

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta  
tese será disponibilizado  
somente a partir de 07/11/2026.



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

**Lidiane Moreira de Souza**

**Influência do inibidor da proteína cotransportadora  
de sódio-glicose tipo 2 empagliflozina no músculo  
esquelético de ratos com infarto do miocárdio**

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. Marina Politi Okoshi  
Coorientadora: Profa. Dra. Bruna Brasil Brandão

**Botucatu  
2024**

Lidiane Moreira de Souza

Influência do inibidor da proteína cotransportadora de sódio-glicose tipo 2 empagliflozina no músculo esquelético de ratos com infarto do miocárdio

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. Marina Politi Okoshi  
Coorientadora: Profa. Dra. Bruna Brasil Brandão

Botucatu  
2024

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

Souza, Lidiane Moreira de.

Influência do inibidor da proteína cotransportadora de sódio-glicose tipo 2 empagliflozina no músculo esquelético de ratos com infarto do miocárdio / Lidiane Moreira de Souza. - Botucatu, 2024

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

Orientador: Marina Politi Okoshi

Coorientador: Bruna Brasil Brandão

Capes: 40101002

1. Estresse oxidativo. 2. Infarto do miocárdio. 3. Músculo esquelético. 4. Metabolismo energético.

Palavras-chave: Estresse oxidativo; Função mitocondrial; Infarto do miocárdio; Músculo sóleo; Metabolismo energético; Via do IGF-1.

## **Registro do impacto esperado da tese na sociedade**

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no Brasil e no mundo. Entre elas, destaca-se o infarto do miocárdio (IM), pela sua elevada morbidade e mortalidade. Além de impactar diretamente o coração, o IM afeta outros órgãos e tecidos, incluindo a musculatura esquelética. Perda progressiva de massa muscular contribui para a redução da capacidade física e, conseqüentemente, da qualidade de vida de pacientes após IM.

Os inibidores da proteína cotransportadora de sódio-glicose tipo 2 (iSGLT2), inicialmente desenvolvidos para o tratamento do diabetes mellitus, foram incorporados à terapêutica de pacientes com insuficiência cardíaca, estágio avançado das doenças cardiovasculares. Essa classe de medicamentos apresenta efeito cardioprotetor, reduzindo a mortalidade e hospitalização de pacientes com insuficiência cardíaca, independentemente da presença de DM. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos dos iSGLT2 na musculatura esquelética.

Neste estudo, analisamos os efeitos do tratamento com o iSGLT2 empagliflozina em músculo esquelético oxidativo de ratos com infarto do miocárdio. Os resultados mostraram que o medicamento combate o estresse oxidativo, melhora a defesa antioxidante, normaliza a atividade de enzimas-chave do metabolismo energético, atenua alterações da fosforilação oxidativa, ativa vias anabólicas e deprime vias catabólicas de sinalização celular. Adicionalmente, verificamos que as alterações bioquímicas e celulares contribuíram para a manutenção do tamanho das fibras musculares. Portanto, o tratamento com empagliflozina, além de melhorar os desfechos cardiovasculares, possui efeito positivo na musculatura esquelética de ratos com infarto do miocárdio. Novos estudos são necessários para promover a translação desse conhecimento para pacientes pós-infarto do miocárdio.

## **Record of the expected impact of the thesis on society**

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in Brazil and worldwide. Among them, myocardial infarction (MI) is the leading cause of morbidity and mortality. In addition to directly injuring the heart, MI affects other organs and tissues, including skeletal muscles. Progressive loss of muscle mass contributes to a reduction in physical capacity, therefore impairing quality of life of infarcted individuals.

The inhibitors of the sodium-glucose cotransporter protein Type 2 (iSGLT2), initially developed for the treatment of diabetes mellitus (DM), have been incorporated into the treatment of patients with heart failure, an advanced stage of cardiovascular diseases. This class of drugs has a cardioprotective effect, reducing mortality and morbidity in heart failure patients, regardless of the presence of DM. However, little is known about the effects of iSGLT2 on skeletal muscles.

In this study, we analysed the effects of the iSGLT2 empagliflozin on the oxidative soleus muscle in rats with myocardial infarction. The results showed that this drug combats oxidative stress, improves antioxidant defense, normalizes the activity of key enzymes involved in energy metabolism and oxidative phosphorylation, activates anabolic pathways, and mitigates catabolic signalling pathways. We also found that the biochemical and molecular changes contribute to the maintenance of muscle fiber size. Therefore, treatment with empagliflozin not only improves cardiovascular outcomes but also has a protective effect on skeletal muscle in infarcted rats. Additional studies are necessary to translate this knowledge to post-infarction patients.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE LIDIANE MOREIRA DE SOUZA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA EM CLÍNICA MÉDICA, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 07 dias do mês de novembro do ano de 2024, às 09:15 horas, no(a) Auditório do Depto. de Clínica Médica - FM/Botucatu - Unesp, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de LIDIANE MOREIRA DE SOUZA, intitulada **Influência do inibidor da proteína cotransportadora de sódio-glicose tipo 2 empagliflozina no músculo esquelético de ratos com infarto do miocárdio**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. MARINA POLITI OKOSHI (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Depto. de Clínica Médica / FM/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. PAULA FELIPPE MARTINEZ (Participação Virtual) do(a) Instituto Integrado de Saúde / Campo Grande - UFMS, Profa. Dra. STELA MIRLA DA SILVA FELIPE (Participação Virtual) do(a) Instituto Superior de Ciências Biomédicas / Universidade Estadual do Ceará, Profa. Dra. PAULA SCHMIDT AZEVEDO GAIOLLA (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. MARINA POLITI OKOSHI



**DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho aos meus pais, Isaltino e Maria Goreti (*in memoriam*), aos meus irmãos, Marcos, Márcia, Iranildo e Graciane, e ao meu cãopaneiro Chico.

### **Agradecimento especial**

Agradeço a Prof<sup>a</sup> Titular **Marina Politi Okoshi**, pela oportunidade de tê-la como orientadora, pela dedicação e atenção dada durante toda essa jornada acadêmica. Obrigado por me direcionar, ensinar, incentivar e por toda paciência, apoio e compreensão. Te admiro, muito obrigada!

**AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me conceder a dádiva da vida e estar com saúde durante toda essa jornada.

Aos meus pais, Isaltino e Maria Goreti (*in memoriam*), por sempre respeitar as minhas decisões. Pai e mãe, obrigado por me ensinar a respeitar ao próximo e ser gentil com todos. Esse ensinamento é eterno.

A minha irmã Graciane, que sempre cuidou de mim e, mesmo em momentos de discussões, esteve sempre ao meu lado. Obrigada por sempre torcer pelo meu melhor. Você não sabe o quão foi e é importante na minha vida.

Ao meu amigo e parceiro de laboratório, Éder, por me apresentar a Prof<sup>a</sup> Marina, e por estar em sempre presente. Obrigado!

Aos meus amigos e colegas de vida, Soellyn Bataliotti, Mariana Cardoso, Letícia Grandi, Dani Zanini, Silvana, Bognar Júnior, Karina Rampazzi, Bruna Furquim e Eliza França. Obrigada por estarem comigo nos sorrisos e nas lágrimas, perto ou longe vocês estarão sempre em meus pensamentos.

Aos meus amigos de jornada internacional, Alexandre Rodrigues, Brenda Rodrigues e Roberto Ono. A experiência de intercâmbio não seria a mesma sem vocês ao meu lado.

Aos amigos que conheci ao longo da estrada. Foram tantas idas e vindas no trecho Bauru-Botucatu, muitas histórias e risos.

Aos amigos da pós-graduação, Seiji, Carol, Thierres, Felipe, Leiliane, Patrícia, Anna Clara e Ana Paula, Luana e Gustavo, obrigada pela paciência, companheirismo e amizade.

Aos colegas e parceiros de análises de enzimas antioxidantes, Natalia, Paola, Ronny e Juliana

A Prof<sup>a</sup> Inês Falcão-Pires do Departamento de Fisiologia e Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto/Portugal que me acolheu em seu grupo de pesquisa e me permitiu participar de vários projetos. Obrigada por todo ensinamento.

A minha coorientadora, Dra. Bruna Brasil Brandão, que em plena pandemia aceitou meu ajudar, mesmo estando a um oceano de distância. Obrigada pela escuta, pela atenção, conversas, discussões, aprendizado e, para além de coorientadora, ser minha amiga de longa data. Você me inspira!

Ao Prof. Tit. Dr. Katashi Okoshi, agradeço pela avaliação ecocardiográfica de todos os animais desse trabalho, bem como pela disposição e paciência em nos ensinar.

Ao Prof. Dr. Leonardo Zornoff pela cirurgia de indução de infarto nos animais.

À Dr<sup>a</sup> Camila Renata Correa, pelas análises e avaliação do malonaldeído e carbonilação de proteínas, pela paciência e disponibilidade para ensinar.

Ao pesquisador Dr. Gilson Murata, do Departamento de Medicina – Faculdade de

Medicina da USP, pela parceria e realização dos ensaios enzimáticos de metabolismo.

À Dr<sup>a</sup>. Mariana Gatto e Dr<sup>a</sup> Paula Schmidt Azevedo Gaiolla pelas valiosas sugestões e críticas proferidas no exame de qualificação, contribuindo para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Médica, da Seção de Pós-graduação e da Unidade de pesquisa experimental – Unipex. Muito obrigada a todos!

Às minhas orientadoras de iniciação científica, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Patrícia Monteiro Seraphim, e de treinamento técnico, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sandra Lia do Amaral Cardoso, vocês foram fundamentais na minha formação. Muito obrigada pelo aprendizado e amizade.

Agradeço a todos e todas que, direta ou indiretamente, contribuíram para este trabalho, afinal ciência se faz no coletivo.

A ProPG UNESP por oportunizar o intercâmbio para a Universidade do Porto/Portugal através do UNESP Presente – Edital de inclusão social nº 44/2022.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) Processo nº 88887.817564/2023-00 e nº 88887.493466/2020-00.

O período de maior ganho em conhecimento e experiência é o período mais difícil da vida de alguém.  
*Dalai Lama*

**RESUMO**

Alterações metabólicas, morfológicas e bioquímicas são comuns em músculos esqueléticos de pacientes com insuficiência cardíaca crônica. Apesar dos efeitos cardioprotetores dos inibidores do cotransportador de sódio-glicose 2 (SGLT2) na insuficiência cardíaca, o impacto dessa classe de medicamentos no músculo esquelético ainda é pouco compreendido. Este estudo investigou os efeitos do inibidor de SGLT2 empagliflozina (EMPA) no músculo sóleo de ratos com insuficiência cardíaca induzida por infarto do miocárdio (IM). **Métodos:** Uma semana após a indução de IM, ratos Wistar machos foram divididos nos grupos Sham (n=10), Sham+EMPA (n=12), IM (n=10) e IM+EMPA (n=9). A EMPA foi administrada na ração (5 mg/kg/dia) por 12 semanas. A remodelação cardíaca foi avaliada por ecocardiograma. A atividade enzimática e marcadores do estresse oxidativo foram quantificados por espectrofotometria; a expressão de proteínas foi analisada por Western blotting. A análise estatística foi realizada por ANOVA e Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn ( $p < 0,05$ ). **Resultados:** O tamanho do infarto não diferiu entre os grupos (IM  $41,8 \pm 4,2\%$ ; IM+EMPA  $40,7 \pm 5,7\%$  da área total do ventrículo esquerdo (VE)). Os grupos infartados tiveram dilatação das câmaras cardíacas esquerdas; o diâmetro do átrio esquerdo e a área diastólica do VE foram menores no grupo IM+EMPA que no IM. A fração de ejeção e a velocidade de encurtamento da parede posterior do VE foram menores, e o índice de Tei maior nos grupos IM e IM+EMPA que em seus respectivos controles. A função do VE não diferiu entre os grupos infartados. A área seccional transversa das fibras musculares foi maior no IM+EMPA que no IM. A expressão da cadeia pesada de miosina tipo II foi maior no grupo IM+EMPA que no IM. A concentração dos marcadores de estresse oxidativo carbonilação de proteínas e malondialdeído (MI  $18,0 \pm 9,15$ ; IM+EMPA  $10,7 \pm 8,22$  nmol/ $\mu$ g de proteína) foi menor no grupo IM+EMPA que no IM, indicando redução do dano oxidativo. A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi maior no grupo IM+EMPA que no IM. A função mitocondrial melhorou com a EMPA, evidenciada pela maior expressão do complexo respiratório I no grupo IM+EMPA que no IM, indicando aumento da produção de ATP e da capacidade de fosforilação oxidativa. A expressão do complexo respiratório V foi menor no grupo IM que no Sham (Sham  $1,00 \pm 0,41$ ; IM  $0,66 \pm 0,16$ ). A atividade das enzimas metabólicas foi normalizada com a EMPA, especialmente nas vias glicolíticas e do ciclo do ácido cítrico, refletindo melhora no metabolismo energético do músculo sóleo. A EMPA aumentou a expressão de proteínas anabólicas da via do IGF-1 e reduziu a expressão de proteínas de vias catabólicas de sinalização celular. **Conclusão:** A empagliflozina atenua o processo de remodelação induzido por infarto do miocárdio. No músculo esquelético, a empagliflozina preserva o trofismo do sóleo, reduz o estresse oxidativo, normaliza o metabolismo muscular e mitocondrial, e modula a expressão de proteínas envolvidas em vias de sinalização de síntese e degradação muscular.

**Palavras-chave:** infarto do miocárdio; músculo sóleo; estresse oxidativo; metabolismo energético; função mitocondrial; via do IGF-1.

**ABSTRACT**

**Background:** Metabolic, morphological, and biochemical skeletal muscle changes are common in chronic heart failure patients. Despite the cardioprotective effects of sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors in heart failure, the impact of this drug class on skeletal muscle remains poorly understood. This study investigated the effects of the SGLT2 inhibitor empagliflozin (EMPA) on the soleus muscle of rats with myocardial infarction (MI)-induced heart failure. **Methods:** One week after MI induction, male Wistar rats were divided into four groups: Sham (n=10), Sham+EMPA (n=12), MI (n=10), and MI+EMPA (n=9). EMPA was added to the rat chow (5 mg/kg/day) for 12 weeks. Cardiac remodelling was assessed by echocardiogram. Enzymatic activity and oxidative stress markers were evaluated using spectrophotometry; protein expression was analysed by Western blotting. Statistical analysis: ANOVA and Tukey or Kruskal–Wallis and Dunn’s test ( $p < 0.05$ ). **Results:** Infarct size did not differ between groups [MI  $41.8 \pm 4.2\%$ ; MI+EMPA  $40.7 \pm 5.7\%$  of total left ventricle (LV) area]. MI+EMPA and MI had dilated left cardiac chambers; left atrium diameter and LV end-diastolic area were smaller in MI+EMPA than MI. Ejection fraction and posterior wall shortening velocity were lower, and Tei index higher in MI+EMPA and MI than their respective controls. LV function did not differ between infarcted groups. Soleus cross-sectional area was larger in MI+EMPA than MI. MI+EMPA had higher Type II myosin heavy chain expression than MI. The oxidative stress markers carbonylated protein and malondialdehyde levels (MI  $18.0 \pm 9.15$ ; MI+EMPA  $10.7 \pm 8.22$  nmol/ $\mu$ g of protein) were lower, and the antioxidant superoxide dismutase higher in MI+EMPA than MI. Expression of the respiratory complex I was higher in MI+EMPA than MI (MI  $0.74 \pm 0.29$ ; MI+EMPA  $2.74 \pm 1.01$  arbitrary units) and expression of the respiratory complex V was lower in MI than Sham (Sham  $1.00 \pm 0.41$ ; MI  $0.66 \pm 0.16$  arbitrary units). Metabolic enzyme activities, altered in MI compared to Sham, were normalised in MI+EMPA, particularly those from glycolytic and citric acid cycle pathways. EMPA up-regulated expression of anabolic proteins of the IGF-1 pathway and down-regulated proteins related to catabolic signalling. **Conclusion:** Empagliflozin slightly attenuates infarction-induced cardiac remodeling in rats. In skeletal muscle, empagliflozin preserves soleus trophism, reduces oxidative stress, normalizes muscle and mitochondrial metabolism, and modulates expression of proteins involved in synthesis and degradation-related pathways.

**Keywords:** Myocardial infarction; soleus muscle; oxidative stress; energy metabolism; mitochondrial function; IGF-1 pathway

## **SUMÁRIO**

<b>Apresentação da Tese.....</b>	<b>19</b>
<b>FUNDAMENTAÇÃO .....</b>	<b>20</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>25</b>
<b>MANUSCRITO A SER ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO .....</b>	<b>34</b>
<b>ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE A PÓS-GRADUAÇÃO...</b>	<b>60</b>

## **Apresentação da Tese:**

A Tese desenvolvida durante o doutorado está apresentada nos seguintes tópicos:

- Resumo da Tese;
- Fundamentação para o trabalho desenvolvido;
- Referências da Fundamentação;
- Manuscrito a ser enviado para publicação;
- Atividades desenvolvidas durante o doutorado.

**FUNDAMENTAÇÃO**

As doenças cardiovasculares (DCVs) são uma das principais causas de mortalidade e morbidade em todo o mundo, representando um grave problema de saúde pública global <sup>1</sup>. No Brasil, são registrados cerca de 300 a 400 mil casos por ano <sup>2</sup>, com destaque para o infarto do miocárdio (IM) que, apesar do avanço no tratamento da fase aguda, pacientes que sobrevivem ao IM apresentam alto risco de evoluir com insuficiência cardíaca (IC) e óbito <sup>2,3</sup>.

O IM é caracterizado pela presença de lesão miocárdica aguda, evidenciada por concentrações elevadas de biomarcadores específicos em um contexto de isquemia miocárdica <sup>4</sup>. A lesão miocárdica provocada pelo IM resulta em uma série de alterações estruturais e funcionais no coração, conhecidas coletivamente como remodelação cardíaca. Esse processo envolve mudanças moleculares, celulares e intersticiais que levam a anormalidades no tamanho, forma e função do coração <sup>5,6</sup>. Embora a remodelação cardíaca inicial seja uma resposta adaptativa à injúria miocárdica, suas consequências crônicas podem ser desastrosas, culminando no desenvolvimento de IC.

Sendo uma síndrome complexa, a IC acomete múltiplos órgãos e sistemas, e é responsável pela diminuição da qualidade de vida e redução da expectativa de vida <sup>7</sup>. Clinicamente, a IC caracteriza-se pela intolerância aos esforços físico com a ocorrência precoce de fadiga e dispneia, levando a redução da capacidade para realizar exercícios físicos e atividades cotidianas <sup>8,9</sup>. A fisiopatologia desses sintomas ainda não está completamente esclarecida <sup>10,11</sup>. Além de anormalidades cardiovasculares e pulmonares, alterações da musculatura esquelética estão envolvidas na diminuição da capacidade física <sup>12-15</sup>.

Nas últimas décadas, o conjunto das alterações na musculatura esquelética que ocorrem durante a falência cardíaca foi denominado a miopatia associada à IC <sup>16,17</sup>. Estudos clínicos e experimentais descreveram diversas anormalidades na musculatura esquelética durante a IC como atrofia, fibrose, mudança no padrão da composição das fibras musculares, redução de mitocôndrias, alteração de metaloproteinases e de fatores de regulação miogênica, anormalidades metabólicas de enzimas oxidativas e glicolíticas, e diminuição da capacidade para desenvolver força por unidade de área muscular <sup>18-23</sup>.

Entre as anormalidades, destaca-se a alteração na composição das fibras musculares, com diminuição das fibras do tipo I (vermelhas, lentas ou oxidativas) e aumento das fibras do tipo II (brancas, rápidas ou glicolíticas) <sup>24-26</sup> que estão associadas a redução da capacidade funcional e da oxidação de ácidos graxos, e distúrbios do metabolismo energético muscular <sup>25,27</sup>. O desequilíbrio da atividade de enzimas do metabolismo muscular que compõe a via

glicolítica, ciclo do ácido cítrico, beta-oxidação e via das pentoses, contribui para a transição dos fenótipos das fibras do tipo I e II<sup>28,29</sup>. Dessa forma, alterações metabólicas contribuem para a redução da capacidade oxidativa e para o surgimento de uma miopatia metabólica generalizada, que afeta tanto os músculos esqueléticos quanto o músculo cardíaco. A diminuição da capacidade de fosforilação oxidativa na IC está associada à disfunção mitocondrial, especialmente devido às alterações nos complexos respiratórios, o que afeta a expressão de proteínas envolvidas na densidade, volume e número de mitocôndrias.<sup>30-34</sup>

Além das mudanças no tipo de fibra muscular, a atrofia muscular é uma das alterações mais significativas observadas em pacientes com IC. A redução da massa muscular apendicular está fortemente correlacionada com piora do prognóstico nesses pacientes, sendo um preditor independente de aumento da mortalidade<sup>17,35</sup>. Os mecanismos subjacentes à atrofia muscular em pacientes com IC ainda não estão totalmente esclarecidos, mas há evidências de que a inibição das vias de síntese proteica desempenha um papel fundamental<sup>20,36,37</sup>. Dentre essas vias, a sinalização anabólica mediada pelo fator de crescimento semelhante à insulina tipo-1 (IGF-1) e sua cascata de ativação envolvendo fosfatidil-inositol-3 quinase (PI3K)/proteína quinase B (Akt) tem sido amplamente estudada importante<sup>38-40</sup>. Para exercer seus efeitos anabólicos nos músculos esqueléticos, a proteína IGF-1, por meio de ligação a seu receptor transmembrana, fosforila o substrato do receptor de insulina 1, que ativa a via PI3K/Akt, levando à inibição do glicogênio sintase quinase-3 (GSK3) e à ativação da complexo 1 do alvo da rapamicina (mTOR-1). A mTOR-1 estimula a síntese proteica e hipertrofia muscular por meio de fosforilação da p70S6 kinase (p70S6K) e inibição da eIF-4E-binding protein (4E-BP)<sup>36</sup>. Em contrapartida, a redução dos níveis de IGF-1 em pacientes com IC avançada está associada à perda de massa muscular e ao comprometimento da performance física<sup>41,42</sup>. Além de seu papel na sinalização anabólica, a ativação da Akt suprime a degradação proteica no músculo esquelético por meio de fosforilação e inativação de fatores de transcrição da forkhead box (FoxO). Portanto, inibição da FoxO, mediada pela fosforilação da Akt, impede a expressão da muscle-specific RING finger protein 1 (MuRF-1) e muscle atrophy F-box (MAFbx) e seus efeitos catabólicos no músculo esquelético<sup>36,43</sup>.

Outro aspecto crucial no desenvolvimento da miopatia associada à IC é o aumento do estresse oxidativo<sup>44-47</sup>. O estresse oxidativo, definido pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade antioxidante do organismo, encontra-se exacerbado tanto no miocárdio quanto nos músculos periféricos em situações de IC<sup>45-49</sup>. O mecanismo do complexo fator nuclear fator 2 relacionado ao eritróide 2 (Nrf-2) / proteína 1

associada a ECH semelhante a Kelch (Keap-1) também participa do controle do estresse oxidativo, pois Nrf2 é um fator de transcrição que controla a expressão de genes responsáveis pela resposta antioxidante. No citoplasma, Nrf-2 está inativo devido sua interação com a proteína Keap-1. Portanto, quando existe aumento da produção de EROs, essa interação com Nrf-2/Keap-1 se desfaz, Nrf-2 migra para o núcleo e transcreve genes antioxidantes<sup>50,51</sup>. Em músculos esqueléticos, a diminuição da atividade de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase e a catalase, contribui para o acúmulo de EROs e para o desenvolvimento de atrofia muscular<sup>46,52</sup>. Além disso, o estresse oxidativo interfere diretamente na sinalização anabólica mediada pelo IGF-1, prejudicando a ativação da via PI3K/Akt e exacerbando a degradação proteica nos músculos esqueléticos<sup>36</sup>.

Apesar dos avanços terapêuticos nas últimas décadas, a IC continua a ser uma condição de alta mortalidade. Embora existam tratamentos eficazes para a melhora da função cardíaca, ainda não há terapias específicas que previnam ou revertam as alterações musculares associadas à IC. Nesse cenário, há um interesse crescente na busca por novos fármacos que possam ter efeitos protetores sobre a musculatura esquelética em pacientes com IC. Nos últimos anos, a classe de medicamentos que tem atraído atenção são os inibidores seletivos da proteína cotransportadora de sódio-glicose tipo 2 (SGLT2), desenvolvidos inicialmente para o tratamento do diabetes mellitus tipo 2<sup>53,54</sup>. Seu mecanismo de ação envolve a inibição dos canais SGLT2 localizados no túbulo contorcido proximal renal, responsável por aproximadamente 90% da reabsorção de glicose filtrada<sup>55</sup>, sendo um mecanismo independente de insulina que desempenha um papel crítico na regulação glicêmica no diabetes<sup>56</sup>. Dessa forma, a glicose é eliminada do organismo pela excreção urinária, diminuindo os níveis de glicose no sangue. Isso reduz a glicotoxicidade e melhora a função das células  $\beta$  e a sensibilidade à insulina em todo o corpo<sup>56,57</sup>.

Os inibidores de SGLT2 têm demonstrado uma série de efeitos benéficos, não apenas no controle da glicemia, mas também na redução da pressão arterial, do estresse oxidativo e da inflamação sistêmica, além de benefícios renais e cardiovasculares<sup>58-63</sup>. Grandes ensaios clínicos randomizados, como o EMPA-REG OUTCOME, o Programa CANVAS e o DECLARE-TIMI 58, revelaram que esses medicamentos reduzem significativamente os eventos de hospitalização por IC e a mortalidade cardiovascular, mesmo em pacientes sem diabetes<sup>63-67</sup>. Esses efeitos foram observados em um curto período após o início do tratamento e se mantiveram por vários anos, sugerindo um efeito protetor direto dos inibidores de SGLT2 no sistema cardiovascular.

Embora o foco inicial dos inibidores de SGLT2 tenha sido o tratamento de pacientes com diabetes, os resultados promissores desses ensaios clínicos levaram à investigação de seus possíveis benefícios em pacientes com IC, independentemente da presença de diabetes <sup>67,68</sup>. Estudos recentes sugerem que os inibidores de SGLT2 podem ter um efeito positivo na função muscular esquelética, além de seus efeitos no coração e nos rins. Em modelos animais, a empagliflozina melhorou a função mitocondrial, aumentou a captação de glicose nos músculos esqueléticos e reduziu a atrofia muscular <sup>69-73</sup>. Esses achados sugerem que a inibição da SGLT2 pode ter um papel protetor sobre a musculatura esquelética durante o processo de remodelação cardíaca e no desenvolvimento da miopatia associada à IC.

Diante da relevância das alterações musculares na IC e do potencial terapêutico dos inibidores de SGLT2, este estudo tem como objetivo investigar os efeitos do inibidor de SGLT2 empagliflozina sobre a musculatura esquelética em modelo experimental de insuficiência cardíaca induzida por infarto do miocárdio.

**REFERÊNCIAS**

1. Martin SS, Aday AW, Almarzooq ZI, Anderson CAM, Arora P, Avery CL, et al. 2024 Heart Disease and Stroke Statistics: A report of US and global data from the American Heart Association. *Circulation* 2024;149:e347–913.
2. Silva Júnior AB da, Santos RV de S, Nascimento AB do, Nascimento LCGB do, Bomfim Neto R, Silveira DJ de AS, et al. Relação entre a mortalidade e os fatores de risco cardiovasculares do infarto agudo do miocárdio por regiões brasileiras: uma revisão sistemática da literatura com estudo ecológico. *Res Soc Dev.* 2022 Oct 29;11(14):e337111436436.
3. Santos JM, Martinez ABR, Silva EJ, Souza GRS, Lopes JM. Stroke and Myocardial Infarction: Effects of the “Hiperdia” and “Mais Médicos” Programs on the Hospitalizations Trends in Brazil. *Int J Cardiovasc Sci* 2021;34(5 Supl 1):44-52.
4. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD: Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Circulation.* 2018, 138:e618-e651.
5. Azevedo PS, Polegato BF, Minicucci MF, Paiva SAR, Zornoff LAM. Cardiac Remodeling: Concepts, Clinical Impact, Pathophysiological Mechanisms and Pharmacologic Treatment. *Arq Bras Cardiol.* 2016;106(1):62–69.
6. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2000 Mar 1;35(3):569–582.
7. Albuquerque DC de, Souza Neto JD de, Bacal F, Rohde LEP, Bernardes-Pereira S, Berwanger O, et al. I Brazilian Registry of Heart Failure - Clinical Aspects, Care Quality and Hospitalization Outcomes. *Arq Bras Cardiol.* 2015;433–442.
8. Wilson JR, Mancini DM, Dunkman WB. Exertional fatigue due to skeletal muscle dysfunction in patients with heart failure. *Circulation.* 1993 Feb;87(2):470–475.
9. Williams AD, Selig S, Hare DL, Hayes A, Krum H, Patterson J, et al. Reduced exercise tolerance in CHF may be related to factors other than impaired skeletal muscle oxidative capacity. *J Card Fail.* 2004;10(2):141–148.
10. Gevaert AB, Boen JRA, Segers VF, Van Craenenbroeck EM. Heart failure with preserved ejection fraction: A review of cardiac and noncardiac pathophysiology. *Front*

- Physiol. 2019;10:638.
11. Del Buono MG, Arena R, Borlaug BA, Carbone S, Canada JM, Kirkman DL, et al. Exercise intolerance in patients with heart failure: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol* 2019;73:2209–2225.
  12. Carbone S, Kirkman DL, Garten RS, Rodriguez-Miguel P, Artero EG, Lee DC, et al. Muscular Strength and Cardiovascular Disease: an updated state-of-the-art narrative review. *J Cardiopulm Rehabil Prev*. 2020;40(5):302–309.
  13. Cattadori G, Segurini C, Picozzi A, Padeletti L, Anzà C. Exercise and heart failure: an update. *ESC Hear Fail*. 2018;5(2):222–332.
  14. Martinez PF, Bonomo C, Guizoni DM, Oliveira SA, Damatto RL, Cezar MDM, et al. Modulation of MAPK and NF- $\kappa$ B Signaling Pathways by Antioxidant Therapy in Skeletal Muscle of Heart Failure Rats. *Cell Physiol Biochem*. 2016;39(1):371–384.
  15. von Haehling S. The wasting continuum in heart failure: from sarcopenia to cachexia. *Proc Nutr Soc*. 2015;74(4):367–377.
  16. Clark AL, Poole-Wilson PA, Coats AJ. Exercise limitation in chronic heart failure: central role of the periphery. *J Am Coll Cardiol*. 1996 Nov 1;28(5):1092–1102.
  17. Okoshi MP, Capalbo RV, Romeiro FG, Okoshi K. Cardiac Cachexia: Perspectives for Prevention and Treatment. *Arq Bras Cardiol*. 2016;1–7.
  18. Cunha TF, Bechara LRG, Bacurau AVN, Jannig PR, Voltarelli VA, Dourado PM, et al. Exercise training decreases NADPH oxidase activity and restores skeletal muscle mass in heart failure rats. *J Appl Physiol*. 2017;122(4):817–827.
  19. Carvalho RF, Cicogna AC, Rocha Campos GE, Fogaça De Assis JM, Padovani CR, Okoshi MP, et al. Myosin heavy chain expression and atrophy in rat skeletal muscle during transition from cardiac hypertrophy to heart failure. *Int J Exp Pathol*. 2003;84(4):201–206.
  20. Damatto RL, Martinez PF, Lima ARR, Cezar MDM, Campos DHS, Oliveira Junior SA, et al. Heart failure-induced skeletal myopathy in spontaneously hypertensive rats. *Int J Cardiol*. 2013;167(3):698–703.
  21. Garnham JO, Roberts LD, Caspi T, Al-owais MM, Bullock M, Swoboda PP, et al.

- Divergent skeletal muscle mitochondrial phenotype between male and female patients with chronic heart failure. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2020;11(1):79-88.
22. Kitzman DW, Nicklas B, Kraus WE, Lyles MF, Eggebeen J, Morgan TM, et al. Skeletal muscle abnormalities and exercise intolerance in older patients with heart failure and preserved ejection fraction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014;306(9):H1364-H1370.
  23. Mettauer B, Zoll J, Sanchez H, Lampert E, Ribera F, Veksler V, et al. Oxidative capacity of skeletal muscle in heart failure patients versus sedentary or active control subjects. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38(4):947-954.
  24. Song T, Manoharan P, Millay DP, Koch SE, Rubinstein J, Heiny JA, et al. Dilated cardiomyopathy-mediated heart failure induces a unique skeletal muscle myopathy with inflammation. *Skelet Muscle*. 2019;9(1):1-12.
  25. Kinugawa S, Takada S, Matsushima S, Okita K, Tsutsui H. Skeletal Muscle Abnormalities in Heart Failure. *Int Heart J*. 2015;56(5):475-484.
  26. Drexler H, Münzel T, König H, Funke E, Just H, Riede U. Alterations of skeletal muscle in chronic heart failure. *Circulation*. 1992;85(5):1751-1759.
  27. Tsuda M, Fukushima A, Matsumoto J, Takada S, Kakutani N, Nambu H, et al. Protein acetylation in skeletal muscle mitochondria is involved in impaired fatty acid oxidation and exercise intolerance in heart failure. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2018;9(5):844-859.
  28. Takada S, Sabe H, Kinugawa S. Abnormalities of Skeletal Muscle, Adipocyte Tissue, and Lipid Metabolism in Heart Failure: Practical Therapeutic Targets. *Front Cardiovasc Med*. 2020;7:79.
  29. Thompson CH, Kemp GJ, Rajagopalan B, Radda GK. Metabolic abnormalities in skeletal muscle after myocardial infarction in the rat. *Clin Sci (Lond)*. 1994;87(4):403-406.
  30. Giménez-Escamilla I, Benedicto C, Pérez-Carrillo L, Delgado-Arija M, González-Torrent I, Vilchez R, et al. Alterations in Mitochondrial Oxidative Phosphorylation System: Relationship of Complex V and Cardiac Dysfunction in Human Heart Failure. *Antioxidants (Basel)*. 2024;13(3):285.

31. Zamani P, Proto EA, Wilson N, Fazelinia H, Ding H, Spruce LA, et al. Multimodality assessment of heart failure with preserved ejection fraction skeletal muscle reveals differences in the machinery of energy fuel metabolism. *ESC Heart Fail.* 2021;8(4):2698-2712.
32. Garnier A, Fortin D, Deloménie C, Momken I, Veksler V, Ventura-Clapier R. Depressed mitochondrial transcription factors and oxidative capacity in rat failing cardiac and skeletal muscles. *J Physiol.* 2003;551(2):491–501.
33. Garnier A, Fortin D, Zoll J, N’Guessan B, Mettauer B, Lampert E, et al. Coordinated changes in mitochondrial function and biogenesis in healthy and diseased human skeletal muscle. *FASEB J.* 2005;19(1):43–52.
34. Barazzoni R, Gortan Cappellari G, Palus S, Vinci P, Ruozi G, Zanetti M, et al. Acylated ghrelin treatment normalizes skeletal muscle mitochondrial oxidative capacity and AKT phosphorylation in rat chronic heart failure. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2017;8(6):991–998.
35. Curcio F, Testa G, Liguori I, Papillo M, Flocco V, Panicara V, et al. Sarcopenia and Heart Failure. *Nutrients.* 2020 Jan 14;12(1):211.
36. Kinugawa S, Takada S, Matsushima S, Okita K, Tsutsui H. Skeletal Muscle Abnormalities in Heart Failure. *Int Heart J.* 2015;56(5):475–484.
37. Carvalho RF, Dariolli R, Justulin Junior LA, Sugizaki MM, Politi Okoshi M, Cicogna AC, et al. Heart failure alters matrix metalloproteinase gene expression and activity in rat skeletal muscle. *Int J Exp Pathol.* 2006 Dec;87(6):437–443.
38. Feng L, Li B, Xi Y, Cai M, Tian Z. Aerobic exercise and resistance exercise alleviate skeletal muscle atrophy through IGF-1/IGF-1R-PI3K/Akt pathway in mice with myocardial infarction. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2022;322(2):C164–176.
39. Lima ARR, Pagan LU, Damatto RL, Cezar MDM, Bonomo C, Gomes MJ, et al. Effects of growth hormone on cardiac remodeling and soleus muscle in rats with aortic stenosis-induced heart failure. *Oncotarget.* 2017;8(47):83009-83021.
40. Souza LM, Gomes MJ, Brandao BB, Pagan LU, Gatto M, Damatto FC, et al. Effects of Resistance Exercise on Slow-Twitch Soleus Muscle of Infarcted Rats. *Antioxidants (Basel, Switzerland).* 2023;12(2):291.

41. Petretta M, Colao A, Sardu C, Scopacasa F, Marzullo P, Pivonello R, et al. NT-proBNP, IGF-I and survival in patients with chronic heart failure. *Growth Horm IGF Res.* 2007;17(4):288–296.
42. Niebauer J, Pflaum CD, Clark AL, Strasburger CJ, Hooper J, Poole-Wilson PA, et al. Deficient insulin-like growth factor I in chronic heart failure predicts altered body composition, anabolic deficiency, cytokine and neurohormonal activation. *J Am Coll Cardiol.* 1998;32(2):393–397.
43. Rom O, Reznick AZ. The role of E3 ubiquitin-ligases MuRF-1 and MAFbx in loss of skeletal muscle mass. *Free Radic Biol Med.* 2016;98:218–230.
44. Martinez PF, Bonomo C, Guizoni DM, Junior SAO, Damatto RL, Cezar MDM, et al. Modulation of MAPK and NF-954;B Signaling Pathways by Antioxidant Therapy in Skeletal Muscle of Heart Failure Rats. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39(1):371–384.
45. Martinez PF, Bonomo C, Guizoni DM, Junior SAO, Damatto RL, Cezar MDM, et al. Influence of N- acetylcysteine on oxidative stress in slow-twitch soleus muscle of heart failure rats. *Cell Physiol Biochem.* 2015;35(1):148–159.
46. Gomes MJ, Martinez PF, Pagan LU, Damatto RL, Cezar MDDM, Lima ARR, et al. Skeletal muscle aging: influence of oxidative stress and physical exercise. *Oncotarget.* 2017;8(12):20428–20440.
47. Brum PC, Bacurau A V., Cunha TF, Bechara LRG, Moreira JBN. Skeletal myopathy in heart failure: Effects of aerobic exercise training. *Exp Physiol.* 2014;99(4):616–620.
48. Linke A, Adams V, Schulze PC, Erbs S, Gielen S, Fiehn E, et al. Antioxidative effects of exercise training in patients with chronic heart failure: Increase in radical scavenger enzyme activity in skeletal muscle. *Circulation.* 2005;111(14):1763–1770.
49. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011 Dec;301(6):H2181-H2190.
50. Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, Donato R. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. *Biochim Biophys acta Mol cell Res.* 2018;1865(5):721–733.
51. Baird L, Yamamoto M. The Molecular Mechanisms Regulating the KEAP1-NRF2 Pathway. *Mol Cell Biol.* 2020; 40(13):e00099-20.

52. Pagan LU, Gomes MJ, Martinez PF, Okoshi MP. Oxidative Stress and Heart Failure: Mechanisms, Signalling Pathways, and Therapeutics. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:9829505.
53. Kaplan A, Abidi E, El-Yazbi A, Eid A, Booz GW, Zouein FA. Direct cardiovascular impact of SGLT2 inhibitors: mechanisms and effects. *Heart Fail Rev*. 2018;23(3):419–437.
54. Braunwald E. SGLT2 inhibitors: the statins of the 21st century. *Eur Heart J*. 2022;43(11):1029–1030.
55. Salvatore T, Carbonara O, Cozzolino D, Torella R, Nasti R, Lascar N, et al. Kidney in Diabetes: from Organ Damage Target to Therapeutic Target. *Curr Drug Metab*. 2011;12(7):658–666.
56. Salvatore T, Galiero R, Caturano A, Rinaldi L, Di Martino A, Albanese G, et al. An Overview of the Cardiorenal Protective Mechanisms of SGLT2 Inhibitors. *Int J Mol Sci*. 2022;23(7):3651.
57. Merovci A, Mari A, Solis-Herrera C, Xiong J, Daniele G, Chavez-Velazquez A, et al. Dapagliflozin lowers plasma glucose concentration and improves  $\beta$ -cell function. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(5):1927–1932.
58. Madaan T, Akhtar M, Najmi AK. Sodium glucose CoTransporter 2 (SGLT2) inhibitors: Current status and future perspective. *Eur J Pharm Sci*. 2016;93:244–252.
59. Maliha G, Townsend RR. SGLT2 inhibitors: Their potential reduction in blood pressure. *J Am Soc Hypertens*. 2015;9(1):48–53.
60. Matthias O, Swenja KSN, Philipp W, Thomas J, Michael H, Yuliya M, et al. The sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor empagliflozin improves diabetes-induced vascular dysfunction in the streptozotocin diabetes rat model by interfering with oxidative stress and glucotoxicity. *PLoS One*. 2014;9(11):1–13.
61. Bertero E, Prates Roma L, Ameri P, Maack C. Cardiac effects of SGLT2 inhibitors: The sodium hypothesis. *Cardiovasc Res*. 2018;114(1):12–18.
62. Minze M, Will K, Terrell B, Black R, Irons B. Benefits of SGLT2 Inhibitors Beyond Glycemic Control – A Focus on Metabolic, Cardiovascular and Renal Outcomes. *Curr Diabetes Rev*. 2018;14(6):509–517.

63. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, et al. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015;373(22):2117–2128.
64. Neal B, Perkovic V, Matthews DR. Canagliflozin and Cardiovascular and Renal Events in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2017;377(21):2099.
65. Wiviott SD, Raz I, Bonaca MP, Mosenzon O, Kato ET, Cahn A, et al. Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2018;380(4):347–357.
66. Ferrannini G, Savarese G, Cosentino F. SGLT2 Inhibitors in Type 2 Diabetes Mellitus. *Heart Fail Clin.* 2022;18(4):551–559.
67. Voors AA, Angermann CE, Teerlink JR, Collins SP, Kosiborod M, Biegus J, et al. The SGLT2 inhibitor empagliflozin in patients hospitalized for acute heart failure: a multinational randomized trial. *Nat Med.* 2022;28(3):568–574.
68. Solomon SD, McMurray JJ V, Claggett B, de Boer RA, DeMets D, Hernandez AF, et al. Dapagliflozin in Heart Failure with Mildly Reduced or Preserved Ejection Fraction. *N Engl J Med.* 2022;387(12):1089–1098.
69. Nambu H, Takada S, Fukushima A, Matsumoto J, Kakutani N, Maekawa S, et al. Empagliflozin restores lowered exercise endurance capacity via the activation of skeletal muscle fatty acid oxidation in a murine model of heart failure. *Eur J Pharmacol.* 2020;866:172810.
70. Joannides CN, Mangiafico SP, Waters MF, Lamont BJ, Andrikopoulos S. Dapagliflozin improves insulin resistance and glucose intolerance in a novel transgenic rat model of chronic glucose overproduction and glucose toxicity. *Diabetes Obes Metab.* 2017;19(8):1135–1146.
71. Naznin F, Sakoda H, Okada T, Tsubouchi H, Waise TMZ, Arakawa K, et al. Canagliflozin, a sodium glucose cotransporter 2 inhibitor, attenuates obesity-induced inflammation in the nodose ganglion, hypothalamus, and skeletal muscle of mice. *Eur J Pharmacol.* 2017;794:37–44.
72. O'Brien TP, Jenkins EC, Estes SK, Castaneda A V, Ueta K, Farmer TD, et al. Correcting Postprandial Hyperglycemia in Zucker Diabetic Fatty Rats With an SGLT2 Inhibitor Restores Glucose Effectiveness in the Liver and Reduces Insulin Resistance in Skeletal

- Muscle. *Diabetes*. 2017;66(5):1172–1184.
73. Winzer EB, Schauer A, Langner E, Augstein A, Goto K, Männel A, et al. Empagliflozin Preserves Skeletal Muscle Function in a HFpEF Rat Model. *Int J Mol Sci*. 2022;23(19):10989.