

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 11/12/2027.



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

Natalia Fernanda Ferreira

**Influência da suplementação de ésteres de cetonas
na atenuação da cardiotoxicidade aguda induzida
pela doxorubicina em ratos por meio de sua atua-
ção no metabolismo miocárdico e na mitocôndria**

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

**Botucatu
2025**

Natalia Fernanda Ferreira

Influência da suplementação de ésteres de cetonas na atenuação da cardiotoxicidade aguda induzida pela doxorubicina em ratos por meio de sua atuação no metabolismo miocárdico e na mitocôndria

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

Orientadora: Profa. Dra. Bertha Furlan Polegato

Botucatu
2025

F383i

Ferreira, Natalia Fernanda

Influência da suplementação de ésteres de ce-tonas na atenuação da cardiotoxicidade aguda induzida pela doxorubicina em ratos por meio de sua atuação no metabolismo miocárdico e na mitocôndria / Natalia Fernanda Ferreira. -- Botucatu, 2025
96 f. : tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu
Orientadora: Bertha Furlan Polegato

1. Cardiotoxicidade. 2. Cetose. 3. Doxorubicina. 4. Estresse oxidativo. 5. Mitocôndria. I. Título.

IMPACTO ESPERADO DA TESE NA SOCIEDADE

A doxorubicina é amplamente utilizada no tratamento de diferentes tipos de câncer, porém pode causar danos ao coração. Este estudo avaliou se o 1,3-butanodiol, precursor de corpos cetônicos, poderia exercer efeito protetor. Embora tenha elevado a cetonemia, não preveniu as lesões, mas contribuiu para o entendimento da cardiotoxicidade.

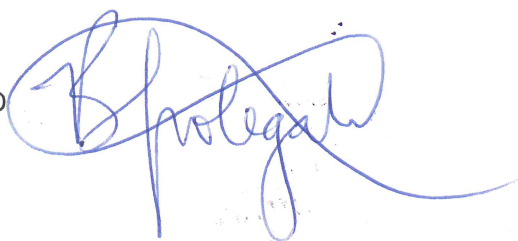
POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Doxorubicin is widely used in the treatment of various types of cancer; however, its use may lead to cardiac injury. This study investigated whether 1,3-butanediol, a precursor of ketone bodies, could exert a protective effect. Although it increased ketonemia, it did not prevent cardiac alterations but provided valuable insights into the mechanisms underlying doxorubicin-induced cardiotoxicity.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE NATALIA FERNANDA FERREIRA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA EM CLÍNICA MÉDICA, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 11 de dezembro de 2025, às 14h15min, no(a) Depto. de Clínica Médica - FM/Botucatu - Unesp, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de NATALIA FERNANDA FERREIRA, intitulada **Influência da suplementação de ésteres de cetonas na atenuação da cardiotoxicidade aguda induzida pela doxorrubicina em ratos por meio de sua atuação no metabolismo miocárdico e na mitocôndria**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. BERTHA FURLAN POLEGATO (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Clínica Médica / UNESP / Câmpus de Botucatu - FMB, Profa. Dra. MELIZA GOI ROSCANI (Participação Virtual) do(a) Depto. de Medicina / CCBS/São Carlos - UFSCar, Profa. Dra. PATRÍCIA FIDELIS DE OLIVEIRA (Participação Presencial) do(a) Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / UNESP / Câmpus de Botucatu - IBB, Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. BERTHA FURLAN POLEGATO



Dedicatória

Dedico esta tese à minha fiel companheira, Lupita (in memoriam)

Tua presença encheu a minha vida e a da minha família de amor.
Em meio aos dias longos e solitários de escrita, foste minha alegria silenciosa e meu consolo constante.
Partiste antes do fim desta jornada, mas o teu amor permaneceu e segue comigo em cada linha desta tese.

Minha eterna boiadeira.

Agradecimento Especial

À Professora **Bertha Furlan Polegato**, minha orientadora, deixo aqui registrada minha sincera gratidão pela paciência, dedicação e compreensão ao longo desta jornada.

Desde nossa primeira reunião, eu esperava apenas que você fosse uma orientadora que realmente me orientasse, e você foi muito mais do que isso. Nos momentos de dúvida, foi calma; nos de cansaço, foi incentivo; e nas incertezas, foi refúgio.

Sua presença foi essencial não apenas para o desenvolvimento deste projeto, mas também para o meu amadurecimento pessoal. Com seu exemplo, aprendi sobre ciência, ética e humanidade.

Apesar de nossas diferenças, descobri que compartilhamos muito mais do que imaginei, como o hábito de falar sozinha, escrever lembretes nas mãos, reaproveitar o que iria para o lixo e ter um curioso hiperfoco por canetas. Esses detalhes me fazem admirar ainda mais a pessoa incrível que você é.

Obrigada, Bertha, por acreditar em mim, por cada orientação e por conduzir esta etapa da minha vida com sabedoria, paciência e afeto. Levo comigo tudo o que aprendi com você, na ciência e na vida.

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a Deus por ter me concedido força, sabedoria e perseverança para chegar até aqui. A fé não tornou as coisas fáceis, mas possíveis, e foi ela que me sustentou e fortaleceu em todos os momentos de desmotivação e incerteza ao longo desta jornada.

Agradeço profundamente aos meus **pais, Luís Dalton e Ivone**, e ao meu **irmão, Natan**. Embora não estejam presentes neste momento, foi o amor, o apoio e o exemplo deles que tornaram tudo isso possível.

Registro minha sincera gratidão aos **professores do Departamento de Clínica Médica**, por todo o conhecimento transmitido, pela dedicação ao ensino e pela inspiração que representam. Sem dúvida, é uma honra e uma alegria ter convivido com mestres tão comprometidos e humanos.

Aos meus colegas de pós-graduação do **Laboratório de Remodelação Cardíaca e Nutrição (RECAN)**, Carolina, Marina, Nayane, Lara, Letycia, Helena, Danilo, Amanda e Ana Paula, obrigada pela parceria, pela convivência e pelos aprendizados compartilhados ao longo desses anos.

Um agradecimento especial à **Paola** e ao **Ronny**, que, além de colegas de laboratório, tornaram-se amigos para a vida. Ambos me ensinaram grande parte do que hoje sei sobre as técnicas laboratoriais e estiveram presentes em cada etapa dessa caminhada. Costumo dizer que a pós-graduação deixou um saldo positivo na minha vida, e esse saldo atribuo às pessoas especiais que tive o privilégio de conhecer.

Agradeço também aos **funcionários da UNIPEX**, pelo suporte técnico e pela disponibilidade em contribuir com o desenvolvimento deste projeto.

Ao **Professor Katashi**, pela realização dos exames de ecocardiograma dos animais experimentais, e ao **Dijon**, por toda a ajuda e colaboração nas diversas etapas deste trabalho.

Agradeço à **Camila Corrêa** e à **Débora Damasceno** pela colaboração nas análises de estresse oxidativo, pela disponibilidade e pelo apoio técnico essencial para a condução das etapas experimentais deste estudo.

Sou grata à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo financiamento concedido e pela oportunidade ímpar de realizar um período de estágio no exterior.

Essa experiência representou um importante crescimento pessoal e profissional, ampliando minha visão científica e fortalecendo minha formação acadêmica.

Aproveito para expressar meus sinceros agradecimentos a todos os integrantes do **Center for Neuroscience and Cell Biology (CNC)** da **Universidade de Coimbra**, especialmente ao **Professor Paulo Oliveira**, pela acolhida, pela supervisão e pela generosidade em compartilhar seus conhecimentos.

Por fim, agradeço a **todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para esta caminhada**, seja com palavras de incentivo, gestos de amizade, colaboração científica ou simples demonstrações de afeto nos momentos mais difíceis.

Cada aprendizado, desafio e conquista ao longo do doutorado moldaram não apenas a pesquisadora, mas também a pessoa que me tornei. Esta tese é resultado de um caminho coletivo, sustentado pela fé, pela persistência e pelo apoio de pessoas generosas que acreditaram em mim.

A todos vocês, o meu mais sincero **muito obrigada**.

RESUMO

Introdução: A doxorubicina (DOX) é um quimioterápico eficaz, porém seu uso é limitado pela cardiotoxicidade associada à disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e inflamação. Corpos cetônicos atuam como substrato energético eficiente e podem modular vias redox, mas seu efeito na cardiotoxicidade induzida por DOX permanece incerto. **Objetivo:** Avaliar se a suplementação com 1,3-butanodiol, precursor de corpos cetônicos, atenua a cardiotoxicidade aguda induzida por DOX em ratos, com foco em função cardíaca, estresse oxidativo, inflamação e proteínas mitocondriais. **Métodos:** Sessenta e quatro ratos Wistar machos foram distribuídos em seis grupos: Controle (C), DOX (D), 1,3-butanodiol 5 g/kg (C1), 10 g/kg (C2), DOX+5 g/kg (DC1) e DOX+10 g/kg (DC2). O 1,3-butanodiol foi administrado por gavagem durante duas semanas, uma vez ao dia; a DOX (20 mg/kg) foi aplicada por via intraperitoneal 48 h antes da eutanásia. Avaliaram-se peso corporal, ingestão hídrica e alimentar, cetonemia, ecocardiograma, pressão intraventricular, perfil lipídico, atividade da enzima lactato desidrogenase (LDH), marcadores oxidativos, enzimas antioxidantes e expressão de proteínas mitocondriais e inflamatórias por Western blot. A análise estatística foi realizada por modelo linear generalizado (GLM), considerando $p < 0,05$ como nível de significância. **Resultados:** A suplementação com 1,3-butanodiol reduziu o consumo de água ($pC=0,030$) e ração ($pC<0,001$), causou discreta perda ponderal ($pC=0,029$) e elevou a cetonemia ($pC=0,023$), principalmente na dose de 10 g/kg, com picos em 4 h e níveis sustentados em 24 h. A glicemia e o perfil lipídico permaneceram inalterados. A atividade sérica da lactato desidrogenase (LDH) foi significativamente maior nos grupos suplementados, independentemente da presença de DOX, sugerindo possível aumento da atividade metabólica. Ao ecocardiograma, a DOX promoveu disfunção diastólica e sistólica, evidenciada pela elevação de E/E' ($pD=0,029$), redução de S' ($pD<0,001$) e queda de $+dp/dt$ e $-dp/dt$.

($pD < 0,001$). A atividade da catalase (CAT) aumentou com DOX, e a superóxido dismutase (SOD) apresentou discreta elevação em DC2, sem variações em malondialdeído (MDA) ou proteínas carboniladas. A análise molecular revelou redução de troponina ($pD = 0,001$), Mfn2, Keap1, TNF- α , NF- κ B e do complexo V, sem efeito significativo do 1,3-butanodiol sobre AMPK, DRP1, IL-10, PGC1- α , PPAR γ ou SIRT3. **Conclusão:** A DOX causou cardiotoxicidade associada à disfunção ventricular, alterações mitocondriais, estresse oxidativo compensado. A suplementação com 1,3-butanodiol aumentou a cetonemia, mas não conferiu cardioproteção nas doses e duração avaliadas, sugerindo que protocolos mais longos ou combinados possam ser necessários para explorar o potencial cardioprotetor das cetonas exógenas.

Palavras-chave: Cardiotoxicidade; Cetose; Doxorrubicina; Estresse oxidativo; Mitocôndria.

ABSTRACT

Introduction: Doxorubicin (DOX) is an effective chemotherapeutic agent, but its clinical use is limited by cardiotoxicity mediated by mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and inflammation. Ketone bodies act as efficient energy substrates and may modulate redox pathways; however, their effects on DOX-induced cardiotoxicity remain uncertain. **Objective:** To evaluate whether supplementation with 1,3-butanediol, a precursor of ketone bodies, attenuates acute DOX-induced cardiotoxicity in rats, focusing on cardiac function, oxidative stress, inflammation, and mitochondrial proteins. **Methods:** Sixty-four male Wistar rats were divided into six groups: Control (C), DOX (D), 1,3-butanediol 5 g/kg (C1), 10 g/kg (C2), DOX+5 g/kg (DC1), and DOX+10 g/kg (DC2). The 1,3-butanediol was administered by gavage once daily for two weeks, and DOX (20 mg/kg) was injected intraperitoneally 48 hours before euthanasia. Body weight, food and water intake, blood ketone levels, echocardiography, left ventricular pressure, lipid profile, serum lactate dehydrogenase (LDH) activity, oxidative markers, antioxidant enzymes, and the expression of mitochondrial and inflammatory proteins (Western blot) were evaluated. Statistical analysis was performed using a generalized linear model (GLM), considering $p < 0.05$ as significant. **Results:** Supplementation with 1,3-butanediol reduced water ($pC = 0.030$) and food intake ($pC < 0.001$), caused slight body weight loss ($pC = 0.029$), and increased blood ketone concentrations ($pC = 0.023$), with higher and more stable levels at 24 h, especially at 10 g/kg. Glycemia and lipid profile remained unchanged. Serum LDH activity was significantly higher in supplemented groups, regardless of DOX treatment, suggesting increased metabolic activity. DOX induced diastolic and systolic dysfunction, as shown by increased E/E' ($pD = 0.029$), decreased S' ($pD < 0.001$), and reduced $+dp/dt$ and $-dp/dt$ ($pD < 0.001$). Catalase (CAT) activity increased with DOX, and superoxide dismutase (SOD) showed a mild rise in DC2, while malondialdehyde (MDA) and protein carbonyls re-

mained unchanged. Molecular analysis revealed reduced troponin (pD=0.001), Mfn2, Keap1, TNF- α , NF- κ B, and mitochondrial complexe V, with no significant effect of 1,3-butanediol on AMPK, DRP1, IL-10, PGC-1 α , PPAR γ , or SIRT3. **Conclusion:** DOX induced cardiotoxicity associated with ventricular dysfunction, mitochondrial alterations, and mild compensated oxidative stress. Supplementation with 1,3-butanediol increased ketonemia but did not confer cardioprotection at the evaluated doses and duration, suggesting that longer or fractionated protocols may be required to explore the potential cardioprotective effects of exogenous ketones.

Keywords: Cardiotoxicity; Ketosis; Doxorubicin; Oxidative stress; Mitochondria.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação do delineamento do estudo.....	16
Figura 2. Concentração sanguínea de corpos cetônicos durante o experimento (mg/dL).....	26
Figura 3. Parâmetros metabólicos: glicose e atividade da lactato desidrogenase (LDH).....	27
Figura 4. Perfil lipídico: colesterol total, LDL, HDL e triglicerídeos séricos.....	28
Figura 5. Alterações no consumo de ração, ingestão hídrica e peso corporal	29
Figura 6. Medida da pressão intraventricular esquerda e derivadas pressão-tempo.....	33
Tabela 7. Marcadores do dano oxidativo e atividade das enzimas antioxidantes.....	34
Figura 8. Expressão de proteínas relacionadas ao estresse oxidativo no coração.....	35
Figura 9. Expressão de proteínas relacionadas à dinâmica mitocondrial no coração.....	35
Figura 10. Expressão de proteínas relacionadas à biogênese mitocondrial e regulação metabólica no coração.....	36
Figura 11. Expressão de proteínas relacionadas à inflamação no coração.....	37
Figura 12. Expressão de troponina T no coração.....	37
Figura 13. Expressão das subunidades da cadeia transportadora de elétrons (OxPhos) no coração.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso dos órgãos e tecidos.....	30
Tabela 2. Variáveis estruturais cardíacas.....	31
Tabela 3. Frequência cardíaca e variáveis ecocardiográficas funcionais.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- A** – Onda A do fluxo transmitral (enchimento diastólico tardio)
- A'** – Velocidade diastólica tardia ao Doppler tecidual do anel mitral
- AE** – Átrio esquerdo
- AE/Ao** – Razão entre o diâmetro do átrio esquerdo e a aorta
- AMPK** – Proteína quinase ativada por AMP (AMP-activated protein kinase)
- APS** – Persulfato de amônio (ammonium persulfate)
- ATP** – Adenosina trifosfato
- BSA** – Albumina sérica bovina (bovine serum albumin)
- C** – Controle
- C1** – Controle + 5 g/kg de 1,3-butanodiol
- C2** – Controle + 10 g/kg de 1,3-butanodiol
- CAT** – Catalase
- CC** – Corpos cetônicos
- CEUA** – Comitê de Ética no Uso de Animais
- D** – Doxorrubicina
- DAMPs** – Padrões moleculares associados a dano (damage-associated molecular patterns)
- DC1** – Doxorrubicina + 5 g/kg de 1,3-butanodiol
- DC2** – Doxorrubicina + 10 g/kg de 1,3-butanodiol
- DDVE** – Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo
- DNA** – Ácido desoxirribonucleico
- DOX** – Doxorrubicina
- DRP1** – Proteína relacionada à dinamina 1 (dynamin-related protein 1)
- DSVE** – Diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo
- E** – Onda E do fluxo transmitral (enchimento diastólico inicial)
- E'** – Velocidade diastólica inicial ao Doppler tecidual do anel mitral
- E/E'** – Razão entre as ondas E e E'

ECG – Eletrocardiograma

ECL – Quimioluminescência (enhanced chemiluminescence)

EDSIV – Espessura diastólica do septo interventricular

EDPP – Espessura diastólica da parede posterior do VE

EROs – Espécies reativas de oxigênio

FADH₂ – Flavina adenina dinucleotídeo (reduzida)

FC – Frequência cardíaca

FENC – Fração de encurtamento do ventrículo esquerdo

FEVE – Fração de ejeção do ventrículo esquerdo

GAPDH – Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase

GLM – Modelo linear generalizado

GSH – Glutathiona reduzida

GSSG – Glutathiona oxidada

H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio

HDL – Lipoproteína de alta densidade

IL-1 β – Interleucina-1 beta

IL-10 – Interleucina-10

IMVE – Índice de massa do ventrículo esquerdo

i.p. – Intraperitoneal

IRP-1 – Proteína reguladora de ferro 1 (iron regulatory protein-1)

Keap1 – Proteína Kelch-like ECH-associated protein 1

LDH – Lactato desidrogenase

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

MDA – Malondialdeído

Mfn2 – Mitofusina 2

mtDNA – DNA mitocondrial

NADH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo (reduzida)

NF- κ B – Fator nuclear kappa B

Nrf2 – Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2

O₂^{•-} – Ânion superóxido

OPA1 – Proteína de atrofia óptica 1 (optic atrophy 1)

OxPhos – Fosforilação oxidativa

PGC-1 α – Coativador-1 do receptor γ ativado por proliferador de peroxissoma

PPAR γ – Receptor γ ativado por proliferador de peroxissoma

PS – Pressão sistólica do ventrículo esquerdo

Pd2 – Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

S' – Velocidade sistólica ao Doppler tecidual do anel mitral

SDS – Dodecil sulfato de sódio (sodium dodecyl sulfate)

SIRT3 – Sirtuína 3

SOD – Superóxido dismutase

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TBA – Ácido tiobarbitúrico

TCA – Ácido tricloroacético

TDE – Tempo de desaceleração da onda E

TEMED – N,N,N',N'-Tetrametiletenodiamina

Tei (índice de) – Índice de desempenho miocárdico

TLR2 – Toll-like receptor 2

TLR4 – Toll-like receptor 4

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

TRIV – Tempo de relaxamento isovolumétrico

TRIV/RR – TRIV corrigido pelo intervalo R–R

VE – Ventrículo esquerdo

VEPP – Velocidade de encurtamento da parede posterior

VD – Ventrículo direito

vg – Gavagem

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade

WB – Western blot

•OH – Radical hidroxila

LISTA DE SÍMBOLOS

% – Porcentagem

°C – Grau Celsius

+dP/dt – Derivada positiva da pressão em função do tempo (índice de contratilidade ventricular)

-dP/dt – Derivada negativa da pressão em função do tempo (índice de relaxamento diastólico)

± – Média ± desvio-padrão

μL – Microlitro

μg – Micrograma

mg/dL – Miligrama por decilitro

mg/g – Miligrama por grama

mL – Mililitro

mL/kg – Mililitro por quilograma

mmHg – Milímetro de mercúrio (unidade de pressão)

mm – Milímetro (unidade de comprimento)

mmol/L – Milimol por litro

nmol/g – Nanomol por grama

h – Hora

Hz – Hertz (frequência)

ρ – Densidade específica do miocárdio (1,04 g/cm³)

Δ – Variação ou diferença entre valores

n – Número de animais por grupo experimental

p – Valor de probabilidade (nível de significância estatística)

pC – Valor de *p* para o efeito do 1,3-butanodiol (corpos cetônicos)

pD – Valor de *p* para o efeito da doxorubicina

pi – Valor de *p* para a interação entre os fatores

r² – Coeficiente de determinação

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. HIPÓTESE.....	10
3. OBJETIVO.....	11
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
4.1. Delineamento experimental.....	12
4.2. Avaliação do consumo de ração, ingestão hídrica e evolução do peso corporal.....	12
4.3. Grupos experimentais e suplementação.....	13
4.4. Cálculo do tamanho amostral.....	14
4.5. Monitoramento da cetose e administração da DOX.....	14
4.6. Procedimentos finais.....	15
4.7. Ecocardiograma.....	16
4.8. Medida invasiva da pressão intraventricular esquerda.....	17
4.9. Análises bioquímicas.....	18
4.10. Preparo do homogenato e quantificação de proteínas.....	19
4.11. Análises de estresse oxidativo.....	20
4.11.1. Peroxidação lipídica.....	20
4.11.2. Carbonilação de proteínas.....	21
4.11.3. Atividade da superóxido dismutase (SOD).....	21
4.11.4. Atividade da catalase (CAT).....	22
4.12. Determinação da expressão de proteínas por Western blot.....	22
4.13. Análise estatística.....	23
5. RESULTADOS.....	25
5.1. Concentração sanguínea de corpos cetônicos.....	25
5.2. Glicemia, perfil lipídico e atividade da lactato desidrogenase (LDH).....	26
5.3. Consumo de ração e água, evolução do peso corporal e peso dos órgãos.....	28

5.4. Ecocardiograma.....	30
5.5. Medida de pressão intraventricular esquerda.....	32
5.6. Marcadores do dano oxidativo e atividade das enzimas antioxi- dan- tes.....	33
5.7. Determinação da expressão proteica por Western blot.....	34
6. DISCUSSÃO.....	39
7. CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIA.....	55
APÊNDICE.....	67
ANEXO.....	73

1. INTRODUÇÃO

As neoplasias malignas representam um dos maiores desafios de saúde pública, configurando-se como a segunda principal causa de morte no mundo, superadas apenas pelas doenças cardiovasculares (1,2). No Brasil, estima-se que, entre 2023 e 2025, ocorram aproximadamente 704 mil novos casos de câncer por ano (3). Em âmbito global, projeta-se que os casos aumentem cerca de 20 milhões em 2022 para 35,3 milhões em 2050, representando crescimento de aproximadamente 77% (4).

Nesse cenário crescente, os agentes da classe das antraciclinas, introduzidos na década de 1960, destacam-se como recursos terapêuticos essenciais, tendo contribuído de maneira significativa para o aumento da sobrevida de pacientes oncológicos (5,6). A DOX, derivada do fungo *Streptomyces peucetius*, é uma das antraciclinas mais utilizadas, indicada no tratamento de neoplasias como câncer de mama, pulmão, sarcomas e leucemias (6,7).

Contudo, seu uso clínico é limitado pela cardiotoxicidade dose-dependente e cumulativa (8-10), que pode evoluir para miocardiopatia dilatada, caracterizada por dilatação progressiva das câmaras ventriculares, afinamento da parede miocárdica e comprometimento da função sistólica. Essa condição frequentemente culmina em insuficiência cardíaca, síndrome resultante da incapacidade do coração de bombear ou acomodar o sangue de forma eficiente, ocasionando dispneia, fadiga, intolerância ao esforço e piora do prognóstico (8,9).

Estudos recentes mostram que o risco de eventos cardiotóxicos aumenta substancialmente quando a dose cumulativa ultrapassa 400–700 mg/m² em adultos e 300 mg/m² em crianças, embora manifestações possam surgir já em doses menores (200–250 mg/m²) (6,7). A agressão crônica aos miócitos e à matriz extracelular induz remodelação cardíaca patológica, processo que envolve hipertrofia compensatória, fibrose intersticial, desorganização das miofibrilas e alterações geométricas do ventrículo,

culminando em dilatação progressiva e declínio da contratilidade (7–10). Essa remodelação, inicialmente adaptativa, torna-se deletéria ao longo do tempo, favorecendo a evolução da miocardiopatia dilatada para insuficiência cardíaca sintomática, com impacto direto sobre a qualidade de vida e a sobrevida dos pacientes (7–10).

Os mecanismos da cardiotoxicidade induzida pela DOX são multifatoriais e complexos, mas grande parte da lesão cardíaca decorre de seus efeitos deletérios sobre as mitocôndrias (6,8). Essas organelas, responsáveis pela produção de adenosina trifosfato (ATP) e pela manutenção da homeostase celular, constituem alvo preferencial da droga devido à elevada afinidade da DOX pela cardiolipina, um fosfolípido exclusivo da membrana mitocondrial interna e particularmente abundante nos cardiomiócitos (8,11).

A cardiolipina desempenha papel essencial na estabilização dos supercomplexos da cadeia transportadora de elétrons, na manutenção da organização estrutural da membrana e na regulação da fosforilação oxidativa (8,11). A ligação da DOX a esse fosfolípido compromete a integridade mitocondrial, promove a dissipação do potencial de membrana e reduz a eficiência da produção de ATP (8,12). Como consequência, instala-se um quadro de falência bioenergética especialmente nocivo para os cardiomiócitos, que apresentam alta demanda energética e limitada capacidade regenerativa (8,12).

REFERÊNCIA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global burden and trends in cancer incidence and mortality: projections to 2050. *CA Cancer J Clin.* 2024;74(3):178–193. doi:10.3322/caac.21834.
2. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2023: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2022. Available from: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/download/3700/2697/26670>
3. Qing L, Wang H, Zhao C, Zhang Y, Liu H, Zhang J, et al. Global burden and trends in cancer incidence and mortality to 2050: a systematic analysis. *JAMA Netw Open.* 2025;8(3):e231234. doi:10.1001/jamanetworkopen.2025.1234.
4. Qiao L, Zhou Y, Liu M, Zhang C, Zhu Y, He Y, et al. Diversifying the anthracycline class of anti-cancer drugs. *Mol Cancer.* 2024;23(45):1–13. doi:10.1186/s12943-024-01845-6.
5. Camilli M, Cipolla CM, Dent S, Minotti G, Cardinale DM. Anthracycline cardiotoxicity in adult cancer patients: JACC CardioOncology State-of-the-Art Review. *JACC CardioOncol.* 2024;6(5):655–677. doi:10.1016/j.jacc.2024.07.016.
6. Li H, Wang M, Huang Y. Anthracycline-induced cardiotoxicity: an overview from cellular structural perspective. *Biomed Pharmacother.* 2024;179:117312. doi:10.1016/j.biopha.2024.117312.
7. Schirone L, D'Ambrosio L, Forte M, Genovese R, Schiavon S, Spinosa G, et al. Mitochondria and doxorubicin-induced cardiomyopathy: a complex interplay. *Cells.* 2022;11(13):2000. doi:10.3390/cells11132000.
8. Vitale R, Marzocco S, Popolo A. Role of oxidative stress and inflammation in doxorubicin-induced cardiotoxicity: a brief account. *Int J Mol Sci.* 2024;25(13):7477. doi:10.3390/ijms25137477.
9. Rawat PS, Jaiswal A, Khurana A, Bhatti JS, Navik U. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: an update on the molecular mechanism and novel therapeutic strategies for effective management. *Biomed Pharmacother.* 2021;139:111708. doi:10.1016/j.biopha.2021.111708.
10. Zhang Y, Zhang X, Liu Z, Wang L, Zhao H, Xu J, et al. Mitochondrial quality control and cardiolipin remodeling in anthracycline cardiomy-

- opathy. *Front Cardiovasc Med.* 2023;10:1187553. doi:10.3389/fcvm.2023.1187553.
11. Fox CA, Romenskaia I, Dagda RK, Ryan RO. Cardiolipin nanodisks confer protection against doxorubicin-induced mitochondrial dysfunction. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 2022;1864(10):183984. doi:10.1016/j.bbamem.2022.183984.
 12. Díaz-Quintana A, Pérez-Mejías G, Guerra-Castellano A, De la Rosa MA, Díaz-Moreno I. Wheel and deal in the mitochondrial inner membranes: the tale of cytochrome c and cardiolipin. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:6813405. doi:10.1155/2020/6813405.
 13. Hernansanz-Agustín P, Enríquez JA. Generation of reactive oxygen species by mitochondria. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(3):415. doi:10.3390/antiox10030415.
 14. Szponar J, Ciechanski E, Ciechanska M, Dudka J, Mandziuk S. Evolution of theories on doxorubicin-induced late cardiotoxicity – role of topoisomerase. *Int J Mol Sci.* 2024;25(24):13567. doi:10.3390/ijms252413567.
 15. Shi S, Chen Y, Luo Z, Nie G, Dai Y, Zhang X, et al. Role of oxidative stress and inflammation-related signaling pathways in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Cell Commun Signal.* 2023;21(1):61. doi:10.1186/s12964-023-01077-5.
 16. Chowdhury D, Kundu A, Pal S, Saha P, Ghosh S, Mukherjee S, et al. Doxorubicin-triggered ROS and iron-dependent cardiotoxicity: molecular insights and protective strategies. *Free Radic Biol Med.* 2020;160:80–93. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2020.06.012.
 17. Maneecheote C, Tangtongpitak T, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Oxidative stress, mitochondrial dynamics, and cardiac dysfunction in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Antioxidants (Basel).* 2022;11(11):2153. doi:10.3390/antiox11112153.
 18. Zhang X, Wu Q, Zheng R, Wang Y, Lin J, Zhang H, et al. Nrf2 as a therapeutic target in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Front Pharmacol.* 2024;15:1167890. doi:10.3389/fphar.2024.1167890.
 19. Wang J, Li C, Liu H, Yang H, Zhou W, Chen Z, et al. Keap1–Nrf2 pathway in doxorubicin-induced cardiac injury: molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Front Cardiovasc Med.* 2024;11:1223456. doi:10.3389/fcvm.2024.1223456.

20. Ito-Hagiwara K, Hagiwara J, Endo Y, Becker LB, Hayashida K. Cardioprotective strategies against doxorubicin-induced cardiotoxicity: from standard therapies to emerging mitochondrial transplantation. *Biomed Pharmacother.* 2025;189:118315. doi:10.1016/j.biopha.2025.118315.
21. Díaz-Guerra A, Villena-Gutiérrez R, Clemente-Moragón A, Gómez M, Oliver E, Fernández-Tocino M, et al. Anthracycline cardiotoxicity induces progressive changes in myocardial metabolism and mitochondrial quality control: novel therapeutic target. *JACC CardioOncol.* 2024;6(2):217–232. doi:10.1016/j.jacc.2024.02.005.
22. Chen L, Zhang Y, Li X, Wang H, Zhu Y, Sun Q, et al. Apoptotic signaling pathways in doxorubicin-induced cardiotoxicity: mitochondrial mechanisms and therapeutic perspectives. *Int J Mol Sci.* 2025;26(4):2215. doi:10.3390/ijms26042215.
23. Qiu Y, Jiang P, Huang Y, Sun L, Xu D, Wang Y, et al. Anthracycline-induced cardiotoxicity: mechanisms, monitoring, and prevention. *Front Cardiovasc Med.* 2023;10:1242596. doi:10.3389/fcvm.2023.1242596.
24. Radeva L, Yoncheva K. Doxorubicin toxicity and recent approaches to alleviating its adverse effects with focus on oxidative stress. *Molecules.* 2025;30(15):3311. doi:10.3390/molecules30153311.
25. Wang J, Xia L, Yan X, Zhang H, Li D, Zhao Y, et al. Mitochondrial DNA release activates cGAS–STING signaling in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cardiovasc Res.* 2025;121:980–992. doi:10.1093/cvr/cvad189.
26. Liu Q, Zhao Y, Wang D, Wang H, Lin Z, Xu Q, et al. NLRP3 inflammasome mediates cardiac inflammation and injury in anthracycline-induced cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* 2024;189:12–25. doi:10.1016/j.yjmcc.2024.05.012.
27. Sumneang N, Tanajak P, Oo TT, Wang Y, Kerdphoo S, Chattipakorn SC, et al. Toll-like receptor 4 inflammatory perspective on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Molecules.* 2023;28(11):4294. doi:10.3390/molecules28114294.
28. Liu J, Zhang Y, Wang H, Liu X, Chen Y, Zhao W, et al. Advances in pharmacological research on myocardial injury and fibrosis induced by doxorubicin. *Medicine (Baltimore).* 2025;104(23):e41612. doi:10.1097/MD.00000000000041612.

29. Ding S, Wang X, Zhou Y, Lin Q, Chen J, Xu J, et al. Mitofusin-2 in cardiac physiology and pathology: molecular mechanisms and therapeutic insights. *J Mol Cell Cardiol.* 2022;165:78–91. doi:10.1016/j.yjmcc.2021.12.012.
30. Malik A, Singh PK, Kumar R, Tripathi V, Verma G, Mishra P, et al. Interleukin-10 in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2022;64:1–12. doi:10.1016/j.cytogfr.2022.02.003.
31. Szponar J, Ciechanski E, Ciechanska M, Dudka J, Mandziuk S. Evolution of theories on doxorubicin-induced late cardiotoxicity – role of topoisomerase. *Int J Mol Sci.* 2024;25(24):13567. doi:10.3390/ijms252413567.
32. Wallace KB, Wimmer A, Lawrence J, Jones S, Rees S, Smith B, et al. Mitochondrial targets of anthracycline cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2020;389:114876. doi:10.1016/j.taap.2020.114876.
33. Wu Q, Liang X, Li Y, Zhao Z, Chen L, Jiang J, et al. Topoisomerase II β -mediated DNA damage and mitochondrial dysfunction in doxorubicin cardiotoxicity. *Pharmacol Ther.* 2024;250:108289. doi:10.1016/j.pharmthera.2024.108289.
34. Matsuura TR, Puchalska P, Crawford PA, Kelly DP. Ketones and the heart: metabolic principles and therapeutic implications. *Circ Res.* 2023;132(7):882–898. doi:10.1161/CIRCRESAHA.123.321872.
35. Soni S, Tabatabaei Dakhili SA, Ussher JR, Dyck JRB. The therapeutic potential of ketones in cardiometabolic disease: impact on heart and skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2024;326(2):C551–C566. doi:10.1152/ajpcell.00501.2023.
36. Puchalska P, Crawford PA. Ketone metabolism and human cardiovascular health: emerging evidence from clinical studies. *Curr Atheroscler Rep.* 2025;27:1333–1345. doi:10.1007/s11883-025-01133-7.
37. Foster MW, Riley JM, Kaki PC, Al Soueidy A, Aligholizadeh E, Rame JE. Metabolic adaptation in heart failure and the role of ketone bodies as biomarkers. *Curr Heart Fail Rep.* 2024;21(5):498–503. doi:10.1007/s11897-024-00678-6.
38. Manolis AS, Manolis TA, Manolis AA. Ketone bodies and cardiovascular disease: an alternate fuel source to the rescue. *Int J Mol Sci.* 2023;24(4):3534. doi:10.3390/ijms24043534.

39. Kodur N, Nguyen C, Tang WHW. Therapeutic ketosis for heart failure: a state-of-the-art review. *J Card Fail*. 2025;31(7):1051–1061. doi:10.1016/j.cardfail.2025.01.028.
40. Lv T, Liu C, Ye M, Li G, Liu Z. Ketone therapy improves cardiac function and structure in rodents with heart failure: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Res*. 2025;137:56–70. doi:10.1016/j.nutres.2025.03.008.
41. Stephens EB, Senadheera C, Roa-Diaz S, Peralta S, Alexander L, Silverman-Martin W, et al. A randomized open-label, observational study of the novel ketone ester bis-octanoyl (R)-1,3-butanediol and its acute effect on β -hydroxybutyrate and glucose concentrations in healthy older adults. *J Nutr Gerontol Geriatr*. 2025;44(2):103–122. doi:10.1080/21551197.2025.2466163.
42. Liu K, Yang Y, Yang JH, Zhao H, Zhang W, Hu C, et al. Underlying mechanisms of ketotherapy in heart failure: current evidence for clinical implementations. *Front Pharmacol*. 2024;15:1463381. doi:10.3389/fphar.2024.1463381.
43. Falkenhain K, Islam H, Little JP. Exogenous ketone supplementation: an emerging tool for physiologists with potential as a metabolic therapy. *Exp Physiol*. 2023;108(2):177–187. doi:10.1113/EP090430.
44. Guldbrandsen H, Gopalasingam N, Christensen KH, Hørsdal OK, Nielsen R, Wiggers H, et al. Cardiovascular and metabolic effects of modulating circulating ketone bodies with 1,3-butanediol in patients with heart failure with reduced ejection fraction. *J Am Heart Assoc*. 2025;14(1):e038461. doi:10.1161/JAHA.124.038461.
45. Stubbs B J, Cox P J, Evans R D, Cyranka M, Clarke K, de Wet H. A ketone ester drink lowers human ghrelin and appetite. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2019;29(5):466–473. doi:10.1123/ijsnem.2018-0270.
46. Kesl SL, Poff AM, Ward NP, Fiorelli TN, Ari C, D’Agostino DP. Effects of exogenous ketone supplementation on blood ketone, glucose, triglyceride, and lipoprotein levels in Sprague–Dawley rats. *Nutr Metab (Lond)*. 2016;13(1):9. doi:10.1186/s12986-016-0077-2.
47. Challa AA, Hill BG, Nystoriak MA, Gouwens KR, Kalra DK. Ketone bodies in cardiovascular disease: the vasculature as a therapeutic target. *JACC Basic Transl Sci*. 2025;10(8):101328. doi:10.1016/j.jacbts.2025.101328.

48. Selvaraj S, Karaj A, Chirinos JA, Denney N, Grosso G, Fernando M, et al. Crossover trial of exogenous ketones on cardiometabolic endpoints in heart failure with preserved ejection fraction. *JACC Heart Fail.* 2025;13(4):1001–1013. doi:10.1016/j.jchf.2025.03.002.
49. Bonnechère B, Stephens EB, Boileau AC, Ducker M, Stubbs BJ. The effect of exogenous ketone bodies on cognition in patients with mild cognitive impairment, Alzheimer's disease and in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *medRxiv.* 2025. doi:10.1101/2025.09.17.25335999.
50. Storoschuk KL, Wood TR, Stubbs BJ. A systematic review and meta-regression of exogenous ketone infusion rates and resulting ketosis – a tool for clinicians and researchers. *Front Physiol.* 2023;14:1202186. doi:10.3389/fphys.2023.1202186.
51. Jacobson CB, Meyer LB, Rothstein JD, Clarke M, Hansen T, Zimmerman D, et al. Sample size determination and power analysis for animal studies: concepts and tools. *Lab Anim.* 2024;57(4):321–333. doi:10.1177/0023677224123456.
52. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol.* 2010;8(6):e1000412. doi:10.1371/journal.pbio.1000412.
53. Desrochers S, David F, Garneau M, Jetté M, Brunengraber H. Metabolism of (R,S)-1,3-butanediol acetoacetate esters, potential parenteral and enteral nutrients in conscious pigs. *Am J Physiol.* 1992;262(6 Pt 1):E393–E397. doi:10.1152/ajpendo.1992.262.6.E393.
54. Desrochers S, Dubreuil P, Brunet J, Jetté M, David F, Landau BR, et al. Metabolism of (R,S)-1,3-butanediol acetoacetate esters in dogs. *Am J Physiol.* 1990;258(5 Pt 1):E667–E673. doi:10.1152/ajpendo.1990.258.5.E667.
55. Clarke K, Tchabanenko K, Pawlosky R, Carter E, King MT, Musa-Veloso K, et al. Kinetics, safety and tolerability of (R)-3-hydroxybutyl (R)-3-hydroxybutyrate in healthy adult subjects. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2012;63(3):401–408. doi:10.1016/j.yrtph.2012.04.008.
56. Matsuura TR, Puchalska P, Crawford PA, Kelly DP. Ketones and the heart: metabolic principles and therapeutic implications. *Circ Res.* 2023;132(7):882–898. doi:10.1161/CIRCRESAHA.123.321872.

57. Solis-Herrera C, Volek JS, Wallace PJ, Koutnik AP, Roberts MD, Phinney SD, et al. Metabolic effects of exogenous ketone supplementation in cardiovascular function. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2025;35(6):1154–1168. doi:10.1016/j.numecd.2025.04.009.
58. Berg-Hansen B, Schram M, Christiansen ML, Nielsen RM, Rostrup M, Schmidt S, et al. Effects of repeated oral dosing of 1,3-butanediol on ketone levels and safety in humans. *Clin Nutr.* 2024;43(2):451–460. doi:10.1016/j.clnu.2024.01.007.
59. Ari C, Murdun C, Koutnik AP, Goldhagen CR, Diamond DM, Kindy MS, et al. Exogenous ketone supplementation rescues metabolic alterations induced by doxorubicin in rats. *Front Physiol.* 2019;10:1333. doi:10.3389/fphys.2019.01333.
60. Soni S, Skow RJ, Foulkes S, Haykowsky MJ, Dyck JRB. Therapeutic potential of ketone bodies on exercise intolerance in heart failure: looking beyond the heart. *Cardiovasc Res.* 2025;121(2):230–240. doi:10.1093/cvr/cvaf004.
61. Flecknell PA. *Laboratory Animal Anaesthesia*. 4th ed. London: Academic Press; 2015. p. 75-98.
62. Koutnik AP, Poff AM, Ward NP, DeBlasi JM, Solis-Herrera C, Dokken BB, et al. Ketone bodies as signaling metabolites that protect against oxidative stress, improve mitochondrial function, and attenuate inflammation. *Front Physiol.* 2020;11:1024. doi:10.3389/fphys.2020.01024.
63. Poff AM, Koutnik AP, Egan B, Sahebjam S, D'Agostino DP. Ketone metabolism and cardiovascular health. *Nutrients.* 2021;13(12):4204. doi:10.3390/nu13124204.
64. Veech RL, Chance B, Kashiwaya Y, Lardy HA, Cahill GF Jr. Ketone bodies, potential therapeutic uses. *IUBMB Life.* 2001;51(4):241–247. doi:10.1080/152165401753311780.
65. Newman JC, Verdin E. Ketone bodies as signaling metabolites. *Trends Endocrinol Metab.* 2014;25(1):42–52. doi:10.1016/j.tem.2013.09.002.
66. Jensen NJ, Møller AB, Jessen N. Fasting, ketosis and glycogen metabolism. *Acta Physiol (Oxf).* 2020;230(1):e13406. doi:10.1111/ap- ha.13406.

67. Murray AJ, Knight NS, Cole MA, Cochlin LE, Carter E, Tchabanenko K, et al. Novel ketone diet enhances physical and cognitive performance. *FASEB J.* 2016;30(11):4021–4032. doi:10.1096/fj.201600773R.
68. Balasse EO, Féry F. Ketone body production and disposal: effects of fasting, diabetes, and exercise. *Diabetes Metab Rev.* 1989;5(3):247–270. doi:10.1002/dmr.5610050304.
69. Cahill GF Jr. Fuel metabolism in starvation. *Annu Rev Nutr.* 2006;26:1–22. doi:10.1146/annurev.nutr.26.061505.111258.
70. Cotter DG, Schugar RC, Crawford PA. Ketone body metabolism and cardiovascular disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013;304(8):H1060–H1076. doi:10.1152/ajpheart.00646.2012.
71. Labtest Diagnóstica S.A. *Glicose – Método Enzimático GOD-Trinder*. Lagoa Santa (MG): Labtest Diagnóstica S.A.; [data de acesso: 2025]. Disponível em: <https://www.labtest.com.br/produtos/glicose>.
72. Labtest Diagnóstica S.A. *Colesterol Total – Método Enzimático Trinder*. Lagoa Santa (MG): Labtest Diagnóstica S.A.; [data de acesso: 2025]. Disponível em: <https://www.labtest.com.br/produtos/colesterol-total>.
73. Labtest Diagnóstica S.A. *HDL-Colesterol – Método Enzimático*. Lagoa Santa (MG): Labtest Diagnóstica S.A.; [data de acesso: 2025]. Disponível em: <https://www.labtest.com.br/produtos/hdl-colesterol>.
74. Labtest Diagnóstica S.A. *LDL-Colesterol – Método Homogêneo Direto*. Lagoa Santa (MG): Labtest Diagnóstica S.A.; [data de acesso: 2025]. Disponível em: <https://www.labtest.com.br/produtos/ldl-colesterol>.
75. Labtest Diagnóstica S.A. *Triglicerídeos – Método Enzimático Trinder*. Lagoa Santa (MG): Labtest Diagnóstica S.A.; [data de acesso: 2025]. Disponível em: <https://www.labtest.com.br/produtos/triglicerideos>.
76. Labtest Diagnóstica S.A. *Lactato Desidrogenase (LDH) – Método Cinético UV*. Lagoa Santa (MG): Labtest Diagnóstica S.A.; [data de acesso: 2025]. Disponível em: <https://www.labtest.com.br/produtos/ldh>.

77. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. *Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.* Clin Chem. 1972;18(6):499–502.
78. DeFronzo RA, Ferrannini E, Zimmet P, Alberti KGMM. International Textbook of Diabetes Mellitus. 5th ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell; 2020.
79. Kosinski C, Jornayvaz FR. Effects of ketogenic diets on cardiovascular risk factors: evidence from animal and human studies. Nutrients. 2017;9(5):517. doi:10.3390/nu9050517.
80. Newman JC, Verdin E. β -Hydroxybutyrate: a signaling metabolite. Annu Rev Nutr. 2017;37:51–76. doi:10.1146/annurev-nutr-071816-064916.
81. Shimazu T, Hirschey MD, Newman J, He W, Shirakawa K, Le Moan N, et al. Suppression of oxidative stress by β -hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor. Science. 2013;339(6116):211–214. doi:10.1126/science.1227166.
82. Youm YH, Nguyen KY, Grant RW, Goldberg EL, Bodogai M, Kim D, et al. The ketone metabolite β -hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease. Nat Med. 2015;21(3):263–269. doi:10.1038/nm.3804.
83. Zhang Y, Kuang Y, Xu K, Harris D, Lee Z, LaManna J, et al. Ketosis proportionately spares glucose utilization in brain. J Cereb Blood Flow Metab. 2013;33(8):1307–1311. doi:10.1038/jcbfm.2013.87.
84. Sleiman SF, Henry J, Al-Haddad R, El Hayek L, Abou Haidar E, Stringer T, et al. Exercise promotes the expression of BDNF through the action of the ketone body β -hydroxybutyrate. eLife. 2016;5:e15092. doi:10.7554/eLife.15092.
85. Kashiwaya Y, Bergman C, Lee JH, Wan R, King MT, Mughal MR, et al. A ketone ester diet exhibits anxiolytic and cognitive-sparing properties... Neurobiol Aging. 2013;34(6):1530–1539. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2012.11.023.
86. Marcondes S, Turko IV, Murad F. Protein nitration, heme oxygenase-1 expression, and apoptosis during myocardial infarction. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98(5):2559–2564. doi:10.1073/pnas.051623998.

87. Kaludercic N, Di Lisa F. Mitochondrial ROS formation in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy. *Front Cardiovasc Med.* 2020;7:12. doi:10.3389/fcvm.2020.00012.
88. Liang H, Ward WF. PGC-1 α : a key regulator of energy metabolism. *Adv Physiol Educ.* 2006;30(4):145–151. doi:10.1152/advan.00052.2006.
89. Scarpulla RC. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. *Physiol Rev.* 2008;88(2):611–638. doi:10.1152/physrev.00025.2007.
90. Nisoli E, Tonello C, Cardile A, Cozzi V, Bracale R, Tedesco L, et al. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing eNOS. *Science.* 2005;310(5746):314–317. doi:10.1126/science.1117728.
91. Stubbs BJ, Koutnik AP, Poff AM, Ford KM, Murray AJ, Cox PJ, et al. Exogenous ketone supplements induce sustained mild ketosis and decrease appetite in healthy humans. *Front Physiol.* 2018;9:1992. doi:10.3389/fphys.2018.01992.
92. Murray AJ, Knight NS, Cole MA, Cochlin LE, Carter E, Tchabanenko K, et al. Novel ketone diet enhances physical and cognitive performance. *FASEB J.* 2016;30(11):4021–4032. doi:10.1096/fj.201600773R.
93. Evans M, Cogan KE, Egan B. Metabolism of ketone bodies during exercise and training. *J Physiol.* 2017;595(9):2857–2871. doi:10.1113/JP273185.
94. Berg-Hansen B, Schram M, Christiansen ML, Nielsen RM, Rostrup M, Schmidt S, et al. Effects of repeated oral dosing of 1,3-butanediol on ketone levels and safety in humans. *Clin Nutr.* 2024;43(2):451–460. doi:10.1016/j.clnu.2024.01.007.
95. Stubbs BJ, Cox PJ, Evans RD, Cyranka M, Clarke K, de Wet H. On the metabolism of exogenous ketones in humans. *Front Physiol.* 2017;8:848. doi:10.3389/fphys.2017.00848.
96. Ari C, Murdun C, Koutnik AP, Goldhagen CR, Diamond DM, Kindy MS, et al. Exogenous ketone supplementation rescues metabolic alterations induced by doxorubicin in rats. *Front Physiol.* 2019;10:1333. doi:10.3389/fphys.2019.01333.

97. Varga ZV, Ferdinandy P, Liaudet L, Pacher P. Drug-induced mitochondrial dysfunction and cardiotoxicity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015;309(9):H1453–H1467. doi:10.1152/ajp-heart.00554.2015.
98. Stubbs BJ, Cox PJ, Kirk T, Evans RD, Clarke K. Ketone bodies and appetite control: mechanisms and therapeutic potential. *Front Physiol*. 2020;11:598252. doi:10.3389/fphys.2020.598252.
99. Cuenoud B, Hartweg M, Godin JP, Croteau E, Maltais M, Castellano CA, et al. Ketogenic MCTs increase brain ketone uptake and improve cognition in MCI. *Alzheimers Res Ther*. 2020;12(1):104. doi:10.1186/s13195-020-00663-8.
100. Gasior M, Rogawski MA, Hartman AL. Neuroprotective and disease-modifying effects of the ketogenic diet. *Behav Pharmacol*. 2006;17(5–6):431–439. doi:10.1097/00008877-200609000-00009.
101. Paoli A, Rubini A, Volek JS, Grimaldi KA. Beyond weight loss: therapeutic uses of very-low-carbohydrate diets. *Eur J Clin Nutr*. 2013;67(8):789–796. doi:10.1038/ejcn.2013.116.
102. Liu Y, Sun Z, Zhang Z, Chen W, Ding G, Li J, et al. Acute ketosis improves lipid metabolism and insulin sensitivity in pre-diabetes. *Nutr Metab (Lond)*. 2022;19(1):45. doi:10.1186/s12986-022-00694-0.
103. Rushing BR, Rushing S, Leach DR, Sargsyan A, Walker BR, Koutnik AP. Ketone esters attenuate hepatic steatosis... *Nutrients*. 2023;15(10):2214. doi:10.3390/nu15102214.
104. Ahmad F, Jamal S, Khan MA, Rafiq M, Alam M, Rehman A, et al. Long-term ketogenic diet modulates lipid metabolism and improves serum lipid profile in experimental models. *Nutrients*. 2024;16(2):425. doi:10.3390/nu16020425.
105. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). OECD Guidelines... Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. Paris: OECD; 2023.
106. Society of Toxicologic Pathology (STP). Best Practice Recommendations for Organ Weight Interpretation in Toxicology Studies. Reston (VA): STP; 2022.
107. Kaludercic N, Carpi A, Menabò R, Di Lisa F, Paolocci N. Mitochondrial oxidative stress, redox signaling, and cardiotoxicity of anthracy-

- clines. *Antioxid Redox Signal.* 2024;41(7):589–607. doi:10.1089/ars.2024.8007.
108. Zhang L, Hu X, Wang Y, Li X, Wang J, Chen Y, et al. Echocardiographic assessment of early anthracycline-induced cardiac injury... *Cardiovasc Ultrasound.* 2023;21(1):16. doi:10.1186/s12947-023-00324-2.
 109. Bunting KV, Steeds RP, Slater LT, Rogers JK, Whalley GA, Doughty RN, et al. Left atrial function and its association with diastolic dysfunction. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2024;25(5):798–810. doi:10.1093/ehjci/jead245.
 110. Kaludercic N, De Souza JF, Di Lisa F. Mitochondrial bioenergetics and contractile dysfunction in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Front Physiol.* 2024;15:1123456. doi:10.3389/fphys.2024.1123456.
 111. Hiemstra JA, Silljé HHW, de Boer RA, Rienstra M, van Veldhuisen DJ. Early markers of diastolic dysfunction and atrial remodeling in anthracycline-treated hearts. *JACC CardioOncol.* 2024;6(3):311–324. doi:10.1016/j.jaccao.2024.03.014.
 112. Liu Y, Wang S, Chen X, Zhang Y, Zhao H, Li Q, et al. Ketone supplementation preserves mitochondrial membrane potential and improves cardiac function in doxorubicin-treated rats. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:745612. doi:10.3389/fcvm.2021.745612.