

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

LUCAS ANDRADE DE SÁ

**ÁLCOOL PERÍLICO PREVINE DANOS CAUSADOS PELA CARDIOTOXIDADE
AGUDA INDUZIDA POR DOXORRUBICINA EM MODELO ANIMAL**

**Aracaju
2024**

LUCAS ANDRADE DE SÁ

**ÁLCOOL PERÍLICO PREVINE DANOS CAUSADOS PELA CARDIOTOXIDADE
AGUDA INDUZIDA POR DOXORRUBICINA EM MODELO ANIMAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Sergipe como requisito parcial à obtenção do título de
Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Lauton Santos

**Aracaju
2024**

FICHA CATALOGRAFICA

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA SAÚDE – BISAU UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

S111a	Sá, Lucas Andrade de Álcool perfílico previne danos causados pela cardiotoxicidade aguda induzida por doxorubicina em modelo animal / Lucas Andrade de Sá; orientadora: Sandra Lauton Santos. – Aracaju, 2024. 99 f. : il. Tese (Doutorado em Ciências em Saúde, da Universidade Federal de Sergipe), 2024. 1. Saúde pública. 2. Antioxidantes 3. Mortalidade. 4. Inflamação. 4. Estresse oxidativo. 5. Doxorubicina I. Santos, Sandra Lauton. orien. II. Título. CDU 615:616-092.9
-------	--

LUCAS ANDRADE DE SÁ

**ÁLCOOL PERÍLICO PREVINE DANOS CAUSADOS PELA CARDIOTOXIDADE
AGUDA INDUZIDA POR DOXORRUBICINA EM MODELO ANIMAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Sergipe como requisito parcial à obtenção do título de
Doutor em Ciências da Saúde.

Aprovada em 23/12/2024

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra Lauton Santos

Universidade Federal de Sergipe

1º Examinador: Prof^a. Dr^a. Carolina Rosa Gioda

Universidade Federal do Rio Grande

2º Examinador: Prof^a. Dr^a. Andréia Laura Prates Rodrigues

Universidade Federal de Sergipe

3º Examinador: Prof. Dr. Ricardo Guimarães Amaral

Universidade Federal de Sergipe

4º Examinador: Prof. Dr. Márcio Roberto Santos Viana

Universidade Federal de Sergipe

DEDICATÓRIA

“A Deus, pela força e pela sabedoria concedidas ao longo deste percurso. À minha família, à minha esposa Bruna, por sua paciência e incentivo incondicional, e as minhas filhas, que foram minha maior motivação. E a todos aqueles que, com fé e generosidade, me ajudaram a chegar até aqui.”

AGRADECIMENTO

Concluir minha tese de doutorado é, sem dúvida, um marco significativo em minha trajetória acadêmica e pessoal. Este momento é fruto de anos de dedicação, superação e aprendizado, e não poderia ter sido alcançado sem o apoio de pessoas especiais que fizeram parte dessa jornada.

Agradeço primeiramente à minha família, minha esposa Bruna e minhas duas filhas, Catarina e Cecília, cujo amor, compreensão e incentivo foram fundamentais para que eu pudesse perseverar diante dos desafios e dificuldades. Vocês foram minha base e meu refúgio, e este título é, também, uma conquista de vocês.

Sou profundamente grato a minha orientadora, Prof^a Dr^a Sandra Lauton Santos, por sua orientação, paciência e confiança durante todos esses anos. Seus ensinamentos foram muito além da ciência, inspirando-me como profissional e ser humano.

Aos colegas de pesquisa (Marta e Lorrane) e amigos (Alan, Kelisson, Ricardo, Jessica, Aimée) que estiveram ao meu lado, trocando ideias, enfrentando dias de trabalho e celebrando cada pequena conquista, meu sincero agradecimento. Vocês tornaram este percurso mais leve e enriquecedor.

Agradecer ao Prof. Dr. Marcio Viana por todo aprendizado e orientação que também foram muito importantes nessa trajetória!

À instituição Universidade Federal de Sergipe e ao programa de pós-graduação Ciências da Saúde, por tudo, aos professores e colaboradores que contribuíram de maneira direta ou indireta para a realização deste trabalho, minha gratidão pela formação acadêmica e pelo suporte oferecido durante todo o processo.

Que esta conquista seja apenas um ponto de partida para novos desafios e para que o conhecimento adquirido aqui possa ser compartilhado e aplicado em benefício da sociedade. Muito obrigado!

RESUMO

Álcool Perílico previne danos causados pela cardiotoxicidade aguda induzida por doxorubicina em modelo animal. Lucas Andrade de Sá, 2024. A doxorubicina (DOX) é uma antraciclina amplamente utilizada no tratamento de diversos tipos de câncer, como leucemia, linfoma, câncer de mama, etc, devido à sua alta eficácia. No entanto, seu uso clínico está associado a efeitos colaterais cardiovasculares, incluindo toxicidade. O estresse oxidativo desempenha um papel significativo na cardiotoxicidade. Nesse contexto, substâncias derivadas de produtos naturais, como o Álcool Perílico (PA), podem mitigar esses efeitos adversos. O PA possui diversas propriedades, como antioxidante, anti-inflamatória e hepatoprotetora. Assim, este estudo buscou avaliar o potencial efeito cardioprotetor do PA na cardiotoxicidade aguda induzida pela DOX em modelo animal. A cardiotoxicidade foi induzida com DOX (20 mg/kg, i.p.), e os animais foram tratados com PA nas doses de 50 ou 100 mg/kg (i.p.). Foram realizadas análises de eletrocardiograma *in vivo*, dosagem de marcadores de lesão miocárdica no soro, avaliação do hemograma. Além da avaliação da função contrátil cardíaca *ex vivo* em um sistema de perfusão aórtica tipo Langendorff. Enzimas antioxidantes catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx) e citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 β e IL-6 foram dosadas no tecido cardíaco. Também foram avaliados danos histopatológicos. Foram divididos nos seguintes grupos: Controle, DOX, PA 50mg + DOX, PA 100 mg + DOX e o grupos PA 50 mg. Os animais tratados com DOX apresentaram alterações no eletrocardiograma, elevação da creatina quinase total (CK), creatina quinase isoforma MB (CK-MB), lactato desidrogenase (LDH), leucopenia, diminuição da força contrátil, aumento da concentração de malondialdeído (MDA) e hidroperóxidos lipídicos, bem como diminuição das sulfidrilas. Houve também, diminuição da atividade das enzimas antioxidantes CAT, SOD e GPx. Além do aumento do processo inflamatório, refletido na elevação das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6. O pré-tratamento com PA melhorou a atividade elétrica cardíaca, reduzindo os intervalos RR, QT, QTc e PR, e a pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo. O pré-tratamento também modulou o estado redox celular, através do aumento na atividade da GPx, SOD e CAT, bem como diminuiu a formação de MDA e de hidroperóxidos totais e ainda preservou as sulfidrilas totais. Diminuiu os níveis de CK, CK-MB, LDH e a leucopenia. Além disso, atuou modulando o processo inflamatório iniciado pela DOX, ajustando os níveis de TNF- α , IL-1 β e IL-6. Ademais, minimizou as alterações histopatológicas induzidas pela DOX. Assim, o tratamento com PA não apenas melhorou a atividade elétrica cardíaca e a função contrátil do ventrículo esquerdo, mas também modulou positivamente o estado redox celular e reduziu os marcadores de estresse oxidativo e inflamação. Deste modo o PA apresentou propriedades antioxidantes e anti-inflamatória, o que levou a uma cardioproteção.

Descritores: Antioxidantes. Inflamação. Álcool Perílico. Estresse oxidativo. Cardiotoxicidade. Eletrocardiograma.

ABSTRACT

Perillyl Alcohol Prevents Damage Caused by Acute Cardiotoxicity Induced by Doxorubicin in an Animal Model. Lucas Andrade de Sá, 2024. Doxorubicin (DOX) is an anthracycline widely used in the treatment of various types of cancer, such as leukemia, lymphoma, breast cancer, and others, due to its high efficacy. However, its clinical use is associated with cardiovascular side effects, including toxicity. Oxidative stress plays a significant role in cardiotoxicity. In this context, substances derived from natural products, such as Perillyl Alcohol (PA), may mitigate these adverse effects. PA possesses various properties, including antioxidant, anti-inflammatory, and hepatoprotective activities. Thus, this study aimed to evaluate the potential cardioprotective effect of PA against acute cardiotoxicity induced by DOX in an animal model. Cardiotoxicity was induced with DOX (20 mg/kg, i.p.), and animals were treated with PA at doses of 50 or 100 mg/kg (i.p.). In vivo electrocardiogram analyses, serum myocardial injury markers, and blood count evaluations were conducted. Cardiac contractile function was assessed ex vivo using a Langendorff aortic perfusion system. Antioxidant enzymes such as catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GPx), as well as pro-inflammatory cytokines like TNF- α , IL-1 β , and IL-6, were measured in cardiac tissue. Histopathological damage was also evaluated. The animals were divided into the following groups: Control, DOX, PA 50 mg + DOX, PA 100 mg + DOX, and PA 50 mg groups. Animals treated with DOX exhibited electrocardiogram alterations, elevated levels of total creatine kinase (CK), creatine kinase MB isoform (CK-MB), and lactate dehydrogenase (LDH), leukopenia, reduced contractile force, increased malondialdehyde (MDA) concentration, and lipid hydroperoxides, as well as decreased sulfhydryl groups. Additionally, a reduction in the activity of antioxidant enzymes CAT, SOD, and GPx was observed, along with an increased inflammatory process, reflected in elevated levels of pro-inflammatory cytokines TNF- α , IL-1 β , and IL-6. Pre-treatment with PA improved cardiac electrical activity by reducing RR, QT, QTc, and PR intervals and increased left ventricular developed pressure. Pre-treatment also modulated cellular redox status by enhancing GPx, SOD, and CAT activity, reducing MDA and total hydroperoxide formation, and preserving total sulfhydryl groups. It decreased CK, CK-MB, LDH levels, and leukopenia. Furthermore, PA modulated the inflammatory process initiated by DOX by adjusting TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels. Additionally, it minimized histopathological alterations induced by DOX. Thus, PA treatment not only improved cardiac electrical activity and left ventricular contractile function but also positively modulated cellular redox status, reducing markers of oxidative stress and inflammation. Therefore, PA demonstrated antioxidant and anti-inflammatory properties, leading to cardioprotection.

Descriptors: Antioxidants. Inflammation. Perillyl Alcohol. Oxidative Stress. Cardiotoxicity. Electrocardiogram.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Resumo do mecanismo da cardiotoxicidade desenvolvido via estresse oxidativo com indução de apoptose (NAJAFI, Masoud *et al.*, 2020; adaptada) 19
- Figura 2.** Resumo dos eventos inflamatórios induzidos pela DOX. A doxorubicina induz uma resposta inflamatória, resultando na ativação do complexo II no citoplasma, composto por RIPK1, Casp-8 e FADD, levando à necroptose. Além disso, a doxorubicina prejudica a atividade do NF- κ B ao superexpressar IL-1 β e IL-6, e interromper o complexo IKK. A inibição da via JAK-STAT3 pela doxorubicina impede a transcrição de genes antiapoptóticos, contribuindo para desfechos cardíacos adversos (adaptado de Sangweni *et al.*, 2022)21
- Figura 3.** Estrutura química do Álcool perílico. Peso molecular: 152.23 (Bicas et al., 2011)...24
- Figura 4.** Delineamento experimental.....30
- Figura 5.** Medida dos biomarcadores cardíacos plasmáticos Creatina quinase isoforma MB (CK-MB) (painel A), Creatina quinase (CK) (painel B), e Desidrogenase láctica (LDH) (painel C) em plasma de ratos com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX) e pré-tratados com AP durante 7 dias. Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 5). ANOVA *one-way* seguido do post hoc de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX: # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.....39
- Figura 6.** Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (painel A), dosagem dos hidroperoxidos totais (painel B) e determinação dos grupamentos sulfidrilas totais (C) em ratos pré-tratados com Álcool perílico (PA) durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 6 por grupo). ANOVA *one-way* seguido do post hoc de Tukey. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.....40
- Figura 7.** Determinação das atividades das enzimas antioxidantes cardíacas, Glutathione Peroxidase (GPx), Superoxido Desmutase (SOD) e Catalase, em coração de ratos pré-tratados com Álcool perílico (PA) durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 6 por grupo). No BOX A observa-se a análise da GPx. No painel B tem-se a atividade da SOD. E no painel C, verifica-se os resultados da Catalase. ANOVA *one-way* seguido do post hoc de Tukey. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.....41
- Figura 8.** Dosagem das citocinas pró-inflamatórias em coração de ratos pré-tratados com álcool perílico (PA) durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n=5 por grupo). ANOVA *one-way* seguido dos pós teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.....42
- Figura 9.** Parâmetros eletrocardiográficos avaliados em ratos pré-tratados com PA durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). PR (A), QRS (B), QT (C), Heart Rate (D), QTc (E) e RR (F). No painel G, têm-se a imagem representativa do eletrocardiograma dos ratos *Wistar* submetidos a cardiotoxicidade da doxorubicina (DOX). 50 mm/s e 10 mm/mV (N). As imagens e análises foram realizadas utilizando o programa *InPulse -Animal Health*. Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 6). ANOVA *one-way* seguido do post hoc de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.....43

Figura 10. Imagens representativas do eletrocardiograma de um rato dos grupos controle (CTRL), DOX, e PA 50 mg + DOX, PA 100 mg + DOX e PA 50 mg. Escala: 50 mm/s e 20 mm/mV (N). As imagens e análises foram realizadas utilizando o programa *InPulse*.....43

Figura 11. Pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE) de ratos pré-tratados com Álcool perílico (PA) durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 6). ANOVA *one-way* seguido do post hoc de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ vs grupo CTRL.....44

Figura 12. A taxa de variação da pressão pelo tempo (dP/dt) em ratos pré-tratados com Álcool perílico (PA) durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n= 6 por grupo). ANOVA *one-way* seguido do pós teste de Tukey. ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.....44

Figura 13. Efeito do PA na expressão de marcadores do ciclo celular em coração de ratos com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX) (b). As imagens representativas do *western blotting* estão exibidas em (a). Beta actina foi usada como controle de carga de proteínas. Os resultados estão expressos como média $\pm$ DP (n=4/grupo).....45

Figura 14. Fotomicrografias de secções histológicas coradas em HE (400 x) representativas dos principais achados morfológicos observados. (A) Grupo CTRL apresenta fibras musculares em secção longitudinal, destacando cardiomiócitos com núcleos alongados de cromatina dispersa e citoplasma eosinofílico exibindo estriações transversais. No detalhe ampliado, núcleos claros em forma de “charuto” e citoplasma eosinófilo com estrias transversais típicas. (B) Fibras musculares no grupo CTRL em secção transversal. No detalhe ampliado notam-se cardiomiócitos com morfologia poligonal clássica, citoplasma eosinofílico e núcleos redondos centrais. (C) Secção longitudinal das fibras musculares no Grupo DOX destacando perda de eosinofilia citoplasmática, edema intracelular (círculo), além de áreas hemorrágicas (setas) e infiltrado inflamatório edema intersticial. (D) Secção transversal das fibras musculares no Grupo DOX mostrando desorganização da estrutura morfológica do tecido, cardiomiócitos exibindo intenso edema intracelular e perda de definição de limites citoplasmáticos. No detalhe ampliado, destaca-se cardiomiócitos intumescidos, com vacuolização hidrópica pronunciada circundando núcleos picnóticos.....46

Figura 15. Fotomicrografias representativas de secções histológicas coradas em HE (400 x) dos principais achados morfológicos observados no grupo PA 50 + DOX e PA 100 + DOX. (A) Secção longitudinal das fibras musculares no grupo PA 50 + DOX mostrando desorganização morfoarquitetural do tecido cardíaco, edema intersticial, infiltração inflamatória e áreas de hiperemia e hemorragia. O detalhe ampliado destaca vasos capilares exibindo marginação de polimorfonucleares neutrófilos. (B) Área de secção transversal mostrando cardiomiócitos intumescidos, com citoplasma pálido e formação de vacúolos claros (hidrópicos) extensos ao redor de núcleos picnóticos. Na ampliação, destacam-se cardiomiócitos exibindo picnose e vacuolização perinuclear. (C) Secção longitudinal das fibras musculares no grupo PA 100 + DOX mostrando área focal de edema intracelular de cardiomiócitos e hiperemia capilar. No detalhe, cardiomiócitos exibindo vacuolização perinuclear hidrópica. (D) Área de secção transversal das fibras musculares mostrando palidez (perda de eosinofilia) citoplasmática, e formação de discreto halo perinuclear. Notar, no detalhe, a perda de eosinofilia, intumescimento celular discreta e vacuolização perinuclear do citoplasma dos cardiomiócitos.....47

Figura 16. Fotomicrografias de secções histológicas coradas em HE (400 x) representativas dos principais achados morfológicos observados no grupo PA mg puro. (A) Secções

longitudinais das fibras musculares cardíacas do grupo PA 50 exibindo características morfológicas de normalidade, destacando, no detalhe ampliado, as estriações transversais bem aparentes (*). (B) Secções transversais também exibindo características de normalidade. Destaque ampliado para a morfologia poligonal típica e citoplasma eosinofílico dos cardiomiócitos.....48

Figura 17. Análise histomorfométrica do diâmetro do núcleo (A), do citoplasma (B) e a relação citoplasma/núcleo (C) em cardiomiócitos seccionados transversalmente de animais pre-tratados com PA e submetidos a cardiotoxicidade induzida por DOX. Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP. ANOVA *one-way* seguido do pós teste de Tukey. Comparados ao grupo DOX: *** $p < 0,001$. Comparados ao CTRL: ### $p < 0,001$. PA 50 + DOX vs PA 50 (\$\$\$ $p < 0,001$); PA 100 + DOX vs PA 50 (&&& $p < 0,001$).....48

Figura 18. Análise do hemograma no sangue de animais pré-tratados com AP 50 e 100 mg/kg durante 7 dias e cardiotoxicidade induzida por DOX. Em A apresenta-se a contagem de leucócitos, em B a de plaquetas e em C a de glóbulos vermelhos. Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 6). ANOVA *one-way* seguido do post hoc de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.....49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Câncer e Antraciclinas	10
2.1 Cardiotoxicidade induzida no tratamento com Doxorrubicina (DOX).....	12
2.2 Produtos naturais e Álcool Perílico	22
3. OBJETIVOS	29
3.1 Objetivo Geral	29
3.2 Objetivos Específicos	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 Animais.....	30
4.2 Delineamento Experimental.....	30
4.3 Modelo de determinação da pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE):.....	31
4.4 Avaliação Eletrocardiográfica <i>in vivo</i>	31
4.5 Avaliação dos Marcadores de Cardiotoxicidade.....	32
4.6 Avaliação do Estresse Oxidativo e das Enzimas Antioxidantes	32
4.6.1 Determinação da Peroxidação Lipídica.....	32
4.6.2 Mensuração de Hidroperóxidos Totais	32
4.6.3 Determinação dos Grupamentos Sulfidrilas.....	33
4.6.4 Atividade da Superóxido Dismutase	33
4.6.5 Atividade da Catalase.....	33
4.6.6 Atividade da Glutathione Peroxidase	34
4.6.7 Determinação da Concentração Total de Proteína	34
4.7 Avaliação das citocinas pró-inflamatórias.....	34
4.8 Avaliação dos marcadores de apoptose	35
4.9 Avaliação do Dano Histopatológico Cardíaco.....	36
4.10 Avaliação da contagem de células sanguíneas.....	36
4.11 Análise Estatística	37
5. RESULTADOS.....	38
5.1 Álcool perílico reduz os marcadores de cardiotoxicidade.	38
5.2 Álcool perílico inibe o dano aos lipídeos de membrana e a proteínas desencadeado pelo estresse oxidativo induzido pelo DOX.	39

5.3 <i>Álcool perílico</i> restaura a atividade das enzimas antioxidantes Glutathione Peroxidase (GPx), Superóxido dismutase (SOD) e Catalase nos animais com cardiotoxicidade.	40
5.4 <i>Álcool perílico</i> inibe o processo inflamatório induzido por DOX.	41
5.5 <i>Álcool perílico</i> previne os efeitos danosos da DOX sobre a atividade elétrica e contratilidade cardíaca induzida por DOX.	42
5.6 Efeito do PA na expressão de marcadores de apoptose em coração de ratos com cardiotoxicidade induzida por DOX.	44
5.7 Avaliação Morfológica e Morfométricas do Tecido Cardíaco em corações de ratos com cardiotoxicidade induzida por DOX.	45
5.8 <i>Álcool perílico</i> melhora a leucopenia induzida pela DOX.	49
6. DISCUSSÃO	50
7. CONCLUSÃO	63
8. PERSPECTIVAS	64
REFERÊNCIAS	65
ANEXOS	94

1. INTRODUÇÃO

As doenças e agravos não transmissíveis (DANT) são as principais responsáveis pela morbimortalidade da população global, com cerca de 41 milhões óbitos anuais, o equivale a 74% das mortes no mundo. Entre as DANT, os cânceres são responsáveis por 9,3 milhões de mortes prematuras (antes dos 70 anos) atrás apenas das doenças cardiovasculares, com 17,9 milhões de mortes anualmente. Estima-se que cerca de 20 milhões novos casos câncer surgirão no mundo até 2050. Esse aumento é atribuído ao envelhecimento da população, crescimento populacional e exposição a fatores de risco, como poluição atmosférica, obesidade, álcool e tabagismo (WHO, 2023).

O câncer é reconhecido como um desafio global que exige uma ação abrangente em todas as regiões, independentemente do nível de desenvolvimento humano. No Brasil, a estimativa do Instituto Nacional de Câncer (INCA) para o triênio 2023-2025 indica que haverá cerca de 704 mil casos novos de câncer a cada ano. Enfatiza-se, portanto, a importância de estratégias eficazes de prevenção das causas evitáveis e de tratamento oportuno nos sistemas de saúde existentes (INCA, 2022).

O diagnóstico precoce e a terapia apropriada do câncer têm sido fundamentais para minimizar a mortalidade e melhorar a sobrevida de pacientes oncológicos, como vem sendo observado nos últimos anos. Por outro lado, entre os sobreviventes tem-se observado, decorrente do uso quimioterápicos, um aumento de disfunções cardíacas em longo prazo decorrentes da terapia farmacológica empregada. Agentes quimioterapêuticos como as antraciclinas são altamente eficazes para o tratamento de diversos tipos de cânceres, com destaque para a doxorrubicina (DOX) (Shabalala et al., 2017).

A DOX é amplamente utilizada no tratamento de leucemia, linfoma, sarcoma e câncer de mama, no entanto, seu uso está associado a complicações cardiovasculares bem documentadas (Linders, et al., 2024). Em especial, pode comprometer a função de bombeamento do ventrículo esquerdo, levando a condições como cardiomiopatia dilatada e insuficiência cardíaca congestiva (IC), impactando negativamente o prognóstico do paciente (Chatterjee et al., 2010; Damiani et al., 2016; Sheibani, et al., 2022; Linders, et al., 2024).

A cardiotoxicidade da DOX é causada por mecanismos interligados, como danos ao DNA, acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), peroxidação lipídica, disfunção mitocondrial, ruptura lisossômica, distúrbios do cálcio e interferência na autofagia (Li & Hill, 2014; Shabalala et al., 2017; Sheibani et al., 2022; Linders et al., 2024).

A produção excessiva de ROS nas mitocôndrias e citoplasma é uma das principais causas da lesão cardíaca, levando a danos em proteínas, lipídios, DNA e antioxidantes endógenos (Cappetta et al., 2017; Shabalala et al., 2019). A inflamação cardíaca também desempenha um papel crucial. A DOX aumenta a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF- α), mediadas pelo fator nuclear kappa-B (NF- κ B), o que contribui para a cardiomiopatia e a disfunção do ventrículo esquerdo (Sun et al., 2016; Wang et al., 2016). Essa compreensão aprimorada dos mecanismos subjacentes à cardiotoxicidade da DOX ressalta a necessidade de estratégias de prevenção durante o tratamento oncológico.

Nesse cenário, um número significativo de pacientes enfrenta maior risco de falecimento por doenças cardiovasculares decorrente do tratamento com esses quimioterápicos do que por recidiva do câncer. Em busca de minimizar esses efeitos, a terapia anticâncer multimodal, incluindo opções como cirurgia, radioterapia, citostáticos e terapia hormonal, além de imunoterapia emergente, têm evoluído nas últimas décadas. Estudos clínicos recentes com acompanhamento de longo prazo indicaram mudanças significativas na abordagem médica à cardiotoxicidade, destacando a importância de lidar com distúrbios transitórios e danos irreversíveis ao coração e vasos sanguíneos (Wang et al., 2016; Plummer et al., 2016; Mladossievicova et al., 2019; Lopez-Sendon et al., 2020).

Atualmente, apesar de não existirem diretrizes clínicas específicas voltadas para o manejo da lesão cardíaca, diversas estratégias têm sido sugeridas para mitigar os efeitos adversos causados pela DOX, particularmente no coração, como o uso de substâncias antioxidantes como o Carvedilol (Vitale; Marzocco; Popolo, 2024). Nesse sentido, produtos naturais com propriedades antioxidantes, têm mostrado um potencial significativo na modulação do estresse oxidativo e na melhoria da função cardiovascular (Cai et al., 2004; Szponar et al., 2024; Zhong et al., 2010). O quelante de ferro Dexrazoxano foi aprovado para prevenir essa cardiotoxicidade, porém seu uso é dificultado por efeitos colaterais graves (Hutchins et al., 2017; Kourek et al., 2022; Vitale; Marzocco; Popolo, 2024).

Nessa conjuntura, os derivados de produtos naturais, como os terpenos, surgem como uma alternativa terapêutica potencial. Esses compostos, produzidos por plantas, árvores e outros organismos, apresentam propriedades promissoras (Silva et al., 2021). Entre os terpenos, destaca-se o Álcool Perílico (PA), um monoterpene de origem vegetal presente em óleos essenciais de diversas espécies vegetais, como hortelã, cereja, frutas cítricas, capim-limão, entre outras (Crowell, 1999). PA é um dos metabolitos do D-limoneno (Maróstica Júnior; Pastore,

2007; Sun, 2007), monoterpene mais presente e frequente nos óleos essenciais de plantas cítricas (Bacanli et al., 2017). Sendo que este possui importantes propriedades terapêuticas como a antioxidante (Roberto et al., 2010), anti-hipertensiva (Wang; Li; Shen, 2018), hipotensora e antiarrítmica (Nascimento et al., 2019; Alves; Silva, 2019) e anti-inflamatória (Bacanli et al., 2017; Araújo-Filho et al., 2020).

Nos últimos anos, um número significativo de investigações científicas foi conduzido em relação ao PA, e os resultados obtidos indicam que este demonstra potencial para aplicações terapêuticas e preventivas em diversas doenças associadas ao câncer (Khan; Nafees; Sultana, 2011; Durço et al., 2021; Chen, T. et al., 2021). Foi observado que o PA é capaz de ampliar a defesa antioxidante celular, com o aumento das atividades das enzimas antioxidantes catalase, superóxido desmutase e glutatona; bem como de neutralizar as ROS; além de diminuir o processo inflamatório, com modulação das interleucinas envolvidas na inflamação (Jahangir e Sultana, 2007; Khan et al., 2011; Tabassum et al., 2015; Gomes et al., 2017). Ademais, estudos mostram que essa molécula ainda diminui a proliferação de células neoplásicas (Chaudhary et al., 2009; Gomes et al., 2017; Durço et al., 2021; Chen, T. et al., 2021) e possui efeito quimioprotetor e antiproliferativo (Gerhauser et al., 2003; Bicas et al., 2011; Sultana, Nafees, Khan, 2013).

Diante do desequilíbrio do estado redox e do desencadeamento do processo inflamatório causados pelo uso da DOX, surge a hipótese de que o PA pode reduzir essas alterações. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o potencial efeito cardioprotetor do Álcool Perílico na cardiotoxicidade aguda induzida pela DOX em modelo animal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Câncer e Antraciclina

O câncer, um grupo de doenças caracterizadas pelo crescimento desordenado de células que invadem tecidos e órgãos, resulta em tumores que podem se disseminar pelo corpo devido à acelerada divisão celular. Os diferentes tipos de câncer correspondem aos diversos tipos de células afetadas, sendo denominados carcinomas quando originados em tecidos epiteliais, como pele ou mucosas, e sarcomas quando têm origem em tecidos conjuntivos, como osso, músculo ou cartilagem (INCA, 2019). A incidência do câncer é fortemente influenciada por fatores comportamentais e alimentares, contribuindo para cerca de um terço das mortes relacionadas à doença. Os principais riscos incluem alto índice de massa corporal, baixo consumo de frutas e vegetais, falta de atividade física e o uso das substâncias álcool e tabaco. O tabagismo, em particular, é o principal fator de risco, associado a 22% das mortes por câncer (Forouzanfar et al., 2016).

O câncer é uma preocupação global, com estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) indicando aumento expressivo ao longo dos anos. Em 2022, os 10 tipos de câncer mais comuns representaram dois terços dos novos casos e dos 9 milhões de óbitos decorrentes da doença. Os tipos mais frequentes foram: câncer de pulmão, câncer de mama feminino, câncer colorretal, câncer de próstata e câncer de estômago. No Brasil, as três maiores incidências foram: próstata, mama feminino e colorretal. O risco de desenvolver qualquer tipo de câncer no país antes dos 75 anos foi de 21,5%, sendo maior entre os homens. Dos 1.634.441 pacientes oncológicos em 2022, incluindo os novos casos e aqueles diagnosticados em cinco anos, 278.835 morreram, principalmente de tumores de pulmão, mama feminino e colorretal. Globalmente, as principais causas de óbito por câncer foram: pulmão, colorretal, fígado e mama feminino. O câncer de colo de útero, embora seja o oitavo câncer mais incidente, é a principal causa de morte pela doença e pode ser eliminado com estratégias de saúde pública (Who, 2023; Oliveto, 2024).

Em relação aos tipos de câncer mais comuns, para os homens no Brasil em 2023, espera-se que haja 71.730 novos casos de câncer de próstata (30,0%), 21.970 de cólon e reto (9,2%), 18.020 de traqueia, brônquio e pulmão (7,5%) e 13.340 de estômago (5,6%), além de outros tipos de câncer. Para as mulheres, a estimativa é de 73.610 novos casos de câncer de mama feminina (30,1%), 23.660 de cólon e reto (9,7%), 17.010 de colo do útero (7,0%) e 14.540 de traqueia, brônquio e pulmão (6,0%), além de outros tipos de câncer (INCA, 2022)

Nos países de baixa e média renda, aproximadamente 22% dos casos de câncer estão associados a infecções, como hepatite e papilomavírus humano (HPV) (Plummer et al., 2016). Nessas regiões, a apresentação tardia e a falta de acesso ao diagnóstico e tratamento são comuns. A Global Initiative for Cancer Registry revela que apenas um em cada cinco países nessas categorias possui dados suficientes para orientar políticas de combate ao câncer. Somente 26% dos países de baixa renda relataram ter serviços de patologia no setor público, enquanto mais de 90% dos países de alta renda afirmaram ter serviços de tratamento disponíveis, contrastando com menos de 30% nos países de baixa renda. O impacto econômico do tratamento do câncer é substancial e está em ascensão (Stewart e Wild, 2014).

Nos últimos anos, uma variedade de esquemas terapêuticos para diferentes tipos de câncer foi amplamente desenvolvida, resultando na cura da doença ou em melhorias significativas na sobrevida e qualidade de vida dos pacientes. (Santos; Chacón, 2005; Minami, Matsumoto; Horiuchi, 2010). Diversos agentes antineoplásicos, como antimetabólitos e antraciclinas são conhecidos por seu potencial cardiotoxico, devido ao seu mecanismo de ação (Santos; Chacón, 2005; Yeh; Bickford, 2009; Raschi et al., 2010). Antraciclinas, como doxorrubicina (adriamicina), epirrubicina e idarrubicina, são frequentemente utilizadas no tratamento de diversos tumores, incluindo câncer de mama, linfomas, leucemias e sarcomas. No entanto, essas medicações podem causar cardiotoxicidade, especialmente quando administradas em doses elevadas (para a doxorrubicina, o risco aumenta significativamente a partir de 300 mg/m²), resultando em insuficiência cardíaca (IC) (Shan; Lincoff; Young, 1996; Santos; Chacón, 2005).

Existe uma proposta de classificação quanto ao tipo de disfunção cardíaca relacionada à quimioterapia (DCRC). DCRC Tipo I que está associada as antraciclinas (como a DOX): associado à dose de quimioterapia, ocorre em todos os pacientes tratados, manifesta alterações morfológicas identificáveis, como estresse oxidativo e disfunção mitocondrial nas células cardíacas, pode resultar em disfunção cardíaca irreversível e de longo prazo. DCRC Tipo II associada a trastuzumabe: não relacionado à dose de quimioterapia, não ocorre em todos os pacientes, varia em gravidade e não apresenta anormalidades ultraestruturais identificáveis, envolve o bloqueio da via ErbB2, essencial para o crescimento, reparo e sobrevivência dos cardiomiócitos e é amplamente reversível e de curta duração (Ewer; Lippman, 2005; Saidi; Alharethi, 2011).

As antraciclinas podem induzir cardiotoxicidade, provocando diversas alterações. Entre elas, estão a cardiomiopatia (Ewer; Lippman, 2010) e efeitos na vasculatura que resultam em

isquemia ou mudanças na pressão arterial (López et al., 2001). No pericárdio, essas drogas podem causar espessamento ou instabilidade no equilíbrio do fluido pericárdico (Lestuzzi, 2010). Além disso, o tratamento com antraciclinas aumenta o risco de arritmias (Ohnishi; Satoh; Ohno, 2001). Outros mecanismos que contribuem para a disfunção miocárdica incluem alterações no manejo do cálcio, indução de apoptose celular e edema intersticial (Shan; Lincoff; Young, 1996).

A fisiopatologia subjacente a essas complicações está intrinsecamente ligada aos processos de peroxidação lipídica e estresse oxidativo nos cardiomiócitos (Sawyer et al., 2010). Diante desse cenário, a preservação da função cardíaca emerge como um desafio constante para a indústria farmacêutica, autoridades reguladoras e profissionais de saúde na prática clínica, vem buscando mitigar as reações adversas apresentadas pelos diversos agentes terapêuticos (Raschi et al., 2010).

Dentre as diversas estratégias que têm sido adotadas para minimizar ou prevenir a cardiotoxicidade das antraciclinas, destacam-se a síntese de análogos de compostos naturais, com formulações específicas para determinados tumores, e o uso clínico de agentes cardioprotetores (Mordente et al., 2009). Essas abordagens refletem a necessidade de enfrentar os desafios cardiovasculares associados ao tratamento oncológico, visando garantir não apenas a eficácia antitumoral, mas também a preservação da saúde cardiovascular dos pacientes.

2.1 Cardiotoxicidade induzida no tratamento com Doxorubicina (DOX)

A cardiotoxicidade, uma complicação associada à quimioterapia, tem ganhado destaque como uma causa significativa de comorbidade e mortalidade, abrangendo diversas manifestações clínicas, como disfunção ventricular esquerda, arritmias, isquemia e pericardite (Khakoo e Yeh, 2008; Li e Hill, 2014). Dados epidemiológicos indicam que até 5% dos pacientes podem apresentar diversos graus de manifestações cardiotóxicas após a administração de doxorubicina. Vale ressaltar que a intensidade dos efeitos tóxicos tende a se agravar com o aumento das doses cumulativas, atingindo uma probabilidade de insuficiência cardíaca de 48% nesses pacientes, com doses de até 700 mg/m² (Curigliano et al., 2016).

As antraciclinas são uma classe de antibióticos antineoplásicos (fármacos utilizados no tratamento do câncer) introduzidos no campo clínico na década de 1960 (Octavia, et al. 2012; Issa, 2023). Os medicamentos desta classe incluem doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina, mitoxantrona e idarrubicina. Infelizmente, as antraciclinas são consideradas as principais drogas responsáveis pela cardiotoxicidade induzida pela quimioterapia. As

evidências disponíveis sugerem que a lesão cardíaca induzida pela antraciclina ocorre durante a exposição e evolui ao longo do tempo (Cardinale; Iacopo; Cipolla; 2020).

A DOX, um antibiótico glicosídico pertencente às antraciclinas, é amplamente utilizada no tratamento de vários tumores sólidos, incluindo câncer de ovário, mama e gastrointestinal, mas está associada a efeitos colaterais significativos. Esses efeitos incluem reações alérgicas, potenciais danos cardíacos, perda de cabelo, supressão da medula óssea, episódios de vômitos e irritação na bexiga. Em relação aos danos cardíacos, a cardiomiopatia, uma condição grave que pode levar à insuficiência cardíaca congestiva, é considerada o efeito colateral mais preocupante da DOX, embora os mecanismos subjacentes à sua cardiotoxicidade ainda não estejam completamente elucidados (Sheibani et al., 2022). Vale ressaltar que os miócitos cardíacos apresentam maior vulnerabilidade aos efeitos deletérios de agentes quimioterápicos, como a DOX, devido à limitada capacidade de regeneração das células cardíacas (Young; Ozols; Myers, 1981).

O risco aumentado para ocorrência de disfunção cardíaca causada pela DOX pode se manifestar de forma aguda, durante ou nos primeiros 2 a 3 dias após a administração do quimioterápico, ou de forma crônica, após 14 dias, ou até mesmo ocorrer anos após o tratamento (Swain, Whaley, Ewer, 2003). Essa disfunção pode ocasionar uma variedade de manifestações clínicas, desde arritmias até insuficiência cardíaca evidente. Diversas abordagens padrão da cardiologia foram empregadas para detectar a cardiotoxicidade, incluindo eletrocardiografia, ecocardiografia, biópsia, cintilografia, análise sérica e marcadores genômicos (Mitry e Edwards, 2016). O eletrocardiograma pode revelar alterações inespecíficas do segmento ST-T, desvio do eixo esquerdo e diminuição da amplitude dos complexos QRS (Takemura, Fujiwara, 2007; Singal, Deally, Weinberg, 1987). Os achados demonstram que esses quimioterápicos podem estar associados a um maior risco de angina de peito estável, síndrome coronariana aguda e doença arterial periférica (Mladosievičová et al., 2014).

Diversos fatores de risco estão associados ao uso de agentes antineoplásicos durante o tratamento, incluindo a combinação com outros agentes cardiotóxicos e a idade, sendo os indivíduos mais jovens e os mais idosos os mais propensos a desenvolver complicações induzidas pela DOX (Broder; Gottlieb; Lepor, 2008; Von Hoff et al., 1979). Além disso, o histórico de pré-existência de doença cardiovascular, como hipertensão, também se configura como um fator de risco significativo para o desenvolvimento dessas complicações, e pacientes que evoluem para insuficiência cardíaca congestiva enfrentam um prognóstico desfavorável, com uma taxa de mortalidade de 50% em apenas um ano (Von Hoff et al., 1979).

Outro fator de risco relevante está associado ao desenvolvimento de aterosclerose, que pode ser influenciado não apenas pela terapia anticâncer, mas também pelo próprio processo maligno da doença. Este fenômeno pode resultar em alterações no estado pró-trombótico e estresse oxidativo. As células cancerígenas, ao produzirem citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, têm o potencial de induzir disfunção endotelial, aumentar a permeabilidade na microvasculatura e promover o vazamento de fatores de pró-coagulação, como fator tecidual e fator de crescimento derivado de plaquetas, contribuindo para um processo pró-aterosclerótico (Mladosičová et al., 2014; Zamorano et al., 2016; Herrmann et al., 2016).

A cardiotoxicidade induzida pela DOX resulta em alterações morfológicas e funcionais críticas no coração, culminando em cardiomiopatia irreversível e insuficiência cardíaca. Apesar do entendimento da natureza multifatorial dos efeitos adversos da DOX, os mecanismos precisos e subjacentes da cardiotoxicidade ainda não foram completamente compreendidos (Lehenbauer Ludke, et al., 2009; Kim et al., 2017; Sheibani et al., 2022). Os mecanismos subjacentes à cardiotoxicidade induzida pela DOX já descritos, incluem: estresse oxidativo, dano ao DNA e sua consequência, inibição da enzima topoisomerase II, indução de apoptose devido à perturbação do fluxo autofágico, disfunção mitocondrial, alteração na homeostase do ferro, indução de inflamação cardíaca, comprometimento da homeostase do cálcio e outros mecanismos (F. Dulhunty; G. Casarotto; A. Beard, 2011; Mitry and Edwards, 2016; Sheibani, M. et al., 2022; Zhao et al., 2023).

Está bem estabelecido que o estresse oxidativo em cardiomiócitos é o mecanismo primário na cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina. Evidências apontam que a doxorrubicina é capaz de induzir a geração significativa de espécies reativas de oxigênio (ROS) no tecido cardíaco, ao mesmo tempo em que inibe os mecanismos antioxidantes, incluindo, dentre estes, a supressão do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) (Zhao et al., 2023).

O organismo humano está constantemente exposto a espécies reativas de oxigênio (ROS). Em condições fisiológicas normais, a maioria das espécies reativas de oxigênio (ROS) é gerada na cadeia respiratória mitocondrial, bem como por outros processos bioquímicos celulares, como em eventos inflamatórios, no catabolismo de ácidos graxos, na degradação da xantina em ácido úrico e na auto oxidação de catecolaminas (Barbosa et al., 2010; Gutteridge, 2015). Embora esses processos sejam normais e essenciais para a vida das células, a produção excessiva de ROS pode causar danos a biomoléculas, como ácidos nucleicos, proteínas e

lipídios, que em grande quantidade, podem levar à morte celular (Barreiros; David; David, 2006; Halliwell; Gutteridge, 2015).

Há um equilíbrio entre a produção de ROS e fatores antioxidantes. No entanto, esse equilíbrio pode ser perturbado por uma variedade de fatores, incluindo estresse ambiental, dieta inadequada, estilo de vida sedentário, tabagismo e exposição a toxinas. Assim, nesse contexto, tem-se o termo "estresse oxidativo" refere-se a um desequilíbrio entre a produção de ROS e a capacidade do organismo de neutralizá-las, levando a danos em biomoléculas essenciais. As ROS incluem radicais como hidroxila, superóxido, peroxila e alcóxila, e não-radicais como oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso. Algumas dessas espécies são altamente reativas e podem danificar lipídios, proteínas e DNA, enquanto outras são menos reativas (Barbosa et al., 2010).

O radical hidroxila ($\text{HO}^\bullet$) é o mais prejudicial e frequentemente formado por reação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com metais de transição ou pela homólise da água por radiação ionizante. A presença de metais como ferro (Fe^{2+}) e cobre (Cu^{1+}) facilita a geração do radical hidroxila. O radical hidroxila pode causar danos significativos ao DNA, RNA, proteínas, lipídios e membranas celulares, levando à ruptura da cadeia de DNA. Ele ataca as bases nitrogenadas e a desoxirribose, promovendo mutações que podem resultar em câncer. A reação do ferro com H_2O_2 (reação de Fenton) é uma das principais vias de formação do $\text{HO}^\bullet$ no organismo (Barreiros; David; David, 2006).

Outra ROS é o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), este tem baixa reatividade com moléculas orgânicas na ausência de metais de transição. Contudo, desempenha um papel vital no estresse oxidativo devido à sua capacidade de atravessar facilmente as membranas celulares e formar radicais hidroxila. Este composto pode oxidar proteínas contendo resíduos de metionina ou grupos tiol altamente reativos, como a glutathione (GSH) (Halliwell; Clement; Long, 2000; Barreiros; David; David, 2006).

H_2O_2 é produzido no organismo pela dismutação do ânion-radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) através de enzimas oxidases ou pela β -oxidação de ácidos graxos. Mitocôndrias, como fontes significativas de $\text{O}_2^{\bullet-}$, contêm abundante superóxido dismutase (SOD) para convertê-lo em H_2O_2 . O peróxido de hidrogênio gerado é então parcialmente neutralizado por catalases, glutathione peroxidase e peroxidases ligadas à tioredoxina. A outra parte é liberada na célula. (Halliwell; Clement; Long, 2000).

O radical ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) ao contrário da maioria dos radicais livres é inativo. Em meio aquoso, sua reação principal é a dismutação, sendo eliminado pela enzima superóxido

dismutase, na qual se produz uma molécula de peróxido de hidrogênio e uma molécula de oxigênio. O radical ânion $O_2^{\cdot-}$ também reage com o radical $HO\cdot$ produzindo oxigênio singlete 1O_2 e com o óxido nítrico ($NO\cdot$) produzindo peroxinitrito ($ONOO^-$). Por fim, o radical ânion superóxido funciona como sinalizador molecular através da sua capacidade de oxidar grupos –SH em ligações dissulfeto, podendo ativar e desativar enzimas que contenham metionina. Essas reações podem ser danosas, causando danos a aminoácidos, como também são benéficas levando a proteção contra vírus, bactérias e fungos, sendo neste último liberados pelo sistema imunológico (Loscalzo, 2000; Halliwell; Clement; Long, 2000; Barreiros; David; David, 2006).

A proteção do nosso organismo contra o estresse oxidativo é exercido por macromoléculas, proteção enzimática, e de micromoléculas, como o ácido ascórbico (vitamina C). A proteção enzimática é realizada pelas enzimas Catalase (CAT), superóxido desmutase (SOD) e glutathiona (GSH). A CAT converte o peróxido de hidrogênio em H_2O e O_2 . A SOD catalisa a destruição do radical ânion superóxido $O_2^{\cdot-}$, convertendo-o em oxigênio e peróxido de hidrogênio. E a GSH reduz o H_2O_2 . Deste modo, reduzindo os radicais livres que poderiam causar danos às biomoléculas e afetar a saúde humana (Babior, 1997; Loscalzo, 2000; Barreiros; David; David, 2006).

O aumento do estresse oxidativo pode contribuir para a patogênese de doenças cardiovasculares, revelando conexões intrincadas entre esse fenômeno e o desenvolvimento de condições cardíacas crônicas, como aterosclerose, hipertensão e insuficiência cardíaca (Pinho et al., 2010; Gottlieb et al., 2010; Silva; Cerchiaro; Honório, 2011; Da Silva, et al., 2024). O estresse oxidativo desempenha um papel crucial no desenvolvimento e progressão de doenças cardíacas, como aterosclerose, disfunção endotelial, hipertensão arterial e insuficiência cardíaca. Ele promove o acúmulo de placas nas artérias, prejudica a função das células endoteliais e aumenta a produção de ROS durante eventos isquêmicos, causando danos adicionais ao tecido cardíaco. Isso resulta em lesões de isquemia-reperfusão e infarto do miocárdio, além de contribuir para a progressão da insuficiência cardíaca. Compreender esses mecanismos é vital para desenvolver estratégias eficazes de prevenção e tratamento (Da Silva et al., 2024).

Estudos experimentais têm sugerido que essas doenças estão associadas ao aumento da formação de radicais livres e à redução das defesas antioxidantes. Substâncias que aumentem as defesas celulares e/ou neutralizem esses radicais podem desempenhar papel promissor na proteção desse distúrbio (De Britto et al., 2018; Dos Santos et al., 2020).

Outro fator que desencadeia dano cardíaco associado ao estresse oxidativo é o uso de quimioterápicos como as antraciclinas, como a DOX, levando a distúrbios elétricos, de contratilidade e até alterações morfológicas (Young; Ozols; Myers, 1981; Swain, Whaley, Ewer, 2003; Mitry e Edwards, 2016; Sheibani et al., 2022).

Diversas vias contribuem para o estresse oxidativo induzido pela DOX. Uma das principais vias de toxicidade envolve o aumento de ROS no ambiente intracelular, disfunção mitocondrial nos cardiomiócitos e peroxidação lipídica (Takemura, Fujiwara, 2007; Singal, Deally, Weinberg, 1987; Kalyanaraman, Perez-Reyes, Mason, 1980; Doroshov, 1983). Sob circunstâncias normais, as ROS no organismo mantêm-se em um equilíbrio dinâmico em níveis baixos, desempenhando um papel fundamental na sinalização redox. Contudo, quando esse equilíbrio é perturbado, ocorre o acúmulo de ROS, desestabilizando o equilíbrio redox e resultando em estresse oxidativo (Kumar; Yegla; Foster, 2018). A doxorubicina emerge como um contribuinte significativo para essa disrupção (Zhao et al., 2023).

Alguns autores destacam principalmente o dano às mitocôndrias, visto que no coração tem uma abundância de mitocôndrias, o que aumenta a produção de ROS. Além disso, quantidades reduzidas de enzimas antioxidantes, como catalase e glutathione peroxidase, nesse tecido diminuem a atividade antioxidante endógena, deste modo diminuindo a defesa celular contra esse dano. Também se sugere uma maior retenção das antraciclinas no tecido cardíaco em comparação com outros tecidos, pois o tecido cardíaco tem uma alta demanda de oxigênio e acúmulo de ferro, que em situações pró-oxidantes, pode levar a maior produção de ROS. Além de uma baixa capacidade de regeneração, quando comparado com outros tecidos como o fígado (Simunek et al., 2009). Assim, como as antraciclinas induzem a formação de ROS, pode ampliar a vulnerabilidade aos danos oxidativos.

Observa-se outras alterações que contribuem para o estresse oxidativo, como concentração reduzida de antioxidantes e grupos sulfidril. Esses grupos sulfidril podem agir como antioxidantes endógenos, ajudando a neutralizar os radicais livres e proteger as células contra danos oxidativos. Os grupos sulfidril têm a capacidade de doar elétrons, agindo como agentes redutores. Eles podem reagir com espécies reativas de oxigênio, como radicais livres, e ajudar a estabilizar essas espécies, prevenindo assim danos oxidativos às proteínas e outros componentes celulares (Singal, Deally, Weinberg, 1987); bem como a inibição da síntese de ácidos nucleicos e proteínas (Arena et al., 1979; Monti et al., 1995), liberação de aminas vasoativas (Bristow et al., 1980), função adrenérgica alterada (Tong, Ganguly, Singal, 1991) e

expressão diminuída de genes expressos especificamente no coração são outros mecanismos propostos (Takemura, Fujiwara, 2007).

Dentre esses genes, pode-se mencionar o NRF2 (Fator 2 relacionado ao fator nuclear eritróide 2) é outro gene relevante. A DOX pode inibir a ativação do NRF2, que é um regulador chave da resposta antioxidante. Isso pode aumentar o estresse oxidativo nas células cardíacas. Além disso, o ATP2A2 (ATPase de cálcio tipo 2A) é afetado pela DOX, que reduz a expressão desse gene responsável pelo transporte de cálcio para o retículo sarcoplasmático das células cardíacas. Isso impacta a homeostase do cálcio e a função contrátil do coração (Kim, Y. et al., 2003; Takemura, Fujiwara, 2007; Fernandes, et al., 2009; Lenneman; Sawyer, 2016; Zhao et al., 2023). É possível que algum desses mecanismos estejam operacionais na cardiomiopatia induzida pela DOX.

A fisiopatologia desse dano cardíaco, via estresse oxidativo, pode ser explicada pela interação direta da DOX com várias enzimas mitocondriais, incluindo a Fosfato de Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (NADPH) citocromo P450 redutase, NADH desidrogenase mitocondrial e a isoforma endotelial da enzima óxido nítrico sintase (NOS). A DOX promove a redução do anel quinona por um elétron nessas enzimas, levando à formação de semiquinonas, que são radicais relativamente estáveis em condições anaeróbias. Na presença de oxigênio, as semiquinonas formadas na etapa anterior reagem com o oxigênio, resultando na formação de superóxido. Esse processo de redução do oxigênio e formação de superóxido contribui para a regeneração da molécula de DOX, estabelecendo um ciclo no estado redox prejudicial ao miocárdio. Além disso, a interação promove a formação intracelular de peróxido de hidrogênio, agravando o estresse oxidativo. A interação danosa da DOX com enzimas como NADH desidrogenase, citocromo P450 redutase e xantina oxidase é destacada, pois essas enzimas estão envolvidas na geração de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), contribuindo para o estresse oxidativo (Bachur, Gordon, Gee, 1979; Berlin, Haseltine, 1981; Deng et al., 2007; Davies, Doroshov, 1986; Takemura, Fujiwara, 2007; Kalivendi et al., 2001; Kotamraju et al., 2000; Vasquez-Vivar et al., 1997).

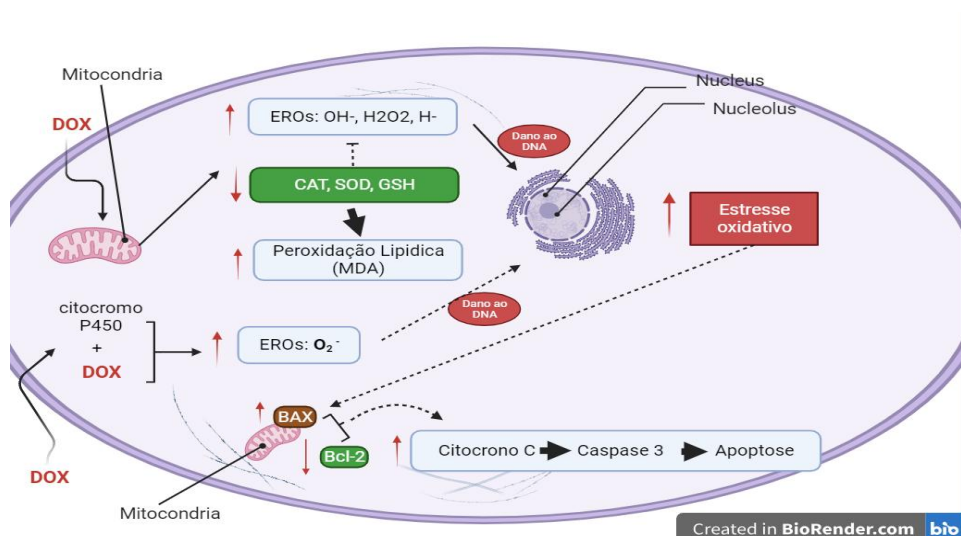
A DOX, ao ser reduzida para semiquinona, contribui para a geração de superóxido e peróxido de hidrogênio. Essas ROS, por sua vez, esgotam as reservas de glutathione peroxidase (GPx) e catalase (CAT), reduzindo a capacidade do miocárdio de neutralizar essas espécies reativas. Além disso, a DOX forma complexos quelatos com o ferro, e o complexo resultante atua como catalisador na conversão de radicais peróxidos em radicais hidroxila altamente reativos. Esse processo adicional resulta em danos oxidativos e mitocondriais no tecido

cardíaco (Myers, 1998; Bin Jordan et al., 2020). Esses processos bioquímicos contribuem para os efeitos adversos da DOX no coração e no sistema vascular.

Assim, a DOX desencadeia disfunção mitocondrial, comprometendo o funcionamento normal dessas organelas celulares essenciais. Inibe enzimas antioxidantes importantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona (GSH). Essa inibição resulta no aumento de radicais livres, contribuindo para o estresse oxidativo no tecido cardíaco. Promove a elevação de marcadores de peroxidação lipídica, como malondialdeído (MDA). O aumento desses marcadores compromete a integridade da membrana celular. Nesta condição, íons extracelulares, especialmente os Ca^{2+} , tem sua permeabilidade aumentada nas células e levam à disfunção celular e apoptose (Najafi et al., 2020).

Em paralelo, o estresse oxidativo provoca a ativação dos reguladores de apoptose, proteína associada à família BCL-2 (BAX), reduzindo a expressão de BCL-2 (proteína anti-apoptótica, o que significa que ela tem a função de inibir a apoptose e promover a sobrevivência celular) e aumentando a expressão de BAX (considerada pró-apoptótica, o que significa que ela promove a apoptose ou morte celular programada), que ativa a liberação do citocromo C pelos poros da membrana mitocondrial, e esse processo induz a cascata de caspases de ativação das vias da apoptose, que acaba levando à morte dos cardiomiócitos e ao comprometimento da função contrátil cardíaca (Figura 1). Esses processos moleculares desempenham um papel crítico nos efeitos adversos da DOX no coração (Octavia et al., 2012; Najafi et al., 2020).

Figura 1. Resumo do mecanismo da cardiotoxicidade desenvolvido via estresse oxidativo com indução de apoptose (Najafi, Masoud et al., 2020; adaptada).



A DOX também induz inflamação cardíaca, onde o aumento de citocinas, a atividade das células Natural Killer (NK) e da resposta citotóxica dos linfócitos T desempenham papel

crucial nos danos ao coração (Sun et al., 2016). Estudos demonstram os passos sequenciais dos mecanismos moleculares mediados por NADPH/ROS, destacando a relevância do fator nuclear- κ B (NF- κ B). Além disso, foram observadas ações nas vias de sinalização das quinases reguladas por sinais extracelulares (ERK1/2) e outras quinases ativadas por mitógenos, desencadeando o processo apoptótico nos cardiomiócitos (Zhao; Zhang, 2017). A DOX está envolvida na regulação positiva de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e o fator de necrose tumoral (TNF- α), devido à ativação NF- κ B. Essa ativação do NF- κ B representa o ponto de convergência para a regulação de cascatas de sinais subsequentes, incluindo IL-6, TNF- α , IL-1 e outras citocinas inflamatórias. O TNF- α , uma citocina pró-inflamatória, interage com os receptores TNF-R1 e TNF-R2, desempenhando um papel crucial na resposta inflamatória do organismo à DOX (Kaczmarek et al., 2013; Vyas; Laput; Vyas, 2014; Wang et al., 2016). Os efeitos da quimioterapia sobre as citocinas pró-inflamatórias, a infiltração de células inflamatórias e a morte celular por necroptose resultante desses eventos são aspectos fundamentais da disfunção do ventrículo esquerdo (Pecoraro et al., 2016).

Esse mecanismo de morte celular descrito como necroptose, forma regulada de morte celular, é iniciado por ativação de receptores específicos, como Fas e receptor do fator de necrose tumoral 1 (TNFR1). Quando ativados, esses receptores podem sinalizar tanto vias de sobrevivência quanto de morte, recrutando complexos de sinalização específicos. A ligação de TNF- α ao TNFR1 desencadeia a formação de um complexo de sinalização citoplasmático da caspase-8 (Casp-8) composto por Quinase 1 de Interligação com Receptor (RIPK1), Casp-8 e Proteína Associada ao Fas com Domínio de Morte (FADD) (Font-Belmonte; González-Rodríguez; Fernández-López, 2020). Com o uso de DOX, a inibição da via da Casp-8 facilita a autofosforilação e oligomerização de RIPK1, promovendo a necroptose, onde RIPK3, fosforilado por RIPK1, induz a morte celular. Dessa forma, RIPK1 desempenha papel crítico, não apenas iniciando a apoptose dependente da Casp-8, mas também a necroptose via RIPK3 (Rolski e Błyszczuk, 2020; Li; Zhao; Wang et al., 2021; Sangweni, et al., 2022).

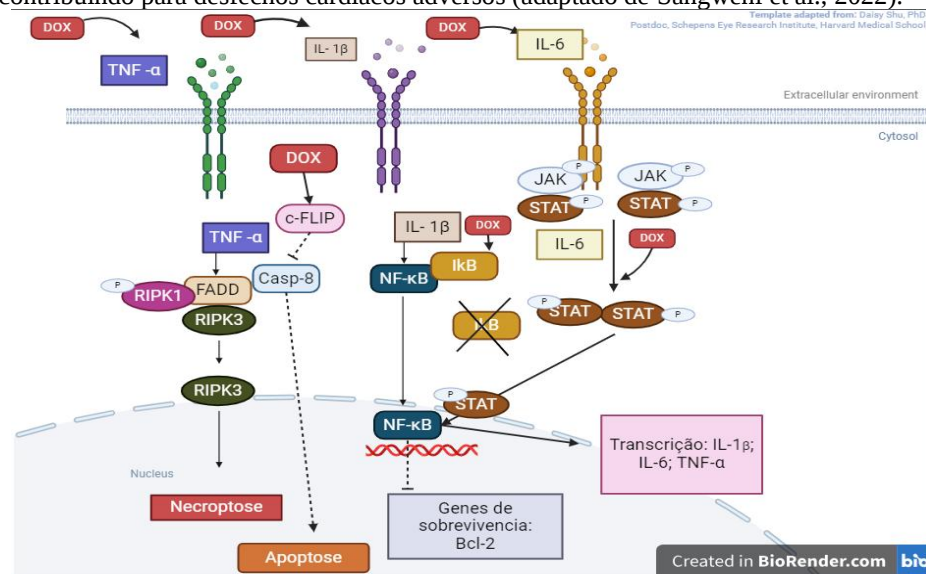
A ativação prolongada de NF- κ B resulta em inflamação crônica e falência cardíaca. Isso ocorre porque a DOX prejudica a atividade de NF- κ B, aumentando a expressão de IL-1 β e IL-6, e interrompendo o complexo quinase I κ B (I κ B), inibindo a transcrição de genes anti-apoptóticos no miocárdio como a Bcl-2 (Proskuriakova et al., 2021; Sangweni et al., 2022). Esses processos foram resumidos na figura 2.

Outra forma de morte celular programada, dependente de caspases inflamatórias, como a caspase-1, é a piroptose, que está estreitamente ligada à ativação do inflamassoma. A

piroptose dos cardiomiócitos, desencadeada pela ativação do inflamassoma NLRP3 via caspase-1, contribui causalmente para a progressão da disfunção miocárdica induzida pela DOX (Zeng et al., 2020). O inflamassoma NLRP3 é amplamente reconhecido e inicialmente identificado em monócitos e macrófagos, mas pesquisas recentes indicam que também pode ser ativado em outros tipos de células, incluindo o cardiomiócito (Dargani; Singla, 2019). Um dos métodos de ativação do inflamassoma é pelo aumento de espécies reativas de oxigênio (ABDERRAZAK, Amna et al. 2015; Zeng et al., 2020).

A ativação do inflamassoma NLRP3 induz a transcrição de NLRP3, precursores de caspase-1 (pró-caspase-1) e IL-1 β (pró-IL-1 β) por meio da sinalização do receptor toll-like (TLR)/NF- κ B. Esse processo resulta na auto-clivagem da pró-caspase-1, mediando a maturação e liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e IL-18, além de desencadear a morte celular (Strowing et al., 2012). Os inflamassomas têm a capacidade de detectar sinais de perigo não microbianos e formar grandes complexos citoplasmáticos, ativando as caspases-1 e -5. Isso, em última instância, conduz à ativação proteolítica das citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 β (IL-1 β) (MARTINON; BURNS; TSCHOPP, 2002). A produção excessiva ou prolongada de IL-1 β pode resultar em dano tecidual generalizado (Master et al., 2009; Abderrazak et al. 2015).

Figura 2. Resumo dos eventos inflamatórios induzidos pela DOX. A doxorubicina induz uma resposta inflamatória, resultando na ativação do complexo II no citoplasma, composto por RIPK1, Casp-8 e FADD, levando à necroptose. Além disso, a doxorubicina prejudica a atividade do NF- κ B ao superexpressar IL-1 β e IL-6, e interromper o complexo IKK. A inibição da via JAK-STAT3 pela doxorubicina impede a transcrição de genes antiapoptóticos, contribuindo para desfechos cardíacos adversos (adaptado de Sangweni et al., 2022).



Na figura 2 apresenta-se resumido alguns dos processos inflamatórios desencadeados pela DOX. Estudos recentes exploraram diferentes estratégias de redução da inflamação para

prevenir a cardiotoxicidade induzida pela DOX, incluindo o uso de compostos anti-inflamatórios que possam modular as vias de sinalização do NF- κ B, citocinas pró-inflamatórias e ciclooxigenases envolvidas na patogênese da cardiotoxicidade. Apontam ainda que compostos naturais mostraram esses efeitos protetores, reduzindo a inflamação cardíaca induzida pela DOX (Guo, R. et al. 2013; Sheibani, et al., 2020; Sheibani, et al., 2022).

Em suma, a cardiotoxicidade induzida pela DOX é uma preocupação significativa na terapia do câncer, principalmente devido aos efeitos prejudiciais do estresse oxidativo e da inflamação cardíaca. Os conhecimentos atuais revelam que os danos provocados pela interação direta da DOX com enzimas mitocondriais e que desencadeiam uma cascata de eventos prejudiciais no coração podem ser diminuídos com o uso de compostos naturais com atividades antioxidantes e anti-inflamatórias, e têm mostrado bastante promissores na prevenção da cardiotoxicidade induzida pela DOX. À medida que avançamos na compreensão desses mecanismos complexos, o desenvolvimento de abordagens terapêuticas que combinam a administração de DOX substâncias com atividade antioxidante pode se tornar uma estratégia importante para minimizar a cardiotoxicidade e, assim, melhorar o sucesso do tratamento do câncer.

2.2 Produtos naturais e Álcool Perílico

Desde tempos antigos, a humanidade utiliza produtos naturais para a melhoria da saúde, e o conhecimento acumulado por sociedades antigas sobre a diversidade de substâncias presentes na natureza desempenhou um papel crucial na descoberta de vários compostos, muitas delas com aplicações terapêuticas (Viegas Jr et al., 2006). O uso tradicional e o crescente interesse científico nesses produtos têm impulsionado pesquisas voltadas para a promoção da saúde e o tratamento de doenças, especialmente aquelas relacionadas ao sistema cardiovascular. Essas substâncias naturais não apenas apresentam potencial terapêutico devido à atividade antioxidante, mas também exibem outras propriedades biológicas, como a atividade antiarrítmica, contribuindo para a redução do risco de doenças cardiovasculares e desempenhando um papel crucial na prevenção e controle dessas condições (Hamilton et al., 2004; Shukla et al., 2010; Miguel-Dos-Santos; Lauton-Santos, 2016).

Evidências crescentes sugerem que o estresse oxidativo desempenha um papel significativo na fisiopatologia das doenças cardiovasculares (Hamilton et al., 2004).

Dada a variedade de riscos à saúde associados a quantidades desequilibradas de ROS, pesquisas têm se concentrado na investigação do uso de moléculas com ação antioxidante como uma terapia potencial para restaurar a fisiologia normal em condições pró-oxidantes (Gomes et al., 2017). A literatura aponta que o risco de desenvolvimento de muitas doenças cardiovasculares relacionadas ao estresse oxidativo pode ser reduzido com o auxílio de antioxidantes. Compostos fenólicos, encontrados em plantas, exibem diversos efeitos biológicos, incluindo propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias e antioxidantes (Thaipong et al., 2006; Thitilertdecha, Teerawutgulrag, Rakariyatham, 2008).

Dessa forma, o consumo de antioxidantes que inibem a formação de radicais livres pode diminuir a incidência de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (Droge, 2002; Barreiros et al., 2006). Além disso, estudos indicam que substâncias com propriedades antioxidantes conseguem neutralizar as ROS, contribuindo assim para a prevenção e proteção contra lesões isquêmicas (Cai et al., 2004; Zhong et al., 2010).

Dentre essas substâncias se destacam os terpenos, uma das maiores classes de metabólitos secundários encontrados em produtos naturais, estão amplamente distribuídos na natureza e são produzidos por uma variedade de plantas, bem como por alguns animais, como insetos e organismos marinhos, e por microorganismos (Thol, 2006). Esses compostos são comuns em óleos essenciais e essências voláteis de flores, ervas e especiarias, desempenhando um papel fundamental na proteção das plantas contra predadores, na atração de polinizadores e na proteção contra o estresse foto-oxidativo, além de facilitar a termotolerância (Pichersky; Gershenzon, 2002; Rossetti, 2014).

Os terpenos são estruturados essencialmente em blocos de cinco carbonos, denominados unidades de isopreno (C_5H_8). Esses compostos são classificados de acordo com a quantidade de unidades de isopreno, abrangendo hemiterpenos, com apenas um bloco de isopreno; monoterpenos, com dois blocos; sesquiterpenos, com três blocos; diterpenos, com quatro; triterpenos, com seis; tetraterpenos, com oito; e politerpenos, com mais de oito (Felipe et al., 2017).

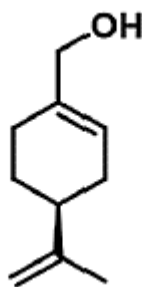
Encontrados em óleos essenciais, os terpenos possuem propriedades diversas, incluindo ação anti-inflamatória (Calou, 2008; Brito, R. G. et al., 2012; Torres Martínez et al., 2018), antioxidante (Brand et al., 2001; Bicas et al., 2011; Torres Martínez et al., 2018), hipotensora (Lahlou et al., 2003; Bastos et al., 2010; Menezes, I. et al., 2010; Cardoso Lima et al., 2012), e efeito cardiovascular (Santos, M. et al., 2011; Silva et al., 2021; Silva, E. A. P. et al., 2021), bem como propriedades anticâncer (Itani et al., 2008; Hassan et al., 2010), entre outras

(Khaleel; Tabanca; Buchbauer, 2018; Silva et al., 2021). A partir dessas investigações, percebe-se que os terpenos, como antioxidantes, podem ser considerados terapia potencial para restabelecer a fisiologia normal em condições pró-oxidativas (Guido et al., 2012).

Dentre essas propriedades farmacológicas atribuídas aos terpenos, dá-se destaque as atividades no sistema cardiovascular. Em diversos estudos, são descritas ações farmacológicas, como relaxamento vascular, efeitos anti-hipertensivos, efeitos inotrópicos, entre outros (Toscan, 2010; Rossetti, 2014; Souza et al., 2015; Ribeiro et al., 2020; Plotnikova et al., 2018; Mendes Neto, 2020; Silva, E. A. P. et al. 2021; Santos-Miranda, Artur (Ed.), 2022; De Brito et al., 2023), evidenciando dessa forma o potencial terapêutico dos terpenos nas doenças cardiovasculares, tanto para prevenção quanto para tratamento. Estudos realizados em realizados pelo nosso grupo de pesquisa também demonstram a ação antioxidante dos terpenos no tecido cardíaco, evidenciando um potencial terapêutico significativo (Sa et al., 2017; De Britto et al., 2018).

Um monoterpreno de origem vegetal encontrado nos óleos essenciais de diversas espécies vegetais, como hortelã e cereja, o Álcool Perílico (PA) apresenta propriedades que podem ser utilizadas para diversas patologias (Crowell, 1999). O PA é um composto químico conhecido como p-mentha, 1,7-dieno-6-ol ou 4-isopropenil ciclohexeno carbinol (figura 3).

Figura 3. Estrutura química do Álcool perílico. Peso molecular: 152.23 (Bicas et al., 2011).



Em seres humanos, o PA sofre rápida metabolização no fígado, por meio da ação de enzimas do citocromo P450 nos microssomas hepáticos, resultando na formação de aldeído perílico (perilaldeído), ácido perílico e ácidos di-hidroperílicos cis e trans. Subsequentemente, ocorre a glicuronidação, mediada pela UDP-glicuroniltransferase, seguida da excreção, principalmente por meio da urina e, em menor proporção, na bile (Chaudhary et al., 2009; Khan; Nafees; Sultana, 2011).

Substâncias antioxidantes podem ou não conter grupos como hidroxil (-OH) e grupos carbonila (C=O) em suas estruturas. Esses grupos são capazes de neutralizar os radicais livres, que são moléculas instáveis com elétrons desemparelhados, ajudando assim a prevenir danos

oxidativos nas células (Al-Mamary; Moussa, 2021). O PA apresenta na sua estrutura um grupo hidroxil (figura 3), assim, podendo apresentar a capacidade de neutralizar ROS.

Além disso, o PA tem a capacidade de induzir enzimas de desintoxicação no organismo, incluindo aquelas do sistema de Citocromo P450, Glutathione S-transferases (GSTs), UDP-glicuronosiltransferases (UGTs), NAD(P)H: quinona oxidoreductase (NQO1) e epóxido hidrolases. Essas enzimas desempenham um papel fundamental na metabolização e eliminação de substâncias químicas potencialmente tóxicas, como carcinógenos. A indução dessas enzimas aumenta a capacidade do organismo de neutralizar substâncias químicas prejudiciais, contribuindo, assim, para a prevenção e o tratamento do câncer. Além disso, o PA age como captador de radicais livres, prevenindo danos aos sistemas de transporte iônico da membrana plasmática (Na^+ , K^+ -ATPase; Ca^{2+} -ATPase; Ca^{2+} -ATPase associada a calmodulina; trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$), que são alvos conhecidos para danos induzidos por ROS (Gomes et al., 2017).

Algumas propriedades farmacológicas são atribuídas ao PA, dentre essas o seu potencial antioxidante e anti-inflamatório (Jahangir e Sultana, 2007; Khan et al., 2011; Tabassum et al., 2015). Em situações como o câncer, o PA parece ter o efeito antiproliferativo potente e antitumoral (Stark et al., 1995; Shojaei et al., 2014; Durço et al., 2021).

Dando destaque para o efeito antioxidante, é demonstrado que o PA desempenha um papel importante na prevenção da geração de ROS e previne suas consequências prejudiciais, ao induzir várias classes de genes envolvidos na desintoxicação de ROS. Além disso, pode interferir na regulação de genes relacionados à apoptose, como BAX, BAD e BAK (Gomes et al., 2017).

No estudo de Jahangir e Sultana (2007), foi observado um efeito antioxidante em ratos tratados por via oral com o PA nas doses de 0,5% e 1% por peso corporal, sugerindo que o PA atenua potencialmente danos oxidativos e pode prevenir a toxicidade induzida por radicais livres. De acordo com o estudo realizado por Hassan et al. (2019), o PA reduziu o estresse oxidativo e aumentou a atividade de enzimas antioxidantes em ratos diabéticos com indução por dieta rica em gordura e baixas doses de STZ. Foi observada a capacidade de reduzir a produção de radicais livres como o radical hidroxila e o ânion superóxido, podendo ajudar contra agravos do coração (Pejin et al., 2014).

Em modelo de hipertensão arterial pulmonar (PAH) em rato, Rajabi et al. (2020) observaram que o tratamento com PA resultou em uma melhora significativa da pressão no ventrículo direito, o que implica uma diminuição na sobrecarga cardíaca associada à PAH. Quantidades de citoquinas inflamatórias IL-1 β e IL-8, associadas à inflamação, foram reduzidas

com o tratamento com PA, demonstrando uma resposta anti-inflamatória. O PA contribuiu para a recuperação da expressão do miR-204, enquanto reduziu a expressão de PARP1, sugerindo a restauração do equilíbrio em processos associados à PAH. O miR-204 parece estar envolvido na regulação de processos relacionados ao estresse oxidativo, uma vez que pode influenciar a expressão de genes que estão envolvidos na resposta ao estresse oxidativo, incluindo aqueles que codificam enzimas antioxidantes. Portanto, a diminuição da expressão de miR-204, como observada na PAH, pode contribuir para o desequilíbrio do estresse oxidativo no corpo (Rajabi et al., 2020).

Na literatura são encontrados diversos trabalhos utilizando diferentes modelos, que também observaram que o PA possui propriedade antioxidante relevante. Em modelo experimental de Diabetes e utilizando as doses de 50 e 100mg/kg de PA, Hassan et al. (2019), observaram que os ratos após a indução da Diabetes apresentam concentração de glicose aumentados e de insulina diminuídos, aumento da peroxidação lipídica representado pelo teor elevado de malondialdeído (MDA) e hidroperóxidos lipídicos. Além da diminuição das enzimas antioxidantes SOD e CAT. O tratamento com o PA durante 30 dias melhorou significativamente o conteúdo tanto das enzimas antioxidantes quanto o de antioxidantes não enzimáticos avaliados. Deste modo, diminuindo possivelmente os danos causados pelas ROS. Além de melhorar a glicemia nos animais e diminuir a peroxidação lipídica.

Outro estudo onde foi evidenciado o efeito benéfico do tratamento com PA foi na patologia crônica Artrite Reumatoide. Nesse modelo, Pappula et al. (2022a), demonstrou que o estado redox é alterado para pró-oxidante, piorando a condição inflamatória desta doença. Na pesquisa o PA foi aplicado topicamente durante 28 dias nas doses de 100 e 200 mg/kg. Os autores observaram uma diminuição da atividade da SOD e glutathiona (GSH). Sendo a GSH a primeira linha de defesa antioxidante, neutralizando o radical hidroxila e desempenhando papel fundamental contra as respostas inflamatórias e o estresse oxidativo (Zunino *et al.*, 1989). Porém com o uso do PA foi possível observar propriedade antioxidante, reduzindo de forma significativa a concentração de MDA, nitrito (NO) e aumentando as defesas antioxidantes através do aumento das quantidades de GSH e SOD.

Bejeshk et al. (2023) demonstrou que o PA apresenta efeito benéfico contra a asma. Além da melhora hispatológica e inflamatória, o PA mostrou-se benéfico diminuindo os efeitos oxidantes desta patologia. Assim, as quantidades de ROS, de MDA e nitrito estavam diminuídos no grupo que recebeu como tratamento o PA (50 mg/kg). Observou-se também o aumento da

atividade das enzimas antioxidantes SOD e glutathione peroxidase (GPx), e melhora da capacidade antioxidante total.

Em modelo de indução de colite ulcerativa (UC), uma doença inflamatória crônica, foi observado que os animais com esta doença apresentavam aumento dos parâmetros oxidantes, como peroxidação lipídica, além da diminuição da quantidade de GSH. Pappula et al., 2022b, mostraram que o tratamento com PA, 100 e 200mg/kg, induziu melhora da UC através das propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias da substância. Aumentando a quantidade da enzima antioxidante GSH e diminuindo o teor de MDA e NO. O autor também mostra que o PA é capaz de diminuir a formação de ROS, *in vitro*. Esta ação pode ser observada de forma semelhante em modelo de indução de psoríase, doença inflamatória da pele, onde as ROS alteram o estado redox, piorando a progressão da doença.

Yalamarathi et al. 2022, partindo do princípio das propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, em seu estudo mostrou que o PA é capaz de melhorar os níveis de GSH e diminuir os níveis de MDA e NO. Além de melhorar os níveis das defesas antioxidantes como a SOD e o Fator nuclear eritroide 2 (Nrf2) nos camundongos com psoríase induzida. O mesmo autor, utilizando células *HaCat*, constatou que o PA é capaz de diminuir a produção de ROS, no modelo de indução do estresse oxidativo. Demonstrando deste modo propriedades antioxidantes, porém o autor também apontou que o PA possui efeito anti-inflamatório. Assim, sugerindo que o PA pode ser utilizado como possível método de tratamento para doenças inflamatórias crônicas que possuam em sua patogênese o aumento do estresse oxidativo.

Sultana, S.; Nafees, S.; Khan, A. Q. (2013) examinaram o potencial efeito quimioprotetor do PA, nas doses de 50 e 100mg/kg por via oral durante duas semanas, contra a hepatotoxicidade, uma das principais vias estudadas foi a antioxidante. Neste estudo observou-se uma melhora da atividade das enzimas antioxidantes como CAT. No modelo estudado, observaram também a melhora na peroxidação lipídica, com diminuição da formação do MDA.

Além disso o PA tem sido investigado como um agente antineoplásico promissor. O PA demonstrou ser eficaz contra diversos tipos de câncer, incluindo glioblastoma, câncer de mama, colon, pâncreas, próstata, dentre outros. Atuando por meio de mecanismos, como inibição da proliferação celular, indução de apoptose, bloqueio do ciclo celular, etc. (Zhang et al., 2024). O PA tem demonstrado eficácia especialmente em tumores cerebrais, como glioblastomas, onde a administração intranasal se destaca por sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, aumentando a biodisponibilidade no tecido tumoral (Durço et al., 2021;

Zhang et al., 2024). A administração por via oral apresentou toxicidades gastrointestinais como náuseas e vômitos o que impactou na adesão ao tratamento (Chen et al., 2021; Durço et al., 2021).

No contexto científico, esses resultados evidenciam que o PA exerce efeitos biológicos consideráveis na melhora da estrutura vascular, na redução da pressão cardíaca, na supressão da inflamação e do estresse oxidativo, modulando assim as vias de sinalização associadas às diversas patologias estudadas. Esses efeitos estão intrinsecamente relacionados às propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes do PA, o que sugere que esse composto natural apresenta grande potencial como uma abordagem terapêutica promissora.

Com base no que foi acima mencionado e considerando os efeitos documentados dos terpenos na literatura, o objetivo deste estudo foi investigar a possível ação cardioprotetora do PA na a cardiotoxicidade induzida pela DOX. A hipótese central deste estudo gira em torno da possível cardioproteção oferecida pelo PA por meio dos efeitos biológicos já relatados dessa substância, focando a sua atividade sobre as vias antioxidante e anti-inflamatória.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito cardioprotetor do *Álcool Perilico* na cardiotoxicidade aguda induzida pela DOX em modelo animal.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito do *Álcool Perilico* sobre os parâmetros elétricos e contráteis na cardiotoxicidade aguda induzida por doxorubicina em animais.
- Investigar o efeito antioxidante do pré-tratamento com *Álcool Perilico* na cardiotoxicidade aguda induzida por doxorubicina em animais.
- Verificar o efeito do *Álcool Perilico* sobre o processo inflamatório na cardiotoxicidade aguda induzida por doxorubicina em animais.
- Avaliar o efeito do *Álcool Perilico* sobre a apoptose na cardiotoxicidade aguda induzida por doxorubicina em animais.
- Analisar alterações histológicas no tecido cardíaco na cardiotoxicidade aguda induzida por doxorubicina em animais pré-tratados com *Álcool Perilico*.
- Determinar o efeito do *Álcool Perilico* sobre parâmetros hematológicos na cardiotoxicidade aguda induzida por doxorubicina em animais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

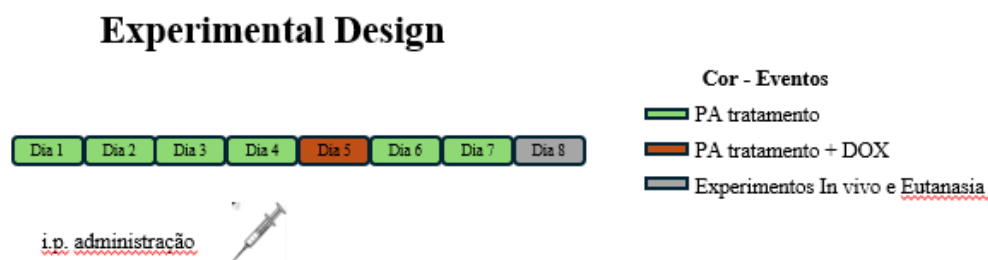
Foram utilizados ratos Wistar, pesando entre 180 e 200 g, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe (DFS/UFS). Os animais tiveram livre acesso à alimentação e água e foram submetidos a ciclos claro/escuro de 12/12 horas, em temperatura controlada ($23 \pm 3^\circ\text{C}$). Toda a manipulação e execução dos experimentos obedeceram às normas de manipulação dos animais propostas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Esse projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de ética no uso de animais da Universidade Federal de Sergipe (CEUA/UFS) com o número de protocolo 3512210222.

4.2 Delineamento Experimental

Os animais foram pré-tratados com o *Álcool perílico* (PA) durante 7 dias consecutivos, no oitavo dia foi realizado a eutanásia e as devidas análises. Esse intervalo foi definido baseado em estudo anterior realizado por Bin Jordan et al. (2020).

Utilizou-se o PA com as doses de 50 e 100 mg/kg, por via intraperitoneal (Beik et al., 2021; Puppala et al. 2022, Bejeshk et al. 2023) conforme o seguinte delineamento experimental:

Figura 4. Delineamento experimental.



- Grupo Controle (CTRL): veículo (solução fisiológica 0,9% + cremofor);
- Grupo DOX (DOX): DOX 20 mg/kg + veículo;
- Grupo PA 50 + DOX: PA 50 mg/kg + DOX 20 mg/kg + veículo;
- Grupo PA 100 + DOX: PA 100 mg/kg + DOX 20 mg/kg + veículo.
- Grupo PA 50: veículo + PA 50 mg/kg;

Como veículo, para viabilizar a solubilização do PA, os animais controles receberam solução fisiológica a 0,9% com cremofor, estabilizante utilizado em nanoemulsões o/w (óleo em água) com baixas quantidades de surfactante/co-surfactante, preparadas pelo método de emulsificação espontânea (Zeng; Xin; Zhang, 2017). Para a diluição da DOX foi utilizado apenas a solução fisiológica 0,9% para reconstituição e veículo.

Para a indução da cardiotoxicidade aguda pela DOX, a dose de 20 mg/kg dessa substância foi utilizada por via intraperitoneal (i.p.), no quinto dia de tratamento. A dose e o método de indução adotados foram determinados com base no estudo de Hadi e colaboradores (2012). Nos animais controle, uma única injeção de solução fisiológica 0,9% com cremofor (i.p.) foi administrada durante o mesmo período.

4.3 Modelo de determinação da pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE):

No oitavo dia, um dia após o fim do tratamento de sete dias, cada animal recebeu 400 unidades de heparina (i.p.). Após 15 minutos, os animais foram eutanasiados por decapitação. O coração foi exteriorizado rapidamente após toracotomia e imediatamente canulado via artéria aorta e conectado ao sistema de perfusão de órgão isolado do tipo Langendorff (Bell; Mocanu; Yellon, 2011). Após a montagem do sistema, o coração foi perfundido com solução fisiológica de Krebs a 37°C e pH 7,4, aerada por mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂), e pressão de 80 cmH₂O. O átrio esquerdo foi retirado para o posicionamento do balonete (no interior do ventrículo esquerdo) conectado a um transdutor pressórico, que por sua vez estava ligado a um receptor analógico/digital ligado a um computador. Foram registrados os seguintes parâmetros: a PDVE e as derivadas temporais de pressão ventricular máxima (+dP/dt) e mínima (-dP/dt). Em seguida, os dados foram captados pelo software WindaqEX® e no LabChart8® (AD Instruments), onde os dados obtidos de PDVE e as +dP/dt e -dP/dt, foram representados em percentual da linha de base.

4.4 Avaliação Eletrocardiográfica *in vivo*

Quarenta e oito horas após a aplicação da DOX, os ratos foram anestesiados com cetamina (80 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) via i.p. para análise eletrocardiográfica. Eletrodos foram posicionados na região dos quatro membros dos animais e conectados a um amplificador diferencial. As seguintes variáveis dos ECGs foram analisadas pelo programa *InPulse – Animal Health*: Duração do intervalo PR, Duração do complexo QRS, Duração do intervalo QTc -

corrigido segundo a equação de correção de Kmecova (QTc-Bazett/RR) (KMECOVA; KLIMAS, 2010), Frequência Cardíaca.

4.5 Avaliação dos Marcadores de Cardiotoxicidade

Foram mensurados os biomarcadores plasmáticos para avaliação de danos teciduais creatina-quinase total (CK-Total), creatina-quinase isoforma MB (CK-MB) e lactato desidrogenase (LDH), com base no método fotométrico cinético utilizando kits comerciais (Labteste). As amostras foram medidas a 340 nm e os resultados foram expressos em U/L, de acordo com as instruções do fabricante.

4.6 Avaliação do Estresse Oxidativo e das Enzimas Antioxidantes

4.6.1 Determinação da Peroxidação Lipídica

Os corações foram homogeneizados em tampão fosfato de sódio (0,1 mol/L, pH 7,4), contendo butil-hidroxitoluol (BHT; 12,6 mmol/L). Em seguida, 200 µL dos homogenatos foram incubados a 90°C por 45 minutos em 400 µL de solução ácida (0,37% de ácido tiobarbitúrico-TBA; 15% de ácido tricloroacético-TCA e; 0,25 mol/L de ácido clorídrico-HCl). Logo após, as amostras foram centrifugadas (Heal Force, Neofuge 15R) a 19.000 x g por 5 minutos a 24°C. Em 300 µL dos sobrenadantes adicionaram-se 300 µL de n-butanol e 30 µL de solução saturada de NaCl. Agitou-se as amostras em vórtex por 30 segundos e novamente centrifugadas a 19.000 x g por 2 minutos a 24°C. Pipetaram-se 200 µL dos sobrenadantes em microplaca de 96 poços para a leitura de absorbância em espectrofotômetro de placa (ELx800, BIOTEK Instruments®) a 535 nm, corrigindo pelos valores de absorbância a 572 nm. A quantidade de malondialdeído (MDA) produzida foi expressa em nanomol por grama de tecido e interpretada como marcador de peroxidação lipídica formado pela reação com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Bose, Sutherland, Pinsky, 1989).

4.6.2 Mensuração de Hidroperóxidos Totais

Os corações foram homogeneizados em PBS e centrifugados (Heal Force, Neofuge 15R) a 14.000 x g por 30 minutos a 4°C. Em um microtubo, adicionou-se 100 µL do sobrenadante, 900 µL do reagente de FOX, composto por xilenol orange (0,25 mmol/L), sulfato ferroso amoniacal ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,25 mmol/L), hidroxitolueno butilado (BHT, 4,4

mmol/L), metanol (CH₄O) e ácido sulfúrico (H₂SO₄, 97%). Após 30 minutos, as amostras foram centrifugadas a 14.000 x g por 5 minutos a 24°C. Em uma microplaca de 96 poços, pipetaram-se 200 µL dos sobrenadantes para a leitura de absorbância em leitor de placa (ELx800, BIOTEK Instruments®) a 570 nm. A quantificação dos hidroperóxidos totais foi expressa em mol/L, utilizando o coeficiente de extinção molar $4,3 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Jiang, Hunt, Wolff, 1992).

4.6.3 Determinação dos Grupamentos Sulfidrilas

Os corações foram homogeneizados em PBS e centrifugados (Heal Force, Neofuge 15R) a 14.000 x g por 30 minutos a 4°C. Em seguida, em uma microplaca de 96 poços, foram adicionados 200 µL de solução Tris-EDTA (Tris - 0,2 mol/L; ácido etilenodiamino tetra-acético - EDTA - 0,002 mol/L), 10 µL dos sobrenadantes e 4 µL de ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB 3 mmol/L). Após 15 minutos, a leitura da absorbância foi realizada em um leitor de placa (ELx800, BIOTEK Instruments®) a 412 nm. A concentração total de grupamentos sulfidrilas foi expressa em nanomol por micrograma de proteína (Aksenov e Markesbery, 2001).

4.6.4 Atividade da Superóxido Dismutase

Os corações foram homogeneizados em PBS e centrifugados (Heal Force, Neofuge 15R) a 14.000 x g por 30 minutos a 4°C. A reação foi iniciada pipetando em microplaca de 96 poços: 30 µL dos sobrenadantes, 100 µL de PBS, 6 µL de brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil tetrazolium] (MTT 1,25 mmol/L) e 15 µL de pirogalol (100 µmol/L). A placa foi agitada por 5 minutos, e em seguida, 150 µL de sulfóxido de dimetilo (DMSO) foram acrescentados. A leitura foi realizada em um espectrofotômetro de placa (ELx800, BIOTEK Instruments®) a 570 nm. A atividade da SOD foi expressa como unidade de SOD por micrograma de proteína (Madesh e Balasubramanian, 1998).

4.6.5 Atividade da Catalase

Os corações foram homogeneizados em PBS e centrifugados (Heal Force, Neofuge 15R) a 14.000 x g por 30 minutos a 4°C. Após, em cubeta de quartzo, pipeta-se 30 µL do sobrenadante e 950 µL de tampão fosfato de potássio (50 mmol/L, pH 7,0). A reação é iniciada com a adição de 20 µL de H₂O₂ (0,3 mol/L). As medidas devem ser realizadas em espectrofotômetro (Hitachi, Japão), em intervalos de 15 segundos, a 25°C, no comprimento de

onda de 240 nm. A atividade da enzima será expressa pela diferença da variação das absorbâncias (ΔE) /minuto/micrograma de proteína (Nelson e Kiesow, 1972).

4.6.6 Atividade da Glutathione Peroxidase

Os corações homogeneizados em tampão fosfato de sódio (50 mmol/L, pH 7,4), acrescido de cloreto de potássio (KCl, 140 mmol/L), serão centrifugados a 14.000 x g por 30 minutos a 4°C (Heal Force, Neofuge 15R). Em microplaca de 96 poços pipeta-se: 8,4 μ L do sobrenadante, 580 μ L de tampão fosfato de sódio (100 mmol/L, pH 7,0), 10 μ L de NADPH (8,4 μ mol/L), 10 μ L de GR (10 U/mg de proteína/mL), 10 μ L de azida sódica (NaN_3 , 1,125 mol/L), 10 μ L de GSH (0,15 mmol/L) e 250 μ L de H_2O_2 (2,2 mmol/L). O monitoramento é realizado a 340 nm, 25°C, por 8 minutos em espectrofotômetro de placa (ELx800, BIOTEK Instruments®). A atividade da GPx se dará pela avaliação da oxidação do NADPH, e os resultados serão expressos em nanomol/NADPH/minuto/micrograma de proteína (Paglia e Valentine, 1967).

4.6.7 Determinação da Concentração Total de Proteína

Os corações foram homogeneizados em PBS e centrifugados (Heal Force, Neofuge 15R) a 14.000 x g por 30 minutos a 4°C. Após a retirada do sobrenadante adicionou-se hidróxido de sódio (NaOH, 0,5 mol/L), e após 15 minutos acrescentou-se carbonato de sódio (Na_2CO_3 , 2%), sulfato de cobre (CuSO_4 , 1%) e tartarato de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 2%) (100:1:1). Em seguida, foi adicionado 20 μ L do reagente de Folin, e após 30 minutos realizou-se a leitura a 630 nm em espectrofotômetro de placa (ELx800, BIOTEK Instruments®). Para comparação foi feito uma curva padrão de albumina bovina (Lowry et al., 1951).

4.7 Avaliação das citocinas pró-inflamatórias

As amostras, previamente normalizadas para proteínas totais, foram imediatamente utilizadas para a quantificação das citocinas TNF- α , IL1- β e IL-6 (Invitrogen™), empregando kits de ensaio imunoenzimático sanduíche (ELISA), seguindo as diretrizes do fabricante.

Durante o procedimento, 50 μ L foram adicionados a uma placa de 96 poços de alta ligação, na qual o anticorpo de captura já estava fixado, e a placa foi bloqueada para evitar ligações inespecíficas. Posteriormente, as amostras foram incubadas por um período de 3 a 24

horas, seguido por lavagens e a adição do anticorpo de detecção ao meio. Na sequência, o conjugado foi introduzido na placa, e, por fim, o substrato foi acrescentado para revelação da cor. As absorbâncias foram mensuradas em um espectrofotômetro de acordo com o comprimento de onda específico para cada citocina. Os resultados foram então calculados com base na curva padrão e expressos em pg/mg de proteína.

4.8 Avaliação dos marcadores de apoptose

Amostras de coração foram homogeneizadas em tampão Tris-HCl (150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% Triton X-100, 1% desoxicolato de sódio, 1% SDS, 1 mM fluoreto de fenilmetilsulfonil) adicionado com inibidor de proteassoma (MG132), inibidor de coquetel de protease (1:1000 v/v; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e inibidores de fosfatase (10 mM Na₄P₂O₇, 100 mM NaF, 10 mM Na₃VO₄).

O homogeneizado foi centrifugado por 20 minutos (14.000 g, 4 °C), e o sobrenadante foi coletado e misturado com tampão Laemmli 2X (20% glicerol, 125 mM Tris, 4% SDS, 100 mM ditiotreitol) em proporção igual. Em seguida, as amostras foram fervidas a 70 °C por 5 minutos e 50 µg de proteína foram submetidos à eletroforese em gel SDS-PAGE e transferidos para uma membrana de nitrocelulose usando um sistema de transferência semi-seco por 30 minutos a 400 mA. A quantificação de proteínas foi realizada conforme descrito em outro lugar (Lowry et al., 1951).

Após o bloqueio com leite desnatado a 5%, as membranas foram incubadas com anticorpos primários específicos durante a noite a 4 °C e, em seguida, com anticorpos secundários conjugados com peroxidase à temperatura ambiente por 1 hora. O sinal da membrana foi detectado usando um revelador de quimioluminescência (iBright CL 1000, Invitrogen, EUA). A análise quantitativa das bandas foi realizada usando o software iBright Analysis, e o controle de carga proteica foi obtido pela quantificação da densitometria de β-actina.

Todos os anticorpos primários utilizados foram comprados da Santa Cruz Technology: Actina (c-2) (sc-8432; 1:1000), Caspase 3 (sc-7272; 1:500), Bax (sc-7480; 1:500), Bcl 2 (sc-7382 1:500).

4.9 Avaliação do Dano Histopatológico Cardíaco

Após retirar os corações, os mesmos foram lavados em KCl (3M), limpos e fixados em formalina (4%), desidratados em álcool – concentrações progressivas, seguido de xilol, e então realizada a inclusão dos tecidos em parafina, sendo cortados a 5 µm de espessura e posteriormente corados com hematoxilina-eosina.

Para análise morfológica, foram analisadas secções histológicas de 5 µm de espessura, coradas em HE. As secções de tecido cardíaco foram avaliadas quanto a organização arquitetural do tecido (distribuição, densidade e organização das fibras musculares), caracterização citoplasmática (intensidade/perda da eosinofilia, visualização das estriações transversais, intumescimento, vacuolização hidrópica e morfologia da célula) e nuclear (morfologia, densidade da cromatina e sinais de contração) dos cardiomiócitos, hiperemia dos capilares, presença de células inflamatórias, áreas hemorrágicas e edema intersticial (aumento dos espaços entre as fibras, com ou sem depósitos de material seroso e/ou fúbrinoide).

Foram examinados 50 cardiomiócitos distribuídos em cinco campos histológicos de 0,0625 mm², com aumento de 1000x, selecionados por amostragem aleatória sistemática, na qual, para cada campo escolhido, dois eram ignorados, utilizando um microscópio óptico Leica DM5000B. As imagens dos campos foram capturadas com uma câmera digital Leica DFC340FX acoplada ao microscópio, digitalizadas e salvas no formato .tiff para posterior análise. O diâmetro médio do citoplasma e dos núcleos dos cardiomiócitos foi mensurado por meio do software de análise de imagens *Image J* (versão 1.44 para Windows), previamente calibrado e com escala ajustada em micrômetros (µm). As medições foram realizadas pela ferramenta de "mão livre" de maneira cega. Para calcular a razão entre citoplasma e núcleo, as dimensões lineares foram inicialmente convertidas em áreas através da fórmula $A = \pi R^2$ (onde $R = \text{diâmetro}/2$). Em seguida, as áreas citoplasmáticas foram divididas pelas áreas nucleares, estabelecendo a proporção entre elas.

4.10 Avaliação da contagem de células sanguíneas

No oitavo dia, após a eutanásia os animais foram puncionados para a retirada no sangue para a devida análise. O sangue foi armazenado em tubos de coleta sanguínea contendo EDTA. No mesmo dia, uma amostra do sangue armazenado foi utilizada para a análise. Os testes foram realizados utilizando o Analisador Hematológico URIT-3000Vet Plus.

4.11 Análise Estatística

Os dados experimentais foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP). Os dados ordinais contínuos foram avaliados quanto à normalidade da distribuição segundo o teste de *Shapiro-Wilk* e quanto à homoscedasticidade pelo teste de Bartlett. Comprovada a normalidade e homogeneidade de variâncias, a diferença significativa entre os grupos foi determinada pela análise de variância (ANOVA) one-way, seguido de pós-teste Tukey, ou pelo teste *t-Student*. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. O tamanho do grupo está indicado na legenda como “n”. Os gráficos foram plotados utilizando o software *GraphPad Prism* 8 (San Diego, CA, EUA).

5. RESULTADOS

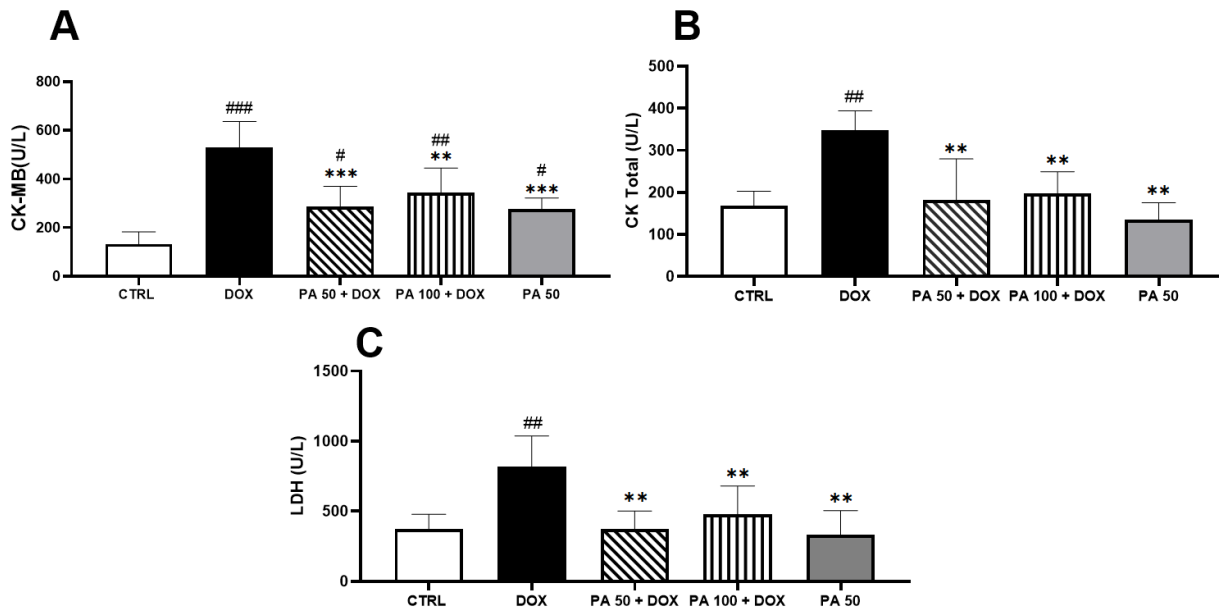
5.1 *Álcool perfílico* reduz os marcadores de cardiotoxicidade.

A atividade da creatina quinase total (CK), creatina quinase – MB (CK-MB) e a desidrogenase láctica (LDH) forma dosados para a avaliação dos biomarcadores séricos cardíacos. Ao analisar a esses biomarcadores no grupo que recebeu apenas a DOX, observou-se um aumento significativo na concentração de CK, CK-MB e LDH no plasma sanguíneo desses animais em comparação com os animais saudáveis do grupo CTRL (figura 5), sendo este aumento estatisticamente significativo.

Foi evidenciada na avaliação da CK, bem como na CK-MB, nos grupos que receberam 50 mg/kg e 100 mg/kg de PA juntamente com a DOX, uma redução significativa desse biomarcador. Esses resultados indicam uma efetiva atenuação do aumento da CK no plasma sanguíneo dos animais em resposta ao pré-tratamento com PA. Já na avaliação de LDH nos grupos pré-tratados com PA também apresentaram essa diferença significativa. Na avaliação da CK-MB os grupos PA 50 + DOX e PA 100 + DOX, apresentaram redução nos níveis desse biomarcador, quando comparado ao grupo DOX, porém a redução não levou a valores de normalidade, quando comparamos com o CTRL esses grupos se apresentam ainda elevados.

Os animais submetidos apenas ao PA, puro sem a cardiotoxicidade induzida pela DOX na dose de 50 mg/kg, não apresentaram elevação dos marcadores analisados quando comparados ao grupo CTRL. Marcadores esses que se encontravam reduzidos quando comparados ao grupo DOX.

Figura 5. Medida dos biomarcadores cardíacos plasmáticos Creatina quinase isoforma MB (CK-MB) (painel A), Creatina quinase (CK) (painel B), e Desidrogenase láctica (LDH) (painel C) em plasma de ratos com cardiotoxicidade induzida por doxorrubicina (DOX) e pré-tratados com AP durante 7 dias. Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 5). ANOVA *one-way* seguido do post hoc de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.

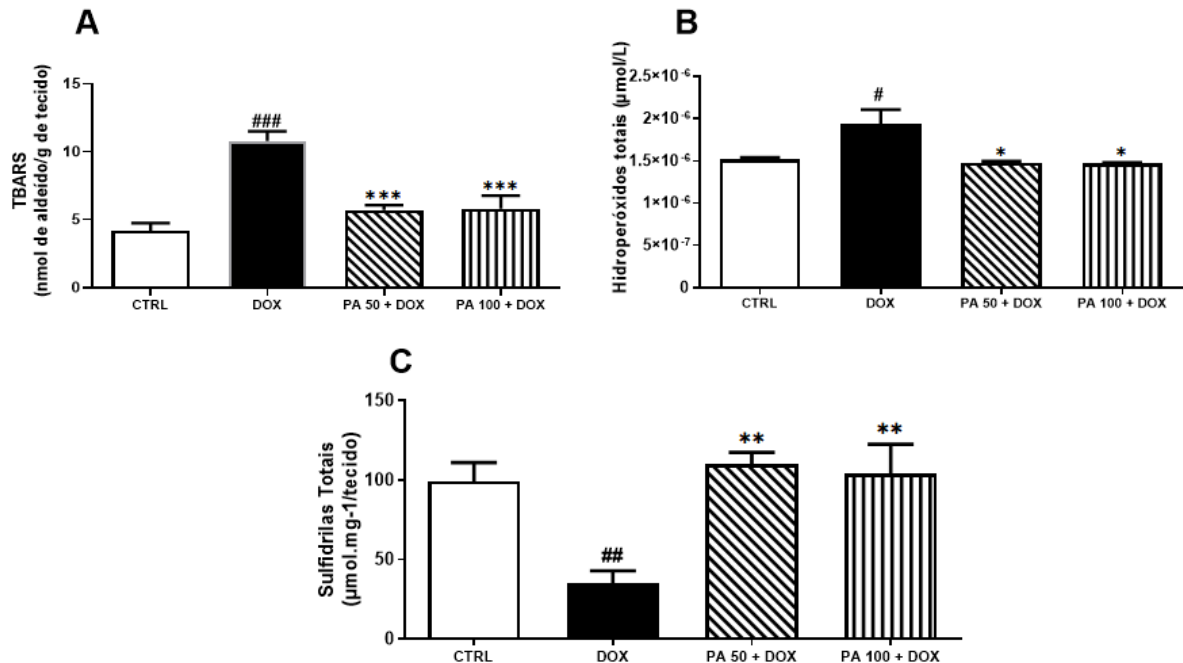


5.2 Álcool perílico inibe o dano aos lipídeos de membrana e a proteínas desencadeado pelo estresse oxidativo induzido pelo DOX.

Na Figura 6A, observa-se que os animais que receberam a DOX apresentaram uma maior quantidade de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), comparados ao grupo CTRL. Já os animais que receberam o pré-tratamento com o PA e a DOX apresentaram uma atenuação nesse aspecto, diminuindo significativamente a peroxidação lipídica. Esse fato também é observado na dosagem dos hidroperóxidos totais (Figura 6B). Os animais que receberam a DOX apresentaram um aumento dos hidroperóxidos, comparados aos animais CTRL, enquanto os que receberam o PA nas doses de 50 e 100 mg/kg apresentaram uma diminuição desse dano.

Observou-se que os animais que receberam apenas a DOX apresentaram redução dos grupamentos sulfidrilas em comparação com o grupo de controle (CTRL). Por outro lado, os animais que receberam pré-tratamento com o PA, tanto na dose de 50 mg/kg quanto na dose de 100 mg/kg, demonstraram uma redução desse dano quando comparados ao grupo que recebeu apenas a DOX.

Figura 6. Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (painel A), dosagem dos hidroperóxidos totais (painel B) e determinação dos grupamentos sulfidrila totais (C) em ratos pré-tratados com Álcool perílico (PA) durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 6 por grupo). ANOVA *one-way* seguido do post hoc de Tukey. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.



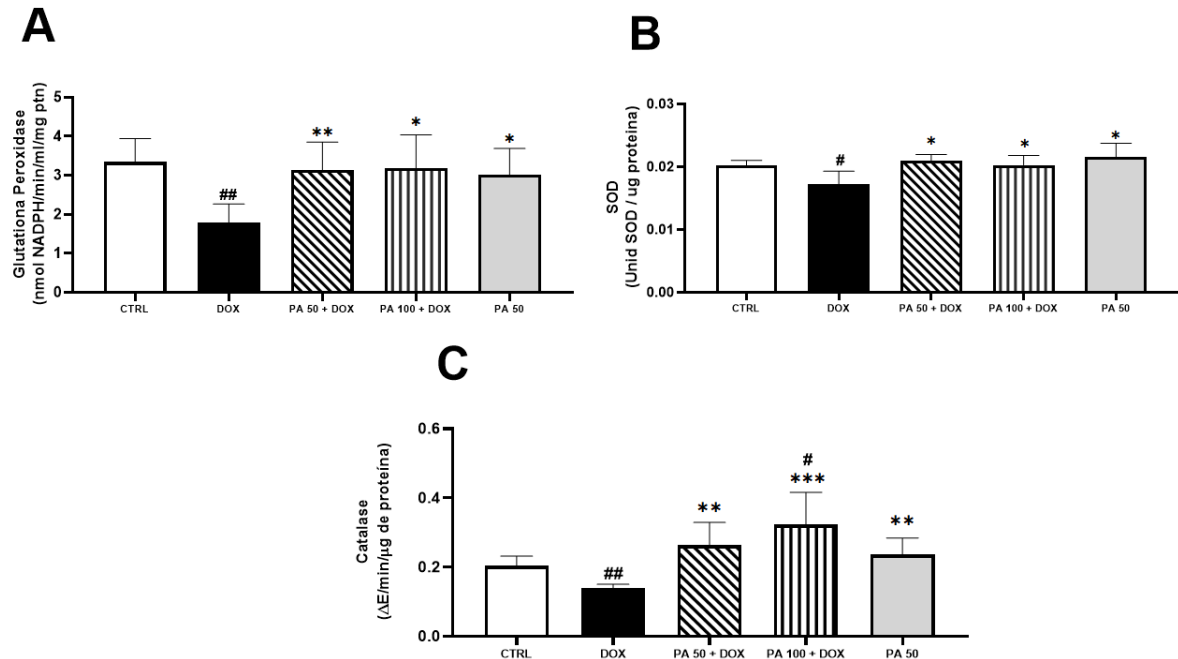
5.3 Álcool perílico restaura a atividade das enzimas antioxidantes Glutathione Peroxidase (GPx), Superóxido dismutase (SOD) e Catalase nos animais com cardiotoxicidade.

A atividade das enzimas antioxidantes, no tecido cardíaco, avaliadas incluíram a GPx (fig. 7A), SOD (fig. 7B) e a Catalase (fig. 7C).

Na Figura 7, pode-se observar que os animais que receberam a DOX apresentaram uma diminuição na atividade das enzimas antioxidantes quando comparados ao grupo CTRL. Além disso, os animais que receberam pré-tratamento com o PA na dose de 50 e 100 mg/kg demonstraram um aumento na atividade das enzimas antioxidantes avaliadas.

O grupo 50 mg/kg de PA, que recebeu apenas o monoterpeno, não apresentou diferença estatística quando comparado com o grupo CTRL. Contudo, demonstrou preservação da atividade enzimática quando comparado com o grupo DOX. Sendo que este apresentou redução drástica da atividade.

Figura 7. Determinação das atividades das enzimas antioxidantes cardíacas, Glutathione Peroxidase (GPx), Superoxido Desmutase (SOD) e Catalase, em coração de ratos pré-tratados com Álcool perílico (PA) durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 6 por grupo). No BOX A observa-se a análise da GPx. No painel B tem-se a atividade da SOD. E no painel C, verifica-se os resultados da Catalase. ANOVA *one-way* seguido do post hoc de *Tukey*. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.

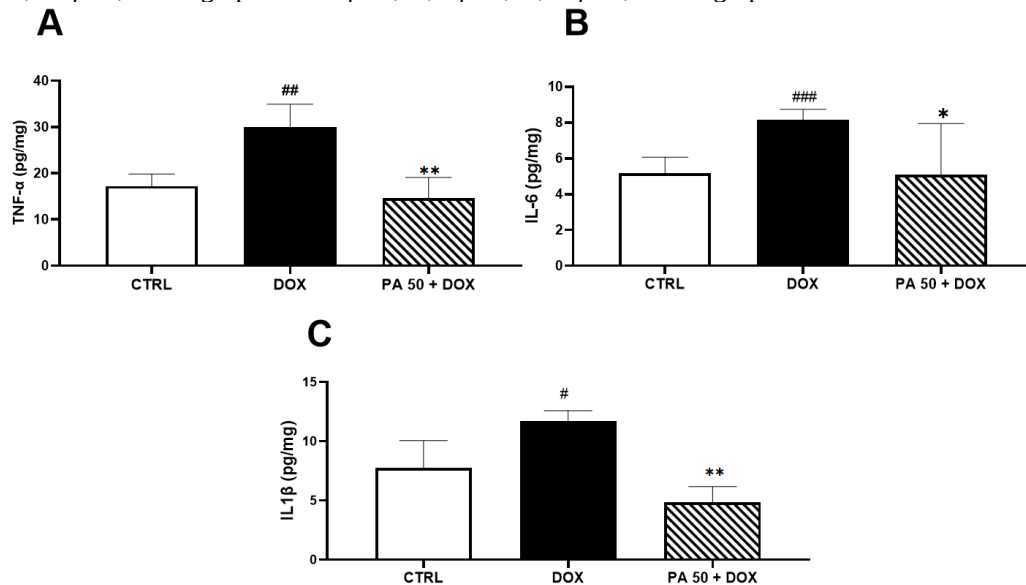


5.4 Álcool perílico inibe o processo inflamatório induzido por DOX.

Verificou-se um aumento das citocinas avaliadas após a administração de DOX quando comparado ao grupo CTRL (Figura 8). Ao analisar a dosagem de TNF- α , observou-se uma redução dessa citocina nos grupos pré-tratados com PA (Figura 8A).

Ao examinar a quantidade de IL-6 (figura 8B), constatou-se uma diminuição nessa citocina nos animais pré-tratados com PA na dose de 50 mg/kg. Na dosagem IL-1 β (figura 8C), verificou-se um aumento dessa citocina nos animais que receberam DOX. Entretanto, o pré-tratamento com PA na dose de 50 mg/kg foi capaz de reverter esse aumento.

Figura 8. Dosagem das citocinas pró-inflamatórias em coração de ratos pré-tratados com álcool perílico (PA) durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n=5 por grupo). ANOVA *one-way* seguido dos pós teste de Tukey. * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ vs grupo DOX # $p<0,05$; ## $p<0,01$; ### $p<0,001$ vs grupo CTRL.

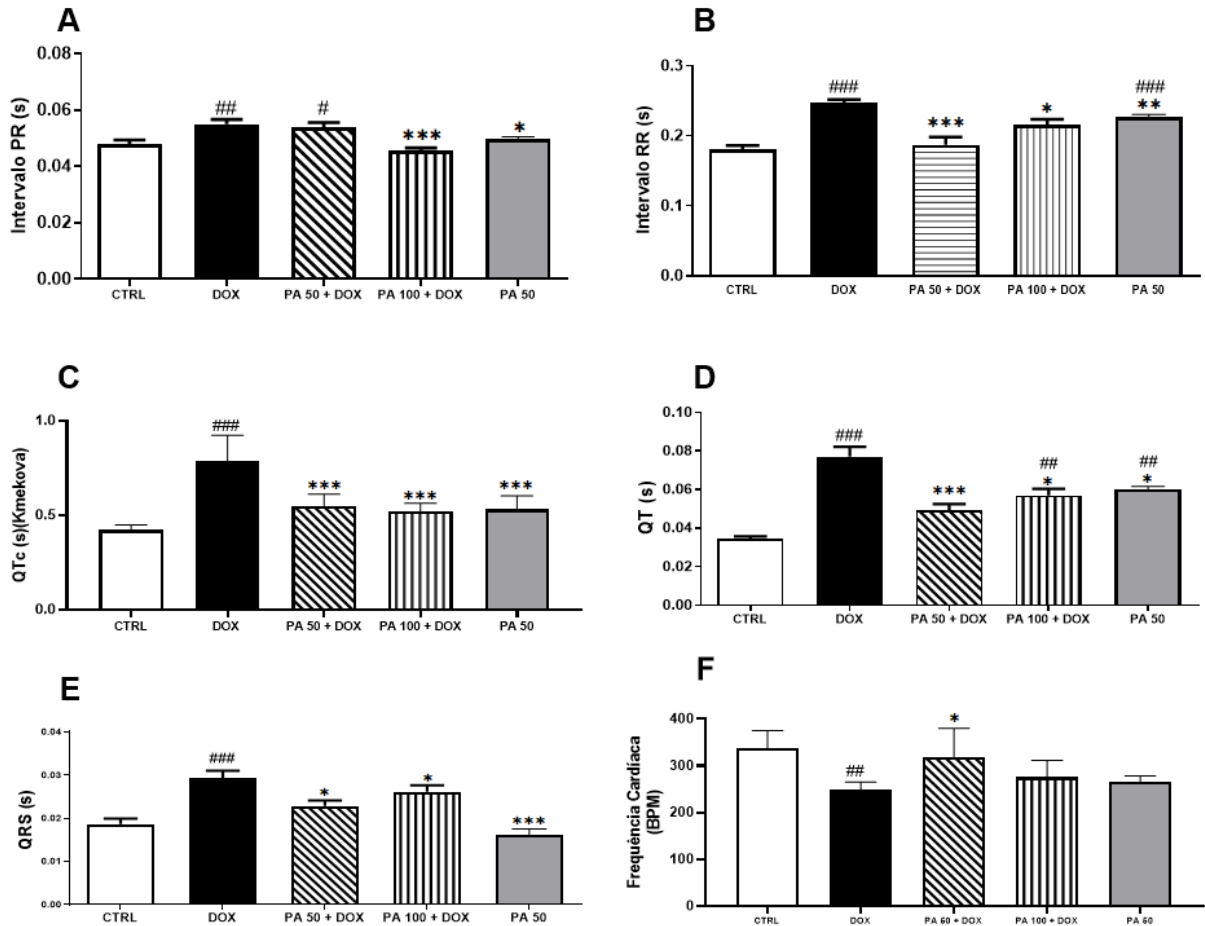


5.5 Álcool perílico previne os efeitos danosos da DOX sobre a atividade elétrica e contratilidade cardíaca induzida por DOX.

A análise dos parâmetros elétricos nos registros eletrocardiográficos *in vivo* (Figura 9) revelou alterações na duração dos intervalos PR (A), RR (B), QT (C), QTc (D) e QRS (E) nos animais que receberam apenas DOX em comparação com o grupo CTRL. No entanto, notou-se uma melhora significativa desses parâmetros nos animais que foram pré-tratados com o PA e, posteriormente, receberam a DOX.

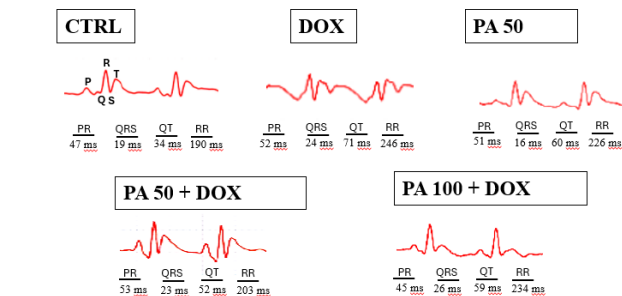
Especificamente, os animais tratados com a dose de 100 mg de PA, em relação ao intervalo PR, RR, QT e QTc, apresentaram melhorias. Na dose de 50 mg de PA em animais que foi induzida a cardiotoxicidade com DOX, a melhora foi observada nos seguintes parâmetros RR, QT e QTc. Os animais do grupo 50 mg de PA, que receberam PA, porém não foram submetidos a cardiotoxicidade da DOX, apresentaram diferença estatística apenas no QT e RR, quando comparado ao CTRL.

Figura 9. Parâmetros eletrocardiográficos avaliados em ratos pré-tratados com PA durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). PR (A), QRS (B), QT (C), Heart Rate (D), QTc (E) e RR (F). No painel G, têm-se a imagem representativa do eletrocardiograma dos ratos *Wistar* submetidos a cardiotoxicidade da DOX. 50 mm/s e 10 mm/mV (N). As imagens e análises foram realizadas utilizando o programa *InPulse - Animal Health*. Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 6). ANOVA *one-way* seguido do post hoc de *Tukey*. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.



Na figura 10 observamos figuras representativas dos eletrocardiogramas realizados nos animais.

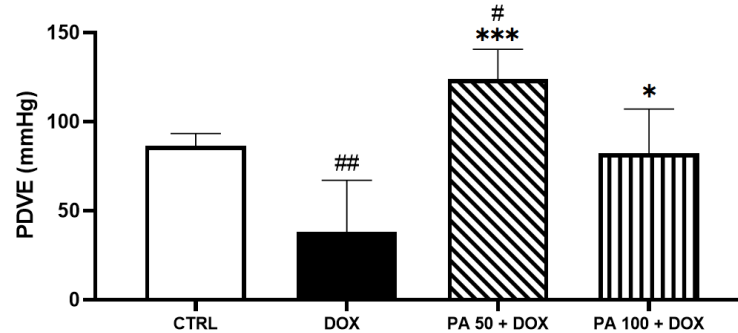
Figura 10. Imagens representativas do eletrocardiograma de um rato dos grupos controle (CTRL), doxorubicina (DOX), e PA 50 mg + DOX, PA 100 mg + DOX e PA 50 mg. Escala: 50 mm/s e 20 mm/mV (N). As imagens e análises foram realizadas utilizando o programa *InPulse*.



InPulse - Animal Health - 50 mm/s; 10 mm/mV

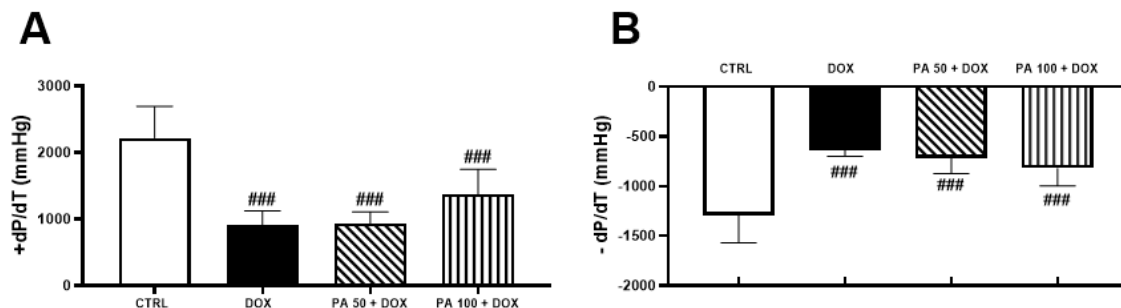
Na avaliação dos parâmetros contrateis, a DOX foi capaz de promover uma redução na força contrátil dos corações em comparação com os animais do grupo CTRL. Este efeito foi atenuado pelo PA nas doses de 50 e 100 mg/kg, conforme ilustrado na Figura 11.

Figura 11. Pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE) de ratos pré-tratados com Álcool perílico (PA) durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 6). ANOVA *one-way* seguido do post hoc de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ vs grupo CTRL.



Como pode-se observar na Figura 12, a taxa de variação da pressão intraventricular ao longo do tempo (dP/dt) foi significativamente reduzida nos animais do grupo DOX. Contudo, esta alteração não foi prevenida pelo pré-tratamento com o PA.

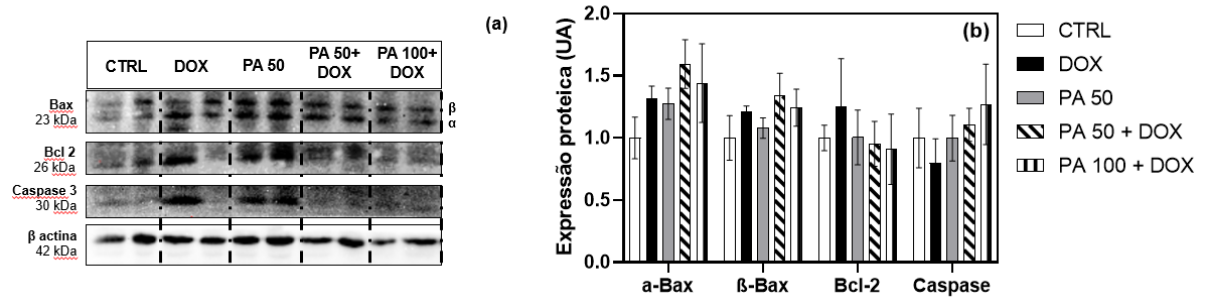
Figura 12. A taxa de variação da pressão pelo tempo (dP/dt) em ratos pré-tratados com Álcool perílico (PA) durante 7 dias e com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n= 6 por grupo). ANOVA *one-way* seguido do pós teste de Tukey. ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.



5.6 Efeito do PA na expressão de marcadores de apoptose em coração de ratos com cardiotoxicidade induzida por DOX.

Na avaliação de marcadores do ciclo celular foram dosados a Bax, Bcl 2 e Caspase-3. Nessa avaliação da expressão proteica dos marcadores avaliados não foi observado diferença estatística entre os grupos (figura 13).

Figura 13. Efeito do PA na expressão de marcadores do ciclo celular em coração de ratos com cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX) (b). As imagens representativas do *western blotting* estão exibidas em (a). Beta actina foi usada como controle de carga de proteínas. Os resultados estão expressos como média $\pm$ DP (n=4/grupo).

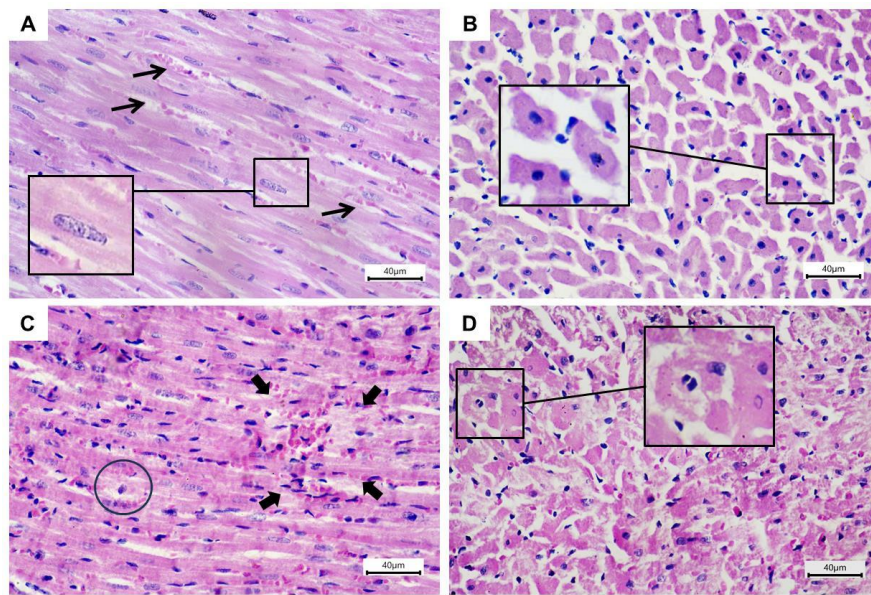


5.7 Avaliação Morfológica e Morfométrica do Tecido Cardíaco em corações de ratos com cardiotoxicidade induzida por DOX.

No grupo CTRL (figura 14), o tecido cardíaco exibiu características morfológicas compatíveis com a normalidade; as fibras musculares exibiram espessura entre 10 e 15 μ m, apresentando estriações transversais representativas da alternância de bandas claras (isotrópicas) e escuras (anisotrópicas) dos sarcômeros. Os núcleos eram alongados e apresentavam extremidades rombas (forma de “charuto”), com cromatina finamente dispersa, e situavam-se geralmente no centro das fibras. Eventualmente era possível observar acúmulo intracitoplasmático de material granular delicado e pigmentado (castanho a castanho-escuro), interpretado como lipofusina. O componente muscular se mostrava sustentado por tecido conjuntivo fibroso delicado, apresentando vasos sanguíneos de pequeno calibre, por vezes contendo hemácias no interior.

O grupo DOX (figura 14) exibiu a maior intensidade de alterações degenerativas e inflamatórias. Foi observada desorganização da arquitetura e disposição das fibras musculares do tecido cardíaco, caracterizada por áreas de pronunciado aumento dos espaços entre as fibras musculares, sugerindo acúmulo hídrico (edema intersticial), intensa hiperemia capilar, com focos de extravasamento de hemácias, e presença de infiltrado inflamatório (constituído de especialmente de linfócitos e polimorfonucleares neutrófilos). Os cardiomiócitos exibiam ainda perda de eosinofilia e focos de vacuolização intracitoplasmática, muitas vezes com disposição perinuclear, interpretada como degeneração hidrópica. Não raro, os cardiomiócitos também exibiam alterações degenerativas expressas por intumescimento citoplasmático, perda das estriações transversais e pronunciada picnose nuclear.

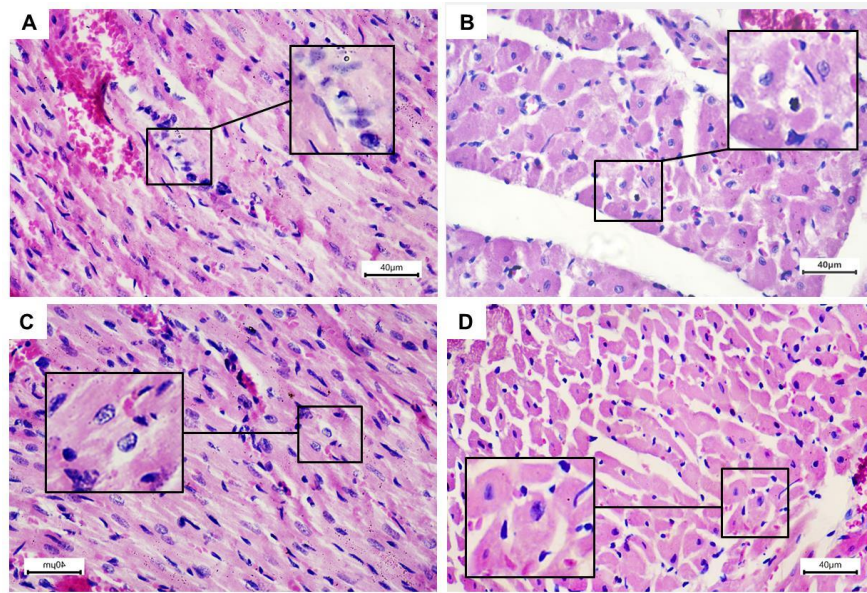
Figura 14. Fotomicrografias de secções histológicas coradas em HE (400 x) representativas dos principais achados morfológicos observados. (A) Grupo CTRL apresenta fibras musculares em secção longitudinal, destacando cardiomiócitos com núcleos alongados de cromatina dispersa e citoplasma eosinofílico exibindo estriações transversais. No detalhe ampliado, núcleos claros em forma de “charuto” e citoplasma eosinófilo com estrias transversais típicas. (B) Fibras musculares no grupo CTRL em secção transversal. No detalhe ampliado notam-se cardiomiócitos com morfologia poligonal clássica, citoplasma eosinofílico e núcleos redondos centrais. (C) Secção longitudinal das fibras musculares no Grupo DOX destacando perda de eosinofilia citoplasmática, edema intracelular (círculo), além de áreas hemorrágicas (setas) e infiltrado inflamatório edema intersticial. (D) Secção transversal das fibras musculares no Grupo DOX mostrando desorganização da estrutura morfológica do tecido, cardiomiócitos exibindo intenso edema intracelular e perda de definição de limites citoplasmáticos. No detalhe ampliado, destaca-se cardiomiócitos intumescidos, com vacuolização hidrópica pronunciada circundando núcleos picnóticos.



O grupo PA 50 + DOX (figura 15) exibiu características histológicas relativamente semelhantes às aquelas identificadas no grupo DOX. Evidenciaram-se áreas onde os cardiomiócitos exibiam sinais morfológicos de balonização citoplasmática, muitas vezes acompanhada de perda da visualização das estrias transversais, e vacuolização perinuclear. O tecido de sustentação exibe edema intersticial moderado, infiltração inflamatória de leve a moderada intensidade, hiperemia capilar e focos de extravasamento de hemácias.

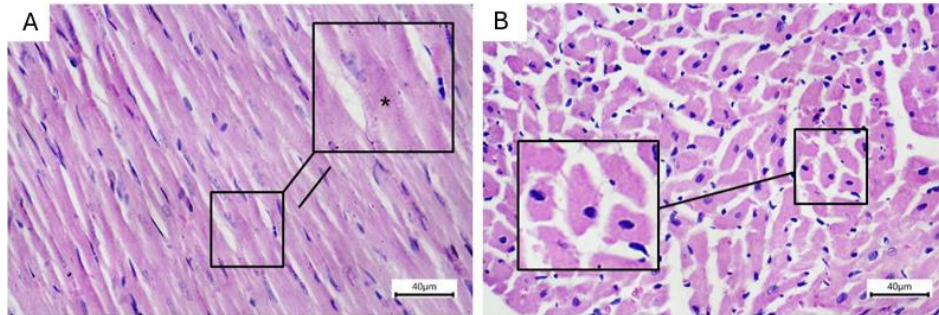
No grupo PA 100 + DOX (figura 15), a maior parte do tecido cardíaco exibia características morfológicas usuais, indistinguíveis do grupo CTRL, mas ainda foram evidenciadas áreas focais de perda das estriações transversais e vacuolização perinuclear. A infiltração inflamatória se mostrou de leve intensidade, assim como a hiperemia capilar, especialmente quando comparada aos grupos DOX e DOX50. Os focos de extravasamento de hemácias se mostraram escassos e focais.

Figura 15. Fotomicrografias representativas de secções histológicas coradas em HE (400 x) dos principais achados morfológicos observados no grupo PA 50 + DOX e PA 100 + DOX. (A) Secção longitudinal das fibras musculares no grupo PA 50 + DOX mostrando desorganização morfoarquitetural do tecido cardíaco, edema intersticial, infiltração inflamatória e áreas de hiperemia e hemorragia. O detalhe ampliado destaca vasos capilares exibindo marginação de polimorfonucleares neutrófilos. (B) Área de secção transversal mostrando cardiomiócitos intumescidos, com citoplasma pálido e formação de vacúolos claros (hidrópicos) extensos ao redor de núcleos picnóticos. Na ampliação, destacam-se cardiomiócitos exibindo picnose e vacuolização perinuclear. (C) Secção longitudinal das fibras musculares no grupo PA 100 + DOX mostrando área focal de edema intracelular de cardiomiócitos e hiperemia capilar. No detalhe, cardiomiócitos exibindo vacuolização perinuclear hidrópica. (D) Área de secção transversal das fibras musculares mostrando palidez (perda de eosinofilia) citoplasmática, e formação de discreto halo perinuclear. Notar, no detalhe, a perda de eosinofilia, intumescimento celular discreta e vacuolização perinuclear do citoplasma dos cardiomiócitos.



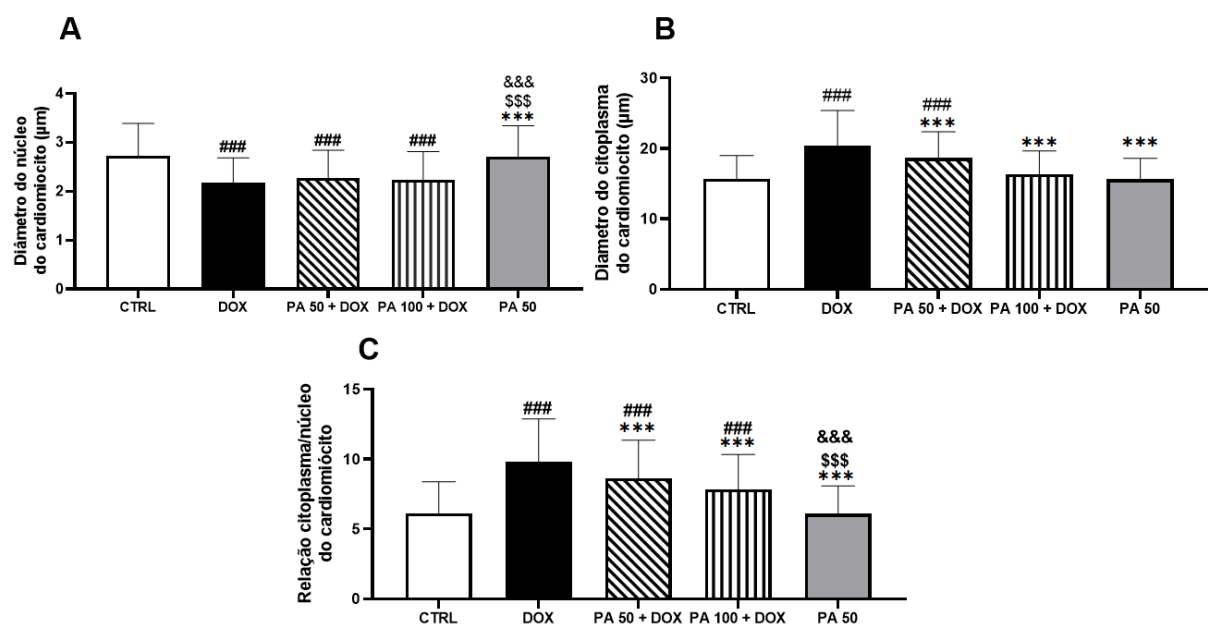
No grupo que recebeu apenas o PA 50 (figura 16), os aspectos morfológicos foram indistinguíveis daqueles evidenciados no grupo CTRL, e compatíveis com normalidade. Apesar de alguns cardiomiócitos exibirem focos de vacuolização perinuclear compatíveis com degeneração hidrópica, especialmente em áreas de secção transversal da musculatura, esses achados foram bastante focais, e não foram acompanhados de balonização (intumescimento) celular ou perda de estriações transversais.

Figura 16. Fotomicrografias de secções histológicas coradas em HE (400 x) representativas dos principais achados morfológicos observados no grupo PA mg puro. (A) Secções longitudinais das fibras musculares cardíacas do grupo PA 50 exibindo características morfológicas de normalidade, destacando, no detalhe ampliado, as estriações transversais bem aparentes (*). (B) Secções transversais também exibindo características de normalidade. Destaque ampliado para a morfologia poligonal típica e citoplasma eosinofílico dos cardiomiócitos.



Na análise morfométrica (figura 17) observa-se alteração no diâmetro do núcleo e do citoplasma no grupo DOX, comparado ao grupo CTRL. O PA apresentou redução do diâmetro do citoplasma e da relação entre o diâmetro do núcleo e do citoplasma, comparados ao grupo CTRL. Porém não apresentou diferença significativa no diâmetro do núcleo. O grupo PA 50 apresenta características morfométricas semelhantes ao grupo CTRL, não apresentando diferença.

Figura 17. Análise histomorfométrica do diâmetro do núcleo (A), do citoplasma (B) e a relação citoplasma/núcleo (C) em cardiomiócitos seccionados transversalmente de animais pre-tratados com PA e submetidos a cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP. ANOVA *one-way* seguido do pós teste de Tukey. Comparados ao grupo DOX: *** $p < 0,001$. Comparados ao CTRL: ### $p < 0,001$. PA 50 + DOX vs PA 50 (\$\$\$ $p < 0,001$); PA 100 + DOX vs PA 50 (&&& $p < 0,001$).



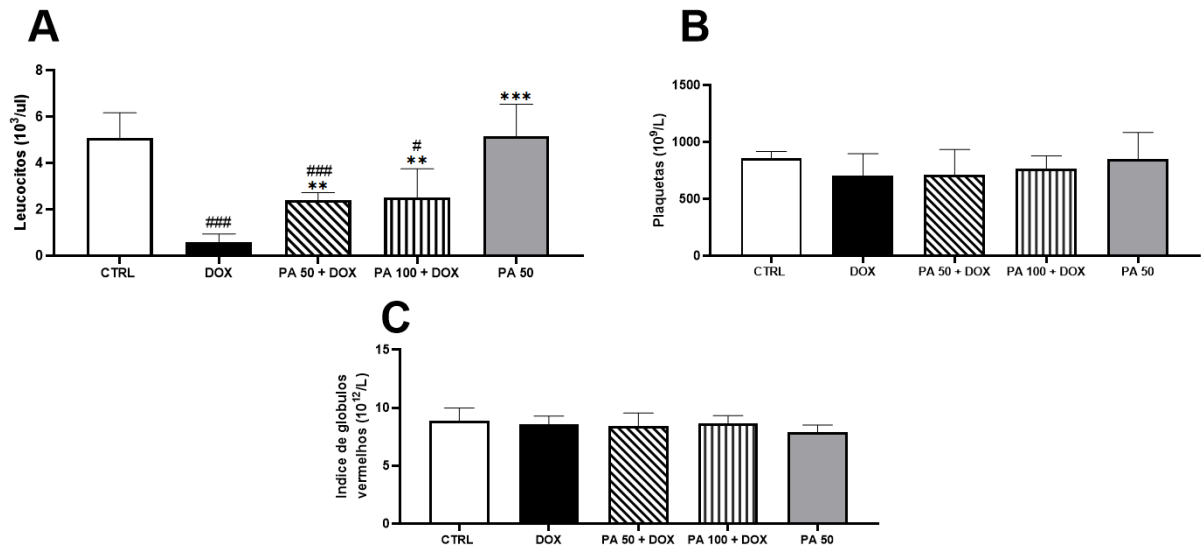
5.8 *Álcool perílico* melhora a leucopenia induzida pela DOX.

No hemograma, foram analisadas as séries branca e vermelha, e as plaquetas (Figura 18). Na Figura 18A, foi observada uma queda significativa na contagem de leucócitos do grupo tratado com doxorubicina (DOX) em comparação ao grupo controle (CTRL). No entanto, nos grupos que receberam PA nas doses de 50 e 100 mg/kg e foram submetidos à cardiotoxicidade induzida pela DOX, observou-se um aumento na contagem de leucócitos em relação ao grupo DOX, embora essa contagem ainda se mantivesse inferior à do grupo controle.

Também foi avaliado o efeito do PA na dose de 50 mg/kg sem indução de cardiotoxicidade pela DOX. Comparando este grupo com o controle, verificou-se a preservação da contagem de leucócitos.

Por fim, analisamos as séries vermelha e plaquetária (Figuras 18B e 18C), sem detectar alterações significativas nesses parâmetros.

Figura 18. Análise do hemograma no sangue de animais pré-tratados com AP 50 e 100 mg/kg durante 7 dias e cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (DOX). Em A apresenta-se a contagem de leucócitos, em B a de plaquetas e em C a de glóbulos vermelhos. Todos os parâmetros são expressos como média $\pm$ DP (n = 6). ANOVA one-way seguido do post hoc de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs grupo DOX # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$ vs grupo CTRL.



6. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o potencial efeito cardioprotetor do PA em ratos que receberam DOX, com foco especial na via antioxidante e anti-inflamatória. O efeito cardioprotetor do PA na cardiotoxicidade induzida por DOX foi refletido na melhora dos marcadores de lesão, nos parâmetros contráteis e eletrocardiográficos, além do aumento da atividade de enzimas antioxidantes, diminuição de marcadores de estresse oxidativo como MDA e hidroperóxidos, e lesão tecidual, além da diminuição das citocinas inflamatórias com consequente melhora da funcionalidade cardíaca.

O uso da DOX pode levar a alterações bioquímicas e fisiológicas no organismo, bem como no tecido cardíaco (Najafi et al., 2020). Estas podem ser evidenciadas pela quantificação de malondialdeído (MDA), de hidroperóxidos totais, além da medição da CK, CK-MB e LDH (Othman et al., 2008; Bilginoğlu et al., 2014; Liu et al., 2018; Najafi et al., 2020; Durço et al. 2023). Ao avaliarmos os marcadores de dano cardíaco CK, CK-MB e LDH, foi observado aumento no grupo DOX quando comparado ao CTRL. Este aumento é forte indicativo de dano miocárdico como comprometimento da permeabilidade e integridade de membrana e morte celular (Alyasari; Almzaiel, 2023; Khafaga; El-Sayed, 2018; Mizuta et al., 2020).

O uso do PA preveniu de forma significativa o aumento dos níveis de todos os biomarcadores, em ambas as doses testadas, demonstrando que o PA é capaz de mitigar os efeitos lesivos da DOX sobre os cardiomiócitos. Achados semelhantes também foram relatados em estudos com outros produtos naturais, como terpenos, destacando o papel dessas substâncias na proteção cardiovascular (Awad et al., 2021; Durço et al., 2023; Guo et al., 2020; Hanifah; Arozal; Juniantito, 2023).

O grupo PA 50 apresentou um leve aumento dos níveis de CK-MB, o que poderia indicar lesão cardíaca, além de variações nos parâmetros elétricos QT e RR. Porém os resultados morfológicos e morfométricos desses animais não apresentaram alterações significativas, de forma que foram indistinguíveis daqueles evidenciados no grupo CTRL, e compatíveis com normalidade. Deste modo, o PA não levou a dano no tecido cardíaco.

O estresse oxidativo com acumulação excessiva de ROS, originada principalmente nas mitocôndrias e no citoplasma, é o principal fator responsável pelos danos cardíacos induzidos pela DOX (Sheibani et al., 2022). Durante a exposição à DOX, oxidases endógenas estimulam a formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radicais superóxidos (O_2^-) e radicais hidroxila ($OH^\bullet$), moléculas altamente reativas que interagem com proteínas, lipídios, DNA e antioxidantes endógenos. Essas interações levam à oxidação de proteínas, peroxidação de

lipídios, danos ao DNA e esgotamento de antioxidantes celulares, resultando em danos oxidativos e complicações cardíacas (Shabalala et al., 2017; Xiao et al., 2019). Além disso, a DOX reduz a quantidade e a atividade das enzimas antioxidantes no tecido cardíaco (Karim et al., 2001; Dzięgiel et al., 2003; Najafi et al., 2020). No presente estudo, observou-se um aumento de MDA e hidroperóxidos totais, além da redução das sulfidrilas e da atividade das enzimas antioxidantes GPx, CAT e SOD, indicando um desbalanço no estado redox celular nos animais tratados com DOX.

Em contrapartida, o pré-tratamento com PA melhorou significativamente esses parâmetros, diminuindo a peroxidação lipídica e os danos às proteínas, além de aumentar a atividade das enzimas antioxidantes. Esses resultados sugerem que o PA exerce um efeito protetor contra o estresse oxidativo induzido pela DOX.

Compostos altamente reativos, como as espécies reativas de oxigênio (ROS), têm vida curta, medida em segundos. Por isso, a avaliação direta do estresse oxidativo in vivo não é viável. Em vez disso, é mais eficiente analisar biomoléculas alteradas por ROS, como lipídios, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos, que mantêm suas modificações por horas ou semanas. Essas moléculas são marcadores ideais para avaliar o estresse oxidativo (Pryor, 1986).

Nesse contexto, a lipoperoxidação das membranas dos cardiomiócitos é identificada como uma etapa crucial na cardiotoxicidade das antraciclinas (Schoen e Mitchell, 2010). Na análise dos danos aos lipídios, identificou-se que a DOX provocou um aumento na peroxidação lipídica, evidenciado pelo significativo aumento de MDA no tecido cardíaco, além de aumentar a quantidade de hidroperóxidos totais, indicando um aumento na lipoperoxidação. Essa constatação está em consonância com descobertas anteriores de outros pesquisadores (Han et al., 2001; Sahna et al., 2003; Liu et al., 2018; Najafi et al., 2020), os quais observaram, em seus estudos, um aumento na peroxidação lipídica com o uso de DOX.

O PA demonstrou a capacidade de atenuar esses efeitos nas doses de 50 mg/kg e 100 mg/kg, evidenciando um efeito protetor contra a lipoperoxidação. Diminuindo tanto a formação de MDA como a de Hidroperóxidos. Esse resultado ressalta o potencial terapêutico do PA como um agente mitigador dos danos associados à peroxidação lipídica induzida pela DOX.

Os grupamentos sulfidrilas, presentes em proteínas, desempenham um papel essencial como antioxidantes no organismo (Himmelfarb et al., 2000; Kolagal et al., 2009). A redução dos níveis de sulfidrilas indica estresse oxidativo acentuado (Faure e Lafond, 1995). A DOX é conhecida por diminuir esses grupamentos (Brito et al., 2021). Em nosso estudo, os animais tratados com DOX apresentaram uma redução significativa dos grupamentos sulfidrilas em

comparação ao grupo controle. No entanto, o pré-tratamento com PA bloqueou essa redução, sugerindo que o PA pode modular a resposta do coração a agentes estressantes. Estudos semelhantes também mostram que compostos naturais, têm potencial para modular essa resposta (Brito et al., 2021).

Neste estudo pode-se observar um desbalanço do estado redox provocado pela DOX com diminuição das defesas antioxidantes. O pré-tratamento com o PA nas doses de 50 mg/kg e 100 mg/kg, diminuiu esse desbalanço provocado pela DOX, aumentando a atividade das enzimas CAT, GPx e SOD. Essas enzimas desempenham um papel crucial na proteção das macromoléculas celulares contra danos oxidativos. A CAT pertence a um grupo de oxirredutases especializadas em catalisar a decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2 é um agente oxidante celular presente no metabolismo natural das células (Mattos, 2003; Matos, 2011) e pode ser encontrado em situações que alteram o estado redox, resultando em um aumento do estresse oxidativo (Coyle, Christian H.; Kader, Khalid N., 2007).

Os antioxidantes naturais têm sido adotados como uma estratégia quimioprotetora para reverter a cardiotoxicidade (Granados-Principal et al., 2010; Bin Jordan et al., 2020). Considera-se que os antioxidantes representam uma terapia promissora para restabelecer a fisiologia normal em condições pró-oxidativas, dado os inúmeros riscos à saúde associados a quantidades desequilibradas de ROS (Gomes et al., 2017). Substâncias antioxidantes atuam na prevenção de danos oxidativos, reagindo com os radicais livres liberados durante a alteração do estado redox (Hassan et al., 2019). Dessa forma, os antioxidantes podem ser considerados como uma terapêutica potencial para restabelecer o estado redox celular comprometido por condições pró-oxidativas (Gomes et al., 2017; Hassan et al., 2019; Anis et al., 2020; Puppala et al., 2022). Na literatura é relatado que a molécula de PA possui propriedades antioxidantes relevantes (Hassan et al., 2019; Pappala et al. 2022a; Bejeshk et al. 2023), e o presente estudo evidencia que essa propriedade pode também contribuir para a melhoria dos danos oxidativos provocados pela DOX.

Essa propriedade antioxidante apresentada pelo AP foi identificada por outros estudos, em diferentes modelos experimentais. Hassan et al. (2019) observaram que os ratos após tratamento com o PA, nas doses de 50 e 100 mg/kg, melhoraram significativamente a expressão tanto das enzimas antioxidantes como do conteúdo de antioxidantes não enzimáticos avaliados em modelo de diabetes. Puppala et al. (2022) demonstraram que com o uso do PA, nas doses de 100 e 200 mg/kg, foi possível observar propriedade antioxidante, reduzindo de forma significativa os níveis de MDA, nitrito (NO) e aumentando as defesas antioxidantes através da

melhora na atividade de GSH e SOD em modelo de artrite reumatoide. Bejeshk et al. (2023) demonstraram que o tratamento com PA apresentou efeito benéfico no modelo de asma, melhorou os aspectos histopatológicos, inflamatórios e reduziu os efeitos oxidantes. Em um modelo de colite ulcerativa (UC), Puppala et al. (2022b), destacaram a capacidade do PA, nas doses de 100 e 200mg/kg, em melhorar o quadro instalado por meio de suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, elevando a expressão da enzima antioxidante GSH e diminuindo a quantidade de MDA e NO. Yalamarathi et al. (2022), também investigando a psoríase, confirmaram que o PA melhora a expressão de GSH e reduz a quantidade de MDA e NO, além de fortalecer as defesas antioxidantes como SOD e Nrf2. Resultados esses que somam para que o PA possa ser uma ferramenta terapêutica importante de tratamento para doenças inflamatórias crônicas associadas ao estresse oxidativo. Sultana, S.; Nafees, S.; Khan, A. Q. (2013) examinaram o potencial efeito quimiopreventivo do PA contra a hepatotoxicidade, observando melhorias na atividade de enzimas antioxidantes, como a CAT, e redução na peroxidação lipídica com diminuição de MDA, corroborando os resultados encontrados nesse estudo e fortalecendo a hipótese de modulação de fatores oxidantes.

Uma das hipóteses para mecanismos propostos da ação antioxidante é o aumento de Nrf2, pela supressão da sua proteína reguladora Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1). Em geral, o Nrf2 é um mecanismo antiestresse, utilizado como marcador de estresse oxidativo (Bellezza et al., 2018) e se liga a elementos antioxidantes, e leva a aumento de enzimas que inibem a formação de ROS, radicais livres e também a inflamação. Ratos tratados com PA mostraram regulação positiva significativa de Nrf2 e supressão de Keap1 (Pappula et al., 2022a). O Nrf2 atua como um fator de transcrição para diversas moléculas envolvidas em atividades antioxidantes, como heme oxigenase-1 (HO-1) dentre outras (Kleszczynski et al., 2016). Além disso, Nrf2 também pode modular a piroptose inibindo a inflamassoma NLRP3 (Yang et al., 2022). Bem como, ao inibir vias de sinalização inflamatória como o NF- κ B, o Nrf2 também pode reduzir a expressão de fatores inflamatórios, como TNF- α e IL-1 β , exercendo assim um efeito anti-inflamatório (Zhao et al., 2023). Como perspectiva deste estudo, investigaremos a participação do Nrf2 nos resultados demonstrados até o momento.

O processo inflamatório induzido pela DOX já é conhecido e ocorre em resposta a estímulos prejudiciais, como o estresse oxidativo. A injeção intraperitoneal de DOX provoca uma resposta inflamatória aguda acompanhada pelo influxo de neutrófilos (Krysko et al., 2011), o que leva ao aumento de TNF- α (Kaczmarek et al., 2013), IL-6 (Krysko et al., 2011), IL-1 β e pelo aumento da ativação do NF- κ B (Hekmat et al., 2021; Panguada, 2022). Na análise desses

parâmetros do processo inflamatório, foi observado um aumento nas citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-6 e IL-1 β no grupo tratado com DOX em comparação com o grupo CTRL.

É fundamental manter um equilíbrio na taxa de resposta inflamatória para minimizar os danos causados por esses estímulos. O grupo de animais PA 50 + DOX apresentou redução na produção das citocinas avaliadas. Em estudo anterior, ratos com lesões causadas pela isquemia e reperfusão encefálica e pré-tratados com PA mostraram que essa substância natural apresentou efeito antioxidante, com redução da peroxidação lipídica e melhoria do sistema antioxidante endógeno. Além disso, o PA atenuou o processo inflamatório, inibindo as expressões de citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α , bem como a diminuição do fator de transcrição NF- κ B (Tabassum et al., 2015).

Diversos estímulos, como espécies reativas de oxigênio, estão envolvidos na ativação do NF- κ B, levando à fosforilação do inibidor do NF- κ B (I κ B), ubiquitinação e translocação para o núcleo (Vaibhav et al., 2013). Isso induz a expressão de genes inflamatórios, que consequentemente intensificam lesões associadas à alteração do estado redox. Desse modo, a redução da ativação do NF- κ B é um ponto crucial que modula negativamente parâmetros inflamatórios (Tabassum et al., 2015), influenciando positivamente o estado redox e atenuando as lesões associadas a cardiotoxicidade.

A IL-6, comumente produzida por células endoteliais e musculares lisas vasculares, desempenha funções fundamentais em diversas condições de saúde, com destaque para seu papel em doenças cardiovasculares. Seu aumento na expressão miocárdica está associado ao avanço da insuficiência cardíaca. Concentrações elevadas de IL-6, em particular, demonstraram correlação com a severidade da disfunção do ventrículo esquerdo, redução da fração de ejeção e um prognóstico desfavorável. Portanto, a IL-6 emerge como um indicador promissor para avaliar a deterioração cardiovascular (Kanda; Takahashi, 2004).

Ao analisar a presença dessa interleucina nos tecidos cardíacos de ratos com cardiotoxicidade induzida por DOX, observou-se um aumento significativo. No entanto, é notável que o grupo PA 50 + DOX apresentou uma redução nos níveis dessa interleucina. Esses resultados sugerem que a intervenção com PA pode exercer um efeito cardioprotetor, potencialmente atenuando os impactos negativos associados à cascata inflamatória induzida por DOX, devido à diminuição de interleucinas, como a IL-6 (Beik et al., 2021; Yalamarathi et al. 2022; Awad, H. et al., 2021).

Em estados fisiopatológicos, há expressão alterada de diversas citocinas, com destaque para o TNF- α (Mukherjee et al., 2003; Tabassum et al., 2015; Sandoval et al., 2018). Esse fator

também está presente em doenças cardiovasculares e é considerado um dos mediadores de dano (Torre-amione et al., 1996; Neumann et al., 1995), uma vez que os miócitos e macrófagos cardíacos são uma de suas fontes (Kapadia et al. 1995; Zhang, H. et al., 2020). O aumento de TNF- α , por sua vez, impulsiona a indução de várias outras substâncias citotóxicas nas células endoteliais e miócitos. Esse fenômeno assume uma importância patológica significativa, contribuindo para o desenvolvimento de condições como cardiomiopatia, apoptose de miócitos, miocardite transmural e fibrose ventricular, assim como para a deterioração funcional global do coração (Kubota et al., 1997; Boxkurt et al., 1998 Meldrum, et al. 1998).

A principal via do TNF- α aumentado devido a toxicidade induzida pela DOX é a ativação do receptor TNFR1 (Mukherjee et al., 2003; Gillian et al., 2011; Kaczmarek et al., 2013). É sabido que a estimulação do TNF- α resulta no aumento da produção intracelular de ROS (Tsutamoto et al., 2001; Sandoval et al., 2018). Esse estresse oxidativo, por sua vez, pode desencadear ou intensificar o processo inflamatório ao promover a regulação positiva de vários genes relacionados à resposta inflamatória. Destaca-se entre esses genes o NF- κ B, cuja ativação leva à regulação positiva de citocinas pró-inflamatórias (Pahl, 1999). Vale ressaltar que a ativação do NF- κ B pelo estresse oxidativo pode ser regulada por antioxidantes (Khan; Nafees; Sultana, 2011). No presente estudo, o pré-tratamento com o PA reduziu a produção de TNF- α , quando comparamos com o grupo DOX, além de melhorar o estresse oxidativo. Nossos resultados foram corroborados por outros estudos que evidenciaram a capacidade do PA em modular a liberação de TNF- α . Nesses, foi observado a capacidade de modulação do NF- κ B também, diminuindo assim o processo inflamatório (Chaudhary et al., 2009; Khan; Nafees; Sultana, 2011; Rajabi et al., 2020; Beik et al., 2021; Yalamarathi et al., 2022).

Em modelo de asma, foi observado que PA na dose de 50 mg/kg, é capaz de exercer efeito anti-inflamatório importante através da diminuição das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-6, aumento da citocina antioxidante IL-10, bem como reduziu a ativação do NF- κ B (Bejeshk et al., 2023). Os efeitos anti-inflamatórios do PA têm sido observados em algumas doenças inflamatórias, como em modelo de artrite reumatoide, através da redução da expressão de NF- κ B (Puppala et al., 2022a). Parece que os efeitos modulatórios do PA sobre a expressão de NF- κ B causam os efeitos inibitórios sobre as citocinas (Bejeshk et al., 2023). Esse efeito sugere que uma das possíveis vias associadas a cardioproteção do PA é a modulação do NF- κ B. Como perspectiva desse estudo, avaliaremos a participação do NF- κ B nos resultados obtidos com o PA.

Atualmente, o PA tem como alvos celulares a inibição da enzima farnesiltransferase, a modulação de NF- κ B e de Nrf2, responsáveis pelas suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Diversos relatos indicam que as propriedades anti-inflamatórias e antitumorais do PA se devem à inibição das vias JAK2/STAT3 e TLR4/NF- κ B (Chaudhary et al., 2009; Yalamarathi et al., 2022). Em outros estudos, o PA reduziu significativamente a expressão proteica de NF- κ B, STAT3 e TLR-4 (Receptor Tipo Toll 4), juntamente com a diminuição da expressão de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e JAK2 (Janus quinase 2) (Puppala et al., 2022b). Transdutores de sinal e ativadores da transcrição 3 (STAT3) são alvos de sinalização para várias citocinas, incluindo a IL-6 (Wolk et al., 2009). O STAT3 desempenha um papel na regulação da expressão de genes envolvidos em processos como sobrevivência, proliferação, angiogênese e inflamação, frequentemente influenciando outros fatores de transcrição, incluindo o NF- κ B. A IL-6, reconhecida como um mediador crucial da inflamação, exerce seus efeitos ativando a via STAT3. Observou-se que a ligação do STAT3 ao promotor de proteínas de fase aguda concorre com a ligação do NF- κ B, outro fator de transcrição pró-inflamatório (Aggarwal et al., 2009). Assim, conforme observado no presente estudo, o pré-tratamento com PA reduz a expressão da IL-6, demonstrando sua capacidade de modular essa cascata de ativação de uma parte desses fatores inflamatórios, provavelmente, ajustando a via STAT3 para um processo de sobrevivência.

Os efeitos da DOX são também perceptíveis pelas alterações eletrocardiográficas. Neste estudo, em animais que receberam o antineoplásico, notou-se o prolongamento dos intervalos PR, RR, QRS, no QT e QTc. Outros estudos obtiveram resultados semelhantes, com prolongamento nos intervalos QT, QRS e RR (Sheibani et al., 2020; Hekmat et al., 2021; Paguada, 2022; Durço et al., 2023), bem como do intervalo PR e QTc (Hazari et al., 2009). Hekmat et al. (2021) observaram também alterações contráteis, além das elétricas. Hazari et al. (2009) sugerem que o prolongamento no intervalo PR pode estar relacionado à lentificação da propagação intra-atrial ou, mais provavelmente, à lentificação da condução no nó atrioventricular induzida pela DOX. O QT e o RR alongados podem indicar retardo de repolarização (O'brien et al., 2008).

A repolarização anormal e arritmias associadas ao prolongamento do intervalo Q-T aumentam o risco de morte súbita em pacientes com insuficiência cardíaca (Nuss et al., 1999), o que reforça a importância de terapias que preservem a atividade elétrica cardíaca durante o uso de quimioterápicos. O pré-tratamento com PA melhora os intervalos PR, RR e QT, indicando proteção contra alterações induzidas pela DOX e melhora da função contrátil do

ventrículo esquerdo. Além disso, a redução de TNF- α e a melhora do estado redox sugerem que o PA atenua a cardiotoxicidade da DOX, o que impacta no padrão elétrico do coração. Outros estudos com substâncias naturais, mostraram efeitos similares na proteção contra a cardiotoxicidade (Sheibani et al., 2020; Durço et al., 2023).

Durço et al. (2023) sugerem que a DOX induz arritmias por disfunção na corrente de cálcio tipo L, causada pela hiperativação da proteína quinase dependente cálcio/calmodulina do tipo II (CaMKII) por oxidação, o que pode ser induzida pelo estresse oxidativo. Assim, o estresse oxidativo afetaria diretamente a função cardíaca ao desregular o manuseio de cálcio intracelular, levando ao aumento de ondas de cálcio e ao prolongamento do intervalo QT, além do aumento da duração do complexo QRS, o que aumentam a suscetibilidade a arritmias.

A alteração do QTc pode ser explicada por um remodelamento elétrico cardíaco provocado pelo estresse. O estresse pode levar a uma heterogeneidade de repolarização mediada pela corrente $I_{TO} K^+$ (Hazari et al., 2009). Essa corrente de K^+ respolarizante do tipo I_{TO} , pode ser modulada pelo aumento do TNF- α , o que pode levar a alterações eletrofisiológicas, devido a geração de ROS, desempenhando um papel crucial na cardiotoxicidade da DOX. Desse modo, os estudos sugerem que reduções de TNF- α melhoram essas alterações (Hermat et al., 2021). Além disso, níveis elevados de TNF- α produz um aumento das ROS, contribuindo para danos oxidativos e intensificando processos inflamatórios (Sandoval et al., 2018; Tsutamoto et al., 2001). Neste estudo, o pré-tratamento com PA reduziu a produção de TNF- α em relação ao grupo tratado apenas com DOX. Esses achados, alinhados a estudos anteriores, sugerem que o PA pode modular a liberação de TNF- α e diminuir a inflamação, o que indica uma possível via de cardioproteção associada à redução dessa citocina (Beik et al., 2021; Chaudhary et al., 2009; Khan; Nafees; Sultana, 2011; Rajabi et al., 2020; Yalamarathi, S et al., 2022; Tabassum et al., 2015). Assim, melhorando possivelmente os parâmetros elétricos, conforme observado nos resultados.

Outro fator que leva a um ambiente pró-arritmogênico é o processo inflamatório mediado por IL-1 β , uma citocina iniciadora que desempenha um papel central na regulação das respostas imunes e inflamatórias (Bankers-Fulbright; Kalli; McKean, 1996; Monnerat et al., 2016). Monnerat et al. (2016) observaram que o aumento IL-1 β reduz a corrente K^+ respolarizante do tipo I_{TO} , aumenta a frequência de "sparks" de cálcio e promove a oxidação e a fosforilação da CaMKII, que são fatores que podem levar a alterações na repolarização e, conseqüentemente, a arritmias, como o prolongamento no intervalo QT. Efeitos semelhantes foram observados no presente estudo, em que a DOX foi capaz de aumentar os níveis de IL-1 β ,

bem como alterar o traçado eletrocardiográfico com prolongamento do intervalo QT. Assim, com a diminuição dessa citocina nos animais pré-tratados com PA na dose de 50 mg/kg, podemos também observar uma melhora no intervalo QT nesses animais.

Sauter et al. (2011) demonstraram que a DOX induz o processamento e a liberação de IL-1 β por meio da ativação do inflamassoma NLRP3. A sensibilização do NLRP3 e de citocinas pró-inflamatórias, como a pro-IL-1 β , ocorre via receptores como TLR (Toll-like receptors), NOD2 (Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2), IL-1R (Interleukin-1 receptor) e TNFR (receptor do fator de necrose tumoral), estimulados por PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns), DAMPs (Damage-Associated Molecular Patterns) e citocinas (TNF e IL-1 β). A detecção desses estímulos ativa proteínas e fatores nucleares, como MyD88 (proteína de resposta primária de diferenciação mieloide), NF- κ B (fator nuclear kappa-light-chain-enhancer de células B ativadas) e AP-1 (proteína ativadora 1), promovendo a montagem do inflamassoma NLRP3 e a liberação de IL-1 β , desencadeando a resposta inflamatória (Liu et al., 2017; Blevins et al., 2022).

Além disso, a geração de ROS está associada à ativação do inflamassoma NLRP3, sendo comprovada pela ação inibitória de compostos como N-acetilcisteína e difeniliodonio. A ativação do NLRP3 aumenta a liberação de IL-1 β e outras interleucinas pró-inflamatórias (Sun et al., 2019; Ahmed et al., 2021; Blevins et al., 2022; Monnerat et al., 2016).

Nesse contexto, a redução ou normalização dos níveis de IL-1 β pode melhorar as alterações elétricas e reduzir a vulnerabilidade a arritmias (Sauter et al., 2011; Monnerat et al., 2016). Estudo anterior demonstrou que o uso de antagonista do receptor da interleucina 1 (IL-1Ra) apresentaram proteção contra as lesões induzidas por DOX, decorrente dos danos cardíacos, apoptose de cardiomiócitos e perda de função cardíaca quando administrado antes da doxorrubicina (Dinarello, 2010). Durante a avaliação da dosagem de IL-1 β no grupo PA 50 + DOX, no presente estudo, observou-se uma redução na produção dessa interleucina em comparação com o grupo DOX. Assim o PA levou a uma melhora dessas alterações associadas ao aumento da IL-1 β , principalmente no padrão elétrico.

Ahmed et al. (2021) verificou que o tratamento com PA suprime a translocação nuclear de NF- κ B, mantém a homeostase redox celular e limita a ativação do inflamassoma NLRP3 juntamente com a diminuição da IL-1 β . Assim evidenciando-se como uma das possíveis vias de cardioproteção proporcionada pelo PA, conforme observado no presente estudo e nos resultados obtidos por Yalamarthy et al. (2022) em modelo de doença inflamatória crônica.

Essas alterações elétricas podem impactar negativamente na função contrátil do coração (Heinzel et al. 2011). Para analisar a função contrátil cardiovascular, foi realizada a verificação da PDVE. A PDVE refere-se à força de contração cardíaca do ventrículo direito. A taxa de variação da pressão pelo tempo (dp/dt) avalia a contração do ventrículo esquerdo durante o ciclo cardíaco, medindo a relação entre força e velocidade na fase pré-ejetiva. Esses parâmetros são essenciais na avaliação cardíaca (Davis et al., 1999; Marzilli, 1988). A cardiomiopatia induzida pela DOX resulta em uma disfunção contrátil do músculo cardíaco, levando à incapacidade do coração em bombear sangue de maneira eficaz (Avagimyan, A. et al., 2024; Szponar, J. et al., 2024).

Neste estudo, os animais que foram tratados apenas com a DOX apresentaram diminuição da PVDE e da taxa de variação da pressão, alterando assim, o processo contrátil do coração de forma negativa. De forma semelhante, em outros estudos realizados com animais, foi observado que a DOX provoca lesões cardíacas, resultando na redução dos níveis de pressão sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo, além de afetar a taxa de elevação/diminuição da pressão do ventrículo esquerdo, a fração de ejeção, a fração de encurtamento e o índice de contratilidade (Souza et al., 2009; Hadi et al., 2012; Razmarai et al., 2016; Durço et al., 2023).

Por outro lado, ao avaliar os índices mecânicos em ratos que receberam o tratamento com o PA, na dose de 50 e 100 mg/kg, observou-se que esse composto foi capaz de melhorar a força de contração do coração com o aumento da PDVE. Beik et al. (2021) também mostraram que o PA melhora os parâmetros hemodinâmicos, como a PVDE, principalmente na dose de 50 mg/kg. Durço et al. (2023) observaram o mesmo efeito utilizando o d-Limoneno, em camundongos. Além disso, observaram uma atenuação nos efeitos de prolongamento no potencial de ação, principalmente em 50% e 90% da repolarização, no grupo tratado com DOX. Isso sugere que o PA pode estar envolvido na melhora do potencial de ação do cardiomiócito e, assim, melhorar a força de contração cardiovascular. Hadi, N. et al. (2012) observaram que o uso de antioxidantes é capaz de melhorar a função ventricular cardíaca comprometida devido a DOX.

Além do estresse oxidativo e da inflamação, a indução de apoptose desempenha um papel crucial na cardiotoxicidade provocada pela DOX (Abd El-Aziz et al., 2012; Hamza et al., 2016; Zhang et al., 2017; Bin Jordan et al., 2020). No presente estudo, vias celulares relacionadas à apoptose foram avaliadas. Sabe-se que o tratamento com DOX reduz os níveis de Bcl-2, uma proteína antiapoptótica, o que favorece a predisposição à apoptose, já que a diminuição de Bcl-2 promove a ativação de vias apoptóticas. Esse processo é também

acompanhado por um aumento nas proteínas pró-apoptóticas, como Bax e caspase 3 (Liu, D. et al., 2018; Govender, J. et al., 2018; Hoeger, Turissini, Asnani, 2020; Li, M. et al., 2023). No entanto, no presente estudo, essas alterações induzidas pela DOX não foram observadas. Os grupos avaliados não apresentaram diferenças estatísticas significativas, o que pode estar relacionado ao tempo de análise pós-administração da DOX ou o tempo de exposição a DOX. Estudos que empregam doses cumulativas demonstram alterações nesses marcadores de apoptose, caracterizadas pelo aumento de Bax e caspase-3, além da redução de Bcl-2 induzida pela DOX (Zare et al., 2019; Yi et al., 2022).

Em um estudo anterior realizado por Souza (2019), utilizando um modelo de tratamento agudo semelhante, com administração única de DOX (4 mg/kg) e avaliação dos marcadores 24 horas após a administração, não foram observadas alterações significativas em proteínas associadas à apoptose, como Bax. No entanto, nesse mesmo estudo, houve um aumento acentuado na quantificação de Bcl-2 no grupo tratado com DOX, sugerindo um possível mecanismo adaptativo celular ao estresse oxidativo. Esse fenômeno também pode ter ocorrido no presente estudo, apesar de não terem sido identificadas alterações na expressão de Bcl-2. A ausência de mudanças nos marcadores apoptóticos é corroborada pelos achados histológicos, que indicam sinais de estresse celular, mas sem evidências de apoptose. Assim, constatamos um aumento no estresse oxidativo e na expressão de citocinas pró-inflamatórias, porém sem indícios de apoptose nesse modelo.

Entretanto, nossos resultados divergem da literatura, que relata alterações nos marcadores apoptóticos já evidentes 24 horas após a administração da DOX em modelos agudos, incluindo a redução de Bcl-2 e o aumento de Bax e caspase-3 nos animais avaliados (Arunachalam et al., 2021; Tonon et al., 2024). Dessa forma, torna-se relevante investigar o curso temporal do processo apoptótico, ampliando a análise para diferentes intervalos, como 24, 48 e 72 horas após a administração da DOX.

No presente estudo, a análise histopatológica confirmou os efeitos deletérios da DOX sobre o tecido cardíaco, caracterizados pela desorganização e degeneração das fibras musculares do miocárdio, vacuolização generalizada e picnose focal, indicando comprometimento da integridade estrutural e lesão celular nos cardiomiócitos (Mostafa & Raafat, 2019; Guo, L. et al., 2020; Awad, H. et al., 2021). O inchaço celular e a picnose induzidos pela DOX (condensação da cromatina nuclear) também foram confirmados por análise morfométrica e, juntamente com a perda de eosinofilia e vacuolização citoplasmática, são indicativos de degeneração hidrópica, tipicamente desencadeada por estímulos nocivos,

incluindo o estresse mitocondrial induzido por hipóxia tecidual (Miller & Zachary, 2017). Além disso, a hipóxia tecidual e os danos celulares provavelmente agravam a congestão vascular observada nos vasos sanguíneos do miocárdio (Awad et al., 2021; Guo et al., 2020). Essas alterações patológicas gerais já foram documentadas em modelos de roedores e destacam a natureza cardiotoxica da DOX, que prejudica tanto a integridade estrutural quanto funcional do sistema cardiovascular (Jokinen et al., 2011; Al-Doaiss et al., 2020).

O tratamento com PA na dose de 100 mg/kg atenuou as alterações morfológicas e morfométricas observadas nos cardiomiócitos. Nossos achados também revelam que o PA mitigou o estresse oxidativo ao aumentar as atividades de GPx, SOD e CAT, além de reduzir a peroxidação lipídica e danos a proteínas, sugerindo que seu efeito cardioprotetor, observado na análise histológica, pode estar relacionado à restauração do equilíbrio redox celular. Awad et al. (2021) e Guo et al. (2020) sugerem que o uso de produtos naturais pode melhorar essas alterações. Guo et al. (2020) destaca principalmente as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias como responsáveis por essa melhora. Awad et al. (2021) afirmam que essas alterações induzidas pela DOX levam a anormalidade de condução como bradicardia e prolongamento no QRS, PR e QTc. Achados também observados no presente estudo e com melhora induzida pelo AP nesses parâmetros avaliados.

É sabido, também, que a DOX leva a alteração quantitativa e qualitativa nas células sanguíneas, sendo que a contagem de leucócitos é a mais afetada, apresentando uma queda significativa, o que é caracterizado por imunossupressão (Alhumaydhi, 2020; Wen, Xi-zhi et al., 2022). Esse efeito foi observado na avaliação quantitativa da série branca obtida através do hemograma do grupo tratado com DOX em comparação ao grupo CTRL neste estudo. Já nos grupos que receberam PA nas doses de 50 e 100 mg/kg e foram submetidos à cardiotoxicidade induzida pela DOX, observou-se uma redução na contagem de leucócitos menos acentuada, o que representa uma melhora do quadro de leucopenia.

O grupo PA 50 que não foi tratado pela DOX não apresentou alteração no leucograma, quando comparado ao CTRL. Na análise das séries vermelha e plaquetária não foi possível detectar alterações significativas, o que reflete um efeito mais pronunciados na série branca. Os resultados sugerem que o tratamento com PA nas doses estudadas tem potencial de atenuar a queda na contagem de leucócitos induzida pela cardiotoxicidade da DOX, ainda que não restaure totalmente aos níveis observados no grupo CTRL. Além disso, a administração de PA sem a indução de cardiotoxicidade parece preservar a função leucocitária, o que aponta que possivelmente o PA não leva a alterações nessas variáveis.

Assim, foi possível investigar alguns aspectos associados ao estresse oxidativo e inflamação, observando os efeitos benéficos do pré-tratamento com PA em animais que receberam o quimioterápico DOX. É essencial descrever minuciosamente as vias envolvidas nesse efeito biológico para obtermos maior clareza sobre outros potenciais efeitos e interações que a substância possa ter no organismo. Isso proporcionará uma base mais sólida e confiável, permitindo a proposição de estudos adicionais que visem explorar a utilização dessa substância por pacientes que serão tratados com DOX.

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, os achados deste estudo demonstram que o PA exerce efeitos cardioprotetores significativos, mitigando os danos cardíacos induzidos pela DOX. Essa ação cardioprotetora decorre, provavelmente, de suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes observadas. Preservando assim a função contrátil, bem como o padrão elétrico e, deste modo, reduz os efeitos colaterais da DOX no tecido cardíaco.

8. PERSPECTIVAS

Futuras investigações focadas nos mecanismos moleculares subjacentes, especialmente nas vias de sinalização envolvendo NF- κ B e Nrf2, são essenciais para ampliar o entendimento sobre os efeitos protetores do PA. Isso possibilitará avaliar se o efeito antioxidante e anti-inflamatório, acontece devido a atuação do PA na sinalização dessas moléculas.

Além disso é interessante esclarecer o envolvimento da ação direta do PA nas correntes iônicas que regulam os fenômenos elétricos e contráteis da célula cardíaca, bem como a alteração das mesmas, para identificar possíveis alvos farmacológicos para a melhora destes parâmetros alterados pela DOX.

Vale ressaltar que as observações do presente estudo foram feitas em animais saudáveis, sendo necessária uma avaliação em animais com neoplasia. Assim, é necessário a execução de estudos para avaliar a ação do PA em animais com câncer, para que seja descartada a possibilidade da interferência do tratamento com esta substância no combate ao tumor. De forma complementar, um estudo da susceptibilidade ao PA usando diferentes linhagens de células cancerígenas também seria uma forma mais assertiva para esta conclusão e poderia ser analisado o impacto deste tratamento sob diferentes tipos de tumores. Adicionalmente, também poderia se avaliar a ocorrência de algum tipo de interação entre o PA e a DOX.

REFERÊNCIAS

- ABD EL-AZIZ, Tarek A. et al. Catechin protects against oxidative stress and inflammatory-mediated cardiotoxicity in adriamycin-treated rats. **Clinical and experimental medicine**, v. 12, p. 233-240, 2012.
- ABD-AZIZ, S. M., LOW, C. N., CHAI, L. C. et al. Screening of selected Malaysian plants against several food borne pathogen bacteria. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 3, 2011.
- ADAMS, Robert P. et al. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Allured publishing corporation, 2007.
- AGGARWAL, Bharat B. et al. Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship?. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1171, n. 1, p. 59-76, 2009.
- AHMED, Sahabuddin et al. Perillyl alcohol attenuates NLRP3 inflammasome activation and rescues dopaminergic neurons in experimental in vitro and in vivo models of parkinson's disease. **ACS chemical neuroscience**, v. 13, n. 1, p. 53-68, 2021.
- AKSENOV, M.Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letter**, v.302, p.141-5, 2001.
- ALHUMAYDHI, Fahad A. Biochemical studies on the protective effect of honey against doxorubicin-induced toxicity in BALB/C mice. **International Journal of Health Sciences**, v. 14, n. 6, p. 31, 2020.
- AL-MAMARY, Mohammed Ali; MOUSSA, Ziad. Antioxidant activity: The presence and impact of hydroxyl groups in small molecules of natural and synthetic origin. **Antioxidants—Benefits, sources, mechanisms of action**, p. 318-377, 2021.
- ALVES, Quiara Lovatti; SILVA, Darizy Flávia. D-Limoneno: Uma Molécula Promissora com Potencial Bradicárdico e Antiarrítmico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 113, p. 933-934, 2019.
- ALYASARI, N.; ALMZAIEL, A. Micellar Nanoformulation of Berberine to Mitigate Doxorubicin-induced Cardiotoxicity: A Cell-line Study. **Al- Anbar Medical Journal**, v. 0, n. 0, p. 0-0, 28 nov. 2023.
- ANDREENKO, G. V; BESSOLITSINA, L. A. Changes in fibrinolysis system in patients with acute myocardial infarction in intracoronary administration of fibrinolysin with heparina. **Terapevticheskiĭ arkhiv**, v. 49, n. 4, p. 8-13, 1977.
- ANIS, Ehraz et al. Perillyl alcohol mitigates behavioural changes and limits cell death and mitochondrial changes in unilateral 6-OHDA lesion model of Parkinson's disease through alleviation of oxidative stress. **Neurotoxicity research**, v. 38, n. 2, p. 461-477, 2020.
- ARAÚJO-FILHO, Heitor G. et al. Limonene, a food additive, and its active metabolite perillyl alcohol improve regeneration and attenuate neuropathic pain after peripheral nerve

injury: evidence for IL-1 β , TNF- α , GAP, NGF and ERK involvement. **International Immunopharmacology**, v. 86, p. 106766, 2020.

ARUNACHALAM, Seenipandi et al. Nerolidol attenuates oxidative stress, inflammation, and apoptosis by modulating Nrf2/MAPK signaling pathways in doxorubicin-induced acute cardiotoxicity in rats. **Antioxidants**, v. 10, n. 6, p. 984, 2021.

AVAGIMYAN, Ashot et al. Cardiotoxicidade relacionada à doxorubicina: revisão das vias fundamentais de lesão do sistema cardiovascular. **Patologia Cardiovascular**, p. 107683, 2024.

AWAD, Heba H. et al. Comparative study on beneficial effects of vitamins B and D in attenuating doxorubicin induced cardiotoxicity in rats: Emphasis on calcium homeostasis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 140, p. 111679, 2021.

BABIOR, B. M. Superoxide: a two-edged sword. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 141-155, 1997.

BACANLI, M. et al. D-limonene ameliorates diabetes and its complications in streptozotocin-induced diabetic rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 110, p. 434-442, 2017.

BACHUR, N.R., GORDON, S.L., GEE, M.V.: NADPH cytochrome P-450 reductase activation of quinone anticancer agents to free radicals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 76, n. 2, p. 954-957, 1979.

BAGALKOTKAR, G., SAGINEEDU, S.R., SAAD, M.S., STANSLAS, J. Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* Linn. and Their Pharmacological Properties: A Review. Oxford, UK: **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 2006.

BAGAMBOULA, C. F.; UYTENDAELE, Mieke; DEBEVERE, Johan. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. **Food microbiology**, v. 21, n. 1, p. 33-42, 2004.

BANKERS-FULBRIGHT, Jennifer L.; KALLI, Kimberly R.; MCKEAN, David J. Interleukin-1 signal transduction. **Life sciences**, v. 59, n. 2, p. 61-83, 1996.

BARBOSA, K. B. F. et al.. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, jul. 2010.

BARREIROS, A.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo , v. 29, n. 1, p. 113-123, fev., 2006.

BARTLETT, J. J.; TRIVEDI, P. C.; PULINILKUNNIL, T. Autophagic dysregulation in doxorubicin cardiomyopathy. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 104, p. 1-8, 2017.

BASTOS, Joana FA et al. Hypotensive and vasorelaxant effects of citronellol, a monoterpene alcohol, in rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 106, n. 4, p. 331-337, 2010.

BECKER, L.B. New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. **Cardiovascular research**, v. 61, n. 3, p. 461-470, 2004.

BEIK, Ahmad et al. Perillyl alcohol suppresses monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats via anti-remodeling, anti-oxidant, and anti-inflammatory effects. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 43, n. 3, p. 270-280, 2021.

BEJESHK, Mohammad Abbas et al. Perillyl alcohol (PA) mitigates inflammatory, oxidative, and histopathological consequences of allergic asthma in rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, p. 1-11, 2023.

BELL, R. M.; MOCANU, M. M.; YELLON, D. M. Retrograde heart perfusion: The Langendorff technique of isolated heart perfusion. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, 2011.

BELLEZZA, Ilaria et al. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1865, n. 5, p. 721-733, 2018.

BERLIN, V.; HASELTINE, W. A. Reduction of adriamycin to a semiquinone-free radical by NADPH cytochrome P-450 reductase produces DNA cleavage in a reaction mediated by molecular oxygen. **Journal of Biological Chemistry**, v. 256, n. 10, p. 4747-4756, 1981.

BETTERIDGE, D. John. What is oxidative stress? **Metabolism**, v. 49, n. 2, p. 3-8, 2000.

BICAS, J. L. et al. Evaluation of the antioxidant and antiproliferative potential of bioflavors. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 7, p. 1610-1615, 2011.

BILGINOĞLU, Ayça et al. Protective effect of melatonin on adriamycin-induced cardiotoxicity in rats. **Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi**, v. 42, n. 3, 2014.

BILLINGHAM, M. E.; MASON, J. W.; BRISTOW, M. R.; DANIELS, J. R. Anthracycline cardiomyopathy monitored by morphologic changes. **Cancer treatment reports**, v. 62, n. 6, p. 865-872, 1978.

BIN JARDAN, Yousef A. et al. Sinapic acid ameliorates oxidative stress, inflammation, and apoptosis in acute doxorubicin-induced cardiotoxicity via the NF- κ B-mediated pathway. **BioMed research international**, v. 2020, 2020.

BIRBEN, E. et al. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organization Journal**, v. 5, n. 1, p. 9, 2012.

BONJARDIM, L.R. et al. Evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive properties of *p*-Cymene in mice. **Zeitschrift fur Naturforschung C**, v. 67, p. 15-21, fev. 2012.

BOSE, R.; SUTHERLAND, G.R.; PINSKY, C. Biological and methodological implications of prostaglandin involvement in mouse brain lipid peroxidation measurements. **Neurochemical research**. p.217-220, 1989.

BOZKURT, Biykem et al. Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor- α promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. **Circulation**, v. 97, n. 14, p. 1382-1391, 1998.

BRADY, N.R. et al. A Wave of Reactive Oxygen Species (ROS)-Induced ROS Release in a Sea of Excitable Mitochondria. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.8, n. 9, p. 1651-1665, 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Banco de dados do Sistema Único de Saúde-DATASUS**, 2014. [Acesso em: 19 dezembro 2016]. Disponível em:<
<http://datasus.saude.gov.br/noticias/atualizacoes/559-infarto-agudo-do-miocardio-e-primeira-cao-de-mortes-no-pais-revela-dados-do-datasus>>.

BRISTOW MR, SAGEMAN WS, SCOTT RH, BILLINGHAM ME, BOWDEN RE, KERNOFF RS, SNIDOW GH, DANIELS JR: Acute and chronic cardiovascular effects of doxorubicin in the dog: the cardiovascular pharmacology of drug-induced histamine release. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 2, n. 5, p. 487-515, 1980.

BRITO, Renan G. et al. Citronellol, a monoterpene alcohol, reduces nociceptive and inflammatory activities in rodents. **Journal of natural medicines**, v. 66, p. 637-644, 2012.

BRITO, Verônica Bidinotto et al. Efeito Cardioprotetor da Suplementação Materna com Resveratrol sobre a Toxicidade Induzida por Doxorubicina em Cardiomiócitos de Neonatos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 117, p. 1147-1158, 2021.

BRODER, Howard; GOTTLIEB, Roberta A.; LEPOR, Norman E. Chemotherapy and cardiotoxicity. **Reviews in cardiovascular medicine**, v. 9, n. 2, p. 75, 2008.

BUETTNER, G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 300, n. 2, p. 535–43, 1 fev. 1993.

CAI, H.; GRIENDLING, K.K.; HARRISON, D.G. The vascular NAD(P)H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular diseases. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 24, n. 9, p. 471-8, set. 2003.

CAI, Y. et al. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life sciences**, v. 74, n. 17, p. 2157-2184, 2004.

CAMARGO, S. B.; VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpene. **Revista Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v.13, n.3, p.381-387, set./dez. 2014.

CAPPETTA, Donato et al. Oxidative stress and cellular response to doxorubicin: a common factor in the complex milieu of anthracycline cardiotoxicity. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, n. 1, p. 1521020, 2017.

CARDINALE, Daniela; IACOPO, Fabiani; CIPOLLA, Carlo Maria. Cardiotoxicity of anthracyclines. **Frontiers in cardiovascular medicine**, v. 7, p. 26, 2020.

CARDOSO LIMA, Tamires et al. Structural relationships and vasorelaxant activity of monoterpenes. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 20, p. 1-4, 2012.

CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. Glutathione reductase. **Methods in enzymology**, v. 113, p. 484–90, 1985.

CARVALHO, A. C. C.; SOUSA, J. M. A. Cardiopatia isquêmica. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 8, n. 3, p. 297-305, jul./set. 2001.

CARVALHO, T. et al. Cardiovascular Rehabilitation of Patients with Ischemic Heart Disease Undergoing Medical Treatment, Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty, and Coronary Artery Bypass Grafting. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 88, n. 1, p. 72-78, jan. 2007.

CAVERO, Icilio; DJELLAS, Yasmine; GUILLON, Jean-Michel. Ischemic myocardial cell protection conferred by the opening of ATP-sensitive potassium channels. **Cardiovascular drugs and therapy**, v. 9, p. 245-255, 1995.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova [online]**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-9, abr. 2007.

CHABORY, E. et al. Epididymis seleno-independent glutathione peroxidase 5 maintains sperm DNA integrity in mice. **The Journal of clinical investigation**, v. 119, n. 7, p. 2074–85, jul. 2009.

CHAUDHARY, Sandeep Chand et al. Perillyl alcohol attenuates Ras-ERK signaling to inhibit murine skin inflammation and tumorigenesis. **Chemico-biological interactions**, v. 179, n. 2-3, p. 145-153, 2009.

CHEN, Thomas C. et al. The monoterpenoid perillyl alcohol: Anticancer agent and medium to overcome biological barriers. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 12, p. 2167, 2021.

CHEN, Y. et al. Role of carvacrol in cardioprotection against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats through activation of MAPK/ERK and Akt/eNOS signaling pathways. **European Journal of Pharmacology**, v. 796, p. 90-100, 2016.

CHEN, Z.M. et al. COMMIT (Clopidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial) collaborative group. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomized placebo-controlled trial. **The Lancet**, v. 366, n. 9497, p. 1607-21, 2005.

CHENG, Hong Sheng; TON, So Ha; ABDUL KADIR, Khalid. Ellagitannin geraniin: a review of the natural sources, biosynthesis, pharmacokinetics and biological effects. **Phytochemistry reviews**, v. 16, p. 159-193, 2017.

CHICCO, Adam J. et al. Sex-specific and exercise-acquired cardioprotection is abolished by sarcolemmal KATP channel blockade in the rat heart. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 292, n. 5, p. H2432-H2437, 2007.

CHUNHUA, Ma et al. Dang Gui Bu Xue Tang ameliorates coronary artery ligation-induced myocardial ischemia in rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 88, p. 617-624, 2017.

COLE, W. C.; MCPHERSON, C. D.; SONTAG, D. ATP-regulated K⁺ channels protect the myocardium against ischemia/reperfusion damage. **Circulation Research**, v. 69, n. 3, p. 571-581, 1991.

COLOMBO, R.C.R.; AGUILLAR, O.M. Estilo de vida e fatores de risco de pacientes com primeiro episódio de infarto agudo do miocárdio. **Revista latino-americana de enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 5, n. 2, p. 69-82, abr. 1997.

COSTA, D.A. Preclinical study of biochemical and pharmacological effects of the cyano-carvone in mice: Allowance for the development of phyto [Master dissertation]. **Federal University of Piauí**, 2012.

COYLE, Christian H.; KADER, Khalid N. Mechanisms of H₂O₂-induced oxidative stress in endothelial cells exposed to physiologic shear stress. **ASAIO journal**, v. 53, n. 1, p. 17-22, 2007.

CROWELL, Pamela L. Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. **The Journal of nutrition**, v. 129, n. 3, p. 775S-778S, 1999.

CURIGLIANO, Giuseppe et al. Cardiotoxicity of anticancer treatments: epidemiology, detection, and management. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 66, n. 4, p. 309-325, 2016.

CZOMPA, A. et al. Cardioprotection afforded by sour cherry seed kernel: the role of heme oxygenase-1. **Journal cardiovascular pharmacology**, Nova York, v. 64, n. 5, p. 412-419, 2014.

DA SILVA, Marcos Fernandes et al. Impacto do Estresse Oxidativo na Saúde Cardiovascular. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 6, n. 3, p. 2443-2461, 2024.

DAMIANI, Roberto Marques et al. Pathways of cardiac toxicity: comparison between chemotherapeutic drugs doxorubicin and mitoxantrone. **Archives of toxicology**, v. 90, p. 2063-2076, 2016.

DAVIES, K. J.; DOROSHOW, J. H. Redox cycling of anthracyclines by cardiac mitochondria. I. Anthracycline radical formation by NADH dehydrogenase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 261, n. 7, p. 3060-3067, 1986.

DAVIS, K. L. et al. Variation in tau, the time constant for isovolumic relaxation, along the left ventricular base-to-apex axis. **Basic research in cardiology**, v. 94, p. 41-48, 1999.

DE BRITO, Daniele Santana et al. Efeitos cardiovasculares de linalol livre ou complexado à β -ciclodextrina: um foco para ação anti-hipertensiva. **Revista de Medicina**, v. 102, n. 6, 2023.

DE BRITTO, Raquel Moreira et al. Myrtenol protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through antioxidant and anti-apoptotic dependent mechanisms. **Food and chemical toxicology**, v. 111, p. 557-566, 2018.

DE MEDEIROS, M. G. F. et al. In vitro antileishmanial activity and cytotoxicity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Parasitology international**, v. 60, n. 3, p. 237-241, 2011.

DENG, S., KRUGER, A., KLESCHYOV, A. L., KALINOWSKI, L., DAIBER, A., & WOJNOWSKI, L. Gp91phox-containing NAD(P)H oxidase increases superoxide formation by doxorubicin and NADPH. **Free Radical Biology & Medicine**, 42(4), 466-473, 2007.

DEVI, R. et al. Extract from *Clerodendron colebrookianum* Walp protects rat heart against oxidative stress induced by ischemic-reperfusion injury (IRI). **Life science**, Oxford, v. 77, n. 24, p. 2999-3009, 2005.

DEVITA, C. et al.; GISSI-3. effects of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together on 6-week mortality and ventricular-function after acute myocardial-infarction. **The Lancet**, v. 343, n. 8906, p. 1115-1122, 1994.

DINARELLO, Charles A. IL-1: Discoveries, controversies and future directions. **European journal of immunology**, v. 40, n. 3, p. 599-606, 2010.

DOROSHOW, J. H. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. **Cancer research**, v. 43, n. 2, p. 460-472, 1983.

DOROSHOW, J.H., LOCKER, G.Y., BALDINGER, J., MYERS, C.E.: The effect of doxorubicin on hepatic and cardiac glutathione. **Research communications in chemical pathology and pharmacology**, v. 26, n. 2, p. 285-295, 1979.

DOS SANTOS, Péligris Henrique et al. Inclusion complex with β -cyclodextrin is a key determining factor for the cardioprotection induced by usnic acid. **Chemico-Biological Interactions**, v. 332, p. 109297, 2020.

DROGE, Wulf. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological reviews**, v. 82, n. 1, p. 47-95, 2002.

DURÇO, Aimée Obolari et al. d-Limonene complexed with cyclodextrin attenuates cardiac arrhythmias in an experimental model of doxorubicin-induced cardiotoxicity: possible involvement of calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 474, p. 116609, 2023.

DURÇO, Aimée Obolari et al. Perillyl alcohol as a treatment for cancer: A systematic review. **Phytomedicine Plus**, v. 1, n. 3, p. 100090, 2021.

DUSTING, G.J.; SELEMIDIS, S.; JIANG, F. Mechanisms for suppressing NADPH oxidase in the vascular wall. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 1, p. 97-103, mar. 2005.

DZIE, GIEL, Piotr et al. Melatonin stimulates the activity of protective antioxidative enzymes in myocardial cells of rats in the course of doxorubicin intoxication. **Journal of pineal research**, v. 35, n. 3, p. 183-187, 2003.

EL-SAYED, E. S. M.; MANSOUR, A. M.; ABDUL-HAMEED, M. S. Thymol and carvacrol prevent doxorubicin-induced cardiotoxicity by abrogation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rats. **Journal of biochemical and molecular toxicology**, v. 30, n. 1, p. 37-44, 2016.

EVORA, P. R. B. et al. Lesão de Isquemia-Reperusão. Aspectos Fisiopatológicos e a Importância da Função Endotelial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 66, n. 4, p. 239-45, 1996.

EWER, S.; LIPPMAN, S. M. "Type II Chemotherapy-Related Cardiac Dysfunction: Time to Recognize a New Entity" by Michael. **Journal Clinical Oncology**, v. 23, p. 2900-2902, 2005.

F DULHUNTY, Angela; G CASAROTTO, Marco; A BEARD, Nicole. The ryanodine receptor: a pivotal Ca^{2+} regulatory protein and potential therapeutic drug target. **Current drug targets**, v. 12, n. 5, p. 709-723, 2011.

FAKHLAEI, R., KHOO, H. E., SIA, W. C. M., YIM, H. S. Extraction and evaluation of antioxidant potential in rambutan rind as food waste. **Carpathian Journal of Food Science & Technology**, 7(2), 35-44, 2015.

FARBER, J. L.; CHIEN, K. R.; MITTNACHT JR, S. Myocardial ischemia: the pathogenesis of irreversible cell injury in ischemia. **The American journal of pathology**, v. 102, n. 2, p. 271, 1981.

FAURE, P.; LAFOND, J. L. **Measurement of plasma sulphydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation**. In: FAVIER, A. E. et al. (Eds.). Analysis of free radicals in biological systems. Basel: Birkhäuser Verlag, p. 237-248, 1995.

FERLAY, J., SOERJOMATARAM, I., ERVIK, M., DIKSHIT, R., ESER, S., MATHERS, C. et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013.

FERNANDES, Fabio et al. Insuficiência cardíaca induzida pela quimioterapia: mecanismos e tratamentos. **Rev. Soc. Cardiol.** Estado de São Paulo, p. 544-554, 2009.

FERREIRA, A. J.; SANTOS, R. A.; ALMEIDA, A. P. Angiotensin-(1-7): cardioprotective effect in myocardial ischemia/reperfusion. **Hypertension**, v. 38, n. 3, p. 665–668, 2001.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FIDRIANNY, I., SUKOWATI, A. SUKRASNO. In vitro antioxidant activities of various leaves extracts from five varieties of rambutan (*Nephelium Lappaceum*) and it's correlation with total flavonoid, phenolic, carotenoid content. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v.8, n. 2, p. 139–143, 2015.

FIGUEIREDO, A. Cristina et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, n. 4, p. 213-226, 2008.

FINKEL, T. Radical medicine: treating ageing to cure disease. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 6, p. 971-6, dez., 2005.

FONT-BELMONTE, Enrique; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, Paloma; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, Arsenio. Necroptosis in global cerebral ischemia: a role for endoplasmic reticulum stress. **Neural Regeneration Research**, v. 15, n. 3, p. 455, 2020.

FORGIONE, M. A. Heterozygous Cellular Glutathione Peroxidase Deficiency in the Mouse: Abnormalities in Vascular and Cardiac Function and Structure. **Circulation**, v. 106, n. 9, p. 1154–1158, 27 ago., 2002.

FOROUZANFAR, M. H. et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **The Lancet**, v. 388, n. 10053, p. 1659-1724, 2016.

FOXO3a. *Experimental and therapeutic medicine*, v. 12, n. 3, p. 1879-1884, 2016.

FRIDOVICH, I. Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and related matters. **The Journal of biological chemistry**, v. 272, n. 30, p. 18515–7, 25 jul. 1997.

FUSTER, V. et al. Randomised double-blind trial of fixed low-dose warfarin with aspirin after myocardial infarction. **The Lancet**, v. 350, n. 9075, p. 389, 1997.

GERHÄUSER, Clarissa et al. Mechanism-based in vitro screening of potential cancer chemopreventive agents. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 523, p. 163-172, 2003.

GILLIAM, Laura AA et al. TNF/TNFR1 signaling mediates doxorubicin-induced diaphragm weakness. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 300, n. 2, p. L225-L231, 2011.

GOLBIDI, S.; LAHER, I. Molecular mechanisms in exercise-induced cardioprotection. **Cardiology research and practice**, v. 2011, 2011.

GOMES, Aline C. et al. Perillyl alcohol, a pleiotropic natural compound suitable for brain tumor therapy, targets free radicals. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 65, p. 285-297, 2017.

GOMES, D.B.V. Study of antioxidant activity of liquid cashew (*Anacardium occidentale* L.) and technical in nature for pharmaceutical formulations [Master dissertation]. **Federal University of Piauí**, 2011.

GOODSELL, D. S. Catalase. **RCSB Protein Data Bank**, 1 set. 2004.

GOTTLIEB, Maria Gabriela Valle et al. Estresse oxidativo como fator de risco cardiometabólico emergente. *Scientia Médica (PUCRS. Impresso)*, v. 20, n. 3, p. 243-249, 2010.

GOVENDER, Jenelle et al. Melatonin improves cardiac and mitochondrial function during doxorubicin-induced cardiotoxicity: A possible role for peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha and sirtuin activity?. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 358, p. 86-101, 2018.

GRANADOS-PRINCIPAL, Sergio et al. New advances in molecular mechanisms and the prevention of adriamycin toxicity by antioxidant nutrients. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 6, p. 1425-1438, 2010.

GRIENDLING, K. K.; FITZGERALD, G. A. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part II: Animal and Humans Studies. **Circulation**, v. 108, n. 17, p. 2034-40, out. 2003.

GUO, Langtao et al. Irgenin treatment alleviates doxorubicin (DOX)-induced cardiotoxicity by suppressing apoptosis, inflammation and oxidative stress via the increase of miR-425. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 125, p. 109784, 2020.

GUO, Runmin et al. Exogenous hydrogen sulfide protects against doxorubicin-induced inflammation and cytotoxicity by inhibiting p38MAPK/NFκB pathway in H9c2 cardiac cells. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 32, n. 6, p. 1668-1680, 2013.

HADI, N.; YOUSIF, N.; AL-AMRAN, F. G.; HUNTEI, N. K.; MOHAMMAD, B. I.; ALI, S. J. Vitamin E and telmisartan attenuates doxorubicin induced cardiac injury in rat through down regulation of inflammatory response. **BMC Cardiovascular Disorders**, 2012.

HAGHI-AMINJAN, Hamed et al. The role of melatonin on chemotherapy-induced reproductive toxicity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70, n. 3, p. 291-306, 2018.

HALLIWELL B: Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause or consequence. **Lancet**, v. 344, p.721-724, 1994.

HALLIWELL, Barry; CLEMENT, Marie Veronique; LONG, Lee Hua. Hydrogen peroxide in the human body. **FEBS letters**, v. 486, n. 1, p. 10-13, 2000.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John MC. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford university press, USA, 2015.

HAMILTON, C. A. et al. Strategies to reduce oxidative stress in cardiovascular disease. **Clinical Science**, v. 106, n. 3, p. 219-234, 2004.

HAMZA, Alaaeldin Ahmed et al. Melissa officinalis protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats and potentiates its anticancer activity on MCF-7 cells. **PloS one**, v. 11, n. 11, p. e0167049, 2016.

HAN, Jin et al. The Protective Effect of Melatonin Administration against Adriamycin-induced Cardiotoxicity in Rats. **The Korean Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 5, n. 4, p. 333-342, 2001.

HANIFAH, S.; AROZAL, W.; JUNIANTITO, V. The Effect of Oral Andrographolide on Cardiac Biomarkers in Doxorubicin-induced Rats. **Journal of Medicine and Health**, v. 5, n. 2, p. 146–155, 31 ago. 2023.

HASSAN, Towseef et al. Effect of Perillyl Alcohol (POH) A Monoterpene on Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in High Fat Diet-Low Dose STZ Induced Type 2 Diabetes in Experimental Rats. **Pharmacognosy Journal**, v. 11, n. 6s, 2019.

- HAZARI, Mehdi S. et al. Continuous electrocardiogram reveals differences in the short-term cardiotoxic response of Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats to doxorubicin. **Toxicological sciences**, v. 110, n. 1, p. 224-234, 2009.
- HEINZEL, Frank R. et al. Dyssynchrony of Ca²⁺ release from the sarcoplasmic reticulum as subcellular mechanism of cardiac contractile dysfunction. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 50, n. 3, p. 390-400, 2011.
- HEKMAT, Ava Soltani et al. Alamandine significantly reduces doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. **Human & Experimental Toxicology**, v. 40, n. 10, p. 1781-1795, 2021.
- HENRIKSEN, Peter A. Anthracycline cardiotoxicity: an update on mechanisms, monitoring and prevention. **Heart**, v. 104, n. 12, p. 971-977, 2018.
- HENRY, T.D. From concept to reality: a decade of progress in regional STelevation myocardial infarction systems. **Circulation**, v. 126, n. 2, p. 166-8, 2012.
- HERRMANN, J., YANG, E.H., ILIESCU, C.A. et al. Vascular Toxicities of Cancer Therapies: The Old and the New-An Evolving Avenue. **Circulation**, v. 133, n. 13, p. 1272–1289, 2016.
- HIMMELFARB, J.; MCMONAGLE, E.; MCMENAMIN, E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. **Kidney international**, v. 58, n. 6, p. 2571-2578, 2000.
- HINKEN, A. C.; SOLARO, R. J. A dominant role of cardiac molecular motors in the intrinsic regulation of ventricular ejection and relaxation. **Physiology (Bethesda, Md.)**, v. 22, n. 16, p. 73–80, 2007.
- HOEGER, Christopher W.; TURISSINI, Cole; ASNANI, Aarti. Doxorubicin cardiotoxicity: pathophysiology updates. **Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine**, v. 22, p. 1-17, 2020.
- HU, L. et al. Ischemic postconditioning protects the heart against ischemia–reperfusion injury via neuronal nitric oxide synthase in the sarcoplasmic reticulum and mitochondria. **Cell death & disease**, v. 7, n. 5, p. e2222, 2016.
- HUANG, M. et al. Effects of 4-piperidinomethyl-2-isopropyl-5-methylphenol on oxidative stress and calcium current. **Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 57, n. 9, p. 1191-1197, 2005.
- HUTCHINS, Kelley K. et al. Prevention of cardiotoxicity among survivors of childhood cancer. **British journal of clinical pharmacology**, v. 83, n. 3, p. 455-465, 2017.
- ICHIKAWA, Yoshihiko et al. Cardiotoxicity of doxorubicin is mediated through mitochondrial iron accumulation. **The Journal of clinical investigation**, v. 124, n. 2, p. 617-630, 2014.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (BRASIL). **Estimativa 2023** : incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro : INCA, 2022. Disponível em: [Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil | INCA - Instituto Nacional de Câncer](#). Acessado 07/02/2024 às 15:00h.

INSTITUTO NACIONAL DO CANCER. **O que é Câncer**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Última modificação: 03/04/2019 às 11h00. Acessado 22/09/2019 às 13:00h.

ISHIHARA, T. et al. Scavenging of superoxide anions by lecithinized superoxide dismutase in HL-60 cells. **Molecular biosystems**, v. 12, n. 1, p. 274–82, 15 dez. 2015.

ISSA, Aurora Felice Castro (Ed.). Biomarcadores na Avaliação de Pacientes Submetidos à Quimioterapia com Antraciclinas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 120, n. 12, p. e20230821, 2023.

JAHANGIR, Tamanna et al. Perillyl alcohol protects against Fe-NTA-induced nephrotoxicity and early tumor promotional events in rat experimental model. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 4, p. 439-445, 2007.

JIANG, Z.Y.; HUNT, J. V.; WOLFF, S. P. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. **Analytical biochemistry**, v. 202, n. 2, p. 384-389, 1992.

KACZMAREK, Agnieszka et al. TNF/TNF-R1 pathway is involved in doxorubicin-induced acute sterile inflammation. **Cell Death & Disease**, v. 4, n. 12, p. e961-e961, 2013.

KALIVENDI, S.V., KOTAMRAJU, S., ZHAO, H., JOSEPH, J., KALYANARAMAN, B.: Doxorubicin-induced apoptosis is associated with increased transcription of endothelial nitric-oxide synthase Effect of antiapoptotic antioxidants and calcium. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 50, p. 47266-47276, 2001.

KALYANARAMAN, B.; PEREZ-REYES, Edward; MASON, Ronald P. Spin-trapping and direct electron spin resonance investigations of the redox metabolism of quinone anticancer drugs. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 630, n. 1, p. 119-130, 1980.

KANDA, Tsugiyasu; TAKAHASHI, Takashi. Interleukin-6 and cardiovascular diseases. **Japanese heart journal**, v. 45, n. 2, p. 183-193, 2004.

KAPADIA, Samir et al. Tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium after endotoxin administration. **The Journal of clinical investigation**, v. 96, n. 2, p. 1042-1052, 1995.

KARIM, S. et al. Doxorubicin induced cardiotoxicity and its modulation by drugs. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 33, n. 3, p. 203-207, 2001.

KAWAGUCHI, Tomonori et al. Prior starvation mitigates acute doxorubicin cardiotoxicity through restoration of autophagy in affected cardiomyocytes. **Cardiovascular research**, v. 96, n. 3, p. 456-465, 2012.

KELLY, F. J.; MUDWAY, I. S. Protein oxidation at the air-lung interface. **Amino acids**, v. 25, n. 3, p. 375-396, 2003.

KHAFAGA, A. F.; EL-SAYED, Y. S. All-trans-retinoic acid ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity: in vivo potential involvement of oxidative stress, inflammation, and apoptosis via

caspase-3 and p53 down-expression. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 391, n. 1, p. 59–70, 30 jan. 2018.

KHAKOO, Aarif Y.; YEH, Edward TH. Therapy insight: management of cardiovascular disease in patients with cancer and cardiac complications of cancer therapy. **Nature clinical practice Oncology**, v. 5, n. 11, p. 655-667, 2008.

KHAN, Abdul Quaiyoom; NAFEES, Sana; SULTANA, Sarwat. Perillyl alcohol protects against ethanol induced acute liver injury in Wistar rats by inhibiting oxidative stress, NF κ -B activation and proinflammatory cytokine production. **Toxicology**, v. 279, n. 1-3, p. 108-114, 2011.

KIM, Sou Hyun et al. Comparision of doxorubicin-induced cardiotoxicity in the ICR mice of different sources. **Laboratory animal research**, v. 33, p. 165-170, 2017.

KIM, Yuri et al. Anthracycline-induced suppression of GATA-4 transcription factor: implication in the regulation of cardiac myocyte apoptosis. **Molecular pharmacology**, v. 63, n. 2, p. 368-377, 2003.

KINNULA, V. L. Focus on antioxidant enzymes and antioxidant strategies in smoking related airway diseases. **Thorax**, v. 60, n. 8, p. 693–700, ago. 2005.

KMECOVA, Jana; KLIMAS, Jan. Heart rate correction of the QT duration in rats. **European journal of pharmacology**, v. 641, n. 2-3, p. 187-192, 2010.

KOLAGAL, V.; KARANAM, S.; DHARMAVARAPU, P.; D'SOUZA, R. et al. Determination of oxidative stress markers and their importance in early diagnosis of uremia-related complications. *Indian Journal of Nephrology*, 19, n. 1, p. 8, 2009.

KONO, Yukihiko et al. Significance of mitochondrial enhancement in restoring hepatic energy charge after revascularization of isolated ischemic liver. **Transplantation**, v. 33, n. 2, p. 150-155, 1982.

KORDALI, S., CAKIR, A., OZER, H., ERRADO! Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cimeno. **Bioresource Technology** 99. 8788–8795, 2008.

KOTAMRAJU, S., KONOREV, E.A., OSEPH, J., KALYANARAMAN, B.: Doxorubicin-induced apoptosis in endothelial cells and cardiomyocytes is ameliorated by nitron spin traps and ebselen role of reactive oxygen and nitrogen species. v. 275, n. 43, p. 33585-33592, 2000.

KOUREK, Christos et al. Cardioprotective strategies from cardiotoxicity in cancer patients: a comprehensive review. **Journal of Cardiovascular Development and Disease**, v. 9, n. 8, p. 259, 2022.

KRYSKO, Dmitri V. et al. TLR-2 and TLR-9 are sensors of apoptosis in a mouse model of doxorubicin-induced acute inflammation. *Cell Death & Differentiation*, v. 18, n. 8, p. 1316-1325, 2011.

KUBOTA, Toru et al. Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor- α . *Circulation research*, v. 81, n. 4, p. 627-635, 1997.

- KUMAR, Ashok; YEGLA, Brittney; FOSTER, Thomas C. Redox signaling in neurotransmission and cognition during aging. *Antioxidants & Redox Signaling*, v. 28, n. 18, p. 1724-1745, 2018.
- KUMAR, V.; ABBAS, A.; ASTER, J. C. Robbins & Cotran Patologia-bases patológicas das doenças. Elsevier Brasil, 2015.
- LEHENBAUER LUDKE, Ana R. et al. A concise description of cardioprotective strategies in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, v. 87, n. 10, p. 756-763, 2009.
- LENNEMAN, Carrie G.; SAWYER, Douglas B. Cardio-oncology: an update on cardiotoxicity of cancer-related treatment. *Circulation research*, v. 118, n. 6, p. 1008-1020, 2016.
- LESTUZZI, C. Neoplastic pericardial disease: old and current strategies for diagnosis and management. *World journal of cardiology*, v. 2, n. 9, p. 270, 2010.
- LEVINS, Hallie M. et al. The NLRP3 inflammasome pathway: a review of mechanisms and inhibitors for the treatment of inflammatory diseases. *Frontiers in aging neuroscience*, v. 14, p. 879021, 2022.
- LI, Dan L.; HILL, Joseph A. Cardiomyocyte autophagy and cancer chemotherapy. *Journal of molecular and cellular cardiology*, v. 71, p. 54-61, 2014.
- LI, Mingzhe et al. O polissacarídeo do astrágalo promove a apoptose induzida pela doxorubicina, reduzindo a O-GlcNAcilação no carcinoma hepatocelular. *Células*, v. 12, n. 6, p. 866, 2023.
- LI, Zhiwei; ZHAO, Hongmei; WANG, Jing. Metabolism and chronic inflammation: the links between chronic heart failure and comorbidities. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, v. 8, p. 650278, 2021.
- LIAPIS, P. et al. Characterisation of tolbutamide hydroxylase activity in the common brushtail possum, (*Trichosurus vulpecula*) and koala (*Phascolarctos cinereus*): inhibition by the Eucalyptus terpene 1, 8-cineole. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 127, n. 3, p. 351-357, 2000.
- LIEBGOTT, T. et al. Complementary cardioprotective effects of flavonoid metabolites and terpenoid constituents of Ginkgo biloba extract (EGb 761) during ischemia and reperfusion. **Basic research in cardiology**, Darmstadt, v. 95, n. 5, p. 368-377, 2000.
- LINDERS, Annet Nicole et al. A review of the pathophysiological mechanisms of doxorubicin-induced cardiotoxicity and aging. **npj Aging**, v. 10, n. 1, p. 9, 2024.
- LIU, Dong et al. AMPK/PGC1 α activation by melatonin attenuates acute doxorubicin cardiotoxicity via alleviating mitochondrial oxidative damage and apoptosis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 129, p. 59-72, 2018.

LIU, H. et al. Tetramethylpyrazine analogue CXC195 protects against cerebral ischemia/reperfusion injury in the rat by an antioxidant action via inhibition of NADPH oxidase and iNOS expression. **Pharmacology**, v. 92, n. 3-4, p. 198-206, 2013.

LIU, Ting et al. NF- κ B signaling in inflammation. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 2, n. 1, p. 1-9, 2017.

LOCATELLI, F. et al. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 18, n. 7, p. 1272-1280, 2003.

LÓPEZ, M. F. et al. Cardiotoxicity of 5-fluorouracil: ischemia or myocardial toxicity. *Revista clínica española*, v. 201, n. 2, p. 106, 2001.

LOPEZ-SENDON, Jose et al. Classification, prevalence, and outcomes of anticancer therapy-induced cardiotoxicity: the CARDIOTOX registry. *European heart journal*, v. 41, n. 18, p. 1720-1729, 2020.

LOSCALZO, J. Oxidative stress and atherosclerosis: mechanisms and vascular effects. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 21, n. 6, p. 1667-1670, 2000.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of biological chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MA, Q., GUO, Y., SUN, L., & ZHUANG, Y. Anti-diabetic effects of phenolic extract from rambutan peels (*Nephelium lappaceum*) in high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice. *Nutrients*, v. 9, n. 8, p. 801, 2017.

MADESH, M.; BALASUBRAMANIAN, K. A. Microtiter plate assay for superoxide dismutase using MTT reduction by superoxide. **Indian Journal of Biochemistry and Biophysics**, v. 35, n. 3, p. 184-188, 1998.

MALBOUISSON, L.M.S. et al. Proteção miocárdica em cirurgia cardíaca. **Revista Brasileira Anestesiologia**, Campinas, v. 55, n. 5, p. 558-574, out., 2005.

MARÓSTICA JÚNIOR, Mário Roberto; PASTORE, Gláucia Maria. Biotransformação de limoneno: uma revisão das principais rotas metabólicas. **Química Nova**, v. 30, p. 382-387, 2007.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S. et al. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición hospitalaria**, v. 17, n. 6, p. 271-8, 2002.

MARTINEZ-HERVAS, S. et al. Increased plasma xanthine oxidase activity is related to nuclear factor kappa beta activation and inflammatory markers in familial combined hyperlipidemia. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**. v.20, p.734-739, 2010.

MARZILLI, Mario. Systolic and diastolic alterations of left ventricular function: Prevalence in ischaemic heart disease and importance in the management of individual patients. **European Heart Journal**, v. 9, n. suppl_F, p. 1-4, 1988.

MATOS, I. O.; ALVES, W. Atividade eletrocatalítica de sistemas biomiméticos da enzima catalase. **Química Nova**, v. 34, p. 1588-1594, 2011.

MATTOS, I. et al. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação: revisão. **Química Nova**, v. 26, p. 373-380, 2003.

MELDRUM, Daniel R. et al. Increased myocardial tumor necrosis factor- α in a crystalloid-perfused model of cardiac ischemia-reperfusion injury. **The Annals of thoracic surgery**, v. 65, n. 2, p. 439-443, 1998.

MELO, E. C. P. et al. Distribuição espacial da mortalidade por infarto agudo do miocárdio no Município do Rio de Janeiro, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 6, p. 1225-36, jun. 2006.

MENDES NETO, José Marden. **Mecanismos envolvidos no efeito cardiovascular induzido por (-)-mirtenol em ratos hipertensos e normotensos**. 2020. 142 f. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2020.

MENEZES, Igor AC et al. Hypotensive activity of terpenes found in essential oils. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 65, n. 9-10, p. 562-566, 2010.

MIGUEL-DOS-SANTOS, Rodrigo; SANTOS, Sandra Lauton. Revisão sistemática dos efeitos de substâncias naturais com ação antioxidante no tratamento da injúria de reperfusão após isquemia. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 15, n. 2, p. 218-222, 2016.

MILLER, M. A.; ZACHARY, J. F. Mechanisms and Morphology of Cellular Injury, Adaptation, and Death. Em: **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 2-43.e19.

MINAMI, M.; MATSUMOTO, S.; HORIUCHI, H. Cardiovascular side-effects of modern cancer therapy. **Circulation Journal**, p. 1008100855-1008100855, 2010.

MITRY, M. A.; EDWARDS, J. G. Doxorubicin induced heart failure: Phenotype and molecular mechanisms. **IJC heart & vasculature**, v. 10, p. 17-24, 2016.

MIZUTA, Y. et al. Sodium thiosulfate prevents doxorubicin-induced DNA damage and apoptosis in cardiomyocytes in mice. **Life Sciences**, v. 257, p. 118074, set. 2020.

MLADOSIEVICOVA, B. et al. Atherosclerosis in cancer patients. **Bratislavske Lekarske Listy**, v. 120, n. 9, p. 636-640, 2019.

MLADOSIEVIČOVÁ, B. et al. **Kardioonkologie**. Praha: Grada Publishing a.s., 208 pp 2014.

MOHANTY, I. R., et al. Bacopa monniera protects rat heart against ischaemia-reperfusion injury: role of key apoptotic regulatory proteins and enzymes. **Journal pharmacy and pharmacology**, London, v. 62, n. 9, p. 1175-1184, 2010.

MONASSIER, J. P. Reperfusion injury in acute myocardial infarction: from bench to cath lab. Part II: Clinical issues and therapeutic options. **Archives of Cardiovascular Diseases**, v. 101, n. 9, p. 565-575, set. 2008.

MONNERAT, Gustavo et al. Macrophage-dependent IL-1 β production induces cardiac arrhythmias in diabetic mice. **Nature communications**, v. 7, n. 1, p. 13344, 2016.

MORDENTE, A. et al. New developments in anthracycline-induced cardiotoxicity. **Current medicinal chemistry**, v. 16, n. 13, p. 1656-1672, 2009.

MOSTAFA, H.; RAAFAT, M. Effect of N-acetyl cysteine on doxorubicin induced cardiotoxicity in adult male albino rat: histological study. **J Cytol Histol**, v. 10, n. 536, p. 2, 2019.

MUKHERJEE, Sumanta et al. Protection against acute adriamycin-induced cardiotoxicity by garlic: role of endogenous antioxidants and inhibition of TNF- α expression. **BMC pharmacology**, v. 3, p. 1-9, 2003.

MURPHY, E. et al. Amiloride delays the ischemia-induced rise in cytosolic free calcium. **Circulation Research**, v. 68, n. 5, p. 1250-8, mai. 1991.

MYERS, Charles. The role of iron in doxorubicin-induced cardiomyopathy. In: Seminars in oncology. 1998. p. 10-14.

NAJAFI, Masoud et al. The role of melatonin on doxorubicin-induced cardiotoxicity: a systematic review. **Life sciences**, v. 241, p. 117173, 2020.

NASCIMENTO, Gildenisson Araújo do et al. Efeitos bradicardicos e antiarritmicos do D-Limoneno em ratos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 113, p. 925-932, 2019.

NASCIMENTO, M. C. M. O.; MARTINS, A. S. Cardiomiopatia induzida pela adriamicina: uma revisão. **Arquivos de Ciências e Saúde**, São José do Rio Preto v. 12, n. 2, p. 111-115, 2005.

NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 degrees C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). **Analytical biochemistry**, v. 49, n. 2, p. 474–478, 1972.

NEUMANN, Franz-Josef et al. Cardiac release of cytokines and inflammatory responses in acute myocardial infarction. **Circulation**, v. 92, n. 4, p. 748-755, 1995.

NICOLAU, J. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Angina Instável e Infarto Agudo do Miocárdio sem Supradesnível do Segmento ST. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, v. 102, p. 1–61, 2014.

NOLTE, Ellen; MCKEE, Martin. Does health care save lives? Avoidable mortality revisited. **The Nuffield Trust**, 2004.

NORDBERG, Jonas; ARNÉR, Elias SJ. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free radical biology and medicine**, v. 31, n. 11, p. 1287-1312, 2001.

NORDMANN, A.J. et al. Clinical outcomes of primary stenting vs. balloon angioplasty in patients with myocardial infarction: a meta-analysis of randomized controlled trials. **American Journal of Medicine**, v. 116, n. 4, p. 253-62, 2004.

NUSS, H. Bradley et al. Cellular basis of ventricular arrhythmias and abnormal automaticity in heart failure. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 277, n. 1, p. H80-H91, 1999.

O'BRIEN, Catherine E. et al. Cesium-Induced QT-Interval Prolongation in an Adolescent. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 28, n. 8, p. 1059-1065, 2008.

OCTAVIA, Yanti et al. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from molecular mechanisms to therapeutic strategies. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 52, n. 6, p. 1213-1225, 2012.

OKABE S, SUGANUMA M, IMAYOSHI Y, TANIGUCHI S, YOSHIDA T, FUJIKI H. New TNF- α releasing inhibitors, geraniin and corilagin, in leaves of *Acer nikoense*, Megusurino-ki. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 24, n. 10, p. 1145-1148, 2001.

OLIVEIRA, T. M. et al. Evaluation of p-cimeno, a natural antioxidant. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 3, p. 423-8, dez. 2014.

OLIVETO, Paloma. Casos de câncer aumentarão 77% no mundo até 2050, estima OMS. *Correio Brasiliense*. Brasília. 02 de fevereiro de 2024. Ciência e Saúde. Disponível em: [Casos de câncer aumentarão 77% no mundo até 2050, estima OMS \(correiobrasiliense.com.br\)](https://correiobrasiliense.com.br/casos-de-cancer-aumentarao-77-no-mundo-ate-2050-estima-oms). Acessado: 08/02/2024 às 22:34h.

OPIE, L. **Heart Physiology: from Cell to Circulation**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998.

ÖREM, C. et al. The effects of lipid-lowering therapy on low-density lipoprotein auto-antibodies: relationship with low-density lipoprotein oxidation and plasma total antioxidant status. **Coronary artery disease**, v. 13, n. 1, p. 65-71, 2002.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Cardiovascular diseases, 2017. [Acesso em: 19 maio 2017]. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>>.

OTHMAN, Azza I. et al. Melatonin controls oxidative stress and modulates iron, ferritin, and transferrin levels in adriamycin treated rats. **Life sciences**, v. 83, n. 15-16, p. 563-568, 2008.

OUDEMANS-VAN STRAATEN, H. M.; SPOELSTRA-DE MAN, A. M.; DE WAARD, M. C. Vitamin C revisited. **Critical care (London, England)**, v. 18, n. 4, p. 460, 2014.

ÖZTÜRK, M. Anticholinesterase and antioxidant activities of Savoury (*Satureja thymbra* L.) with identified major terpenes of the essential oil. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 48-54, 2012.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 70, n. 1, p. 158-69, jul. 1967.

PAGUADA, Ana Lizeth Padilla. Atividade anti-inflamatória e cardioprotetora do alfa-bisabolol sobre a cardiotoxicidade induzida por doxorubicina em camundongos C57BL/6. 2022.

- PAHL, Heike L. Activators and target genes of Rel/NF- κ B transcription factors. *Oncogene*, Patologia: Bases Patológicas das Doenças. 8a. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, v. 18, n. 49, p. 6853-6866, 1999.
- PALANISAMY, U. D., LING, L. T., MANAHARAN, T., & APPLETON, D. Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 21-27, 2011.
- PARAVICINI, T.M.; TOUYZ, R.M. NADPH oxidase, reactive oxygen species, and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities. **Diabetes Care**, v. 31, n. 2, p. 170-80, fev. 2008.
- PARODI, G. et al. Comparison of prasugrel and ticagrelor loading doses in ST-segment elevation myocardial infarction patients: RAPID (Rapid Activity of Platelet Inhibitor Drugs) primary PCI study. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 61, n. 15, p. 1601-6, 2013.
- PECORARO, Michela et al. Inflammatory mediators in a short-time mouse model of doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 293, p. 44-52, 2016.
- PERERA, A.; TON, S. H; PALANISAMY, Uma Devi. Perspectives on geraniin, a multifunctional natural bioactive compound. **Trends in food science & technology**, v. 44, n. 2, p. 243-257, 2015.
- PÉREZ, Y G. et al. Malondialdeído e grupo sulfidril como biomarcadores do estresse oxidativo em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. **Revista Brasileira Reumatologia**, v. 52, n. 4, p. 656-660, 2012.
- PERMATASARI, L.; ROHMAN, A. 2, 2'-diphenil-1-picrylhydrazil (DPPH) radical scavenging activity of extracts and fractions of Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) peel. **Research Journal of Phytochemistry**, v. 10, n. 2, p. 75-80, 2016.
- PESARO, A. E. P.; SERRANO, C. V.; NICOLAU, J. C. Infarto agudo do miocárdio-síndrome coronariana aguda com supradesnível do segmento ST. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 50, n. 2, p. 214-20, 2004.
- PEZOLATO, V. A. et al. Acompanhamento eletrocardiográfico no desenvolvimento de ratos Wistar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, p. 39-48, 2017.
- PFEFFER, M.A. et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with leftventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survivaland ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. **New England journal of Medicine**, v. 327, n. 10, p. 669-77, 1992.
- PINHO, Ricardo Aurino de et al. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, p. 549-555, 2010.
- PLOTNIKOVA, T. M. et al. Cardioprotective activity of 2, 6-diisobornyl-4-methylphenol in acute myocardial ischemia/reperfusion in rats. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 165, p. 657-659, 2018.

PLUMMER, Martyn et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. **The Lancet Global Health**, v. 4, n. 9, p. e609-e616, 2016.

POULOSE, A. J.; CROTEAU, Rodney. Biosynthesis of aromatic monoterpenes: conversion of γ -terpinene to p-cymene and thymol in *Thymus vulgaris* L. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 187, n. 2, p. 307-314, 1978.

PRATICÒ, D. et al. Increased F2-isoprostanes in Alzheimer's disease: evidence for enhanced lipid peroxidation in vivo. **The FASEB Journal**, v. 12, n. 15, p. 1777-1783, 1998.

PUPPALA, Eswara Rao et al. Perillyl alcohol attenuates chronic restraint stress aggravated dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis by modulating TLR4/NF- κ B and JAK2/STAT3 signaling pathways. **Phytomedicine**, v. 106, p. 154415, 2022b.

PUPPALA, Eswara Rao et al. Perillyl alcohol attenuates rheumatoid arthritis via regulating TLR4/NF- κ B and Keap1/Nrf2 signaling pathways: A comprehensive study on in-vitro and in-vivo experimental models. **Phytomedicine**, v. 97, p. 153926, 2022a.

QUINTANS-JÚNIOR, L.J. et al. Antinociceptive activity and redox profile of the monoterpenes (+)-camphene, p-cymene, and geranyl acetate in experimental models. **ISRN Toxicology**, Cairo, v. 2013, 2013.

RAEDSCHELDERS, K.; ANSLEY, D.M.; CHEN, D.D.Y. The cellular and molecular origin of reactive oxygen species generation during myocardial ischemia and reperfusion. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 133, n. 2, p. 230-55, fev. 2012.

RAJABI, Soodeh et al. Perillyl alcohol and Quercetin ameliorate monocrotaline-induced pulmonary artery hypertension in rats through PARP1-mediated miR-204 down-regulation and its downstream pathway. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 20, p. 1-12, 2020.

RASCHI, E. et al. Anticancer drugs and cardiotoxicity: insights and perspectives in the era of targeted therapy. **Pharmacology & therapeutics**, v. 125, n. 2, p. 196-218, 2010.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6^oed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2001. 906p.

RAZMARAI, Nasser et al. Cardioprotective effect of grape seed extract on chronic doxorubicin-induced cardiac toxicity in Wistar rats. **Advanced pharmaceutical bulletin**, v. 6, n. 3, p. 423, 2016.

RECCHIONI, R. et al. Conventional and novel diagnostic biomarkers of acute myocardial infarction: a promising role for circulating microRNAs. **Biomarkers**, v. 18, n. 7, p. 547-558, 2013.

RIBEIRO, Ana Beatriz Bomfim Gomes et al. Avaliação in silico da atividade anti-inflamatória do monoterpene Ascaridol. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e590974517-e590974517, 2020.

ROBERTO, D. et al. Antioxidant Activity of Limonene on Normal Murine Lymphocytes: Relation to H₂O₂ Modulation and Cell Proliferation. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 106, n. 1, p. 38–44, jan. 2010.

RODRIGO, R.; GIL-BECERRA, D. Chapter 17—implications of polyphenols on endogenous antioxidant defense systems in human diseases. **Polyphenols in Human Health and Disease**. Academic Press, San Diego, p. 201-217, 2014.

RODRIGO, R.; PRIETO, J.C.; CASTILLO, R. Cardioprotection against ischaemia/reperfusion by vitamins C and E plus n-3 fatty acids: molecular mechanisms and potential clinical applications. **Clinical Science**. v. 124, p. 1-15, 2013.

ROLSKI, Filip; BŁYSZCZUK, Przemysław. Complexity of TNF- α signaling in heart disease. **Journal of clinical medicine**, v. 9, n. 10, p. 3267, 2020.

ROSSETTI, Víctor Luis. Efectos morfológicos, bioquímicos y cardiovasculares del aceite esencial y de terpenos hidrocarburos de schinus areira (anacardiaceae) en un modelo experimental en animales. 2014.

ROSTINAWATI, T.; TJITRARESMI, A.; WISNUPUTRI, M. V. In vitro Activity of Rambutan Binjai (*Nephelium lappaceum*) Peel Extract from Indonesia to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 17, n. 2, p. 197-203, 2018.

RUECKSCHLOSS, U. et al. Induction of NAD(P)H Oxidase by oxidized low-density lipoprotein in human endothelial cells: antioxidative potencial of hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor therapy. **Circulation**. v. 104, p. 1767-72, 2001

RUIXING, Y.; WENWU, L.; AL-GHAZALI, R. Trimetazidine inhibits cardiomyocyte apoptosis in a rabbit model of ischemia-reperfusion. **Translational Research**, v. 149, n. 3, p. 152-160, mar. 2007.

SAHNA, Engin et al. Melatonin protects against myocardial doxorubicin toxicity in rats: role of physiological concentrations. **Journal of pineal research**, v. 35, n. 4, p. 257-261, 2003.

SAIDI, Abdulfattah; ALHARETHI, Rami. Tratamento da cardiomiopatia induzida por quimioterapia. **Revisões atuais de cardiologia**, v. 7, n. 4, p. 245-249, 2011.

SANADA, S.; KOMURO I.; KITAKAZE, M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**. v. 301, n. 5, p. 1723-41, ago. 2011.

SANDOVAL, Rodrigo et al. TNF- α increases production of reactive oxygen species through Cdk5 activation in nociceptive neurons. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 65, 2018.

SANGWENI, Nonhlakanipho F. et al. Molecular insights into the pathophysiology of doxorubicin-induced cardiotoxicity: a graphical representation. **Archives of toxicology**, v. 96, n. 6, p. 1541-1550, 2022.

SANTANA, Michele F. et al. p-Cymene reduces orofacial nociceptive response in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 6, p. 1138-1143, 2011.

SANTOS, D.; CHACÓN, R. Efectos adversos de la quimioterapia. **Doval H, Tajer C. Evidencias en Cardiología IV. Ediciones GEDIC**, p. 97-129, 2005.

SANTOS, Márcio RV et al. Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, p. 764-771, 2011.

SANTOS-MIRANDA, Artur (Ed.). Para Onde Vamos com os Produtos Naturais? Explorando o Verdadeiro Potencial de Novos Medicamentos Derivados de Plantas no Campo Cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 119, n. 2, p. 305-306, 2022.

SAUTER, Kristin AD et al. Doxorubicin and daunorubicin induce processing and release of interleukin-1 β through activation of the NLRP3 inflammasome: Progress at a snail's pace. **Cancer biology & therapy**, v. 11, n. 12, p. 1008-1016, 2011.

SCHOEN, F. J.; MITCHEL, R. N. O coração. **Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchel RN. Robbins. Patologia básica. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier**, p. 415-59, 2008.

SELVARAJ, M., et al. Comparison of mesoporous Al- MCM-41 molecular sieves in the production of p-cimeno for isopropylation of toluene. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 186, n. 1-2, p. 173–186, 2002.

SHABALALA, S. et al. Polyphenols, autophagy and doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Life sciences**, v. 180, p. 160-170, 2017.

SHABALALA, Samukelisiwe C. et al. Aspalathin ameliorates doxorubicin-induced oxidative stress in H9c2 cardiomyoblasts. **Toxicology in Vitro**, v. 55, p. 134-139, 2019.

SHAN, Kesavan; LINCOFF, A. Michael; YOUNG, James B. Anthracycline-induced cardiotoxicity. **Annals of internal medicine**, v. 125, n. 1, p. 47-58, 1996.

SHEIBANI, Mohammad et al. Cardioprotective effects of dapsone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 85, p. 563-571, 2020.

SHEIBANI, Mohammad et al. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: an overview on pre-clinical therapeutic approaches. **Cardiovascular Toxicology**, v. 22, n. 4, p. 292-310, 2022.

SHUKLA, S. K. et al. Cardiovascular friendly natural products: a promising approach in the management of CVD. **Natural product research**, v. 24, n. 9, p. 873-898, 2010.

SILVA, Danielle da Costa; CERCHIARO, Giselle; HONÓRIO, Káthia M. Relações patofisiológicas entre estresse oxidativo e arteriosclerose. **Química nova**, v. 34, p. 300-305, 2011.

SILVA, Eric Aian P. et al. Monoterpenes and their derivatives as agents for cardiovascular disease management: A systematic review and meta-analysis. **Phytomedicine**, v. 88, p. 153451, 2021.

SILVA, M. et al. The Vasorelaxant Effect of p-Cymene in Rat Aorta Involves Potassium Channels. **The Scientific World Journal**, v. 2015, 2015.

SILVA, Mariana Farias Alves da. Efeito da co-encapsulação do terpeno fitol nos parâmetros físico-químicos de nanopartículas de ácido poli lático carregadas com metotrexato. 2021.

SILVA, Sandra Huber; MORESCO, Rafael Noal. Biomarcadores cardíacos na avaliação da síndrome coronariana aguda. **Scientia medica**, v. 21, n. 3, 2011.

SILVEIRA, M.; YOSHIDA, W. B. Isquemia e reperfusão em músculo esquelético: mecanismos de lesão e perspectivas de tratamento. **Jornal vascular brasileiro**, v. 3, n. 4, p. 367-78, 2004.

SIMUNEK, T.; STIRBA, M.; POPELOVÁ, O.; ADAMCOVÁ, M.; HRDINA, R.; GERSL, V. Anthracycline-induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron. **Pharmacological Reports**, Kraków, v. 61, p. 154-171, 2009.

SINGAL PK, SEGSTRO RJ, SINGH RP, KUTRYK MJ: Changes in lysosomal morphology and enzyme activities during the development of adriamycin-induced cardiomyopathy. **The Canadian journal of cardiology**, v. 1, n. 2, p. 139-147, 1985.

SINGAL, P. K.; DEALLY, C. MR; WEINBERG, L. E. Subcellular effects of adriamycin in the heart: a concise review. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 19, n. 8, p. 817-828, 1987.

SOUZA, Américo Azevedo de et al. Terpenos com aplicação cardiovascular. 2015.

SOUZA, Leonardo da Cunha Menezes. Mecanismos de Cardiotoxicidade da Doxorubicina em Ratos Wistar e Potencial Cardioprotetor da Alda-1. 2019.

SOUZA, Nathalie NF et al. Avaliação ecocardiográfica da cardiotoxicidade aguda induzida pela doxorubicina em ratos. **Revista Brasileira de ecocardiografia e imagem cardiovascular**, v. 22, n. 3, p. 20-25, 2009.

SPOSITO, A.C. et al. Timing and dose of statin therapy define its impact on inflammatory and endothelial responses during myocardial infarction. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 31, n. 5, p. 1240-6, 2011.

STANLEY, W.C. et al. Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischaemic conditions: potential for pharmacological interventions. **Cardiovascular Research**, v. 33, p. 243-57, 1997.

STEWART BW, WILD CP, editors. World cancer report 2014. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2014.

SUBRAMANIAN, R. MARHAIN, N. BHATTACHARJEE, A. AHMAD, S. Evaluation of free radical scavenging, antiinflammatory and wound healing effects of Nephelium Lappaceum leaf extract. **Pharmacologyonline**, 2, 93-100. 2018.

SULTANA, S.; NAFEES, S.; KHAN, A. Q. Perillyl alcohol as a protective modulator against rat hepatocarcinogenesis via amelioration of oxidative damage and cell proliferation. **Human & experimental toxicology**, v. 32, n. 11, p. 1179-1192, 2013.

SULTANA, S.; NAFEES, S.; KHAN, A. Q. Perillyl alcohol as a protective modulator against rat hepatocarcinogenesis via amelioration of oxidative damage and cell proliferation. **Human & experimental toxicology**, v. 32, n. 11, p. 1179-1192, 2013.

SUN, J. D-limonene: Safety and clinical applications. **Alternative Medicine Review**, v. 12, n. 3, p. 259–264, 2007.

SUN, Qiang et al. MicroRNA-190 alleviates neuronal damage and inhibits neuroinflammation via Nlrp3 in MPTP-induced Parkinson's disease mouse model. *Journal of cellular physiology*, v. 234, n. 12, p. 23379-23387, 2019.

SUN, Zhan et al. Vitexin attenuates acute doxorubicin cardiotoxicity in rats via the suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis and the activation of FOXO3a. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 12, n. 3, p. 1879-1884, 2016.

SWAIN, S. M.; WHALEY, F. S.; EWER, M. S. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, v. 97, n. 11, p. 2869-2879, 2003.

SZPONAR, Jarosław et al. Produtos naturais para prevenir e gerenciar a cardiotoxicidade induzida por antraciclina: uma revisão abrangente. **Células**, v. 13, n. 13, p. 1151, 2024.

TABASSUM, Rizwana et al. Perillyl alcohol improves functional and histological outcomes against ischemia–reperfusion injury by attenuation of oxidative stress and repression of COX-2, NOS-2 and NF-κB in middle cerebral artery occlusion rats. *European journal of pharmacology*, v. 747, p. 190-199, 2015.

TACHAKITTIRUNGROD, S.; OKONOGLI, S.; CHOWWANAPHOONPOHN, S. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry*, v. 103, n. 2, p. 381-388, 2007.

TAKEMURA, G.; FUJIWARA, H. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from the cardiotoxic mechanisms to management. *Progress in cardiovascular diseases*, v. 49, n. 5, p. 330-352, 2007.

TALALAY, Paul; DINKOVA-KOSTOVA, Albena T. Role of nicotinamide quinone oxidoreductase 1 (NQO1) in protection against toxicity of electrophiles and reactive oxygen intermediates. *Methods in enzymology*, v. 382, p. 355-364, 2004.

TAVARES, J. G. P. et al. Estimulação Elétrica para Reversão da Cardiodepressão na Preparação de Langendorff em Circuito Fechado. In: **V Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2011 May 16-21, 2011, Habana, Cuba**. Springer Berlin Heidelberg, 2013. p. 1230-1233.

TER KEURS, H. E. et al. Role of sarcomere mechanics and Ca²⁺ overload in Ca²⁺ waves and arrhythmias in rat cardiac muscle. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1080, n. 1, p. 248-267, 2006.

THAIPONG, K., BOONPRAKOB, U., CROSBY, K., ZEVALLOS, L.C., BYRNE, DH. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity

from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, v. 19, n. 6-7, p. 669-675, 2006.

THINKRATOK, A., SUWANNAPRAPHA, P., SRISAWAT, R. Safety assessment of hydroethanolic rambutan rind extract: Acute and sub-chronic toxicity studies. *Indian Journal of Experimental Biology*, 52, 989-995, 2014.

THITILERTDECHA, N., TEERAWUTGULRAG, A., RAKARIYATHAM, N. Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. *Food Sci Technol*;41:2029-35, 2008.

TOCCHETTI, C. G. et al. Nitroxyl improves cellular heart function by directly enhancing cardiac sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} cycling. ***Circulation research***, v. 100, n. 1, p. 96-104, 2007.

TONG, J.; GANGULY, P. K.; SINGAL, P. K. Myocardial adrenergic changes at two stages of heart failure due to adriamycin treatment in rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, v. 260, n. 3, p. H909-H916, 1991.

TONON, Carolina R. et al. Liraglutide Pretreatment Does Not Improve Acute Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rats. ***International Journal of Molecular Sciences***, v. 25, n. 11, p. 5833, 2024.

TORRE-AMIONE, Guillermo et al. Tumor necrosis factor- α and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart. *Circulation*, v. 93, n. 4, p. 704-711, 1996.

TOSCAN, Cristiane Menegotto. Atividade antimicrobiana e antioxidante de terpenoides. 2010.

TOUYZ, R.M. et al. Angiotensin II-dependent chronic hypertension and cardiac hypertrophy are unaffected by gp91phox-containing NADPH oxidase. ***Hypertension***, v. 45, p. 530-7, mar. 2005.

TOUYZ, R.M. et al. Expression of a functionally active gp91phox-containing neutrophil-type NAD(P)H oxidase in smooth muscle cells from human resistance arteries: regulation by angiotensin II. ***Circulation Research***, v. 90, p. 1205-13, mai. 2002.

TRABER, M. G.; MANOR, D. Vitamin E. ***Advances in Nutrition: An International Review Journal***, v. 3, n. 3, p. 330–331, mai. 2012.

TSUTAMOTO, Takayoshi et al. Relationship between tumor necrosis factor-alpha production and oxidative stress in the failing hearts of patients with dilated cardiomyopathy. ***Journal of the American college of cardiology***, v. 37, n. 8, p. 2086-2092, 2001.

VAIBHAV, Kumar et al. Delayed administration of zingerone mitigates the behavioral and histological alteration via repression of oxidative stress and intrinsic programmed cell death in focal transient ischemic rats. ***Pharmacology biochemistry and behavior***, v. 113, p. 53-62, 2013.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. ***The International Journal of Biochemistry & Cell Biology***, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VAN DE WERF, F. et al. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation. **European heart journal**, v. 29, n. 23, p. 2909-2945, 2008.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, Oct. 2007.

VASQUEZ-VIVAR J, MARTASEK P, HOGG N, MASTERS BS, PRITCHARD KA JR, KALYANARAMAN B: Endothelial nitric oxide synthase-dependent superoxide generation from adriamycin. **Biochemistry**, v. 36, n. 38, p. 11293-11297, 1997.

VEIGA, E. C. A. et al. Repercussões cardíacas após infarto do miocárdio em ratas submetidas previamente a exercício físico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 100, n. 1, dez. 2012.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VITALE, Roberta; MARZOCCO, Stefania; POPOLO, Ada. Role of oxidative stress and inflammation in doxorubicin-induced cardiotoxicity: A brief account. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 13, p. 7477, 2024.

VYAS, D.; LAPUT, G.; VYAS, A. K. Chemotherapy-enhanced inflammation may lead to the failure of therapy and metastasis. **OncoTargets and therapy**, v. 7, p. 1015, 12 jun. 2014.

WALTERS, A. M.; PORTER, G. A.; BROOKES, P. S. Mitochondria as a drug target in ischemic heart disease and cardiomyopathy. **Circulation research**, v. 111, n. 9, p. 1222-1236, out. 2012.

WANG, C. et al. Role of mitochondrial ATP-sensitive potassium channel-mediated PKC- ϵ in delayed protection against myocardial ischemia/reperfusion injury in isolated hearts of sevoflurane-preconditioned rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 6, p. 528-536, 2015.

WANG, Haidong et al. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **The lancet**, v. 388, n. 10053, p. 1459-1544, 2016.

WANG, Jie et al. Molecular mechanisms of doxorubicin-induced cardiotoxicity: novel roles of sirtuin 1-mediated signaling pathways. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 78, p. 3105-3125, 2021.

WANG, Lintao et al. Doxorubicin-induced systemic inflammation is driven by upregulation of toll-like receptor TLR4 and endotoxin leakage. **Cancer research**, v. 76, n. 22, p. 6631-6642, 2016.

WANG, X.; LI, G.; SHEN, W. Protective effects of D-Limonene against transient cerebral ischemia in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 15, n. 1, p. 699–706, jan. 2018.

WANG, Yongjin et al. Analysis of human electrocardiogram for biometric recognition. *EURASIP journal on Advances in Signal Processing*, v. 2008, p. 1-11, 2007.

WEN, Xi-zhi et al. Phase I study of pegylated liposomal doxorubicin and cisplatin in patients with advanced osteosarcoma. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, p. 1-7, 2022.

WICKENS, A. P. Ageing and the free radical theory. **Respiration physiology**, v. 128, n. 3, p. 379-391, 2001.

WOLK, Kerstin et al. IL-22 and IL-20 are key mediators of the epidermal alterations in psoriasis while IL-17 and IFN- γ are not. **Journal of molecular medicine**, v. 87, p. 523-536, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Noncommunicable diseases. 2023. Disponível em: [Noncommunicable diseases \(who.int\)](https://www.who.int/noncommunicable-diseases). Acessado: 07/02/2024 às 17:51h.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Health Statistics 2023. Geneva: World Health Organization; 2023. Disponível em: [World health statistics 2023: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals \(who.int\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/world-health-statistics-2023). Acessado 07/02/2024 às 18:31h.

XIAO, Bin et al. The true colors of autophagy in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Oncology letters*, v. 18, n. 3, p. 2165-2172, 2019.

YALAMARTHI, Sai Sudha et al. Perillyl alcohol inhibits keratinocyte proliferation and attenuates imiquimod-induced psoriasis like skin-inflammation by modulating NF- κ B and STAT3 signaling pathways. **International Immunopharmacology**, v. 103, p. 108436, 2022.

YANG, Hai-Bing et al. Selenium attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity through Nrf2-NLRP3 pathway. **Biological Trace Element Research**, v. 200, n. 6, p. 2848-2856, 2022.

YEH, E. T.H.; BICKFORD, C. L. Cardiovascular complications of cancer therapy: incidence, pathogenesis, diagnosis, and management. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 53, n. 24, p. 2231-2247, 2009.

YI, Xiaojiao et al. Danhong injection attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats via suppression of apoptosis: network pharmacology analysis and experimental validation. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 929302, 2022.

YIM, T. K. et al. Myocardial protection against ischaemia-reperfusion injury by a Polygonum multiflorum extract supplemented 'Dang-Gui decoction for enriching blood', a compound formulation, ex vivo. **Phytotherapy research**, London, v. 14, n. 3, p. 195-199, 2000.

YONGLIANG, Z. et al. Purification and identification of rambutan (*Nephelium lappaceum*) peel phenolics with evaluation of antioxidant and antiglycation activities in vitro. **International journal of food science & technology**, v. 52, n. 8, p. 1810-1819, 2017.

YOUNG, Robert C.; OZOLS, Robert F.; MYERS, Charles E. The anthracycline antineoplastic drugs. **New England Journal of Medicine**, v. 305, n. 3, p. 139-153, 1981.

YUAN, Y. et al. Antioxidant and cardioprotective effects of *Ilex cornuta* on myocardial ischemia injury. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 15, n. 2, p. 94-104, 2017.

YUSUF, S.; HELD P.; FURBERG C. Update of effects of calcium antagonists in myocardial infarction or angina in light of the second Danish Verapamil Infarction Trial (DAVIT-II) and other recent studies. **American Journal of Cardiology**, v. 67, n. 15, p. 1295-7, 1991.

YVON, Y., E. et al. Relation between chemical composition or antioxidant activity and antihypertensive activity for six essential oils. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 8, p. 184-91, ago. 2012.

ZAMORANO JL, LANCELLOTTI P, RODRIGUEZ et al. ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). **European Heart Journal** 2016; 37: 2768–2801.

ZARE, Masoud Fallah Rajabpour et al. Apigenin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity via reducing oxidative stress and apoptosis in male rats. **Life sciences**, v. 232, p. 116623, 2019.

ZENG, Liya; XIN, Xin; ZHANG, Yalin. Development and characterization of promising Cremophor EL-stabilized o/w nanoemulsions containing short-chain alcohols as a cosurfactant. **RSC advances**, v. 7, n. 32, p. 19815-19827, 2017.

ZHANG, Hanwen et al. Self-maintenance of cardiac resident reparative macrophages attenuates doxorubicin-induced cardiomyopathy through the SR-A1-c-Myc axis. **Circulation Research**, v. 127, n. 5, p. 610-627, 2020.

ZHANG, Jianping et al. Protective effects of tannic acid on acute doxorubicin-induced cardiotoxicity: Involvement of suppression in oxidative stress, inflammation, and apoptosis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 93, p. 1253-1260, 2017.

ZHANG, Lulu et al. Molecular pharmacology and therapeutic advances of monoterpene perillyl alcohol. **Phytomedicine**, p. 155826, 2024.

ZHAO, L.; ZHANG, B. Doxorubicin induces cardiotoxicity through upregulation of death receptors mediated apoptosis in cardiomyocytes. **Scientific reports**, v. 7, 16 mar. 2017.

ZHAO, Xiaopeng et al. Nrf2: a dark horse in doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Cell Death Discovery**, v. 9, n. 1, p. 261, 2023.

ZHONG, H. et al. Salidroside attenuates apoptosis in ischemic cardiomyocytes: a mechanism through a mitochondria-dependent pathway. **Journal of pharmacological sciences**, v. 114, n. 4, p. 399-408, 2010.

ZHONG, Weiting et al. p-Cymene modulates in vitro and in vivo cytokine production by inhibiting MAPK and NF- κ B activation. **Inflammation**, v. 36, n. 3, p. 529-537, 2013.

ZHUANG, Y. Protective effects of rambutan (*Nephelium lappaceum*) peel phenolics on H₂O₂-induced oxidative damages in HepG2 cells and d-galactose-induced aging mice. **Food and Chemical Toxicology**, 2017.

ZIMA, A. V.; BLATTER, L. A. Redox regulation of cardiac calcium channels and transporters. **Cardiovascular research**, v. 71, n. 2, p. 310-321, 2006.

ZUNINO, Franco et al. Protective effect of reduced glutathione against cisplatin-induced renal and systemic toxicity and its influence on the therapeutic activity of the antitumor drug. **Chemico-biological interactions**, v. 70, n. 1-2, p. 89-101, 1989.

ANEXOS



Universidade
Federal de
Sergipe

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DO EFEITO CARDIOPROTETOR DE TERPENOS EM RATOS COM CARDIOTOXICIDADE AGUDA INDUZIDA POR DOXORRUBICINA.", protocolada sob o CEUA nº 3512210222 (ID 000518), sob a responsabilidade de **Prof. Dra. Sandra Lauton Santos e equipe; LUCAS ANDRADE DE SÁ** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Sergipe (CEUA/UFS) na reunião de 16/05/2022.

We certify that the proposal "Evaluation of the cardioprotective effect of terpenes in rats with doxorubicin-induced acute cardiotoxicity.", utilizing 368 Heterogenics rats (368 males), protocol number CEUA 3512210222 (ID 000518), under the responsibility of **Prof. Dra. Sandra Lauton Santos and team; LUCAS ANDRADE DE SÁ** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Sergipe (CEUA/UFS) in the meeting of 05/16/2022.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **05/2022** a **01/2024** Área: **Fisiologia**

Origem: **Biotério da Universidade Federal de Sergipe**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **30 a 90 dias**

N: **368**

Linhagem: **Wistar**

Peso: **150 a 250 g**

Local do experimento: Laboratório de biologia celular e estresse oxidativo.

São Cristóvão, 15 de julho de 2024

Prof. Dr. Josemar Sena Batista
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. Anderson Carlos Marçal
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Sergipe