

Rol de la Lipoperoxidación en la Intensificación de la Remodelación Ocasionada por el Betacaroteno tras Infarto

Paula S. Azevedo¹, Daniella R. Duarte¹, Marcos F. Minicucci¹, Beatriz B. Matsubara¹, Luiz S. Matsubara¹, Rosângela Novo¹, Ethel L. Novelli², Álvaro O. Campana¹, Sergio A. R. Paiva¹, Leonardo A. M. Zornoff¹

Departamento de Clínica Médica - Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP¹; Departamento de Bioquímica - Instituto de Biociências - UNESP², Botucatu, SP - Brasil

Resumen

Fundamento: Los mecanismos implicados en la mayor remodelación ocasionada por betacaroteno tras el infarto son desconocidos.

Objetivo: Analizar el rol que juega la lipoperoxidación en la remodelación ventricular tras el infarto de miocardio, en ratas suplementadas con betacaroteno.

Métodos: Se había inducido a un infarto a las ratas y se las distribuyó en grupos: C (control) y BC (500mg/kg/dieta). Tras seis meses, se realizaron ecocardiograma y evaluación bioquímica. Utilizamos la prueba t, con significancia del 5%.

Resultados: Los animales del grupo BC presentaron mayores promedios de las áreas diastólicas (C = $1,57 \pm 0,4$ mm²/g, BC = $2,09 \pm 0,3$ mm²/g; $p < 0,001$) y sistólicas (C = $1,05 \pm 0,3$ mm²/g, BC = $1,61 \pm 0,3$ mm²/g; $p < 0,001$) del VI, ajustadas al peso corporal de la rata. La función sistólica del VI, evaluada por la fracción de variación de área, fue menor en los animales suplementados con betacaroteno (C = $31,9 \pm 9,3$ %, BC = $23,6 \pm 5,1$ %; $p = 0,006$). Los animales suplementados con betacaroteno presentaron valores mayores de la relación E/A (C = $2,7 \pm 2,5$, BC = $5,1 \pm 2,8$; $p = 0,036$). No se encontraron diferencias entre los grupos con relación a los niveles cardiacos de GSH (C = 21 ± 8 nmol/mg de proteína, BC = 37 ± 15 nmol/mg de proteína; $p = 0,086$), GSSG (C = $0,4$ (0,3-0,5) nmol/g de proteína, BC = $0,8$ (0,4-1,0); $p = 0,19$) de proteína; $p = 0,246$) y lipoperoxidos (C = $0,4 \pm 0,2$ nmol/mg de tejido, BC = $0,2 \pm 0,1$ nmol/mg de tejido; $p = 0,086$).

Conclusión: La mayor remodelación en animales infartados y suplementados con betacaroteno no depende de la lipoperoxidación. (Arq Bras Cardiol 2009;93(1):32-36)

Palabras-clave: Función ventricular, estrés oxidativo, disfunción ventricular izquierda, remodelación ventricular, betacaroteno

Introducción

Tras el infarto agudo de miocardio (IAM), pueden ocurrir cambios de la arquitectura ventricular, implicando tanto la región infartada como la no infartada. Se acepta que las alteraciones morfológicas sean el reflejo de cambios celulares, moleculares e intersticiales cardiacos, que ocurren como respuesta a la determinada agresión. Al conjunto de esas adaptaciones –que se detectan clínicamente por alteraciones en la composición, masa, volumen y geometría cardiaca–, se le denomina remodelación miocárdica¹⁻⁴.

La intensidad del proceso de remodelación ventricular está directamente asociada a un peor pronóstico, principalmente porque la remodelación está relacionada al surgimiento y a la progresión de la disfunción ventricular. Así, innumerables estrategias han sido utilizadas para prevenir o atenuar el proceso de remodelación ventricular tras el IAM⁵⁻⁷.

Uno de los principales moduladores del proceso de remodelación es el estrés oxidativo. Entre otros mecanismos fisiopatológicos, una de las principales consecuencias del estrés oxidativo es la lipoperoxidación. Así, se acepta que el estrés oxidativo pueda ser un inductor de daños celulares que alteran variables funcionales y estructurales cardiacas, participando de la fisiopatología de la insuficiencia cardiaca secundaria a diversos estímulos, incluso el IAM⁸⁻¹¹.

Teniendo en cuenta que el betacaroteno, por poseer la habilidad de inactivar las especies reactivas de oxígeno, se lo consideran como un antioxidante^{12,13}, la suplementación de betacaroteno podría ser benéfica tras el IAM. De esa manera, en un trabajo anterior de nuestro laboratorio, se evaluaron los efectos de la suplementación de betacaroteno en el proceso de remodelación ventricular tras el IAM. En contrario al esperado, sin embargo, la suplementación con betacaroteno resultó en intensificación de la remodelación, seguida por empeoramiento de la función cardiaca¹⁴. Los mecanismos responsables de ese fenómeno, sin embargo, todavía no están aclarados. Una de las posibilidades sería que el betacaroteno, en situación de grande estímulo oxidativo, dejaría de ejercer actividad antioxidante y pasaría a presentar actividad prooxidante¹⁵.

Correspondencia: Leonardo A. M. Zornoff •

Faculdade de Medicina de Botucatu - Distrito de Rubião Jr., s/n - 18618-000 - Botucatu, SP - Brasil
E-mail: lzornoff@cardiol.br, lzornoff@fmb.unesp.br
Artículo recibido el 01/08/07; revisado recibido el 01/10/07; aceptado el 10/10/07.

Por el expuesto, este trabajo tuvo por objeto evaluar la participación de la lipoperoxidación en las alteraciones morfológicas y funcionales cardíacas, inducidas por la suplementación de betacaroteno en ratas infartadas.

Material y métodos

Grupos experimentales

La Comisión de Ética en Experimentación Animal de nuestra institución aprobó el protocolo experimental del presente trabajo, estando de acuerdo con los Principios Éticos en la Experimentación Animal adoptado por el Colegio Brasileño de Experimentación Animal.

Se utilizaron ratas Wistar machos, pesando entre 200 y 250 gramos. E infarto agudo se produjo de acuerdo con el método previamente descrito¹⁶. En resumen, las ratas (n=120) se anestesiaron con clorhidrato de ketamina (50mg/kg) y clorhidrato de xilidino (1mg/kg), y se sometieron a la toracotomía lateral izquierda. Durante el experimento, los animales respiraron espontáneamente, con suplementación de oxígeno a un 100%, ofertado por catéter. Tras la exteriorización del corazón, se apartó el atrio izquierdo y la arteria coronaria izquierda se ligó con mono nylon 5.00, entre la salida de la arteria pulmonar y el atrio izquierdo. Acto seguido, se retornó el corazón al tórax, los pulmones se inflaron con presión positiva y el tórax se cerró por suturas de algodón 10.

Los animales se los mantuvieron en jaulas para recuperación; alimentados con ración comercial estándar y libre acceso a agua; con control de luz, ciclos de 12 horas; temperatura de aproximadamente 25°C y humedad controlada.

Tras 48 horas del infarto, los animales se dividieron de modo aleatorio en dos grupos: grupo C (n = 25), conformado por los animales infartados alimentados con ración comercial estándar; y grupo BC (n = 27), conformado por los animales infartados que recibieron dieta suplementada con betacaroteno en la dosis de 500mg/kg/dieta. Todos los análisis se llevaron a cabo por examinadores sin conocimiento de los grupos de los animales.

Evaluación morfológica y funcional por el ecocardiograma

Tras seis meses de tratamiento, los animales supervivientes se anestesiaron con clorhidrato de ketamina (50mg/kg) y clorhidrato de xilidino (1mg/kg), para el estudio ecocardiográfico. Luego de la tricotomía de la región anterior del tórax, los animales se posicionaron en decúbito dorsal en canaleta especialmente proyectada, que permite la leve rotación lateral izquierda para efectuar el examen, utilizándose equipamiento de Philips (modelo TDI 5500) dotado de transductor electrónico multifrecuencial hasta 12 MHz. La evaluación de los flujos transvalvulares mitral y aórtico se realizó con el mismo transductor operando en 5,0 MHz. Las mediciones de las estructuras cardíacas se efectuaron en las imágenes monodimensionales, obtenidas con el haz de ultrasonido orientado por la imagen bidimensional, en la posición paraesternal eje menor. La imagen de la cavidad ventricular izquierda se obtuvo posicionando el cursor del modo-M entre los músculos papilares, justo abajo del plan de

la válvula mitral. Las imágenes de la aorta y del atrio izquierdo se obtuvieron en la posición paraesternal eje menor, con el cursor del modo-M posicionado al nivel de la válvula aórtica. El registro de la imagen monodimensional (velocidad: 100 mm/s) se realizó por medio de la impresora modelo UP-890MD de la Sony Co. Todas las mediciones se efectuaron de acuerdo con las recomendaciones de la *American Society of Echocardiography*¹⁷, ya validadas en el modelo de ratas infartadas¹⁸. El diámetro diastólico del ventrículo izquierdo (DDVI) y el espesor de la pared posterior del VI (EDVI) se midieron al momento correspondiente al diámetro máximo de la cavidad. El diámetro sistólico del VI (DSVI) se midió al momento de la excursión sistólica máxima de la pared posterior de la cavidad. Las áreas diastólicas (AD) y sistólicas (AS) del VI se midieron al modo bidimensional, por medio de planimetría, en dos líneas paraesternales: eje largo y eje menor. La función sistólica del VI se evaluó calculándose la fracción de variación de área (FVA = $AD-AS/AD \times 100$)¹⁸, obtenida por el promedio de los valores de los dos ejes. El flujo diastólico transmitral (ondas E y A) se obtuvo con el transductor en la posición apical de cuatro cámaras. Las mediciones referentes a los flujos se realizaron directamente en el monitor del ecocardiógrafo.

Estudio morfométrico

Tras el estudio ecocardiográfico, a los animales se les sacrificaron con pentobarbital; se les sacaron los corazones, se los disecaron y los ventrículos derechos e izquierdo, incluyendo el septo interventricular, se los apartaron y los pesaron.

Muestras de tejido cardíaco se fijaron en solución de formol al 10% por período de 48 horas, según método ya descrito^{19,20}. Los cortes histológicos se colorearon en lámina con solución de Hematoxilina-Eosina (HE) para evaluación de áreas de la sección transversa de los miocitos, empleándose microscopio LEICA DM LS acoplado a una cámara de video, que envía imágenes digitales a un computador dotado del programa de análisis de imágenes Image Pro-plus (*Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, EE.UU.*). Se cuantificaron de 50 a 70 células por ventrículo analizado. Los miocitos seleccionados estaban seccionados transversalmente, presentaban forma redonda y núcleo visible al centro de la célula. Ese cuidado buscó uniformizar al máximo el conjunto de miocitos de los diferentes grupos. Las áreas seccionales promedios obtenidas para cada grupo se emplearon como indicadores del tamaño celular.

Se efectuaron láminas con cortes histológicos coronales de 6 micras —coloreados con la técnica de Picro Sirius red, específicos para visualización de colágeno—, para evaluar el intersticio del miocardio del VI. La lectura se llevó a cabo utilizándose microscopio LEICA DM LS acoplado a una cámara de video, que envía imágenes digitales a un computador dotado del programa de análisis de imágenes Image Pro-plus (*Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, EE.UU.*).

Lipoperoxidación

Para evaluación bioquímica, se realizaron dosificaciones de los niveles de glutatona reducida (GSH), glutatona oxidada (GSSH), relación GSH/GSSG y lipoperoxidos, según técnica

ya estandarizada²¹. Las dosificaciones se efectuaron en el hígado y en el corazón.

Análisis estadístico

Teniendo en cuenta que los datos presentaron distribución normal, las comparaciones se efectuaron con la prueba t de Student. Los datos se expresaron en promedio \pm desviación estándar. Para la relación GSH/GSSG, los datos están expresados en mediana e intervalo intercuartil y se analizaron con la prueba de Mann-Whitney. El nivel de significancia fue del 5%. Los análisis estadísticos se hicieron con el programa SigmaStat for Windows v2.03 (SPSS Inc, Chicago, IL).

Resultados

Al final del estudio, 13 animales control y 15 animales suplementados con betacaroteno sobrevivieron al período de seis meses ($p > 0,05$).

Los resultados del estudio ecocardiográfico están en la Tabla 1. La frecuencia cardíaca resultó estadísticamente mayor en los animales suplementados con betacaroteno ($C = 248 \pm 31$ lpm, $BC = 281 \pm 40$ lpm; $p = 0,025$). Los animales BC presentaron valores mayores del DDVI, ajustados al peso corporal de la rata ($C = 20,5 \pm 3,4$ mm/g, $BC = 23,8 \pm 3,8$ mm/g; $p = 0,025$), y valores menores de EDPP ($C = 1,4 \pm 0,2$ mm, $BC = 1,2 \pm 0,2$ mm; $p = 0,041$), con relación a los animales control. Los animales del grupo BC presentaron mayores promedios de las áreas diastólicas ($C = 1,57 \pm 0,4$ mm²/g, $BC = 2,09 \pm 0,3$ mm²/g; $p < 0,001$) y sistólicas ($C = 1,05 \pm 0,3$ mm²/g, $BC = 1,61 \pm 0,3$ mm²/g; $p < 0,001$) del VI, ajustadas al peso corporal de la rata, con relación a los animales control. La función sistólica del VI, evaluada por la fracción de variación de área, fue menor en los animales suplementados con betacaroteno ($C = 31,9 \pm 9,3\%$, $BC = 23,6 \pm 5,1\%$; $p = 0,006$). Con relación a la función diastólica, los animales suplementados con betacaroteno presentaron valores mayores de la relación E/A que los animales control ($C = 2,7 \pm 2,5$, $BC = 5,1 \pm 2,8$; $p = 0,036$). Teniendo en cuenta las otras variables morfométricas, no se observaron diferencias entre los dos grupos.

Los resultados del estudio morfométrico están en la Tabla 2. La suplementación con betacaroteno resultó en mayor peso del VD, ajustado al peso corporal ($C = 0,7 \pm 0,4$ mg/g, $BC = 1,1 \pm 0,3$ mg/g; $p = 0,034$). No se observaron diferencias con relación a las otras variables analizadas ($p > 0,05$).

Con relación a las dosificaciones bioquímicas, no se encontraron distinciones entre los grupos en cuanto a los niveles hepáticos de GSH ($C = 17 \pm 7$ nmol/mg de proteína, $BC = 27 \pm 14$ nmol/mg de proteína; $p = 0,250$); GSSG ($C = 0,3 \pm 0,1$ nmol/g de proteína, $BC = 0,4 \pm 0,2$ nmol/g de proteína; $p = 0,246$); GSH/GSSG ($C = 4377$ (2738-8249), $BC = 2012$ (1116-4488); $p = 0,286$) y lipoperóxidos ($C = 0,3 \pm 0,1$ nmol/mg de tejido, $BC = 0,2 \pm 0,1$ nmol/mg de tejido; $p = 0,159$). De igual modo, no se encontraron diferencias entre los grupos respecto a los niveles cardíacos de GSH ($C = 21 \pm 8$ nmol/mg de proteína, $BC = 37 \pm 15$ nmol/mg de proteína; $p = 0,086$); GSSG ($C = 0,4$ (0,3-0,5) nmol/g de proteína, $BC = 0,8$ (0,4-1,0); $p = 0,19$) de proteína; $p = 0,246$); GSH/GSSG ($C = 56 \pm 7$, $BC = 53 \pm 14$; $p = 0,709$) y lipoperóxidos (C

$= 0,4 \pm 0,2$ nmol/mg de tejido, $BC = 0,2 \pm 0,1$ nmol/mg de tejido; $p = 0,086$).

Discusión

Este trabajo tuvo como objeto analizar la participación de la lipoperoxidación en el proceso de la remodelación ventricular, tras el Infarto de miocardio, en ratas suplementadas con betacaroteno. Nuestro trabajo confirmó que la suplementación de betacaroteno intensifica la remodelación cardíaca post IAM. Sin embargo, contrariamente al esperado, el empeoramiento de la remodelación no parece ser dependiente de la lipoperoxidación.

El primer aspecto a tenerse en cuenta se refiere al hecho de que nuestro trabajo confirmó los hallazgos relatados previamente con relación a los efectos de la suplementación del betacaroteno en el proceso de remodelación ventricular tras el IAM¹⁴. De hecho, la suplementación del betacaroteno resultó en aumento de los diámetros ventriculares, tanto

Tabla 1 - Estudio ecocardiográfico

Variables	Control (n=13)	BC (n=15)	P
FC (lpm)	248 \pm 31	281 \pm 40	0,025
AE/PC (mm/g)	12,2 \pm 3,6	15,1 \pm 4,2	0,076
DDVI/PC (mm/kg)	20,5 \pm 3,4	23,8 \pm 3,8	0,025
EDPP (mm)	1,4 \pm 0,2	1,2 \pm 0,2	0,041
E (cm/s)	75,3 \pm 24,3	69,4 \pm 20,9	0,504
A (cm/s)	44,4 \pm 26,8	19,7 \pm 11,9	0,004
E/A	2,7 \pm 2,5	5,1 \pm 2,8	0,036
AD/PC (cm ² /g)	1,57 \pm 0,4	2,09 \pm 0,3	<0,001
AS/PC (cm ² /g)	1,05 \pm 0,3	1,61 \pm 0,3	<0,001
FVA (%)	31,9 \pm 9,3	23,6 \pm 5,1	0,006

Control - animales infartados; BC - animales infartados y suplementados con betacaroteno; PC - peso corporal de la rata; AE - diámetro del atrio izquierdo; DDVI - diámetro diastólico del ventrículo izquierdo; EDPP - espesor diastólico de la pared posterior; E/A - relación entre las ondas E y A evaluadas del flujo transmitral; AD - área diastólica; AS - área sistólica; FVA - fracción de variación de área. Los datos se expresaron en promedio \pm desviación estándar.

Tabla 2 - Datos morfométricos

Variables	Controle (n=13)	BC (n=15)	P
PC (g)	548 \pm 68	466 \pm 40	<0,001
VI/PC (mg/g)	2,7 \pm 0,6	2,6 \pm 1,2	0,776
VD/PC (mg/g)	0,7 \pm 0,4	1,1 \pm 0,3	0,034
AS (μ m ²)	236 \pm 7,6	236 \pm 8,6	0,812
IC (%)	3,5 \pm 1,2	3,1 \pm 1,6	0,482
% IAM	46,3 \pm 4,2	48,8 \pm 7,8	0,311

Control - animales infartados; BC - animales infartados y suplementados con betacaroteno; PC - peso corporal de la rata; VI - peso del ventrículo izquierdo; VD - peso del ventrículo derecho; AS - área seccional del miocito; IC - fracción de colágeno intersticial. % IAM - tamaño del infarto. Los datos se expresaron en promedio \pm desviación estándar.

sistólico como diastólico, indicando empeoramiento del proceso de remodelación ventricular izquierdo. Junto al aumento de la cavidad ventricular se siguió la disminución del espesor de la pared posterior del VI. Ese hecho, asociado al no aumento del área seccional del miocito, puede sugerir que la suplementación de betacaroteno resulta en crecimiento celular de estándar excéntrico.

El segundo aspecto relevante de nuestro trabajo está asociado al concepto de que la remodelación cardíaca resulta, invariablemente, en un descenso progresivo de la función sistólica ventricular. Inicialmente, en consecuencia del crecimiento celular, la remodelación puede contribuir a mantener o restaurar la función cardíaca. Crónicamente, sin embargo, ocurren cambios bioquímicos, genéticos y estructurales que resultarán en disfunción sistólica ventricular progresiva²⁻⁴. De igual manera, en las ratas suplementadas con betacaroteno, el proceso de remodelación siguió asociado al descenso de la fracción de variación de área. Se encontraron otras señales indirectas de disfunción ventricular en los animales suplementados con betacaroteno, como, por ejemplo, aumento de la frecuencia cardíaca e hipertrofia del ventrículo derecho. Es interesante notar que, en nuestro trabajo, identificamos también alteraciones en la función diastólica. El aumento de la relación E/A fue interpretado como estándar restrictivo del llenado ventricular, caracterizando disfunción diastólica severa. El hecho de que los animales suplementados presentaron tendencia a mayores valores de atrio izquierdo refuerza esa interpretación. Otro hecho interesante fue que no identificamos diferencias en relación con el contenido de colágeno intersticial. Teniendo en cuenta que el colágeno es un importante modulador de la función diastólica²², nuestros resultados sugieren que otros factores moduladores de la función diastólica pueden haber sido afectados por el tratamiento con betacaroteno.

El tercer aspecto a tenerse en cuenta es que los mecanismos responsables de la intensificación del proceso de remodelación cardíaca con la suplementación de betacaroteno no se conocen aún. Uno de los posibles mecanismos está relacionado con la lipoperoxidación, ya que, como se dijo anteriormente, el betacaroteno, en situación de gran estímulo oxidativo, puede dejar de ejercer actividad antioxidante y podría pasar a presentar actividad prooxidante¹⁵. Otro mecanismo propuesto es que el betacaroteno puede inducir la expresión del citocromo P450 y, con eso, aumentar el catabolismo del ácido retinoico, importante modulador de la remodelación cardíaca²³.

Con relación al estrés oxidativo, se sabe que las especies reactivas de oxígeno son constantemente producidas en el organismo. La acción de los sistemas de defensa antioxidantes contrabalancea los potenciales daños generados por esa producción. Entre las defensas antioxidantes, se destacan los sistemas enzimáticos, con la participación, por ejemplo, del GSH y GSSG; y los sistemas no enzimáticos, con la participación de vitaminas, entre otros. Cuando el equilibrio entre el estímulo oxidante y las defensas antioxidantes se rompen, se establece la condición denominada estrés oxidativo⁸⁻¹¹. Una de las principales consecuencias del estrés

oxidativo sería la lipoperoxidación. Así, tanto la relación GSH/GSSG, como los niveles de lipoperóxidos, podrían evaluar la presencia/intensidad del estrés oxidativo^{24,25}.

Contrariamente a nuestra hipótesis original, la suplementación de betacaroteno no modificó las variables que procuraron evaluar la lipoperoxidación. De hecho, la relación GSH/GSSG, y los niveles de GSH, GSSG y lipoperóxidos del grupo suplementado con betacaroteno no fueron diferentes de los animales infartados sin suplementación. Debemos considerar que las concentraciones de GSH y GSSG, así como la relación entre ellas, indican lo cuanto de la GSH se utilizó para mantener el equilibrio antioxidante/oxidante. O sea, la GSH se convierte en GSSG para impedir la acción de especies reactivas en el organismo. Teniendo en cuenta que no hubo diferencia en las concentraciones de GSH, GSSG y en su relación, nuestros resultados no confirman la posible actividad prooxidante del betacaroteno. Por el contrario, desde que el betacaroteno por él mismo puede presentar efecto antioxidante, no habría necesidad de consumir GSH, formando GSSG, para mantener el equilibrio redox. Por lo tanto, si tenemos en cuenta que, pese a esos factores, hubo una consistente intensificación de la remodelación cardíaca con el betacaroteno, podemos sugerir que la lipoperoxidación probablemente no tuvo participación en la intensificación de la remodelación ventricular.

Es importante resaltar que nuestro estudio, por características de la metodología disponible en el momento, evaluó solamente la participación de la lipoperoxidación y de los sistemas relacionados directamente con ella. Debemos considerar, sin embargo, que la participación del estrés oxidativo en la intensificación de la remodelación no se puede descartar solamente por la ausencia de aumento en la lipoperoxidación, ya que otros sistemas productores de radicales libres de oxígeno pueden estar actuando, como por ejemplo, los sistemas NADPH-oxidasa y tioredoxina. De ese modo, los mecanismos responsables de la acción dañosa del betacaroteno, en ese modelo, todavía necesitan determinarse.

En conclusión, el conjunto de nuestros datos sugiere que la remodelación en animales infartados y suplementados con betacaroteno no depende de la lipoperoxidación.

Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de Financiación

El presente estudio fue parcialmente financiado por la FAPESP – Fundación de Amparo a la Investigación del Estado de São Paulo.

Vinculación Académica

No hay vinculación de este estudio a programas de postgrado.

Referencias

1. Matsubara BB, Zornoff LAM. Matriz colágena intersticial e sua relação com a expansão miocárdica no infarto agudo. *Arq Bras Cardiol.* 1995; 64: 559-63.
2. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications. *Circulation.* 1990; 81: 1161-72.
3. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res.* 1985; 57: 84-95.
4. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling- concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling: behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2000; 35 (3): 569-82.
5. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, Basta L, Brown EJ Jr, Cuddy TE, et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction: results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med.* 1992; 327: 669-77.
6. Oie E, Bjonerheim R, Groggaard HK, Kongshaug H, Smiseth OA, Attramadal H. ET-receptor antagonism, myocardial gene expression, and ventricular remodeling during CHF in rats. *Am J Physiol.* 1998; 275: H868-77.
7. Bristow MR. Beta-adrenergic blockade in chronic heart failure. *Circulation.* 2000; 101: 558-69.
8. Ide T, Tsutsui H, Kinugawa S, Utsumi H, Kang D, Hattori N, et al. Mitochondrial electron transport complex I is a potential source of oxygen free radicals in the failing myocardium. *Circ Res.* 1999; 85: 357-63.
9. Grieve DJ, Byrne JA, Cave AC, Shah AM. Role of oxidative stress in cardiac remodeling after myocardial infarction. *Heart Lung Circ.* 2004; 13: 132-8.
10. Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest.* 2005; 115: 500-8.
11. Sawyer DB, Siwik DA, Xiao L, Pimentel DR, Singh K, Colucci WS. Role of oxidative stress in myocardial hypertrophy and failure. *J Mol Cell Cardiol.* 2002; 34: 379-88.
12. Zornoff LAM, Matsubara LS, Matsubara BB, Okoshi MP, Okoshi K, Dal Pai-Silva M, et al. Beta-carotene supplementation attenuates cardiac remodeling induced by one-month tobacco-exposure in rats. *Toxicol Sci.* 2006; 90: 259-66.
13. Palozza P, Krinsky NI. Antioxidant effects of carotenoids in vivo and in vitro: an overview. *Methods Enzymol.* 1992; 213: 403-20.
14. Zornoff LAM, Matsubara BB, Matsubara LS, Azevedo PS, Minicucci MF, Campana AO, et al. Beta-carotene supplementation results in adverse ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Nutrition.* 2006; 22: 146-51.
15. Paiva SAR, Russell RM. Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. *J Am Coll Nutr.* 1999; 18: 426-33.
16. Zornoff LAM, Matsubara BB, Matsubara LS, Paiva SAR, Spadaro J. Early rather than delayed administration of lisinopril protects the heart after myocardial infarction in rats. *Basic Res Cardiol.* 2000; 95: 208-14.
17. Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman AE. The Committee on M-mode standardization of the American Society of Echocardiography. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation.* 1978; 58: 1072-83.
18. Solomon SD, Greaves SC, Ryan M, Finn P, Pfeffer MA, Pfeffer JM. Temporal dissociation of left ventricular function and remodeling following experimental myocardial infarction in rats. *J Card Fail.* 1999; 5: 213-23.
19. Zornoff LAM, Paiva SAR, Matsubara BB, Matsubara LS, Spadaro J. Combination therapy with angiotensin converting enzyme inhibition and AT1 receptor inhibitor on ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2000; 5: 203-9.
20. Matsubara LS, Matsubara BB, Okoshi MP, Cicogna AC, Janicki JS. Alterations in myocardial collagen content affect rat papillary muscle function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000; 279: H1534-9.
21. Diniz YS, Rocha KK, Souza GA, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG, et al. Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. *Eur J Pharmacol.* 2006; 543: 151-7.
22. Janicki JS, Matsubara BB. Myocardial collagen and left ventricular diastolic dysfunction. In: Gaash W, LeWinter M. (eds.). *Left ventricular diastolic dysfunction and heart failure.* Philadelphia: Lea & Febiger; 1994. p. 125-40.
23. Nagao A. Oxidative conversion of carotenoids to retinoids and other products. *J Nutr.* 2004; 2: 375-40.
24. Hill MF, Singal PK. Right and left myocardial antioxidant responses during heart failure subsequent to myocardial infarction. *Circulation.* 1997; 96: 2414-20.
25. Bauer SF, Schwarz K, Ruegg JC. Glutathione alters calcium responsiveness of cardiac skinned fibers. *Basic Res Cardiol.* 1989; 84: 591-6.