

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
tese será disponibilizado
somente a partir de 12/01/2025.



**Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Medicina**

CAROLINA RODRIGUES TONON

Influência de análogo de GLP-1 na microbiota intestinal e atenuação da cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina em ratos

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. Associada Bertha Furlan Polegato

**Botucatu
2024**

Carolina Rodrigues Tonon

Influência de análogo de GLP-1 na microbiota intestinal e atenuação da cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina em ratos

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. Associada Bertha Furlan Polegato

Botucatu
2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Tonon, Carolina Rodrigues.

Influência de análogo de GLP-1 na microbiota intestinal e atenuação da cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina em ratos / Carolina Rodrigues Tonon. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Bertha Furlan Polegato

Capes: 40101002

1. Doxorrubicina. 2. Cardiotoxicidade. 3. Microbioma Gastrointestinal. 4. Inflamação. 5. Liraglutida.

Palavras-chave: Cardiotoxicidade; Doxorrubicina; Inflamação sistêmica; Liraglutida; Microbiota intestinal.

IMPACTO ESPERADO DA TESE NA SOCIEDADE

Com o envelhecimento da população mundial, espera-se aumento no número de casos de neoplasias. A doxorrubicina é um dos quimioterápicos mais utilizado no tratamento de diversos tipos de câncer tais como mama, tireoide, leucemia e linfomas. A cardiotoxicidade é um efeito colateral importante dessa medicação e pode cursar com insuficiência cardíaca. A insuficiência cardíaca é uma condição associada a elevados gastos em saúde, piora da qualidade de vida dos pacientes e elevada morbimortalidade.

Diversas medicações estão sendo estudadas na tentativa de prevenir ou atenuar a cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina, porém ainda não dispomos de estratégias eficientes em mitigar os efeitos colaterais dessa medicação.

Nesse trabalho avaliamos os efeitos da liraglutida, um análogo de GLP-1, na atenuação da cardiotoxicidade. Essa classe de medicamentos se mostrou efetiva em diminuir eventos cardiovasculares em pacientes com fatores de risco, no entanto, os mecanismos pelos quais a droga é benéfica ainda são desconhecidos.

Com nossos resultados esperamos identificar as vias fisiopatológicas envolvidas na cardiotoxicidade, bem como os mecanismos moleculares de ação da liraglutida, contribuindo para o conhecimento de ambos os campos de pesquisa.

EXPECTED IMPACT OF THE THESIS ON SOCIETY

The number of cancers cases are expected to increase along with the aging of the population. Doxorubicin is one of the most used chemotherapy drugs in the treatment of several types of cancer such as breast, thyroid, leukemia and lymphomas. Cardiotoxicity is an important side effect of this medication and can lead to heart failure. Heart failure is a condition associated with high healthcare costs, poor quality of life and high morbidity and mortality.

Several medications are being studied as an attempt to prevent or attenuate doxorubicin-induced cardiotoxicity, but we still do not have efficient strategies to mitigate the side effects of this medication.

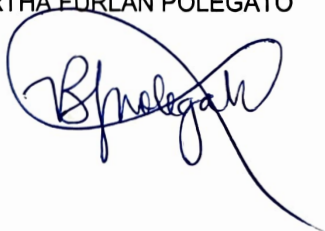
In this work, we evaluated the effects of liraglutide, a GLP-1 analogue in attenuating cardiotoxicity. This class of medications is effective in reducing cardiovascular events in patients with risk factors, however, the mechanisms by which the drug is beneficial are still unknown.

With our results, we hope to identify the pathophysiological pathways involved in cardiotoxicity, as well as the molecular mechanisms of action of liraglutide, contributing to better understanding this field of research.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE CAROLINA RODRIGUES TONON, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA EM CLÍNICA MÉDICA, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 12 dias do mês de julho do ano de 2024, às 14:15 horas, no(a) Sala de reuniões 01 do Prédio da Administração da FMB/Unesp, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de CAROLINA RODRIGUES TONON, intitulada **Influência de análogo de GLP-1 na microbiota intestinal e atenuação da cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina em ratos**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. BERTHA FURLAN POLEGATO (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Depto. de Clínica Médica / FM/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. MARIANA JANINI GOMES (Participação Virtual) do(a) Kinesiology and Sport Management / Texas A&M University, Prof. Dr. LUIZ DOMINGUES DE ALMEIDA JUNIOR (Participação Presencial) do(a) Depto. de Biofísica e Farmacologia / IB/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. MARINA POLITI OKOSHI (Participação Presencial) do(a) Depto. de Clínica Médica / FM/Botucatu - Unesp. 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



ΕΠÍΦΡΑΓΗ

“Eu prefiro ter perguntas que não podem ser respondidas a ter respostas que não podem ser questionadas”.

Richard Feynman

DEDICATÓRIA

A meus pais: *Sandra e Renato*.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Profa. *Bertha Furlan Polegato*,

Você é minha maior inspiração desde que comecei essa jornada da pós-graduação.

No início, achamos que nossa relação seria um pouco complicada, pois nós duas temos o gênio muito forte, porém, nos acertamos de uma forma inimaginável.

Agradeço imensamente por essa escolha. Você, literalmente, pegou na minha mão e, me ensinou desde o básico, como segurar um rato, ao mais complexo, como entender uma ANOVA de duas vias. Me ensinou a tabular dados, a interpretá-los, a fazer gráficos, a escrever artigos, a fazer apresentações, a dar aulas. Me ensinou a fazer projetos de pesquisa, a me engajar em outras funções dentro da universidade, enfim, me ajudou a me transformar em uma pesquisadora completa. Você me transmitiu tudo o que sabe, com tanta humildade, o que me fez refletir o que é ser professor. E, na minha opinião, você exerceu sua função como professora de uma forma brilhante ao me guiar por esse caminho. Você se dedicou tanto a mim, que eu não tenho palavras para agradecer.

Acredito que nunca conseguirei retribuir todo o ensinamento que você me proporcionou e espero ser, um dia, um pouco da professora e pesquisadora que é e que você possa se orgulhar de mim e do que me tornei, pois grande parte das minhas conquistas vou dever aos seus ensinamentos e à sua parceria.

Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço meus pais, *Sandra e Renato*, por serem meu alicerce e meu maior exemplo. Obrigada por, desde cedo, terem me incentivado a estudar e, por me fornecerem todos os meios necessários para isso. Minha mãe, professora de matemática, sempre muito engajada no processo de ensino e buscando crescer constantemente; fez seu Mestrado e enfrentou grandes obstáculos, mas me lembro muito bem do dia de sua defesa, quando eu era apenas uma criança... esse título me estimulou a chegar até aqui hoje. Meu pai, dono da Revistaria e Livraria Tonon na minha cidade natal, sempre trazendo revistas, jornais e livros para dentro de casa... isso foi fundamental para obtenção de conhecimento e o gosto pela leitura. Além disso, agradeço por terem me incentivado a ser uma pessoa crítica e questionadora e por terem me apoiado incondicionalmente quando escolhi fazer Medicina, mesmo sabendo que não seria uma tarefa fácil. Obrigada por terem me estimulado a ficar na UNESP-Botucatu quando eu queria desistir. Essa foi a decisão mais sábia que poderia ter tomado na minha vida profissional até hoje. Amo muito vocês.

Agradeço meu irmão gêmeo, *Vítor*, por toda a parceria durante a vida. Por ter sido meu cúmplice na escola e meu parceiro de questionamentos. Sem esse espírito crítico, não teríamos chegado até aqui. Obrigada por todos os ensinamentos de exatas e, principalmente, por ter me feito perceber que a Medicina era o sonho da minha vida. Serei eternamente grata a você por isso. Tenho muito orgulho de você, gêmeo.

Também agradeço meus tios *Márcio e Érika* e prima *Nicole*, por sempre estarem presentes na minha vida. Amo vocês.

Obrigada aos meus professores do início da vida, que me ensinaram o básico, o que definitivamente me permitiu chegar até aqui hoje. Em especial, agradeço àqueles que me estimularam a sempre questionar e a querer saber mais e mais.

Ao meu esposo, *Rannier*, que é o amor da minha vida, meu companheiro e meu melhor amigo. Que me viu crescer como estudante, como médica e agora como pesquisadora. Que sempre esteve presente em todos os momentos dessa caminhada. Que entendeu minhas ausências para que eu pudesse concretizar esse sonho. Que cuidou do nosso lar e dos nossos cães Luke e Bruce quando eu não estive presente. Sem você, eu não teria forças para chegar até aqui. Você é o que me faz viver. Amo você.

À *Disciplina de Clínica Médica Geral* pelo estímulo constante, em todos os aspectos, e por ter me dado todos os meios necessários para realizar a pós-graduação.

Aos meus queridos professores e agregados da Clínica Médica Geral, *Marina Okoshi, Sérgio Paiva, Leonardo Zornoff, Marcos Minicucci, Paula Schmidt, Katashi Okoshi, Suzana Tanni* por todos os ensinamentos acadêmicos e pessoais, que levarei para o resto da vida.

Um agradecimento especial, à Profa. *Marina Okoshi*, que me recebeu de braços abertos quando terminei a residência médica e me deu meu primeiro emprego na pesquisa clínica. Obrigada por acreditar em mim e no meu potencial. Também agradeço ao Prof. *Sérgio Paiva* por ter sanado tantas dúvidas de estatística desse trabalho.

Aos médicos da disciplina *Danilo, Diego, Edson, Filipe Welson, Raquel, Roberto Minoru e Taline*, obrigada por compartilharem o dia-a-dia e pela ajuda nos momentos de assistência aos pacientes.

Aos meus amigos pós-graduandos do laboratório de remodelação cardíaca e nutrição (RECAN), *Marina Gaiato, Paola Balin, Natália Ferreira, Nayane Vieira, Seiji Fujimori, Ana Paula Ribeiro e Ronny Petterson*, vocês foram essenciais nessa caminhada. Eu não sabia utilizar uma pipeta, mas com muita paciência pegaram na minha mão e me ensinaram muito do que sei hoje. Obrigada por todos os ensinamentos que levarei para sempre comigo. Em especial, agradeço ao *Seiji*, pelos ensinamentos de laboratório em geral e, principalmente, sobre Western blot. Também agradeço à minha grande amiga *Marina Gaiato*, que além de tudo, se tornou minha comadre.

Agradeço à Profa. *Mariana Janini Gomes* por ter me recebido na Texas A&M University nos EUA durante os 3 meses em que realizei minha capacitação no exterior e por tudo que me ensinou durante esse período.

Aos meus grandes irmãos da residência médica, *Alana e Vinícius*, que me estimularam a continuar na Clínica Médica e que, mesmo longe fisicamente, sempre estiveram no meu coração.

Ao compadre *Leonardo Rufino* e à grande amiga *Miriam Paiva* pelos conselhos sobre a vida e parceria nos momentos de lazer.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Médica, *Elisângela, Laura, Bruno, Renato e Yasmin*. Obrigada por sempre estarem disponíveis e dispostos a ajudar.

Aos *funcionários da UNIPEX*, por toda a ajuda no desenvolvimento desse projeto.

Agradeço ao professor *Katashi* pela realização do ecocardiograma dos animais.

Ao *Dijon* por toda a ajuda em diversas etapas desse projeto.

À professora *Maria Aparecida Marchesan Rodrigues* pela análise histológica das lâminas.

Ao professor *Josias Rodrigues* pela análise da microbiota.

Ao *Luiz Domingues de Almeida* pela ajuda na dosagem de ácidos graxos.

À Camila Correa pela ajuda nas análises de estresse oxidativo.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	iii
Lista de Figuras	v
Lista de Abreviaturas	vii
Resumo	1
Abstract	4
Introdução	7
Hipótese	19
Objetivos	21
Material e Métodos	23
Cálculo do tamanho amostral	24
Delineamento experimental	24
Ecocardiograma	26
Estudo do Coração isolado	27
Análise histológica	28
Análise das espécies reativas in situ	28
Avaliação do estresse oxidativo	29
Avaliação da atividade das enzimas antioxidantes	30
Western blot	30
ELISA para avaliação de LPS	31
Avaliação de ácidos graxos de cadeia curta nas fezes	32
Avaliação da microbiota intestinal	33
Análise estatística	34
Resultados	35
Evolução do peso	36
Consumo de ração	36
Peso dos órgãos	37
Ecocardiograma	38
Estudo do coração isolado	40
Histologia	44
Estresse oxidativo	48
Dosagem de LPS	49
Avaliação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes	49
Western Blot	51
Microbiota	53
Alfa diversidade	59
Beta diversidade	60
Discussão	62
Conclusões	72
Limitações do Estudo	74
Referências	76
Material Suplementar	96
Anexos	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso dos órgãos.....	38
Tabela 2. Variáveis ecocardiográficas estruturais.....	39
Tabela 3. Frequência cardíaca e variáveis ecocardiográficas funcionais.....	40
Tabela 4. Abundância relativa da microbiota a nível de filos no momento inicial	54
Tabela 5. Abundância relativa da microbiota a nível de filos no momento final.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fisiopatologia da cardiotoxicidade induzida pela doxorubicina.....	12
Figura 2. Fisiopatologia da ruptura de barreira intestinal e cardiotoxicidade	15
Figura 3. Delineamento experimental.....	25
Figura 4. Evolução do peso médio e consumo de ração	37
Figura 5. Traçados representativos do estudo do coração isolado.....	41
Figura 6. Volume inicial do balão e PS máxima no estudo do coração isolado	42
Figura 7. Derivadas positiva e negativa obtidas no estudo do coração isolado	42
Figura 8. Relação pressão diastólica – volume diastólico	43
Figura 9. Relação stress diastólico – strain	43
Figura 10. Cortes histológicos do miocárdio corados com HE.....	44
Figura 11. Cortes histológicos do intestino grosso	45
Figura 12. Área do miócito	46
Figura 13. Representação das espécies reativas de oxigênio no coração	47
Figura 14. Representação das espécies reativas de oxigênio no intestino.....	47
Figura 15. Estresse oxidativo no coração.....	48
Figura 16. Estresse oxidativo no intestino	49
Figura 17. Dosagem de ácidos graxos de cadeia curta antes do tratamento	50
Figura 18. Dosagem de ácidos graxos de cadeia curta após o tratamento	51
Figura 19. Expressão proteica por Western blot no coração	52
Figura 20. Expressão proteica por Western blot no intestino grosso.....	53
Figura 21. Abundância relativa da microbiota a nível de filos no momento inicial.....	55
Figura 22. Abundância relativa da microbiota a nível de filos no momento final.....	56
Figura 23. Abundância relativa da microbiota a nível de espécie no momento inicial.....	57
Figura 24. Abundância relativa da microbiota a nível de espécie no momento final	58
Figura 25. Alfa-diversidade (Índice de Shannon)	59
Figura 26. Representação da beta diversidade no momento inicial.....	60
Figura 27. Representação da beta no momento final	61

LISTA DE ABREVIATURAS

AE – átrio esquerdo
AGCC – ácidos graxos de cadeia curta
ANCOVA – análise de covariância
AO – aorta
ASC – área sob a curva
BCL-2 – linfoma de células B
CAT – catalase
DAMPs – padrões moleculares associados a danos
DDVE – diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo
DHE – dihidroetídeo
DM2 – Diabetes mellitus tipo 2
DNPH – 2,4-dinitrofenil-hidrazina
DRP-1 – proteína relacionada à dinamina
DSVE – diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo
EDPP – espessura diastólica da parede posterior
EDSIV – espessura diastólica do septo interventricular
EROS – espécies reativas de oxigênio
ERVE – espessura relativa do ventrículo esquerdo
FC – frequência cardíaca
FE – fração de ejeção
Fis1 – proteína de fissão tipo 1
GAPDH – gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase
GLM – modelo linear generalizado
GLP-1 – *glucagon-like peptide*
HE – hematoxilina e eosina
IC – insuficiência cardíaca
IL-1 – interleucina 1
IL-10 – interleucina 10
IL-6 – interleucina 6
IMVE – índice de massa do ventrículo esquerdo
IP – intraperitoneal
JAM – molécula de adesão juncional
LPS – lipopolissacárides
MDA – malondialdeído

MFN1 – mitofusina 1
MFN2 – mitofusina 2
MVE – massa do ventrículo esquerdo
NF-κB – fator nuclear kappa B
OPA1 – gene relacionado à atrofia óptica
OTU – unidade taxonômica operacional
PAMPs – padrões moleculares associados a patógenos
PBS – tampão fosfato-salino
PCR – reação em cadeia da polimerase
PERMANOVA – análise de variância permutacional multivariada
PRR – receptores de reconhecimento de padrões
PVE – pressão do ventrículo esquerdo
SC – Subcutâneo
SOD – superóxido dismutase
TBA – ácido tiobarbitúrico
TBARS – substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico
TCA – ácido tricloroacético
TDE – tempo de desaceleração da onda E
TGI – trato gastrointestinal
TLR – receptor *toll-like*
TNF-α – fator de necrose tumoral alfa
TRIV – tempo de relaxamento isovolumétrico
V0 – volume inicial
VEPP – velocidade de encurtamento da parede posterior
VVE – volume do ventrículo esquerdo
WGA – aglutinina de germe de trigo
ZO-1 – *zonula occludens* tipo 1

RESUMO

Introdução: A doxorrubicina é um quimioterápico utilizado no tratamento de neoplasias sólidas e hematológicas. No entanto, apresenta a cardiotoxicidade como seu efeito colateral mais grave, limitando o tratamento e piorando a qualidade de vida dos pacientes. A fisiopatologia da cardiotoxicidade é multifatorial e envolve geração de espécies reativas de oxigênio, inflamação e disfunção mitocondrial. Recentemente, alterações na microbiota intestinal têm sido associadas a doenças cardiovasculares. Os análogos de GLP-1 mostraram benefícios cardiovasculares em estudos clínicos, além de serem efetivos em reduzir o estresse oxidativo, a inflamação e possuírem efeitos protetores na mucosa intestinal. **Objetivo:** Avaliar o papel da liraglutida, análogo de GLP-1, na atenuação da cardiotoxicidade aguda induzida pela doxorrubicina em ratos por meio de sua atuação no intestino e na microbiota intestinal. **Material e Métodos:** Utilizamos 60 ratos Wistar machos alocados em 4 grupos: Controle (C), Doxorrubicina (D), Liraglutida (L) e Doxorrubicina + Liraglutida (DL). Os animais dos grupos L e DL receberam injeção subcutânea de liraglutida 0,6 mg/kg diariamente e os grupos C e D solução salina por 2 semanas. Após, os animais dos grupos D e DL receberam injeção intraperitoneal de doxorrubicina 20 mg/kg, dose única e os grupos C e L receberam injeção de salina. Após 48 horas da dose de doxorrubicina, os animais foram submetidos ao ecocardiograma, estudo do coração isolado e eutanásia para coleta dos materiais biológicos. **Resultados:** Os animais que receberam liraglutida ingeriram menos ração e apresentaram menor ganho de peso que os animais que não receberam a droga. Após a injeção de doxorrubicina, os animais tratados com o quimioterápico tiveram maior perda de peso em relação aos que não receberam. Ao ecocardiograma, as variáveis relacionadas à função sistólica (S' médio e VEPP) e à função diastólica (ondas E, A, E', A', E/A) foram menores nos animais tratados com doxorrubicina, assim como as derivadas temporais positivas e negativas e a complacência ventricular no estudo do coração isolado. No coração, não identificamos diferenças entre os grupos na histologia e na análise das espécies reativas de oxigênio *in situ*, no entanto, houve maior atividade da catalase no coração dos animais tratados com doxorrubicina. A expressão das proteínas TNF- α , NF κ B fosforilado, troponina T e BCL-2 foi menor e TLR-4 foi maior nos animais tratados com doxorrubicina. A dosagem de LPS no soro foi semelhante entre os grupos. Em relação ao intestino, observamos perda estrutural importante das criptas intestinais nos animais tratados com doxorrubicina e a concentração dos ácidos acético, propiônico e butírico nas fezes foram menores nos animais tratados com doxorrubicina. Antes e

após os tratamentos, os filos de bactérias mais preponderantes foram Firmicutes e Bacteroidetes, no entanto, após os tratamentos, a abundância relativa dos microrganismos do filo Bacteroidetes foi menor e do filo Proteobacteria foi maior nos animais tratados com doxorrubicina. Não houve diferença na alfa-diversidade entre os grupos nos dois momentos avaliados. Houve diferença na beta-diversidade entre os grupos no momento final. Não observamos efeito relevante da liraglutida nas análises realizadas. **Conclusão:** A doxorrubicina causou disfunção cardíaca sistólica e diastólica, alterando proteínas relacionadas à apoptose, inflamação e a atividade da catalase no tecido cardíaco. Além disso, promoveu alterações na estrutura intestinal, na composição da microbiota e reduziu dos ácidos graxos de cadeia curta, no entanto a liraglutida não foi capaz de atenuar a cardiotoxicidade pelos mecanismos avaliados.

Palavras-chave: Doxorrubicina; Cardiotoxicidade; Microbiota intestinal; Inflamação sistêmica; GLP-1; Liraglutida.

ABSTRACT

Introduction: Doxorubicin is an effective chemotherapy used in the treatment of solid and hematologic malignancies. However, cardiotoxicity represents the most severe side effect, limiting treatment and worsening patients' quality of life. The pathophysiology of doxorubicin-induced cardiotoxicity is multifactorial and involves direct damage to the DNA, oxidative stress, inflammation, and mitochondrial dysfunction. Recently, changes in gut microbiota have been associated to cardiovascular diseases. GLP-1 analogs have shown cardiovascular benefits in clinical trials and, also are effective in reducing oxidative stress, inflammation and seem to have a protective role in the intestinal barrier. **Objective:** Evaluate the role of liraglutide, a GLP-1 analog, in attenuating acute doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats by acting in the intestine and gut microbiota. **Material and Methods:** We used 60 male Wistar rats allocated in 4 groups: Control (C), Doxorubicin (D), Liraglutide (L), and Doxorubicin + Liraglutide (DL). The animals in groups L and DL received subcutaneous injection of 0.6 mg/kg liraglutide daily and groups C and D received saline, for 2 weeks. After, the animals in groups D and DL received an intraperitoneal injection of doxorubicin 20 mg/kg once. After 48 hours of doxorubicin injection, the animals were submitted to echocardiogram, isolated heart study, and euthanasia to collect biological materials, which were stored at -80 °C. **Results:** The animals that received liraglutide ingested less food and did not gain the same weight as animals that did not receive the GLP-1 analogue. After doxorubicin injection, the animals that received the chemotherapy showed a marked weight loss compared to the animals that did not receive the drug. At echocardiogram, the systolic variables (S' and PWSV) and the diastolic variables (waves E, A, E', A', E/A) were lower in the animals treated with doxorubicin, as well as the positive and negative temporal derivatives and ventricular compliance at isolated heart study. In the heart, we did not identify differences in the histological analysis and in reactive oxygen species *in situ*, however catalase activity was increased in animals treated with doxorubicin. The expression of the proteins TNF- α , phosphorylated NF κ B, Troponin T and BCL-2 was lower and TLR-4 was higher in the heart of animals treated with doxorubicin. LPS levels in serum were similar between groups. In the intestines, there was significant structural loss of intestinal crypts in animals treated with doxorubicin and the concentration of acetic, propionic and butyric acids in feces were lower in animals treated with the chemotherapy drug. Before and after treatment, the most predominant bacterial phyla were Firmicutes and Bacteroidetes, however, after treatment, the relative abundance

of microorganisms from the Bacteroidetes phylum was lower and Proteobacteria phylum was higher in the animals treated with doxorubicin. There was no difference in alpha-diversity between the groups at the two moments evaluated. Beta-diversity was different after the treatment between the groups. We did not observe a relevant effect of liraglutide in all analyses. **Conclusion:** Doxorubicin caused systolic and diastolic dysfunction, altering proteins related to apoptosis, inflammation and catalase activity in the heart. Besides, it caused important changes in intestinal structure, in the composition of microbiota and reduced short chain fatty acids in the feces, nevertheless liraglutide was not able to attenuate cardiotoxicity through the mechanisms evaluated.

Keywords: Doxorubicin; Cardiotoxicity; Gut microbiota; Systemic inflammation; GLP-1; Liraglutide

INTRODUÇÃO

A Doxorrubicina e suas consequências

O câncer é uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo e representa grande problema de saúde pública. Estima-se que, no Brasil, em cada ano do triênio 2023-2025, ocorrerão 704 mil casos novos de câncer (1) e, no mundo, estima-se que em 2030 ocorrerão aproximadamente 13,1 milhões de mortes por câncer (2).

Os antracíclicos, especialmente a doxorrubicina, são uma classe de medicamentos quimioterápicos utilizados há mais de 40 anos no tratamento de vários tipos de neoplasias hematológicas e sólidas, como câncer de mama, tireoide, sarcoma e osteossarcoma. Essa classe de medicamentos é considerada a primeira opção em vários esquemas terapêuticos devido a sua superioridade quando comparada a regimes que não incluem os antracíclicos (3), porém seu uso é limitado devido aos seus diversos efeitos colaterais (4), tais como cardiotoxicidade, toxicidade ao trato gastrointestinal, mielossupressão e nefrotoxicidade (4,5).

A doxorrubicina é um antibiótico derivado de um pigmento produzido por fungos do gênero *Streptomyces* spp. (2,6). Quimicamente, os antracíclicos possuem 4 anéis de antraquinona ligados a uma porção de amino-açúcar. As suas propriedades de citotoxicidade foram identificadas em 1950 e seu uso foi aprovado em 1963. O mecanismo antineoplásico da doxorrubicina consiste em dois mecanismos principais: 1) Inibição da topoisomerase II, enzima que desempenha papel fundamental na replicação e divisão celular e 2) Geração de radicais livres durante sua metabolização, que podem levar à peroxidação lipídica de membranas celulares, dano ao DNA, dano mitocondrial e por fim, ativação de diversas vias de morte celular (3,7–12).

Desde a década de 1970, sabe-se da associação entre o uso dos antracíclicos e a cardiotoxicidade, porém não há, até o momento, tratamentos específicos para prevenir ou curar a cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina (13). A cardiotoxicidade é o efeito colateral mais importante e mais limitante, pois pode levar à insuficiência cardíaca (IC), condição clínica crônica e irreversível (4).

A IC é caracterizada por alterações estruturais e/ou funcionais do coração, que resultam em elevadas pressões intracardíacas, podendo estar acompanhada de débito cardíaco inadequado. Essa doença possui grande impacto na qualidade de vida dos pacientes e também no sistema de saúde, devido aos altos custos implicados no seu diagnóstico e tratamento (4,14–16). Estima-se que existam

aproximadamente 64 milhões de pacientes com insuficiência cardíaca no mundo (17) e a previsão é de que aumente cada vez mais devido ao envelhecimento da população e à maior sobrevivência dos pacientes devido à descoberta de novas medicações. Além disso, a insuficiência cardíaca apresenta taxa de mortalidade muito elevada, de 15-30% em 1 ano e de até 75% em 5 anos em algumas populações específicas (18).

Clinicamente, a cardiotoxicidade induzida pela doxorubicina pode ser classificada em quatro tipos: aguda, subaguda, crônica e tardia (19). A cardiotoxicidade aguda é observada após algumas horas da administração da droga e se caracteriza por alterações eletrocardiográficas como alterações da repolarização, complexos QRS de baixa voltagem, taquicardia sinusal, extrassístoles ventriculares e supraventriculares e alargamento do intervalo QT. Essas manifestações geralmente são assintomáticas, com resolução espontânea em algumas horas ou semanas. Os mecanismos envolvidos na patogênese das arritmias incluem efeito tóxico direto do antracíclico no miocárdio e efeito indireto por meio da liberação de radicais livres e distúrbios no transporte de íons na membrana celular (20,21). A cardiotoxicidade subaguda é rara, aparece alguns dias a algumas semanas e a manifestação mais comum é a pericardite e/ou miocardite (19).

A cardiotoxicidade crônica é o resultado da exposição prolongada dos cardiomiócitos aos antracíclicos, no entanto sua patogenia não está completamente elucidada. Os sintomas aparecem dentro de algumas semanas a meses após o término da quimioterapia e são típicos de insuficiência cardíaca, como intolerância ao exercício e dispneia aos esforços, com a presença de alterações eletrocardiográficas de sobrecarga ventricular, cardiomegalia na radiografia de tórax e podem estar acompanhados de redução da fração de ejeção do ventrículo esquerdo no ecocardiograma (21). Por fim, a cardiotoxicidade tardia é diagnosticada vários anos após o término da quimioterapia, podendo se manifestar como insuficiência cardíaca, arritmias e distúrbios de condução (19).

A incidência da cardiotoxicidade induzida pela doxorubicina é dose-dependente, estando presente em 5 a 10% dos pacientes que recebem a dose padrão (até 400 mg/m²) e em até 20% dos pacientes que receberam dose cumulativa de 700 mg/m². Por esse motivo, a dose de doxorubicina recomendada é de aproximadamente 450 a 550 mg/m² (22), porém outros fatores também interferem na ocorrência da cardiotoxicidade, como idade do paciente, tempo de infusão da

medicação, radioterapia concomitante, e doenças cardiovasculares pré-existentes (23).

Mecanismos fisiopatológicos envolvidos na cardiotoxicidade

Vários mecanismos parecem estar envolvidos na fisiopatologia da cardiotoxicidade, como dano direto ao DNA por inibição da topoisomerase II, estresse oxidativo, ativação de vias inflamatórias, disfunção mitocondrial, alteração de bombas de cálcio, inibição de genes relacionados à expressão de proteínas musculares, aumento da atividade de proteases intracelulares, ativação de metaloproteinases de matriz e ativação de vias de morte celular. Esses mecanismos fisiopatológicos atuando conjuntamente culminam com a disfunção miocárdica (15,19,24–28).

O estresse oxidativo consiste no desbalanço entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e a atuação de mecanismos antioxidantes intrínsecos do organismo (11,12,25,29). Durante sua metabolização, a doxorrubicina é reduzida a semiquinona, que é transformada em quinona primária, a qual leva à formação de peróxido de hidrogênio, gerando radicais de hidróxido, que podem causar oxidação da membrana celular, dano ao DNA, disfunção mitocondrial, alteração da homeostase intracelular do cálcio e morte celular (10,19,30). O coração é um órgão sensível à ação das espécies reativas, pois, comparado com outros órgãos, os cardiomiócitos possuem pequenas concentrações de catalase, glutathione peroxidase e superóxido dismutase, enzimas que agem como antioxidantes naturais do organismo (25,26).

Além disso, a doxorrubicina tem grande afinidade pela membrana mitocondrial devido à presença de cardiolipina, um fosfolípido da membrana interna dessa organela, que, ao se ligar ao quimioterápico, forma um complexo irreversível, alterando a cadeia transportadora de elétrons e levando à mais produção de EROS. Somado a isso, a doxorrubicina pode levar à lesão direta da membrana mitocondrial, estimulando a liberação de fatores pro-apoptóticos e promovendo a ativação da via intrínseca da apoptose. O acúmulo de proteínas pró-apoptóticas (como BAX), a redução de proteínas anti-apoptóticas (como BCL-2) e ativação da caspase 3 e 9 já foram evidenciadas em células cardíacas após o tratamento com doxorrubicina (23).

Mais recentemente, alguns estudos mostraram que a doxorrubicina parece alterar a biogênese mitocondrial, processo no qual as mitocôndrias, sob

estresse, garantem sua qualidade e integridade por dois processos denominados fusão e fissão. Na fusão, as mitocôndrias se unem, permitindo troca de conteúdo e reduzindo a quantidade de organelas disfuncionais e, assim, aumentando a sua capacidade metabólica. De modo oposto, a fissão mitocondrial ocorre como controle de qualidade para eliminar organelas disfuncionais (31). A fusão é controlada por três proteínas: Atrofia Ótica I (OPA1), que regula a fusão da porção interna da membrana mitocondrial, Mitofusina I (MFN1) e Mitofusina II (MFN2), estando as duas últimas proteínas presentes na membrana externa mitocondrial mediando a fusão desta membrana. A fissão é mediada pela Proteína 1 Relacionada com a Dinamina (DRP1) e Proteína de Fissão 1 (Fis1). Em estudos *in vitro*, houve redução das proteínas de fusão mitocondrial (MFN1, MFN2, OPA1) e aumento na proteína de fissão DRP1 em cardiomiócitos de ratos neonatos tratados com doxorrubicina (32).

Adicionalmente, a inflamação está envolvida na fisiopatologia da insuficiência cardíaca aguda e crônica (33) e possui papel importante na disfunção cardíaca induzida pela doxorrubicina. A ação principal da inflamação consiste em proteger o organismo de patógenos externos e em promover o reparo dos tecidos frente a trauma ou infecção, preservando sua integridade. Entretanto, em situações em que a resposta inflamatória se dá de maneira exacerbada, os mecanismos, que a princípio têm papel protetor, passam a provocar danos aos tecidos e disfunção orgânica (34).

A inflamação é ativada e mantida pelos receptores de reconhecimento de padrões (PRR), que incluem os receptores *toll-like* (TLRs). Geralmente, esses receptores são ativados por padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e a padrões moleculares associados a dano (DAMPs), que são produtos originários de patógenos e de células lesionadas, respectivamente. Existem 10 tipos de TLRs em humanos, porém apenas três tipos estão presentes nos miócitos: TLR-2, TLR-3, TLR-4 (2,29). A ativação desses receptores leva à ativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B), promovendo a liberação de grande quantidade de citocinas pró-inflamatórias como interleucina (IL)-1, interleucina (IL)-6 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (35-37).

A IL-1 reduz a responsividade beta adrenérgica dos canais de cálcio, diminui a expressão de genes relacionados a homeostase do cálcio, aumenta a expressão da enzima óxido nítrico sintase (NOS), levando a aumento de óxido nítrico, com redução na contratilidade cardíaca e ataque direto à mitocôndria (38). A IL-6

agrava a disfunção mitocondrial, promove a síntese de colágeno pelos fibroblastos e também estimula a ação da enzima óxido nítrico sintase, reduzindo o influxo de cálcio e reduzindo a contratilidade miocárdica (35,39). O TNF- α causa redução da expressão de genes reguladores do cálcio, causando efeito inotrópico negativo, leva à apoptose dos cardiomiócitos, causa aumento dos receptores de angiotensina II, levando ao aumento da atividade dos fibroblastos e fibrose e também promove a ativação de metaloproteinases de matriz e redução dos inibidores de metaloproteinases, promovendo degradação da matriz extracelular e contribuindo para fibrose miocárdica (40,41).

Apesar de termos conhecimento sobre esses mecanismos, ainda não há estratégias terapêuticas bem estabelecidas para tratar ou atenuar a cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina. Em alguns estudos, o uso de substâncias anti-inflamatórias e inibidores de espécies reativas de oxigênio se mostraram pouco eficazes em prevenir a cardiopatia induzida pela doxorrubicina (21,42), porém outros estudos avaliaram a suplementação de alguns compostos naturais como açaí, chá verde e suco de laranja e mostraram atenuação da cardiotoxicidade (43–45). Portanto, os resultados nesse campo ainda são controversos.

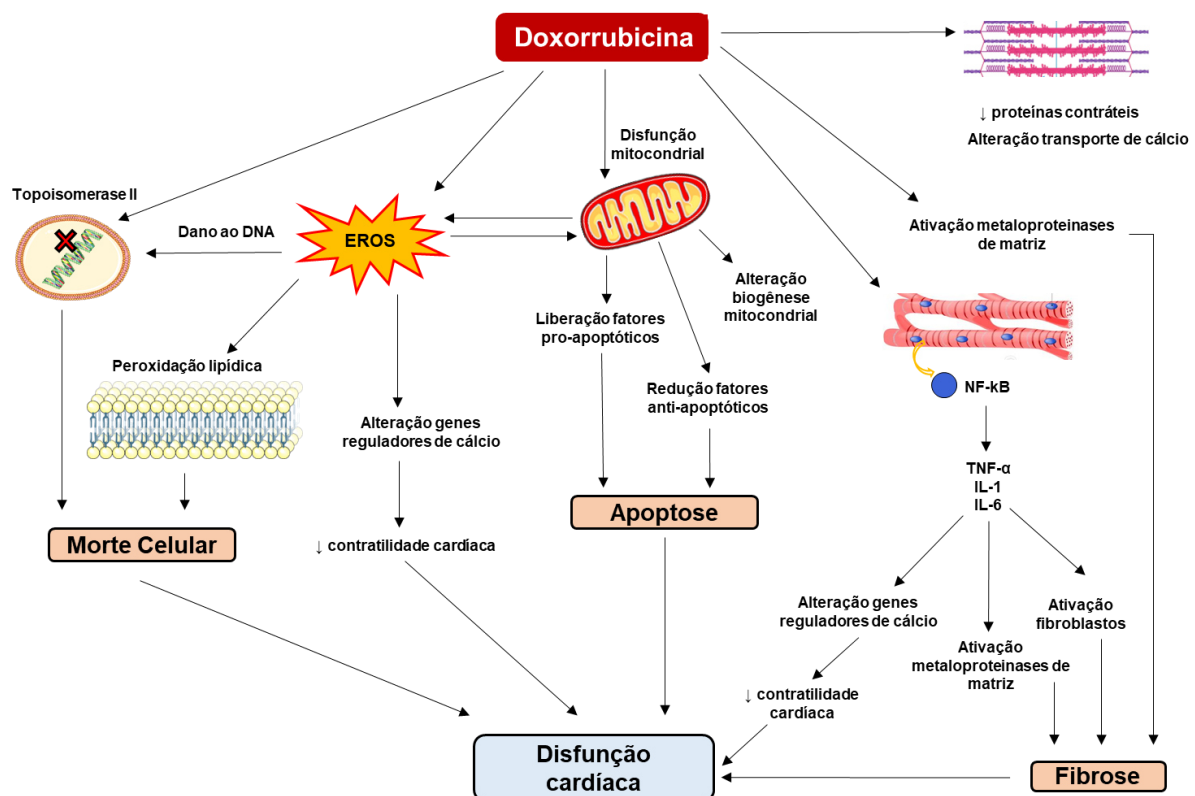


Figura 1. Fisiopatologia da cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina

Representação dos principais mecanismos envolvidos na cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina. EROS: espécies reativas de oxigênio; NF-kB: fator nuclear kappa B; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; IL-1: interleucina 1; IL-6: interleucina 6. Figura desenvolvida pelo autor no programa Power Point, Microsoft.

Toxicidade ao trato gastrointestinal e à microbiota

O trato gastrointestinal também é alvo de toxicidade pelos quimioterápicos (46), principalmente porque suas células se proliferam rapidamente e, dessa forma, são bastante sensíveis a essa classe de drogas (47). Aproximadamente 40% dos pacientes que recebem algum quimioterápico apresentam efeitos gastrointestinais. Os sintomas de toxicidade mais frequentes incluem dor abdominal, náuseas, vômitos e diarreia, o que pode afetar o estado nutricional do paciente e sua qualidade de vida, com consequente aumento do tempo de hospitalização, maior necessidade de nutrição parenteral e aumento do risco de infecções, afetando a morbidade e mortalidade dos pacientes (48–50).

Os mecanismos envolvidos na fisiopatologia da toxicidade gastrointestinal pelo uso de quimioterápicos são semelhantes aos mecanismos envolvidos na cardiotoxicidade e incluem formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, ativação do fator nuclear kappa B (NF-κB), ativação da inflamação e apoptose. Como consequência, ocorre ruptura da barreira do epitélio intestinal, que favorece a translocação bacteriana, com aumento da circulação de endotoxinas, podendo contribuir, assim, para intensificação da inflamação sistêmica (51).

Recentemente, alterações na microbiota intestinal secundárias ao uso de quimioterápicos têm atraído a atenção dos investigadores, como relatado por Montassier *et al.*, que mostraram redução de Firmicutes e Actinobacteria nas fezes de pacientes com linfoma submetidos a quimioterapia. Da mesma forma, Motoori *et al.* relataram menor abundância de *Lactobacillus* após regime combinado de quimioterapia e Galloway-Peña *et al.* mostraram redução na diversidade da microbiota de pacientes com leucemia mieloide após início do tratamento quimioterápico (51–54).

A microbiota é definida como a população de micro-organismos que habita a pele e mucosas de um indivíduo saudável. Estima-se que a microbiota humana contenha aproximadamente 10^{14} bactérias, o que representa aproximadamente o número de células do nosso corpo (55). O local mais colonizado é o trato gastrointestinal, primeiramente por possuir a maior superfície (200m²) e por ser um ambiente rico em nutrientes para a sobrevivência dos micro-organismos. Estima-se que apenas o cólon contenha mais de 70% de todos os micro-organismos do corpo humano (56).

A microbiota intestinal oferece vários benefícios ao ser humano, tais como a digestão de macromoléculas indigeríveis, como carboidratos e proteínas, formando ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente o ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico, que são rapidamente e mais facilmente absorvidos na porção distal do intestino. Esses ácidos graxos são importantes substratos energéticos, além de atuarem na manutenção da imunidade celular local e na integridade da barreira intestinal. Também possuem atividade anti-inflamatória que se deve à ativação de receptores acoplados a proteínas G (GRP41 e GPR43) (16,57–59), com inibição do NF- κ B e redução da produção de TNF- α , IL-1 e IL-6. Além disso, a microbiota contribui para a síntese e excreção de vitaminas, prevenção da colonização por bactérias patogênicas por meio da competição por espaço e nutrientes, imunomodulação e manutenção da integridade da barreira intestinal, que se dá pelo aumento da produção de mucinas e da expressão de proteínas formadoras das junções celulares: ocludinas, claudinas, moléculas de adesão juncional (JAM) e zonula occludens (ZO-1) (60).

A composição habitual da microbiota é influenciada por alguns fatores: genótipo do hospedeiro, meio-ambiente e dieta. O termo eubiose se refere a um estado em que há preponderância de espécies benéficas, pertencentes principalmente aos filos Firmicutes e Bacteroidetes. Entretanto, há situações em que ocorre o desequilíbrio desses micro-organismos, com redução de sua diversidade e alteração de sua função, o que caracteriza a disbiose (61). Acredita-se que a disbiose gera sinalização alterada para o sistema imunológico, promovendo a liberação de citocinas inflamatórias, reduz a produção de AGCC, com ruptura da barreira intestinal por meio de alteração das junções intercelulares da mucosa e morte celular dos enterócitos, por deficiência do seu substrato energético (60-62).

O trato gastrointestinal (TGI) é composto por uma camada de células epiteliais estratificadas ligadas entre si pelas junções celulares. Essa camada tem o objetivo de separar o ambiente luminal das estruturas subjacentes: submucosa, tecidos linfoides associados a mucosa e corrente sanguínea (63). Em condições fisiológicas, as bactérias e as endotoxinas não penetram através da membrana intestinal saudável, entretanto, em situações em que ocorre disfunção dessa barreira, pode haver fluxo para-celular de micro-organismos, toxinas e outros antígenos luminiais, o que é definido como translocação bacteriana, que contribui para a ativação e propagação da resposta inflamatória sistêmica (64,65).

Portanto, a disbiose pode levar à ruptura da barreira intestinal, com consequente ativação e intensificação da resposta inflamatória sistêmica e complicações à distância, como no coração, o que poderia contribuir ainda mais para o desenvolvimento, progressão e manutenção da cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina. Alterações na diversidade da microbiota já foram associadas a doenças cardiovasculares e a doenças metabólicas como hipertensão, obesidade, dislipidemia, resistência insulínica, aterosclerose e insuficiência cardíaca (60,66,67). Nesse sentido, a preservação da homeostase da microbiota e do epitélio intestinal talvez possam reduzir a inflamação sistêmica e, dessa forma, atenuar a cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina.

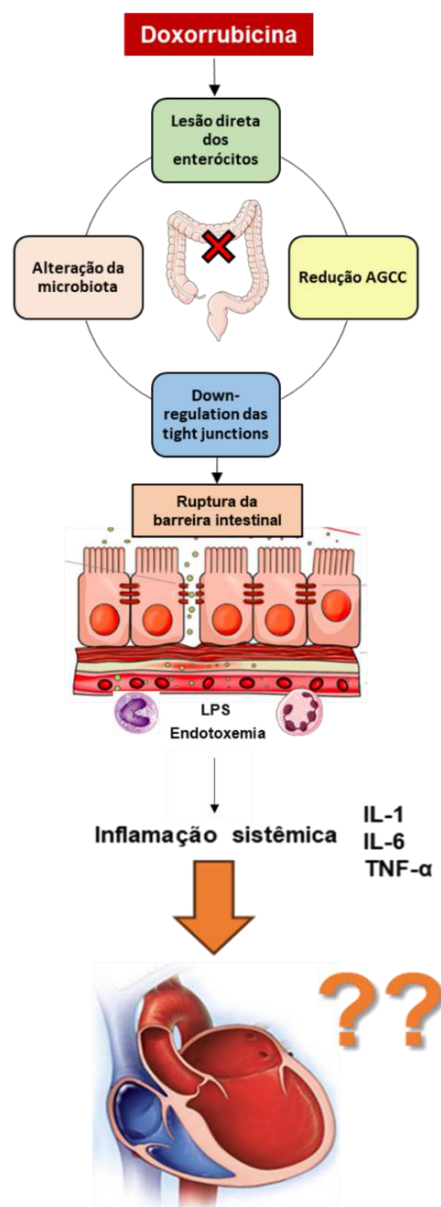


Figura 2. Fisiopatologia da ruptura de barreira intestinal e cardiotoxicidade

Representação da ruptura da barreira intestinal e cardiotoxicidade. AGCC: ácidos graxos cadeia curta; LPS: lipopolissacáride; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; IL-1: interleucina 1; IL-6: interleucina 6. Figura desenvolvida pelo autor no programa Power Point, Microsoft.

Os análogos de GLP-1

A liraglutida é um análogo de GLP-1 (*glucagon-like peptide*), que foi aprovado em 2010 nos Estados Unidos para o tratamento de diabetes tipo 2 (DM2). O GLP-1 é uma incretina secretada pelas células L intestinais em resposta a ingestão de alimentos (68). As incretinas foram descritas pela primeira vez na década de 1960 e possuem a função de estimular a secreção de insulina na presença do aumento das concentrações sanguíneas de glicose (69). O GLP-1 atua por meio de proteínas G ligadas a receptores das células beta pancreáticas, que estimulam a produção de insulina na presença de concentrações supra basais de glicose e inibem a produção de glucagon, melhorando a hiperglicemia e reduzindo o esvaziamento gástrico (69).

Além dos efeitos mais conhecidos, os análogos de GLP-1 diminuíram a peroxidação lipídica e as citocinas inflamatórias em modelo de isquemia cerebral (70), o estresse oxidativo no miocárdio de ratos diabéticos (71), a expressão de TNF- α , IL-1 β e IL-6 no sistema nervoso de camundongos com encefalite (72), as espécies reativas de oxigênio em cultura de células endoteliais (72), a expressão de Bax e caspase 3 e o nível de MDA e atividade da SOD e glutathiona peroxidase no fígado de camundongos diabéticos (73).

No entanto, os estudos que avaliaram a ação dos análogos de GLP-1 sobre o miocárdio em modelos de cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina ainda são escassos e os mecanismos envolvidos permanecem incertos. A semaglutida atenuou a disfunção cardíaca em camundongos tratados com doxorrubicina cronicamente por melhora da função mitocondrial (74), a teneligliptina preveniu a inflamação e apoptose induzida pela doxorrubicina em cultura de células de miócitos (75), o exenatide reduziu a caspase 3 e o estresse oxidativo em cultura de células e cardiomiócitos de ratos tratados com doxorrubicina (76).

Em estudos clínicos, os análogos de GLP-1 reduziram a incidência de acidente vascular encefálico e de infarto do miocárdio em pacientes com diabetes e alto risco ou muito alto risco cardiovascular (77), reduziram os eventos cardiovasculares em pacientes diabéticos com infarto do miocárdio prévio (78), reduziram os eventos cardiovasculares maiores, mortalidade por todas as causas, admissão hospitalar por insuficiência cardíaca e piora de função renal em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (79), melhoraram a função diastólica em pacientes com

ou sem diabetes (80) e reduziram sintomas e limitação física de pacientes com insuficiência cardíaca de fração de ejeção preservada e obesidade (81).

Além dos efeitos diretos em vias de inflamação, estresse oxidativo e apoptose, os análogos de GLP-1 também possuem efeitos nas células intestinais, com melhora da integridade intestinal, por aumento da profundidade das criptas intestinais, redução da permeabilidade, por aumento das junções celulares (82) e estímulo à produção de muco no lúmen intestinal pelas células de Brunner (83). Essas alterações podem contribuir para redução da translocação bacteriana e inflamação sistêmica, podendo atenuar ou prevenir a cardiotoxicidade.

Adicionalmente, os análogos de GLP-1 causam modificações na composição da microbiota intestinal (82–86). Liu *et al.* relataram que a liraglutida aumentou a proporção de Bacteroidetes e Verrucomicrobia e reduziu a proporção de Firmicutes em modelo de doença hepática gordurosa em camundongos (85); Charpentier *et al.* mostraram aumento da relação Bacteroides/Firmicutes em camundongos com dieta gordurosa tratados com liraglutida e Zhang *et al.* relataram aumento da abundância de Tenericutes em ratos diabéticos tratados com liraglutida (89). Essa modificação da microbiota pode levar, conseqüentemente, à alteração na produção dos ácidos graxos (16), que desempenham papel importante na manutenção do epitélio intestinal (90).

Até o momento, poucos estudos avaliaram os efeitos de algumas substâncias na microbiota intestinal com o objetivo de atenuar ou prevenir a cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina (91). Russo *et al.* mostraram melhora da função cardíaca em camundongos tratados com doxorrubicina com o uso de derivado do butirato, substância produzida pela microbiota intestinal, acompanhado de redução do estresse oxidativo e melhora da função mitocondrial (92). An *et al.* relataram que o transplante de fezes em camundongos promoveu melhora da função cardíaca, aumento da mucosa do cólon, redução da perda das células caliciformes e alteração da composição da microbiota intestinal em animais tratados agudamente com doxorrubicina (28). Huang *et al.* mostraram redução das enzimas de lesão miocárdica e de proteínas pro-apoptóticas como Bax e caspase 9 e restauração da microbiota intestinal com o uso de glabridina, uma isoflavona, em modelo de cardiotoxicidade aguda induzida pela doxorrubicina (93). Também já foram estudados composto polifenólico do vinho amarelo (94), polifenóis de *Arctium lappa* L (16) e curcumina com

zinco (95), com melhora da cardiotoxicidade, associada a mudanças na microbiota intestinal.

No entanto, até o momento, não há estudos que avaliaram o efeito de medicamentos conhecidos e amplamente utilizados na prática clínica, como os análogos de GLP-1, no contexto de modulação da microbiota intestinal para prevenção ou atenuação da cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina.

HIPÓTESE

CONCLUSÕES

A doxorubicina causou cardiotoxicidade e lesão intestinal, com alteração da abundância da microbiota intestinal e redução da produção de ácidos graxos de cadeia curta. Além disso, houve alteração de proteínas relacionadas à apoptose e inflamação e da atividade da catalase no tecido cardíaco.

As alterações encontradas na microbiota podem estar relacionadas ao desenvolvimento da cardiotoxicidade, no entanto, a administração de liraglutida não atenuou a cardiotoxicidade e não preveniu as alterações intestinais induzidas pela doxorubicina, apesar de ter alterado a composição da microbiota.

LIMITAÇÕES DO ESTUDO

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer – Rio de Janeiro: INCA, 2022
2. Rivankar S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *J Cancer Res Ther.* 2014;10(4):853.
3. Al-malky HS, Al Harthi SE, Osman AMM. Major obstacles to doxorubicin therapy: Cardiotoxicity and drug resistance. *J Oncol Pharm Pract.* 2020;26(2):434–44.
4. van der Zanden SY, Qiao X, Neefjes J. New insights into the activities and toxicities of the old anticancer drug doxorubicin. *FEBS J.* 2020; 288(21):6095-111
5. Pugazhendhi A, Edison TNJI, Velmurugan BK, Jacob JA, Karuppusamy I. Toxicity of Doxorubicin (Dox) to different experimental organ systems. *Life Sci.* 2018;200:26–30.
6. 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.
7. Thorn CF, Oshiro C, Marsh S, Hernandez-Boussard T, McLeod H, Klein TE, et al. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenet Genomics.* 2011;21(7):440–6.
8. Sergazy S, Shulgau Z, Fedotovskikh G, Chulenbayeva L, Nurgozhina A, Nurgaziyev M, et al. Cardioprotective effect of grape polyphenol extract against doxorubicin induced cardiotoxicity. *Sci Rep.* 2020;10(1):14720.
9. Christidi E, Brunham LR. Regulated cell death pathways in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cell Death Dis.* 2021;12(4):339.
10. He L, Liu F, Li J. Mitochondrial sirtuins and doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cardiovasc Toxicol.* 2021;21(3):179–91.
11. Jones IC, Dass CR. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: causative factors and possible interventions. *J Pharm Pharmacol.* 2022;74(12):1677–88.
12. Kong CY, Guo Z, Song P, Zhang X, Yuan YP, Teng T, et al. Underlying the mechanisms of doxorubicin-induced acute cardiotoxicity: oxidative stress and cell death. *Int J Biol Sci.* 2022;18(2):760–70.

13. Santos DSD, Goldenberg RCDS. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: from mechanisms to development of efficient therapy [Internet]. Cardiotoxicity. InTech; 2018. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/cardiotoxicity/doxorubicin-induced-cardiotoxicity-from-mechanisms-to-development-of-efficient-therapy>
14. Smith LA, Cornelius VR, Plummer CJ, Levitt G, Verrill M, Canney P, et al. Cardiotoxicity of anthracycline agents for the treatment of cancer: Systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. BMC Cancer. 2010;10(1):337.
15. Carrillo-Salinas FJ, Ngwenyama N, Anastasiou M, Kaur K, Alcaide P. Heart inflammation. Am J Pathol. 2019;189(8):1482–94.
16. Wu X, Zhang N, Kan J, Tang S, Sun R, Wang Z, et al. Polyphenols from *Arctium lappa* L ameliorate doxorubicin-induced heart failure and improve gut microbiota composition in mice. J Food Biochem. 2022; 46(3):e13731.
17. Shahim B, Kapelios CJ, Savarese G, Lund LH. Global public health burden of heart failure: an updated review. Card Fail Rev. 2023;9:e11.
18. Savarese G, Becher PM, Lund LH, Seferovic P, Rosano GMC, Coats AJS. Global burden of heart failure: a comprehensive and updated review of epidemiology. Cardiovasc Res. 2023;118(17):3272–87.
19. Wojtacki J, Lewicka-Nowak E, Leśniewski-Kmak K. Anthracycline-induced cardiotoxicity: clinical course, risk factors, pathogenesis, detection and prevention--review of the literature. Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res. 2000;6(2):411–20.
20. Dulf PL, Mocan M, Coadă CA, Dulf DV, Moldovan R, Baldea I, et al. Doxorubicin-induced acute cardiotoxicity is associated with increased oxidative stress, autophagy, and inflammation in a murine model. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2023;396(6):1105–15.
21. Chatterjee K, Zhang J, Honbo N, Karliner JS. Doxorubicin cardiomyopathy. Cardiology. 2010;115(2):155–62.
22. Hoeger CW, Turissini C, Asnani A. Doxorubicin cardiotoxicity: pathophysiology updates. curr treat options Cardiovasc Med. 2020;22(11):52.

23. Wallace KB, Sardão VA, Oliveira PJ. mitochondrial determinants of doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Circ Res.* 2020;126(7):926–41.
24. Carvalho PB de, Gonçalves A de F, Alegre PHC, Azevedo PS, Roscani MG, Bergamasco CM, et al. Pamidronate attenuates oxidative stress and energetic metabolism changes but worsens functional outcomes in acute doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Cell Physiol Biochem.* 2016;40(3–4):431–42.
25. Renu K, V.G. A, P.B. TP, Arunachalam S. Molecular mechanism of doxorubicin-induced cardiomyopathy – An update. *Eur J Pharmacol* 2018;818:241–53.
26. Shabalala S, Muller CJF, Louw J, Johnson R. Polyphenols, autophagy and doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Life Sci.* 2017;180:160–70.
27. Wei L, Wen XS, Xian CJ. Chemotherapy-induced intestinal microbiota dysbiosis impairs mucosal homeostasis by modulating toll-like receptor signaling pathways. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17):9474.
28. An L, Wuri J, Zheng Z, Li W, Yan T. Microbiota modulate Doxorubicin induced cardiotoxicity. *Eur J Pharm Sci.* 2021;166:105977.
29. Sheibani M, Azizi Y, Shayan M, Nezamoleslami S, Eslami F, Farjoo MH, et al. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: an overview on pre-clinical therapeutic approaches. *Cardiovasc Toxicol.* 2022;22(4):292–310.
30. Wu BB, Leung KT, Poon ENY. Mitochondrial-targeted therapy for doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3):1912.
31. Youle RJ, Van Der Bliek AM. Mitochondrial fission, fusion, and stress. *Science.* 2012;337(6098):1062–5.
32. Osataphan N, Phrommintikul A, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Effects of doxorubicin-induced cardiotoxicity on cardiac mitochondrial dynamics and mitochondrial function: Insights for future interventions. *J Cell Mol Med.* 2020;24(12):6534–57.
33. Murphy SP, Kakkar R, McCarthy CP, Januzzi JL. Inflammation in heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2020;75(11):1324–40.
34. Silvis MJM, Kaffka Genaamd Dengler SE, Odille CA, Mishra M, Van Der Kaaij NP, Doevendans PA, et al. Damage-associated molecular patterns in myocardial

infarction and heart transplantation: the road to translational success. *Front Immunol.* 2020;11:599511.

35. Fearon WF, Fearon DT. Inflammation and cardiovascular disease: role of the interleukin-1 receptor antagonist. *Circulation.* 2008;117(20):2577–9.
36. Silvestre-Roig C, Braster Q, Ortega-Gomez A, Soehnlein O. Neutrophils as regulators of cardiovascular inflammation. *Nat Rev Cardiol.* 2020;17(6):327–40.
37. Dutka M, Bobiński R, Ulman-Włodarz I, Hajduga M, Bujok J, Pająk C, et al. Various aspects of inflammation in heart failure. *Heart Fail Rev.* 2020;25(3):537–48.
38. Szekely Y, Arbel Y. A Review of interleukin-1 in heart disease: where do we stand today? *Cardiol Ther.* 2018;7(1):25–44.
39. Su JH, Luo MY, Liang N, Gong SX, Chen W, Huang WQ, et al. Interleukin-6: A novel target for cardio-cerebrovascular diseases. *Front Pharmacol.* 2021;12:745061.
40. Polegato BF, Minicucci MF, Azevedo PS, Carvalho RF, Chiuso-Minicucci F, Pereira EJ, et al. Acute Doxorubicin-induced cardiotoxicity is associated with matrix metalloproteinase-2 alterations in rats. *Cell Physiol Biochem.* 2015;35(5):1924–33.
41. Van Linthout S, Tschöpe C. Inflammation – Cause or consequence of heart failure or both? *Curr Heart Fail Rep.* 2017;14(4):251–65.
42. Wu R, Mei X, Wang J, Sun W, Xue T, Lin C, et al. Zn(II)-Curcumin supplementation alleviates gut dysbiosis and zinc dyshomeostasis during doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Food Funct.* 2019;10(9):5587–604.
43. Mathias LMBS, Alegre PHC, dos Santos IOF, Bachiega T, Figueiredo AM, et al. Euterpe oleracea Mart. (Açaí) Supplementation Attenuates Acute doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Cell Physiol Biochem.* 2019;53(2):388–99.
44. Ribeiro APD, Pereira AG, Todo MC, Fujimori ASS, Dos Santos PP, Dantas D, et al. Pera orange (*Citrus sinensis*) and Moro orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) juices attenuate left ventricular dysfunction and oxidative stress and improve

myocardial energy metabolism in acute doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Nutrition*. 2021;91–92:111350.

45. Modesto PN, Polegato BF, Dos Santos PP, Grassi LDV, Molina LCC, Bazan SGZ, et al. Green Tea (*Camellia sinensis*) extract increased topoisomerase α , improved antioxidant defense, and attenuated cardiac remodeling in an acute doxorubicin toxicity model. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:1–10.
46. Boussios S, Pentheroudakis G, Katsanos K, Pavlidis N. Systemic treatment-induced gastrointestinal toxicity: incidence, clinical presentation and management. *Ann Gastroenterol*. 2012;25(2):106–18.
47. Morelli D, Ménard S, Colnaghi MI, Balsari A. Oral administration of anti-doxorubicin monoclonal antibody prevents chemotherapy-induced gastrointestinal toxicity in mice. *Cancer Res*. 1996;56(9):2082–5.
48. Shen RL, Pontoppidan PEL, Rathe M, Jiang P, Hansen CF, Buddington RK, et al. Milk diets influence doxorubicin-induced intestinal toxicity in piglets. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol*. 2016;311(2):G324–33.
49. Oh B, Boyle F, Pavlakis N, Clarke S, Guminski A, Eade T, et al. emerging evidence of the gut microbiome in chemotherapy: a clinical review. *Front Oncol*. 2021;11:706331.
50. Sheahan BJ, Theriot CM, Cortes JE, Dekaney CM. Prolonged oral antimicrobial administration prevents doxorubicin-induced loss of active intestinal stem cells. *Gut Microbes*. 2022;14(1):2018898.
51. Montassier E, Gastinne T, Vangay P, Al-Ghalith GA, Bruley des Varannes S, Massart S, et al. Chemotherapy-driven dysbiosis in the intestinal microbiome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;42(5):515–28.
52. Motoori M, Yano M, Miyata H, Sugimura K, Saito T, Omori T, et al. Randomized study of the effect of synbiotics during neoadjuvant chemotherapy on adverse events in esophageal cancer patients. *Clin Nutr*. 2017;36(1):93–9.
53. Galloway-Peña JR, Shi Y, Peterson CB, Sahasrabhojane P, Gopalakrishnan V, Brumlow CE, et al. Gut microbiome signatures are predictive of infectious risk following induction therapy for acute myeloid leukemia. *Clin Infect Dis*. 2020;71(1):63–71.

54. Huang J, Wei S, Jiang C, Xiao Z, Liu J, Peng W, et al. Involvement of abnormal gut microbiota composition and function in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:808837.
55. Kho ZY, Lal SK. The Human Gut Microbiome – A Potential controller of wellness and disease. *Front Microbiol.* 2018;9:1835.
56. Morowitz MJ, Carlisle EM, Alverdy JC. Contributions of intestinal bacteria to nutrition and metabolism in the critically ill. *Surg Clin North Am.* 2011;91(4):771–85.
57. Ahmadmehrabi S, Tang WHW. Gut microbiome and its role in cardiovascular diseases. *Curr Opin Cardiol.* 2017;32(6):761–6.
58. Liu P, Wang Y, Yang G, Zhang Q, Meng L, Xin Y, et al. The role of short-chain fatty acids in intestinal barrier function, inflammation, oxidative stress, and colonic carcinogenesis. *Pharmacol Res.* 2021;165:105420.
59. Xiong RG, Zhou DD, Wu SX, Huang SY, Saimaiti A, Yang ZJ, et al. Health benefits and side effects of short-chain fatty acids. *Foods.* 2022;11(18):2863.
60. Kitai T, Tang WHW. Gut microbiota in cardiovascular disease and heart failure. *Clin Sci.* 2018;132(1):85–91.
61. Iebba V, Totino V, Gagliardi A, Santangelo F, Cacciotti F, Trancassini M, et al. Eubiosis and dysbiosis: the two sides of the microbiota. *New Microbiol.* 2016;39(1):1–12.
62. Ikeda T, Nishida A, Yamano M, Kimura I. Short-chain fatty acid receptors and gut microbiota as therapeutic targets in metabolic, immune, and neurological diseases. *Pharmacol Ther.* 2022;239:108273.
63. Nagpal R, Yadav H. Bacterial translocation from the gut to the distant organs: an overview. *Ann Nutr Metab.* 2017;71:11–6.
64. Guo S, Al-Sadi R, Said HM, Ma TY. Lipopolysaccharide causes an increase in intestinal tight junction permeability in vitro and in vivo by inducing enterocyte membrane expression and localization of TLR-4 and CD14. *Am J Pathol.* 2013;182(2):375–87.

65. Hollander D, Kaunitz JD. The “Leaky gut”: tight junctions but loose associations? *Dig Dis Sci*. 2020;65(5):1277–87.
66. Yamashita T, Kasahara K, Emoto T, Matsumoto T, Mizoguchi T, Kitano N, et al. Intestinal immunity and gut microbiota as therapeutic targets for preventing atherosclerotic Cardiovascular Diseases. *Circ J*. 2015;79(9):1882–90.
67. Tang WHW, Hazen SL. The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease. *J Clin Invest*. 2014;124(10):4204–11.
68. Shang J, Liu F, Zhang B, Dong K, Lu M, Jiang R, et al. Liraglutide-induced structural modulation of the gut microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus. *PeerJ*. 2021;9:e11128.
69. D’Alessio D. Is GLP -1 a hormone: whether and when? *J Diabetes Investig*. 2016;7(S1):50–5.
70. Abbas NAT, Kabil SL. Liraglutide ameliorates cardiotoxicity induced by doxorubicin in rats through the Akt/GSK-3 β signaling pathway. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2017;390(11):1145–53.
71. Monji A, Mitsui T, Bando YK, Aoyama M, Shigeta T, Murohara T. Glucagon-like peptide-1 receptor activation reverses cardiac remodeling via normalizing cardiac steatosis and oxidative stress in type 2 diabetes. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 2013;305(3):H295–304.
72. Cai X, She M, Xu M, Chen H, Li J, Chen X, et al. GLP-1 treatment protects endothelial cells from oxidative stress-induced autophagy and endothelial dysfunction. *Int J Biol Sci*. 2018;14(12):1696–708.
73. Yu J, Zhao Y, Xu L, Li W, Zhang H, Ping F, et al. Liraglutide attenuates hepatic oxidative stress, inflammation, and apoptosis in streptozotocin-induced diabetic mice by modulating the wnt/ β -catenin signaling pathway. *Mediators Inflamm*. 2023;2023:1–12.
74. Li X, Luo W, Tang Y, Wu J, Zhang J, Chen S, et al. Semaglutide attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity by ameliorating BNIP3-Mediated mitochondrial dysfunction. *Redox Biol*. 2024;72:103129.

75. Peng W, Rao D, Zhang M, Shi Y, Wu J, Nie G, et al. Teneligliptin prevents doxorubicin-induced inflammation and apoptosis in H9c2 cells. *Arch Biochem Biophys*. 2020;683:108238.
76. Lee KH, Cho H, Lee S, Woo JS, Cho BH, Kang JH, et al. Enhanced-autophagy by exenatide mitigates doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Int J Cardiol*. 2017;232:40–7.
77. Cazorla-Morallon D, Cordero A, Pomares Varo A, Torroba Balmori G, Moreno Garcia MJ, Martinez Rey-Ranal E, et al. Stroke and myocardial infarction prevention with GLP1 analogues in high or very-high cardiovascular risk diabetic patients. *Eur Heart J*. 2020;41:ehaa946.2967.
78. Trevisan M, Fu EL, Szummer K, Norhammar A, Lundman P, Wanner C, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonists and the risk of cardiovascular events in diabetes patients surviving an acute myocardial infarction. *Eur Heart J - Cardiovasc Pharmacother*. 2021;7(2):104–11.
79. Sattar N, Lee MMY, Kristensen SL, Branch KRH, Del Prato S, Khurmi NS, et al. Cardiovascular, mortality, and kidney outcomes with GLP-1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2021;9(10):653–62.
80. Huixing L, Di F, Daoquan P. Effect of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on prognosis of heart failure and cardiac function: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Ther*. 2023;45(1):17–30.
81. Kosiborod MN, Abildstrøm SZ, Borlaug BA, Butler J, Rasmussen S, Davies M, et al. Semaglutide in patients with heart failure with preserved ejection fraction and obesity. *N Engl J Med*. 2023;389(12):1069–84.
82. Su Y, Liu N, Zhang Z, Li H, Ma J, Yuan Y, et al. Cholecystokinin and glucagon-like peptide-1 analogues regulate intestinal tight junction, inflammation, dopaminergic neurons and α -synuclein accumulation in the colon of two Parkinson's disease mouse models. *Eur J Pharmacol*. 2022;926:175029.
83. Abdalqadir N, Adeli K. GLP-1 and glp-2 orchestrate intestine integrity, gut microbiota, and immune system crosstalk. *Microorganisms*. 2022;10(10):2061.

84. Madsen MSA, Holm JB, Pallejà A, Wismann P, Fabricius K, Rigbolt K, et al. Metabolic and gut microbiome changes following GLP-1 or dual GLP-1/GLP-2 receptor agonist treatment in diet-induced obese mice. *Sci Rep*. 2019;9(1):15582.
85. Liu Q, Cai B yu, Zhu L xin, Xin X, Wang X, An Z ming, et al. Liraglutide modulates gut microbiome and attenuates nonalcoholic fatty liver in db/db mice. *Life Sci*. 2020;261:118457.
86. Charpentier J, Briand F, Lelouvier B, Servant F, Azalbert V, Puel A, et al. Liraglutide targets the gut microbiota and the intestinal immune system to regulate insulin secretion. *Acta Diabetol*. 2021; 58(7):881-97
87. Moreira G, Azevedo F, Ribeiro L, Santos A, Guadagnini D, Gama P, et al. Liraglutide modulates gut microbiota and reduces NAFLD in obese mice. *J Nutr Biochem*. 2018;62:143–54.
88. Zhao L, Chen Y, Xia F, Abudukerimu B, Zhang W, Guo Y, et al. A glucagon-like peptide-1 receptor agonist lowers weight by modulating the structure of gut microbiota. *Front Endocrinol*. 2018;9:233.
89. Zhang Q, Xiao X, Zheng J, Li M, Yu M, Ping F, et al. Featured article: structure moderation of gut microbiota in liraglutide-treated diabetic male rats. *Exp Biol Med*. 2018;243(1):34–44.
90. Aho VTE, Houser MC, Pereira PAB, Chang J, Rudi K, Paulin L, et al. Relationships of gut microbiota, short-chain fatty acids, inflammation, and the gut barrier in Parkinson's disease. *Mol Neurodegener*. 2021;16(1):6.
91. Huang C, Li X, Li H, Chen R, Li Z, Li D, et al. Role of gut microbiota in doxorubicin-induced cardiotoxicity: from pathogenesis to related interventions. *J Transl Med*. 2024;22(1):433.
92. Russo M, Guida F, Paparo L, Trinchese G, Aitoro R, Avagliano C, et al. The novel butyrate derivative phenylalanine-butyramide protects from doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Eur J Heart Fail*. 2019;21(4):519–28.
93. Huang K, Liu Y, Tang H, Qiu M, Li C, Duan C, et al. Glabridin prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity through gut microbiota modulation and colonic macrophage polarization in mice. *Front Pharmacol*. 2019;10:107.

94. Lin H, Meng L, Sun Z, Sun S, Huang X, Lin N, et al. Yellow wine polyphenolic compound protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by modulating the composition and metabolic function of the gut microbiota. *Circ Heart Fail*. 2021;14(10):e008220.
95. Ibrahim Fouad G, Ahmed KA. Curcumin Ameliorates Doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity via suppressing oxidative stress and modulating iNOs, NF- κ B, and TNF- α in rats. *Cardiovasc Toxicol*. 2022;22(2):152–66.
96. Martinez PF, Okoshi K, Zornoff LAM, Oliveira SA, Campos DHS, Lima ARR, et al. Echocardiographic detection of congestive heart failure in postinfarction rats. *J Appl Physiol*. 2011;111(2):543–51.
97. De Paiva SAR, Zornoff LAM, Okoshi MP, Okoshi K, Matsubara LS, Matsubara BB, et al. Ventricular remodeling induced by retinoic acid supplementation in adult rats. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 2003;284(6):H2242–6.
98. Rosa CM, Xavier NP, Henrique Campos D, Fernandes AAH, Cezar MDM, Martinez PF, et al. Diabetes mellitus activates fetal gene program and intensifies cardiac remodeling and oxidative stress in aged spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2013;12(1):152.
99. Paiva SAR, Novo R, Matsubara BB, Matsubara LS, Azevedo PS, Minicucci MF, et al. β -carotene attenuates the paradoxical effect of tobacco smoke on the mortality of rats after experimental myocardial infarction. *J Nutr*. 2005;135(9):2109–13.
100. Matsubara BB, Matsubara LS, Zornoff LAM, Franco M, Janicki JS. Left ventricular adaptation to chronic pressure overload induced by inhibition of nitric oxide synthase in rats. *Basic Res Cardiol*. 1998;93(3):173–81.
101. Sugizaki MM, Carvalho RF, Aragon FF, Padovani CR, Okoshi K, Okoshi MP, et al. Myocardial dysfunction induced by food restriction is related to morphological damage in normotensive middle-aged rats. *J Biomed Sci*. 2005;12(4):641–9.
102. Kim YH, Kang MK, Lee EJ, Kim D, Oh H, Kim SI, et al. Dried yeast extracts curtails pulmonary oxidative stress, inflammation and tissue destruction in a model of experimental emphysema. *Antioxidants*. 2019;8(9):349.

103. Husari A, Khayat A, Bitar H, Hashem Y, Rizkallah A, Zaatari G, et al. Antioxidant activity of pomegranate juice reduces acute lung injury secondary to hyperoxia in an animal model. *BMC Res Notes*. 2014;7(1):664.
104. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72(1–2):248–54.
105. Upadhyay S, Gupta KB, Mantha AK, Dhiman M. A short review: doxorubicin and its effect on cardiac proteins. *J Cell Biochem*. 2021;122(2):153–65.
106. Prathumsap N, Shinlapawittayatorn K, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Effects of doxorubicin on the heart: From molecular mechanisms to intervention strategies. *Eur J Pharmacol*. 2020;866:172818.
107. Razmaraii N, Babaei H, Mohajjel Nayebi A, Azarmi Y, Assadnassab G, Mohammadnejad D, et al. Ultrastructural and echocardiographic assessment of chronic doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Arch Razi Inst*. 2020; 75(1):55-62.
108. Cray P, Sheahan BJ, Cortes JE, Dekaney CM. Doxorubicin increases permeability of murine small intestinal epithelium and cultured T84 monolayers. *Sci Rep*. 2020;10(1):21486.
109. Shen RL, Rathe M, Jiang P, Pontoppidan PEL, Heegaard PMH, Müller K, et al. Doxorubicin-induced gut toxicity in piglets fed bovine milk and colostrum. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016;63(6):698–707.
110. Herman EH, Zhang J, Hasinoff BB, Clark Jr JR, Ferrans VJ. Comparison of the Structural Changes Induced by Doxorubicin and Mitoxantrone in the Heart, Kidney and Intestine and Characterization of the Fe(III)-mitoxantrone Complex. *J Mol Cell Cardiol*. 1997;29(9):2415–30.
111. Mohammed NA, Hakeem IJ, Hodges N, Michelangeli F. Regucalcin ameliorates doxorubicin-induced cytotoxicity in Cos-7 kidney cells and translocates from the nucleus to the mitochondria. *Biosci Rep*. 2022;42(1):BSR20211464.
112. AlAsmari AF, Ali N, Alharbi M, Alqahtani F, Alasmari F, Almoqbel D, et al. Geraniol Ameliorates Doxorubicin-Mediated Kidney Injury through Alteration of Antioxidant

Status, inflammation, and apoptosis: potential roles of NF- κ B and Nrf2/Ho-1. *Nutrients*. 2022;14(8):1620.

113. Khan TH, Ganaie MA, Alharthy KM, Madkhali H, Jan BL, Sheikh IA. Naringenin prevents doxorubicin-induced toxicity in kidney tissues by regulating the oxidative and inflammatory insult in Wistar rats. *Arch Physiol Biochem*. 2020;126(4):300–7.
114. Aljobaily N, Viereckl MJ, Hydock DS, Aljobaily H, Wu TY, Busekrus R, et al. Creatine alleviates doxorubicin-induced liver damage by inhibiting liver fibrosis, inflammation, oxidative stress, and cellular senescence. *Nutrients*. 2020;13(1):41.
115. Boeno FP, Patel J, Montalvo RN, Lapierre-Nguyen SS, Schreiber CM, Smuder AJ. Effects of exercise preconditioning on doxorubicin-induced liver and kidney toxicity in male and female rats. *Int J Mol Sci*. 2023;24(12):10222.
116. Hiensch AE, Bolam KA, Mijwel S, Jeneson JAL, Huitema ADR, Kranenburg O, et al. Doxorubicin-induced skeletal muscle atrophy: Elucidating the underlying molecular pathways. *Acta Physiol*. 2020;229(2):e13400.
117. Powers SK, Duarte JA, Le Nguyen B, Hyatt H. Endurance exercise protects skeletal muscle against both doxorubicin-induced and inactivity-induced muscle wasting. *Pflüg Arch - Eur J Physiol*. 2019;471(3):441–53.
118. Bredahl EC, Hydock DS. Creatine supplementation and doxorubicin-induced skeletal muscle dysfunction: an ex vivo investigation. *Nutr Cancer*. 2017;69(4):607–15.
119. Doerr V, Montalvo RN, Kwon OS, Talbert EE, Hain BA, Houston FE, et al. Prevention of doxorubicin-induced autophagy attenuates oxidative stress and skeletal muscle dysfunction. *Antioxidants*. 2020;9(3):263.
120. Chen T, Shen HM, Deng ZY, Yang ZZ, Zhao RL, Wang L, et al. A herbal formula, SYKT, reverses doxorubicin-induced myelosuppression and cardiotoxicity by inhibiting ROS-mediated apoptosis. *Mol Med Rep*. 2017;15(4):2057–66.
121. Alhumaydhi FA. Biochemical studies on the protective effect of honey against doxorubicin-induced toxicity in BALB/C mice. *Int J Health Sci*. 2020;14(6):31–7.

122. Fan Y, Liang L, Tang X, Zhu J, Mu L, Wang M, et al. Changes in the gut microbiota structure and function in rats with doxorubicin-induced heart failure. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1135428.
123. Honka H, Solis-Herrera C, Triplitt C, Norton L, Butler J, DeFronzo RA. Therapeutic manipulation of myocardial metabolism. *J Am Coll Cardiol.* 2021;77(16):2022–39.
124. El-Sherbiny M, El-Shafey M, Said E, Shaker GA, El-Dosoky M, Ebrahim HA, et al. Dapagliflozin, liraglutide, and their combination attenuate diabetes mellitus-associated hepato-renal injury—insight into oxidative injury/inflammation/apoptosis modulation. *Life.* 2022;12(5):764.
125. Mehdi SF, Pusapati S, Anwar MS, Lohana D, Kumar P, Nandula SA, et al. Glucagon-like peptide-1: a multi-faceted anti-inflammatory agent. *Front Immunol.* 2023;14:1148209.
126. Meurot C, Martin C, Sudre L, Breton J, Bougault C, Rattenbach R, et al. Liraglutide, a glucagon-like peptide 1 receptor agonist, exerts analgesic, anti-inflammatory and anti-degradative actions in osteoarthritis. *Sci Rep.* 2022;12(1):1567.
127. Bendotti G, Montefusco L, Lunati ME, Usuelli V, Pastore I, Lazzaroni E, et al. The anti-inflammatory and immunological properties of GLP-1 Receptor Agonists. *Pharmacol Res.* 2022;182:106320.
128. Chen J, Mei A, Wei Y, Li C, Qian H, Min X, et al. GLP-1 receptor agonist as a modulator of innate immunity. *Front Immunol.* 2022;13:997578.
129. Gao H, Zeng Z, Zhang H, Zhou X, Guan L, Deng W, et al. The Glucagon-like peptide-1 analogue liraglutide inhibits oxidative stress and inflammatory response in the liver of rats with diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Biol Pharm Bull.* 2015;38(5):694–702.
130. Brock C, Hansen CS, Karmisholt J, Møller HJ, Juhl A, Farmer AD, et al. Liraglutide treatment reduced interleukin-6 in adults with type 1 diabetes but did not improve established autonomic or polyneuropathy. *Br J Clin Pharmacol.* 2019;85(11):2512–23.

131. Ding M, Fang QH, Cui YT, Shen QL, Liu Q, Wang PH, et al. Liraglutide prevents β -cell apoptosis via inactivation of NOX2 and its related signaling pathway. *J Diabetes Complications*. 2019;33(4):267–77.
132. Hansen G, Jelsing J, Vrang N. Effects of liraglutide and sibutramine on food intake, palatability, body weight and glucose tolerance in the gubra DIO-rats. *Acta Pharmacol Sin*. 2012;33(2):194–200.
133. Davies MJ, Bergenstal R, Bode B, Kushner RF, Lewin A, Skjøth TV, et al. Efficacy of liraglutide for weight loss among patients with type 2 diabetes: The SCALE diabetes randomized clinical trial. *JAMA*. 2015;314(7):687.
134. Sedman T, Vasar E, Volke V. Tolerance does not develop toward liraglutide's glucose-lowering effect. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102(7):2335–9.
135. Umapathysivam MM, Lee MY, Jones KL, Annink CE, Cousins CE, Trahair LG, et al. Comparative effects of prolonged and intermittent stimulation of the glucagon-like peptide 1 receptor on gastric emptying and glycemia. *Diabetes*. 2014;63(2):785–90.
136. Nauck MA, Kemmeries G, Holst JJ, Meier JJ. Rapid tachyphylaxis of the glucagon-like peptide 1–induced deceleration of gastric emptying in humans. *Diabetes*. 2011;60(5):1561–5.
137. Al-kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Alkhuriji AF, Al-Megrin WAI, Elekhawwy E, Negm WA, et al. Investigation of the impact of rosuvastatin and telmisartan in doxorubicin-induced acute cardiotoxicity. *Biomed Pharmacother*. 2022;154:113673.
138. Zhang X, Hu C, Kong CY, Song P, Wu HM, Xu SC, et al. FNDC5 alleviates oxidative stress and cardiomyocyte apoptosis in doxorubicin-induced cardiotoxicity via activating AKT. *Cell Death Differ*. 2020;27(2):540–55.
139. Chen D, Yu W, Zhong C, Hong Q, Huang G, Que D, et al. Elabela ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity by promoting autophagic flux through TFEB pathway. *Pharmacol Res*. 2022;178:106186.
140. Olejnickova V, Novakova M, Provaznik I. Isolated heart models: cardiovascular system studies and technological advances. *Med Biol Eng Comput*. 2015;53(7):669–78.

141. Sharma S. Cardiac troponins. *J Clin Pathol*. 2004;57(10):1025–6.
142. Qi W, Boliang W, Xiaoxi T, Guoqiang F, Jianbo X, Gang W. Cardamonin protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice by restraining oxidative stress and inflammation associated with Nrf2 signaling. *Biomed Pharmacother*. 2020;122:109547.
143. Pan DS, Li B, Wan SL. Evaluation of biomarkers for doxorubicin-induced cardiac injury in rats. *Exp Ther Med*. 2022;24(6):712.
144. Ricchiuti V, Zhang J, Apple FS. Cardiac troponin I and T alterations in hearts with severe left ventricular remodeling. *Clin Chem*. 1997;43(6 Pt 1):990–5.
145. Chen Y, Serfass RC, Mackey-Bojack SM, Kelly KL, Titus JL, Apple FS. Cardiac troponin T alterations in myocardium and serum of rats after stressful, prolonged intense exercise. *J Appl Physiol*. 2000;88(5):1749–55.
146. Chen ZC, Chen LJ, Cheng JT. Doxorubicin-induced cardiac toxicity is mediated by lowering of peroxisome proliferator-activated receptor δ expression in rats. *PPAR Res*. 2013;2013:1–8.
147. Byrne RA, Rossello X, Coughlan JJ, Barbato E, Berry C, Chieffo A, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes. *Eur Heart J*. 2023;44(38):3720–826.
148. Taşkıran E, Erdoğan MA, Yiğittürk G, Erbaş O. Therapeutic effects of liraglutide, oxytocin and granulocyte colony-stimulating factor in doxorubicin-induced cardiomyopathy model: an experimental animal study. *Cardiovasc Toxicol*. 2019;19(6):510–7.
149. Schumacher SM, Naga Prasad SV. Tumor necrosis factor- α in heart failure: an updated review. *Curr Cardiol Rep*. 2018;20(11):117.
150. Irwin MW, Mak S, Mann DL, Qu R, Penninger JM, Yan A, et al. Tissue expression and immunolocalization of tumor necrosis factor- α in postinfarction dysfunctional myocardium. *Circulation*. 1999;99(11):1492–8.
151. Park M, Hong J. Roles of NF- κ B in cancer and inflammatory diseases and their therapeutic approaches. *Cells*. 2016;5(2):15.

152. Baniahmad B, Safaeian L, Vaseghi G, Rabbani M, Mohammadi B. Cardioprotective effect of vanillic acid against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rat. *Res Pharm Sci.* 2020;15(1):87.
153. Feng P, Yang Y, Liu N, Wang S. Baicalin regulates TLR4/I κ B α /NF κ B signaling pathway to alleviate inflammation in Doxorubicin related cardiotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022;637:1–8.
154. Riad A, Bien S, Gratz M, Escher F, Heimesaat MM, Bereswill S, et al. Toll-like receptor-4 deficiency attenuates doxorubicin-induced cardiomyopathy in mice. *Eur J Heart Fail.* 2008;10(3):233–43.
155. Jang D in, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, et al. The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics. *Int J Mol Sci.* 2021;22(5):2719.
156. Gilliam LAA, Moylan JS, Ferreira LF, Reid MB. TNF/TNFR1 signaling mediates doxorubicin-induced diaphragm weakness. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol.* 2011;300(2):L225–31.
157. Birks EJ, Burton PBJ, Owen V, Mullen AJ, Hunt D, Banner NR, et al. Elevated tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in myocardium and serum of malfunctioning donor hearts. *Circulation.* 2000; 102:III352-8.
158. Gilles S. Release of TNF- α during myocardial reperfusion depends on oxidative stress and is prevented by mast cell stabilizers. *Cardiovasc Res.* 2003;60(3):608–16.
159. Stafford N, Assrafally F, Prehar S, Zi M, De Moraes AM, Maqsood A, et al. Signaling via the interleukin-10 receptor attenuates cardiac hypertrophy in mice during pressure overload, but not isoproterenol infusion. *Front Pharmacol.* 2020;11:559220.
160. Atta AH, Atta SA, Khattab MS, El-Aziz THA, Mouneir SM, Ibrahim MA, et al. Ceratonia siliqua pods (Carob) methanol extract alleviates doxorubicin-induced nephrotoxicity via antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic pathways in rats. *Environ Sci Pollut Res.* 2023;30(35):83421–38.

161. Elnoury HA, Elgendy SA, Baloza SH, Ghamry HI, Soliman M, Abdel-Aziz EAM. Synergistic impacts of Montelukast and Klotho against doxorubicin-induced cardiac toxicity in Rats. *Toxicol Res.* 2022;11(4):592–604.
162. Hussain MA, Abogresha NM, AbdelKader G, Hassan R, Abdelaziz EZ, Greish SM. Antioxidant and anti-inflammatory effects of crocin ameliorate doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:1–12.
163. Christian F, Smith E, Carmody R. The Regulation of NF- κ B subunits by phosphorylation. *Cells.* 2016;5(1):12.
164. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex J Med.* 2018;54(4):287–93.
165. Cappetta D, De Angelis A, Sapio L, Prezioso L, Illiano M, Quaini F, et al. Oxidative stress and cellular response to doxorubicin: a common factor in the complex milieu of anthracycline cardiotoxicity. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:1–13.
166. Alyasiry E, Janabi A, Hadi N. Dipyridamole ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity. *J Med Life.* 2022;15(9):1184–90.
167. Al-Qahtani WH, Alshammari GM, Ajarem JS, Al-Zahrani AY, Alzuwaydi A, Eid R, et al. Isoliquiritigenin prevents Doxorubicin-induced hepatic damage in rats by upregulating and activating SIRT1. *Biomed Pharmacother.* fevereiro de 2022;146:112594.
168. Ozturk M, Ozler M, Kurt YG, Ozturk B, Uysal B, Ersoz N, et al. Efficacy of melatonin, mercaptoethylguanidine and 1400W in doxorubicin and trastuzumab-induced cardiotoxicity: Melatonin, MEG and 1400W in cardiotoxicity. *J Pineal Res.* 2011;50(1):89–96.
169. Elberry AA, Abdel-Naim AB, Abdel-Sattar EA, Nagy AA, Mosli HA, Mohamadin AM, et al. Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(5):1178–84.
170. Aryal B, Jeong J, Rao VA. Doxorubicin-induced carbonylation and degradation of cardiac myosin binding protein C promote cardiotoxicity. *Proc Natl Acad Sci.* 2014;111(5):2011–6.

171. Asakura H, Kitahora T. Antioxidants in inflammatory bowel disease, ulcerative colitis, and crohn disease. Em: bioactive food as dietary interventions for liver and gastrointestinal disease [Internet]. Elsevier; 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123971548000129>
172. Jan R, Chaudhry GS. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Adv Pharm Bull.* 2019;9(2):205–18.
173. Wu X, Wang L, Wang K, Li J, Chen R, Wu X, et al. ADAR2 increases in exercised heart and protects against myocardial infarction and doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Mol Ther.* 2022;30(1):400–14.
174. Hu C, Zhang X, Wei W, Zhang N, Wu H, Ma Z, et al. Matrine attenuates oxidative stress and cardiomyocyte apoptosis in doxorubicin-induced cardiotoxicity via maintaining AMPK α /UCP2 pathway. *Acta Pharm Sin B.* 2019;9(4):690–701.
175. Quagliariello V, De Laurentiis M, Rea D, Barbieri A, Monti MG, Carbone A, et al. The SGLT-2 inhibitor empagliflozin improves myocardial strain, reduces cardiac fibrosis and pro-inflammatory cytokines in non-diabetic mice treated with doxorubicin. *Cardiovasc Diabetol.* 2021;20(1):150.
176. Wu Z, Zai W, Chen W, Han Y, Jin X, Liu H. Curdione ameliorated doxorubicin-induced cardiotoxicity through suppressing oxidative stress and activating Nrf2/HO-1 pathway. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2019;74(2):118–27.
177. Wu L, Wang L, Du Y, Zhang Y, Ren J. Mitochondrial quality control mechanisms as therapeutic targets in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Trends Pharmacol Sci.* 2023;44(1):34–49.
178. 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.
179. Reddy Ag, Anjaneyulu Y, Shivakumar P, Rani Mu. A study on the toxic effects of doxorubicin on the histology of certain organs. *Toxicol Int.* 2012;19(3):241.
180. Zhu J, Zhang J, Zhang L, Du R, Xiang D, Wu M, et al. Interleukin-1 signaling mediates acute doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Biomed Pharmacother.* 2011;65(7):481–5.

181. El-Sayed A, Aleya L, Kamel M. Microbiota's role in health and diseases. *Environ Sci Pollut Res*. 2021;28(28):36967–83.
182. Nesci A, Carnuccio C, Ruggieri V, D'Alessandro A, Di Giorgio A, Santoro L, et al. Gut microbiota and cardiovascular disease: evidence on the metabolic and inflammatory background of a complex relationship. *Int J Mol Sci*. 2023;24(10):9087.
183. Tsai HJ, Tsai WC, Hung WC, Hung WW, Chang CC, Dai CY, et al. Gut microbiota and subclinical cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Nutrients*. 2021;13(8):2679.
184. Yukino-Iwashita M, Nagatomo Y, Kawai A, Taruoka A, Yumita Y, Kagami K, et al. Short-chain fatty acids in gut–heart axis: their role in the pathology of heart failure. *J Pers Med*. 2022;12(11):1805.
185. Khan I, Khan I, Jianye Z, Xiaohua Z, Khan M, Hilal MG, et al. Exploring blood microbial communities and their influence on human cardiovascular disease. *J Clin Lab Anal*. 2022;36(4):e24354.
186. Lin TL, Shu CC, Chen YM, Lu JJ, Wu TS, Lai WF, et al. Like cures like: pharmacological activity of anti-inflammatory lipopolysaccharides from gut microbiome. *Front Pharmacol*. 2020;11:554.
187. Wang L, Chen Q, Qi H, Wang C, Wang C, Zhang J, et al. Doxorubicin-induced systemic inflammation is driven by upregulation of toll-like receptor TLR4 and endotoxin leakage. *Cancer Res*. 2016;76(22):6631–42.
188. Walters KE, Martiny JBH. Alpha-, beta-, and gamma-diversity of bacteria varies across habitats. Nabout JC, organizador. *PLOS ONE*. 2020;15(9):e0233872.
189. Rigby RJ, Carr J, Orgel K, King SL, Lund PK, Dekaney CM. Intestinal bacteria are necessary for doxorubicin-induced intestinal damage but not for doxorubicin-induced apoptosis. *Gut Microbes*. 2016;7(5):414–23.
190. Skrypnyk RI, Maslova GS, Skrypnyk IN. The effect of doxorubicin-induced oxidative stress on citrulline concentration in the small intestinal mucosa and plasma blood in rats with non-alcoholic steatohepatitis. *Wiadomosci Lek Wars Pol*. 2021;74(6):1317–21.

MATERIAL SUPPLEMENTAR