UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: BIOQUÍMICA

Gustavo Ricardo Krupp Prauchner

REMODELAMENTO CARDIOVASCULAR SEXO-DEPENDENTE NA HIPER-HOMOCISTEINEMIA LEVE

Porto Alegre
2026

Gustavo Ricardo Krupp Prauchner

REMODELAMENTO CARDIOVASCULAR SEXO-DEPENDENTE NA HIPER-HOMOCISTEINEMIA LEVE

Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Bioquímica.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Angela T.S. Wyse

Porto Alegre
2026

CIP - Catalogação na Publicação

Prauchner, Gustavo
REMODELAMENTO CARDIOVASCULAR SEXO-DEPENDENTE NA HIPERHOMOCISTEINEMIA LEVE / Gustavo Prauchner. -- 2026.
130 f.
Orientadora: Angela T.S. Wyse.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, Porto Alegre, BR-RS, 2026.

1. homocisteína. 2. inflamação. 3. estresse oxidativo. 4. sinvastatina. 5. coração. I. T.S. Wyse, Angela, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, por proporcionar ensino público, gratuito e de qualidade, além de toda a estrutura e oportunidades que fizeram parte da minha formação acadêmica e científica desde a graduação;

À minha orientadora, Professora Dra. Angela Wyse, pela confiança no meu trabalho, pelos ensinamentos, pela orientação ao longo dessa trajetória e por todo o apoio durante o desenvolvimento deste estudo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica da UFRGS e a todos os professores, técnicos e colegas que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho;

Às agências de fomento Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro fundamental para o desenvolvimento da pesquisa;

À minha família, por todo apoio, incentivo e compreensão ao longo dessa caminhada, bem como aos meus amigos e colegas de laboratório, pela convivência diária, ajuda, trocas de conhecimento e pelos momentos de descontração que tornaram essa trajetória mais leve.

"O que nos cabe é decidir o que fazer com o tempo que nos é dado."

J. R. R. Tolkien

SUMÁRIO

RESUMO 1

ABSTRACT 3

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS 5

LISTA DE FIGURAS 6

1. INTRODUÇÃO 7
   - *1.1* Homocisteína e seu metabolismo 7
   - *1.2* Hiper-homocisteinemia: Influência do Envelhecimento e dos Dimorfismos Sexuais 8
   - *1.3* O Sistema Cardiovascular: estrutura e função 10
   - *1.4* Estresse oxidativo 12
   - *1.5* Inflamação 15
   - *1.6* Remodelamento e estrutura cardíaca 17
   - *1.7* Perfil lipídico e Aminotransferases 18
   - *1.8* Diferenças sexo-dependentes em ratos Wistar 19
   - *1.9* Sinvastatina e ácido fólico como estratégias protetoras/reversoras 20

2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE 22

3. OBJETIVOS 23
   - *3.1* Objetivo Geral 23
   - *3.2* Objetivos Específicos 23
     - 3.2.1 Capitulo 1. *Ex vivo* 23
     - 3.2.2 Capitulo 2. *In. vivo* 25

4. METODOLOGIA E RESULTADOS 26
   - 4.1 Metodologia Capítulo 1 (ex vivo) 26
   - 4.2 Metodologia Capítulo 2 (In vivo) 28
   - 4.3 Resultados Capítulo 1 (ex vivo) 30
   - 4.4 Resultados Capítulo 2 (In vivo) 46

5. DISCUSSÃO 86

6. CONCLUSÃO 94

7. PERSPECTIVAS 95

8. APOIO FINANCEIRO 96

9. REFERÊNCIAS 97

ANEXO 1 121

RESUMO

A homocisteína (Hcy, homocisteína) é um aminoácido sulfurado não proteinogênico formado durante o metabolismo do aminoácido essencial metionina. Concentrações plasmáticas normais de Hcy variam entre 4 e 15 µmol/L, enquanto níveis entre 16 e 30 µmol/L caracterizam a hiper-homocisteinemia (HHcy, hiper-homocisteinemia) leve, fator de risco independente para doenças cardiovasculares (DCV, doenças cardiovasculares) associada ao envelhecimento, ao estresse oxidativo, à inflamação e ao aumento do risco cardiovascular de maneira sexo-dependente. Não obstante, esses mecanismos e os potenciais efeitos moduladores de intervenções com ácido fólico (AF, ácido fólico) e da sinvastatina (SVT, sinvastatina), considerando suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, permanecem pouco esclarecidos. O objetivo do presente estudo foi investigar, em coração de ratos Wistar envelhecidos machos e fêmeas, os efeitos da hiper-homocisteinemia leve crônica sobre alterações oxidativas, inflamatórias, estruturais e cardiometabólicas associadas ao remodelamento cardíaco, utilizando modelos ex vivo e in vivo. Foram avaliados parâmetros relacionados ao estresse oxidativo, incluindo os níveis de 2',7'-diclorofluoresceína (DCF), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, thiobarbituric acid reactive substances), grupos sulfidrila e nitritos, bem como a atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT, catalase), superóxido dismutase (SOD, superóxido dismutase) e glutationa peroxidase (GPx, glutationa peroxidase). Adicionalmente, foram analisados marcadores inflamatórios e vias de sinalização celular, incluindo NRF2 (nuclear factor erythroid 2–related factor 2), NFκB (nuclear factor kappa B) e interleucinas, além de alterações histológicas, ultraestruturais e parâmetros séricos cardiometabólicos, incluindo atividade das enzimas butirilcolinesterase (BuChE), AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase) e perfil lipídico. A metodologia deste trabalho compreendeu ratos Wistar machos e fêmeas envelhecidos (365 dias de idade), os quais receberam salina (controle) ou DL-Hcy (DL-homocisteína) por via subcutânea (0,03 µmol/g de peso corporal) duas vezes ao dia durante 30 dias consecutivos, para indução da HHcy leve crônica. No modelo ex vivo, fatias cardíacas previamente submetidas à HHcy leve foram incubadas com AF ou SVT, visando avaliar possíveis efeitos reversores antioxidantes e anti-inflamatórios no tecido cardíaco. No modelo ex vivo, a HHcy promoveu alterações oxidativas e inflamatórias de maneira sexo-dependente. Em machos, observou-se aumento dos níveis de DCF e TBARS, acompanhado por aumento da atividade da CAT, redução do conteúdo nuclear de NRF2 e aumento do conteúdo citosólico de NFκB p65. Além disso, houve aumento da expressão gênica das citocinas pró-inflamatórias IL-1α

(interleucina-1 alfa), IL-1β (interleucina-1 beta) e IL-6 (interleucina-6), associado à redução de IL-10 (interleucina-10), caracterizando perfil pró-inflamatório cardíaco. O tratamento com AF reduziu níveis de DCF e TBARS e modulou parcialmente alterações antioxidantes e inflamatórias. Paralelamente, a SVT apresentou efeito antioxidante mais pronunciado, reduzindo parâmetros pró-oxidativos, aumentando atividades de SOD, CAT e GPx, além de restaurar parcialmente alterações relacionadas ao eixo NRF2/NFκB e à expressão de interleucinas. Em fêmeas, a HHcy promoveu principalmente redução da atividade da GPx e dos níveis de nitrito, sem alterações detectáveis no conteúdo de NFκB. Em relação aos marcadores inflamatórios, foram observadas alterações mais discretas, incluindo aumento de IL-6 e redução de IL-10. Tanto AF quanto SVT atenuaram parcialmente essas alterações, especialmente por meio da redução de IL-6 e restauração de IL-10. No modelo in vivo, a HHcy promoveu aumento dos níveis séricos de DCF em ambos os sexos. Nos machos, observaram-se aumento da massa cardíaca relativa, da área total de colágeno cardíaco e da expressão gênica de MMP-9 (matrix metalloproteinase-9), além de alterações ultraestruturais cardíacas, elevação dos níveis de triglicerídeos, VLDL (very low-density lipoprotein) e índice aterogênico plasmático, bem como redução da atividade da BuChE e aumento da AST. Nas fêmeas, verificaram-se aumento de necrose cardiomiocitária, redução da área total de colágeno, alterações em índices de risco cardiovascular bem como aumento de depósitos de gordura gonadal e mesentérica, incluindo aumento da atividade da BuChE e ALT. Em conjunto, os resultados demonstram que a HHcy leve crônica promove alterações cardiovasculares, moleculares e cardiometabólicas em ratos Wistar envelhecidos de maneira sexo-dependente, envolvendo mecanismos relacionados ao estresse oxidativo, inflamação e remodelamento cardíaco.

Palavras-chave: *homocisteína; inflamação; estresse oxidativo; sinvastatina; ácido fólico; coração; dimorfismo sexual.*

ABSTRACT

Homocysteine (Hcy) is a non-proteinogenic sulfur-containing amino acid formed during the metabolism of the essential amino acid methionine. Normal plasma Hcy concentrations range from 4 to 15 µmol/L, whereas levels between 16 and 30 µmol/L characterize mild hyperhomocysteinemia (HHcy), an independent risk factor for cardiovascular diseases (CVD), associated with aging, oxidative stress, inflammation, and increased cardiovascular risk in a sex-dependent manner. Nevertheless, these mechanisms, as well as the potential modulatory effects of interventions with folic acid (FA) and simvastatin (SVT), considering their antioxidant and anti-inflammatory properties, remain poorly understood. The aim of the present study was to investigate, in the hearts of aged male and female Wistar rats, the effects of chronic mild HHcy on oxidative, inflammatory, structural, and cardiometabolic alterations associated with cardiac remodeling using ex vivo and in vivo models. Parameters related to oxidative stress were evaluated, including 2',7'-dichlorofluorescein (DCF) levels, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), sulfhydryl groups, and nitrite levels, as well as the activity of the antioxidant enzymes catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GPx). Additionally, inflammatory markers and cellular signaling pathways, including NRF2 (nuclear factor erythroid 2–related factor 2), NFκB (nuclear factor kappa B), and interleukins, were analyzed, together with histological and ultrastructural alterations and cardiometabolic serum parameters, including butyrylcholinesterase (BuChE), aspartate aminotransferase (AST), and alanine aminotransferase (ALT) activities, as well as lipid profile. The methodology of this study comprised aged male and female Wistar rats (365 days old), which received saline (control) or DL-Hcy (DL-homocysteine) via subcutaneous injection (0.03 µmol/g body weight) twice daily for 30 consecutive days to induce chronic mild HHcy. In the ex vivo model, cardiac slices previously subjected to mild HHcy were incubated with FA or SVT to evaluate potential reversing antioxidant and anti-inflammatory effects in cardiac tissue. In the ex vivo model, HHcy promoted oxidative and inflammatory alterations in a sex-dependent manner. In males, increased DCF and TBARS levels were observed, accompanied by increased CAT activity, reduced nuclear NRF2 content, and increased cytosolic NFκB p65 content. Moreover, increased gene expression of the pro-inflammatory cytokines IL-1α (interleukin-1 alpha), IL-1β (interleukin-1 beta), and IL-6 (interleukin-6), associated with reduced IL-10 (interleukin-10) levels, characterized a cardiac pro-inflammatory profile. FA treatment reduced DCF and TBARS levels and partially modulated antioxidant and inflammatory alterations. In parallel, SVT exerted a

more pronounced antioxidant effect by reducing pro-oxidative parameters, increasing SOD, CAT, and GPx activities, and partially restoring alterations related to the NRF2/NFκB axis and interleukin expression. In females, HHcy mainly promoted reduced GPx activity and nitrite levels, without detectable alterations in NFκB content. Regarding inflammatory markers, more discrete alterations were observed, including increased IL-6 and reduced IL-10 levels. Both FA and SVT partially attenuated these alterations, especially through IL-6 reduction and IL-10 restoration. In the in vivo model, HHcy increased serum DCF levels in both sexes. In males, increases in relative heart mass, total cardiac collagen area, and MMP-9 (matrix metalloproteinase-9) gene expression were observed, in addition to cardiac ultrastructural alterations, elevated triglyceride, VLDL (very low-density lipoprotein), and plasma atherogenic index levels, as well as reduced BuChE activity and increased AST levels. In females, increased cardiomyocyte necrosis, reduced total collagen area, alterations in cardiovascular risk indices, increased gonadal and mesenteric fat depots, and increased BuChE activity and ALT levels were observed. Taken together, the results demonstrate that chronic mild HHcy promotes cardiovascular, molecular, and cardiometabolic alterations in aged Wistar rats in a sex-dependent manner, involving mechanisms related to oxidative stress, inflammation, and cardiac remodeling.

Keyword*s: homocysteine; inflammation; oxidative stress; simvastatin; folic acid; heart; sexual dimorphism.*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

BuChE – Butirilcolinesterase

CAT – Catalase

DCF – 2',7'-Diclorofluoresceína

EROs – Espécies reativas de oxigênio

GPx – Glutationa peroxidase

GSH – Glutationa reduzida

HDL – Lipoproteína de alta densidade

Hcy – Homocisteína

HHcy – Hiper-homocisteinemia

IL-1α – Interleucina-1 alfa

IL-1β – Interleucina-1 beta

IL-6 – Interleucina-6

IL-10 – Interleucina-10

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

MMP-9 – Metaloproteinase de matriz-9

NFκB – Fator nuclear kappa B

Nfe2l2 – Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (gene)

NRF2 – Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (proteína)

RELA – Subunidade p65 do fator nuclear kappa B

ROS – Reactive Oxygen Species (Espécies reativas de oxigênio)

SOD – Superóxido dismutase

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TG – Triglicerídeos

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Rota metabólica de conversão da homocisteína 08

Figura 2. Sistema cardiovascular do rato Wistar, principais artérias, coração e rins destacados 12

Figura 3. Esquema representativo das enzimas antioxidantes e conversão de espécies reativas de oxigênio 14

Figura 4. Representação esquemática da regulação da via NRF2/KEAP1 15

Figura 5. Via de ativação e translocação do NFκB 16

Figura 6. Representação esquemática dos principais mecanismos de ação das estatinas 21

Figura 7. Modelo quimicamente induzido de Hiper-homocisteinemia leve 27

Figura 8. Modelo experimental representativo (*Ex vivo*) 28

Figura 9. Modelo experimental representativo (*In vivo*) 29

1. INTRODUÇÃO

1.1 Homocisteína e seu metabolismo

A homocisteína (Hcy) é um aminoácido sulfurado não proteico que integra o ciclo da metionina, aminoácido essencial (Kaplan et al., 2020; Škovierová et al., 2016). Este aminoácido é convertido em S-adenosilmetionina (SAM) pela enzima metionina adenosiltransferase (MAT), sendo posteriormente transformada em S-adenosilhomocisteína por ação de metiltransferases. Em sequência, S-adenosilhomocisteína é hidrolisada pela S-adenosilhomocisteína hidrolase, originando Hcy e adenosina como produtos (Katko et al., 2012; Shen et al., 2020). A regulação dos níveis plasmáticos de Hcy ocorre principalmente por duas vias metabólicas: remetilação à metionina e transulfuração para formação de cistationina (Wyse et al., 2021).

Na remetilação, a Hcy recebe um grupo metil do N-5-metiltetrahidrofolato ou da betaína, sendo o primeiro processo dependente de vitamina B12 e folato como cofatores. Já na via de transulfuração, a Hcy condensa-se com serina para formação de cistationina, utilizando vitamina B6 como cofator (Hermann; Sitdikova, 2021a). Dessa forma, alterações genéticas ou deficiência nutricional de vitaminas envolvidas nessas vias podem comprometer o metabolismo da Hcy e levar ao aumento de suas concentrações plasmáticas (Clarke et al., 2010; Smith; Refsum, 2016; Wierzbicki, 2007) (Figura 1).

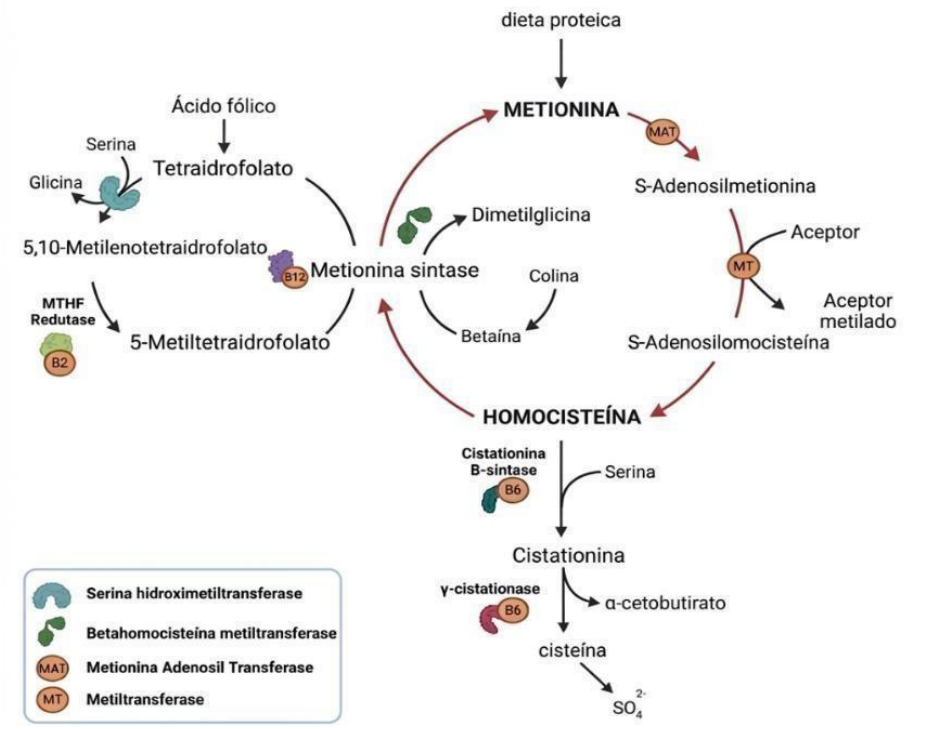


Figura 1: Rota metabólica de conversão da homocisteína
Fonte: Formulado no laboratório, adaptado de ((BLAISE et al., 2005))

1.2 Hiper-homocisteinemia: Influência do Envelhecimento e dos Dimorfismos Sexuais

Níveis plasmáticos elevados de Hcy caracterizam a condição denominada hiper-homocisteinemia (HHcy). Em condições fisiológicas, as concentrações plasmáticas de Hcy variam entre 4 e 15 µmol/L, enquanto valores entre 16 e 30 µmol/L já são classificados como HHcy leve (Gande et al., 2023). A condição também pode ser categorizada como moderada, quando os níveis plasmáticos situam-se entre 30 e 100 µmol/L, ou severa, quando superiores a 100 µmol/L (Maron; Loscalzo, 2009). Dentre essas classificações, a HHcy leve representa a forma mais prevalente na população geral e possui importante relevância clínica devido à sua associação com alterações cardiovasculares e metabólicas (Kalra, 2004; Paganelli et al., 2021a).

A HHcy apresenta prevalência estimada entre 5 e 7% na população geral, sendo mais frequentemente observada em indivíduos idosos ((Chmúrčiaková et al., 2026)Smith; Refsum, 2016). O envelhecimento está associado ao aumento progressivo das concentrações plasmáticas de Hcy, possivelmente em decorrência de alterações metabólicas, nutricionais e enzimáticas relacionadas às vias de remetilação e transulfuração (Bostom et al., 1999). Dessa forma, indivíduos idosos constituem um dos principais grupos de risco para o desenvolvimento da HHcy e de suas complicações associadas(Alkaissi; McFarlane, 2023).

Além da influência da idade, diferenças biológicas entre os sexos também podem modular os níveis plasmáticos de Hcy e os efeitos fisiopatológicos da HHcy (Rossokha et al., 2023). Estudos clínicos demonstram que homens geralmente apresentam concentrações plasmáticas mais elevadas de Hcy quando comparados às mulheres, sugerindo à HHcy maior risco cardiovascular no sexo masculino (Won et al., 2016; Zhao et al., 2021). Em contrapartida, o sexo feminino parece apresentar relativa proteção frente aos efeitos da HHcy, possivelmente em função da ação moduladora dos hormônios sexuais femininos sobre mecanismos oxidativos, inflamatórios e vasculares (Cheng et al., 2022), não obstante, pouco é compreendido quanto a estes mecanismos.

Nesse contexto, estudos desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa têm contribuído para a compreensão dos efeitos da HHcy sobre o sistema cardiovascular por meio da utilização de diferentes modelos animais experimentais. Trabalhos conduzidos em ratos Wistar jovens submetidos a modelos de HHcy moderada e severa demonstraram que a mesma está associada a importantes alterações oxidativas, nitrosativas e metabólicas no tecido cardíaco (Kolling et al., 2011a, 2014;

Longoni et al., 2017a). Além disso, foi observado que a HHcy pode modular parâmetros relacionados ao metabolismo energético e à integridade celular em diferentes tecidos, sugerindo o envolvimento de múltiplos mecanismos fisiopatológicos na toxicidade induzida pela Hcy (dos Santos et al., 2019; Ramires Junior et al., 2022). Adicionalmente, em ratos Wistar machos, submetidos à HHcy leve, foram observadas alterações moleculares e bioquímicas compatíveis com desregulação redox e inflamatória no coração, reforçando a relevância da HHcy leve no contexto do envelhecimento cardiovascular (Prauchner et al., 2024).

1.3 O Sistema Cardiovascular: estrutura e função

O sistema cardiovascular é composto pelo coração e pela rede vascular, estruturas que atuam de forma integrada para garantir a adequada circulação sanguínea e a manutenção da homeostase (Wuche, 2022). O coração é formado por cardiomiócitos organizados em fibras musculares estriadas altamente especializadas, contendo sarcômeros compostos por bandas Z e miofilamentos responsáveis pela contração cardíaca (Cury et al., 2013; Kiessling et al., 2025). Paralelamente, vasos de grande calibre, como a aorta, apresentam parede vascular rica em colágeno e elastina, componentes essenciais para a resistência, elasticidade e manutenção da hemodinâmica do sistema cardiovascular .

O sistema cardiovascular desempenha papel fundamental na manutenção da homeostase do organismo por meio da distribuição de oxigênio, nutrientes, hormônios e metabólitos aos diferentes tecidos (Lucero García Rojas; Villanueva; Bond, 2021). Além disso, participa ativamente da regulação hemodinâmica, do equilíbrio metabólico e da resposta adaptativa frente a diferentes estímulos fisiológicos e patológicos

(Lopaschuk et al., 2021a; Versari et al., 2009). Devido à elevada demanda energética e intensa atividade metabólica do tecido cardíaco, o coração apresenta elevada susceptibilidade a alterações oxidativas, inflamatórias e metabólicas ((Azan et al., 2026)Kolwicz; Purohit; Tian, 2013; Murphy; Hartley, 2018). Nesse contexto, a integridade funcional do endotélio vascular, o equilíbrio redox celular, a adequada sinalização inflamatória e a manutenção da arquitetura estrutural cardíaca são essenciais para a preservação da função cardiovascular (Wang et al., 2022).

Alterações nesses mecanismos oxidativos e inflamatórios têm sido amplamente associadas ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, incluindo aterosclerose, hipertensão arterial, trombose e insuficiência cardíaca (Libby, 2021). Paralelamente, processos de remodelamento cardíaco e vascular caracterizados por hipertrofia, alterações na matriz extracelular, deposição de colágeno e desorganização estrutural do tecido cardíaco também estão relacionados à progressão de danos cardiovasculares e ao comprometimento funcional do miocárdio (Frangogiannis, 2021; Travers et al., 2016). Entre os fatores de risco associados a essas alterações, a HHcy destaca-se como importante moduladora de processos oxidativos, inflamatórios, metabólicos e vasculares relacionados ao comprometimento cardiovascular (Smith; Refsum, 2021). (Figura 2).

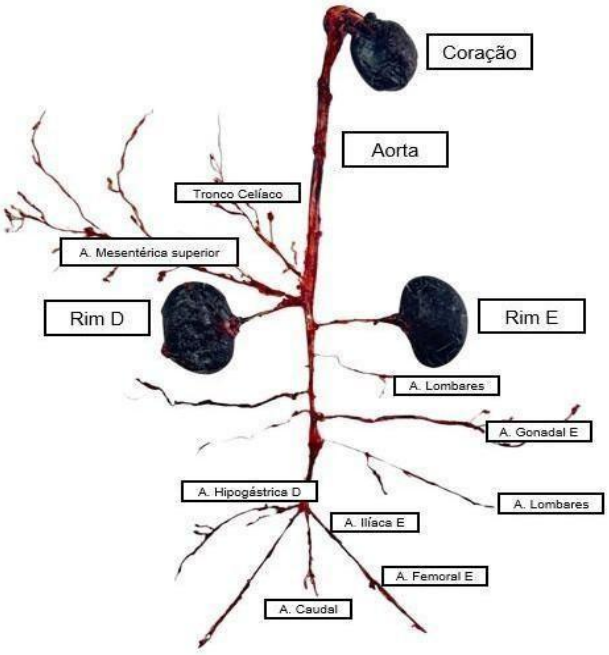


Figura 2: Sistema cardiovascular do rato Wistar, principais artérias, coração e rins destacados.
Fonte: Formulado no laboratório.

1.4 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo corresponde ao desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e a capacidade antioxidante celular, favorecendo danos oxidativos a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (Sies; Jones, 2020). As espécies reativas (ERs) podem ser definidas como moléculas instáveis com propriedades oxidantes, sendo essas produto natural da ação celular para realização de atividades biológicas necessárias a seu funcionamento (Sies et al., 2022).

As ERs podem incluir os radicais livres, definidos como átomos ou moléculas que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados em sua camada de valência, característica que lhes confere elevada reatividade química (Gutowski; Kowalczyk, 2013). As ERs são classificadas em espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), destacando-se entre as mais relevantes biologicamente

o radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$), o radical hidroxila (•OH), o óxido nítrico (•NO), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o peroxinitrito ($ONOO^-$) e o ácido hipocloroso (HOCl). Em condições fisiológicas, essas espécies participam de processos de sinalização celular; entretanto, quando produzidas em excesso, podem contribuir para danos oxidativos e disfunção celular (Brieger et al., 2012; Jomova et al., 2023).

A HHcy está intimamente relacionada ao aumento do estresse oxidativo devido à elevada reatividade química do grupamento tiol presente na molécula de Hcy (Jakubowski, 2024). A auto-oxidação da Hcy promove a formação de espécies reativas de oxigênio, incluindo ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila (Jacobsen, 2000). Além disso, a HHcy pode comprometer sistemas antioxidantes endógenos, incluindo as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx), contribuindo para o desequilíbrio redox celular (Kolling et al., 2011b; Longoni et al., 2017b; Saxena et al., 2022). Consequentemente, ocorre aumento da oxidação lipídica, alterações metabólicas, disfunção celular e comprometimento da integridade tecidual, fatores diretamente associados ao desenvolvimento e progressão de doenças cardiovasculares (Paganelli et al., 2021a; Tyagi et al., 2005).

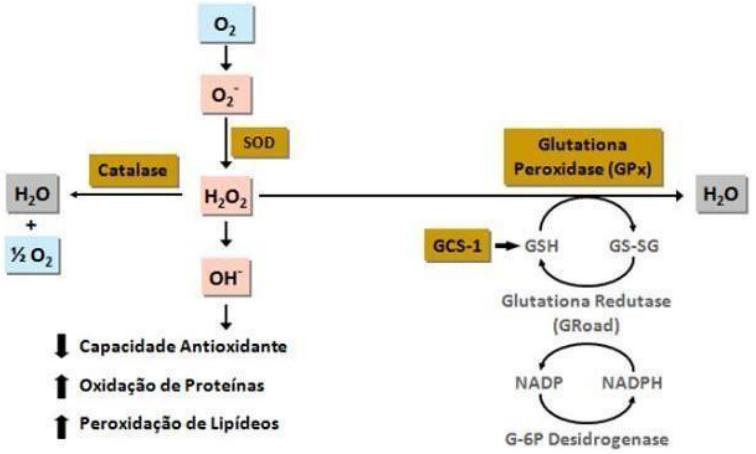


Figura 3: Esquema representativo das enzimas antioxidantes e conversão de espécies reativas de oxigênio.

Fonte: (Franciny Aparecida Paiva [s. d.], 2015).

Outro mecanismo importante associado à HHcy envolve a redução da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO), molécula essencial para a manutenção da homeostase vascular e da função endotelial (Higashi, 2022). O aumento na produção de espécies reativas favorece a formação de peroxinitrito (ONOO−), contribuindo para estresse nitrosativo, disfunção endotelial e alterações vasculares associadas ao comprometimento cardiovascular (Sies; Jones, 2020; Wang et al., 2022). Paralelamente, a HHcy pode modular vias de sinalização relacionadas à resposta antioxidante celular, incluindo mecanismos dependentes do fator de transcrição Nrf2 (Cao et al., 2021a).

O fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) desempenha papel central na regulação da resposta antioxidante celular, promovendo a transcrição de genes envolvidos na detoxificação celular, neutralização de espécies reativas e manutenção da homeostase redox (George et al., 2022; Saha et al., 2020; Ulasov et al., 2022; Zhang; Davies; Forman, 2015). Evidências demonstram que a HHcy pode comprometer a ativação dessa via, reduzindo mecanismos citoprotetores e

favorecendo danos oxidativos e inflamatórios em tecidos cardiovasculares (Cao et al., 2021b; Prauchner et al., 2024; Tan et al., 2013).

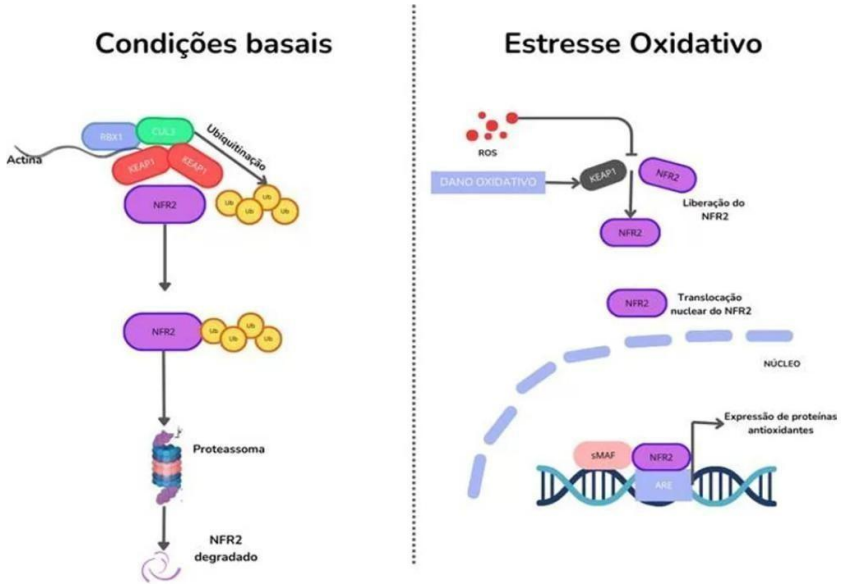


Figura 4: Representação esquemática da regulação da via NRF2/KEAP1
Fonte: Inácio Skraba Silva, et al. 2025.

1.5 Inflamação

A inflamação consiste em uma resposta biológica complexa desencadeada frente a estímulos lesivos, como dano tecidual, alterações metabólicas e desequilíbrio redox, tendo como objetivo a restauração da homeostase celular (Chen et al., 2017). Esse processo envolve a ativação coordenada de vias de sinalização intracelular, células inflamatórias e mediadores pró-inflamatórios, incluindo citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão (Rea et al., 2018; Singh et al., 2024). Embora essencial para mecanismos de defesa e reparo tecidual, a ativação inflamatória persistente pode contribuir para alterações estruturais e funcionais em diferentes tecidos,

especialmente no sistema cardiovascular, favorecendo disfunção endotelial, remodelamento vascular e progressão de doenças cardiovasculares (Kong et al., 2022; Wang et al., 2022).

Entre os principais reguladores da resposta inflamatória destaca-se o fator nuclear kappa B (NFκB), um fator de transcrição responsável pela modulação da expressão de diversos genes relacionados à inflamação, resposta imune, sobrevivência celular e remodelamento tecidual (Albensi, 2019; Liu et al., 2017). Em condições basais, o NFκB permanece inativo no citoplasma associado a proteínas inibitórias. Entretanto, estímulos como espécies reativas de oxigênio, citocinas inflamatórias e dano celular promovem sua ativação e translocação nuclear, favorecendo a expressão de mediadores pró-inflamatórios, como fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α), interleucina-1 beta (IL-1β) e interleucina-6 (IL-6) (Taniguchi; Karin, 2018; Yu et al., 2020).

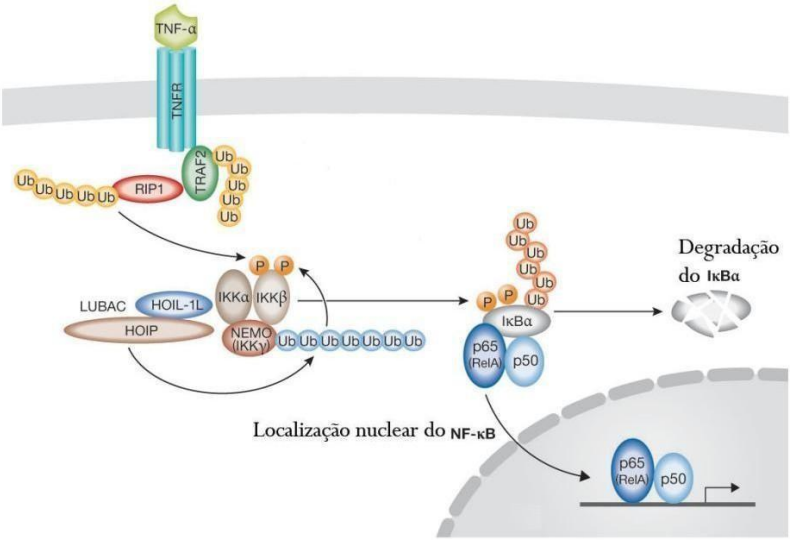


Figura 5: Via de ativação e translocação nuclear do fator de transcrição NFκB.
Fonte: Adaptado de Iwai et al, 2009.

Evidências demonstram que a HHcy está associada à ativação de vias inflamatórias relacionadas ao NFκB (Au-Yeung et al., 2004). O aumento dos níveis de

Hcy tem sido relacionado à intensificação da sinalização pró-inflamatória, favorecendo a formação de um microambiente inflamatório associado ao comprometimento cardiovascular (Smith; Refsum, 2021). Paralelamente, o aumento de citocinas inflamatórias e moléculas de adesão pode contribuir para alterações na função endotelial, recrutamento leucocitário e progressão do remodelamento cardiovascular (Gramignoli et al., 2022; Libby, 2021; Zhang; An, 2007).

1.6 Remodelamento e estrutura cardíaca

O remodelamento cardíaco corresponde a alterações estruturais, celulares e moleculares desencadeadas em resposta a estímulos fisiológicos ou patológicos, podendo comprometer a arquitetura e a função do miocárdio (Frangogiannis, 2021; Nakamura; Sadoshima, 2018). Esse processo envolve alterações em cardiomiócitos, matriz extracelular e componentes vasculares, sendo frequentemente associado ao desenvolvimento e progressão de doenças cardiovasculares (Lazaropoulos; Elrod, 2022).

A HHcy tem sido associada a mecanismos envolvidos no remodelamento cardiovascular, especialmente por meio da interação entre estresse oxidativo, inflamação e alterações da matriz extracelular (Paganelli et al., 2021b; Tyagi et al., 2005). Além disso, vias relacionadas à reorganização tecidual, integridade estrutural dos cardiomiócitos e dinâmica do colágeno parecem participar do comprometimento cardiovascular associado à HHcy (Ringström et al., 2023). Entre os principais mediadores envolvidos nesse processo destacam-se as metaloproteinases de matriz, especialmente a metaloproteinase-9 (MMP-9), enzimas responsáveis pela

degradação e remodelação da matriz extracelular e frequentemente relacionadas a alterações estruturais cardíacas e vasculares (Becirovic-Agic et al., 2021; Lindsey et al., 2016; Todorovic et al., 2021).

1.7 Perfil lipídico e Aminotransferases

O metabolismo lipídico exerce papel fundamental na manutenção da homeostase cardiovascular, participando de processos relacionados ao armazenamento energético, integridade de membranas celulares e sinalização metabólica (Lopaschuk et al., 2021a; Schulze; Drosatos; Goldberg, 2016). Alterações no perfil lipídico, especialmente envolvendo triglicerídeos e lipoproteínas aterogênicas, estão associadas ao desenvolvimento de disfunção endotelial, aterosclerose e aumento do risco cardiovascular (Borén et al., 2020; Mach et al., 2019). Paralelamente, marcadores bioquímicos como as aminotransferases aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) são amplamente utilizados na avaliação da integridade tecidual e do estado metabólico, especialmente hepático, complementando outras análises bioquímicas e podendo refletir alterações sistêmicas associadas ao comprometimento cardiovascular e metabólico (Kwo; Cohen; Lim, 2017; Ndrepepa, 2021).

Nesse contexto, HHcy tem sido associada a alterações no metabolismo lipídico e em parâmetros bioquímicos relacionados ao risco cardiovascular (Paganelli et al., 2021b). Evidências demonstram que a elevação dos níveis de Hcy pode estar relacionada ao aumento de triglicerídeos, lipoproteínas aterogênicas e índices cardiometabólicos associados à progressão de alterações vasculares e ateroscleróticas (Jakubowski; Witucki, 2025; Prasad, 2024). Além disso, modificações

nos níveis de AST e ALT têm sido descritas em condições de HHcy, indicando possíveis alterações metabólicas associadas ao comprometimento cardiovascular observado nessa condição (Ganguly; Alam, 2015).

1.8 Diferenças sexo-dependentes em ratos Wistar

Diferenças sexuais exercem importante influência sobre a fisiologia cardiovascular e sobre a susceptibilidade ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Mauvais-Jarvis et al., 2020). Essas diferenças envolvem mecanismos hemodinâmicos, metabólicos, hormonais e moleculares capazes de modular a resposta cardíaca frente a estímulos patológicos (Steiner; Berry, 2022; Xiao; Liu, 2024). Nesse contexto, evidências demonstram que machos e fêmeas podem apresentar respostas distintas relacionadas ao estresse oxidativo, inflamação, remodelamento cardíaco e metabolismo lipídico (Campos et al., 2014; Mohamad; Ima-Nirwana; Chin, 2020).

No contexto da HHcy, diferenças sexo-dependentes também têm sido descritas e parecem estar associadas, em parte, aos efeitos dos hormônios sexuais femininos, especialmente do estrogênio (Qi et al., 2017; Visniauskas et al., 2023a). O estrogênio exerce efeitos vasoprotetores e cardioprotetores por meio da modulação da função endotelial, aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico e regulação de mecanismos antioxidantes e anti-inflamatórios (Visniauskas et al., 2023b). Além disso, esse hormônio pode influenciar enzimas relacionadas ao metabolismo da homocisteína, contribuindo para menores concentrações plasmáticas de Hcy em fêmeas quando comparadas aos machos (Costanzo et al., 2022; Kim; Frederik

Nijhout; Reed, 2021). Paralelamente, o estrogênio também parece atuar sobre processos relacionados ao remodelamento cardiovascular, incluindo dinâmica da matriz extracelular e deposição de colágeno (Gouva; Tsatsoulis, 2004; Visniauskas et al., 2023b).

1.9 Sinvastatina e ácido fólico como estratégias protetoras/reversoras

Há uma expansão no uso de estatinas, especialmente entre populações idosas (Han et al., 2017), no controle de eventos cardiovasculares (Mangione et al., 2022), configurando-se como uma das classes de fármacos mais utilizada no mundo. Dessa forma, a sinvastatina, um dos principais representantes dessa classe, atua como inibidora da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, enzima limitante da biossíntese de colesterol. Como consequência, promove a redução da síntese hepática de colesterol, o aumento da expressão de receptores de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e a maior remoção dessas partículas da circulação, contribuindo para a diminuição dos níveis plasmáticos de colesterol total e LDL-colesterol. Assim, a sinvastatina desempenha papel fundamental na regulação do metabolismo lipídico e na redução do risco cardiovascular (Collins et al., 2002; Mangione et al., 2022).

Para além desta função regulatória, a sinvastatina já foi destacada como importante modulador do estresse oxidativo (Mansouri et al., 2022). Nesse quesito, estudos demonstram que a sinvastatina pode atuar atenuando a formação de espécies reativas de oxigênio (EROS) (Moon et al., 2011), mitigando o dano endotelial associado à HHcy leve, e assim, ao reduzir a oxidação de lipídios e a inflamação

vascular, configura-se como um possível protetor nas complicações cardiovasculares relacionadas a níveis elevados de Hcy (Oesterle; Laufs; Liao, 2017).

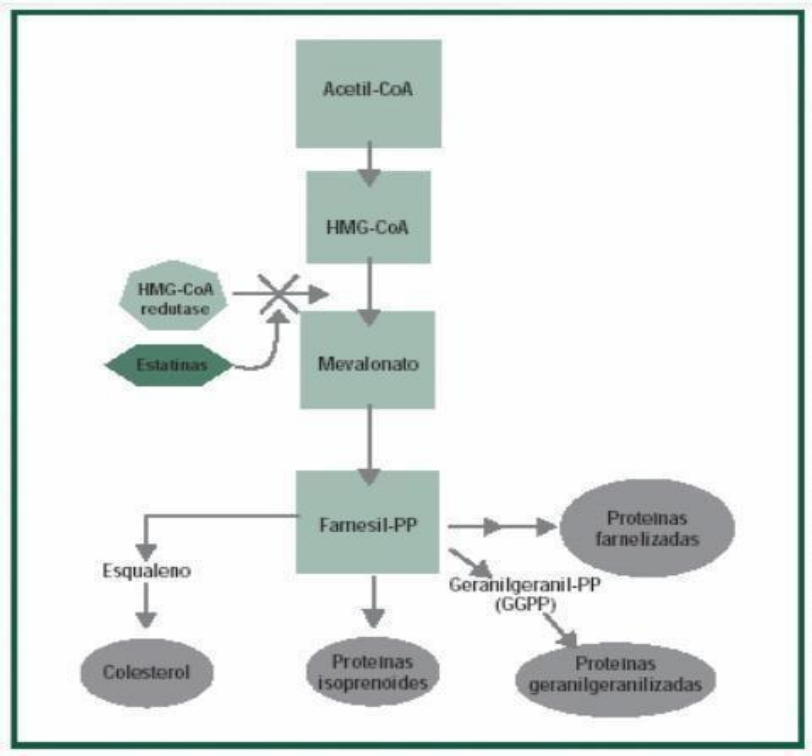


Figura 6: Representação esquemática dos principais mecanismos de ação das estatinas.
Fonte: Andréia Assis Loures-Vale e Tânia Leme da Rocha Martinez. 2026.

Paralelamente, o ácido fólico atua como um cofator essencial nas reações de remetilação da Hcy a metionina, sendo fundamental para a manutenção da homeostase da Hcy (Shulpekova et al., 2021; Stanger, 2002). A deficiência de ácido fólico, dessa forma, está diretamente associada ao aumento dos níveis plasmáticos de Hcy, que, por sua vez, está implicada em processos patológicos como a aterosclerose e a disfunção endotelial (Kolling et al., 2011c; Taira; Ogi, 2020). O ácido fólico é essencial para a atividade das enzimas metiltransferases, que são responsáveis pela doação de grupos metila, essenciais para a síntese de metionina e

para a manutenção da integridade do DNA (Li et al., 2016; Olaso-Gonzalez et al., 2022; Wang et al., 2017).

Assim, a presença do ácido fólico pode contribuir para a redução no estresse oxidativo através do aumento da capacidade antioxidante total e da redução da formação de EROs, contribuindo a redução dos danos celulares associados à HHcy no sistema cardiovascular (Asbaghi et al., 2021a; Zhao et al., 2023a). Portanto, a utilização do ácido fólico e/ou da sinvastatina pode representar uma potencial estratégia para atenuar alterações cardiovasculares e metabólicas induzidas pela HHcy durante o envelhecimento, em razão de seus efeitos sobre o metabolismo da homocisteína, o estresse oxidativo, a inflamação e a função vascular.

2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

Diversos estudos experimentais e epidemiológicos demonstram que a HHcy está associada a alterações oxidativas, inflamatórias, metabólicas e vasculares relacionadas ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e ao remodelamento cardíaco. Entretanto, apesar da relevância clínica da HHcy, pouco é compreendido sobre a influência do dimorfismo sexual sobre essas alterações, especialmente no envelhecimento. Além disso, a investigação de estratégias capazes de atenuar os efeitos deletérios da HHcy apresenta importante interesse experimental e clínico, destacando-se o ácido fólico, devido à sua participação no metabolismo da Hcy, e a sinvastatina, em função de seus efeitos pleiotrópicos cardiovasculares. Dessa forma, hipotetiza-se que a HHcy leve crônica induza alterações cardiovasculares, cardiometabólicas, oxidativas, inflamatórias e estruturais em ratos Wistar

envelhecidos de maneira sexo-dependente, e que o tratamento com ácido fólico e/ou sinvastatina sejam capaz de atenuar parcialmente esses efeitos deletérios.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da HHcy leve crônica sobre parâmetros cardiovasculares, cardiometabólicos, oxidativos, inflamatórios e estruturais em coração e/ou soro de ratos Wistar envelhecidos machos e fêmeas, bem como investigar o potencial efeito protetor do ácido fólico e da sinvastatina frente às alterações induzidas pela HHcy.

3.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos dessa dissertação foram divididos em dois (2) capítulos, os quais correspondem a 2 artigos científicos, respectivamente:

3.2.1 Capítulo 1. *Ex vivo*

Avaliação dos efeitos do ácido fólico e da sinvastatina frente às alterações oxidativas e inflamatórias induzidas previamente pela HHcy leve crônica em fatias cardíacas de ratos Wistar machos e fêmeas envelhecidos.

a. Avaliação dos efeitos da HHcy leve crônica sobre parâmetros de estresse oxidativo em tecido cardíaco, incluindo: níveis de DCF, níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conteúdo de sulfidrilas e níveis de nitritos;

b. Avaliação de parâmetros antioxidantes através da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx);

c. Avaliação do conteúdo proteico citosólico e nuclear do fator de transcrição para defesas antioxidantes NRF2 em tecido cardíaco por meio da técnica de western blotting, bem como da expressão do gene que codifica para a proteína, Nfe2l2, via RT-qPCR;

d. Avaliação do conteúdo proteico citosólico e nuclear do fator de transcrição pró-inflamatório NFκB em tecido cardíaco por meio da técnica de Western blotting, bem como da expressão do gene que codifica para a subunidade p65 da proteína, RELA, via RT-qPCR;

e. Avaliação da expressão gênica das citocinas pró-inflamatórias IL-1α, IL-1β e IL-6, bem como da citocina anti-inflamatória IL-10, em tecido cardíaco via RT-qPCR;

f. Investigação de diferenças sexo-dependentes nas alterações oxidativas e inflamatórias induzidas pela HHcy leve crônica, bem como dos efeitos do ácido fólico e da sinvastatina sobre estes parâmetros.

3.2.2 Capítulo 2. *In vivo*

Avaliação das alterações cardiovasculares, cardiometabólicas e estruturais induzidas pela HHcy leve crônica em coração e/ou soro de ratos Wistar machos e fêmeas envelhecidos.

a. Avaliação de alterações histológicas cardíacas via Hematoxilina e Eosina, incluindo também área total de colágeno via Picro-Sirius;

b. Avaliação de alterações ultra estruturais qualitativas em tecido cardíaco por microscopia eletrônica de transmissão, incluindo análise do retículo sarcoplasmático, depósitos de glicogênio e junções celulares;

c. Avaliação da expressão gênica da metaloproteinase de matriz-9 (MMP-9) em tecido cardíaco por meio da técnica de RT-qPCR;

d. Avaliação de parâmetros cardiometabólicos e bioquímicos em soro, incluindo perfil lipídico, índices aterogênicos, níveis de DCF, atividade da butirilcolinesterase (BuChE) e níveis séricos de AST e ALT;

e. Avaliação de parâmetros relacionados à adiposidade corporal, incluindo quantificação dos depósitos de gordura mesentérica, gonadal e retroperitoneal, bem como análise morfométrica do coração em ratos submetidos à HHcy leve crônica.

f. Avaliação do ciclo estral das ratas fêmeas através de esfregaço vaginal e análise citológica para determinação das fases do ciclo estral.

g. Investigação de diferenças sexo-dependentes nas alterações cardiovasculares, estruturais, séricas e morfométricas induzidas pela HHcy leve crônica;

4. METODOLOGIA E RESULTADOS

A metodologia e os resultados deste trabalho são apresentados na forma de dois capítulos estruturados como artigos científicos. O capítulo 1 aborda os efeitos do ácido fólico e da sinvastatina sobre alterações oxidativas e inflamatórias cardíacas induzidas pela HHcy leve crônica em ratos Wistar envelhecidos machos e fêmeas. O capítulo 2 contempla a avaliação de alterações cardiovasculares, cardiometabólicas e estruturais associadas à HHcy leve crônica em ratos Wistar envelhecidos, com enfoque em parâmetros histológicos, ultraestruturais, morfométricos e bioquímicos.

Os artigos apresentam como base os modelos experimentais descritos abaixo.

4.1 Metodologia Capítulo 1 (*ex vivo*)

Ratos Wistar envelhecidos machos e fêmeas, com 365 dias de idade, provenientes do Biotério Central do Departamento de Bioquímica, foram mantidos sob condições controladas de temperatura (22 ± 2 ºC) e ciclo claro/escuro de 12 h durante todo o período experimental. Os animais foram submetidos ao protocolo de indução de HHcy leve crônica por meio da administração subcutânea de DL-homocisteína, na dose de 0,03 µmol/g de peso corporal, em duas aplicações diárias com intervalo de 12 h, durante 30 dias consecutivos (Scherer, et al. 2011). Os animais do grupo controle receberam volumes equivalentes de solução salina (Figura 7).

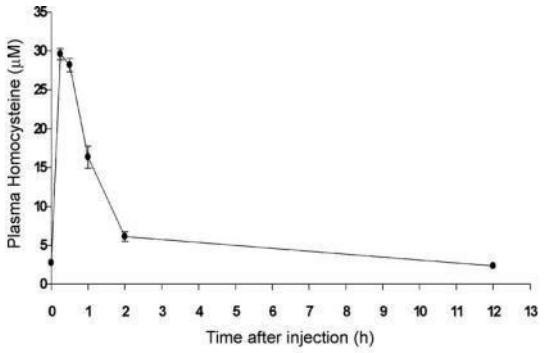


Fig. 1. Homocysteine plasma levels. Homocysteine was administered to rats of 60 days of age and the blood was collected at 0, 15, 30, 60, 120 min and 12 h after injection. Data are expressed as means ± S.D. for 3–4 animals per group.

Plasma homocysteine levels after chronic administration.

Group	Plasma homocysteine levels (μM)
Saline	3.0 ± 0.25
Hcy – 15 min	34.8 ± 0.94
Hcy – 30 min	31.7 ± 0.15
Hcy – 60 min	19.3 ± 3.01
Hcy – 12 h	3.93 ± 1.88

Note: Hcy was administered from the 30th to the 60th day of life. Control rats received saline solution in the same volumes. The blood was collected 15, 30, 60 min and 12 h after the last injection. Data are expressed as mean ± S.D. for 3–4 rats in each group.

Figura 7: Modelo quimicamente induzido de HHcy leve.

Fonte: Scherer, et al. 2011.

Doze horas após a última administração, os animais foram decapitados e os corações rapidamente removidos e seccionados em fatias de 300 μm utilizando equipamento McIlwain Tissue Chopper (Mickle Laboratory Engineering Co. Ltd., UK). As fatias cardíacas foram incubadas em meio Krebs para recuperação tecidual, com troca periódica do meio, e posteriormente submetidas aos tratamentos experimentais ex vivo com ácido fólico (100 μM) ou sinvastatina nas concentrações de 10 μM e 30 μM. Foi incluído também um grupo veículo contendo etanol em concentração equivalente à utilizada nos grupos tratados com sinvastatina. Após as incubações, os tecidos foram armazenados a −80 ºC para posteriores análises bioquímicas e moleculares.

O protocolo foi composto, ao todo, por 20 grupos experimentais, sendo 10 grupos machos e 10 grupos fêmeas. Para cada sexo, os animais foram inicialmente divididos em grupos controle ou HHcy e posteriormente distribuídos entre as diferentes condições experimentais: Krebs, veículo, ácido fólico, sinvastatina 10 μM e sinvastatina 30 μM (Figura 8).

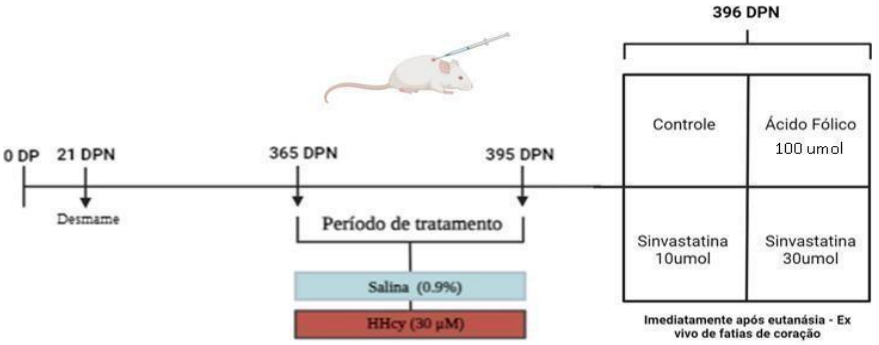


Figura 8: Modelo experimental representativo (Ex vivo)
Fonte: Formulado no laboratório

4.2 Metodologia Capítulo 2 (*in vivo*)

Ratos Wistar envelhecidos machos e fêmeas, com 365 dias de idade, foram mantidos sob condições controladas de temperatura e ciclo claro/escuro durante todo o período experimental. Os animais foram submetidos ao protocolo de indução de HHcy leve crônica por meio da administração subcutânea de DL-homocisteína, na dose de 0,03 µmol/g de peso corporal, em duas aplicações diárias com intervalo de 12 h, durante 30 dias consecutivos (Scherer, et al. 2011) (Figura 7). Os animais do grupo controle receberam volumes equivalentes de solução salina. Doze horas após a última administração, os animais foram eutanasiados para coleta de sangue, coração, depósitos adiposos e tíbia.

Nas fêmeas, o ciclo estral foi monitorado diariamente durante o período experimental por meio de citologia vaginal, permitindo a determinação das diferentes fases do ciclo estral. Após a eutanásia, os corações foram removidos, pesados e submetidos à análise morfométrica, utilizando o comprimento da tíbia como parâmetro

para normalização. Paralelamente, os depósitos adiposos mesentérico, gonadal e retroperitoneal foram dissecados e quantificados (Figura 9).

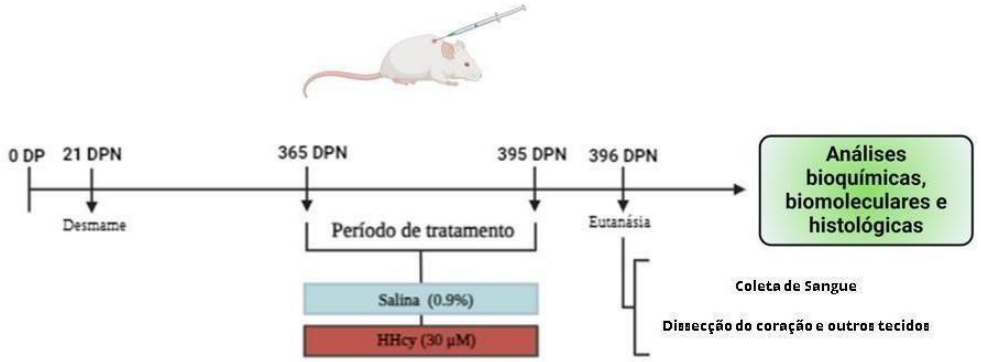


Figura 9: Modelo experimental representativo (In vivo)
Fonte: Formulado no laboratório

4.3 Resultados Capítulo 1 (*ex vivo*)


Contents lists available at ScienceDirect

Biochemical Pharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/biochempharm

Sex-specific mitigation of oxidative and inflammatory cardiac alterations by folic acid and simvastatin in chronic mild hyperhomocysteinemia

Gustavo Ricardo Krupp Prauchner, Alessandra Schmitt Rieder, Laura Teixeira da Rosa, Nicole Soares Lima, Lucas Scherer Louzada, Augusto Bergozza Bonatto, Victor Camaratta Dossin Bastos, Angela T.S. Wyse *

Periódico: *Biochemical Pharmacology*

Status: *Publicado, dezembro de 2025*

DOI: *doi.org/10.1016/j.bcp.2025.117622*

Fator de impacto: *5.6 (2026), Qualis CAPES A1*

4.4 Resultados Capítulo 2 (*in vivo*)

Homocysteine Induces Sex-Dependent Cardiometabolic alterations and Cardiac Remodeling in Aged Rats Through Structural Changes and MMP-9 Modulation

Gustavo Ricardo Krupp Prauchner[1], Guilherme Carvalho Serena[1], Lucas Scherer Louzada[1], Bruno Alonso Estivallet[1], Victor Camaratta Dossin Basto[1], Nicole Soares Lima[1], Laura Teixeira da Rosa[1], Saulo Petinatti Pavarini[2] and Angela T.S. Wyse[1]*

1. Laboratory of Neuroprotection and Neurometabolic Diseases (Wyse´Lab), Department of Biochemistry, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2600-Anexo, 90035-003, Porto Alegre RS, Brazil

2. Laboratory of Veterinary Pathology, Department of Veterinary Pathology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre RS, RS, Brazil

*Address reprint request to: Dr. Angela T.S. Wyse, Laboratory of Neuroprotection and Neurometabolic Diseases, Wyse´Lab, Biochemistry Department, ICBS, UFRGS, Rua Ramiro Barcelos, 2600-Anexo, CEP 90035-003, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: wyse@ufrgs.br

Declaration of interest: none

Periódico: Atherosclerosis

Status: Submetido

Fator de impacto: 5.7

5. DISCUSSÃO

A HHcy é reconhecida como um importante fator de risco independente para doenças cardiovasculares, estando associada a alterações oxidativas, inflamatórias, metabólicas e estruturais que contribuem para o comprometimento cardíaco e vascular (Hermann; Sitdikova, 2021b; Kaplan et al., 2020; Smith; Refsum, 2021). Além disso, o envelhecimento representa uma condição de maior susceptibilidade ao dano cardiovascular, em virtude de alterações da capacidade antioxidante, alterações metabólicas e maior vulnerabilidade do tecido cardíaco ao estresse celular (Anisimova et al., 2018; Li et al., 2023; Pagan et al., 2022; Singh et al., 2024). Nesse contexto, o presente trabalho investigou os efeitos da HHcy leve crônica em ratos Wistar envelhecidos machos e fêmeas, bem como os possíveis efeitos protetores do ácido fólico e da sinvastatina sobre parâmetros cardiovasculares, oxidativos, inflamatórios, cardiometabólicos e estruturais.

No capítulo 1, foram investigados os efeitos ex vivo do ácido fólico e da sinvastatina sobre alterações oxidativas e inflamatórias induzidas pela HHcy em coração de ratos Wistar envelhecidos. Em machos, a HHcy promoveu aumento dos níveis de DCF e TBARS, acompanhado por alterações nas enzimas antioxidantes, incluindo aumento da atividade da CAT. Esses achados corroboram evidências de que a Hcy favorece a formação de espécies reativas por mecanismos envolvendo auto-oxidação do grupamento tiol (Jacobsen, 2000; Perna; Ingrosso; De Santo, 2003), ativação de NADPH oxidase e disfunção mitocondrial, contribuindo para um estado pró-oxidativo no tecido cardiovascular (Tyagi et al., 2005; Yuan et al., 2023). Em fêmeas, a resposta oxidativa foi menos pronunciada, sendo observada principalmente redução da atividade da GPx e dos níveis de nitrito, sugerindo possível participação

de mecanismos sexo-dependentes associados à modulação hormonal da homeostase redox (Qi et al., 2017; Won et al., 2016).

O tratamento com ácido fólico reduziu níveis de DCF e TBARS, além de modular parcialmente alterações observadas nas enzimas antioxidantes. Esses efeitos podem estar relacionados não apenas à participação do ácido fólico no metabolismo da Hcy, mas também à sua capacidade de reduzir espécies retivas associadas à HHcy e preservar o equilíbrio redox celular (Asbaghi et al., 2021a; Joshi et al., 2001; Taira; Ogi, 2020; Zhao et al., 2023b).Paralelamente, a sinvastatina apresentou efeito antioxidante mais amplo, reduzindo parâmetros pró-oxidativos e aumentando atividades de SOD, CAT e GPx, especialmente na dose de 10 μM. Esses achados estão de acordo com evidências de que estatinas podem modular vias redox por mecanismos pleiotrópicos independentes da redução de colesterol, incluindo inibição da ativação de NADPH oxidase e melhora da sinalização relacionada ao óxido nítrico (Di Napoli et al., 2001; Moon et al., 2011; Verma et al., 2022).

Além das alterações oxidativas, a HHcy modulou importantes vias relacionadas à resposta antioxidante e inflamatória. Em machos, observou-se redução do conteúdo nuclear de NRF2 e aumento do conteúdo citosólico de NFκB p65, acompanhado por aumento da expressão gênica de IL-1α, IL-1β e IL-6 e redução de IL-10, caracterizando um perfil pró-inflamatório. Esses resultados sugerem que a HHcy compromete mecanismos adaptativos antioxidantes (Cao et al., 2021a; Prauchner et al., 2024; Tan et al., 2013) e favorece ativação inflamatória de baixa intensidade no tecido cardíaco (Da Cunha et al., 2012; Ramires Junior et al., 2022). Em fêmeas, as alterações inflamatórias foram menos pronunciadas, sem alterações detectáveis no conteúdo de NFκB, o que pode estar relacionado aos efeitos anti-

inflamatórios e antioxidantes do estrogênio sobre essas vias de sinalização (Dhyani et al., 2025; Mauvais-Jarvis et al., 2020; Visniauskas et al., 2023a).

Tanto o ácido fólico quanto a sinvastatina atenuaram parcialmente alterações inflamatórias induzidas pela HHcy. Em machos, a sinvastatina restaurou IL-10 e reduziu citocinas pró-inflamatórias, enquanto o ácido fólico modulou parcialmente marcadores relacionados à resposta inflamatória. Em fêmeas, ambos os tratamentos reduziram IL-6 e restauraram IL-10. Além disso, os tratamentos restauraram parcialmente alterações relacionadas ao NRF2, sugerindo participação da modulação do eixo NRF2/NFκB nos efeitos observados (Asbaghi et al., 2021b; Jang et al., 2016; Zhang et al., 2019). Em conjunto, os resultados demonstram que a HHcy leve crônica induz importante resposta oxidativa e inflamatória em coração de ratos envelhecidos, de maneira sexo-dependente, enquanto ácido fólico e sinvastatina apresentam potencial modulador sobre parte dessas alterações.

No capítulo 2, a HHcy promoveu alterações cardiovasculares, cardiometabólicas e estruturais de maneira sexo-dependente em ratos Wistar envelhecidos. Em machos tratados com Hcy, observou-se aumento da massa cardíaca relativa ao comprimento da tíbia, acompanhado por aumento da área total de colágeno e da expressão gênica de MMP-9, sugerindo perfil de remodelamento cardíaco fibrótico (Becirovic-Agic et al., 2021). Esses achados corroboram evidências de que a HHcy favorece remodelamento da matriz extracelular e fibrose cardíaca por mecanismos associados ao estresse oxidativo e inflamação (Lv et al., 2021; Shi et al., 2021). Em contrapartida, fêmeas tratadas com Hcy apresentaram aumento de necrose cardiomiocitária e redução da área de colágeno cardíaco, sugerindo resposta estrutural distinta frente ao dano induzido pela HHcy.

As análises ultraestruturais evidenciaram alterações qualitativas predominantemente em machos tratados, incluindo dilatação do retículo sarcoplasmático, acúmulo aparente de glicogênio e descontinuidades em junções celulares. Essas alterações sugerem comprometimento da homeostase intracelular, do metabolismo energético e do acoplamento mecânico entre cardiomiócitos, fatores essenciais para a manutenção da função cardíaca (Lopaschuk et al., 2021b; Nielsen et al., 2023). A dilatação do retículo sarcoplasmático pode estar relacionada a distúrbios no manejo intracelular de cálcio e estresse celular induzido pela HHcy, enquanto o aumento dos depósitos de glicogênio sugere remodelamento metabólico associado à alteração do metabolismo energético cardíaco (Dridi et al., 2020; Hamilton et al., 2021; Zima; Blatter, 2006).

Além das alterações estruturais, a HHcy promoveu importante comprometimento cardiometabólico. Em machos tratados, observou-se aumento de TG, VLDL e índice aterogênico plasmático, enquanto em fêmeas houve aumento do índice de Castelli I. Esses achados reforçam evidências de que a HHcy está associada à disfunção metabólica e ao aumento do risco cardiovascular por meio de alterações em lipoproteínas aterogênicas e processos relacionados à aterosclerose (Cueto et al., 2024; Jakubowski; Witucki, 2025; Sreckovic et al., 2017). Paralelamente, machos tratados apresentaram redução da atividade sérica da BuChE e aumento de AST (Karatas et al., 2023; Stefanello et al., 2003; Sun et al., 2024), enquanto em fêmeas observou-se aumento de ALT e da atividade da BuChE (Alcântara et al., 2002; Furtado-Alle et al., 2023), sugerindo respostas metabólicas e sistêmicas distintas entre os sexos frente à HHcy.

Alterações sexo-dependentes também foram observadas nos depósitos adiposos. Fêmeas tratadas com Hcy apresentaram aumento das gorduras gonadal e mesentérica, enquanto em machos foi observada redução do índice de gordura mesentérica. O aumento da adiposidade visceral em fêmeas pode contribuir para a amplificação de alterações inflamatórias e metabólicas associadas ao risco cardiovascular, considerando o importante papel endócrino do tecido adiposo na produção de mediadores inflamatórios e na regulação metabólica (Frasca; Blomberg, 2016; Kawai; Autieri; Scalia, 2021; Longo et al., 2019).

O tecido adiposo visceral atua como um órgão imunometabólico ativo, sendo fonte de adipocinas e citocinas pró-inflamatórias, como TNF-α, IL-6 e MCP-1, que promovem recrutamento de macrófagos e perpetuação de um estado inflamatório crônico de baixo grau (Kawai et al., 2021). Esse ambiente inflamatório favorece disfunção endotelial, aumento do estresse oxidativo e resistência à insulina, contribuindo para a progressão de alterações cardiometabólicas. Adicionalmente, o desequilíbrio entre adipocinas anti-inflamatórias, como adiponectina, e mediadores pró-inflamatórios reforça a ativação de vias como NFκB e reduz a sinalização protetora associada ao eixo NRF2, estabelecendo um vínculo direto entre adiposidade visceral, inflamação sistêmica e remodelamento cardiovascular (Olefsky & Glass, 2010; Pan et al., 2023).

Em conjunto, na presente dissertação, a HHcy leve crônica está associada a uma miríade de alterações cardiovasculares que envolvem desbalanço redox, ativação inflamatória, disfunção metabólica e remodelamento estrutural do miocárdio, com respostas marcadamente dependentes do sexo biológico.

Em machos, os resultados do capítulo 1 demonstram redução do conteúdo de NRF2 e aumento do conteúdo citosólico de NFκB p65, acompanhado por elevação de citocinas pró-inflamatórias e redução de mediadores anti-inflamatórios. Esse perfil indica comprometimento dos mecanismos endógenos de defesa antioxidante e

favorecimento de uma resposta inflamatória sustentada (Ulasov et al., 2022). A redução de NRF2 sugere menor capacidade de manutenção da homeostase redox, o que pode contribuir para a persistência da ativação de NFκB e para a amplificação de vias pró-inflamatórias associadas ao dano tecidual (Gao et al., 2022).

Esse padrão molecular se reflete diretamente nos achados estruturais do capítulo 2, nos quais machos apresentam remodelamento cardíaco caracterizado por aumento da deposição de colágeno, maior expressão de MMP-9 e alterações ultraestruturais compatíveis com desorganização celular e comprometimento da integridade miocárdica. Nesse contexto, o eixo NRF2/NFκB pode ser interpretado como elemento central na transição entre o desequilíbrio redox-inflamatório e o remodelamento estrutural observado (Cuadrado et al., 2018; Hao et al., 2022), uma vez que a redução da resposta antioxidante favorece a manutenção de sinais inflamatórios e a ativação de vias envolvidas na reorganização da matriz extracelular (Chen, 2021).

Adicionalmente, os machos também apresentaram alterações cardiometabólicas, incluindo alterações no perfil lipídico caracterizadas por aumento de triglicerídeos e VLDL, além de elevação de marcadores aterogênicos, sugerindo que o desbalanço redox-inflamatório se estende ao metabolismo sistêmico (Zhou et al., 2022). As alterações ultraestruturais observadas, como dilatação do retículo sarcoplasmático e acúmulo de glicogênio, podem ser interpretadas como consequência funcional desse ambiente celular alterado, refletindo comprometimento integrado da homeostase de cálcio e do metabolismo energético (Hamilton et al., 2021; Hamilton; Terentyev, 2022).

Em fêmeas, o capítulo 1 evidenciou manutenção do conteúdo de NFκB e alterações menos pronunciadas no conteúdo de NRF2, sugerindo preservação relativa dos mecanismos de controle redox-inflamatório frente à HHcy. Esse perfil pode estar associado à modulação hormonal da resposta ao estresse oxidativo e inflamatório,

limitando a amplificação das vias pró-inflamatórias observadas em machos (Guajardo-Correa et al., 2022; Qian et al., 2021).

Essas diferenças moleculares se refletem nos desfechos estruturais do capítulo 2, nos quais fêmeas apresentam padrão distinto de remodelamento cardíaco, caracterizado por maior grau de necrose cardiomiocitária e redução relativa da deposição de colágeno. Esse comportamento sugere uma resposta de dano tecidual menos orientada ao reparo fibrótico, indicando diferenças na regulação das vias de remodelamento da matriz extracelular em comparação aos machos (Peter et al., 2021; Singh et al., 2019; Watts; Richardson, 2021).

Nesse contexto, os efeitos observados com o ácido fólico e a sinvastatina no Capítulo 1 contribuem para a compreensão dos desfechos estruturais descritos no Capítulo 2. A modulação do estresse oxidativo, associada à atenuação parcial das alterações nos níveis de NRF2 e NFκB, sugere que ambos os tratamentos interferem no ambiente redox-inflamatório induzido pela HHcy (Prauchner et al., 2024), podendo influenciar os processos de remodelamento cardíaco. A sinvastatina parece exercer efeitos mais abrangentes sobre vias oxidativas e inflamatórias, em concordância com suas propriedades pleiotrópicas (De Jesus Oliveira et al., 2020; Zhang et al., 2019; Zheng; Hu, 2006), enquanto o ácido fólico atua por meio da redução dos níveis de homocisteína bem como da atenuação do estresse oxidativo via redução de EROs (Asbaghi et al., 2021b; Feng et al., 2011; Li et al., 2016).

Tomados em conjunto, os resultados do presente trabalho demonstram que a hiper-homocisteinemia leve crônica promove importantes alterações oxidativas, inflamatórias, cardiometabólicas e estruturais em ratos Wistar envelhecidos, apresentando diferenças sexo-dependentes relevantes. Além disso, os achados reforçam o potencial modulador do ácido fólico e da sinvastatina sobre parte das alterações induzidas pela HHcy, especialmente em parâmetros relacionados ao estresse oxidativo e inflamação cardíaca. Esses resultados contribuem para melhor

compreensão dos mecanismos envolvidos no comprometimento cardiovascular associado à HHcy e reforçam a importância de estudos envolvendo envelhecimento, dimorfismo sexual e estratégias terapêuticas voltadas à prevenção de danos cardiovasculares.

6. CONCLUSÃO

Os resultados da presente dissertação demonstram que a hiper-homocisteinemia (HHcy) leve crônica promove importantes alterações cardiovasculares em ratos Wistar envelhecidos, envolvendo mecanismos oxidativos, inflamatórios, cardiometabólicos e estruturais de maneira sexo-dependente.

Nos machos, a HHcy induziu desbalanço redox e ativação inflamatória associados à redução de NRF2, acompanhados por remodelamento cardíaco caracterizado por aumento da massa cardíaca relativa, deposição de colágeno, expressão de MMP-9 e alterações ultraestruturais em cardiomiócitos, sugerindo um perfil predominantemente fibrótico. Nas fêmeas, o padrão de resposta foi distinto, com menor ativação inflamatória, aumento da necrose cardiomiocitária e redução da deposição de colágeno cardíaco, indicando diferenças nos mecanismos de remodelamento e reparo tecidual.

Além disso, ácido fólico e sinvastatina atenuaram parcialmente as alterações oxidativas e inflamatórias induzidas pela HHcy, reforçando a participação do eixo NRF2/NFκB nos efeitos observados.

Em conjunto, os achados demonstram que a HHcy leve crônica promove remodelamento cardiovascular durante o envelhecimento por mecanismos dependentes do sexo biológico, resultando em fenótipos cardíacos distintos entre machos e fêmeas. Dessa forma, esta dissertação contribui para a compreensão dos mecanismos envolvidos no remodelamento cardiovascular sexo-dependente associado à hiper-homocisteinemia leve e de potenciais estratégias para sua modulação.

7. PERSPECTIVAS

a. Avaliação de parâmetros adicionais relacionados ao dano oxidativo e celular, incluindo dano ao DNA por meio do ensaio Cometa;

b. Investigação de mecanismos relacionados à função endotelial e remodelamento vascular induzidos pela HHcy, incluindo ICAM-1, VCAM-1 e integridade vascular;

c. Avaliação de proteínas antioxidantes, citoprotetoras e relacionadas ao estresse do retículo endoplasmático, incluindo HO-1 e CHOP;

d. Avaliação de parâmetros cardiovasculares funcionais, incluindo pressão arterial, eletrocardiograma e análises ecocardiográficas;

e. Investigação de vias relacionadas ao remodelamento cardíaco, fibrose e matriz extracelular, incluindo colágeno I e III, MMP-9 e outras metaloproteinases;

f. Avaliação de parâmetros relacionados à função mitocondrial e metabolismo energético cardíaco, incluindo dinâmica mitocondrial, biogênese e mitofagia;

g. Investigação de mecanismos sexo-dependentes associados às alterações cardiovasculares, metabólicas e inflamatórias induzidas pela HHcy durante o envelhecimento;

h. Avaliação dos efeitos da sinvastatina sobre parâmetros oxidativos, inflamatórios, metabólicos e vasculares alterados pela HHcy em organismos envelhecidos.

8. APOIO FINANCEIRO

Este estudo contou com apoio financeiro do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Saúde Cerebral (INCT-Saúde Cerebral - CNPq [#406020/2022–1], Brasil) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por meio de bolsa de mestrado concedida, destinada ao desenvolvimento das atividades experimentais e científicas relacionadas ao presente trabalho.

9. REFERÊNCIAS

ALBENSI, B. C. What is nuclear factor kappa B (NF-κB) doing in and to the mitochondrion?. **Frontiers in Cell and Developmental Biology***, [s. l.], vol. 7, nº JULY, p. 470308, 2019. Disponível em: Acesso em: 10 set. 2023.*

ALCÂNTARA, V. M. et al. Butyrylcholinesterase activity and risk factors for coronary artery disease. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation***, [s. l.], vol. 62, nº 5, p. 399–404, 2002. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12387587/. Acesso em: 9 set. 2023.*

ALKAISSI, H.; MCFARLANE, S. I. Hyperhomocysteinemia and Accelerated Aging: The Pathogenic Role of Increased Homocysteine in Atherosclerosis, Osteoporosis, and Neurodegeneration. **Cureus***, [s. l.], vol. 15, nº 7, p. e42259, 2023. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10440097/. Acesso em: 28 maio 2026.*

ANISIMOVA, A. S. et al. Protein synthesis and quality control in aging. **Aging***, [s. l.], vol. 10, nº 12, p. 4269–4288, 2018. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30562164/. Acesso em: 16 jan. 2024.*

ASBAGHI, O. et al. Effects of Folic Acid Supplementation on Oxidative Stress Markers: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Antioxidants***, [s. l.], vol. 10, nº 6, p. 871, 2021a. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8230016/. Acesso em: 15 jul. 2025.*

ASBAGHI, O. et al. Effects of Folic Acid Supplementation on Oxidative Stress Markers: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Antioxidants***, [s. l.], vol. 10, nº 6, 2021b. Disponível em: /pmc/articles/PMC8230016/. Acesso em: 24 jul. 2024.*

AU-YEUNG, K. K. W. et al. Hyperhomocysteinemia Activates Nuclear Factor-κB in Endothelial Cells via Oxidative Stress. **Circulation Research***, [s. l.], vol. 94, nº 1, p. 28–36, 2004. Disponível em: https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.RES.0000108264.67601.2C. Acesso em: 14 jul. 2024.*

BECIROVIC-AGIC, M. et al. Infarct in the Heart: What's MMP-9 Got to Do with It? **Biomolecules***, [s. l.], vol. 11, nº 4, p. 491, 2021. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8064345/. Acesso em: 17 abr. 2026.*

BORÉN, J. et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. **European heart journal***, [s. l.], vol. 41, nº 24, p. 2313–2330, 2020. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32052833/. Acesso em: 31 maio 2026.*

BOSTOM, A. G. et al. Nonfasting plasma total homocysteine levels and all-cause and cardiovascular disease mortality in elderly Framingham men and women. **Archives of Internal Medicine***, [s. l.], vol. 159, nº 10, p. 1077–1080, 1999. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

BRIEGER, K. et al. Reactive oxygen species: From health to disease. **Swiss Medical Weekly***, [s. l.], vol. 142, 2012. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

CAMPOS, C. et al. Efficacy of a Low Dose of Estrogen on Antioxidant Defenses and Heart Rate Variability. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity***, [s. l.], vol. 2014, nº 1, p. 218749, 2014. Disponível em: /doi/pdf/10.1155/2014/218749. Acesso em: 31 jul. 2025.*

CAO, P. et al. Hyperhomocysteinemia-induced Nrf2/HO-1 pathway suppression aggravates cardiac remodeling of hypertensive rats. **Biochemical and Biophysical Research Communications***, [s. l.], vol. 547, p. 125–130, 2021a. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33610040/. Acesso em: 15 jul. 2025.*

CAO, P. et al. Hyperhomocysteinemia-induced Nrf2/HO-1 pathway suppression aggravates cardiac remodeling of hypertensive rats. **Biochemical and Biophysical Research Communications***, [s. l.], vol. 547, p. 125–130, 2021b. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33610040/. Acesso em: 4 abr. 2026.*

CHEN, L. et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. **Oncotarget***, [s. l.], vol. 9, nº 6, p. 7204, 2017. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5805548/. Acesso em: 31 maio 2026.*

CHEN, Q. M. Nrf2 for cardiac protection: pharmacological options against oxidative stress. **Trends in pharmacological sciences***, [s. l.], vol. 42, nº 9, p. 729, 2021. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8785681/. Acesso em: 31 maio 2026.*

CHENG, M. et al. Prevalence of hyperhomocysteinemia (HHcy) and its major determinants among hypertensive patients over 35 years of age. **European journal of clinical nutrition***, [s. l.], vol. 76, nº 4, p. 616–623, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34462555/. Acesso em: 16 mar. 2023.*

CLARKE, R. et al. Effects of lowering homocysteine levels with B vitamins on cardiovascular disease, cancer, and cause-specific mortality: Meta-analysis of 8 randomized trials involving 37 485 individuals. **Archives of Internal Medicine***, [s. l.], vol. 170, nº 18, p. 1622–1631, 2010. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

COLLINS, R. et al. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. **Lancet (London, England)***, [s. l.], vol. 360, nº 9326, p. 7–22, 2002. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12114036/. Acesso em: 15 jul. 2024.*

COSTANZO, M. et al. Sex differences in the human metabolome. **Biology of Sex Differences 2022 13:1***, [s. l.], vol. 13, nº 1, p. 30-, 2022. Disponível em:*

https://link.springer.com/article/10.1186/s13293-022-00440-4. Acesso em: 31 maio 2026.

CUADRADO, A. et al. Transcription factor NRF2 as a therapeutic target for chronic diseases: A systems medicine approach. **Pharmacological Reviews***, [s. l.], vol. 70, nº 2, p. 348–383, 2018. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29507103/. Acesso em: 31 maio 2026.*

CUETO, R. et al. SAH is a major metabolic sensor mediating worsening metabolic crosstalk in metabolic syndrome. **Redox Biology***, [s. l.], vol. 73, p. 103139, 2024. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231724001150. Acesso em: 6 abr. 2026.*

CURY, D. P. et al. Morphometric, quantitative, and three-dimensional analysis of the heart muscle fibers of old rats: transmission electron microscopy and high-resolution scanning electron microscopy methods. **Microscopy research and technique***, [s. l.], vol. 76, nº 2, p. 184–195, 2013. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23180425/. Acesso em: 28 maio 2026.*

DA CUNHA, A. A. et al. Chronic hyperhomocysteinemia increases inflammatory markers in hippocampus and serum of rats. **Neurochemical research***, [s. l.], vol. 37, nº 8, p. 1660–1669, 2012. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22484967/. Acesso em: 28 maio 2026.*

DE JESUS OLIVEIRA, F. M. et al. Simvastatin Posttreatment Controls Inflammation and Improves Bacterial Clearance in Experimental Sepsis. **Mediators of Inflammation***, [s. l.], vol. 2020, nº 1, p. 1839762, 2020. Disponível em: /doi/pdf/10.1155/2020/1839762. Acesso em: 31 jul. 2025.*

DHYANI, N. et al. Sex differences and the role of endothelial Nrf2 in the modulation of blood pressure and vascular reactivity. **Physiology***, [s. l.], vol. 40, nº S1, 2025. Disponível em:*

https://journals.physiology.org/doi/10.1152/physiol.2025.40.S1.0643. Acesso em: 31 jul. 2025.

DI NAPOLI, P. et al. Simvastatin reduces reperfusion injury by modulating nitric oxide synthase expression: an ex vivo study in isolated working rat hearts. **Cardiovascular Research***, [s. l.], vol. 51, nº 2, p. 283–293, 2001. Disponível em: https://dx.doi.org/10.1016/S0008-6363(01)00306-6. Acesso em: 31 jul. 2025.*

DOS SANTOS, T. M. et al. Chronic mild Hyperhomocysteinemia impairs energy metabolism, promotes DNA damage and induces a Nrf2 response to oxidative stress in rats brain. **Cellular and molecular neurobiology***, [s. l.], vol. 39, nº 5, p. 687–700, 2019. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30949917/. Acesso em: 28 maio 2026.*

DRIDI, H. et al. Intracellular calcium leak: a unifying mechanism and therapeutic target for heart failure and atrial fibrillation. **Nature reviews. Cardiology***, [s. l.], vol. 17, nº 11, p. 732, 2020. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8362847/. Acesso em: 31 maio 2026.*

FENG, D. et al. Folic acid inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages by suppressing MAPKs and NF-κB activation. **Inflammation Research***, [s. l.], vol. 60, nº 9, p. 817–822, 2011. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s00011-011-0337-2. Acesso em: 27 ago. 2025.*

FRANGOGIANNIS, N. G. Cardiac fibrosis. **Cardiovascular research***, [s. l.], vol. 117, nº 6, p. 1450–1488, 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33135058/. Acesso em: 31 maio 2026.*

FRASCA, D.; BLOMBERG, B. B. Inflammaging decreases adaptive and innate immune responses in mice and humans. **Biogerontology***, [s. l.], vol. 17, nº 1, p. 7–*

19, 2016. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25921609/. Acesso em: 31 maio 2026.

FURTADO-ALLE, L. et al. Butyrylcholinesterase and lipid metabolism: Possible dual role in metabolic disorders. **Chemico-Biological Interactions***, [s. l.], vol. 383, 2023. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37634560/. Acesso em: 6 abr. 2026.*

GANDE, N. et al. Plasma homocysteine levels and associated factors in community-dwelling adolescents: the EVA-TYROL study. **Frontiers in Cardiovascular Medicine***, [s. l.], vol. 10, p. 1140990, 2023. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10327549/. Acesso em: 28 maio 2026.*

GANGULY, P.; ALAM, S. F. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. **Nutrition Journal***, [s. l.], vol. 14, nº 1, p. 6, 2015. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4326479/. Acesso em: 31 maio 2026.*

GAO, W. et al. Dissecting the Crosstalk Between Nrf2 and NF-κB Response Pathways in Drug-Induced Toxicity. **Frontiers in cell and developmental biology***, [s. l.], vol. 9, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35186957/. Acesso em: 31 maio 2026.*

GEORGE, M. et al. Role of Nrf2 in aging, Alzheimer's and other neurodegenerative diseases. **Ageing Research Reviews***, [s. l.], vol. 82, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36243357/. Acesso em: 15 jul. 2025.*

GOUVA, L.; TSATSOULIS, A. The role of estrogens in cardiovascular disease in the aftermath of clinical trials. **Hormones (Athens, Greece)***, [s. l.], vol. 3, nº 3, p. 171–183, 2004. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16982590/. Acesso em: 31 maio 2026.*

GRAMIGNOLI, R. et al. Effects of Pro-Inflammatory Cytokines on Hepatic Metabolism in Primary Human Hepatocytes. **International Journal of Molecular**

Sciences, *[s. l.], vol. 23, nº 23, p. 14880, 2022. Disponível em: /pmc/articles/PMC9740548/. Acesso em: 15 jul. 2024.*

GUAJARDO-CORREA, E. et al. Estrogen signaling as a bridge between the nucleus and mitochondria in cardiovascular diseases. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, *[s. l.], vol. 10, p. 968373, 2022. Disponível em: Acesso em: 31 maio 2026.*

GUTOWSKI, M.; KOWALCZYK, S. A study of free radical chemistry: Their role and pathophysiological significance. **Acta Biochimica Polonica**, *[s. l.], vol. 60, nº 1, p. 1–16, 2013. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

HAMILTON, S. et al. Sarcoplasmic reticulum-mitochondria communication; implications for cardiac arrhythmia. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, *[s. l.], vol. 156, p. 105–113, 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33857485/. Acesso em: 31 maio 2026.*

HAMILTON, S.; TERENTYEV, D. ER stress and calcium-dependent arrhythmias. **Frontiers in physiology**, *[s. l.], vol. 13, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36425292/. Acesso em: 31 maio 2026.*

HAN, B. H. et al. Effect of Statin Treatment vs Usual Care on Primary Cardiovascular Prevention Among Older Adults: The ALLHAT-LLT Randomized Clinical Trial. **JAMA internal medicine**, *[s. l.], vol. 177, nº 7, p. 955–965, 2017. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28531241/. Acesso em: 15 jul. 2024.*

HAO, W. et al. Roles of NRF2 in Fibrotic Diseases: From Mechanisms to Therapeutic Approaches. **Frontiers in physiology**, *[s. l.], vol. 13, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35721561/. Acesso em: 31 maio 2026.*

HERMANN, A.; SITDIKOVA, G. Homocysteine: Biochemistry, molecular biology and role in disease. **Biomolecules***, [s. l.], vol. 11, nº 5, 2021a. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34063494/. Acesso em: 15 jul. 2025.*

HERMANN, A.; SITDIKOVA, G. Homocysteine: Biochemistry, Molecular Biology and Role in Disease. **Biomolecules 2021, Vol. 11,** *[s. l.], vol. 11, nº 5, 2021b. Disponível em: https://www.mdpi.com/2218-273X/11/5/737. Acesso em: 16 mar. 2026.*

HIGASHI, Y. Roles of Oxidative Stress and Inflammation in Vascular Endothelial Dysfunction-Related Disease. **Antioxidants (Basel, Switzerland)***, [s. l.], vol. 11, nº 10, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36290681/. Acesso em: 31 maio 2026.*

JACOBSEN, D. W. Hyperhomocysteinemia and oxidative stress: time for a reality check?. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology***, [s. l.], vol. 20, nº 5, p. 1182–1184, 2000. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10807730/. Acesso em: 30 mar. 2024.*

JAKUBOWSKI, H. The Molecular Bases of Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Properties of Paraoxonase 1. **Antioxidants***, [s. l.], vol. 13, nº 11, p. 1292, 2024. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11591180/. Acesso em: 6 abr. 2026.*

JAKUBOWSKI, H.; WITUCKI, Ł. Homocysteine Metabolites, Endothelial Dysfunction, and Cardiovascular Disease. **International Journal of Molecular Sciences 2025, Vol. 26,** *[s. l.], vol. 26, nº 2, 2025. Disponível em: https://www.mdpi.com/1422-0067/26/2/746. Acesso em: 31 maio 2026.*

JANG, H. J. et al. Simvastatin induces heme oxygenase-1 via NF-E2-related factor 2 (Nrf2) activation through ERK and PI3K/Akt pathway in colon cancer. **Oncotarget***, [s. l.], vol. 7, nº 29, p. 46219–46229, 2016. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27323826/. Acesso em: 15 jul. 2025.*

JOMOVA, K. et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. **Archives of toxicology**, *[s. l.], vol. 97, nº 10, p. 2499–2574, 2023. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37597078/. Acesso em: 31 maio 2026.*

JOSHI, R. et al. Free radical scavenging behavior of folic acid: Evidence for possible antioxidant activity. **Free Radical Biology and Medicine**, *[s. l.], vol. 30, nº 12, p. 1390–1399, 2001. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11390184/. Acesso em: 20 jul. 2025.*

KALRA, D. K. Homocysteine and cardiovascular disease. **Current atherosclerosis reports**, *[s. l.], vol. 6, nº 2, p. 101–106, 2004. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15023293/. Acesso em: 16 mar. 2023.*

KAPLAN, P. et al. Homocysteine and mitochondria in cardiovascular and cerebrovascular systems. **International Journal of Molecular Sciences**, *[s. l.], vol. 21, nº 20, p. 1–19, 2020. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

KARATAS, M. et al. High AST/ALT Ratio Is Associated with Cardiac Involvement in Acute COVID-19 Patients. **Medicina (Kaunas, Lithuania)**, *[s. l.], vol. 59, nº 6, 2023. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37374367/. Acesso em: 17 abr. 2026.*

KATKO, M. et al. Homocysteine metabolism in peripheral blood mononuclear cells: Evidence for cystathionine beta-synthase activity in resting state. **Amino Acids**, *[s. l.], vol. 43, nº 1, p. 317–326, 2012. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

KAWAI, T.; AUTIERI, M. V.; SCALIA, R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. **American journal of physiology. Cell physiology**, *[s. l.], vol. 320, nº 3, p. C375–C391, 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33356944/. Acesso em: 31 maio 2026.*

KIESSLING, M. et al. A transmission electron microscopy platform for assessing mitochondrial and nuclear architecture in cardiomyocytes. **Cell Reports Methods**, *[s. l.], vol. 5, nº 11, 2025. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41161319/. Acesso em: 28 maio 2026.*

KIM, R.; FREDERIK NIJHOUT, H.; REED, M. C. One-carbon metabolism during the menstrual cycle and pregnancy. **PLoS computational biology**, *[s. l.], vol. 17, nº 12, 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34914693/. Acesso em: 31 maio 2026.*

KOLLING, J. et al. Creatine prevents the imbalance of redox homeostasis caused by homocysteine in skeletal muscle of rats. **Gene**, *[s. l.], vol. 545, nº 1, p. 72–79, 2014. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24797612/. Acesso em: 22 jul. 2025.*

KOLLING, J. et al. Homocysteine induces oxidative-nitrative stress in heart of rats: prevention by folic acid. **Cardiovascular toxicology**, *[s. l.], vol. 11, nº 1, p. 67–73, 2011a. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21076891/. Acesso em: 28 maio 2026.*

KOLLING, J. et al. Homocysteine induces oxidative-nitrative stress in heart of rats: prevention by folic acid. **Cardiovascular toxicology**, *[s. l.], vol. 11, nº 1, p. 67–73, 2011b. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21076891/. Acesso em: 11 set. 2023.*

KOLLING, J. et al. Homocysteine induces oxidative-nitrative stress in heart of rats: Prevention by folic acid. **Cardiovascular Toxicology**, *[s. l.], vol. 11, nº 1, p. 67–73, 2011c. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21076891/. Acesso em: 22 jul. 2025.*

KOLWICZ, S. C.; PUROHIT, S.; TIAN, R. Cardiac metabolism and its interactions with contraction, growth, and survival of cardiomyocytes. **Circulation**

research, *[s. l.], vol. 113, nº 5, p. 603–616, 2013. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23948585/. Acesso em: 31 maio 2026.*

KONG, P. et al. Inflammation and atherosclerosis: signaling pathways and therapeutic intervention. **Signal Transduction and Targeted Therapy 2022 7:1**, *[s. l.], vol. 7, nº 1, p. 1–24, 2022. Disponível em: https://www.nature.com/articles/s41392-022-00955-7. Acesso em: 14 jul. 2024.*

KWO, P. Y.; COHEN, S. M.; LIM, J. K. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. **The American journal of gastroenterology**, *[s. l.], vol. 112, nº 1, p. 18–35, 2017. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27995906/. Acesso em: 31 maio 2026.*

LAZAROPOULOS, M. P.; ELROD, J. W. Mitochondria in Pathological Cardiac Remodeling. **Current opinion in physiology**, *[s. l.], vol. 25, p. 100489, 2022. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8903307/. Acesso em: 31 maio 2026.*

LI, Y. et al. Folic Acid Supplementation and the Risk of Cardiovascular Diseases: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Journal of the American Heart Association**, *[s. l.], vol. 5, nº 8, 2016. Disponível em: https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/JAHA.116.003768. Acesso em: 15 jul. 2024.*

LI, X. et al. Inflammation and aging: signaling pathways and intervention therapies. **Signal Transduction and Targeted Therapy 2023 8:1**, *[s. l.], vol. 8, nº 1, p. 1–29, 2023. Disponível em: https://www.nature.com/articles/s41392-023-01502-8. Acesso em: 15 jul. 2024.*

LIBBY, P. The changing landscape of atherosclerosis. **Nature**, *[s. l.], vol. 592, nº 7855, p. 524–533, 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33883728/. Acesso em: 31 maio 2026.*

LINDSEY, M. L. et al. Matrix metalloproteinases as input and output signals for post-myocardial infarction remodeling. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology***, [s. l.], vol. 91, p. 134–140, 2016. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26721597/. Acesso em: 17 abr. 2026.*

LIU, T. et al. NF-κB signaling in inflammation. **Signal Transduction and Targeted Therapy 2017 2:1***, [s. l.], vol. 2, nº 1, p. 1–9, 2017. Disponível em: https://www.nature.com/articles/sigtrans201723. Acesso em: 14 jul. 2024.*

LONGO, M. et al. Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. **International journal of molecular sciences***, [s. l.], vol. 20, nº 9, 2019. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31085992/. Acesso em: 31 maio 2026.*

LONGONI, A. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 prevents deleterious effects of homocysteine on mitochondrial function and redox status in heart slices. **Nutrition Research***, [s. l.], vol. 38, p. 52–63, 2017a. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28381354/. Acesso em: 28 maio 2026.*

LONGONI, A. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 prevents deleterious effects of homocysteine on mitochondrial function and redox status in heart slices. **Nutrition Research***, [s. l.], vol. 38, p. 52–63, 2017b. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

LOPASCHUK, G. D. et al. Cardiac Energy Metabolism in Heart Failure. **Circulation Research***, [s. l.], vol. 128, nº 10, p. 1487–1513, 2021a. Disponível em: /doi/pdf/10.1161/CIRCRESAHA.121.318241?download=true. Acesso em: 31 maio 2026.*

LOPASCHUK, G. D. et al. Cardiac Energy Metabolism in Heart Failure. **Circulation research***, [s. l.], vol. 128, nº 10, p. 1487–1513, 2021b. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33983836/. Acesso em: 31 maio 2026.*

LUCERO GARCÍA ROJAS, E. Y.; VILLANUEVA, C.; BOND, R. A. Hypoxia Inducible Factors as Central Players in the Pathogenesis and Pathophysiology of Cardiovascular Diseases. **Frontiers in Cardiovascular Medicine***, [s. l.], vol. 8, p. 709509, 2021. Disponível em: www.frontiersin.org. Acesso em: 31 maio 2026.*

LV, D. et al. Plasma Levels of Homocysteine is Associated with Liver Fibrosis in Health Check-Up Population. **International Journal of General Medicine***, [s. l.], vol. 14, p. 5175, 2021. Disponível em: /pmc/articles/PMC8423488/. Acesso em: 18 mar. 2024.*

MACH, F. et al. 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. **Atherosclerosis***, [s. l.], vol. 290, nº 1, p. 140–205, 2019. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31504418/. Acesso em: 31 maio 2026.*

MANGIONE, C. M. et al. Statin Use for the Primary Prevention of Cardiovascular Disease in Adults: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. **JAMA***, [s. l.], vol. 328, nº 8, p. 746–753, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35997723/. Acesso em: 15 jul. 2024.*

MANSOURI, A. et al. Antioxidant Effects of Statins by Modulating Nrf2 and Nrf2/HO-1 Signaling in Different Diseases. **Journal of Clinical Medicine 2022, Vol. 11, Page 1313***, [s. l.], vol. 11, nº 5, p. 1313, 2022. Disponível em: https://www.mdpi.com/2077-0383/11/5/1313/htm. Acesso em: 15 jul. 2024.*

MARON, B. A.; LOSCALZO, J. The treatment of hyperhomocysteinemia. **Annual Review of Medicine***, [s. l.], vol. 60, p. 39–54, 2009. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

MAUVAIS-JARVIS, F. et al. Sex and gender: modifiers of health, disease, and medicine. **The Lancet***, [s. l.], vol. 396, nº 10250, p. 565–582, 2020. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32828189/. Acesso em: 31 maio 2026.*

MOHAMAD, N.-V.; IMA-NIRWANA, S.; CHIN, K.-Y. Are Oxidative Stress and Inflammation Mediators of Bone Loss Due to Estrogen Deficiency? A Review of Current Evidence. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets***, [s. l.], vol. 20, nº 9, p. 1478, 2020. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8383467/. Acesso em: 31 jul. 2025.*

MOON, H. J. et al. Simvastatin inhibits osteoclast differentiation by scavenging reactive oxygen species. **Experimental & Molecular Medicine 2011 43:11***, [s. l.], vol. 43, nº 11, p. 605–612, 2011. Disponível em: https://www.nature.com/articles/emm201169. Acesso em: 15 jul. 2024.*

MURPHY, M. P.; HARTLEY, R. C. Mitochondria as a therapeutic target for common pathologies. **Nature reviews. Drug discovery***, [s. l.], vol. 17, nº 12, p. 865–886, 2018. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30393373/. Acesso em: 31 maio 2026.*

NAKAMURA, M.; SADOSHIMA, J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy. **Nature reviews. Cardiology***, [s. l.], vol. 15, nº 7, p. 387–407, 2018. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29674714/. Acesso em: 31 maio 2026.*

NDREPEPA, G. Aspartate aminotransferase and cardiovascular disease—a narrative review. **Journal of Laboratory and Precision Medicine***, [s. l.], vol. 6, nº 0, 2021. Disponível em: https://jlpm.amegroups.org/article/view/5898/html. Acesso em: 31 maio 2026.*

NIELSEN, M. S. et al. The intercalated disc: a unique organelle for electromechanical synchrony in cardiomyocytes. **Physiological reviews***, [s. l.], vol. 103, nº 3, p. 2271–2319, 2023. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36731030/. Acesso em: 31 maio 2026.*

OESTERLE, A.; LAUFS, U.; LIAO, J. K. Pleiotropic Effects of Statins on the Cardiovascular System. **Circulation research***, [s. l.], vol. 120, nº 1, p. 229–243, 2017. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28057795/. Acesso em: 31 maio 2026.*

OLASO-GONZALEZ, G. et al. Impact of supplementation with vitamins B6 , B12 , and/or folic acid on the reduction of homocysteine levels in patients with mild cognitive impairment: A systematic review. **IUBMB life***, [s. l.], vol. 74, nº 1, p. 74–84, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34058062/. Acesso em: 16 jan. 2024.*

PAGAN, L. U. et al. The Role of Oxidative Stress in the Aging Heart. **Antioxidants 2022, Vol. 11,** *[s. l.], vol. 11, nº 2, 2022. Disponível em: https://www.mdpi.com/2076-3921/11/2/336. Acesso em: 31 maio 2026.*

PAGANELLI, F. et al. Hyperhomocysteinemia and Cardiovascular Disease: Is the Adenosinergic System the Missing Link?. **International Journal of Molecular Sciences***, [s. l.], vol. 22, nº 4, p. 1690, 2021a. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7914561/. Acesso em: 28 maio 2026.*

PAGANELLI, F. et al. Hyperhomocysteinemia and Cardiovascular Disease: Is the Adenosinergic System the Missing Link?. **International Journal of Molecular Sciences***, [s. l.], vol. 22, nº 4, p. 1–20, 2021b. Disponível em: /pmc/articles/PMC7914561/. Acesso em: 14 jul. 2024.*

PERNA, A. F.; INGROSSO, D.; DE SANTO, N. G. Homocysteine and oxidative stress. **Amino Acids***, [s. l.], vol. 25, nº 3–4, p. 409–417, 2003. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

PETER, A. K. et al. Cardiac Fibroblasts Mediate a Sexually Dimorphic Fibrotic Response to β-Adrenergic Stimulation. **Journal of the American Heart Association***,*

[s. l.], vol. 10, nº 11, 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33998248/. Acesso em: 31 maio 2026.

PRASAD, K. Atherogenic Effect of Homocysteine, a Biomarker of Inflammation and Its Treatment. **The International journal of angiology : official publication of the International College of Angiology, Inc***, [s. l.], vol. 33, nº 4, p. 262–270, 2024. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39502352/. Acesso em: 31 maio 2026.*

PRAUCHNER, G. R. K. et al. Mild hyperhomocysteinemia alters oxidative stress profile via Nrf2, inflammation and cholinesterases in cardiovascular system of aged male rats. **Chemico-biological interactions***, [s. l.], vol. 396, 2024. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38729282/. Acesso em: 15 jul. 2024.*

QI, X. et al. Hyperhomocysteinemia Promotes Insulin Resistance and Adipose Tissue Inflammation in PCOS Mice Through Modulating M2 Macrophage Polarization via Estrogen Suppression. **Endocrinology***, [s. l.], vol. 158, nº 5, p. 1181–1193, 2017. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28323956/. Acesso em: 4 abr. 2026.*

QIAN, X. et al. Estradiol Valerate Enhances Cardiac Function via the Nrf2 Signaling Pathway to Protect Against Oxidative Stress by the Nrf2 Signaling Pathway in an Ovariectomized Rat Model. **Current pharmaceutical design***, [s. l.], vol. 27, nº 46, p. 4716–4725, 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34579626/. Acesso em: 31 maio 2026.*

RAMIRES JUNIOR, O. V. et al. Rivastigmine Reverses the Decrease in Synapsin and Memory Caused by Homocysteine: Is There Relation to Inflammation?. **Molecular neurobiology***, [s. l.], vol. 59, nº 7, p. 4517–4534, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35578101/. Acesso em: 28 maio 2026.*

REA, I. M. et al. Age and Age-Related Diseases: Role of Inflammation Triggers and Cytokines. **Frontiers in immunology***, [s. l.], vol. 9, nº APR, 2018. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29686666/. Acesso em: 31 maio 2026.*

RINGSTRÖM, N. et al. Framing Heartaches: The Cardiac ECM and the Effects of Age. **International journal of molecular sciences***, [s. l.], vol. 24, nº 5, 2023. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36902143/. Acesso em: 31 maio 2026.*

ROSSOKHA, Z. et al. Hyperhomocysteinemia in men and women of married couples with reproductive disorders. What is the difference?. **Systems Biology in Reproductive Medicine***, [s. l.], vol. 69, nº 1, p. 75–85, 2023. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/19396368.2022.2124896. Acesso em: 28 maio 2026.*

SAHA, S. et al. An Overview of Nrf2 Signaling Pathway and Its Role in Inflammation. **Molecules (Basel, Switzerland)***, [s. l.], vol. 25, nº 22, 2020. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33238435/. Acesso em: 11 mar. 2023.*

SAXENA, P. et al. Superoxide dismutase as multipotent therapeutic antioxidant enzyme: Role in human diseases. **Biotechnology Letters***, [s. l.], vol. 44, nº 1, 2022. Disponível em: Acesso em: 16 mar. 2023.*

SCHULZE, P. C.; DROSATOS, K.; GOLDBERG, I. J. Lipid Use and Misuse by the Heart. **Circulation research***, [s. l.], vol. 118, nº 11, p. 1736, 2016. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5340419/. Acesso em: 31 maio 2026.*

SHEN, W. et al. Homocysteine-methionine cycle is a metabolic sensor system controlling methylation-regulated pathological signaling. **Redox biology***, [s. l.], vol. 28, 2020. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31605963/. Acesso em: 16 mar. 2023.*

SHI, Y. et al. Homocysteine promotes cardiac fibrosis by regulating the Akt/FoxO3 pathway. **Annals of translational medicine***, [s. l.], vol. 9, nº 23, p. 1732–*

1732, 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35071426/. Acesso em: 6 abr. 2026.

SHULPEKOVA, Y. et al. The concept of folic acid in health and disease. **Molecules***, [s. l.], vol. 26, nº 12, 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34207319/. Acesso em: 15 jul. 2025.*

SIES, H. et al. Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. **Nature reviews. Molecular cell biology***, [s. l.], vol. 23, nº 7, p. 499–515, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35190722/. Acesso em: 31 maio 2026.*

SIES, H.; JONES, D. P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. **Nature reviews. Molecular cell biology***, [s. l.], vol. 21, nº 7, p. 363–383, 2020. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32231263/. Acesso em: 31 maio 2026.*

SINGH, A. et al. Aging and Inflammation. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine***, [s. l.], vol. 14, nº 6, 2024. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38052484/. Acesso em: 15 jul. 2025.*

SINGH, A. et al. Sex differences in left ventricular remodelling, myocardial fibrosis and mortality after aortic valve replacement. **Heart (British Cardiac Society)***, [s. l.], vol. 105, nº 23, p. 1818–1824, 2019. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31467152/. Acesso em: 31 maio 2026.*

ŠKOVIEROVÁ, H. et al. The molecular and cellular effect of homocysteine metabolism imbalance on human health. **International Journal of Molecular Sciences***, [s. l.], vol. 17, nº 10, 2016. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

SMITH, A. D.; REFSUM, H. Homocysteine - from disease biomarker to disease prevention. **Journal of internal medicine***, [s. l.], vol. 290, nº 4, p. 826–854, 2021.*

Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33660358/. Acesso em: 31 maio 2026.

SMITH, A. D.; REFSUM, H. Homocysteine, B Vitamins, and Cognitive Impairment. **Annual review of nutrition***, [s. l.], vol. 36, p. 211–239, 2016. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27431367/. Acesso em: 16 mar. 2023.*

SRECKOVIC, B. et al. Homocysteine is a marker for metabolic syndrome and atherosclerosis. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews***, [s. l.], vol. 11, nº 3, p. 179–182, 2017. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

STANGER, O. Physiology of folic acid in health and disease. **Current drug metabolism***, [s. l.], vol. 3, nº 2, p. 211–223, 2002. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12003352/. Acesso em: 15 jul. 2024.*

STEFANELLO, F. M. et al. Homocysteine inhibits butyrylcholinesterase activity in rat serum. **Metabolic brain disease***, [s. l.], vol. 18, nº 3, p. 187–194, 2003. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14567469/. Acesso em: 29 mar. 2024.*

STEINER, B. M.; BERRY, D. C. The Regulation of Adipose Tissue Health by Estrogens. **Frontiers in endocrinology***, [s. l.], vol. 13, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35721736/. Acesso em: 4 abr. 2026.*

SUN, T. et al. New insights into butyrylcholinesterase: Pharmaceutical applications, selective inhibitors and multitarget-directed ligands. **European Journal of Medicinal Chemistry***, [s. l.], vol. 275, 2024. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38852337/. Acesso em: 6 abr. 2026.*

TAIRA, J.; OGI, T. Nitric Oxide Modulation by Folic Acid Fortification. **Antioxidants***, [s. l.], vol. 9, nº 5, p. 393, 2020. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7278735/. Acesso em: 20 jul. 2025.*

TAN, M. et al. Downregulation of Nrf2/HO-1 pathway and activation of JNK/c-Jun pathway are involved in homocysteic acid-induced cytotoxicity in HT-22 cells. **Toxicology letters**, *[s. l.], vol. 223, nº 1, p. 1–8, 2013. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23994730/. Acesso em: 11 mar. 2023.*

TANIGUCHI, K.; KARIN, M. NF-κB, inflammation, immunity and cancer: coming of age. **Nature reviews. Immunology**, *[s. l.], vol. 18, nº 5, p. 309–324, 2018. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29379212/. Acesso em: 31 maio 2026.*

TODOROVIC, D. et al. Four Weeks of Aerobic Training Affects Cardiac Tissue Matrix Metalloproteinase, Lactate Dehydrogenase and Malate Dehydrogenase Enzymes Activities, and Hepatorenal Biomarkers in Experimental Hyperhomocysteinemia in Rats. **International Journal of Molecular Sciences 2021, Vol. 22, Page 6792**, *[s. l.], vol. 22, nº 13, p. 6792, 2021. Disponível em: https://www.mdpi.com/1422-0067/22/13/6792/htm. Acesso em: 1 abr. 2024.*

TRAVERS, J. G. et al. Cardiac Fibrosis: The Fibroblast Awakens. **Circulation research**, *[s. l.], vol. 118, nº 6, p. 1021–1040, 2016. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26987915/. Acesso em: 31 maio 2026.*

TYAGI, N. et al. Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stress. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, *[s. l.], vol. 289, nº 6, 2005. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16085680/. Acesso em: 16 jan. 2024.*

ULASOV, A. V. et al. Nrf2/Keap1/ARE signaling: Towards specific regulation. **Life sciences**, *[s. l.], vol. 291, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34732330/. Acesso em: 9 set. 2023.*

VERMA, K. et al. Simvastatin ameliorates oxidative stress levels in HepG2 cells and hyperlipidemic rats. **Current Research in Pharmacology and Drug**

Discovery, *[s. l.], vol. 3, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35146420/. Acesso em: 15 jul. 2025.*

VERSARI, D. et al. Endothelial Dysfunction as a Target for Prevention of Cardiovascular Disease. **Diabetes Care**, *[s. l.], vol. 32, nº Suppl 2, p. S314, 2009. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2811443/. Acesso em: 31 maio 2026.*

VISNIAUSKAS, B. et al. Estrogen-mediated mechanisms in hypertension and other cardiovascular diseases. **Journal of human hypertension**, *[s. l.], vol. 37, nº 8, p. 609–618, 2023a. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36319856/. Acesso em: 31 maio 2026.*

VISNIAUSKAS, B. et al. Estrogen-mediated mechanisms in hypertension and other cardiovascular diseases. **Journal of human hypertension**, *[s. l.], vol. 37, nº 8, p. 609–618, 2023b. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36319856/. Acesso em: 31 maio 2026.*

WANG, W. W. et al. A Meta-Analysis of Folic Acid in Combination with Anti-Hypertension Drugs in Patients with Hypertension and Hyperhomocysteinemia. **Frontiers in Pharmacology**, *[s. l.], vol. 8, 2017. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28912716/. Acesso em: 15 jul. 2025.*

WANG, L. et al. Targeting endothelial dysfunction and inflammation. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, *[s. l.], vol. 168, p. 58–67, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35460762/. Acesso em: 31 maio 2026.*

WATTS, K.; RICHARDSON, W. J. Effects of sex and 17 β-estradiol on cardiac fibroblast morphology and signaling activities in vitro. **Cells**, *[s. l.], vol. 10, nº 10, p. 2564, 2021. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8533711/. Acesso em: 31 maio 2026.*

WIERZBICKI, A. S. Homocysteine and cardiovascular disease: A review of the evidence. **Diabetes and Vascular Disease Research***, [s. l.], vol. 4, nº 2, p. 143–149, 2007. Disponível em: Acesso em: 11 mar. 2023.*

WON, B. Y. et al. Sex Difference in the Association between Serum Homocysteine Level and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. **Korean Journal of Family Medicine***, [s. l.], vol. 37, nº 4, p. 242, 2016. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4961857/. Acesso em: 28 maio 2026.*

WUCHE, C. The cardiovascular system and associated disorders. **British journal of nursing (Mark Allen Publishing)***, [s. l.], vol. 31, nº 17, p. 886–892, 2022. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36149425/. Acesso em: 28 maio 2026.*

WYSE, A. T. S. et al. Homocysteine and Gliotoxicity. **Neurotoxicity research***, [s. l.], vol. 39, nº 3, p. 966–974, 2021. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33786757/. Acesso em: 25 mar. 2023.*

XIAO, Z.; LIU, H. The estrogen receptor and metabolism. **Women's health (London, England)***, [s. l.], vol. 20, 2024. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38420694/. Acesso em: 6 abr. 2026.*

YU, H. et al. Targeting NF-κB pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study. **Signal transduction and targeted therapy***, [s. l.], vol. 5, nº 1, 2020. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32958760/. Acesso em: 31 maio 2026.*

YUAN, D. et al. Mechanism of homocysteine-mediated endothelial injury and its consequences for atherosclerosis. **Frontiers in cardiovascular medicine***, [s. l.], vol. 9, 2023. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36727029/. Acesso em: 4 abr. 2026.*

ZHANG, C. Y. et al. Simvastatin alleviates inflammation and oxidative stress in rats with cerebral hemorrhage through Nrf2-ARE signaling pathway. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, *[s. l.], vol. 23, nº 14, p. 6321–6329, 2019. Disponível em: Acesso em: 15 jul. 2025.*

ZHANG, J. M.; AN, J. Cytokines, Inflammation and Pain. **International anesthesiology clinics**, *[s. l.], vol. 45, nº 2, p. 27, 2007. Disponível em: /pmc/articles/PMC2785020/. Acesso em: 11 set. 2023.*

ZHANG, H.; DAVIES, K. J. A.; FORMAN, H. J. Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging. **Free radical biology & medicine**, *[s. l.], vol. 88, nº Pt B, p. 314–336, 2015. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26066302/. Acesso em: 11 mar. 2023.*

ZHAO, Huichao et al. Folic Acid Protects against Ethanol-Induced Hepatic Mitophagy Imbalance by ROS Scavenging and Attenuating the Elevated Hcy Levels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, *[s. l.], vol. 71, nº 39, p. 14276–14288, 2023a. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.jafc.3c01851?ref=article_openPDF. Acesso em: 20 jul. 2025.*

ZHAO, Huichao et al. Folic Acid Protects against Ethanol-Induced Hepatic Mitophagy Imbalance by ROS Scavenging and Attenuating the Elevated Hcy Levels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, *[s. l.], vol. 71, nº 39, p. 14276–14288, 2023b. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.jafc.3c01851?ref=article_openPDF. Acesso em: 16 jul. 2025.*

ZHAO, J. et al. Gender differences in risk factors for high plasma homocysteine levels based on a retrospective checkup cohort using a generalized estimating equation analysis. **Lipids in Health and Disease**, *[s. l.], vol. 20, nº 1, p. 31, 2021.*

Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8042914/. Acesso em: 28 maio 2026.

ZHENG, X.; HU, S. J. Effects of simvastatin on cardiohemodynamic responses to ischemia-reperfusion in isolated rat hearts. **Heart and Vessels***, [s. l.], vol. 21, nº 2, p. 116–123, 2006. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s00380-005-0868-y. Acesso em: 18 mar. 2024.*

ZHOU, L. et al. Plasma Homocysteine Level Is Independently Associated With Conventional Atherogenic Lipid Profile and Remnant Cholesterol in Adults. **Frontiers in Cardiovascular Medicine***, [s. l.], vol. 9, p. 898305, 2022. Disponível em: www.frontiersin.org. Acesso em: 31 maio 2026.*

ZIMA, A. V.; BLATTER, L. A. Redox regulation of cardiac calcium channels and transporters. **Cardiovascular research***, [s. l.], vol. 71, nº 2, p. 310–321, 2006. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16581043/. Acesso em: 31 maio 2026.*

ANEXO 1

U F R G S
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

Comissão De Ética No Uso De Animais

CEUA UFRGS

CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 46247
Título: AVALIAÇÃO DA HIPER-HOMOCISTEINEMIA LEVE SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HISTOLÓGICOS EM CORAÇÃO E OUTROS TECIDOS PERIFÉRICOS DE RATOS ENVELHECIDOS: PAPEL PROTETOR DO ÁCIDO FÓLICO E SINVASTATINA

Vigência: 15/09/2024 à 14/09/2026

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

ANGELA TEREZINHA DE SOUZA WYSE - coordenador desde 15/09/2024
GUSTAVO RICARDO KRUPP PRAUCHNER - desde 15/09/2024
ALESSANDRA SCHMITT RIEDER - desde 15/09/2024

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o referido Projeto, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de Wistar machos (n=75) e fêmeas (n=74), totalizando 312 animais, com aproximadamente 365 meses de idade e 700 g provenientes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório da UFRGS, órgão auxiliar do CEUA e do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS), de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa. Vigência do projeto de 15 de dezembro de 2024 a 15 de dezembro de 2026. Estão aptos a manipular animais os seguinte membros da equipe: Alessandra Schmitt Rieder, Gustavo Ricardo Krupp Prauchner e a veterinária Fabíola Schons Meyer.

Porto Alegre, Terça-Feira, 19 de Novembro de 2024

gov.br Documento assinado digitalmente
MAITE DE MORAES VIEIRA
Data: 21/11/2024 17:28:16-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

MAITE DE MORAES VIEIRA
Coordenador da comissão de ética