

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 19/06/2021.



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

ANDERSON SEIJI SOARES FUJIMORI

**Influência do suco de laranja Pera (*Citrus sinensis*) e do
suco de laranja Moro [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] na ma-
triz extracelular miocárdica**

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

Orientadora: Profa Dra. Bertha Furlan Polegato

**Botucatu
2019**

ANDERSON SEIJI SOARES FUJIMORI

Influência do suco de laranja Pera (*Citrus sinensis*) e do suco de laranja Moro [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] na matriz extracelular miocárdica

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre(a) em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Bertha Furlan Polegato

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

Fujimori, Anderson Seiji Soares.

Influência do suco de laranja Pera (*Citrus sinensis*) e do suco de laranja Moro [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] na matriz extracelular miocárdica / Anderson Seiji Soares Fujimori. - Botucatu, 2019

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

Orientador: Bertha Furlan Polegato

Capes: 20702027

1. Laranja. 2. Suco de laranja. 3. Matriz extracelular. 4. Remodelação ventricular.

Palavras-chave: *Citrus Sinensis*; *Citrus sinensis* (L.) Osbeck; Matriz extracelular; Metaloproteínases de matriz; TIMP; Metabolômica.

DEDICATÓRIA

À toda minha família, por sempre me apoiar na realização de todos meus objetivos e por toda a paciência durante esses 2 anos.

Amo vocês!

AGRADECIMIENTO
ESPECIAL

À minha orientadora Profa. Dra. Bertha Furlan Polegato por ter me dado a oportunidade de realizar este objetivo, por ser um grande exemplo de humanismo e profissionalismo, por ter me acalmado em momentos decisivos e pela sabedoria com que me orientou, tornando possível a realização desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

A todos os docentes do departamento de clínica médica pelas realizações
Dos procedimentos e pelas contribuições durante todo o projeto, em especial
à Dra. Silméia Garcia Zanati Bazan, Dr. Sérgio A.R. de Paiva, Dr. Marcos F. Minicucci, Dr. Leonardo A. M. Zornoff, Dra. Paula S. A. Gaiola e Dra. Estela Lima.

À Dra. Priscila P. dos Santos pela amizade, pelo apoio, por ter sido minha mentora no aprendizado das técnicas realizadas no laboratório, pelas contribuições e por ter participado na minha banca de qualificação.

Aos colegas do grupo de pesquisa RECAN, Marina, Amanda, Matheus, Angelo, Nara, Tatiana, Priscila e Mariana pela amizade, parceria, carinho, contribuição e aprendizados.

À profa. Dra. Estela Lima pelos ensinamentos e contribuição com a realização da análise metabolômica.

À Flávia e ao prof. Dr. Rodrigo do laboratório Innovare da UNICAMP, pela contribuição com a análise metabolômica.

Aos colegas do laboratório de Inficiência Cardíaca, por todas as contribuições e parceria.

Aos meus colegas de viagem, em especial a minha amiga Thainá pela parceria e momentos de descontração.

A todos os funcionários da UNIPEX que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e em especial à Vickeline, Ana Paula, Leandro e Denise.

À Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) pela oportunidade de me profissionalizar.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudos.

À FUNDECITRUS de Araraquara, pelo fornecimento dos sucos de laranja,
sem nenhum custo, meu muito obrigado!

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	18
HIPÓTESE	23
OBJETIVO	25
MATERIAL E MÉTODOS	26
Delineamento experimental.....	27
Ecocardiograma	28
Histologia.....	29
Atividade de MMP-2 por zimografia	29
Western blot	30
Espectrometria de massas de alta resolução.....	32
Análise estatística	33
RESULTADOS.....	34
Ecocardiograma	35
Histologia.....	36
Atividade de MMPs por zimografia.....	37
Western blot	37
Espectrometria de massas de alta resolução.....	38
Marcadores identificados por meio da espectrometria de massa in tandem ...	45
Moléculas identificadas no grupo LP	47
N-docosaehexaenoylphenylalanine.....	47
DG(44:5).....	47
Phosphatidylethanolamine PE (O-36:0)	48
Moléculas identificadas no grupo LM.....	49
N-formylmaleamicacid	49
N2-Acetyl-L-ornithine.....	49
Casegravol isovalerate	50
Abscisicalcohol 11-glucoside.....	50
CPA(18:2).....	51
Torvoside C	51
DISCUSSÃO	53
CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS.....	62

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Frequência cardíaca e variáveis estruturais ao Ecocardiograma.	35
Tabela 2 -Variáveis funcionais ao Ecocardiograma.	36
Tabela 3 - Atividade de MMP-2.	37
Tabela 4 - Expressão proteica analisada por Western blot	38
Figura 1 - Delineamento experimental.	28
Figura 2- Cortes histológicos corados por Picrosirius Red	36
Figura 3 - Atividade da MMP-2 por Zimografia.....	37
Figura 4 - Estrutura química da N-docosaheptaenoylphenylalanine.	47
Figura 5 - Estrutura química da DG(44:5).	48
Figura 6 - Estrutura química da PE(O-36:0).	48
Figura 7 - Estrutura química do N-formylmaleamicacid.....	49
Figura 8 - Estrutura química da N2-Acetyl-L-ornithine.	49
Figura 9 - Estrutura química da Casegravolisovalerate.....	50
Figura 10 - Estrutura química da Absciscicalcohol 11-glucoside.	50
Figura 11 - Estrutura química do CPA(18:2)	51
Figura 12 - Estrutura química da Torvoside C.....	52

RESUMO

Introdução: A matriz extracelular (MEC) além de fornecer suporte estrutural e participa de maneira ativa da homeostase do tecido cardíaco, regulando diversos processos fisiológicos e também patológicos. Desse modo, intervenções que afetem a composição e dinâmica da MEC se constituem importante alvo terapêutico. O suco de laranja Pera possui atividade anti-inflamatória, inclusive em indivíduos saudáveis. O suco de laranja Moro possui maior quantidade de compostos anti-inflamatórios e antioxidantes que a laranja Pera. Estudos experimentais observaram diminuição da atividade e da expressão metaloproteinases de matriz com a administração de componentes do suco de laranja de forma isolada, porém a administração do suco integral ainda não foi estudada. **Objetivo:** Avaliar a influência da ingestão de suco de laranja Pera na matriz extracelular miocárdica e comparar com os efeitos do suco da laranja Moro em corações saudáveis. **Material e Métodos:** foram utilizados 60 ratos Wistar machos alocados em 3 grupos: C, LP, LM. O grupo C recebeu água com maltodextrina, o grupo LP recebeu suco de laranja Pera e o grupo LM recebeu suco de laranja Moro, a vontade, por 4 semanas. Após 4 semanas de suplementação, os animais foram submetidos ao ecocardiograma e eutanásia para coleta de material biológico. **Resultados:** Não observamos diferenças na estrutura e função cardíaca ao ecocardiograma. Também não foi observada diferença entre os grupos na avaliação do percentual de colágeno tecidual (C: $2,33 \pm 0,66$; LP: $2,53 \pm 0,58$; LM: $2,50 \pm 0,64$; $p=0,744$) e na expressão das proteínas Colágeno I (C: $1,022 \pm 0,199$; LM: $1,026 \pm 0,167$; LP: $1,026 \pm 0,229$; $p=0,999$), TIMP-2 (C: $1,079 \pm 0,372$; LP: $0,902 \pm 0,325$; LM: $1,223 \pm 0,548$; $p=0,297$), TIMP-4 [C: 1,000 (0,839-1,115); LP: 1,016 (0,823-1,229); LM: 1,081 (1,007-1,179); $p=0,588$], MMP-9 [C: 1,004 (0,883-1,246); LP: 1,119 (0,859-1,472); LM: 1,098 (0,821-1,450); $p=0,647$] e TNF-alfa [C: 0,708 (0,569-0,857); LP: 0,933 (0,564-95,633); LM: 0,828 (0,422-1,092) $p=0,297$] pela técnica de Western Blot. Não foi observado diferença entre os grupos na avaliação de atividade da MMP-2 por zimografia. A análise de metabolômica identificou alterações na intensidade de sinal para diferentes metabólitos no grupo LP e LM em comparação ao grupo C. **Conclusão:** A ingestão de suco de laranja Pera e do suco de laranja Moro não causaram alterações prejudiciais na matriz extracelular miocárdica em corações saudáveis e induziram alterações nos metabólitos presentes no soro desses animais.

Palavras Chaves: Matriz extracelular; *Citrus Sinensis*; *Citrus sinensis* (L.) Osbeck; Metaloproteinases de matriz; TIMP; Metabolômica.

ABSTRACT

Introduction: Beyond to providing structural support, the extracellular matrix (ECM) actively participates in cardiac tissue homeostasis, regulating several physiological and pathological processes. Thus, interventions that affect the composition and dynamics of ECM constitute an important therapeutic target. Pera orange juice has anti-inflammatory activity, even in healthy individuals. Moro orange juice has more anti-inflammatory and antioxidant compounds than Pera orange. Experimental studies have observed decreased activity and expression of matrix metalloproteinases after administration of orange juice components alone, but the administration of whole juice has not been studied. **Objective:** To evaluate the influence of Pera orange juice intake on the myocardial extracellular matrix and to compare with the effects of Moro orange juice on healthy hearts. **Material and Methods:** 60 male Wistar rats were allocated in 3 groups: C, LP, LM. Group C received water with maltodextrin, group LP received orange juice Pera and group LM received orange juice Moro, all with free access, for 4 weeks. Afterwards, the animals underwent echocardiography and euthanasia to collect biological material. **Results:** No differences in cardiac structure and function were observed on echocardiography. Also, there was no difference between the groups in the evaluation of the percentage of tissue collagen (C: $2,33 \pm 0,66$; LP: $2,53 \pm 0,58$; LM: $2,50 \pm 0,64\%$; $p=0,744$) and expression of Collagen I proteins (C: $1,022 \pm 0,199$; LM: $1,026 \pm 0,167$; LP: $1,026 \pm 0,229$; $p=0,999$), TIMP-2 (C: $1,079 \pm 0,372$; LP: $0,902 \pm 0,325$; LM: $1,223 \pm 0,548$; $p=0,297$), TIMP-4 [C: 1,000 (0,839-1,115); LP: 1,016 (0,823-1,229); LM: 1,081 (1,007-1,179); $p=0,588$], MMP-9 [C: 1,004 (0,883-1,246); LP: 1,119 (0,859-1,472); LM: 1,098 (0,821-1,450); $p=0,647$] and TNF-alfa [C: 0,708 (0,569-0,857); LP: 0,933 (0,564-95,633); LM: 0,828 (0,422-1,092) $p=0,297$] by Western Blot. No difference between groups was observed in the assessment of MMP-9 activity by zymography. Metabolomics analysis identified differential markers in the LP and LM groups compared to group C. **Conclusion:** Ingestion of Pera orange juice and Moro orange juice did not cause harmful changes in myocardial extracellular matrix in healthy hearts and induced changes in the metabolites present in the serum of these animals.

Keywords: Extracellular matrix; Citrus Sinensis; Citrus sinensis (L.) Osbeck; Matrix metalloproteinases; TIMP; Metabolomics.

INTRODUÇÃO

O espaço entre os cardiomiócitos presentes no tecido cardíaco é comumente denominado interstício cardíaco. É composto por diversos tipos celulares como células endoteliais, pericitos, células musculares lisas, e células mesenquimais, como os fibroblastos cardíacos, e também pela matriz extracelular (MEC), que compreende uma rede tridimensional que fornece suporte estrutural para esses diversos tipos celulares (1). A MEC, além de fornecer suporte estrutural, participa de maneira ativa da homeostase do tecido cardíaco, uma vez que atua como facilitadora na sinalização química, elétrica e mecânica miocárdica, modulando a interação celular e regulando processos como migração, proliferação e adesão celulares durante estados fisiológicos ou também sob estímulos patológicos (2,3).

A MEC é composta, principalmente, por colágenos tipos I e III, embora apresente quantidades menores de colágeno IV, V e VI. O colágeno tipo I representa 85% do colágeno em miocárdio normal, sendo a principal proteína estrutural do coração (2,4). Além dos colágenos, ainda há a presença de outras glicoproteínas, como periostina, elastina e fibronectina, proteoglicanas e glicosaminoglicanas (4).

A interação da MEC com as células teciduais ocorre, principalmente, por meio das integrinas, que são receptores transmembrana que possuem capacidade de interagir com diversos componentes da MEC, como colágeno, periostina e fibronectina, e ativar várias vias de sinalização intracelular como Akt, PI3-K (phosphoinositide 3-kinase), MAPK (mitogen-activated protein kinases), regulando diferenciação, proliferação, migração e apoptose celular (5,6).

Proteínas estruturais como o colágeno e fibronectinas também participam da comunicação intercelular. Estudos *in vitro* mostraram que o colágeno fornece estímulo de sobrevivência para a célula por inibir apoptose via ativação de integrinas (7), além de induzir proliferação e migração celular (6). As fibronectinas também interagem com as superfícies celulares, provocando reorganização do citoesqueleto, estimulando a expressão gênica de forma a favorecer a migração celular, além de regular o crescimento e a sobrevivência celular por via de sinalização que envolve o NF- κ B (nuclear transcription factor κ B) (6,8).

A MEC também pode servir como depósito para fatores de crescimento, como o FGF2 (Fibroblast Growth Factor) e o VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), TGF- β (transforming growth factor β), diversos hormônios e citocinas não inflamatórias. A sinalização induzida por essas substâncias depende, pelo menos em

parte, da interação dessas substâncias com os componentes da MEC (1). Assim, alterações no perfil inflamatório podem interferir na composição da MEC.

Os fibroblastos são um dos principais tipos celulares presentes no interstício. Essas células são responsáveis pela produção de colágeno e fibronectina, IL-6 (interleucina-6), TGF-beta, endotelina-1 e TNF-alfa (tumor necrosis fator alfa) (9). Adicionalmente, os fibroblastos são os principais produtores das metaloproteinases de matriz (MMP) e seus inibidores teciduais (TIMP), essenciais para o equilíbrio entre a produção e degradação da MEC e sua manutenção (4).

As MMP são uma família de 23 enzimas (MMP-1 a -23) capazes de degradar os diversos componentes da MEC. São essenciais para processos fisiológicos, como a embriogênese, e para o crescimento e a manutenção normal dos tecidos (10). A maioria das MMP é produzida na forma inativa e a ativação ocorre, mais comumente, por meio da quebra e perda do peptídeo terminal, que expõe o sítio catalítico zinco-dependente das MMP (10). Cada MMP apresenta afinidade e especificidade para determinado substrato da MEC, no entanto, mais recentemente, descobriu-se que as MMP também tem a capacidade de degradar ou modificar outras proteínas que não as proteínas da MEC, como fatores de crescimento, citocinas, receptores celulares, inibidores e até mesmo outras MMP (11).

A atividade das MMP é regulada, principalmente, por seus inibidores teciduais (TIMP). Constituem uma família de quatro membros (TIMP-1 a -4) que tem como função principal inibir as MMP, regulando e impedindo sua atividade excessiva. A predominância de formação de MEC ou degradação da mesma depende de um equilíbrio fino entre a concentração de MMP e TIMP no tecido (12).

Alterações na homeostase da MEC estão fortemente relacionadas a processos patológicos que envolvem vários órgãos, como pulmão, rins, fígado, medula óssea, ossos, cartilagens e o coração (13). O acúmulo anormal de MEC leva à fibrose e a doenças como cirrose, fibrose pulmonar idiopática, mielodisplasias, osteoartrite, além de estar relacionada a aumento do risco de surgimento de neoplasias (13). Nesse contexto, as doenças cardiovasculares ainda representam a principal causa de morte por doenças não transmissíveis em todo o mundo e o processo pelo qual o coração responde a determinada injúria e denominado remodelação cardíaca.

A remodelação cardíaca é caracterizada por alterações moleculares, celulares e intersticiais que se manifestam como mudanças no tamanho, forma e função do coração após uma injúria miocárdica (14). A homeostase da MEC pode ser alterada

frente a vários estímulos comumente presentes nas cardiopatias, como sobrecargas hemodinâmicas, ativação de sistemas hormonais, inflamação, aumento do estresse oxidativo, entre outros (12). A ruptura da estrutura da MEC interrompe a conexão entre os cardiomiócitos, quebra a estrutura cardíaca, podendo cursar com disfunção do coração. Além disso, o excesso de produção, ou a mudança do padrão de produção, de proteínas estruturais da MEC resulta em aumento da rigidez do miocárdio, dificultando tanto o relaxamento quanto a contração miocárdica (15). As MMP presentes de maneira mais abundante no coração são as MMP-2 e -9 (10,12).

Desse modo, a MEC tem papel crucial na patogênese de diversas doenças, o que faz com que intervenções que afetem a composição e dinâmica da MEC se constituam importante alvo terapêutico. Nesse sentido, os produtos de origem natural vêm ganhando destaque devido suas composições ricas em grande variedade de substâncias com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, como vitaminas e minerais, que podem influenciar a MEC por terem a possibilidade de interferir em diferentes vias e processos fisiológicos. Dentre esses produtos de origem natural, o suco de laranja se torna um importante alvo de estudo, uma vez que é uma bebida largamente consumida em quase todo o mundo e rica em compostos com propriedades benéficas à saúde.

A laranja mais comumente utilizada no país para extração de suco é a laranja Pera (*Citrus sinensis*). Essa laranja possui em sua composição, aproximadamente por litro, 420 Kcal, 100 g de carboidratos, 336 mg de vitamina C, 1,48 g de β -criptoxantina, 280 mg de β -caroteno, 110 mg de hesperidina (16).

Recentemente, variedades de laranjas sanguíneas, assim denominadas por conta de sua cor avermelhada, vêm ganhando destaque. Os compostos responsáveis pela cor vermelho-violácea dessas laranjas são as antocianinas, que possuem altíssima capacidade antioxidante e anti-inflamatória (17). Uma dessas variedades é a laranja Moro [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], que possui em sua composição quantidades maiores de vitamina C (400 mg/L) e de hesperidina (550 mg/L) (18) que a laranja Pera e, adicionalmente, possui em torno de 30 mg/L de antocianinas, que não estão presentes na laranja Pera (19). Sabe-se que o suco de laranja possui atividade anti-inflamatória (20), inclusive em indivíduos saudáveis (21). Essas diferenças na composição conferem ao suco da laranja Moro maior capacidade antioxidante e anti-inflamatória que o suco das variedades claras, como a Pera (16,18).

Estudos *in vitro* utilizando células de câncer de pulmão observaram diminuição da atividade de MMP-2 e -9 com a administração de naringenina, uma substância presente no suco de laranja (22). A administração de naringenina também diminuiu a atividade de MMP-2 e -9 em fígado de ratos alimentados com dieta hipercolesterolêmica (23). Em modelo de câncer de pulmão, a administração de hesperidina levou a diminuição de MMP-2 e -9 (24) e em estudo *in vitro* com células de hepatocarcinoma houve diminuição da expressão de MMP-9 (25).

No entanto, todos esses estudos avaliaram apenas um componente do suco de laranja isoladamente. Acredita-se que a administração do suco total provocaria efeitos diferentes na MEC, uma vez que um componente poderia interferir com a absorção e metabolização de outro componente presente no suco.

Apesar de sabermos que a ingestão do suco de laranja pode provocar algumas mudanças metabólicas no organismo de humanos e outros animais (20,21,26,27), ainda não são conhecidas todas as alterações metabólicas provocadas pela ingestão de suco de laranja. Mais recentemente, a técnica de metabolômica vem ganhando destaque, pois permite avaliar por um único método diferentes metabólitos presentes em amostra de sangue ou tecido. A aplicação da técnica metabolômica em estudos tem permitido o aumento da compreensão, em nível molecular, da patogênese de diversas doenças. Adicionalmente, por meio da metabolômica também é possível avaliar o perfil metabólico de um indivíduo após a administração de um alimento específico, permitindo analisar a correlação de dietas com genes, proteínas e metabólitos, tanto em situações fisiológicas como patológicas (28). Curiosamente, não identificamos estudos que tenham utilizado a técnica de metabolômica para avaliar as alterações metabólicas ocorridas após a ingestão de suco de laranja.

CONCLUSÃO

A ingestão de suco de laranja Pera e do suco de laranja Moro não causaram alterações na dinâmica e na composição da matriz extracelular miocárdica em corações saudáveis, mostrando que a ingestão do suco de laranja é segura. Adicionalmente, a ingestão de ambos os sucos induziu alterações nos metabólitos presentes no soro desses animais que se relacionam com inflamação, estresse oxidativo e composição e regulação da MEC, em maior número no soro dos animais que ingeriram suco de laranja Moro. A identificação desses compostos pode contribuir para o melhor entendimento dos efeitos benéficos do suco de laranja para a saúde.

REFERÊNCIAS

1. Pogontke C, Guadix JA, Ruiz-Villalba A, Pérez-Pomares JM. Development of the Myocardial Interstitium. *Anat Rec (Hoboken)*. 2019;302:58-68.
2. Frangogiannis NG. The Extracellular Matrix in Ischemic and Nonischemic Heart Failure. *Circ Res*. 2019;125:117–46.
3. Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK. Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;97:4–27.
4. Li L, Zhao Q, Kong W. Extracellular matrix remodeling and cardiac fibrosis. *Matrix Biol*. 2018;68–69:490–506.
5. Frangogiannis NG. Cardiac fibrosis: Cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities. *Mol Aspects Med*. 2019;65:70–99.
6. Valiente-Alandi I, Schafer AE, Blaxall BC. Extracellular matrix-mediated cellular communication in the heart. *J Mol Cell Cardiol*. 2016;91:228–37.
7. Mooney A, Jackson K, Bacon R, Streuli C, Edwards G, Bassuk J, et al. Type IV collagen and laminin regulate glomerular mesangial cell susceptibility to apoptosis via beta(1) integrin-mediated survival signals. *Am J Pathol*. 1999;155:599–606.
8. Han SW, Roman J. Fibronectin induces cell proliferation and inhibits apoptosis in human bronchial epithelial cells: pro-oncogenic effects mediated by PI3-kinase and NF-kappa B. *Oncogene*. 2006;25:4341–9.
9. Bowers SLK, Banerjee I, Baudino TA. The extracellular matrix: At the center of it all. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;48:474-82.
10. DeCoux A, Lindsey ML, Villarreal F, Garcia RA, Schulz R. Myocardial matrix metalloproteinase-2: inside out and upside down. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;77:64–72.
11. Hadler-Olsen E, Fadnes B, Sylte I, Uhlin-Hansen L, Winberg J-O. Regulation of matrix metalloproteinase activity in health and disease. *FEBS J*. 2011;278:28–45.
12. Spinale FG. Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function. *Physiol Rev*. 2007;87:1285–342.
13. Bonnans C, Chou J, Werb Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014; 15:786-801.
14. Azevedo PS, Polegato BF, Minicucci MF, Paiva SAR, Zornoff LAM. Cardiac Remodeling: Concepts, Clinical Impact, Pathophysiological Mechanisms and Pharmacologic Treatment. *Arq Bras Cardiol*. 2016; 106:62-9.
15. Riaz S, Zeidan A, Mraiche F. Myocardial proteases and cardiac remodeling. *J Cell Physiol*. 2017;232:3244–50.
16. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO. UNICAMP/NEPA. 2011;4:161.

17. Liobikas J, Skemiene K, Trumbeckaite S, Borutaite V. Anthocyanins in cardioprotection: A path through mitochondria. *Pharmacol Res.* 2016;113:808–15.
18. Barreca D, Bellocco E, Leuzzi U, Gattuso G. First evidence of C- and O-glycosyl flavone in blood orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) juice and their influence on antioxidant properties. *Food Chem.* 2014;149:244–52.
19. Grosso G, Galvano F, Mistretta A, Marventano S, Nolfo F, Calabrese G, et al. Red orange: Experimental models and epidemiological evidence of its benefits on human health. *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:157240.
20. Coelho RCLA, Hermsdorff HHM, Bressan J. Anti-inflammatory properties of orange juice: possible favorable molecular and metabolic effects. *Plant Foods Hum Nutr.* 2013;68:1–10.
21. Dourado GKZS, Cesar TB. Investigation of cytokines, oxidative stress, metabolic, and inflammatory biomarkers after orange juice consumption by normal and overweight subjects. *Food Nutr Res.* 2015;59:28147.
22. Chang HL, Chang YM, Lai SC, Chen KM, Wang KC, Chiu TT et al. Naringenin inhibits migration of lung cancer cells via the inhibition of matrix metalloproteinases-2 and -9. *Exp Ther Med.* 2017;13:739-744.
23. Chtourou Y, Fetoui H, Jemai R, Ben Slima A, Makni M, Gdoura R. Naringenin reduces cholesterol-induced hepatic inflammation in rats by modulating matrix metalloproteinases-2, 9 via inhibition of nuclear factor κ B pathway. *Eur J Pharmacol.* 2015;746:96–105.
24. Kamaraj S, Anandakumar P, Jagan S, Ramakrishnan G, Devaki T. Modulatory effect of hesperidin on benzo(a)pyrene induced experimental lung carcinogenesis with reference to COX-2, MMP-2 and MMP-9. *Eur J Pharmacol.* 2010;649:320–7.
25. Lee K-H, Yeh M-H, Kao S-T, Hung C-M, Liu C-J, Huang Y-Y, et al. The inhibitory effect of hesperidin on tumor cell invasiveness occurs via suppression of activator protein 1 and nuclear factor- κ B in human hepatocellular carcinoma cells. *Toxicol Lett.* 2010;194:42–9.
26. Barreca D, Bellocco E, Leuzzi U, Gattuso G. First evidence of C- and O-glycosyl flavone in blood orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) juice and their influence on antioxidant properties. *Food Chem.* 2014;149:244–52.
27. Ribeiro, APD. Influência do suco da laranja Pera (*Citrus sinensis*) e da laranja Moro (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) na cardiotoxicidade aguda induzida pela doxorubicina em ratos. Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu; 2019. p. 54.
28. Canuto G, Costa JL, Cruz P, Souza A, Faccio A, Klassen A, et al. Metabolômica: Definições, Estado-da-arte e Aplicações Representativas. *Quim Nova.* 2017;1:75-91.

29. Mapelli-Brahm P, Stinco CM, Rodrigo MJ, Zacarías L, Meléndez-Martínez AJ. Impact of thermal treatments on the bioaccessibility of phytoene and phytofluene in relation to changes in the microstructure and size of orange juice particles. *J Funct Foods*. 2018;46:38–47.
30. Pagan LU, Damatto RL, Gomes MJ, Lima ARR, Cezar MDM, Damatto FC, et al. Low-intensity aerobic exercise improves cardiac remodelling of adult spontaneously hypertensive rats. *J Cell Mol Med*. 2019;23:6504–7.
31. Polegato BF, Minicucci MF, Azevedo PS, Carvalho RF, Chiuso-Minicucci F, Pereira EJ, et al. Acute Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity is Associated with Matrix Metalloproteinase-2 Alterations in Rats. *Cell Physiol Biochem*. 2015;35:1924–33.
32. Lustosa BB, Polegato B, Minicucci M, Rafacho B, Santos PP, Fernandes AA, et al. Green tea (*Cammellia sinensis*) attenuates ventricular remodeling after experimental myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2016;225:147–53.
33. Mathias LMBS, Alegre PHC, dos Santos I de OF, Bachiega T, Figueiredo AM, Chiuso-Minicucci F, et al. Euterpe oleracea Mart. (Açaí) Supplementation Attenuates Acute Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rats. *Cell Physiol Biochem*. 2019;53:388–99.
34. Melo CFOR, Delafiori J, de Oliveira DN, Guerreiro TM, Esteves CZ, Lima E de O, et al. Serum metabolic alterations upon ZIKA infection. *Front Microbiol*. 2017;8:2373.
35. Xia J, Sinelnikov I V., Han B, Wishart DS. MetaboAnalyst 3.0-making metabolomics more meaningful. *Nucleic Acids Res*. 2015;43:251-7.
36. Wishart DS, Feunang YD, Marcu A, Guo AC, Liang K, Vázquez-Fresno R, et al. HMDB 4.0: The human metabolome database for 2018. *Nucleic Acids Res*. 2018;46:608–17.
37. SwissLipids — SLM:000098737. Available from: <https://www.swisslipids.org/#/entity/SLM:000098737/?classification>
38. Emoto K, Umeda M. An Essential Role for a Membrane Lipid in Cytokinesis. *J Cell Biol*. 2000;149:1215–24.
39. Kanehisa M. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Res*. 2000;28:27–30.
40. Kanehisa M, Sato Y, Furumichi M, Morishima K, Tanabe M. New approach for understanding genome variations in KEGG. *Nucleic Acids Res*. 2019;47:590–5.
41. Rock CD, Heath TG, Gage DA, Zeevaart JAD. Absciscic Alcohol Is an Intermediate in Absciscic Acid Biosynthesis in a Shunt Pathway from Absciscic Aldehyde. *Plant Physiol*. 1991;97:670–6.
42. Fujiwara Y. Cyclic phosphatidic acid — A unique bioactive phospholipid. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids*. 2008;1781:519–24.

43. Azevedo PS, Polegato BF, Minicucci MF, Paiva SAR, Zornoff LAM. Cardiac Remodeling: Concepts, Clinical Impact, Pathophysiological Mechanisms and Pharmacologic Treatment. *Arq Bras Cardiol.* 2016;106:62-9.
44. Emoto K, Toyama-Sorimachi N, Karasuyama H, Inoue K, Umeda M. Exposure of phosphatidylethanolamine on the surface of apoptotic cells. *Exp Cell Res.* 1997 May 1;232(2):430–4.
45. Maria CABD, Moreira RFA. A Intrigante Bioquímica da Niacina-Uma Revisão Crítica. *Quim. Nova.* 2011;34: 1739-1752.
46. Puga, GM; Novais, IDP; Zanesco A. Therapeutic effects of L-arginine supplementation on the cardiovascular and endocrine-metabolic diseases. *Arq Med.* 2011;25:107–14.
47. Dusse LMS, Vieira LM, Carvalho M das G. Revisão sobre óxido nítrico. *J Bras Patol e Med Lab.* 2003;39:343-350.
48. O'Sullivan S, Medina C, Ledwidge M, Radomski MW, Gilmer JF. Nitric oxide-matrix metalloproteinase-9 interactions: Biological and pharmacological significance. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res.* 2014;1843:603–17.
49. Detsi A, Kontogiorgis C, Hadjipavlou-Litina D. Coumarin derivatives: an updated patent review (2015-2016). *Expert Opin Ther Pat.* 2017;27:1201–26.
50. Deng D, Pei H, Lan T, Zhu J, Tang M, Xue L, et al. Synthesis and discovery of new compounds bearing coumarin scaffold for the treatment of pulmonary fibrosis. *Eur J Med Chem.* 2019;111790.
51. Fu B, Su Y, Ma X, Mu C, Yu F. Scoparone attenuates angiotensin II-induced extracellular matrix remodeling in cardiac fibroblasts. *J Pharmacol Sci.* 2018;137:110–5.
52. Mohanlall V, Odhav B. Biocontrol of Aflatoxins B 1 ,B 2 ,G 1 ,G 2 , and Fumonisin B 1 with 6,7-Dimethoxycoumarin, a Phytoalexin from *Citrus sinensis*. *J Food Prot.* 2006;69:2224–9
53. Ference CM, Manthey J, Narciso J, Jones JB, Baldwin E. Detection of phenylpropanoids in citrus leaves produced in response to *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. *Phytopathology.* 2019;PHYTO-06-19-0219-R.
54. Hauser F, Li Z, Waadt R, Schroeder JI. SnapShot: Absciscic Acid Signaling. *Cell.* 2017;171:1708-1708.
55. Melo HC de, Rodrigues FJ, Queirós SF, Portes TDA. A aplicação exógena foliar de ácido abscísico desencadeia mecanismos de tolerância à deficiência hídrica em seringueira. *Ciência Florest.* 2019;29:40.
56. Katayama-Ikegami A, Sakamoto T, Shibuya K, Katayama T, Gao-Takai M. Effects of Absciscic Acid Treatment on Berry Coloration and Expression of Flavonoid Biosynthesis Genes in Grape. *Am J Plant Sci.* 2016;07:1325–36.

57. Ferrero M, Pagliarani C, Novák O, Ferrandino A, Cardinale F, Visentin I, et al. Exogenous strigolactone interacts with abscisic acid-mediated accumulation of anthocyanins in grapevine berries. *J Exp Bot*. 2018;69:2391–401.
58. Bruzzone S, Moreschi I, Usai C, Guida L, Damonte G, Salis A, et al. Absciscic acid is an endogenous cytokine in human granulocytes with cyclic ADP-ribose as second messenger. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:5759–64.
59. Magnone M, Leoncini G, Vigliarolo T, Emionite L, Sturla L, Zocchi E, et al. Chronic Intake of Micrograms of Absciscic Acid Improves Glycemia and Lipidemia in a Human Study and in High-Glucose Fed Mice. *Nutrients*. 2018;10:1495.
60. Yamamoto S, Yamashina K, Ishikawa M, Gotoh M, Yagishita S, Iwasa K, et al. Protective and therapeutic role of 2-carba-cyclic phosphatidic acid in demyelinating disease. *J Neuroinflammation*. 2017;14:142.
61. Murakami-Murofushi K, Uchiyama A, Fujiwara Y, Kobayashi T, Kobayashi S, Mukai M, et al. Biological functions of a novel lipid mediator, cyclic phosphatidic acid. *Biochim Biophys Acta*. 2002;1582:1–7.
62. Maeda-Sano K, Gotoh M, Morohoshi T, Someya T, Murofushi H, Murakami-Murofushi K. Cyclic phosphatidic acid and lysophosphatidic acid induce hyaluronic acid synthesis via CREB transcription factor regulation in human skin fibroblasts. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids*. 2014;1841:1256–63.
63. Gotoh M, Nagano A, Tsukahara R, Murofushi H, Morohoshi T, Otsuka K, et al. Cyclic Phosphatidic Acid Relieves Osteoarthritis Symptoms. *Mol Pain*. 2014;10:52.
64. Sudha PN, Rose MH. Beneficial effects of hyaluronic acid. *Adv Food Nutr Res*. 2014;72:137–76.
65. Litwiniuk M, Krejner A, Speyrer MS, Gauto AR, Grzela T. Hyaluronic Acid in Inflammation and Tissue Regeneration. *Wounds a Compend Clin Res Pract*. 2016;28:78–88.
66. Wina E, Muetzel S, Becker K. The Impact of Saponins or Saponin-Containing Plant Materials on Ruminant Production A Review. *J Agric Food Chem*. 2005;53:8093–105.
67. Upadhyay S, Jeena GS, Shikha, Shukla RK. Recent advances in steroidal saponins biosynthesis and in vitro production. *Planta*. 2018;248:519–44.
68. Liu Y-W, Hao Y-C, Chen Y-J, Yin S-Y, Zhang M-Y, Kong L, et al. Protective effects of sarsasapogenin against early stage of diabetic nephropathy in rats. *Phyther Res*. 2018;32:1574–82.
69. Chen P-S, Shih Y-W, Huang H-C, Cheng H-W. Diosgenin, a Steroidal Saponin, Inhibits Migration and Invasion of Human Prostate Cancer PC-3 Cells by Reducing Matrix Metalloproteinases Expression. Means RE, editor. *PLoS One*. 2011;6:e20164.

70. Wu Z, Zhao X, Miyamoto A, Zhao S, Liu C, Zheng W, et al. Effects of steroidal saponins extract from *Ophiopogon japonicus* root ameliorates doxorubicin-induced chronic heart failure by inhibiting oxidative stress and inflammatory response. *Pharm Biol.* 2019;57:176–83.