



UFOP

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO - UFOP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS EXATAS- ICEB
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS- DECBI
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA E BIOLÓGICA MOLECULAR- LBBM**

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE LICOPENO SOBRE A EXPRESSÃO DA
PROTEÍNA MITOFÁGICA PINK1 EM CORAÇÃO DE RATOS SAUDÁVEIS**

MARCUS VINÍCIUS DE SOUZA

OURO PRETO

2022

MARCUS VINÍCIUS DE SOUZA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE LICOPENO SOBRE A EXPRESSÃO DA
PROTEÍNA MITOFÁGICA PINK1 EM CORAÇÃO DE RATOS SAUDÁVEIS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Escola de Nutrição da
Universidade Federal de Ouro Preto, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Bacharelado em Nutrição

Orientadora: Profa. Dr^a Sílvia de Paula
Gomes

OURO PRETO
2022

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

S729e Souza, Marcus Vinicius de.

Efeito da suplementação de licopeno sobre a expressão da proteína mitofágica pink1 em coração de ratos saudáveis. [manuscrito] / Marcus Vinicius de Souza. Silva Paula-Gomes. - 2022.

45 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Silva Paula-Gomes.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Graduação em Nutrição .

1. Licopeno. 2. Mitofagia. 3. Proteínas. I. Paula-Gomes, Silva. II. Paula-Gomes, Silva. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 612.39

Bibliotecário(a) Responsável: Sônia Marcelino - CRB6/2247



FOLHA DE APROVAÇÃO

Marcus Vinícius de Souza

Efeito da suplementação com licopeno sobre a expressão da proteína mitofágica PINK1 em coração de ratos saudáveis

Monografia apresentada ao Curso de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de nutricionista

Aprovada em 10 de junho de 2022

Membros da banca

Dr^a Sílvia de Paula Gomes - Orientador(a) Universidade Federal de Ouro Preto
Dr^a Karina Barbosa de Queiroz - Universidade Federal de Ouro Preto
Dr^a Fernanda Cacilda dos Santos Silva - Universidade Federal de Ouro Preto

Sílvia de Paula Gomes, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 13/12/2022



Documento assinado eletronicamente por **Sílvia de Paula Gomes, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 13/12/2022, às 11:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0442435** e o código CRC **D8DC0C3F**.

AGRADECIMENTOS

Como dizia Abraham Lincoln: “O êxito da vida não se mede pelo caminho que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho”. É com essa frase que eu começo meus singelos agradecimentos.

Primeiramente queria agradecer à minha família, em especial ao meu pai, Francisco Timóteo, que sempre foi e sempre será minha referência para tudo em minha vida. Mesmo tendo pouco estudo, foi o meu melhor professor na escola da vida, me ensinou os valores mais nobres que uma pessoa pode ter, responsável diretamente pela formação do meu caráter, sempre esteve ao meu lado me apoiando e incentivando quando eu mais precisei.

Queria agradecer a minha orientadora, Sílvia de Paula Gomes, por ter me concedido essa oportunidade de desenvolver esse trabalho que foi o mais importante e, ao mesmo tempo, o que eu mais gostei de participar em toda a minha trajetória acadêmica. Por ter sido essa orientadora dedicada, compreensiva e sempre disposta a ensinar.

Não posso esquecer da minha querida amiga Márcia que foi uma das pessoas que mais acreditaram em mim, até mesmo naqueles momentos que eu mesmo duvidei da minha capacidade. Sempre esteve ao meu lado me apoiando, obrigado por tudo.

A minha psicóloga Estefânia Gonçalves que cuidou da minha saúde mental, foi responsável pelo meu autoconhecimento e me ajudou a lidar com mais leveza diversas questões internas. Obrigado pelo carinho, dedicação e empatia em todas as sessões de terapia.

A vida acadêmica me proporcionou a oportunidade de conhecer pessoas incríveis, onde construí laços afetivos e compartilhei momentos e experiências inesquecíveis. Queria agradecer a Lorrana, Betânia, Marlene e a Tatiane por todo apoio, companheirismo e por sempre terem estendido a mão quando eu mais precisei.

Queria agradecer aos meus amigos Edson, Walquiria, Ana Luiza, Maria Eliza, Júlia, Victor e Richard por todo apoio, companheirismo, lealdade e carinho que tiveram por mim em todos esses anos de caminhada.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação do processo lisossomal/ autofágico de macroautofagia	16
Figura 2: Representação do processo de mitofagia	17
Figura 3: Estrutura carbônica do licopeno	19
Figura 4: Delineamento experimental da suplementação com licopeno por 30 dias	22
Figura 5: Efeito da suplementação com licopeno sobre a ingestão total alimentar (g) por 30 dias.....	25
Figura 6: Efeito da suplementação com licopeno sobre a massa corporal (g) por 30 dias.....	26
Figura 7: Efeito da suplementação com licopeno sobre a glicemia (mg/dl) por 30 dias.....	27
Figura 8: Efeito do tratamento com licopeno sobre a massa relativa do coração (mg) por 30 dias.....	28
Figura 9: Efeito do tratamento com licopeno sobre a expressão proteica de PINK1 em coração.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Efeito do tratamento com licopeno sobre as massas do fígado e tecidos adiposos brancos epididimal e retroperitoneal por 30 dias.....	29
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

- ACAT - colesterol aciltransferase Atg 1 - proteína autofágica 1
- ATP - Adenosina trifosfato
- CCA – Centro de Ciência Animal
- CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
- DCV - doenças cardiovasculares
- DECBI – Departamento de Ciências Biológicas
- DNA - deoxyribonucleic acid (ácido desoxirribonucléico)
- EDTA - Ácido Etilenodiamina tetracético
- HMG-CoA redutase - Hidroxi Metilglutaril CoA redutase
- HRP - Horseradish peroxidase
- ICEB- Instituto de Ciências Exatas e Biológicas
- LBBM-Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular
- LDL - lipoproteínas de baixa densidade
- NrF2 - Fator nuclear eritroide 2
- OMS - Organização Mundial da Saúde
- PARKIN - Ubiquitina ligase E3 – RBR PINK1 - PTEN-induced kinase 1
- SDS- PAGE - Eletroforese em gel de poliacrilamida com Dodecil Sulfato de sódio
- Ser – Serina
- EROs- Reactive oxygen species
- UB – Ubiquitina
- UFOP – Universidade Federal de Ouro Preto
- UPS - sistema proteolítico ubiquitina proteassoma ULK1 - Unc51 like kinase 1
- VLDL - lipoproteínas de muito baixa densidade
- WHO - World health organization

RESUMO

O processo de mitofagia na musculatura cardíaca de extrema importância para a manutenção da homeostase do coração. Uma vez que as mitocôndrias exercem função vital na síntese de adenosina trifosfato (ATP) que é utilizada como energia para exercer as funções contração e relaxamento do miocárdio. Atualmente é sabido que a síntese excessiva de espécies reativa de oxigênio (EROs) compromete o processo mitofágico no coração e, como consequência, leva no desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Trabalhos da literatura demonstraram que o licopeno devido a sua potente ação antioxidante exerce um efeito positivo na manutenção da homeostase do organismo pela estimulação da defesa antioxidante e/ou o processo de mitofagia em diferentes tecidos. No entanto, o papel do licopeno no controle da mitofagia cardíaca tem sido pouco estudado. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o papel do licopeno na regulação da mitofagia em coração de roedores. Para isso utilizamos o modelo experimental de tratamento de ratos normais com licopeno por 30 dias.

Os resultados obtidos mostraram que o tratamento com licopeno em ratos normais induziu uma redução na expressão da proteína mitofágica PINK1 (31%) sem alterar a massa cardíaca. Esses resultados sugerem que o licopeno foi capaz de controlar o processo de mitofagia em coração de ratos normais, sem promover perda de massa muscular cardíaca.

O tratamento com licopeno promoveu um aumento da massa corporal (10%) sem alterar a ingestão diária alimentar, glicemia e as massas do fígado e tecido adiposo epididimal. Por outro lado, foi observada uma redução da massa adiposa retroperitoneal (14%). Em conjunto, esses dados demonstram que o licopeno tem um importante papel na regulação do metabolismo e que o depósito adiposo retroperitoneal é mais susceptível, pelo menos em parte, à regulação ativada pelo licopeno.

Em conjunto, esses dados sugerem que o licopeno exerce um controle na regulação da homeostase cardíaca, modulando a expressão de componentes do sistema proteolítico lisossomal/ mitofágico.

Palavras-chave: licopeno, mitofagia, PINK1, coração

ABSTRACT

The process of mitophagy in cardiac musculature is extremely important for the maintenance of heart homeostasis. Since mitochondria play a vital role in the synthesis of adenosine triphosphate (ATP) which is used as energy for myocardial contraction and relaxation. It is currently known that the excessive synthesis of reactive oxygen species (EROs) compromises the mitophagic process in the heart and, as a consequence, leads to the development of cardiovascular diseases. Studies in the literature have shown that lycopene, due to its potent antioxidant action, has a positive effect on maintaining the body's homeostasis by stimulating antioxidant defense and/or the process of mitophagy in different tissues. However, the role of lycopene in controlling cardiac mitophagy has been poorly studied. Thus, the objective of this work was to evaluate the role of lycopene in the regulation of mitophagy in rodent hearts. For this, we used the experimental model of treatment of normal rats with lycopene for 30 days.

The results obtained showed that the treatment with lycopene in normal rats induced a reduction in the expression of the mitophagic protein PINK1 (31%) without altering the cardiac mass. These results suggest that lycopene was able to control the mitophagy process in the heart of normal rats, without promoting loss of cardiac muscle mass.

Treatment with lycopene promoted an increase in body mass (10%) without altering the daily food intake, glycemia and the masses of the liver and epididymal adipose tissue. On the other hand, a reduction in retroperitoneal fat mass (14%) was observed. Taken together, these data demonstrate that lycopene plays an important role in the regulation of metabolism and that retroperitoneal adipose deposits are more susceptible, at least in part, to lycopene-activated regulation.

Together, these data suggest that lycopene exerts a control in the regulation of cardiac homeostasis, modulating the expression of components of the lysosomal/mitophagic proteolytic system.

Keywords: lycopene, mitophagy, PINK1, heart

SUMÁRIO

1 -INTRODUÇÃO	11
2 - REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1- Coração	14
2.2- Mitofagia e coração.....	15
2.3- Licopeno e coração.....	18
3 - OBJETIVOS	21
3.1- Objetivo geral	21
3.2- Objetivos específicos	21
4 – METODOLOGIA	22
4.1- Animais	22
4.2 - Determinação da glicemia.....	23
4.3- Análise de conteúdo proteico e fosforilação da proteína PINK1 via Western blot	23
4.4- Análise estatística	23
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1- Efeito da suplementação com licopeno sobre a ingestão diária alimentar (g) por 30 dias	25
5.2- Efeito da suplementação com licopeno sobre a massa corporal (g) por 30 dias	26
5.3- Efeito da suplementação com licopeno sobre a glicemia (mg/dl) por 30 dias	27
5.4- Efeito da suplementação com licopeno sobre a massa relativa do coração (mg) por 30 dias.....	28
5.5- Efeito da suplementação com licopeno sobre os tecidos do fígado, epididimal e retroperitoneal por 30 dias	29
5.6- Efeito do tratamento com licopeno sobre a expressão proteica de PINK1 em coração	30
6- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

1-INTRODUÇÃO

O conhecimento de mecanismos que regulam a homeostase cardíaca é de grande relevância considerando a alta incidência de doenças cardiovasculares (DCV) na atualidade. Apesar dos avanços científicos e farmacológicos em relação ao tratamento, as DCV e suas complicações continuam sendo as principais causas de mortalidade e morbidade mundiais. Portanto, a investigação dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento das DCV é importante para a elaboração de novas estratégias terapêuticas para tratamento e/ou prevenção (PAULA-GOMES, 2013).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2019, cerca de 17,9 milhões de óbitos ocorreram em decorrência de complicações advindas das DCV. Uma vez que o aumento na mortalidade em pessoas com problemas cardíacos está associado ao tabagismo, consumo excessivo de álcool, sedentarismo e a obesidade. Mudanças no estilo de vida são utilizadas como estratégias não farmacológicas na prevenção das DCV (WHO, 2021). Além disso, Mozaffarian et al., (2011) demonstraram que o consumo adequado de frutas e vegetais exercem um efeito cardioprotetor. Entre os diversos componentes dietéticos, que estão presentes na alimentação, os quais são capazes de promover efeitos protetores no coração, o licopeno, um carotenóide encontrado principalmente no tomate e seus derivados. O licopeno exerce um potente efeito contra o desenvolvimento e/ou progressão de DCV, uma vez que ele é o carotenóide que possui a maior ação antioxidante e está presente em grande concentração no plasma sanguíneo. Este poderoso antioxidante atua através da atenuação das espécies reativas de oxigênio (EROs), diminuindo o quadro inflamatório e na formação plaquetária. Além de conferir proteção contra a oxidação do colesterol, evitando a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e na diminuição da concentração do colesterol total e do LDL (SESSO et al., 2003; JACQUES et al., 2013; MEIN et al., 2008; BOHM, 2012).

O coração é um músculo extremamente oxidativo, por essa razão as mitocôndrias exercem uma função muito importante para a manutenção do seu funcionamento normal. A dinâmica mitocondrial comprometida pode agir como uma forma de adaptação bioenergética durante o desenvolvimento de algum processo patológico cardíaco (VASQUEZ-TRINCADO et al., 2016). As mitocôndrias que

perdem sua funcionalidade são removidas por um processo autofágico denominado mitofagia (KUBLI, GUSTAFSSON, 2012). O processo de mitofagia cardiovascular é crucial para a manutenção da homeostasia do coração (SAN PEDRO et al., 2017).

Devido à importância vital do coração e o crescimento acelerado de doenças cardiovasculares, vários grupos de pesquisas têm se dedicado a estudar novas estratégias de tratamento que visam a melhora da homeostase cardíaca. Uma estratégia promissora é a ingestão de compostos antioxidantes, tais como o licopeno. Estudos vêm demonstrando que o licopeno reduz a produção de radicais livres e estimula a expressão e/ou atividade das enzimas antioxidantes (catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase), protegendo as biomoléculas dos danos oxidativos, principalmente as proteínas e lipídeos. Além disso, ele inibe o desenvolvimento de alguns tipos de cânceres, aterosclerose e hipertensão, doenças inflamatórias e as complicações relacionadas à diabetes (RICCIONI et al., 2008; CASEIRO et al., 2020).

Em relação ao coração, o licopeno inibe a hipertrofia cardíaca desencadeada pelo aumento exacerbado de EROs (MAUIIK & KUMAR, 2012) e exerce um importante papel na dinâmica das mitocôndrias, uma vez que é capaz de aumentar a produção de Adenosina trifosfato (ATP), por melhorar o funcionamento da cadeia transportadora de elétrons e estabilizar a membrana interna mitocondrial. Além disso, estimula a remoção das mitocôndrias disfuncionais pelo processo de mitofagia (YUE et al., 2015). Chao et al.(2014), demonstraram que o licopeno inibe a hipertrofia de cardiomiócitos e seus possíveis efeitos deletérios ao coração, além de reduzir a síntese de EROs . Yue et al. (2015), demonstram que o licopeno protege os cardiomiócitos contra efeitos oxidativos, exercendo efeito do protetor no deoxyribonucleic acid – ácido desoxirribonucléico (DNA) mitocondrial, além disso, está relacionado com a diminuição da síntese de EROs na mitocôndria.

Cheng et al. (2017), mostraram que tanto o consumo de tomate quanto a suplementação de licopeno reduzem a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), além de gerar efeitos benéficos sobre a pressão arterial e melhora da função endotelial. Estudos apontam que o efeito cardioprotetor do licopeno é, pelo menos em parte, decorrente da sua ação antioxidante na redução da LDL-oxidada, modulação de marcadores inflamatórios, inibição de processos oxidativos e efeitos

antiangiogênicos (FRIEDMAN, 2013; THIES et al., 2016).

Considerando que há poucos relatos na literatura sobre a regulação do metabolismo cardíaco e que alguns trabalhos ressaltam a importância da mitofagia na manutenção da homeostase do coração, tornou-se interessante investigar o efeito do tratamento com um antioxidante, o licopeno, que tem demonstrado efeitos benéficos na homeostase cardiovascular.

Nossa hipótese é que os benefícios do tratamento com licopeno no coração seja, em parte, pela ativação do processo de mitofagia e remoção das mitocôndrias disfuncionais. Para isto utilizamos um modelo saudável de tratamento com licopeno por 30 dias.

2-REFERENCIAL TEÓRICO

2.1- Coração

Os ventrículos direito e esquerdo são compostos pelo músculo cardíaco e consiste em uma bomba dupla: ventrículo direito, responsável por bombear o sangue pela circulação pulmonar e, ventrículo esquerdo, que move o sangue pela circulação sistêmica (AIRES et al., 2014). As fibras musculares cardíacas caracterizam-se pela disposição em malha ou treliça sendo, portanto, também classificadas como estriadas. Estas fibras, assim como as da musculatura esquelética, são formadas por miofibrilas típicas com filamentos de actina e miosina. Entretanto, as fibras cardíacas apresentam uma peculiaridade: são constituídas por muitas células individuais, conectadas em série e em paralelo, que se comunicam através das *gaps junctions* (junções “comunicantes” permeáveis) que permitem a passagem quase livre de íons. Dessa forma, temos o coração como um sincício, de maneira que quando uma célula cardíaca é excitada todas as demais também são graças à rápida propagação do potencial de ação por essa malha de interconexões (GUYTON; HALL, 2006).

Tendo em vista a vital e nobre função do coração, é de extrema importância a manutenção da homeostase cardíaca e a prevenção de doenças cardiovasculares. A perda de funcionalidade do coração leva a efeitos deletérios à saúde que aumentam os riscos de morbidade e/ou mortalidade (MENSAH et al., 2019). Por esse motivo, as DCV na atualidade são uma das principais preocupações e isso se deve ao fato do grande impacto econômico para os serviços de saúde pública (AMINI et al., 2021). A OMS define que DCV são um conjunto de doenças que afetam o funcionamento normal do coração levando a distúrbios tanto cardíacos quanto nos vasos sanguíneos. Nesse conjunto de patologias estão incluídas doenças, como, insuficiência cardíaca, hipertensão, doença arterial periférica e coronariana (WHO, 2021). Em 2016 cerca de um terço dos óbitos mundiais foi em decorrência de complicações advindas de DCV (GLOBAL HEALTH METRICS, 2017).

Lozano et al. (2013) apontaram que até 2030 as DCV serão responsáveis por cerca de 23 milhões de óbitos. Diversos fatores de risco estão associados com a alta incidência das DCV, entre os quais se destacam: obesidade, estresse psicossocial, sedentarismo, hipertensão, tabagismo, consumo abusivo de álcool e alimentação desbalanceada baseada em *fast-food*, pobre em frutas e vegetais (MUSINGUZI et al.,

2020).

O coração necessita de um aporte contínuo de ATP para manter sua contração muscular e realizar o bombeamento do sangue para o corpo todo (ASHRAFIAN et al., 2007). As mitocôndrias são responsáveis por produzir as moléculas de ATP para atender a grande demanda bioenergética deste músculo, principalmente por meio da oxidação de ácidos graxos de cadeia longa (DORN et al., 2015). Contudo, qualquer desequilíbrio no metabolismo mitocondrial leva ao desbalanço da homeostase cardíaca e desenvolvimento de algum tipo de complicação cardiovascular (ZHOU & TIAN, 2018).

2.2- Mitofagia e coração

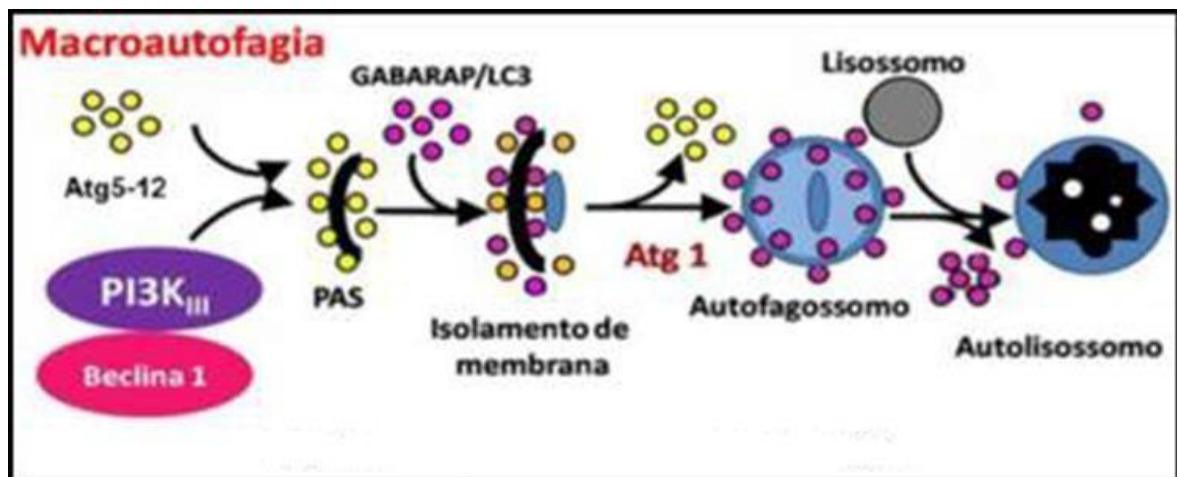
O coração é um órgão que necessita de uma grande demanda energética, a manutenção da homeostase cardíaca está diretamente relacionada com o metabolismo mitocondrial, posto que 95% do ATP consumido é derivado do metabolismo oxidativo mitocondrial (ZHOU & TIAN, 2018). Além do papel central das mitocôndrias exercem o na produção de ATP, também é responsável pela dinâmica intracelular de cálcio, na regulação de síntese/ depuração de EROs e outros (ABDEL-RAHMAN et al., 2021).

A dinâmica mitocondrial é fundamental para manutenção das mitocôndrias funcionais, para que isso ocorre é necessário um balanço entre os processos de biogênese mitocondrial e remoção de mitocôndrias disfuncionais pela mitofagia (YOO & JUNG, 2018). O processo de mitofagia é de extrema relevância para a homeostase cardiovascular, uma vez que remove as mitocôndrias danificadas que produzem e liberam muitas espécies reativas de oxigênio causando efeitos deletérios no coração (YANG et al., 2019).

Os seres vivos necessitam de uma constante renovação celular e o sistema autofágico é responsável por essa função. O processo de autofagia direciona materiais citoplasmáticos em excesso ou prejudiciais, como, por exemplo, patógenos invasores, mitocôndrias danificadas e/ou agregados protéicos ao lisossomo para serem degradados (MIZUSHIMA & KOMATSU, 2011; MORISHITA & MIZUSHIMA, 2019). Atualmente, o processo autofágico é classificado em três tipos: autofagia mediada por chaperonas na qual ocorre o transporte direto do conteúdo protéico

citossólico para os lisossomos mediada pelos translocons (KAUSHIK & CUERVO, 2018) e macroautofagia, microautofagia em que ocorre a captação de materiais citoplasmáticos por meio de invaginação das membranas internas dos lisossomos (OKU & SAKAI, 2018). O principal processo de autofágico é a macroautofagia no qual os substratos a serem degradados são capturados pelo autofagossomos que são vesículas citossólicas composta por uma dupla membrana (GALLUZI & VERDE, 2019). O autofagossomo se funde ao lisossomo para formar o autolisossomo onde ocorre a degradação do material por meio das proteases lisossomais, as catepsinas. As macromoléculas resultantes desse processo são liberadas ao citosol para serem reutilizadas (FENG et al., 2014). Estudos demonstram que a macroautofagia é o principal mecanismo autofágico no qual contribui na homeostase e manutenção da saúde cardiovascular e, também, é capaz de aliviar os efeitos deletérios ao coração associados ao envelhecimento (SHIRAKABE et al., 2016; ABDELLATIF et al., 2020)(FIGURA 1).

Figura 1: Representação do processo lisossomal/ autofágico de macroautofagia

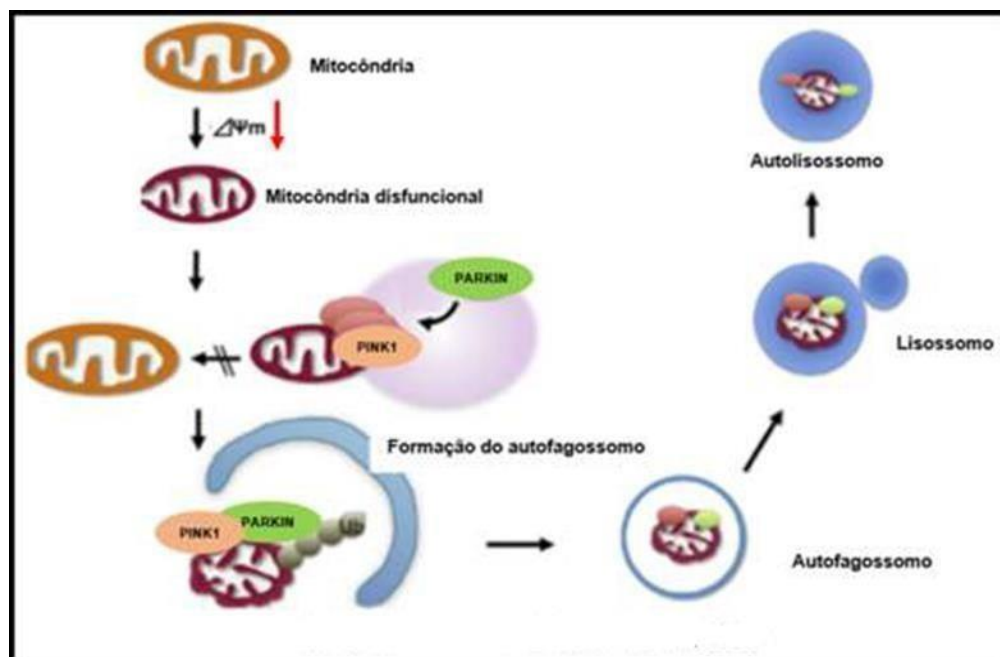


Fonte: Adaptado de Bechet et al. (2005)

Processo lisossomal/ autofágico de macroautofagia, o qual é responsável pelo englobamento de porções inteiras de citoplasma juntamente com várias organelas. O complexo de inibidores de fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K - III) e conjugado com complexo proteico e conjugado com complexo proteico atg12-atg5 promovem a formação de estruturas pré-autofagossômicas. O conjugado de proteínas GABARAP/LC3 com lipídio leva ao isolamento da membrana a ser degradada para a formação do autofagossomo, que posteriormente vai se fundir ao lisossomo para gerar o autolisossomo.

A mitofagia é uma macroautofágia específica responsável pela degradação de mitocôndrias anômalas e disfuncionais, sendo vital para o controle da homeostase celular (LIESA & SHIRIHA, 2013). O processo mitofágico é ativado após alguma injúria às membranas mitocondriais, permitindo assim uma renovação mitocondrial de forma contínua. Quando as mitocôndrias são danificadas, a proteína PINK-1 se acumula na membrana mitocondrial e recruta a proteína PARKIN 1 e assim se inicia a formação do autofagossomo. Após formação do autofagossomo, em seguida ocorre a fusão com lisossomo e as mitocôndrias disfuncionais são degradadas pelas proteases lisossomais (SCIARRETTA et al., 2017) (FIGURA 2).

Figura 2: Representação do processo de mitofagia



Fonte: Adaptado de Nobutaka et al. (2014).

O processo de mitofagia é responsável pela degradação de mitocôndrias envelhecidas e danificadas. Quando a estrutura mitocondrial é comprometida é marcada pela proteína autofágica quinase 1 (PINK 1) que sinaliza o recrutamento de outras proteínas autofágicas, entre elas está a PARKIN que leva à formação do autofagossomo. Posteriormente, esse autofagossomo se funde ao lisossomo para formar o autolisossomo, onde as mitocôndrias são degradadas por proteases lisossomais.

Dados da literatura demonstram a existência de um cross-talk entre o sistema proteolítico ubiquitina proteassoma (UPS) e a mitofagia. Em células neuronais, a Ubiquitina ligase PARKIN está envolvida com a ubiquitinação de proteínas mitocondriais, com as mitofusinas 1 e 2 e conseqüente encaminhamento dessas mitocôndrias para a

degradação pelo processo autofágico (VIVES-BAUZA et al., 2010; MATSUDA et al., 2010; NARENDRA et al., 2010). Mutações genéticas em PARKIN 1 podem causar defeitos na mitofagia culminando no acúmulo de mitocôndrias disfuncionais, resultando na degeneração de neurônios dopaminérgicos, caracterizando o Mal de Parkinson (NARENDRA et al., 2008; JIN et al., 2010). Além do sistema nervoso central, PARKIN 1 também é expressa no fígado, rins, testículos, músculo esquelético e coração (KITADA et al., 1998; KITADA et al., 2000) e sua translocação do citosol para a membrana mitocondrial é dependente de uma quinase chamada de PINK 1 (*PTEN-induced kinase 1*), responsável por fosforilar PARKIN 1 em resíduos de Ser65, promovendo sua ativação (ZIVIANI et al., 2010).

O estudo de Shimizu et al. (2014) demonstrou que a mitofagia também é necessária para o processo de maturação dos eritrócitos e nesse tipo celular esse processo lisossomal requer a participação de uma proteína conhecida como ULK1 (*Unc51 like kinase 1*), homóloga da Atg 1. Sob a forma defosforilada ULK1 está ativa e pode então estimular a mitofagia, mas os mecanismos pelos quais esta quinase participa deste processo ainda não foram descritos. (YANG & KLIONSKY, 2010; WIRTH et al., 2013).

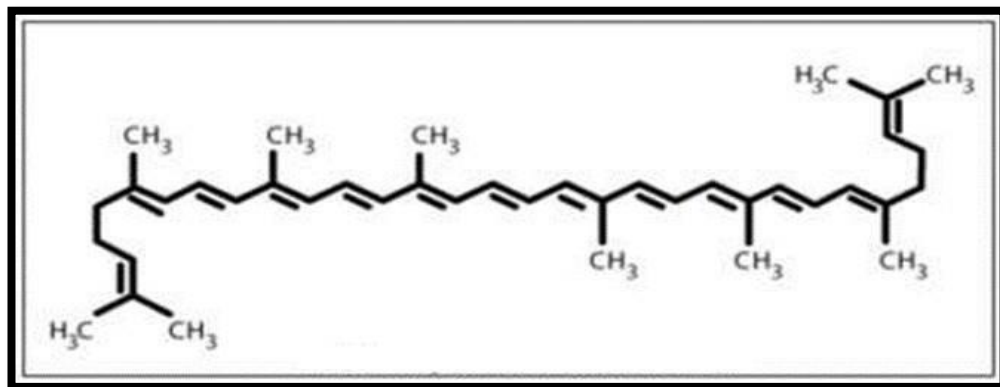
Dado que a autofagia mitocondrial visa eliminar aquelas mitocôndrias envelhecidas que perderam a sua funcionalidade ou estão danificadas já que estas apresentam algum potencial de citotoxicidade (SAN PEDRO et al., 2017). Além do suprimento de energia, as mitocôndrias são responsáveis pela dinâmica intracelular de cálcio e na síntese de EROs. Em muitas doenças, como, na diabetes e, principalmente, as DCV resulta no desenvolvimento da disfunção mitocondrial devido a produção excessiva de EROs (WU & ZOU, 2020).

2.3 - Licopeno e Coração

O licopeno é um carotenóide isômero acíclico do β -caroteno altamente insaturado (FIGURA 3) responsável pela pigmentação avermelhada de frutas e vegetais, como, por exemplo, o tomate (PENNATHUR et al., 2010; YIN et al., 2019). É também encontrado em alguns microrganismos e outros vegetais, tais como melancia, mamão e goiaba. Após sua ingestão, o licopeno é incorporado às micelas lipídicas e

absorvido pelos enterócitos (PAZ et al., 2017; LOW et al., 2015; YONEKURA, NAGAO, 2007) e assim empacotado nos quilomícrons para que seja transportado pela corrente sanguínea (KRINSKY, JOHNSON, 2005; LIU et al., 2006; VON LINTIG et al., 2019). Durante a passagem dos quilomícrons pelos vasos sanguíneos, o licopeno é captado pelas diferentes células por difusão passiva e chega ao fígado carregado pelos quilomícrons remanescentes. No fígado, o licopeno é incorporado à lipoproteína VLDL e em seguida liberado na corrente sanguínea. Após a conversão da VLDL em LDL, os tecidos extra- hepáticos captam a LDL por meio de seu receptor expresso na membrana e o licopeno é liberado após a desmontagem da LDL pelo lisossomo (SRIVASTAVA, SRIVASTAVA, 2015) e assim atua como um potente antioxidante in vivo (YANG et al., 2012).

Figura 3: Estrutura carbônica do licopeno



Fonte: Adaptado de CEFALIL et al.(2009).

Dentre os carotenóides, o licopeno é o que está em maior concentração na corrente sanguínea (BOHN et al., 2017; SAINI et al., 2020) e o seu consumo regular na alimentação é suficiente para manter sua concentração em níveis normais no organismo (PORRINI et al., 1998). A maior parte do seu armazenamento ocorre no fígado, nas suprarrenais e na próstata, contudo também pode ser armazenado na pele e no cérebro (MORAN et al., 2013). O tratamento térmico do licopeno promove uma mudança conformacional da forma trans para cis aumentando a sua biodisponibilidade durante os processos de digestão e absorção (STAHL; SIES, 1992; GARTNER et al., 1997; BOILEAU et al., 2002; GRABOWSKA et al., 2019).

Vários trabalhos têm demonstrado os efeitos benéficos do licopeno à saúde, tais como: antioxidante, anti-inflamatório, anticarcinogênico e cardioprotetor (LI et al.,

2020; LIU et al., 2018; KAWATA et al., 2018; DEPLANQUE et al., 2016; JIANG et al., 2016; HASHIMOTO et al., 2019). Ademais, o licopeno promove a redução nos níveis de colesterol por inibir atividade das enzimas HMG-CoA redutase e Colesterol aciltransferase (ACAT) e a síntese de receptores da LDL (PALOZZA et al., 2012). Bernal et al., (2013) observaram que o tratamento de ratos alimentados com dieta hiperlipídica/hipercolesterolêmica com licopeno reduziu o desenvolvimento de esteatose hepática.

Em relação aos benefícios do licopeno no coração, tem sido demonstrado que a ingestão de licopeno atenua a disfunção endotelial e o estresse oxidativo, reduzindo os níveis de LDL- oxidada, portanto contribui para a redução do risco cardiovascular (ZHU et al., 2011). Przybylska & Tokarczyk (2022) relataram que o licopeno reduz a inflamação no coração e conseqüentemente a formação de placas de ateroma. Furman et al., (1997) demonstraram que a suplementação de licopeno em homens saudáveis, levou à diminuição de 14% do LDL sérico.

Diversos trabalhos têm demonstrado que o principal mecanismo exercido pelo licopeno na proteção contra DCV é através da redução da oxidação da LDL (RÃO, 2002) e diminuição do estresse oxidativo pela estimulação da expressão das enzimas antioxidantes via ativação do fator de transcrição Nrf2 (WILLCOX et al., 2003; SIES et al., 1992; ARAB & STECK, 2000. CHEN et al., 2013; ZHAO et al., 2017), promovendo um fator de proteção contra eventos deletérios no coração.

3- OBJETIVOS

3.1- Objetivo geral

- Investigar in vivo o efeito da suplementação de licopeno sobre a proteína mitofágica pink 1 em coração de ratos saudáveis.

3.2- Objetivos específicos

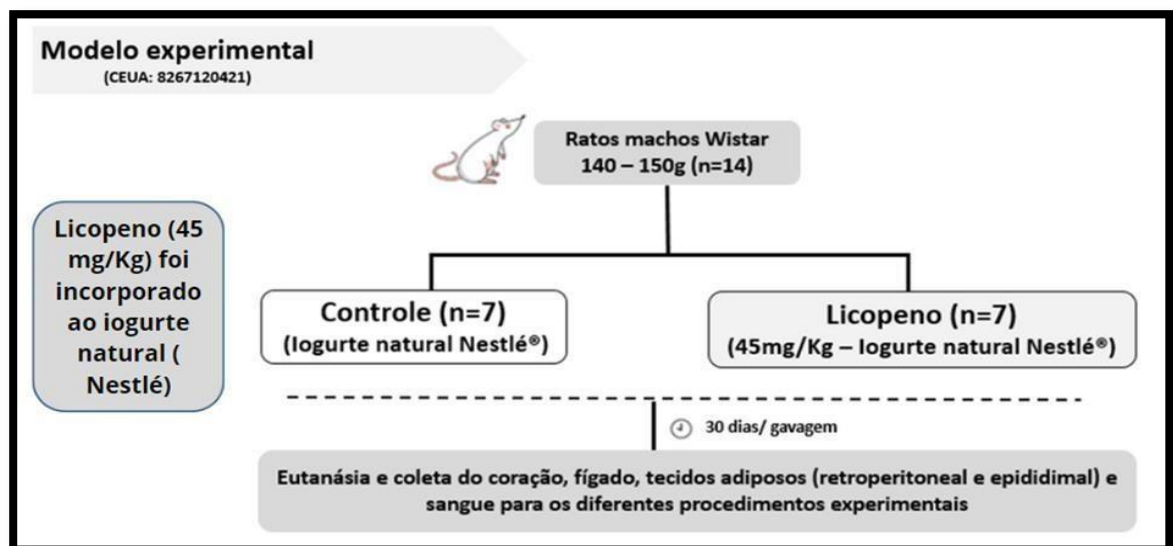
- a- Avaliar o efeito da suplementação com licopeno sobre a ingestão alimentar diária;
- b- Avaliar o efeito da suplementação com licopeno sobre as massas: corporal, cardíaca, tecidos adiposos brancos (retroperitoneal e epididimal) e fígado;
- c- Avaliar o efeito da suplementação com licopeno sobre a concentração plasmática de glicose;
- d- Avaliar o efeito da suplementação com licopeno sobre a expressão da proteína mitofágica PINK 1 em coração

4 - METODOLOGIA

4.1- Animais

Todos os procedimentos experimentais foram submetidos à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) (Nº 8267120421). Foram utilizados ratos machos Wistar (140 - 150g), provenientes do Centro de Ciência Animal (CCA) da UFOP. Os animais receberam dieta balanceada (NUVLAB CR1 - NUVITAL) para roedores e água ad libitum em ambiente com ciclos claro-escuro de 12 horas e temperatura controlada para 25°C (FIGURA 4).

Figura 4: Delineamento experimental da suplementação com licopeno por 30 dias



Fonte: Elaboração própria (2022)

Modelo experimental. Os animais foram divididos em 2 grupos: controle (n=7) e licopeno (n=7). O grupo licopeno foi tratado com licopeno (45mg/Kg) incorporado ao iogurte natural por 30 dias. Já o grupo controle recebeu apenas iogurte.

O licopeno foi incorporado ao iogurte natural (Nestlé®) e administrado por sonda orogástrica (gavagem) duas vezes ao dia (08:00 e 16:00h) durante 30 dias. Foi utilizada a dose de 45mg/Kg de licopeno que sabidamente promoveram as respostas mais efetivas da melhoria nas alterações fisiológicas e bioquímicas no diabetes experimental (ROXO et al., 2019; ASSIS et al., 2017). Os animais do grupo controle também receberam iogurte diariamente por sonda orogástrica. Os animais foram

divididos nos respectivos grupos experimentais (7 animais/grupo): controle e licopeno. Após a suplementação, os animais foram eutanasiados e os corações, fígados, tecidos adiposos (epididimal e retroperitoneal) e plasma sanguíneo utilizados nos diferentes protocolos experimentais.

4.2 - Determinação da glicemia

Os animais em experimentação ficaram 12 horas em jejum para realizar a determinação da glicemia, para isso foi utilizado o glicosímetro da marca One Call Plus.

4.3- Análise de conteúdo proteico e fosforilação da proteína PINK1 via Western blot

Os corações foram coletados e homogeneizados em tampão Tris-HCl (50mM; pH 7,4; 4°C) contendo 150mM de NaCl, 1mM de EDTA, 1% de Triton X-100, 1% de deoxicolato de sódio, 1% de SDS e inibidores de proteases e de fosfatases. O homogenato foi centrifugado a 13.000 RPM e 4°C, 50-100µl de sobrenadante e volume igual de tampão da amostra de Laemmli foram misturados, fervidos e submetidos a eletroforese em gel de SDS-PAGE. A eletro-transferência das proteínas do gel para membrana foi realizada a 400 mA em sistema de transferência tanque por 1:30h. Após o bloqueio, as membranas foram incubadas com anticorpos primários específicos e posteriormente com anticorpo secundário conjugado com horseradish peroxidase (HRP). A revelação foi realizada após incubação das membranas com reagente amplificador de quimioluminescência e expostas ao filme fotográfico na câmara escura. A análise das bandas (densitometria) foi realizada no programa ImageJ versão 1.46m. As concentrações de proteínas no sobrenadante de homogenato de coração foram determinadas de acordo com Lowry et al. (1951).

4.4- Análise estatística

Os resultados foram expressos como Médias \pm Desvio padrão. Para a análise

estatística dos resultados entre os grupos controle e licopeno foi empregado o teste “t” student (não pareado) e o nível de significância utilizado foi de 5%

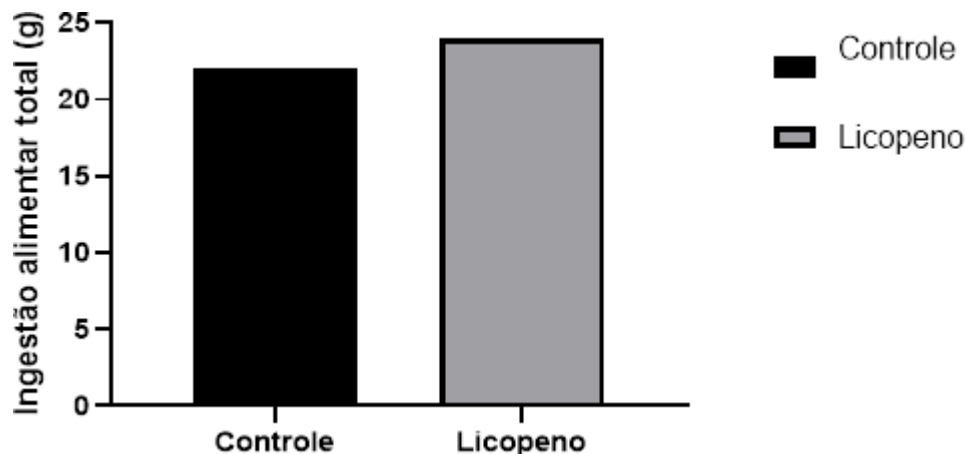
5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atualmente, é sabido que o licopeno exerce um importante papel na manutenção da homeostase cardíaca e seu papel cardioprotetor está relacionado com a melhora do perfil lipídico, da pressão arterial e da função endotelial (CHENG et al., 2017). O presente trabalho mostra o papel do licopeno na regulação da expressão da proteína mitofágica PINK 1 em coração de ratos normais.

5.1- Efeito da suplementação com licopeno sobre a ingestão diária alimentar (g) por 30 dias

Na figura 5 estão apresentadas as médias dos valores referentes à ingestão total alimentar dos dois grupos experimentais.

Figura 5- Efeito da suplementação com licopeno sobre a ingestão total alimentar (g) por 30 dias



Fonte: Elaboração própria (2022)

Ingestão total alimentar (gramas). Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão. O efeito do tratamento com licopeno por 30 dias foi analisado pelo teste t Student não pareado (n=7 animais/grupo).

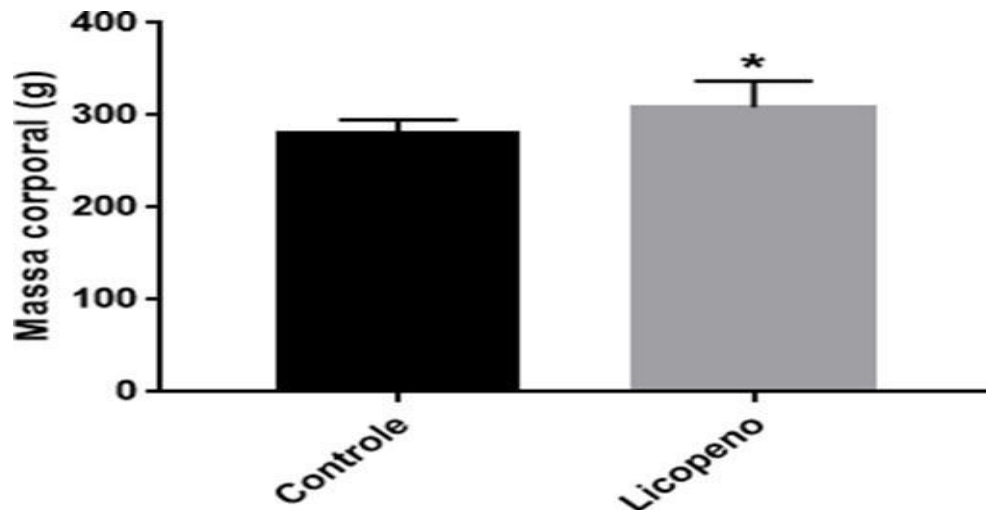
O tratamento com licopeno não alterou a ingestão alimentar total dos animais dos dois grupos experimentais. Figueredo et al.(2020) e Assis et al. (2017) também observaram que o licopeno não altera a ingestão alimentar diária no modelo

experimental de diabetes induzido por estreptozotocina.

5.2- Efeito da suplementação com licopeno sobre a massa corporal (g) por 30 dias

Na figura 6 estão apresentadas as médias dos valores referentes à massa corporal dos grupos experimentais.

Figura 6- Efeito da suplementação com licopeno sobre a massa corporal (g) por 30 dias



Fonte: Elaboração própria (2020)

Massa corporal (gramas). Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão. O efeito do tratamento com licopeno por 30 dias foi analisado pelo teste t-Student não pareado. * $p \leq 0,05$ (n=7 animais/grupo).

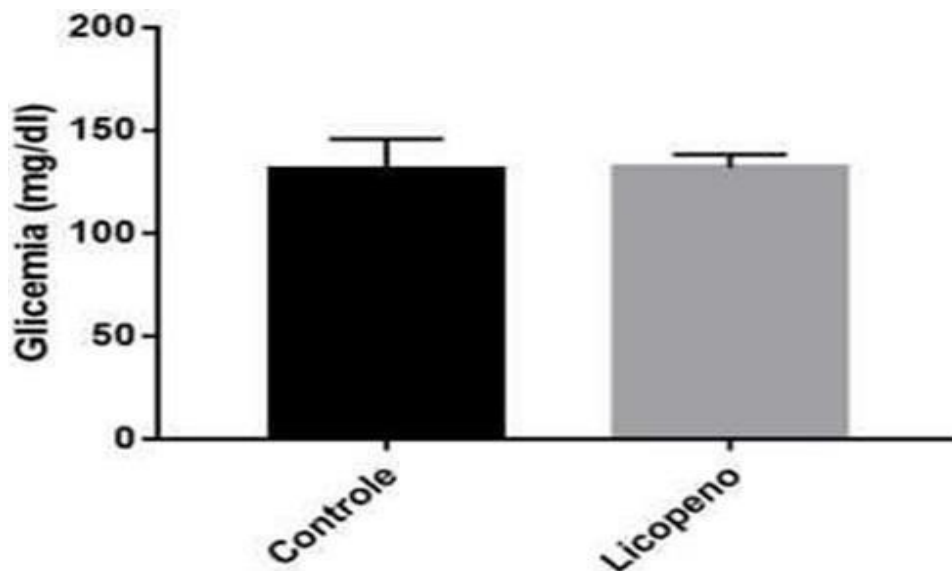
Foi observado que a suplementação com licopeno por 30 dias promoveu aumento de 10% na massa corporal em comparação ao grupo controle. Com base em nossos dados sugerimos que esse aumento de peso seja devido ao efeito do licopeno no metabolismo da musculatura esquelética, uma vez que não ocorreu aumento da ingestão diária alimentar (FIGURA 1) e o licopeno reduziu a massa adiposo retroperitoneal (TABELA 1). Corroborando nossa hipótese, Wen et al. (2021) observaram que o licopeno promoveu a conversão do tipo de fibra muscular de contração rápida para contração lenta em camundongos C57bl6 e em miotubos C2C12. Adicionalmente, Liu et al. (2020) relataram que a suplementação de licopeno aumentou a expressão proteica de fibra de contração lenta e atividades das enzimas

succinato desidrogenase e enzima málica desidrogenase, demonstrando que o licopeno tem um papel importante na manutenção da homeostase da musculatura esquelética.

5.3- Efeito da suplementação com licopeno sobre a glicemia (mg/dl) por 30 dias

Na figura 7 estão apresentadas as médias dos valores referentes à glicemia dos grupos controle e licopeno.

Figura 7- Efeito da suplementação com licopeno sobre a glicemia (mg/dl) por 30 dias



Fonte: Elaboração própria (2022)

Glicemia (mg/dl). Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão. O efeito do tratamento com licopeno por 30 dias foi analisado pelo teste t Student não pareado (n=7 animais/grupo).

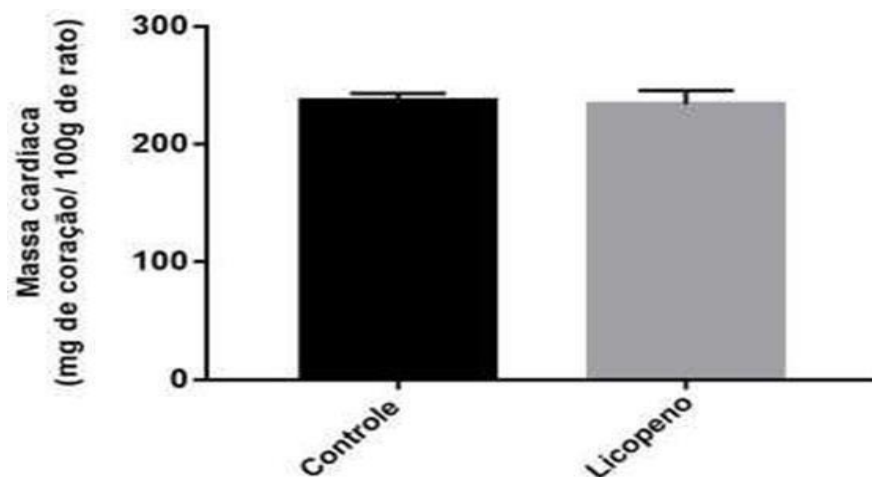
Após 30 dias de tratamento, o licopeno não promoveu alteração na concentração plasmática de glicose em comparação ao grupo controle. Apesar de que o nosso resultado não demonstrou efeito do licopeno sobre a glicemia, há estudos que relatam que o licopeno é capaz de produzir efeitos benéficos no metabolismo da glicose. Zhu et al. (2020) demonstraram que a suplementação durante 8 semanas de licopeno foi capaz de reduzir os parâmetros glicêmicos em ratos alimentados com uma dieta hiperlipídica em comparação ao grupo controle. Além disso, outro estudo demonstrou que a suplementação com licopeno inibiu a elevação nos níveis de insulina

de ratos alimentados com uma dieta hiperlipídica e, também, levou à atenuação dos níveis glicêmicos em jejum. Dessa forma, demonstrando que o licopeno foi capaz melhorar a sensibilidade a insulina (ZENG et al., 2017). Estes trabalhos ajudam a corroborar a hipótese que mesmo em modelos experimentais onde não há um estabelecimento de um quadro de diabetes ou resistência à insulina o licopeno é capaz de regular o metabolismo glicídico em ratos normais, favorecendo um quadro de normoglicemia.

5.4- Efeito da suplementação com licopeno sobre a massa relativa do coração (mg) por 30 dias

Na figura 8 estão apresentadas as médias dos valores referentes à massa do coração após o tratamento com licopeno nos ratos dos grupos experimentais.

Figura 8- Efeito do tratamento com licopeno sobre a massa relativa do coração (mg) por 30 dias



Fonte: Elaboração própria (2022)

Massa do coração (mg). Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão. O efeito do tratamento com licopeno por 30 dias foi analisado pelo teste t *Student* não pareado (n=7 animais/grupo).

O tratamento com licopeno por 30 dias não alterou a massa cardíaca em relação ao grupo controle. Entretanto, trabalhos na literatura têm demonstrado que o licopeno tem um papel importante na homeostase cardíaca. Zeng et al. (2019) demonstraram que o licopeno bloqueou a hipertrofia cardíaca pela redução da produção de espécies reativas em modelos in vivo de isquemia e reperfusão. Portanto, como observado na concentração plasmática de glicose, o efeito cardioprotetor do licopeno é potencializado em modelos animais com alterações cardiovasculares pré-estabelecidas.

5.5- Efeito da suplementação com licopeno sobre os tecidos do fígado, epididimal e retroperitoneal por 30 dias

Na tabela 1, estão apresentadas as médias dos valores referente às massas do fígado e tecidos adiposos brancos epididimal e retroperitoneal após o tratamento com licopeno por 30 dias.

Tabela 1: Efeito da suplementação com licopeno sobre os tecidos do fígado, epididimal e retroperitoneal por 30 dias

Tecido (mg/100g de rato)	Controle	Licopeno
Fígado	4,3 ± 0,14	3,9 ± 0,16
Epididimal	0,78 ± 0,02	0,74 ± 0,12
Retroperitoneal	1,04 ± 0,03	0,90 ± 0,04

Fonte: Elaboração própria (2022)

Massas do fígado e tecidos adiposos brancos (epididimal e retroperitoneal). Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão. O efeito do tratamento com licopeno por 30 dias foi analisado pelo teste t-Student não pareado. *p≤ 0,05 (n=7 animais/grupo)

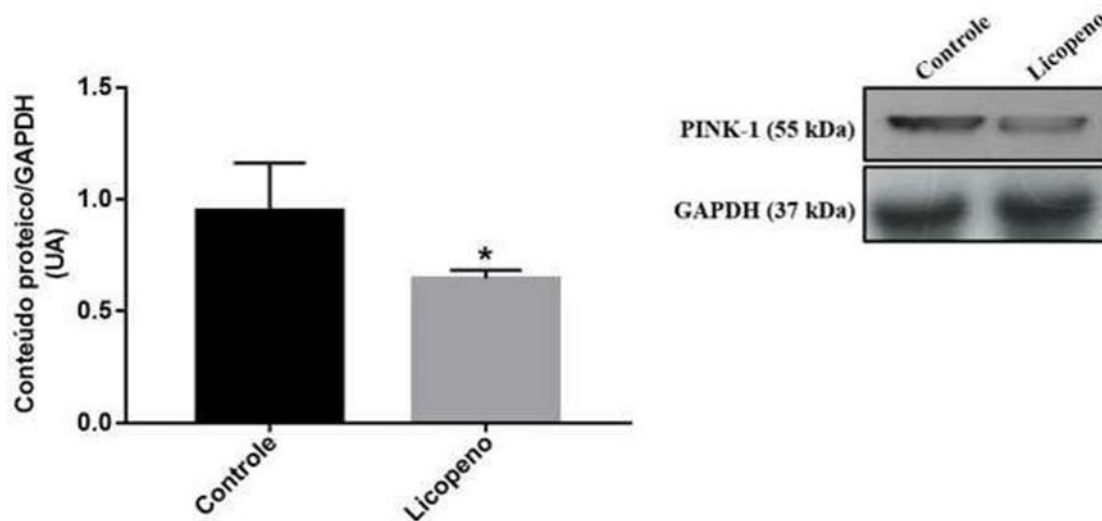
A administração diária de licopeno não alterou a massa do fígado e do tecido adiposo epididimal. Entretanto, promoveu uma redução de 14% na massa do tecido adiposo retroperitoneal em relação ao grupo controle. Trabalhos na literatura têm

demonstrado que o licopeno exerce efeitos positivos atenuando o aumento da adiposidade. Wang et al. (2019) demonstraram que a suplementação de licopeno suprimiu um aumento da adiposidade por reduzir a expressão de genes envolvidos na lipogênese, ao mesmo tempo que aumentou a expressão de genes relacionados a lipólise, genes funcionais termogênicos e mitocondrial em ratos obesos.

5.6- Efeito do tratamento com licopeno sobre a expressão proteica de PINK1 em coração

Na figura 9 estão apresentadas as médias dos valores referente ao conteúdo proteico da proteína mitofágica PINK1 dos grupos experimentais controle e licopeno.

Figura 9- Efeito do tratamento com licopeno sobre a expressão proteica de PINK1 em coração



Fonte: Elaboração própria (2022)

Conteúdo proteico de PINK1. Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão. O efeito do tratamento com licopeno por 30 dias foi analisado pelo teste t *Student* não pareado (n=7 animais/grupo). A expressão da proteína GAPDH foi utilizada para normalizar os resultados

O grupo tratado com licopeno por 30 dias apresentou uma redução de 31% na expressão da proteína PINK-1 quando comparado ao grupo controle. Zhao et al.

(2022) observaram que o licopeno foi capaz prevenir o distúrbio de controle de qualidade mitocondrial hepático induzido por DEHP (Di 2-etilhexil ftalato) através da regulação do eixo SIRT1/PINK1/mitofagia. Dai et al. (2021) observaram uma redução na expressão gênica e proteica de PINK1 em camundongos tratados com licopeno após a exposição ao DEHP. Estes dados corroboram nossa hipótese que o licopeno é capaz de controlar o processo mitofágico e a dinâmica mitocondrial na musculatura cardíaca.

6- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseado no conjunto de dados apresentados neste trabalho, podemos inferir que o licopeno desempenha um importante papel na manutenção do metabolismo celular. Além disso, demonstramos que o licopeno reduz a expressão da proteína mitofágica PINK1, sugerindo um controle do processo mitofágico e manutenção da homeostase mitocondrial em coração de ratos normais.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SILVA-GOMES, Paula. **Papel da insulina e das catecolaminas na expressão de componentes de vias proteolíticas no coração e em cultura de cardiomiócitos de roedores.** 2013 tese (doutorado). Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. Orientadora: Isis do Carmo Kettehut.

*World health organization – WHO. **Cardiovascular diseases (CVDs).*** 11 de Junho de 2021. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)Cardiovascular-diseases-\(CVDs\)aretheandmiddle-incomecountries](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)Cardiovascular-diseases-(CVDs)aretheandmiddle-incomecountries). Acesso em: 01 de abril de 2022.

MOZAFFARIAN, Dariush; APPEL, Lawrence, J. ;VAN HORN, Linda. *Components of a Cardioprotective Diet. **Circulation.*** 2011-123-2870-2891 doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.968735. - DOI - PMC - PubMed

SESSO, Howard D.; LIU, Simin; GAZIANO, J. Michael; BURING, Julie E. *Dietary Lycopene, Tomato-Based Food Products and Cardiovascular Disease in Women. **The Journal of Nutrition.*** 2003.

JACQUES, Paulo F.; LYASS, Asya. MASSARO, José M.; VASAN, Ramachandran S.; D'AGOSTINO, Ralph B. *Relationship of lycopene intake and consumption of tomato products to incident CVD. **The British Journal of Nutrition.*** 2013.

MEIN, Jonathan R.; LIAN, Fuzi; WANG, Xiang Dong. *Biological activity of lycopene metabolites: implications for cancer prevention. **Nutrition Reviews.*** 2008.

BOHM, Volker. *Lycopene and heart health. **Molecular nutrition & food research.*** 2012.

VASQUEZ-TRINCADO, César; CARVAJAL, Ivonne Garcia; PENNANEM, Valentina Parra; COLINA, José A. ROTHERMEL, Bervely A.; LAVANDERO, Sérgio. *Mitochondrial dynamics, mitophagy and cardiovascular disease. **The Journal of physiology.*** 2016.

KUBLI, Dieter A. ; ASA, Gustavo B.; *Mitochondria and mitophagy: the yin and yang of cell death control. **Circulation research.*** 2012.

SAN PEDRO, José Manuel Bravo; KROEMER, Guido; GALLUZZI, Lorenzo. *Autophagy and Mitophagy in Cardiovascular Disease. **Circulation reserach.*** 2017. 1812-1824.

RICCIONI, Graziano; MANCINI, Bárbara; DI ILIO, Emanuela.; BUCCIARELLI, Tonino; D'ORAZIO, Nicolantonio. *Protective effect of lycopene in cardiovascular disease. **European review for medical and pharmacological sciences.*** 2008.

CASEIRO, Mélanie; ASCENSO, Andréia; COSTA, Ana; FLYNN, Jack Creagh; . *Lycopene in human health. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*** 127(1):109323 DOI: 10.1016/j.lwt.2020.1093232020.

MAULIK, Subir, Kumar, KUMAR, Santosh. *Oxidative stress and cardiac hypertrophy: a review. **Toxicology mechanisms and methods.*** 2012.

YUE, Rongchuan; XIA, Xuwei; JIANG, Jiahui; YANG, Dezhong; HAN, Yu; CHEN,

Xiongwen; CAI, Yue; LI, Liangpeng; WANG, Wei Eric; ZENG, Chunyu. . *Oxidative damage to mitochondrial DNA contributes to ischemia/reperfusion injury of cardiomyocytes in rats: cardioprotective role of lycopene*. **Cell Physiology Journal**. 2015. set;230(9):2128-41. doi: 10.1002/jcp.24941.

CHAO, Hung-Hsing; SUNG, Li-Chin; CHEN, Cheng-Hsien; LIU, Ju Chi; CHEN, Jin Jer; CHENG, Tzu-Hurng. *Lycopene Inhibits Urotensin-II-Induced Cardiomyocyte Hypertrophy in Neonatal Rat Cardiomyocytes*. **Evidence-based complementary and alternative medicine**. 2014.

YUE, Rongchuan; XIA, Xuwei; JIANG, Jiahui; YANG, Dezhong; HAN, Yu; CHEN, Xiongwen; CAI, Yue; LI, Liangpeng; WANG, Wei Eric; ZENG, Chunyu. . *Oxidative damage to mitochondrial DNA contributes to ischemia/reperfusion injury of cardiomyocytes in rats: cardioprotective role of lycopene*. **Cell Physiology Journal**. 2015. set;230(9):2128-41. doi: 10.1002/jcp.24941.

CHENG, Ho Ming; KOUTSIDIS, Georgios; LODGE, John K.; ASHOR, Ammar; SIRVO, Mário; LARA, José. *Tomato and lycopene supplementation and cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis*. **Atherosclerosis**. 2017. Feb;257:100-108. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.01.009. Epub 2017 Jan 13. PMID: 28129549.

FRIEDMAN, Mendel. *Anticarcinogenic, cardioprotective, and other health benefits of tomato compounds lycopene, α -tomatine, and tomatidine in pure form and in fresh and processed tomatoes*. **Journal of agricultural and food chemistry**. 2013.

THIES Frank; MILLS Lynsey M.; MOIR Susan; MASSON Lindsey F.; *Cardiovascular benefits of lycopene: fantasy or reality?* **Proc Nutr Soc**. 2017 May;76(2):122-129. doi: 10.1017/S0029665116000744. Epub 2016 Sep 9. PMID: 27609297.

AIRES, Margarida de Mello; CASTRUCCI, Ana Maria de Lauro; ARRUDA, Ana Paula; TORRÃO, Andréia S.; CARPINELLI, Ângelo Rafael; LOPES, Aníbal Gil; BIANCO, Antônio Carlos. **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008.

GUYTON, Arthur C.; HALL, John Edward; **Tratado de fisiologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro. Elsevier. 2006.

MENSAH, George A.; ROTH, Gregório A.; FUSTER, Valentin. *The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors: 2020 and Beyond*. **Journal of the American College of Cardiology**. 2019.

AMINI, Maede, ZAYERI, Farid, SALEHI, Masoud. *Trend analysis of cardiovascular disease mortality, incidence, and mortality-to-incidence ratio: results from global burden of disease study 2017*. **BMC Public Health**. 2021.

World health organization - WHO. **Definition of cardiovascular diseases**. 2021. Disponível em: <https://www.euro.who.int/en/health-topics/noncommunicable-diseases/cardiovascular-diseases/cardiovascular-diseases2/definition-of-cardiovascular-diseases> . Acesso: 11 de abril de 2022.

GLOBAL HEALTH METRICS. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The lancet*. 2017.

LOZANO, Rafael; NAGHAVI, Mohsen; FOREMAN, Kyle; LIMA, Stephen, SHIBUYA, Kenji; ABOYANS, Victor *et al.* *Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010*. *The lancet*. 2013. volume 380, edição 9859, p2095-2128, 15 de dezembro de 2012

MUSINGUZI, Geoffrey; NDEJJO, Rawlance; SSINABULYA, Isaac; BASTIAENS, Hilde. Cardiovascular risk factor mapping and distribution among adults in Mukono and Buikwe districts in Uganda: small area analysis. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2020.

ASHRAFIAN, Houman.; FRENNEAUX, Michael P.; OPIE, Lionel H.; Metabolic mechanisms in heart failure. *Circulation*. 2007.

DORN, Gerald W.; VEGA, Rick B.; KELLY, Daniel P.; *Mitochondrial biogenesis and dynamics in the developing and diseased heart*. *Genes Dev*. 2015 Oct 1;29(19):1981-91. doi: 10.1101/gad.269894.115. PMID: 26443844; PMCID: PMC4604339.

ZHOU,Bo; TIAN, Rong. *Mitochondrial dysfunction in pathophysiology of heart failure*. *J. Clin. Invest*. 2018 Aug 31;128(9):3716-3726. doi: 10.1172/JCI120849; PMCID: PMC6118589

ABDEL- RAHMAN, Engy A.; HOSSEINY, Salma; ABDULLAH, Aaliya; MOHAMED, Adel; YASSEEN, Basma A.; AL-OKDA A, Yasmine Radwan; SABER, Saber H.; ELKHOLY, Nada; ELHANAFY, Eslam; WALKER, Emily E.; ZUNIGA-HERTZ, Juan P.; PATEL, Hemal H.; GRIFFITHS, Helen R.; ALI, Sameh S. Sleep/wake calcium dynamics, respiratory function, and ROS production in cardiac mitochondria. *J ADV RES*. 2021 Jan 12;31:35-47. doi: 10.1016/j.jare.2021.01.006. PMCID: PMC8240107

YOO, Seung, Min; JUNG, Yong-Keun. *A Molecular Approach to Mitophagy and Mitochondrial Dynamics*. *Mol Cells*. 2018 Jan 31;41(1):18-26. doi: 10.14348/molcells.2018.2277. PMCID: PMC5792708

YANG, Mingjie; LINN, Becky S.; ZHANG, Yingmei; REN, Jun. *Mitophagy and mitochondrial integrity in cardiac ischemia-reperfusion injury*. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019 Sep 1;1865(9):2293-2302. PMID: 31100337

MIZUSHIMA, Noboru; KOMATSU, Masaak.. *Autophagy: renovation of cells and tissues*. *Cell*. 2011 Nov 11;147(4):728-41. doi: 10.1016/j.cell.2011.10.026. PMID: 22078875.

MORISHITA, Hideaki; MIZUSHIMA, Noboru. *Diverse Cellular Roles of Autophagy. Annual review of cell and developmental biology*. 2019. **Revisão Anual da Biologia Celular e do Desenvolvimento**. Vol. 35:453-475 <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100818-125300>

- KAUSHIK, Susmita; CUERVO, Ana, Maria. *The coming of age of chaperone-mediated autophagy*. **Nature reviews molecular cell biology**. 2018, Jun;19(6):365-381. doi: 10.1038/s41580-018-0001-6. PMID: 29626215; PMCID: PMC6399518.
- OKU, Masahide; SAKAI, Yasuyoski. *Three Distinct Types of Microautophagy Based on Membrane Dynamics and Molecular Machineries*. **Bioessays**. 2018, Jun;40(6):e1800008. doi: 10.1002/bies.201800008. Epub 2018 Apr 30. PMID: 29708272.
- GALLUZI, Lorenzo; VERDE, Douglas. *Autophagy-Independent Functions of the Autophagy Machinery*. **Cell**. 2019 Jun 13;177(7):1682-1699. doi: 10.1016/j.cell.2019.05.026. PMCID: PMC7173070
- FENG, Yuchen; HE, Ding; YAO, Zhiyuan, KLIONSKY, Daniel J. *The machinery of macroautophagy*. **Cell Res**. 2014 Jan;24(1):24-41. doi: 10.1038/cr.2013.168. Epub 2013 Dec 24. PMID: 24366339; PMCID: PMC3879710.
- SHIRAKABE, Akihiro; IKEDA, Yoshiyuki; SCIARRETTA, Sebastiano; ZABLOCKI, Daniela K.; SADOSHIMA, Junichi. *Aging and Autophagy in the Heart*. **Circ Res**. 2016 May 13;118(10):1563-76. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.307474. PMID: 27174950; PMCID: PMC4869999.
- ABDELLATIF, Mahmoud; LJUBOJEVIC-HOLZER, Senka; MADEO, Frank; SEDEJ, Simon. *Autophagy in cardiovascular health and disease*. **Prog Mol Biol Transl Sci**. 2020;172:87-106. doi: 10.1016/bs.pmbts.2020.04.022. Epub 2020 May 12. PMID: 32620252.
- BÉCHET, Daniel; TASSA, amina; TAILLANDIER, Daniel; COMBARET, Lydie; ATTAIX, Didier. *Proteólise lisossomal no músculo esquelético*. **Jornal internacional de bioquímica e biologia celular**. Volume 37, Edição 10 , Outubro de 2005 , p. 2098-2114 <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.02.029>
- LIESA, Marc; SHIRIHA, Orian, S. *Mitochondrial dynamics in the regulation of nutrient utilization and energy expenditure*. **Cell metabolism**. 2013. Apr 2;17(4):491-506. doi: 10.1016/j.cmet.2013.03.002. PMID: 23562075; PMCID: PMC5967396.
- SCIARRETTA, Sebastiano; MAEJIMA, Yasuhiro; ZABLOCKI, Daniela; SADOSHIMA, Junichi. *The role of autophagy in the heart*. **Annual Review of Physiology**. 2017. Vol. 80:1-26 (data de publicação do volume fevereiro de 2018) <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021317-121427>.
- NOBUTAKA, Takahashi; SHIGEO, Yoshida; AKINORI, Suzuki; SABURO, Tamura. *Química orgânica. Estrutura Química da Piericidina A*. Parte VI. Estereoquímica 2014. *Química Agrícola e Biológica* , Volume 32, Edição 9, 1º de setembro de 1968, Páginas 1108– 1114, <https://doi.org/10.1080/00021369.1968.10859190>.
- VIVES-BAUZA Cristofol; ZHOU, Chun; HUANG, Yong; CUI, Mei; DE VRIES Rosa LA; KIM, Jiho; MAY, Jéssica; TOCILESCU, Maja Aleksandra; LIU, Wencheng; KO, Han Seok; Régis; DAWSON, Ted M.; LI, Chengian; TIEU, Kim; PRZEDBORSKI, Serge. *PINK1- dependent recruitment of Parkin to mitochondria in mitophagy*. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2010 Jan 5;107(1):378-83. doi: 10.1073/pnas.0911187107. Epub 2009 Dec 4. PMID: 19966284; PMCID: PMC2806779.
- MATSUDA, Nori; SATO Shigeto; SHIBA Kahori; OKATSU Kei; SAISHO Keiko;

- GAUTIER Clement A.; SOU Yu Shin; SAIKI Shingi; KAWAJIRI Sumihiro; SATO Fumiaki; KIMURA Mayumi; KOMATSU Masaaki; HATTORI Nobutaka; TANAKA Keiji; *PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy.* **J Cell Biol.** 2010 Apr 19;189(2):211-21. doi: 10.1083/jcb.200910140. PMID: 20404107; PMCID: PMC2856912.
- NARENDRA Derek; TANAKA Atsuh; SUEN, Der-Fen; YOULE, Richard J. *Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy.* **J Cell Biol.** 2008 Dec 1;183(5):795-803. doi: 10.1083/jcb.200809125. Epub 2008 Nov 24. PMID: 19029340; PMCID: PMC259282
- JIN, Seok Min; LAZAROU, Miguel; WANG, Chunchin; KANE, Lesley A.; NARENDRA, Derek P.; YOULE, Richard J. *Mitochondrial membrane potential regulates PINK1 import and proteolytic destabilization by PARL.* **J Cell Biol.** 2010 Nov 29;191(5):933-42. doi: 10.1083/jcb.201008084. PMID: 21115803; PMCID: PMC2995166.
- KITADA, Tohru; ASAKAWA, Shuichi; HATTORI, Nobutaka; MATSUMINE, Hiroto; YAMAMURA, Yashuiro; MINOSHIMA, Shinsei; YOKOCHI, Masayuki; MIZUNO, Yoshikuni; SHIMIZU, Nobuyoshi. *Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism.* **Nature.** 1998 Apr 9;392(6676):605-8. doi: 10.1038/33416. PMID: 9560156.
- KITADA, Tohru; ASAKAWA, Shuichi; MINOSHIMA, Shinsei; MIZUNO, Yoshikuni; SHIMIZU, Nobuyoshi. *Molecular cloning, gene expression, and identification of a splicing variant of the mouse parkin gene.* **Mamm Genome.** 2000 Jun;11(6):417-21. doi: 10.1007/s003350010080. PMID: 10818204.
- ZIVIANI, Elena; TAO, Ran N.; WHITWORTH, Alexander J. *Drosophila parkin requires PINK1 for mitochondrial translocation and ubiquitinates mitofusins.* **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2010 Mar 16;107(11):5018-23. doi: 10.1073/pnas.0913485107. Epub 2010 Mar 1. PMID: 20194754; PMCID: PMC2841909.
- SHIMIZU, Shigeomi; HONDA, Shinya; ARAKAWA, Satoko; YAMAGUCHI, Hirofumi. *Alternative macroautophagy and mitophagy.* **Int J Biochem Cell Biol.** 2014 May;50:64-6. doi: 10.1016/j.biocel.2014.02.016. Epub 2014 Feb 22. PMID: 24569119.
- YANG, Zhifen, KLIONSKY, Daniel, J. Mammalian autophagy: core molecular machinery and signaling regulation. *Current opinion in cell biology.* 2010.
- WIRTH, Thomás; PARKER, Niguel; YLÄ-HERTTUALA, Seppo. *History of gene therapy.* **Gene.** 2013 Aug 10;525(2):162-9. doi: 10.1016/j.gene.2013.03.137. Epub 2013 Apr 23. PMID: 23618815.
- SAN PEDRO, José Manuel Bravo; KROEMER, Guido; GALLUZZI, Lorenzo. *Autophagy and Mitophagy in Cardiovascular Disease.* **Circulation reserach.** 2017. MAGRANE
- WU, Shengnan, ZOU, Ming, Hui. AMPK, *Mitochondrial Function, and Cardiovascular Disease.* **International journal of molecular sciences.** 2020.
- PENNATHUR, Subramanian; MAITRA, Dhiman; BYUN, Jaeman; SLISKOVIC, Inga; ABDULHAMID, Ibrahim; SAED, Ghassan M.; DIAMOND, Michael P.; ABU-SOUD,

- Hussan M. *Potent antioxidative activity of lycopene: A potential role in scavenging hypochlorous acid.* **Free Radic Biol Med.** 2010 Jul 15;49(2):205-13. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.003. Epub 2010 Apr 11. PMID: 20388538; PMCID: PMC3416054.
- YIN, Yimin; ZHENG, Zicong; JIANG, Zhuoquin. *Effects of lycopene on metabolism of glycolipid in type 2 diabetic rats.* **Biomed Pharmacother.** 2019 Jan;109:2070-2077. doi: 10.1016/j.biopha.2018.07.100. Epub 2018 Nov 26. PMID: 30551463.
- PAZ, Braúlio Cervantes; ORNELAS-PAZ José de Jesus; RUIZ-CRUZ Saúl; RIOS-VELASCO Cláudio; IBARRA-JUNQUERA, Vrani; YAHIA, Elhadi M.; GARDEA-BÉJAR, Alfonso A. *Effects of pectin on lipid digestion and possible implications for carotenoid bioavailability during pre-absorptive stages: A review.* **Food Res Int.** 2017 Sep;99(Pt 2):917-927. doi: 10.1016/j.foodres.2017.02.012. Epub 2017 Feb 21. PMID: 28847428.
- LOW, Dorrain; D'ARCY, Bruce Robert; GIDLEY, Mike; Mastication effects on carotenoid bioaccessibility from mango fruit tissue. *Food Research International* (67). 2015.238-246.
- YONEKURA, Lina, NAGAO, Akihiko. *Intestinal absorption of dietary carotenoids.* 1- **Molecular nutrition and food research.** 2007.
- KRINSKY, Norman, I. JOHNSON, Elizabeth. *Carotenoid actions and their relation to health and disease.* **Molecular aspects of medicine.** 2005.
- LIU, Ang; PAJKOVIC, Natasa; PANG, Yan; ZHU, Dongwei; CALAMINI, Bárbara; MESECAR, André L; VAN BREEMEN, Richard B. *Absorption and subcellular localization of lycopene in human prostate cancer cells.* **Mol Cancer Ther.** 2006 Nov;5(11):2879-85. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-06-0373. PMID: 1712193.
- VON LINTIG, Johannes; MOON, Jean; LEE, Joan; RAMKUMAR, Srinivasagam. *Carotenoid metabolism at the intestinal barrier.* **Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.** 2020 Nov;1865(11):158580. doi: 10.1016/j.bbalip.2019.158580. Epub 2019 Nov 30. PMID: 31794861; PMCID: PMC7987234.
- SRIVASTAVA, Soma, SRIVASTAVA, Avanish Kumar. *Lycopene; chemistry, biosynthesis, metabolism and degradation under various abiotic parameters.* **J Food Sci Technol.** 2015.
- YANG, Chih Min; LU, I-Husuan; CHEN, Huei Yan; HU, Miao Lin. *Lycopene inhibits the proliferation of androgen-dependent human prostate tumor cells through activation of PPAR γ -LXR α -ABCA1 pathway.* **J Nutr Biochem.** 2012 Jan;23(1):8-17. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.10.006. Epub 2011 Feb 21. PMID: 21334870.
- CEFALIL, Letícia Caramori; RINALDO, Daniel; BARBOSA, Fernanda Fernandes; SALGADO, Hérida; VILEGAS, Wagner; OLIVEIRA, Olga M. M. Faria de; ISAAC, Vera L. B. *Tomate Salada: Uma Alternativa como Fonte de Antioxidante para Uso Tópico.* **Latin American Journal of Pharmacy (formerly Acta Farmacéutica Bonaerense).** 2009. Nov. V. 28 n. 4: p. 589-593, 2009
http://www.latamjpharm.org/trabajos/28/4/LAJOP_28_4_2_3_66E0296QKV.pdf

BOHN, Torsten; DESMARCHELIER, Charles; DRAGSTED, Lars O.; NIELSEN, Charlotte S.; STAHL, Wilhelm; RÜHL, Ralph; KEIJER, Jaap; BOREL, Patricki. Fatores relacionados ao hospedeiro que explicam a variabilidade interindividual da biodisponibilidade de carotenóides e das concentrações teciduais em humanos. **Mol Nutr Food Res.** jun de 2017;61(6):1600685. doi: 10.1002/mnfr.201600685. Epub 2017 27 de fevereiro. PMID: 28101967; PMCID: PMC5516247.

SAINI, Ramesh Kumar; RENGASAMY, Kannan R. R.; MAHOMOODALLY, Fawzi M.; KEUM, Young Soo. *Protective effects of lycopene in cancer, cardiovascular, and neurodegenerative diseases: An update on epidemiological and mechanistic perspectives.* **Pharmacol Res.** 2020 May;155:104730. doi: 10.1016/j.phrs.2020.104730. Epub 2020 Feb 29. PMID: 32126272.

PORRINI, Marisa; RISO, Patrícia; TESTOLIN, Giulio. *Absorption of lycopene from single or daily portions of raw and processed tomato.* **Br J Nutr.** 1998 Oct;80(4):353-61. doi: 10.1079/096582198388300. PMID: 9924277.

MORAN, Norin E.; ERDMAN JR John W.; CLINTON, Steven K. *Complex interactions between dietary and genetic factors impact lycopene metabolism and distribution.* **Arch Biochem Biophys.** 2013 Nov 15;539(2):171-80. doi: 10.1016/j.abb.2013.06.017. Epub 2013 Jul 8. PMID: 23845854; PMCID: PMC3818361

STAHL, Wilhelm; SIES, Helmut. *Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans.* **Journal of Nutrition.** v.122, n.11. 1992.

GÄRTNER, Christian ; STAHL, Wilhelm; SIES, Helmut. *Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes.* **Am J Clin Nutr.** 1997 Jul;66(1):116-22. doi: 10.1093/ajcn/66.1.116. PMID: 9209178.

BOILEAU, Thomas W.; BOILEAU, Amy C.; ERDMAN JR John W. *Bioavailability of all- trans and cis-isomers of lycopene.* **Exp Biol Med (Maywood).** 2002 Nov;227(10):914-9. doi: 10.1177/153537020222701012. PMID: 12424334.

GRABOWSKA, Malgorzata; WAWRZYNIAC, Dariuz; ROLLE, Katarzyna; CHOMCZYNSKI, Piotri; OZIEWICZ, Jurga; BARCISZEWSKI, Jan. *Let food be your medicine: nutraceutical properties of lycopene.* **Royal Society of Chemistry.** 2019.

LI, Ni; WU, Xiaoting; ZHUANG, Wen; XIA, Lin; CHEN, Yi; WU, Chuncheng; RAO, Zhiyong; DU, Liang; ZHAO, Rui; YI, Mengshi; WAN, Qianyi; ZHOU, Yong. *Tomato and lycopene and multiple health outcomes: Umbrella review.* **Food Chem.** 2021 May 1;343:128396. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128396. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33131949.

LIU, Xingting; LIN, Xin; ZHANG, Siyu; GUO, Changquan; LI, Jian; MI, Yuling; ZHANG, Caiqiao. *Lycopene ameliorates oxidative stress in the aging chicken ovary via activation of Nrf2/HO-1 pathway.* **Ageing (Albany NY).** 2018 Aug 16;10(8):2016-2036. doi: 10.18632/aging.101526. PMID: 30115814; PMCID: PMC6128425.

KAWATA, Akifumi; MURAKAMI, Yukio; SUZUKI, Seiji; FUJISAWA, Seiichiro. *Anti-inflammatory Activity of β -Carotene, Lycopene and Tri-n-butylborane, a Scavenger of Reactive Oxygen Species.* **In Vivo.** 2018 Mar-Apr;32(2):255-264. doi: 10.21873/invivo.11232. PMID: 29475907; PMCID: PMC5905192.

DEPLANQUE, Xavier; MUSCENTE-PAQUE, Delphine; CHAPPUIS, Eric. Proprietary tomato extract improves metabolic response to high-fat meal in healthy normal weight subjects. *Food Nutr Res.* 2016 Oct 4;60:32537. doi: 10.3402/fnr.v60.32537. PMID: 27707453; PMCID: PMC5052516.

JIANG, Wei; GUO, Mei Hua; HAI, Xin. *Hepatoprotective and antioxidant effects of lycopene on non-alcoholic fatty liver disease in rat.* **World J Gastroenterol.** 2016 Dec 14;22(46):10180-10188. doi: 10.3748/wjg.v22.i46.10180. PMID: 28028366; PMCID: PMC5155177.

HASHIMOTO, Masao; HUDSON, William H.; GENSHEIMER, Julia; WIELAND, Andreas; VALANPARAMBIL, Rajesh M.; LI, Peng; LIN, Jian-Xin; KONIECZNY, Bogumila T.; IM, Se Jin; FREEMAN, Gordon J.; LEONARD, Warren J.; KISSICK, Haydn T.; AHMRD, Rafi. *Proliferation of transient T cells with an effector-like transcriptional signature emerge from PD-1 + CD8 + stem-like T cells during chronic infection.* **Elsevier Science Direct.** 2019. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.11.002>

PALOZZA, Paolla; CATALANO, Assunata; SIMONE, Rossela; CITTADINI, Achille. *Lycopene as a guardian of redox signalling.* **Acta Biochim Pol.** 2012;59(1):21-5. Epub 2012 Mar 17. PMID: 22428131.

BERNAL, Cristina; MARTÍN-POZUELO, Gala; LOZANO, Ana B.; SEVILLA, Anjo; GARCÍA-ALONSO, Javier; CANOVAS, Manuel; PERIAGO, Maria J. *Lipid biomarkers and metabolic effects of lycopene from tomato juice on liver of rats with induced hepatic steatosis.* **J Nutr Biochem.** 2013 Nov;24(11):1870-81. doi: 10.1016/j.jnutbio.2013.05.003. Epub 2013 Aug 21. PMID: 23972952.

ZHU, Jing; WANG, Chun-Ge; XU, Yan Gui. *Lycopene attenuates endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by reducing oxidative stress.* **Pharm Biol.** 2011 Nov;49(11):1144-9. doi: 10.3109/13880209.2011.574707. Epub 2011 Apr 26. PMID: 21517710.

PRZYBYLSKA, Sylwia; TOKARCZYK, Grzegorz . *Lycopene in the Prevention of Cardiovascular Diseases.* **International journal of molecular sciences.** 2022.

FUHRMAN B, ELIS A, AVIRAM M. *Hypocholesterolemic effect of lycopene and beta-carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages.* **Biochem Biophys Res Commun.** 1997 Apr 28;233(3):658-62. doi: 10.1006/bbrc.1997.6520. PMID: 9168909.

RAO, Letícia G.; KRISHNADEV, Nupura; BANASIKOWSKA, Katharine; RAO, Venket. *Lycopene I--effect on osteoclasts: lycopene inhibits basal and parathyroid hormone- stimulated osteoclast formation and mineral resorption mediated by reactive oxygen species in rat bone marrow cultures.* **J Med Food.** 2003 Summer;6(2):69-78. doi: 10.1089/109662003322233459. PMID: 12935316.

WILLCOX, Joye K.; CATIGNANI, George L.; LAZARUS, Sheril. *Tomatoes and cardiovascular health.* **Crit Rev Food Sci Nutr.** 2003;43(1):1-18. doi: 10.1080/10408690390826437. PMID: 1258798

SIES, Helmut; STAHL, Wilhelm; SUNDQUIST, Alfred R. *Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids.* **Ann N Y Acad Sci.** 1992 Sep 30;669:7-20. doi: 10.1111/j.1749-6632.1992.tb17085.x. PMID:

1444060.

ARAB, Lenore; STECK, Susan. *Lycopene and cardiovascular disease*. **The American journal of clinical nutrition**. 2000.

CHEN, Jinyao; SONG, Yang; ZHANG, Lishi. *Effect of lycopene supplementation on oxidative stress: an exploratory systematic review and meta-analysis of randomized proportion of slow-twitch muscle fiber by AMPK signaling to improve muscle anti-fatigue ability*. **J Nutr Biochem**. 2021 Aug;94:108750. doi: 10.1016/j.jnutbio.2021.108750. Epub 2021 Apr 29. PMID: 33933581.

ZHAO, Beta. REN, Bo; GUO, Rui; ZHANG, Wentong; MA, Shaobo; YAO, Yuchen; YUAN, Tian; LIU, Zhigang; LIU, Xuebo. *Supplementation of lycopene attenuates oxidative stress induced neuroinflammation and cognitive impairment via Nrf2/NF- κ B transcriptional pathway*. **Food Chem Toxicol**. 2017 Nov;109(Pt 1):505-516. doi: 10.1016/j.fct.2017.09.050. Epub 2017 Sep 30. PMID: 28974442.

ROXO, Daniela Fernandes; ARCARO, Carlos Alberto; GUTIERRES, Vânia Ortega; COSTA, Mariana Campos; ORIEL, Juliana; LIMA, Tayra Ferreira Oliveira; ASSIS, Renata Pires; BRUNETTI, Iguatemy Lourenço; BAVIERA, Amanda Martins. *A curcumina combinada com a metformina diminui a glicemia e a dislipidemia e aumenta a atividade da paraoxonase em ratos diabéticos*. **Diabetol Metab Syndr** 11, 33 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13098-019-0431-0>

ASSIS, Renata Pires; ARCARO, Carlos Alberto; GUTIERRES, Vânia Ortega; OLIVEIRA, Juliana Oriel; COSTA, Paulo Inácio; BAVIERA, Amanda Martins; BRUNETTI, Iguatemy Lourenço. *Combined Effects of Curcumin and Lycopene or Bixin in Yoghurt on Inhibition of LDL Oxidation and Increases in HDL and Paraoxonase Levels in Streptozotocin-Diabetic Rats*. **Int J Mol Sci**. 2017 Mar 23;18(4):332. doi: 10.3390/ijms18040332. PMID: 28333071; PMCID: PMC5412263.

LOWRY, Oliver H.; ROSEBROUGH, Nira J.; FARR, A. Lewis; RANDALL, Rose J. *Protein measurement with the Folin phenol reagent*. **J Biol Chem**. 1951 Nov;193(1):265-75. PMID: 14907713.

CHENG, Ho Ming; KOUTSIDIS, Georgios; LODGE, John K.; ASHOR, Ammar; SIERVO, Mário; LARA, José. *Tomato and lycopene supplementation and cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis*. **Atherosclerosis**. 2017 Feb;257:100-108. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.01.009. Epub 2017 Jan 13. PMID: 28129549.

FIGUEIREDO, Ingrid Delbone; LIMA, Tayra Ferreira Oliveira; INÁCIO, Maiara Destro; COSTA, Mariana Campos; ASSIS, Renata Pires; BRUNETTI, Iguatemy Lourenço; BAVIERA, Amanda Martins. *Licopeno Melhora os Efeitos da Metformina no Controle Glicêmico e Diminui Biomarcadores de Estresse Glicoxidativo em Ratos Diabéticos*. **Diabetes Metab Syndr Obes**. 7 de setembro de 2020;13:3117-3135. doi: 10.2147/DMSO.S265944. PMID:

ASSIS, Renata Pires; ARCARO, Carlos Alberto; GUTIERRES, Vânia Ortega; OLIVEIRA, Juliana Oriel; COSTA, Paulo Inácio; BAVIERA, Amanda Martins; BRUNETTI, Iguatemy Lourenço. *Combined Effects of Curcumin and Lycopene or Bixin in Yoghurt on Inhibition of LDL Oxidation and Increases in HDL and*

Paraoxonase Levels in Streptozotocin-Diabetic Rats. Int J Mol Sci. 2017 Mar 23;18(4):332. doi: 10.3390/ijms18040332. PMID: 28333071; PMCID: PMC5412263

WEN, Wanxue; CHEN, Xiaoling; HUANG, Zhiqing; CHEN, Daiwen; YU, Bing; HE, Jun; ZHENG, Ping; LUO, Yuheng; YAN, Hui; YU, Jie. LYCOPENE increases the proportion of slow-twitch muscle fiber by AMPK signaling to improve muscle anti-fatigue ability. **J Nutr Biochem.** 2021 Aug;94:108750. doi: 10.1016/j.jnutbio.2021.108750. Epub 2021 Apr 29. PMID: 33933581.

LIU, Yang; SHAO, You Ran; LI, Xiang-Yu; WANG, Zhi-Ming; YANG, Li-Rong, ZHANG, Yu-Zhou; WU, Mian Bin; YAO, Jian- Ming. Analysis of nicotine-induced metabolic changes in *Blakeslea trispora* by GC-MS. **J Zhejiang Univ Sci B.** 2020 Feb.;21(2):172-177. doi: 10.1631/jzus.B1900459. Epub 2020 Feb 5. PMID: 32115914; PMCID: PMC7076348.

ZHU, Ruyuan; CHEN, Beibei; BAI, Ying; MIAO, Tianyi; RUI, Li; ZHANG, Hao; XIA, Bingke; LI, Yu; GAO, Sihua ; WANG, Xiang-Dong; ZHANG, Dongwei. Lycopene in protection against obesity and diabetes: A mechanistic review. **Journal Pre-proof.** 2020 May; 62: vol.159. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104966>. Epub 2020 May

ZENG, Zhaohui; HE, Wang; JIA, Zhen; HAO, Shu. *Lycopene Improves Insulin Sensitivity through Inhibition of STAT3/Srebp-1c-Mediated Lipid Accumulation and Inflammation in Mice fed a High-Fat Diet. Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2017 Oct;125(9):610-617. doi: 10.1055/s-0043-101919. Epub 2017 May 4. PMID: 28472825.

ZENG, Juniye; ZHAO, Jingjing; DONG, Bin; CAI, Xingming; JIANG, Jingzhou; XUE, Ruicong; YAO, Fengjuan; DONG, Yugang; LIU, Chen. *Lycopene protects against pressure overload-induced cardiac hypertrophy by attenuating oxidative stress. J Nutr Biochem.* 2019 Apr;66:70-78. doi: 10.1016/j.jnutbio.2019.01.002. Epub 2019 Jan 7. PMID: 30772766.

WANG, Jia; SUO, Yao; ZHANG, Jinlei; ZOU, Qianhui; TAN, Xintong; YUAN, Tian; LIU, Zhigang; LIU, Xuebo. *Lycopene supplementation attenuates western diet-induced body weight gain through increasing the expressions of thermogenic/mitochondrial functional genes and improving insulin resistance in the adipose tissue of obese mice. J Nutr Biochem.* 2019 Jul;69:63-72. doi: 10.1016/j.jnutbio.2019.03.008. Epub 2019 Apr 4. PMID: 31060024.

ZHAO, Yi; LI, Hui Xin; LUO, Yu; CUI, Jia-Gen; TALUKDER, Milton; LI, Jin Long. *Lycopene mitigates DEHP-induced hepatic mitochondrial quality control disorder via regulating SIRT1/PINK1/mitophagy axis and mitochondrial unfolded protein response. Environ Pollut.* 2022 Jan 1;292(Pt B):118390. doi: 10.1016/j.envpol.2021.118390. Epub 2021 Oct 23. PMID: 34699919.

DAI, Xue Yan; ZHAO, Yi; JING, Ge; ZHU, Shi Young; LI, Um-Zi; TALUKDER, Milton; Li, Jin Long . *Lycopene attenuates di(2-ethylhexyl) phthalate-induced mitophagy in spleen by regulating the sirtuin3-mediated pathway. Food Funct.* 2021 May 21;12(10):4582-4590. doi: 10.1039/d0fo03277h. Epub 2021 Apr 28. PMID: 33908429.

