ.015, Official Method 945.38C (54), gorduras totais - MA-CQ.022, Official Method 034B (55), proteínas - MA-CQ.315 Official Method 037 (55), fibra alimentar total - MA-CQ.075, Official Method 985.29 (54), valor energético (56), ácido clorogênico 5-CQA (57), antocianinas totais – MA-CQ. 221 (58) e compostos fenólicos – MA-CQ.316 (59). A composição nutricional da ração com a farinha de feijão não alterou o valor energético total (VET) e os macronutrientes, quando comparado à ração padrão utilizada.

Tabela 1. Composição nutricional da farinha de feijão

<i>Determinação</i>	<i>Resultado (100g)</i>
<i>Valor energético (kcal)</i>	285 ^a
<i>Umidade e voláteis (g)</i>	6,39 (0,07) ^b
<i>Cinzas (g)</i>	3,66 (0,01) ^b
<i>Gorduras totais (g)</i>	2,44 (0,05) ^b
<i>Proteína (Nx6,25) (g)</i>	21,44 (0,16) ^b
<i>Fibra alimentar total (g)</i>	21,81 (0,23) ^b
<i>Carboidratos (g)</i>	44,26 ^c
<i>Ácido clorogênico (5-CQA) (g)</i>	ND < 0,0024 ^d
<i>Antocianinas totais (mg)</i>	ND < 2,00 ^d
<i>Compostos fenólicos totais^e (mg)</i>	260 (3) ^b

^a O valor energético da amostra foi calculado pela soma das porcentagens de proteína e carboidratos multiplicados pelo fator 4 (kcal/g) somado ao teor de gorduras totais multiplicado pelo fator 9 (kcal/g); ^b Média e estimativa de desvio padrão; ^c Calculado por diferença: 100 - (g/100g umidade + g/100g cinzas + g/100g gorduras totais + g/100g proteína + g/100g fibra alimentar total); ^d ND = Não detectado. ^e= expressos em ácido gálico.

Infarto Experimental

O IAM foi realizado de acordo com método descrito inicialmente por Heimburger e modificado por Pfeffer et. al. (60,61). Após anestesia com cloridrato de cetamina (50mg/kg) e xilazina (10mg/kg), por via intraperitoneal, foi realizada toracotomia esquerda, entre o 4° e o 5° espaços intercostais. O coração

foi exteriorizado por compressão lateral do tórax e a artéria coronária esquerda ligada a, aproximadamente, 2mm da origem, com fio de polivinil (5-0 Ethicon), entre a borda do átrio esquerdo e o sulco da artéria pulmonar. A seguir, o coração foi rapidamente recolocado na cavidade torácica, os pulmões expandidos com ventilação positiva com oxigênio a 100% e o tórax fechado. Após o procedimento cirúrgico os animais receberam analgesia com dipirona (100mg/kg subcutâneo de 8 em 8h por três dias), e foram observados quanto a presença de sinais de desconforto (62).

Avaliação funcional “in vivo” - Ecocardiograma

O ecocardiograma foi realizado em dois momentos, sendo no momento inicial para avaliar o tamanho do IAM, uma semana após a indução do IAM experimental e no momento final para as variáveis funcionais e estruturais.

Após uma semana do modelo e IAM, os animais foram novamente anestesiados com cloridrato de cetamina (50mg/kg) e cloridrato de xilazina (1mg/kg) por via intraperitoneal. Tiveram a região anterior do tórax tricotomizada e foram posicionados em decúbito lateral esquerdo. O exame foi realizado utilizando o equipamento Vivid S6 (General Electric Medical Systems), com transdutor multifrequencial de 5,0 a 11,5 MHz. Todos os exames foram feitos pelo mesmo examinador que desconhecia os grupos dos animais.

Todas as medidas foram efetuadas de acordo com as recomendações da American Society of Echocardiography (63) já validadas no modelo de ratos infartados. As variáveis estruturais do coração foram obtidas por análise bidimensional, com o transdutor em posição paraesternal, eixo menor.

As variáveis estruturais do coração foram obtidas por análise bidimensional, com o transdutor em posição paraesternal, eixo menor. As variáveis mensuradas foram: espessura diastólica da parede posterior do ventrículo esquerdo (EDPP); diâmetro diastólico (DDVE) e sistólico (DSVE) do ventrículo esquerdo (VE), da aorta e do átrio esquerdo. Atrio esquerdo dividido pela aorta (AE/AO), DDVE dividido pelo peso corporal (PC) e AE dividido pelo PC.

As variáveis funcionais foram mensuradas com o auxílio do doppler tissular. A função sistólica do VE foi verificada pela fração de encurtamento miocárdico $[(DDVE - DSVE) / DDVE]$, fração de ejeção do VE $[(DDVE^3 - DSVE^3)$

/ DDVE^{3]} e deslocamento sistólico (S'). Já a função diastólica, foi avaliada pelo pico de velocidade do enchimento diastólico inicial (onda E), pico de velocidade do enchimento diastólico tardio (onda A), tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) e tempo de desaceleração da onda E (TDE). Em complemento, foram observados o deslocamento sistólico (S'), diastólico inicial (E') e tardio (A') do anel mitral na parede lateral e septal. Ainda, foi calculada a relação E/A, tempo de relaxamento isovolumétrico corrigido pela frequência cardíaca e relação E/E'. Além da velocidade de encurtamento da parede posterior do VE (VEPP(mm/s)), área diastólica e sistólica e % de variação da área.

Avaliação funcional “in vitro” – Coração isolado

Após a realização do ecocardiograma final, imediatamente, 6 animais de cada grupo (exceto grupo IF, n=8), receberam tiopental (80 mg/kg) e heparina (2000UI) intraperitoneal e foram ventilados com pressão positiva e oxigênio a 100%. A seguir, o tórax foi aberto e a aorta cateterizada com cânula de metal número 15, e foi iniciada a perfusão miocárdica retrógrada, com solução nutriente de Krebs-Henseleit, com a seguinte composição, em mmol/l: 115 NaCl; 5,4 KCl; 1,2 MgSO₄; 2,5 CaCl₂; 1,15 NaH₂PO₄; 25 NaHCO₃; 11 glicose. Os corações foram removidos da caixa torácica e colocados em aparelho de estudo de coração isolado, tamanho 3 tipo 830 (Hugo Sacks Eletronic-Germany), com pressão de perfusão constante de 75 mmHg. A solução nutriente foi continuamente oxigenada com mistura gasosa de 95% de oxigênio e 5% de CO₂, mantendo-se a pressão parcial de oxigênio entre 500-600 mmHg, à temperatura de 37 oC, pH entre 7,3 e 7,4. A avaliação foi realizada conforme método previamente descrito e padronizado em nosso laboratório (64, 65).

Por meio da técnica descrita, foram obtidas curvas de Starling com infusão de líquido no balão, que permite variar a pressão diastólica no VE de 0 a 25 mmHg, por meio de incrementos graduais de 5 mmHg, registrando-se a pressão sistólica correspondente a cada variação de volume. Nesta técnica em que o coração opera em condições isovolumétricas, a pressão desenvolvida (pressão sistólica menos a pressão diastólica) foi utilizada como indicadora da capacidade contrátil. Foram registradas também a primeira derivada positiva de pressão (+dP/dtmax) e a derivada negativa de pressão (-dP/dtmax). Esses índices foram utilizados, respectivamente, como parâmetros de função sistólica e diastólica do

VE. Foi realizado posteriormente o gráfico referente a área sob a curva (ASC) do estudo de coração isolado (pressão diastólica X volume).

Estudo morfométrico

Após o estudo funcional, foi realizado o estudo morfométrico, segundo técnica já padronizada, os animais foram anestesiados com dose excessiva de tiopental para a eutanásia (66,67). Logo após, os animais foram decapitados e o coração foi coletado e pesado VE, ventrículo direito (VD), além disso o pulmão, fígado e rim também foram pesados e descartados. O sangue dos animais também foi coletado e centrifugado para a obtenção do soro. As amostras de VE e soro foram armazenadas a -80°C para as posteriores análises. Os corações foram retirados, dissecados e os ventrículos direito (VD) e o esquerdo. Em seguida os corações tiveram o VE seccionado a 4 mm, a partir do ápice, pelo fato deste corte refletir a média dos resultados de cortes de todo o ventrículo. Em seguida, esse fragmento de 3 mm de espessura foi fixado em solução de formol a 10% por período de 24 horas, segundo relato prévio (64-65).

Após fixação, o tecido foi incluso em blocos de parafina, obtendo-se, a seguir, cortes coronais para posterior análise histológica. A base e a ponta do VE foram congeladas a -80°C para posteriores dosagens bioquímicas. Cortes histológicos foram corados com solução Hematoxilina - Eosina (HE) para aferição de áreas da secção transversa dos miócitos (ASM), e pela técnica de Picrosirius red, para visualização do tamanho do infarto. O tamanho do infarto foi calculado pela soma do comprimento endocárdico e epicárdico do segmento infartado, em relação à soma do comprimento endocárdico e epicárdico total do VE.

Foram mensuradas de 30 a 50 células por ventrículo analisado empregando-se microscópio LEICA DM LS acoplado a câmera de vídeo, que envia imagens digitais ao computador dotado de programa de análise de imagens Image Pro-plus (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA). Os miócitos selecionados foram seccionados transversalmente e apresentaram forma redonda e núcleo visível no centro da célula. Este cuidado visou uniformizar ao máximo o conjunto de miócitos dos diferentes grupos. As áreas seccionais médias obtidas para cada grupo foram utilizadas como indicador do tamanho celular.

Carbonilação de proteínas no coração

A carbonilação foi analisada pelo método adaptado de Mesquita et. al. (68). Foi quantificada em 100 μ l de sobrenadante de tecido cardíaco para 100 μ l 2,4- dinitrofenilhidrazina (DNPH) (10 mM em HCl 2 M). As amostras foram incubadas por 10 minutos em temperatura ambiente, depois foram adicionados 50 μ l de NaOH (6 M) e incubadas por mais 10 minutos em temperatura ambiente. A leitura foi realizada a 450 nm em leitor de microplaca Spectra Max 190 (Molecular Devices®, Sunnyvale, CA, EUA) e o resultado obtido da absorbância das amostras e do coeficiente de extinção molar (22000 M⁻¹ cm⁻¹). O resultado final foi expresso em nmol/mg de proteínas.

Determinação de expressão proteica por Western blot

A técnica de Western blot foi utilizada para quantificar a expressão proteica das proteínas NRF-2 e Colágeno III no tecido cardíaco. O método foi constituído das seguintes etapas:

Extração: amostras do VE (50 mg) foram homogeneizadas com 500 μ l de tampão de extração (NaCl 1M, Triton 1%, Deoxicolato de sódio 0,5%, SDS 0,1%, Tris base, PIC 1%, Ortovanadato de sódio 1%, NaF 1M-1%) no equipamento Bullet Blender Standard® (disrupt or homogenize cells and tissue BBX24, made in EUA), durante 5 minutos. Após, as amostras foram centrifugadas por 20 minutos, a 4°C e 12.000 rpm. Os sobrenadantes foram coletados e armazenados a -80°C. Para a quantificação da concentração proteica de cada amostra, foi realizado o método de Bradford utilizando a curva padrão de BSA Protein Standard (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA).

Eletroforese em gel: após a quantificação da concentração de proteína, as amostras foram diluídas em tampão Laemmli (Tris – HCL 240mM, SDS 0,8%, glicerol 40%, azul debromofenol 0,02% e β -mercaptoetanol 200mM) e aquecidas a 100°C por 5 min. Posteriormente, as amostras (contendo 30 μ g de proteína total) foram separadas por eletroforese utilizando sistema Mini-Protean 3 Electrophoresis Cell (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). A corrida eletroforética foi realizada em gel bifásico, de empilhamento (Tris - HCL 240mM pH 6,7, poliacrilamida 40%, APS e Temed) e de resolução (Tris - HCL 240mM pH 8,9, poliacrilamida 40%, glicerol, APS e Temed) a 4°C. A concentração do gel de

empilhamento utilizada foi de 5% e a concentração do gel de resolução variou de 10 a 15%, de acordo com o peso molecular da proteína determinada. Em um dos poços de cada gel foi pipetado um padrão de peso molecular, Kaleidoscope Prestained Standards (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) e nos demais poços foram pipetadas as amostras de todos os grupos de maneira alternada. A corrida eletroforética foi efetuada a 30 min a 50 V e 2 horas a 120 V (Power Pac HC 3.0A, Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) com tampão de corrida (Tris 0,25M, glicina 192 mM e SDS 1%).

Transferência e Bloqueio: após a corrida, os géis foram transferidos para uma membrana de nitrocelulose em sistema Mini - Trans Blot (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) utilizando-se tampão de transferência (Tris 25 mM, glicina 192 mM, metanol 20% e SDS 0,1%). Os sítios inespecíficos de ligação do anticorpo primário à membrana foram bloqueados mediante incubação com solução de 5% Blotting-Grade Blocker (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) dissolvido em solução basal pH 8,0 (Tris 1M pH 8,0, NaCl 5M e detergente Tween 20) por 60 min à temperatura ambiente sob constante agitação.

Incubação com os anticorpos e análise: após o bloqueio, as membranas foram incubadas com os anticorpos primários específicos para cada proteína analisada, diluídos em solução de 3% Blotting-Grade Blocker (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA), dissolvido em solução basal pH 8,0. As membranas permaneceram incubadas durante a noite à temperatura de 4°C, sob constante agitação. Após a incubação com o anticorpo primário, as membranas foram lavadas em solução basal pH 8,0 e incubadas com os anticorpos secundários específicos, diluídos em solução de 1% Blotting-Grade Blocker (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA), dissolvido em solução basal pH 8,0. As membranas permaneceram incubadas por 90 min, à temperatura ambiente, sob agitação constante. Posteriormente, as membranas foram lavadas em solução basal pH 8,0 e a imunodeteção foi realizada por meio do método de quimioluminescência utilizando mmobilon® Classico Western HRP Substrate (Millipore, made in the EUA). As imagens foram fotografadas no ImageQuant™ LAS 4000, GE Healthcare. A expressão de todas as proteínas analisadas foi normalizada pela expressão da proteína constitucional glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). A análise das imagens foi realizada no programa de análise de imagens Image Pro-plus (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland,

EUA).

Anticorpos primários utilizados:

- GAPDH, mouse monoclonal (Santa Cruz Biotechnology, Inc, Europe, sc-32233), diluição [1:10000];
- NRF-2, mouse monoclonal (Santa Cruz Biotechnology, Inc, Europe, sc-722) diluição [1:200];
- Colágeno III, mouse monoclonal (Santa Cruz Biotechnology, Inc, Europe, sc-271249) [1:100].

Anticorpos secundários utilizados:

- Anti-mouse goat IgG-HRP (Santa Cruz Biotechnology, Inc), diluição [1:10000] para GAPDH, [1:1000] para NRF-2 e [1:1000] para colágeno III.

Análise Estatística

Para as variáveis paramétricas, foi realizado o teste de análise de variância de 1 via (ANOVA) com pós-teste de Tukey e os valores obtidos foram apresentados em média \pm desvio padrão. Para as variáveis não paramétricas, os dados foram apresentados em medianas e percentis 25 e 75% e foi realizado o teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. O nível de significância adotado foi de 5%. Para análise dos dados e construção dos gráficos foi utilizado o pacote estatístico programa SigmaPlot para Windows 12.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA).

RESULTADOS

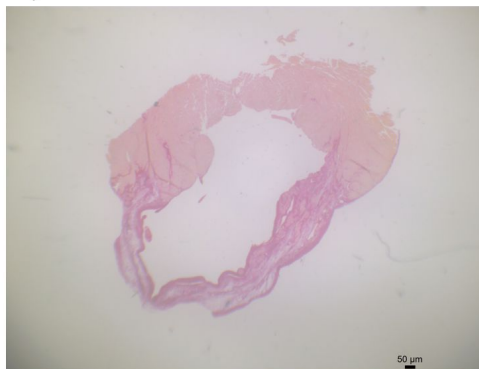
Na realização do infarto experimental houve perda de 48 animais dos infartados, 3 animais foram descartados pois não foi induzido o modelo de infarto, e houve perda de mais 1 animal no ecocardiograma inicial. Após, os animais foram alocados em 3 grupos, sendo grupo SC (n=18), IC (n=22) e IF (n=28). Durante os três meses de experimento, houve perda de 2 animais do grupo IC, e 2 animais do grupo IF, posteriormente foram excluídos 10 animais do grupo IC e 5 animais do grupo IF, pois tinham tamanho de IAM <25%. Portanto, foram incluídos animais com infarto $\geq 25\%$, de acordo com a análise histológica preconizada, sendo que o tamanho médio dos infartos foi de 38% para o grupo IC e 40% para o grupo IF, como mostra a figura 2.

Figura 2. Cortes histológicos corados pela técnica de Picrosirius red, para visualização do tamanho do infarto

A) IC

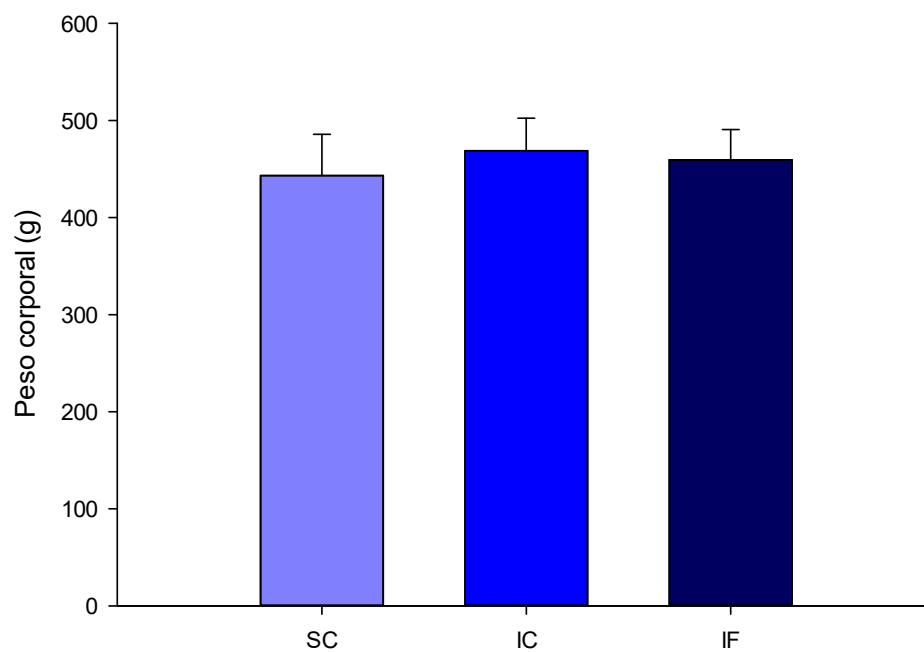


B) IF



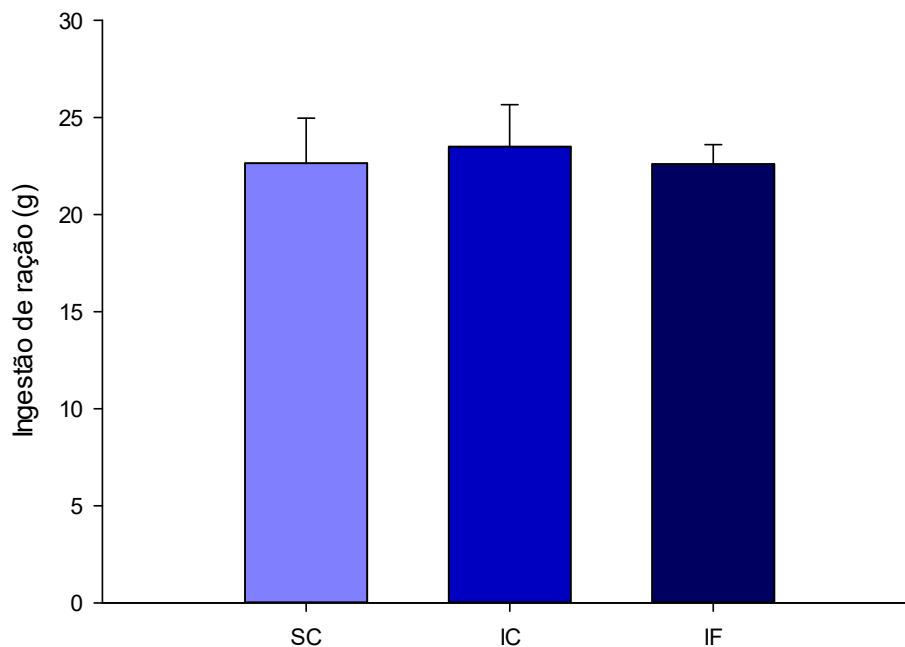
IC: IAM Controle IF: IAM feijão.

O gráfico 1 apresenta o peso médio final dos animais após o período experimental, sendo possível observar que não houve diferença entre os grupos [SC $443,33 \pm 42,51$ g vs. IC $468,90 \pm 33,50$ g vs. IF $459,57 \pm 31,11$ g ($p = 0,078$)].

Gráfico 1. Peso corporal médio dos animais

SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão. Dados expressos em média \pm desvio padrão.

O gráfico 2. Apresenta a ingestão de ração entre os grupos, sendo que na média de ingestão não houve diferença entre os grupos [SC $22,65 \pm 2,32g$ vs. IC $23,50 \pm 2,16g$ vs. IF $22,60 \pm 1,00g$ ($p= 0,446$)].

Gráfico 2. Ingestão de ração dos animais

SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão. Dados expressos em média \pm desvio padrão.

O peso dos órgãos dos animais, e peso corrigido pelo peso corporal foram apresentados na Tabela 2. Sendo que as variáveis peso do VE, VE/peso, VD e VD/peso foram significativamente menores no grupo Sham quando comparados aos animais dos grupos IAM.

Tabela 2. Peso dos órgãos e tecidos dos animais

Órgãos	SC (n=18)	IC (n=22)	IF (n=28)	Valor de p
VE (g)	0,70 (0,65-0,76)	0,91 (0,82-1,02)*	0,90 (0,76-0,99)*	<0,001
VE/peso(g)	1,59 (1,50-1,76)	1,93 (1,84-2,16)*	1,90 (1,69-2,32)*	<0,001
VD (g)	0,18 (0,14-0,21)	0,23 (0,19-0,30)*	0,23 (0,20-0,27)*	0,001
VD/peso (g)	0,41 (0,33-0,46)	0,53 (0,41-0,65)*	0,52 (0,43-0,60)*	0,004
Átrio E (g)	0,04 (0,03-0,05)	0,06 (0,04-0,08)	0,04 (0,03-0,07)	0,076
Átrio/peso	0,09 (0,08-0,11)	0,12 (0,10-0,18)	0,10 (0,06-0,17)	0,061
Fígado (g)	10,15 \pm 1,77	11,13 \pm 1,68	11,19 \pm 1,67	0,105
Fígado/peso	22,83 \pm 3,53	23,80 \pm 3,35	24,41 \pm 3,49	0,322
Pulmão (g)	1,54 (1,39-1,63)	1,55 (1,36-1,75)	1,51 (1,36-1,70)	0,944
Pulmão/peso	3,29 (3,07-3,91)	3,31 (2,99-3,73)	3,24 (3,03-3,87)	0,817

SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão; VE: Ventrículo esquerdo; VD: Ventrículo direito; Átrio E: Átrio esquerdo. Dados expressos em média \pm desvio padrão ou mediana e percentis 25 e 75%. * = diferente de SC. Valor de p em negrito representa diferença significativa.

Avaliação funcional “in vivo”

Foram descritos na tabela 3, o peso corporal e as variáveis estruturais do ecocardiograma, sendo que todas as variáveis foram significativamente maiores nos grupos IAM quando comparado ao controle.

Tabela 3. Peso corporal e variáveis estruturais do ecocardiograma

Variáveis	SC (n=18)	IC (n=22)	IF (n=28)	Valor de p
PC(g)	443,33±42,51	468,90±33,50	459,57±31,11	0,078
DDVE(mm)	7,55 (7,03-7,85)	9,40 (8,81-10,06)*	9,46 (9,10-9,82)*	<0,001
DSVE(mm)	3,32 (2,71-3,58)	7,24 (6,05-8,11)*	7,26 (6,49-7,81)*	<0,001
EDPP(mm)	1,35 (1,32-1,37)	1,55 (1,41-1,79)*	1,56 (1,46-1,70)*	<0,001
AE (mm)	5,29 (5,11-5,47)	6,27 (5,89-6,76)*	6,13 (5,84-6,57)*	<0,001
AE/AO	1,29 (1,25-1,32)	1,60 (1,47-1,67)*	1,54 (1,45-1,65)*	<0,001
DDVE/PC	17,01±1,18	20,368±1,87*	20,85±1,87*	<0,001
AE/PC	12,05 (11,20-12,96)	13,14 (12,37-14,65)*	13,51 (12,54-14,70)*	<0,001

SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão; PC: Peso corporal; DDVE: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE: diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; EDPP: espessura diastólica da parede posterior do ventrículo esquerdo; AE: diâmetro do átrio esquerdo; AE/AO: diâmetro da aorta dividido pelo diâmetro do átrio esquerdo; DDVE/PC: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo dividido pelo peso corporal; AE/PC: diâmetro do átrio esquerdo dividido pelo peso corporal. Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana e percentis 25 e 75%. * = diferente de SC. Valor de p em negrito representa diferença significativa.

Na tabela 4, foram descritas a frequência cardíaca e variáveis funcionais do ecocardiograma, sendo que as variáveis de % de encurtamento do endocárdio, E/A, VEPP, % variação da área, fração de ejeção, S média e A média foram significativamente menores nos animais com IAM. Enquanto a área diastólica e sistólica e o TRIV/R/R foram significativamente maiores nos animais com IAM, a variável E mitral foi diferente no grupo IF quando comparado ao SC. Demonstrando dessa maneira a efetividade do modelo de IAM experimental.

Tabela 4. Frequência cardíaca e variáveis funcionais do ecocardiograma

Variáveis	SC (n=18)	IC (n=22)	IF (n=28)	Valor de p
FC (bpm)	325,61±58,94	327,45±48,35	325,67±54,10	0,992
%Enc.Endo	57,70±6,34	25,09±6,73*	24,19±4,96*	<0,001
E Mitral	71,50 (66,00-80,00)	69,00 (57,75-77,25)	62,00(57,00-69,00)#	0,011
A Mitral	47,00 (43,50-59,75)	65,00 (47,25-78,75)	60,00 (50,00-68,50)	0,136
E/A	1,51 (1,16-1,75)	0,96 (0,93-1,31)*	1,01 (0,84-1,33)*	0,017
VEPP(mm/s)	43,30±6,00	30,98±7,96*	31,74±7,42*	<0,001
TDE-MS	40,00 (37,00-45,00)	46,00 (41,00-51,00)*	42,50 (38,00-48,00)*	0,050
Área-Diást.	40,15 (35,22-44,50)	68,10 (54,35+87,72)*	70,45 (64,02-77,40)*	<0,001
Área-Síst.	10,45 (7,28-12,62)	40,60 (29,40-61,70)*	46,05 (37,55-53,37)*	<0,001
%-Var. Área	74,67±7,41	38,37±10,14*	35,77±9,97*	<0,001
Triv/R-R	52,80±5,18	71,35±8,90*	73,13±6,72*	<0,001
Fração ejeção	0,92 (0,89-0,95)	0,55 (0,48-0,68)*	0,55 (0,50-0,59)*	<0,001
S Média	3,50 (3,38-3,61)	2,90 (2,75-3,15)*	2,90 (2,80-3,08)*	<0,001
E' Média	3,93±0,71	3,53±0,62	3,68±0,64	0,226
A' Média	5,28±1,07	4,46±0,82*	4,11±0,71*	<0,001
E/E' Média	19,13±4,35	20,31±5,23	18,19±3,97	0,354

SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão; FC: frequência cardíaca; %Enc.Endo: Porcentagem de encurtamento do endocárdio; E mitral: onda E do fluxo transmitral; A mitral: onda A do fluxo transmitral; E/A: E mitral dividido pelo A mitral; VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior do ventrículo esquerdo; TDE-MS: tempo de desaceleração da onda E mitral; Área-Diást: área diastólica; Área-Síst: Área sistólica; % Var. Área: porcentagem de variação da área; R-R (seg): distância de um batimento a outro (para cálculo do TRIV/R-R); TRIV/R-R: tempo de relaxamento isovolumétrico do VE; S média: onda sistólica do anel mitral lateral dividido pelo septal (Doppler tissular); E' média: onda diastólica inicial do anel mitral lateral dividido pelo septal (Doppler tissular); A' média: onda diastólica tardia do anel mitral lateral dividido pelo septal (Doppler tissular); E/E' média: E mitral dividido pelo E' média. Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana e percentis 25 e 75%. * = diferente de SC; # = IF diferente de SC. Valor de p em negrito representa diferença significativa.

Avaliação funcional “in vitro” – Coração isolado

Na tabela 5 foi descrita a análise de coração isolado, e observou-se que as variáveis de derivada +dP/dt e derivada -dP/dt foi menor entre os grupos com IAM quando comparado ao controle.

Tabela 5. Coração isolado

Variáveis	SC (n=6)	IC (n=6)	IF (n=8)	Valor de p
Volume inicial do balão	69,16±11,58	123,33±64,08*	146,87±61,00*	0,043
+dP/dt	4658,33±1405,49	3104,16±624,58*	2937,50±911,23*	0,014
-dP/dt	3062,50±528,85	2104,16±320,31*	1921,87±582,24*	0,002
PS máx	187,50±29,70	163,75±19,34	157,50±34,79	0,183

SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão; +dP/dt: derivada positiva pressão-tempo; -dP/dt: derivada negativa pressão-tempo; PS máx: pressão sistólica máxima. Dados expressos em média ± desvio padrão. * = diferente de SC. Valor de p em negrito representa diferença significativa.

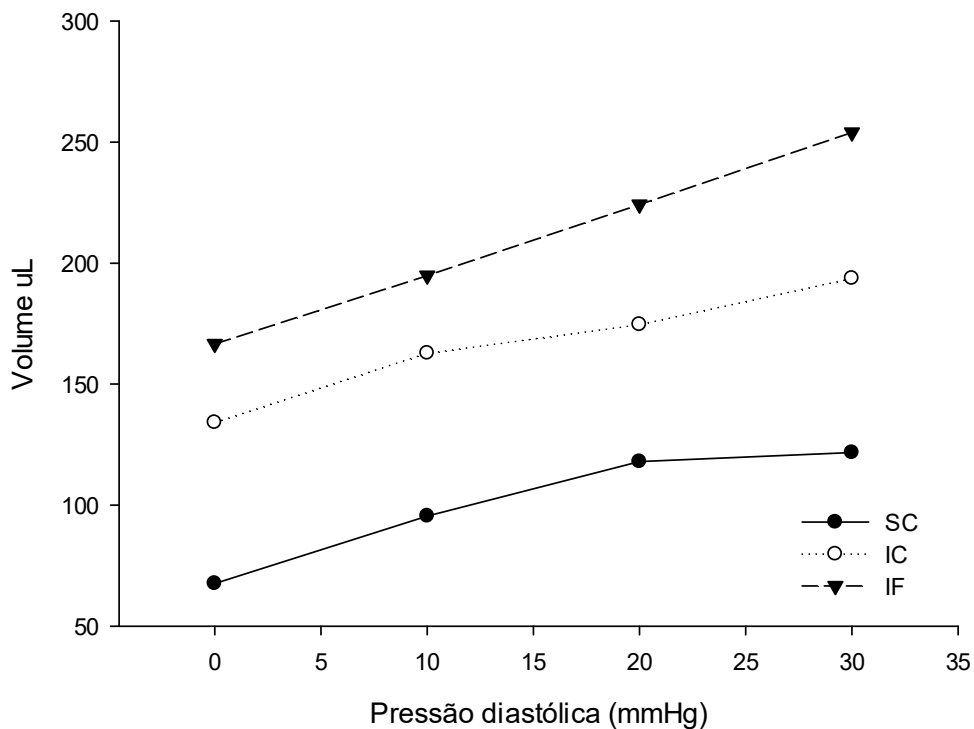
A tabela 6 apresenta a ASC do coração isolado (pressão diastólica X volume), sendo possível observar a ASC elevada nos animais com IAM, entretanto sem diferença entre os animais com IAM. O gráfico 3 mostra a relação entre pressão diastólica e volume, sendo mais elevada nos grupos com IAM quando comparados ao controle.

Tabela 6. Área sob a curva do coração isolado

Variável	SC (n=6)	IC (n=6)	IF(n=8)	Valor de p
ASC	660,59±218,86	1120,58±532,63*	1528,86±1021,76*	0,002

SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão; ASC: Área sob a curva. * = diferente de SC. Dados expressos em média ± desvio padrão. Valor de p em negrito representa diferença significativa.

Gráfico 3. Área sob a curva do coração isolado

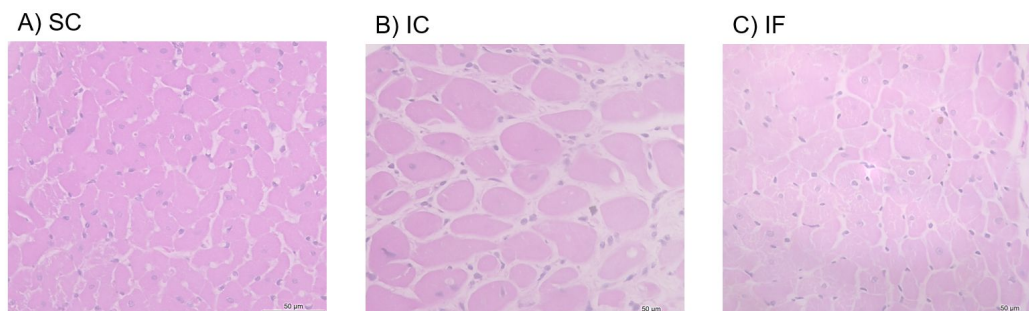


SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão. Dados expressos em média \pm desvio padrão.

Estudo morfométrico

A contagem de miócitos por cortes histológicos corados pela técnica solução HE, foi apresentada na figura 3. Sendo que a ASM foi maior nos grupos com IAM, entretanto sem diferença entre os grupos com IAM [SC $69,51 \pm 6,21 \mu\text{m}$ vs. IC $93,12 \pm 9,65 \mu\text{m}$ vs. IF $90,66 \pm 9,66 \mu\text{m}$ ($p < 0,001$)].

Figura 3. Contagem de miócitos por cortes histológicos corados pela técnica solução Hematoxilina - Eosina (HE)



SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão.

Análise do estresse oxidativo

Ao avaliar o estresse oxidativo no coração, não foi possível observar diferença significativa na carbonilação proteica total, como demonstra resultados apresentados na tabela 7.

Tabela 7. Quantificação de carbonilação proteica no coração dos animais

Variável	SC (n=8)	IC (n=8)	IF(n=8)	Valor de p
Carbonilação proteica total	16,72±9,96	17,78±7,82	17,69±4,25	0,955

SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão. Dados expressos em média ± desvio padrão.

Determinação da expressão proteica por Western Blot

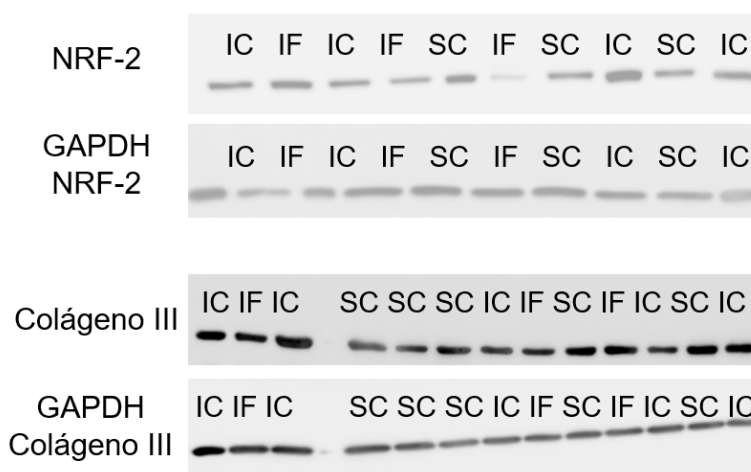
Foram determinadas as expressões das proteínas do NRF-2 e colágeno III, como demonstrado na tabela 8 e figura 4. No entanto não observamos diferença entre os grupos.

Tabela 8. Expressão de proteínas no coração dos animais

Variável	SC (n=7)	IC (n=8)	IF(n=7)	Valor de p
NRF-2	0,39 (0,23-0,74)	0,48 (0,30-0,67)	0,48 (0,27-0,56)	0,845
Col III	0,004 (0,002-0,006)	0,007 (0,006- 0,011)	0,006 (0,002-0,011)	0,396

SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão; NRF-2: Fator nuclear 2 relacionado ao eritroide 2; Col III: Colágeno III. Dados expressos em mediana (1^o-3^o quartil).

Figura 4. Expressão das proteínas por western blot no coração dos animais



SC: Sham controle; IC: IAM controle; IF: IAM feijão; NRF-2: Fator nuclear 2 relacionado ao eritroide 2; GAPDH: Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase.

DISCUSSÃO

Estudos recentes descrevem o uso de diversos tratamentos associados à RC após o IAM, e ao consumo de feijão em DCV, no entanto, ainda não dispomos de estudos elucidando o efeito da suplementação do feijão especificamente na RC após o IAM, bem como, ainda não temos o real entendimento da sua fisiopatologia, diante disso, nosso objetivo foi avaliar o efeito da suplementação de feijão na RC após o IAM em ratos.

Na literatura está bem elucidado, que o tamanho do infarto é preditor das alterações estruturais e funcionais do VE, quando analisado pela avaliação histológica, que é o método padrão-ouro para aferição do tamanho de infarto (5, 69). A aferição é considerada mais fidedigna na avaliação histológica quando comparada a análise pelo ecocardiograma, sendo que o último quantifica apenas o perímetro endocárdio do infarto, que pode estar superestimado devido ao processo de expansão do infarto. Portanto, a partir da análise histológica, animais com tamanho de infarto <25% foram excluídos das análises, pois não se caracterizou a RC (70).

No presente estudo, o ecocardiograma demonstrou que os animais submetidos ao modelo de IAM experimental, apresentaram alteração estruturais do VE, como maior diâmetro diastólico e sistólico do VE, maior espessura da parede posterior ventricular e também aumento do átrio esquerdo. Os achados de hipertrofia avaliados pelo ecocardiograma, são corroborados pelo maior peso do VE e maior área seccional do miócito nos animais infartados, dados que se associam aos demonstrados em estudos anteriores no mesmo modelo (18, 19, 20).

Além das alterações estruturais, é conhecido que o processo de RC após o infarto pode estar associado piora da função ventricular (71). A avaliação ecocardiográfica funcional mostrou a porcentagem de encurtamento do endocárdio reduzida, velocidade de encurtamento da parede posterior e E mitral dividido pelo A mitral menor nos animais infartados, além de alterações na área diástase e sístole cardíaca, indicadas pela % de variação das áreas da cavidade ventricular, fração de ejeção, S média e A média menor nos animais infartados (72).

De forma semelhante, nas análises de coração isolado, pode-se reafirmar a efetividade do modelo, sendo mostradas P desenvolvida maior nos animais infartados, enquanto a pressão sistólica, a derivada negativa pressão-tempo, e

derivada positiva pressão-tempo, foram menores nos animais infartados, corroborando com estudos anteriores (73, 74, 19). Portanto, diante das alterações encontradas, pode-se inferir que o protocolo utilizado foi eficiente para a indução de alterações estruturais e funcionais no coração após o IAM experimental.

Posteriormente, ao avaliar o estresse oxidativo pela carbonilação total de proteínas no coração dos animais, a diferença não foi estatisticamente significativa, estudos anteriores no mesmo modelo metodológico, mostrou aumento do estresse oxidativo entre animais infartados, diante do acometimento de uma lesão como o IAM, no entanto, as análises de mensuração do estresse foram diferentes da utilizada nesse estudo, os achados anteriores utilizaram técnicas de avaliação de dano lipídico e não proteico. (75, 18, 19, 20).

O principal efeito observado na suplementação de alimentos com propriedades antioxidantes é a redução do estresse oxidativo, pois é capaz de modular a produção de enzimas antioxidantes (18, 20). Interessantemente um marcador que se deve destacar, é o NRF-2, dados prévios de estudo conduzido em nosso laboratório com o modelo de IAM, demonstrou sua expressão reduzida em animais infartados, esses achados sugerem uma menor expressão, ou um maior catabolismo de proteína nesses animais (18, 20). No presente estudo não foi possível observar resultado semelhante.

Importante destacar que o NRF-2 é um dos mais importantes reguladores da produção de enzimas antioxidantes, sendo fator presente no citoplasma celular que atua na resposta primária à citotoxicidade e ao estresse oxidativo. Diante à agente agressores, ele se dissocia da proteína KEAP-1 e vai ao núcleo, onde estimula a produção de proteínas antioxidantes, uma vez que se liga na região promotora de genes-alvo e então codifica proteínas como glutathione, glutathione peroxidase e tioredoxina, após ligar-se ao núcleo, ele volta ao citoplasma onde é degradado (76). De forma aguda, a ativação do NRF-2 é benéfica, porém, já foi demonstrado que sua ativação crônica pode levar a quadros mais agravados, como cardiomiopatia (77).

Interessantemente, podemos destacar o tecido de colágeno no modelo realizado, pois é um importante modulador tanto da função diastólica quanto da sistólica, fibras de colágeno são encontradas no interstício do tecido cardíaco, sendo predominantemente dos tipos I e III, o que corresponde a 95% do

colágeno total, em condições patológicas, a fibrose está associada à deterioração da função ventricular, arritmias e morte súbita (78). Pereira et al. (19), em seu estudo com modelo de IAM experimental, observou que o colágeno III estava aumentado em corações lesionados com o infarto, no presente estudo não foi observado essa correlação de maneira.

Acreditamos que fatores diversos podem se relacionar com os resultados encontrados no estudo. Estão claros na literatura a interação complexa entre doenças crônicas, como DCV, obesidade e diabetes, sugerindo um papel fundamental de alimentos funcionais e compostos bioativos na atenuação e modulação das doenças crônicas relacionadas ao estresse oxidativo, por meio de uma alimentação rica em alimentos in natura com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (79).

Estudos recentes, tem explorado grupos de alimentos específicos, bem como seus hidrolisados e peptídeos. Alimentos do grupo das leguminosas, tem sido tema de interesse dos pesquisadores, como o feijão, grão de bico, ervilha e lentilha. Diante das inúmeras propriedades funcionais que eles apresentam, e de suas aplicações na prevenção, controle e redução dos riscos de doenças induzidas por estresse oxidativo e inflamação, tornando-se potenciais vias na prevenção de doenças e até mesmo no tratamento (80). Benefícios esses atribuídos à capacidade de seus compostos bioativos em eliminar radicais livres, inibir a peroxidação lipídica e quelar íons metálicos. Importante destacar a quantidade de proteínas presentes nas leguminosas, que constituem uma parte significativa da dieta de pessoas que vivem em regiões carentes em todo o mundo, e sua contribuição em termos de benefícios para a promoção da saúde nesses grupos.

Além disso, o teor de fibras alimentares presentes nesses grãos, exercem grande impacto na saúde humana, as fibras são compostos capazes de afetar o trato digestivo, retardando o esvaziamento gástrico e aumentando a saciedade, retarda também a digestão e absorção de carboidratos digestíveis, gorduras e proteínas. Embora a fibra esteja intimamente relacionada a saúde intestinal, a maior ingestão de fibras está associada também ao menor peso corporal e menor incidência de doenças crônicas, como DCV e diabetes tipo 2 (81).

Aprofundando-se ao tema, a literatura apresenta dados consistentes avaliando os efeitos dos grãos de feijão como fator preventivo nas DCV, como

os benefícios dos grãos na perda de peso, quadros de resistência insulina, estresse oxidativo e atualmente na microbiota. No entanto ao avaliar o efeito direto na RC não observamos o mesmo efeito.

Uma revisão sistemática publicada recentemente observou que o consumo de uma média diária de 150g de feijão, apresentou melhorias no perfil lipídico, controle da pressão arterial, biomarcadores de inflamação, bem como, na composição corporal (82). Diante disso, alguns fatores podem ser destacados pelos resultados divergentes encontrados, como o método de preparo dos grãos, tempo de avaliação pós-infarto e dose de feijão utilizada.

O protocolo utilizado para o preparo do feijão, já foi descrito anteriormente na literatura, entretanto o grão de feijão integro preserva seus compostos e poderia ter apresentado benefício significativo. Um estudo avaliou os processos de preparação e cocção dos grãos, e relatou que o modo de preparo dos mesmo alteram a composição nutricional (83). No entanto, no presente estudo os compostos presentes na farinha de feijão foram dosados pelo ITAL, e observou-se que os compostos fenólicos presentes no mesmo estavam preservados na farinha.

Outro ponto importante a ser evidenciado, é a dose da farinha de feijão utilizada que pode ter sido insuficiente para apresentar benefícios na RC. No estudo de Monk, et al. (53) ao avaliar os efeitos da suplementação do feijão-marinho na obesidade induzida por dieta rica em gordura, foi suplementada uma dose de 15,7% de feijão que foi capaz de atenuar a gravidade do fenótipo obeso, o presente estudo foi realizado com base nessa dose, entretanto pode não ter sido capaz de exercer efeito significativo no modelo de RC após o IAM.

Possivelmente o tempo de exposição ao tratamento dos animais pode ter sido outro fator limitante, o período de 3 meses de suplementação com a farinha de feijão, pode não ter sido eficaz em demonstrar os benefícios esperados diante da hipótese desse estudo, aumentar o tempo de suplementação da farinha de feijão pode ser um potencial a se considerar para apresentar benefícios significativos ao coração pós IAM.

Fator limitante que também pode ser destacado é a variedade do feijão utilizado, optou-se pelo uso do feijão tipo carioca, que é a variedade mais consumida no Brasil e principalmente pela população local, sendo, portanto mais aplicável. No entanto, estudos anteriores demonstraram que os grãos com maior

quantidade de compostos fenólicos estão presentes em grãos mais escuros, como no feijão preto ou azul (46, 84).

Nesse contexto, não encontramos outro estudo na literatura que comparou os efeitos da suplementação de feijão na remodelação cardíaca após o IAM, e nossos achados não sustentam os benefícios do feijão no cenário da RC. Entretanto, acreditamos que nosso trabalho reforça a importância de mais estudos avaliando as vias que o feijão atua como fator preventivo e posteriormente até mesmo no tratamento nas DCV.

CONCLUSÃO

Em conclusão, a suplementação com a farinha de feijão não atenuou a remodelação cardíaca induzida pelo infarto agudo do miocárdio em ratos.

REFERÊNCIAS

1. APARICIO, H. J. et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update A Report from the American Heart Association. **Circulation**. V. 143 (8), p. e254-e743, 2021.
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Cardiovascular disease**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>>. Acesso em: 12 agosto 2021.
3. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Informação em saúde: **Estatísticas vitais**. Disponível em: <<http://datasus.saude.gov.br/>>. Acesso em: 12 agosto 2021.
4. NICOLAU, J.C. et al. Brazilian Society of Cardiology Guidelines on Unstable Angina and Acute Myocardial Infarction without ST-Segment Elevation – 2021. **Arq Bras Cardiol**. V. 117(1), p. 181-264, 2021.
5. PFEFFER, J.M. et al. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. **Circ Res**. V. 57(1), p. 84-95, 1985.
6. ZORNOFF, L.A.M. et al. Infarto do miocárdio experimental em ratos: análise do modelo. **Arq Bras Cardiol**. V. 93(4), p. 434-40, 2009.
7. OPIE, L.H. et al. Controversies in ventricular remodelling. **The Lancet**. V. 367(9507), p.356-67, 2006.
8. ZORNOFF, L.A.M. et al. Remodelamento e seu impacto na progressão da disfunção ventricular. **Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo**. V. 12(3), p.371-8, 2002.
9. ZORNOFF, L.A. M. et al. Ventricular remodeling after myocardial infarction: concepts and clinical implications. **Arq Bras Cardiol**. V. 92 (2), p. 157-64, 2009.
10. RABABA'H, E.A.M. et al. Oxidative Stress and Cardiac Remodeling: An Updated. **Curr Cardiol Rev**. V. 14(1), p. 53-59, 2018.
11. FILIPPIN, L.S. et al. Redox Influence on the Inflammatory Response in Rheumatoid Arthritis. **Rev Bras Reumatol**. V. 48 (1), p. 17-24, 2008.
12. CHEN, Q.M. et al. Nrf2 at the heart of oxidative stress and cardiac protection. **Physiol Genomics**. V. 1;50(2), p. 77-97, 2018.
13. MUNZEL, T. et al. Pathophysiological role of oxidative stress in systolic and diastolic heart failure and its therapeutic implications. **Eur Heart J**. V. 36(38), p. 2555-64, 2015.
14. ZHOU, S. et al. The role of Nrf2-mediated pathway in cardiac remodeling and heart failure. **Oxid Med Cell Longev**. 2014.

15. ZUURBIER, C.J. et al. Innate immunity as a target for acute cardioprotection. **Cardiovasc Res**. V. 115(7) p.1131–1142, 2019.
16. AZEVEDO, P.S. et al. Cardiac Remodeling: Concepts, Clinical Impact, Pathophysiological Mechanisms and Pharmacologic Treatment. **Arq. Bras. Cardiol**. V. 106 (1), 2016.
17. HUANG, S. et al. Anti-inflammatory therapies in myocardial infarction: failures, hopes and challenges. **Br J Pharmacol**. V. 175 (9), p.1377-1400, 2018.
18. RAFACHO, B.P.M. et al. Rosemary supplementation (*Rosmarinus officinalis* L.) attenuates cardiac remodeling after myocardial infarction in rats. **PLoS ONE**. V.12(5), 2017.
19. PEREIRA, B.L.B. et al. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) or lycopene supplementation attenuates ventricular remodeling after myocardial infarction through different mechanistic pathways. **J Nutr Biochem**. V. 46, p. 117-124. 2017.
20. OLIVEIRA B.C. et al. Influência do Consumo de Suco de Laranja (*Citrus Sinensis*) na Remodelação Cardíaca de Ratos Submetidos a Infarto do Miocárdio. **Arq. Bras. Cardiol**. V. 116 (6), 2021.
21. MARTINO, H.S.D. et al. Nutritional and bioactive compounds of bean: Benefits to human health. **ACS Symposium Series**. V. 1109, p. 233-258, 2012.
22. DREWNOWSKI, A. The nutrient rich foods index helps to identify healthy, affordable foods. **Am J Clin Nutr**. V. (4), p. 1;91, 2010.
23. HAVEMEIER, S. et al. Dietary guidance for pulses: the challenge and opportunity to be part of both the vegetable and protein food groups. **Annals of the New York Academy of Sciences**. V. 1392(1) p. 58-66, 2017.
24. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS STATISTICAL DATABASE (**FAOSTAT**). Disponível em: <<http://www.fao.org/brasil/pt/>>. Acesso em: 19 agosto 2021.
25. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE (**USDA**). Disponível em: <<https://usdabrazil.org.br/wp-content/uploads/2020/06/brazilian-dry-bean-production.pdf>>. Acesso em: 19 agosto 2021.
26. REZENDE, A.A. et al. Nutritional and protein quality of dry brazilian beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Sci Technol**. V. 38(3) p. 421–7, 2018.
27. GALISTEO, M. et al. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. **J Nutr Biochem**. V. 19 p.71–84, 2008.

28. MARTINO, H.S.D. et al. Nutritional and bioactive compounds of bean: Benefits to human health. **ACS Symp Ser.** V. 1109 p.233–58, 2012.
29. MESSINA V. Nutritional and health benefits of dried beans. **Am J Clin Nutr.** V. 1 p. 437S-42S, 2014.
30. HAYAT, I. et al. Nutritional and Health Perspectives of Beans (Phaseolus vulgaris L.): An Overview. **Crit Rev Food Sci Nutr.** V. 54(5) p. 580–92, 2014.
31. GANESAN, K. et al. Polyphenol-rich dry common beans (Phaseolus vulgaris L.) and their health benefits. **Int J Mol Sci.** V. 18 (11), 2017.
32. MULLINS A.M. et al. Health Benefits of Plant-Based Nutrition: Focus on Beans in Cardiometabolic Diseases. **Nutrients.** V. 13(2), p. 519, 2021.
33. LUTZ, M. et al. Roles of phenolic compounds in the reduction of risk factors of cardiovascular diseases. **Molecules.** V. 24(2) p.1–15, 2019.
34. DE LIMA, S.L.S. et al. Whole flour and protein hydrolysate from common beans reduce the inflammation in BALB/c mice fed with high fat high cholesterol diet. **Food Res Int.** V. 122(4) p. 330–9, 2019.
35. GOMES, M.J.C. et al. Common bean protein hydrolysate modulates lipid metabolism and prevents endothelial dysfunction in BALB/c mice fed an atherogenic diet. **Nutr Metab Cardiovasc Dis.** V. 30(1) p. 141–50, 2020.
36. MONK, J.M. et al. Navy and black bean supplementation primes the colonic mucosal microenvironment to improve gut health. **J Nutr Biochem.** V. 49 p. 89–100, 2017.
37. JEONG E.W. et al. Black Soybean and Adzuki Bean Extracts Lower Blood Pressure by Modulating the Renin-Angiotensin System in Spontaneously Hypertensive Rats. **Foods.** V. 10(7), p.1571, 2021.
38. CLARK, J.L. et al. Regular Black Bean Consumption Is Necessary to Sustain Improvements in Small-Artery Vascular Compliance in the Spontaneously Hypertensive Rat. **Nutrients.** V. 3;12(3), P. 685, 2020.
39. GOMES, M.J.C. et al. Common bean protein hydrolysate modulates lipid metabolism and prevents endothelial dysfunction in BALB/c mice fed an atherogenic diet. **Nutr Metab Cardiovasc Dis.** V. 30(1) p. 141–50, 2020.
40. ZHU, Z. et al. Edible dry bean consumption (Phaseolus vulgaris L.) modulates cardiovascular risk factors and diet-induced obesity in rats and mice. **Br J Nutr.** V. 108 p. 66–73, 2012.
41. CHAVEZ-SANTOSCOY, R.A. et al. Flavonoids and saponins extracted from black bean (Phaseolus vulgaris L.) seed coats modulate lipid

- metabolism and biliary cholesterol secretion in C57BL/6 mice. **Br J Nutr.** V. 112(6) p. 886–99, 2014.
42. LOPES, L.A.R. et al. Cholesterol-lowering and liver-protective effects of cooked and germinated mung beans (*Vigna radiata* L.). **Nutrients.** V. 10(7) p. 1–13, 2018.
43. SHI, Z. et al. Anti-obesity effects of α -amylase inhibitor enriched-extract from white common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) associated with the modulation of gut microbiota composition in high-fat diet-induced obese rats. **Food Funct.** V. 11(2) p. 1624–34, 2020.
44. HAN, K.H. et al. Dietary adzuki bean paste dose-dependently reduces visceral fat accumulation in rats fed a normal diet. **Food Res Int.** V.130 p. 108890, 2020.
45. ZHANG, C. et al. Cooked navy and black bean diets improve biomarkers of colon health and reduce inflammation during colitis. **Br J Nutr.** V. 111(9) p. 1549–63, 2014.
46. MONK, J.M. et al. White and dark kidney beans reduce colonic mucosal damage and inflammation in response to dextran sodium sulfate. **J Nutr Biochem.** V. 26(7) p. 752–60, 2015.
47. MORENO-VALDESPINO, C.A. et al. Bioactive proteins and phytochemicals from legumes: Mechanisms of action preventing obesity and type-2 diabetes. **Food Res Int.** V. 130 p.108905, 2020.
48. BAZZANO, L.A. et al. Legume consumption and risk of coronary heart disease in US men and women: NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. **Arch Intern Med.** V. 161(21) p. 2573–8, 2001.
49. DOMA, K.M. et al. Canned Beans Decrease Serum Total and LDL Cholesterol in Adults with Elevated LDL Cholesterol in a 4-wk Multicenter, Randomized, Crossover Study. **The Journal of Nutrition.** nxab323, 2021.
50. REVERRI, E.J. et al. Black beans, fiber, and antioxidant capacity pilot study: Examination of whole foods vs. functional components on postprandial metabolic, oxidative stress, and inflammation in adults with metabolic syndrome. **Nutrients.** V. 7(8) p. 6139–54, 2015.
51. FINLEY, J.W. et al. Pinto bean consumption changes SCFA profiles in fecal fermentations, bacterial populations of the lower bowel, and lipid profiles in blood of humans. **J Nutr.** V. 137(11) p. 2391–8, 2007.
52. CELLENO, L. et al. A dietary supplement containing standardized *Phaseolus vulgaris* extract influences body composition of overweight men and women. **Int J Med Sci.** V. 4(1) p. 45–52, 2007.

53. MONK, J.M. et al. Navy bean supplemented high-fat diet improves intestinal health, epithelial barrier integrity and critical aspects of the obese inflammatory phenotype. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. V. 70 p. 91-104, 2019.
54. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS (AOAC). Association of official analytical chemist. 19th edition, **Washington D.C.** USA. 2012.
55. INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4th Edition, **Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo. 2005.
56. KALIL, A.C. Manual Básico de Nutrição. São Paulo: **Instituto de Saúde**, 1975.
57. TFOUNI SAV, SERRATE CS, CARREIRO LB, CAMARGO MCR, TELES CRA, CIPOLLI K, et al. **International Journal of Food Science & Technology**. V. 47 (2) p. 406-415, 2012.
58. TEXEIRA, L.N. et al. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**. V. 55 (4) p. 297-304, 2008.
59. KIM, D.O. et al. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry, Amsterdam**. V. 81 (3) p. 321-326, 2003.
60. HEIMBURGER, R.F. Injection into pericardial sac and ligation of coronary artery of the rat. **Arch Surg**. V. 52 p. 677-89, 1946.
61. PFEFFER, M.A. et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. **Circ Res**. V. 44 p. 503-12, 1979.
62. ZORNOFF, L.A.M. et al. Early rather than delayed administration of lisinopril protects the heart after myocardial infarction in rats. **Basic Res Cardiol**. V. 95 p. 208-14, 2000.
63. MITCHELL, C. et al. Guidelines for Performing a Comprehensive Transthoracic Echocardiographic Examination in Adults: Recommendations from the American Society of Echocardiography. **J Am Soc Echocardiogr**. V. 32(1) p. 1-64, 2019.
64. ZORNOFF, L.A.M. et al. Influence of mannitol added to the nutrient solution on the mechanical performance and on the degree of myocardial edema of isolated hearts of rats. **Arq Bras Cardiol**. V. 64 P. 225-229, 1995.
65. DE STEFANO, L.M. et al. Myocardial dysfunction with increased ventricular compliance in volume overload hypertrophy. **Eur J Heart Fail**. V. 8 p. 784-789, 2006.

66. ZORNOFF, L.A.M. et al. Beta-carotene supplementation attenuates cardiac remodeling induced by one-month tobacco-smoke exposure in rats. **Toxicol. Sci.** V. 90(1) p. 259-266, 2006.
67. DE PAIVA, S.A.R. et al. Behavior of cardiac variables in animals exposed to cigarette smoke. **Arq Bras Cardiol.** V. 81(3) p. 221–8, 2003.
68. MESQUITA, C. S. et al. Simplified 2,4-dinitrophenylhydrazine spectrophotometric assay for quantification of carbonyls in oxidized proteins. **Analytical Biochemistry.** V. 458, p. 69-71, 2014.
69. CSONKA, C. et al. Measurement of myocardial infarct size in preclinical studies. **J Pharmacol Toxicol Methods.** V. 61, p. 163-70, 2010.
70. POLEGATO, B.F. et al. Association between Functional Variables and Heart Failure after Myocardial Infarction in Rats. **Arquivos brasileiros de cardiologia.** V. 106(2), p.105–12, 2016.
71. GONÇALVES, AF. et al. Vitamin D supplementation intensifies cardiac remodeling after experimental myocardial infarction. **Int J Cardiol.** V. 176(3), p. 1225-6, 2014.
72. HUSEBYE, T. et al. 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.** V. 7(4), p. 321-9, 2018.
73. SUN, Y. Myocardial repair/remodelling following infarction: roles of local factors. **Cardiovasc Res.** V. 81(3), P. 482-90, 2009.
74. AZEVEDO, .PS. et al. Ventricular remodeling induced by tissue vitamin A deficiency in rats. **Cell Physiol Biochem.** V. 26, p. 395-402, 2010.
75. JEONG, E.M. et al. Diastolic dysfunction. **Circ J.** V. 79(3), p. 470–7, 2015.
76. BAI, H. et al. Synergistic Radiation Protective Effect of Purified *Auricularia auricular-judae* Polysaccharide (AAP IV) with Grape Seed Procyanidins. **Molecules.** V. 19(12):20675–94, 2014.
77. RAJASEKARAN, N.S. et al. Sustained activation of nuclear erythroid 2-related factor 2/antioxidant response element signaling promotes reductive stress in the human mutant protein aggregation cardiomyopathy in mice. **Antioxid Redox Signal.** 2011;14(6):957–71.
78. LOU H. Cytokines are not upregulated in adriamycin-induced cardiomyopathy and heart failure. **J Mol Cell Cardiol.** V. 36(5):683–90, 2004.
79. DELEDDA, A. et al. Diet-Derived Antioxidants and Their Role in

Inflammation, Obesity and Gut Microbiota Modulation. **Antioxidants** V.10(5) p. 70, 2021.

80. MATUMU, A. et al. Health Benefits of Antioxidative Peptides Derived from Legume Proteins with a High Amino Acid Score. **Antioxidants**. V. 10(2), p. 316, 2021.

81. MISKI D. et al. Dietary fibers reduce obesity-related disorders: mechanisms of action. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**. V. 23 (6), p. 445-450, 2020.

82. FERREIRA, H. et al. Benefits of pulse consumption on metabolism and health: A systematic review of randomized controlled trials. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Volume 61 (1) p. 85-96, 2020.

83. LOADER T.B. et al. Processing method modulates the effectiveness of black beans for lowering blood cholesterol in spontaneously hypertensive rats. **J Sci Food Agric**. V. 101(2), p. 449-458, 2021.

84. YANG. Q.Q. Polyphenols in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Chemistry, Analysis, and Factors Affecting Composition. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. V.17, p. 1518-1539, 2018.