

EFEITO DO GAMA-ORYZANOL (γ -OZ) SOBRE A TOXICIDADE AGUDA INDUZIDA PELA DOXORRUBICINA NO MÚSCULO SÓLEO DE RATOS

Data de submissão: 09/03/2023

Data de aceite: 02/05/2023

Aline Campos de Souza

Instituto de Biociências, UNESP, Câmpus
Botucatu
Botucatu – SP
<https://lattes.cnpq.br/0588197074171194>

Carol Cristina Vagula de Almeida Silva

Faculdade de Medicina, UNESP, Câmpus
Botucatu
Botucatu – SP
0000-0001-9911-6254

Caroline da Silva Gomes de Almeida

Instituto de Biociências, UNESP, Câmpus
Botucatu
Botucatu – SP
0000-0003-3710-2783

Igor Otavio Minatel

Faculdade de Medicina, UNESP, Câmpus
Botucatu
Botucatu – SP
<http://lattes.cnpq.br/6248830558331598>

Juliana Silva Siqueira

Faculdade de Medicina, UNESP, Câmpus
Botucatu
Botucatu – SP
<http://lattes.cnpq.br/1794868129841404>

Fabiane Valentini Francisqueti-Ferron

Faculdade de Medicina, UNESP, Câmpus
Botucatu
Botucatu – SP
<http://lattes.cnpq.br/8974836677143731>

Matheus Antônio Filiol Belin

Faculdade de Medicina, UNESP, Câmpus
Botucatu
Botucatu – SP
<http://lattes.cnpq.br/0637461691922725>

Thiago Luiz Novaga Palacio

Instituto de Biociências, UNESP, Câmpus
Botucatu
Botucatu – SP
<http://lattes.cnpq.br/0878275422676659>

Núbia Alves Grandini

Faculdade de Medicina, UNESP, Câmpus
Botucatu
Botucatu – SP
<http://lattes.cnpq.br/3782807894588977>

Gabriela Souza Barbosa

Instituto de Biociências, UNESP, Câmpus
Botucatu
Botucatu – SP
<http://lattes.cnpq.br/3271870837509222>

Ana Lucia dos Anjos Ferreira

Faculdade de Medicina, UNESP, Câmpus Botucatu
Botucatu – SP
<http://lattes.cnpq.br/2940051650846541>

Camila Renata Corrêa

Faculdade de Medicina, UNESP, Câmpus Botucatu
Botucatu – SP
<http://lattes.cnpq.br/8515265257310064>

RESUMO: O câncer é uma doença crônica prevalente no mundo todo. Dentre os fármacos utilizados para o tratamento, destaca-se a Doxorubicina. Apesar de sua eficácia, a Dox apresenta efeitos colaterais como a toxicidade na musculatura esquelética. O estresse oxidativo é um dos mecanismos patogênicos envolvidos capaz de ocasionar danos nas células musculares, afetando sua integridade e função. Sendo assim, faz-se necessário investigar alguns mecanismos que desencadeiam essa toxicidade, para que possíveis intervenções possam ser empregadas. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi verificar o efeito do gama-oryzanol(γ -Oz) sobre a toxicidade aguda induzida por Dox no músculo sóleo de ratos. Ratos Wistar, machos (n=32) foram inicialmente randomizados em dois grupos: Controle (C, n=16) que receberam diariamente por gavagem óleo de milho, e o grupo γ -Oz (G, n=16), que receberam diariamente γ -Oz, na concentração de 381mg/Kg, diluído em óleo de milho também via gavagem. Sete dias após esse procedimento, os animais foram novamente redistribuídos: Os animais do grupo controle (n=16) passaram a receber: Controle (n=8), injeção intraperitoneal com solução salina e Dox (n=8) injeção intraperitoneal de 4mg/Kg de Dox; os animais do grupo γ -Oz (n=16) receberam: γ -Oz (n=8) injeção intraperitoneal (IP) com solução salina e γ -Oz + Dox (n=8), injeção intraperitoneal de 4mg/Kg de Dox. 24 horas após a esse procedimento, os animais foram anestesiados (IP) e eutanasiados. Foi coletado o músculo sóleo para a realização das análises de marcadores de dano oxidativo: peroxidação lipídica, carbonilação de proteínas e as enzimas antioxidantes, superóxido dismutase e catalase. Para analisar os dados, Two-way ANOVA com post-hoc Tukey, foi utilizado e adotado $p < 0,05$ para significância. Os resultados mostram que a Dox ocasiona de forma significativa danos oxidativos no músculo sóleo e a diminuição da atividade antioxidante. Esses dados nos permite concluir que a suplementação prévia de γ -Oz pode ser uma estratégia para preservar o músculo sóleo da ocorrência de danos oxidativos.

PALAVRAS-CHAVE: Músculo Esquelético, Doxorubicina, Gama-Oryzanol

EFFECT OF GAMMA-ORYZANOL (γ -OZ) ON DOXORUBICIN-INDUCED ACUTE TOXICITY IN RAT SOLEUS MUSCLE

ABSTRACT: Cancer is a chronic disease prevalent worldwide. Among the drugs used for treatment, doxorubicin stands out. Despite its effectiveness, Dox has side effects such as skeletal muscle toxicity. Oxidative stress is one of the pathogenic controls involved capable of causing damage to muscle cells, affecting their integrity and function. Therefore, it is necessary to investigate some mechanisms that trigger this toxicity, so that possible interventions can be

used. Thus, the objective of this work was to verify the effect of gamma-oryzanol (γ -Oz) on the acute toxicity induced by Dox in the soleus muscle of rats. Male Wistar rats ($n=32$) were initially randomized into two groups: Control (C, $n=16$) that received corn oil daily by gavage, and the γ -Oz group (G, $n=16$), that received daily γ - Oz, at a concentration of 381mg/Kg, diluted in corn oil also via gavage. Seven days after this procedure, the animals were redistributed again: The animals in the control group ($n=16$) began to receive: Control ($n=8$), intraperitoneal injection with saline solution and Dox ($n=8$) intraperitoneal injection of 4mg / Kg of Dox; the animals in the γ -Oz group ($n=16$) received: γ -Oz ($n=8$) intraperitoneal injection (IP) with saline solution and γ -Oz + Dox ($n=8$), intraperitoneal injection of 4mg/Kg of Dox . 24 hours after this procedure, the animals were anesthetized (IP) and euthanized. The soleus muscle was collected for analysis of oxidative damage markers: lipid peroxidation, protein carbonylation and antioxidant enzymes, superoxide dismutase and catalase. Two-way ANOVA with Tukey's post-hoc was used for data analysis and $p<0.05$ was adopted for significance. The results show that Dox significantly causes oxidative damage in the soleus muscle and a decrease in antioxidant activity. These data allow us to conclude that previous γ -Oz supplementation can be a strategy to preserve the soleus muscle from the occurrence of oxidative damage.

KEYWORDS: Skeletal Muscle, Doxorubicin, Gamma-oryzanol

1 | INTRODUÇÃO

A Doxorubicina (Dox), também conhecida como adriamicina, é um quimioterápico do grupo dos antibióticos antracíclicos descoberto nos anos 50, e derivado do pigmento vermelho produzido pela bactéria *Streptomyces peucetius*. (TAN, C., TASAKA, H., YU, K.-P., MURPHY, M. L. & KARNOFSKY, 1967) Seu uso, como agente antineoplásico, iniciou-se nos anos 60, para tratamento de diversos tipos de neoplasias, destacando-se os tumores sólidos e as neoplasias hematológicas, (FERREIRA et al., 2007; MANUELLA PACIFICO DE FREITAS SEGREDO, 2017; POLEGATO, 2011; SEGREDO et al., 2014) sendo utilizada em mais de 50% dos esquemas de tratamento de neoplasias na infância.

A estrutura da Dox consiste em anel tetracíclico com dois grupamentos adjacentes, o grupo quinona/hidroquinona e o grupo aminoaçúcar denominado daunosamina (MINOTTI et al., 2004). Sua atividade antineoplásica deve-se principalmente por sua ação junto ao DNA. Embora os mecanismos exatos de ação não estejam completamente elucidados, sabe-se que essa droga inibe a DNA topoisomerase II (diminuindo o reparo do DNA), bloqueia a DNA polimerase, insere-se entre os pares de base do DNA, impede a síntese de macromoléculas, induz apoptose e gera radicais livres durante sua metabolização (ANJOS FERREIRA et al., 2007).

Apesar de sua eficiente atividade antineoplásica, a Dox possui efeitos adversos que, muitas vezes limitam o tratamento, podendo atingir até 40% dos pacientes (OCTAVIA et al., 2012). Dentre esses efeitos, está a cardiotoxicidade, mielossupressão, nefrotoxicidade, alterações gastrointestinais e a sarcopenia (JUNIOR, 2015). A literatura relata que a incidência da toxicidade cardíaca é a mais comum e tem sido observada desde minutos até

anos após o uso da droga (FERREIRA et al., 2007; SEGREDO et al., 2014). Dessa forma esse quimioterápico pode apresentar tanto uma toxicidade aguda, como a longo prazo, envolvendo vasodilatação, hipotensão e alterações no ritmo, como taquicardia sinusal, taqui- supraventricular paroxística não sustentada, alterações não específicas nos segmentos ST-T, desvio do eixo para a esquerda e diminuição da amplitude do complexo QRS (FERREIRA et al., 2007). Em relação aos outros órgãos e principalmente o músculo esquelético, ainda é desconhecido a relação entre toxicidade aguda e crônica, o que torna relevante esse estudo.

O músculo esquelético é o tecido mais abundante do corpo humano e possui uma variedade de funções estruturais e fisiológicas. Com isso, a lesão da massa muscular, além de resultar em comprometimento estrutural, contribui para complicação de diversas doenças. Indivíduos em condições quimioterápicas, frequentemente sofrem alterações na massa corporal, pela inflamação, aumento do gasto energético e excesso de catabolismo (MARTY et al., 2017). A literatura aponta que diversos mecanismos podem estar associados à disfunção da massa muscular nos pacientes que recebem doxorubicina, dentre eles o estresse oxidativo (MANUELLA PACIFICO DE FREITAS SEGREDO, 2017), o qual é definido pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a defesa antioxidante. (FERREIRA, A. L. & MATSUBARA, 1997)

O estresse oxidativo (EO) decorrente do uso de DOX é fruto de maior formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) no ciclo redox, com a participação do citocromo P450 redutase, NADPH desidrogenase mitocondrial ou pela isoforma endotelial da óxido nítrico sintase (XAVIER, 2017). Além disso, a diminuição da defesa antioxidante endógena, também proporcionada pela DXO, contribui para o desbalanço do estado redox, aumentando o EO e conseqüentemente o surgimento desfechos patológicos decorrentes da formação de produtos tóxicos oriundos da peroxidação lipídica como malondialdeído e a carbonilação de proteínas o que pode acarretar em resultados deletérios, principalmente no músculo esquelético (POLEGATO, 2011; XAVIER, 2017). Sendo assim, na tentativa de prevenir danos musculares pela Dox, trabalhos tem sido realizados com algumas intervenções relacionadas à diminuição do estresse oxidativo. Intervenções com exercícios físicos têm sido empregada nesses casos, uma vez que essa conduta resulta em elevados níveis de proteínas citoprotetoras como o estímulo da produção das enzimas antioxidantes por estimular o fator nuclear NRF-2. (ASHLEY J. SMUDER, ANDREAS N. KAVAZIS, KISUK MIN, [s.d.]; POWERS et al., 2020)

Trabalhos realizados pelo nosso grupo mostram que compostos bioativos são capazes de atenuar o estresse oxidativo evitando a cardiotoxicidade induzida pela Dox (ANJOS FERREIRA et al., 2007; FERREIRA et al., 2007). No entanto no músculo esquelético a literatura não traz pesquisas relacionando esse fato.

1.1 Gama-oryzanol (γ -Oz)

O arroz (*Oriza sativa* L.) representa um alimento de primeira necessidade e constitui-se no principal componente da dieta de metade da população mundial (MINATEL, 2015). Como parte da cultura alimentar de diversas regiões do mundo, este grão tem uma história antiga de cultivo e seleção que gerou uma ampla variedade de espécies, escolhidas pelos consumidores principalmente devido aos aspectos culturais, sabor e valor nutricional. Devido à alta prevalência de deficiências de micronutrientes e o crescente interesse nos alimentos funcionais, o arroz tem recebido foco dos pesquisadores como potencial fonte de micronutrientes bioativos (ZUBAIR M, ANWAR F, ASHRAF M, 2012). O farelo de arroz além de ser uma fonte natural de vitamina E (300 mg/kg), é também rico em γ -Oz (~3.000 mg/kg). (WILSON et al., 2007; ZUBAIR M, ANWAR F, ASHRAF M, 2012)

O γ -Oz é uma mistura de esteril ferulatos ou álcool triterpeno com o grupo carboxílico do ácido ferúlico. Com base na absorvância máxima de 330 nm, ao menos 25 componentes do γ -Oz foram identificados até o momento. Entretanto 5 destes componentes são responsáveis por cerca de 95% do conteúdo total do composto e, em ordem decrescente de concentração, são: cicloartenil *trans*-ferulato (34-44%), 24-metilenocicloartenil *trans*-ferulato (19-26%), campesteril *trans*-ferulato (15-23%), β -sitoesteril *trans*-ferulato (7-17%) e estigmasteril *trans*-ferulato (1-7%) (MINATEL, 2015). Por apresentar característica antioxidante e anti-inflamatória, trabalhos mostram que o γ -Oz tem ação positiva no tratamento de complicações metabólicas da obesidade. (MATTEI et al., 2021; WILSON et al., 2007).

Em relação ao músculo esquelético, trabalho de nosso grupo mostrou que o γ -Oz apresentou ação antioxidante e anti-inflamatória nesse órgão em ratos obesos (MATTEI et al., 2021). No entanto, ainda é desconhecido a respeito da toxicidade aguda induzida por doxorubicina no músculo esquelético. Dessa forma, resultados positivos nesse trabalho podem permitir o desenvolvimento de terapias baseadas na simples substituição dos componentes da dieta, como por exemplo a substituição do arroz branco para o integral.

2 | OBJETIVO

O objetivo do trabalho foi verificar o efeito do γ -Oz sobre a toxicidade aguda induzida por doxorubicina no músculo esquelético de ratos.

3 | METODOLOGIA

3.1 Animais e protocolo experimental

Ratos Wistar, machos (n=32) foram inicialmente randomizados em dois grupos: Controle (C, n=16) que recebeu diariamente por gavage óleo de milho, e o grupo γ -Oz (G,

n=16), que recebeu diariamente γ -Oz, na concentração de 381mg/Kg, diluído em óleo de milho também via gavagem. Sete dias após esse procedimento, os animais foram novamente redistribuídos em quatro grupos: Os animais do grupo controle (n=16) passaram a receber: Controle (C, n=8), injeção intraperitoneal com solução salina e Dox (D, n=8) injeção intraperitoneal de 4mg/Kg de Dox (Cloridrato de Doxorubicina (Rubidox) do Laboratório químico farmacêutico Bergamo Ltda); os animais do grupo γ -Oz (n=16) receberam: γ -Oz (n=8) injeção intraperitoneal (IP) com solução salina e γ -Oz + Dox (n=8), injeção intraperitoneal de 4mg/Kg de Dox. 24 horas após a esse procedimento, os animais foram anestesiados (IP) com Cloridrato de ketamina 200mg/kg + xilazina 30mg/kg e em seguida eutanasiados. O músculo sóleo foi coletado para a realização das análises. O protocolo experimental possui Grau III de invasividade. Os animais foram mantidos no biotério, em caixas plásticas (n=4/caixa) e foi mesurado semanalmente o consumo alimentar e hídrico, em ambiente controlado, (temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade a $55 \pm 5\%$ e ciclos de 12h de iluminação), de acordo com o “*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*” publicado pelo “*U.S. National Institutes of Health*”. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética local com o número 1336/2019.

3.2 Dose de γ -Oz

Partindo do princípio que não encontramos trabalhos com gama-oryzanol e doxorubicina, a dose do presente trabalho foi estabelecida a partir de um estudo publicado de nosso grupo que ofertou uma média de 81mg/Kg de peso de gama-oryzanol para ratos prevenindo a síndrome metabólica cardiorenal.²⁰ Sendo a doxo um mecanismo mais agressivo, foi determinado trabalhar com 381,0 mg/Kg/dia na forma de gavagem diluída em óleo de milho. Os animais do grupo controle receberam apenas gavagem com óleo de milho. O composto foi comprado da Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. (Toshima, Kita-ku, Tokyo), e diluído no veículo NaCl 0,9% para administração via gavagem. O veículo e a forma de administração foram escolhidos segundo Mastinu et al e Rungratanawanich et al.

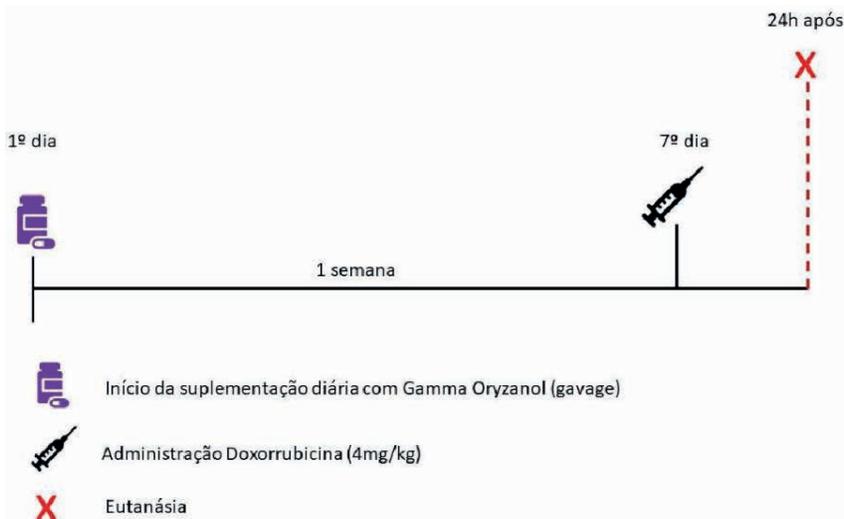


Figura 1. Delineamento experimental

4 I AVALIAÇÕES NO MÚSCULO SÓLEO:

4.1 Quantificação de proteínas no músculo esquelético

A quantificação de proteínas foi determinada em homogenato preparado com PBS pH 7,4 (proporção 1:10 – 0,5g de tecido em 5mL de PBS), através do método Biureto (BERETTA et al., 2006), com a utilização do Kit comercial Proteínas totais monoreagente (BioClin®).

4.2 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo foi avaliado pelas seguintes técnicas:

4.3 Capacidade antioxidante

A determinação da capacidade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP), foi realizada com base no poder antioxidante do Fe^{3+} a Fe^{2+} . Os reagentes incluíram tampão acetato 300 mM (pH 3,6) com 1,6 ml de ácido acético por litro de solução tampão, 2,4,6-tripiridyl-s-triazine (TPTZ) 10 mM em HCl 40 mM e $FeCl_3$ 20 mM. O reagente FRAP de trabalho foi preparado conforme necessário misturando 25 ml de tampão acetato, 2,5 ml de solução de TPTZ e 2,5 ml de solução de $FeCl_3$. Amostras de tecido muscular foram homogeneizadas em PBS e adicionadas a 260 ml de reagente aquecido a 37°C. O complexo entre TPTZ e Fe^{2+} foi lido a 595nm.(BENZIE; STRAIN, 1996)

4.4 Dano oxidativo aos lipídios

As amostras foram homogeneizadas em tampão fosfato de potássio 50mM, pH 7,4, centrifugadas e o sobrenadante coletado e utilizado na análise. A técnica baseia-se na

detecção do Malonaldeído (MDA) proveniente da peroxidação lipídica que reage com o ácido Tiobarbitúrico (TBA) em pH ácido, formando um cromógeno avermelhado mensurado no comprimento de onda 532nm. Ao sobrenadante é adicionado uma solução de TBA-TCA-HCl, e incubado em banho Maria, 100°C por 45 minutos. Após esse tempo as amostras foram centrifugadas durante 5 minutos a 3000rpm e em seguida, 200uL dos sobrenadantes foram pipetados em microplaca para leitura dos valores de absorbância a 532nm. (corrigido pelos valores de absorbância a 600nm). Os resultados foram ajustados de acordo com a quantidade total de proteínas no tecido cardíaco (mg), determinadas pelo método Biureto descrito anteriormente.

4.5 Carbonilação de proteínas

Para a realização do ensaio, o tecido foi homogeneizado (proporção 1:10 – 0,5g de tecido em 5mL de PBS pH 7,4), centrifugado a 3000rpm por 10 minutos, e o sobrenadante coletado para a realização da técnica por um método inespecífico baseado na detecção fotométrica do agente derivatizante DNPH (2,4-dinitrofenil hidrazina). Resumidamente, 10 µL de sobrenadante diluído (1:10) foram incubados em uma solução de DNPH ácido por 10 min. Depois disto, foi adicionado NaOH 1 M e a absorbância verificada a 450nm. Os resultados foram obtidos de acordo com a extinção molecular coeficiente de DNPH e ajustados com a quantidade total de proteínas no tecido cardíaco (mg), determinadas pelo método biureto descrito acima.

4.6 A Atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase:

Os tecidos foram homogeneizados com solução gelada de Cloreto de Potássio (KCl 1,15%) usando o ULTRA-TURRAX® T25 basic IKA ® Werke Staufen/Germany, e centrifugadas a 3500rpm, a 4°C por 10 min. A atividade da superóxido dismutase foi determinada pela técnica de CROUCH et al.(STEFAN L. MARKLUND, 1985), tendo como base a capacidade da enzima inibir a redução do nitroblue-tetrazólico (NBT) por radicais livres gerados pela hidroxilamina em meio alcalino (pH 10). A hidroxilamina gera fluxo de O₂ - do NBT para blue-formazana em temperatura ambiente. Com a adição da amostra, a velocidade de redução do NBT é inibida, conforme a porcentagem de SOD presente na amostra. A atividade da enzima foi expressa em U/mg de proteínas totais (Pt). A atividade da catalase foi determinada em tampão fosfato pH 7,0, utilizando 0,5mL de amostra e peróxido de hidrogênio (30%). As leituras foram realizadas à 240nm.(AEBI, 1984)

4.7 Análise estatística

A análise estatística foi realizada usando GraphPad Prisma versão 8. Os dados paramétricos estão apresentados como média ± desvio-padrão e as comparações entre os grupos foram realizadas por análise de variância paramétrica (ANOVA) e complementadas com o teste *post-hoc* Tuckey. As diferenças foram consideradas significantes quando $p < 0,05$.

51 RESULTADOS

Na Figura 2, estão apresentados os marcadores de estresse oxidativo: a peroxidação lipídica muscular (A), a carbonilação de proteínas (B), a enzima superóxido dismutase (C) e a enzima catalase (D). O grupo Dox apresentou maior concentração do malondialdeído (produto da peroxidação lipídica) e proteínas carboniladas, quando comparado aos grupos Controle e Dox+yOz ($p<0,05$). Enquanto o grupo Control + yOz apresentou menor concentração do malondialdeído, quando comparado aos grupos Control Dox+yOz ($p<0,05$). Em relação as enzimas, a superóxido dismutase apresentou uma concentração menor no grupo Dox quando comparado ao grupo Controle ($p<0,05$), e a catalase se mostrou em maior concentração no grupo Dox + yOz quando comparado aos grupos Dox e Control + yOz ($p<0,05$) e menor concentração no grupo Control quando comparado ao grupo Control + yOz ($p<0,05$).

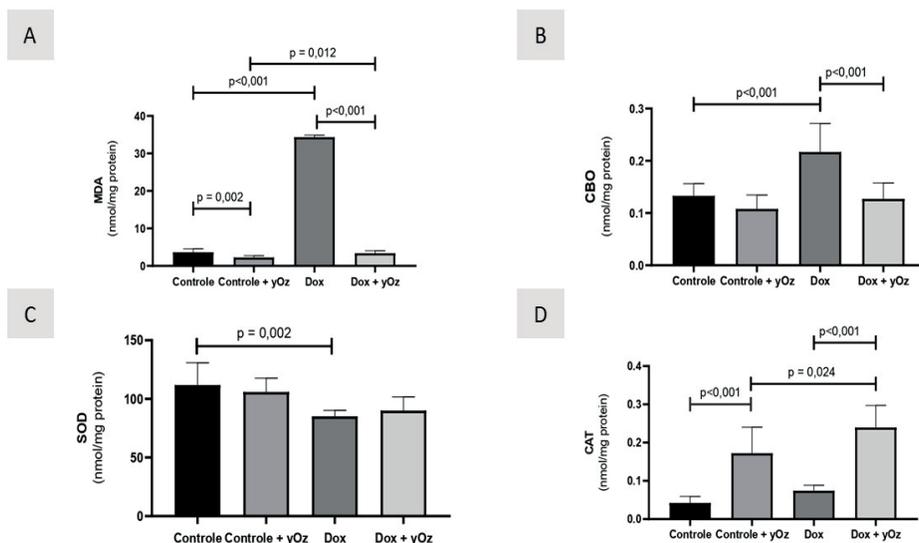


Figura 2. Marcadores de estresse oxidativo. (A) MDA – Malondialdeído (nmol/mg de proteína); (B) CBO - Carbonilação (nmol/mg de proteína); (C) SOD - Superóxido dismutase (nmol/mg de proteína); (D) CAT - Catalase (nmol/mg de proteína). Dados são expressos com média \pm desvio padrão. Comparação por two-way ANOVA com post-hoc Tukey. yOz – Gama-Oryzanol; Dox – Doxorubicina.

Na Figura 3, é apresentada a atividade antioxidante no músculo sóleo por meio do método de redução do ferro (FRAP), os resultados demonstraram que não houve diferenças significativas em relação ao poder antioxidante na comparação dos grupos.

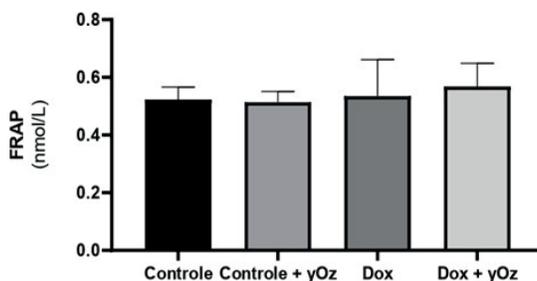


Figura 3. Atividade antioxidante. FRAP – Método de redução do ferro (nmol/L). Dados são expressos com média \pm desvio padrão. yOz – Gamma-Oryzanol; Dox – Doxorubicina.

6 | DISCUSSÃO

Ratos Wistar machos foram submetidos à suplementação com γ -Oz para avaliação do seu efeito sobre a toxicidade aguda induzida por Doxorubicina no músculo esquelético.

O γ -Oz, composto presente no farelo de arroz, possui efeitos conhecidos sobre a supressão da inflamação e do estresse oxidativo interrompendo o ciclo celular do câncer e auxiliando na apoptose das células cancerígenas. No presente estudo, o efeito antioxidante do γ -Oz foi observado através do aumento da atividade das enzimas antioxidantes e da redução de marcadores pró-oxidantes (MDA e CBO) no grupo y-Oz+Dox quando comparado ao grupo Dox.

Embora não existam trabalhos na literatura associando o efeito do γ -Oz no músculo esquelético em modelos clínicos ou experimentais no tratamento de neoplasias, estudos demonstram o efeito do composto sobre o estresse oxidativo nesse tecido em diferentes modelos experimentais, sugerindo que a suplementação com γ -Oz pode exercer papel importante na defesa contra os efeitos nocivos do tratamento de neoplasias com Dox, protegendo o músculo sóleo de prejuízos morfofuncionais.(MATTEI et al., 2021;MAZNAH ISMAIL, 2010;TAENGTHONG et al., 2022)

Desta forma, destaca-se o ineditismo e potencial deste trabalho, permitindo que futuros trabalhos busquem por diferentes vias de atuação do y-Oz no tratamento coadjuvante a pacientes tratados com o quimioterápico, contribuindo com o aumento na acessibilidade no tratamento e melhora na qualidade de vida.

7 | CONCLUSÃO

A suplementação com Gama-Oryzanol preveniu o estresse oxidativo no músculo esquelético de ratos induzido por toxicidade aguda de Doxorubicina.

AGRADECIMENTOS

A Unidade de Pesquisa Experimental de Medicina (UNIPEX), Unesp de Botucatu
A FAPESP 2021/11369-1

REFERÊNCIAS

1. AEBI, H. [13] **Catalase in vitro**. *Methods in Enzymology*, [s.l.], v. 105, n° C, p. 121–126, 1984. ISSN: 0076-6879, DOI: 10.1016/S0076-6879(84)05016-3.
2. ANJOS FERREIRA, A. L. et al. **Effect of lycopene on doxorubicin-induced cardiotoxicity: An echocardiographic, histological and morphometrical assessment**. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, [s.l.], v. 101, p. 16–24, 2007.
3. ASHLEY J. SMUDER, ANDREAS N. KAVAZIS, KISUK MIN, And S. K. P. **Exercise protects against doxorubicin-induced oxidative stress and proteolysis in skeletal muscle**. [s.l.], 2010.
4. BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. **The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay**. *Analytical Biochemistry*, [s.l.], v. 239, n° 1, p. 70–76, 1996. ISSN: 0003-2697, DOI: 10.1006/ABIO.1996.0292.
5. BERETTA, G. et al. **Total antioxidant performance : A validated fluorescence assay for the measurement of plasma oxidizability**. [s.l.], v. 354, p. 290–298, 2006.
6. CHEN, J. et al. **Serine Supplementation Alleviates Doxorubicin-Induced Oxidative Damage in Skeletal Muscle of Mice**. *Frontiers in Physiology*, [s.l.], v. 12, 2021. ISSN: 1664042X, DOI: 10.3389/fphys.2021.727093.
7. FERREIRA, A. L. & MATSUBARA, L. S. **Free radicals: concepts, associated diseases, defense system and oxidative stress**. *Rev Assoc Med Bras*, [s.l.], 1997.
8. FERREIRA, A. L. A. et al. **Doxorubicin as an antioxidant: Maintenance of myocardial levels of lycopene under doxorubicin treatment**. *Free Radical Biology and Medicine*, [s.l.], v. 43, p. 740–751, 2007.
9. JUNIOR, E. **Doxorrubicina causa intolerância à glicose mediada pela inibição da sinalização da AMPk no músculo esquelético**. 32 p. 2015.
10. MANUELLA PACIFICO DE FREITAS SEGREDO. **Papel do estresse oxidativo na cardiotoxicidade aguda e crônica induzida por doxorrubicina** Manuella Pacifico de Freitas Segredo **Papel do estresse oxidativo na cardiotoxicidade aguda e crônica induzida por doxorrubicina**. 2017.
11. MARTY, E. et al. **A review of sarcopenia : Enhancing awareness of an increasingly prevalent disease**. *Bone*, [s.l.], v. 105, p. 276–286, 2017. ISSN: 8756-3282.
12. MATTEI, L. et al. **Antioxidant and anti-inflammatory properties of gamma- oryzanol attenuates insulin resistance by increasing GLUT- 4 expression in skeletal muscle of obese animals**. *Molecular and Cellular Endocrinology*, [s.l.], v. 537, 2021.

13. MAZNAH ISMAIL, G. A.-N. W. A. A. bin M. Z. A. **Gamma-oryzanol rich fraction regulates the expression of antioxidant and oxidative stress related genes in stressed rat's liver**. *Nutrition & Metabolism*, [s.l.], 2010.
14. MINATEL, I. O. **Compostos bioativos em variedades de arroz integral**. [s.l.], 2015.
15. MINOTTI, G. et al. **Anthracyclines: Molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity**. *Pharmacological Reviews*, [s.l.], v. 56, p. 185–229, 2004. ISSN: 00316997.
16. NORREN, K. VAN et al. **Direct effects of doxorubicin on skeletal muscle contribute to fatigue**. *British Journal of Cancer*, [s.l.], v. 100, n° 2, p. 311–314, 2009. ISSN: 15321827, DOI: 10.1038/sj.bjc.6604858.
17. OCTAVIA, Y. et al. **Doxorubicin-induced cardiomyopathy: From molecular mechanisms to therapeutic strategies**. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, [s.l.], v. 52, p. 1213–1225, 2012.
18. POLEGATO, B. F. **Mecanismos envolvidos na cardiotoxicidade aguda induzida pela doxorubicina em ratos**. 73 p. 2011.
19. POWERS, S. K. et al. **Mechanisms of exercise-induced preconditioning in skeletal muscles**. *Redox Biology*, [s.l.], v. 35, p. 101462, 2020. ISSN: 2213-2317.
20. SEGREDO, M. P. D. F. et al. **Oxidative stress on cardiotoxicity after treatment with single and multiple doses of doxorubicin**. *Human and Experimental Toxicology*, [s.l.], v. 33, p. 748–760, 2014. ISSN: 14770903.
21. STEFAN L. MARKLUND. **Product of extracellular-superoxide dismutase catalysis**. [s.l.], 1985.
22. TAENGTHONG, P. et al. **Synergistic effects of curcumin and gamma-oryzanol solid dispersions ameliorate muscle atrophy by upregulating Nrf2 and IGF1/Insulin-Akt-mTOR activities in middle-aged rats**. *Journal of Functional Foods*, [s.l.], v. 99, p. 105318, 2022. ISSN: 1756-4646, DOI: 10.1016/J.JFF.2022.105318.
23. TAN, C., TASAKA, H., YU, K.-P., MURPHY, M. L. & KARNOFSKY, D. A. **Daunomycin, an antitumor antibiotic, in the treatment of neoplastic disease**. *Cancer*, [s.l.], v. 20, p. 333–353, 1967.
24. WILSON, T. A. et al. **Rice bran oil and oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and aortic cholesterol ester accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters B**. [s.l.], v. 18, p. 105–112, 2007.
25. XAVIER, L. da S. **Chá-mate (Ilex paraguariensis) previne a cardiotoxicidade aguda induzida pela doxorubicina em ratos**. 63 p. 2017.
26. ZUBAIR M, ANWAR F, ASHRAF M, U. K. **Characterization of High-Value Bioactives in Some Selected Varieties of Pakistani Rice (Oryza sativa L.)**. *Molecular sciences*, [s.l.], 2012.