



Association of gut microbiota dysbiosis with doxorubicin-induced cardiotoxicity: an in-silico study

Fatemeh Yarmohammadi¹, Ebrahim Barzegari², Mahvash Hesari², Pantea Mohammadi², Mozhan Haji Ghaffari¹

¹Razi Drug Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Medical Biology Research Center, Health Technology Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Received: 2026-07-01

Revised: 2026-08-13

Accepted: 2026-08-19

Abstract

Doxorubicin is one of the most effective chemotherapy agents widely used in the treatment of various malignancies. However, the use of this drug is associated with several side effects such as cardiotoxicity and disruption of the intestinal microbiome balance. The present study aimed to identify possible relationships between intestinal microorganisms, doxorubicin, and its cardiotoxicity. The relationship between the intestinal microbiome and doxorubicin cardiotoxicity was investigated by extracting and identifying important genes in this process. Gene expression data were first normalized and filtered. Then, the distribution of samples and the separation of genes in different experimental groups were examined through PCA plots. Gene clusters related to each other were identified and a list of genes involved in the doxorubicin-microbiome, doxorubicin-cardiotoxicity, and microbiome-cardiotoxicity relationships was extracted. In the next step, common genes were identified, their interaction network was drawn, and functional enrichment analyses were performed for these genes. According to the results, among the final 24 common genes, the Acta2 gene had a central role in the processes related to microbial dysbiosis and doxorubicin-induced cardiotoxicity. Also, the Ccn2, Col1a1, Col3a1, and Postn genes can promote cellular processes in the heart tissue after doxorubicin administration. This study showed that the Acta2 gene can be studied as a candidate drug target to combat doxorubicin-induced cardiotoxicity. Although these findings are derived from computational analyses, experimental validation in *in vitro* and *in vivo* models is required to confirm the results.

Keywords: Cardiotoxicity, Dysbiosis, Doxorubicin

Corresponding Author. Email: yarmohammadif971@gmail.com

How to Cite This Article:

Yarmohammadi F, Barzegari E, Hesari M, Mohammadi P, Haji Ghaffari M. Association of gut microbiota dysbiosis with doxorubicin-induced cardiotoxicity: an in silico study. Nanomeghyas. 2026;():e738953 (In Persian). doi: 10.22034/ns.2026.2093099.1439



This is an open access article under the CC-BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ارتباط دیس بیوز میکروبیوتای روده با سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین: یک مطالعه این سیلیکو

فاطمه یار محمدی^{۱*}، ابراهیم برزگری^۲، مهوش حصاری^۲، پانته آ محمدی^۲، موژان حاجی غفاری^۱

^۱مرکز تحقیقات علوم دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

^۲مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، پژوهشکده فناوری سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۲۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۵/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۴/۱۰

چکیده: دوکسوروبیسین یکی از موثرترین عوامل شیمی درمانی است که در درمان انواع بدخیمی‌های به کار می‌رود. با این وجود، استفاده از این دارو با عوارض جانبی متعددی مانند سمیت قلبی و برهم خوردن تعادل میکروبیوم روده همراه است. مطالعه حاضر با هدف شناسایی روابط احتمالی میان میکروارگانیسم‌های روده، دوکسوروبیسین و سمیت قلبی ناشی از آن انجام شده است. ارتباط میان میکروبیوم روده و سمیت قلبی دوکسوروبیسین، از طریق استخراج و شناسایی ژن‌های مهم در این فرایند مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های بیان ژنی ابتدا نرمالیزه و فیلتر شدند. سپس توزیع نمونه‌ها و تفکیک شدن ژن‌ها در گروه‌های مختلف از طریق نمودار PCA مورد بررسی قرار گرفت. خوشه‌های ژنی مرتبط با یکدیگر شناسایی گردید و فهرست ژن‌های دخیل در روابط دوکسوروبیسین-میکروبیوم، دوکسوروبیسین-سمیت قلبی و میکروبیوم-سمیت قلبی استخراج گردیدند. سپس، ژن‌های مشترک شناسایی شده، شبکه برهمکنشی آنها رسم شده و تحلیل‌های غنی‌سازی عملکردی برای این ژن‌ها صورت گرفت. بر اساس نتایج، از میان ۲۴ ژن مشترک نهایی، ژن Acta2 دارای یک نقش مرکزی در فرآیندهای مرتبط با دیس بیوز میکروبی و سمیت قلب ناشی از دوکسوروبیسین بود. همچنین ژن‌های Col3a1، Col1a1، Ccn2 و Postn می‌توانند پیش‌برنده‌ی فرآیندهای سلولی در بافت قلب، پس از مصرف دوکسوروبیسین می‌باشند. بنابراین ژن Acta2 می‌تواند به عنوان یک کاندید هدف دارویی به منظور مقابله با سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین مورد مطالعه قرار گیرد. اگرچه این یافته‌ها از تحلیل‌های محاسباتی حاصل شده‌اند، اما برای تأیید نتایج، اعتبارسنجی تجربی در مدل‌های آزمایشگاهی (in vitro) و درون تنی (in vivo) مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: سمیت قلبی، دیس بیوزیس، دوکسوروبیسین

نویسنده مسئول: yarmohammadif971@gmail.com

نحوه استناد به این مقاله: یارمحمدی فاطمه، برزگری ابراهیم، حصاری مهوش، محمدی پانته آ، حاجی غفاری موژان. ارتباط دیس بیوز میکروبیوتای روده با سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین: یک مطالعه این سیلیکو. Nanomeghyas. 1405;():e738953. doi: 10.22034/ns.2026.2093099.1439



۱- مقدمه

میکروبیوتای روده (microbiota gut) به میکروارگانیسم‌های ساکن در دستگاه گوارش انسان اشاره دارد [۱] که از هزاران میکروارگانیسم از جمله باکتری‌ها، ویروس‌ها و برخی یوکاریوت‌ها تشکیل شده است [۱]. میکروبیوتای روده عملکردهای مهمی در حفظ فیزیولوژی و سلامت بدن انسان، از جمله تنظیم متابولیسم، ایمنی و سیستم عصبی دارند [۱]. آن نقش اساسی در سنتز ویتامین‌هایی مانند بیوتین، تیامین، کوبالامین، و اسیدهای پانتوتیک و همچنین ویتامین B و K دارد [۲]. علاوه بر این، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه شاخه دار، آمین‌ها، فنل‌ها، ایندول‌ها و اسید فنیل استیک از طریق عملکرد میکروبیوتای روده تولید می‌شوند [۲]. میکروبیوتای روده همچنین در سنتز اسیدهای صفراوی، کلسترول و اسیدهای چرب مزدوج نقش دارند [۲]. به طور کلی، میکروبیوتا روده مسئول متابولیسم عناصر غذایی به اجزای غذایی فعال زیستی است [۳-۲]. این باکتری‌ها می‌توانند کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم مانند سلولز، همی‌سلولز، نشاسته مقاوم، پکتین، الیگوساکاریدها و لیگنین را به اسیدهای چرب زنجیر کوتاه مانند اسیدهای استیک، پروپیونیک و بوتیریک متابولیزه کنند [۱-۲]. عوامل متعددی وجود دارد که می‌توانند ترکیب و عملکرد میکروبیوتای روده را تغییر دهند [۴]. از جمله این عوامل می‌توان به ژنتیک میزبان، رژیم غذایی، سن و آنتی‌بیوتیک‌ها اشاره کرد [۴]. با این حال، ترکیب و عملکرد میکروبیوتای روده در بین افراد نسبتاً پایدار است [۱]. در افراد سالم، میکروبیوتای روده عمدتاً از باکتری‌های مفید و به میزان خیلی کمتر از باکتری‌های مضر تشکیل شده است [۱]. این دو نوع باکتری به صورت پویا متعادل هستند تا وضعیت سلامت میزبان را حفظ کنند [۲]. با این حال، برخی از بیماری‌ها می‌توانند میکروبیوتای روده را با کاهش باکتری‌های مفید و افزایش باکتری‌های مضر به طور قابل توجهی تغییر دهند [۵]. عدم تعادل میکروبیوتای روده به ساختار، ترکیب، کمیت و نسبت میکروبیوتای روده اشاره دارد [۵]. میکروبیوتای روده نامتعادل، وضعیت بیماری را تشدید می‌کند و در نتیجه یک چرخه معیوب ایجاد می‌کند [۱]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که عدم تعادل میکروبیوتای روده ارتباط نزدیکی با بیماری‌های عفونی، التهابی و متابولیکی دارد [۳-۶-۷]. عدم تعادل میکروبیوتای روده منجر به اختلال در ساختار باکتری می‌شود و فرآیندهای متابولیک پایه میزبان را

مختل می‌کند، که ممکن است ارتباط نزدیکی با بروز بیماری‌های قلبی عروقی مانند بیماری عروق کرونر قلب، فشار خون بالا و نارسایی قلبی داشته باشد [۲-۳].

میکروبیوتای دستگاه گوارش انسان، به عنوان پیش‌بینی کننده سلامت انسان و پاسخ درمانی، می‌تواند بر واکنش‌های بدن به انواع درمان‌ها، از اصلاح رژیم غذایی و شیوه زندگی گرفته تا داروها و روش‌های جراحی، تأثیر بگذارد [۸-۹]. تصور می‌شود که میکروبیوتای روده تقریباً با تمام سلول‌های انسان تعامل دارد و به عنوان یک عامل اصلی در متابولیسم میزبان و همچنین منبع جدیدی برای درمان محسوب می‌شود [۸]. یک رابطه مشترک یا هم‌زیستی مفید بین انسان و میکروبیوتای بدن با پیشرفت در فناوری توالی‌یابی و اکتشافات اخیر بیوانفورماتیک ثابت شده است [۱۰-۱۱]. در سال‌های اخیر، باتوسعه سریع استراتژی‌ها در بیوانفورماتیک و علوم زیستی، حجم عظیمی از اطلاعات زیست پزشکی جمع‌آوری شده است که بر اساس آن محققان روش‌های محاسباتی متعددی را برای کشف ارتباط‌های بالقوه بین میکروب‌های انسانی، داروها و بیماری‌ها ایجاد کرده‌اند [۱۰-۱۱]. علاوه بر چالش‌های بالینی، نگرانی‌های زیست‌محیطی مرتبط با داروهای شیمی درمانی از جمله دوکسوروبیسین نیز در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. این ترکیبات پس از دفع از بدن بیماران، از طریق فاضلاب‌های بیمارستانی و شهری وارد محیط‌های آبی می‌شوند و به عنوان آلاینده‌های دارویی نوظهور مطرح هستند. حضور باقیمانده‌های دوکسوروبیسین در اکوسیستم‌های آبی، اگرچه در غلظت‌های پایین، می‌تواند اثرات سمی بر موجودات غیرهدف از جمله ماهی‌ها و سایر آبزیان داشته باشد و بر میکروبیوتای آنها تأثیر بگذارد. از آنجایی که میکروبیوتای روده نقشی کلیدی در متابولیسم و سمیت‌زدایی ترکیبات خارجی دارد، شناخت مکانیسم‌های مولکولی اثر این دارو بر میکروبیوتا می‌تواند نه تنها درک بهتری از سمیت قلبی در انسان ارائه دهد، بلکه زمینه‌ساز توسعه بیومارکرها برای پایش زیستی آلودگی‌های دارویی در محیط‌زیست نیز باشد [۱۴-۱۲].

دوکسوروبیسین (آدریامایسین) یکی از موثرترین عوامل شیمی درمانی است و به طور گسترده برای درمان بدخیمی‌های جامد و هماتوژن مانند سرطان سینه، لنفوم و لوسمی لنفوسیتی حاد استفاده شده است [۱۵]. با این حال، دوکسوروبیسین دارای عوارض جانبی متعددی از جمله آسیب مخاط دستگاه گوارش، آسیب کلیه، کبد و همچنین سمیت قلبی است که کاربرد بالینی آن را محدود می‌کند [۱۵-۱۶]. شدیدترین عارضه جانبی

دوکسوروبیسین کاردیومیوپاتی است که به طور تجمعی وابسته به دوز است [۱۷]. در حال حاضر، هیچ مداخله پیشگیرانه یا درمانی موثری برای کاهش کاردیومیوپاتی ناشی از دوکسوروبیسین وجود ندارد [۱۷]. بنابراین، جستجوی درمانی برای کاهش کاردیومیوپاتی ناشی از دوکسوروبیسین مهم است [۱۷]. یکی دیگر از عوارض شیمی درمانی، دیس بیوز میکروبی روده است که تاثیر مضری، یا از طریق اثر سیتوتوکسیک مستقیم بر روی سلول‌ها یا از طریق تغییر در میکروبیوتای پوشاننده روده، بر مخاط دستگاه گوارش دارد [۱۸]. به نظر می‌رسد دوکسوروبیسین می‌تواند ساختار و ترکیب میکروبیوم روده را تغییر دهد و در نتیجه عملکرد بیولوژیکی آن مانند توانایی متابولیسم را تغییر دهد [۱۸-۱۹]. از سوی دیگر، متابولیسم و پیامدهای دوکسوروبیسین ممکن است تحت تاثیر فرآیندهای متابولیک میکروبی و متابولیت‌های آنها باشد [۲۰]. درک رابطه متقابل بین داروی دوکسوروبیسین و میکروبیوم‌ها و همچنین نحوه تاثیر آن بر عوارض جانبی آن (به ویژه کاردیومیوپاتی) راه را برای مداخلات نسل بعدی داروها برای کاهش عوارض جانبی هموار می‌کند. بنابراین مطالعه حاضر با هدف شناسایی روابط احتمالی بین میکروب‌ها، دوکسوروبیسین و سمیت قلبی ناشی از آن با استفاده از داده‌های بیولوژیکی و مدل‌های محاسباتی انجام گردیده است.

۲. بخش تجربی

۲-۱. انتخاب مجموعه داده‌های بیان ژن

با جستجوی پایگاه‌های داده بیوانفورماتیک با استفاده از کلمات کلیدی "doxorubicin"، "cardiotoxicity" و "microbiota" و اعمال معیارهای ورود اضافی، سه پروفایل بیان ژن در پایگاه داده (GEO) Gene Expression Omnibus شناسایی شدند که الزامات تجزیه و تحلیل را برآورده می‌کردند. در میان آنها، سری‌های GSE71964 و GSE295281 هر دو حاوی داده‌های بیان ژن مرتبط بودند که قرار گرفتن در معرض دوکسوروبیسین و تغییرات میکروبیوم را به هم مرتبط می‌کردند. با این حال، GSE295281 به دلیل اینکه شامل درمان ترکیبی بود، حذف شد. در مطالعه سری GSE71964، داروهای شیمی درمانی، از جمله دوکسوروبیسین به بچه خوک‌ها تجویز شد و نمونه‌های بافت ژژونوم جهت بررسی تاثیر این درمان بر عملکرد های روده‌ای، به‌ویژه بر ترکیب و فعالیت میکروبیوتا، جمع‌آوری گردید.

هدف اصلی این مطالعه بررسی الگوهای بیان ژن در بافت روده تحت تاثیر درمان‌های شیمی درمانی و شناسایی مکانیسم‌های

احتمالی سمیت روده، به منظور کشف بیومارکرها و اهداف درمانی بالقوه بود. در میان داده‌های شناسایی شده، کد GSE286252 شامل اطلاعات بیان ژنی مشترک میان میکروبیوم و سمیت قلبی است. در پژوهش مرتبط با این مجموعه داده، سمیت قلبی ناشی از ایمونوتراپی سرطان و اثر حافظتی داروی مداخله‌گر از طریق روش‌های توالی‌یابی ژنومی، rRNA s16، آنالیز متابولومیک و پیوند میکروبیوتای مدفوع (FMT) مورد بررسی قرار گرفته است [۲۱]. نتایج آن مطالعه نشان داد که داروی حافظتی با تعدیل ترکیب اجتماعی میکروب‌های روده، موجب کاهش اثرات کاردیوتوکسیک و بهبود عملکرد قلب می‌شود. در نهایت، مجموعه داده GSE288168 نیز به عنوان منبعی حاوی اطلاعات بیان ژنی مرتبط با سمیت قلبی ناشی از داروی دوکسوروبیسین مورد استفاده قرار گرفت. این مجموعه شامل داده‌های توالی‌یابی از بافت قلب موش‌های تیمار شده با دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه کنترل است، که تغییرات ترانسکریپتومی در بافت قلب پس از درمان مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱. مشخصات مجموعه داده‌های بیان ژن مورد استفاده

ویژگی	GSE71964	GSE286252	GSE288168
گونه	خوک (Sus)	موش (Mus)	موش صحرایی (Rattus norvegicus)
بافت	ژژونوم (روده کوچک)	قلب	بافت قلب
پلتفرم	Affymetrix	RNA-seq	RNA-seq
داروی تیمار	دوکسوروبیسین	ایمونوتراپی (مهارکننده PD-1)	دوکسوروبیسین
دوز دارو	ذکر نشده	ذکر نشده	ذکر نشده
مدت مواجهه	ذکر نشده	ذکر نشده	ذکر نشده
تعداد نمونه (کنترل/تیمار)	۳/۳	۴/۴	۳/۳
هدف مطالعه	بررسی سمیت روده ای	بررسی سمیت قلبی ناشی از ایمونوتراپی	بررسی سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین
ارتباط با مطالعه حاضر	دوکسوروبیسین - میکروبیوم	میکروبیوم - سمیت قلبی	دوکسوروبیسین - سمیت قلبی

نرمال سازی: داده‌ها با روش Quantile normalization نرمال سازی شدند.

مدل آماری: برای شناسایی ژن‌های با بیان افتراقی، از مدل خطی عمومی (Linear Model) و روش Empirical Bayes برای تخمین واریانس استفاده گردید.

آستانه معناداری: ژن‌هایی با معیارهای زیر به عنوان DEG معنادار در نظر گرفته شدند:

$$|\log_2FC| \geq 1 \text{ (تغییر بیان حداقل ۲ برابر)}$$

$$P\text{-value Adjusted (FDR)} < 0.05 \text{ (با استفاده از روش}$$

Benjamini-Hochberg برای تصحیح آزمون‌های چندگانه)

این آستانه‌ها بر اساس مطالعات پیشین در زمینه تحلیل داده‌های ریزآرایه و RNA-seq (Ritchie et al., 2015) انتخاب شده‌اند.

۲-۳. فیلتر کردن ژن‌های با بیان پایین

به منظور حذف ژن‌های با سطح بیان بسیار پایین که عمدتاً ناشی از نویز پس‌زمینه هستند و سهم قابل‌توجهی در تحلیل‌های بعدی ندارند، از یک رویکرد فیلتر کردن مبتنی بر میانگین بیان استفاده شد. به این ترتیب که میانگین مقادیر بیان (پس از نرمال‌سازی) برای هر ژن در تمام نمونه‌ها محاسبه گردید و ژن‌هایی که میانگین بیان آنها کمتر از آستانه $\log_2(1)$ (معادل عدم بیان یا بیان بسیار ناچیز) بود، حذف شدند. با اعمال این فیلتر و همچنین حذف ژن‌هایی که در بیش از ۵۰٪ از نمونه‌ها فاقد بیان قابل‌تشخیص بودند، تقریباً ۱۰۰۰۰ ژن با بالاترین میانگین بیان برای تحلیل‌های بعدی حفظ شدند. انتخاب این آستانه بر اساس مطالعات پیشین در زمینه تحلیل داده‌های ریزآرایه و RNA-seq صورت گرفته است که حذف ژن‌های کم‌بیان را برای افزایش نسبت سیگنال به نویز و تمرکز بر ژن‌های دارای بیان قابل‌اطمینان توصیه می‌کنند [۲۲]. این عملیات تنها بر روی نمونه‌های گروه کنترل و تیمارهای مرتبط اجرا شد و نمونه‌های مربوط به تیمارهای دیگر در این مرحله لحاظ نشدند.

۲-۴. تحلیل‌های اکتشافی داده‌ها

برای هر یک از مجموعه‌های داده، تحلیل مولفه‌های اصلی (PCA) (Principal components analysis)، خوشه‌بندی با روش k-means clustering و رسم نمودار آتشفشان (Volcano plot) انجام گرفت تا الگوهای بیان ژن و تفاوت‌های گروهی بررسی شوند.

با توجه به ناهمگونی ذاتی موجود میان مجموعه داده‌های استخراج‌شده از مطالعات مختلف (از نظر گونه، بافت، پلتفرم توالی‌یابی، دوز و مدت مواجهه با دارو)، برای کاهش اثر این ناهمگونی بر نتایج نهایی، راهبردهای زیر اتخاذ گردید:

۱. استفاده از رویکرد ژن‌های مشترک (Consensus Gene Approach): به‌جای ادغام مستقیم داده‌ها و انجام متاآنالیز، از روش شناسایی ژن‌های مشترک استفاده شد. در این روش، تنها ژن‌هایی که به‌طور همزمان در هر سه مجموعه داده (یا جفت‌های مربوطه) دارای تغییر بیان بودند، به عنوان کاندیدای نهایی در نظر گرفته شدند. این رویکرد باعث می‌شود که فقط ژن‌هایی که با وجود تفاوت‌های زیستی و فنی، در همه شرایط تکرار شده‌اند، وارد تحلیل نهایی شوند و در نتیجه سوگیری ناشی از ناهمگونی کاهش یابد.

۲. پیش‌پردازش مستقل و یکسان: هر یک از مجموعه داده‌ها به‌طور جداگانه و با استفاده از همان روش‌های نرمال‌سازی (Quantile normalization) و تصحیح $\log_2$ (transformation) پردازش شدند تا اثرات فنی ناشی از تفاوت پلتفرم تا حد ممکن کاهش یابد.

۳. تفکیک روابط دوگانه (Approach Dual Relationship): به‌جای بررسی مستقیم ارتباط سه‌جانبه، روابط به سه رابطه دوگانه (دوکسوروبیسین-میکروبوم، دوکسوروبیسین-سمیت قلبی، میکروبوم-سمیت قلبی) تفکیک شدند و هر رابطه با استفاده از مجموعه داده‌ای که مستقیماً به آن رابطه می‌پرداخت، تحلیل گردید. این روش از مقایسه مستقیم داده‌های ناهمگون جلوگیری می‌کند.

۴. تحلیل شبکه‌ای یکپارچه: پس از شناسایی ژن‌های مشترک، تحلیل شبکه به‌همکنش پروتئین-پروتئین انجام شد تا ژن‌هایی که در مرکز شبکه قرار دارند، صرف‌نظر از مجموعه داده مبدأ، به‌عنوان ژن‌های کلیدی معرفی شوند.

۲-۲. پیش‌پردازش داده‌های بیان ژن

مقادیر بیان ژن ابتدا به روش $\log_2$ تبدیل و سپس با استفاده از روش Quantile نرمالیزه شدند. برای حذف موارد تکراری مرتبط با هر Gene ID، نمونه‌ای با معیار بیشترین میانه (Maximum Median Probe) انتخاب و موارد دیگر حذف شدند.

برای شناسایی ژن‌های با بیان افتراقی (Differentially Expressed Genes - DEGs) بین گروه کنترل و تیمار در هر یک از مجموعه داده‌ها، از روش‌های آماری زیر استفاده شد: نرم‌افزار: کلیه تحلیل‌ها با استفاده از بسته limma (نسخه ۳،۵۰،۰) در محیط R (نسخه ۴،۲،۰) انجام شد.

۲-۵. شناسایی ژن‌های اشتراکی و تحلیل شبکه‌ای

مجموعه ژن‌های معنادار مشترک در سه مجموعه بیانی، با استفاده از نمودار Venn diagram مشخص شدند. سپس شبکه‌های برهم‌کنش ژنی میان این ژن‌ها ترسیم شده و با روش‌های آنالیز توپولوژیکی مورد بررسی قرار گرفتند تا ژن‌ها یا پروتئین‌های کلیدی مرتبط با سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین و ارتباطشان با میکروبیوم روده شناسایی شوند. اطلاعات مربوط به این ژن‌های کلیدی با استفاده از پایگاه جامع اطلاعات ژنی GeneCards مورد بررسی و حاشیه نویسی قرار گرفت.

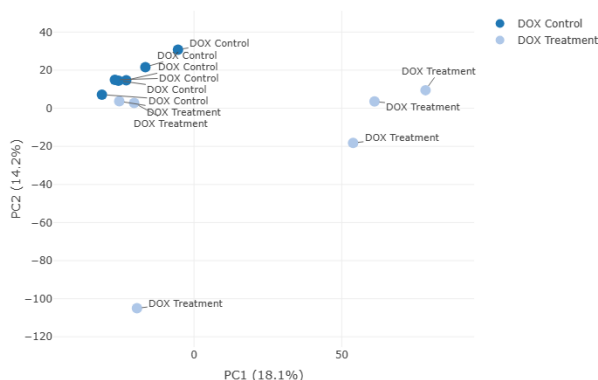
۲-۶. حاشیه‌نویسی و تحلیل عملکردی

اطلاعات حاشیه‌نویسی مربوط به مجموعه ژن‌های کلیدی استخراج شده، از پایگاه‌های داده Gene Ontology (GO)، KEGG، Monarch و TISSUES جمع‌آوری شد و برای تحلیل عملکردی و تفسیر یافته‌ها به کار گرفته شد. این راهنما به منظور استفاده نویسندگان برای نوشتن مقالات فارسی مطابق الگوی نگارش نشریه نانو مقیاس است. رعایت این ضوابط برای نویسندگان محترم الزامی است. لطفاً از تغییر دادن آن خودداری کنید. برای آماده‌سازی مقاله خود از همین قالب استفاده نمایید. نوع صفحه و فواصل از اطراف، در این فایل تنظیم شده است. کافی است نویسندگان محترم، کپی این فایل را در قسمتی از رایانه ذخیره نمایند. پس از آن با کپی و سپس چسباندن متن خود در این فایل، تنظیمات مربوط را انتخاب نمایند. مقاله می‌تواند از بخش‌های مختلفی تشکیل شده باشد اما وجود بخش‌های چکیده، کلمات کلیدی، مقدمه، بخش تجربی (یا محاسبات)، بحث و نتایج، نتیجه‌گیری و مراجع الزامی است. اندازه صفحات A4 و حاشیه‌های بالا، پایین، چپ و راست هر صفحه به ترتیب برابر با ۳، ۲، ۱/۲۷ و ۱/۲۷ سانتی‌متر انتخاب شود. مقالات باید به صورت دو ستونی تهیه شود. عرض هر ستون برابر ۸/۷۷ سانتی‌متر و فاصله بین دو ستون ۰/۹۲ سانتی‌متر است. صفحه اول مقاله باید کاملاً مشابه صفحه اول این مقاله باشد. در صفحه اول از نوشتن سایر موارد خودداری کنید. از شماره‌گذاری صفحات و به کار بردن سرصفحه و پاصفحه خودداری کنید.

۳. بحث و نتایج

۳-۱. تحلیل مولفه‌های اصلی (PCA) نمونه‌های سری بیانی GSE71964

تحلیل PCA (شکل ۱) نشان می‌دهد که تجویز دوکسوروبیسین تأثیر عمده‌ای بر پروفایل بیان ژنی سری GSE71964 داشته است. نمونه‌های تیمار شده با دوکسوروبیسین (DOX treatment) و نمونه‌های کنترل (DOX control) بر اساس بیان ژنی، به صورت خوشه‌های متمایز از یکدیگر قرار گرفته‌اند. این جداسازی بیانگر تأثیر قابل توجه دوکسوروبیسین بر بیان ژن‌های ژنوم و تفاوت واضح میان گروه‌های تیمار و کنترل می‌باشد.

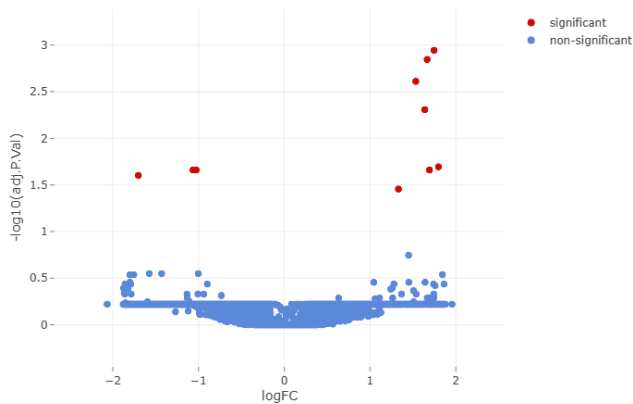


شکل ۱. تجزیه و تحلیل مولفه‌های اصلی (PCA) برای نمونه‌های سری GSE71964 در پاسخ به دوکسوروبیسین. نمودار پراکندگی دو بعدی مولفه‌های اول (PC1) و دوم (PC2) را نشان می‌دهد که به ترتیب ۱۸/۱٪ و ۱۴/۲٪ از واریانس کل داده‌ها را تبیین می‌کنند. نمونه‌های کنترل و نمونه‌های تیمار شده با دوکسوروبیسین در راستای PC1 از یکدیگر جدا شده‌اند که نشان‌دهنده تأثیر عمیق بر پروفایل رونوشت برداری است.

۳-۲. شناسایی خوشه‌های ژنی با روش K-means Clustering در سری بیانی GSE71964

نمودار شکل ۲ حاصل خوشه‌بندی بیان ژن نمونه‌های سری GSE71964 با استفاده از روش K-means Clustering است. با اعمال این روش، تعداد ۱۶ خوشه ژنی بر اساس الگوهای بیان میان نمونه‌های کنترل و تیمار با دوکسوروبیسین شناسایی شدند. این خوشه‌بندی بیانگر تفاوت‌های ساختاری واضح در بیان ژن‌های ژنوم میان گروه‌های تیمار و کنترل بوده و می‌تواند حاکی از اثرات درمان شیمی‌درمانی بر تنظیم شبکه‌های ژنی روده باشد.

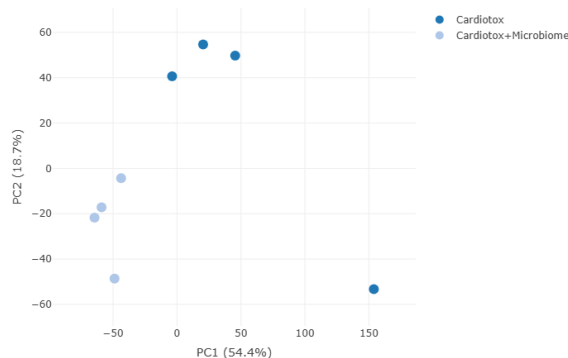
تحلیل کمک می‌کند تا مهم‌ترین اهداف مولکولی تحت تاثیر درمان شیمی‌درمانی شناسایی شوند.



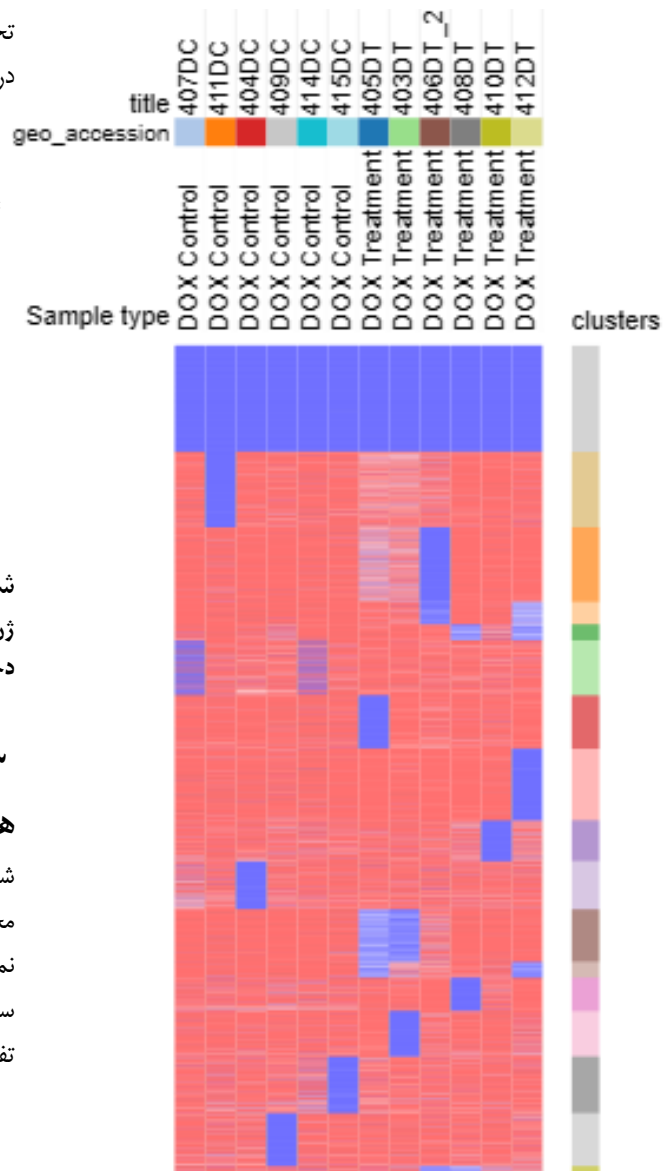
شکل ۳. نمودار آتشفشان برای سری بیانی GSE71964. ژن‌های نمایش داده شده با تفاوت بیان معنادار، اهداف احتمالی دخیل در اثرات سمی دوکسوروبیسین را نشان می‌دهند.

۳-۴. تحلیل مولفه‌های اصلی (PCA) نمونه‌های سری بیانی GSE286252

شکل ۴ مربوط به تحلیل مولفه‌های اصلی (PCA) برای مجموعه داده‌های بیانی GSE286252 است. همانطور که در نمودار نشان داده شده است نمونه‌های مربوط به سمیت قلبی و سمیت قلبی همراه با مداخله میکروبیوم به خوبی از یکدیگر تفکیک شده‌اند.



شکل ۴. نمودار مولفه‌های اصلی برای سری بیانی GSE286252.



شکل ۲. نمودار خوشه‌بندی K-means برای سری بیانی GSE71964. این نمودار تفکیک ۱۶ خوشه ژنی میان نمونه‌های تیمار با دوکسوروبیسین و کنترل را نشان می‌دهد.

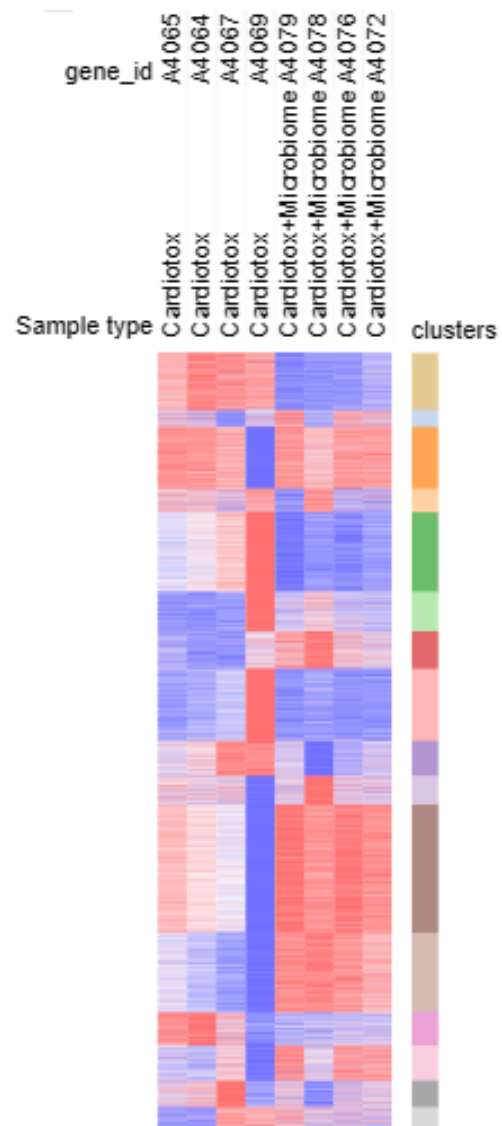
۳-۳. تحلیل نمودار آتشفشان و تفکیک ژن‌های معنادار در سری بیانی GSE71964

شکل ۳ وضعیت تفکیک ژن‌ها بر اساس تفاوت معنادار بیان نمونه‌های کنترل و تیمار شده با دوکسوروبیسین را در سری بیانی GSE71964 نشان می‌دهد. ژن‌هایی که با تغییر بیان معنادار مشخص شده‌اند، با رنگی متفاوت نسبت به ژن‌های غیرمعنادار علامت‌گذاری شده‌اند. از جمله ژن‌های دارای تنظیم مثبت معنادار FKBP7 و LOC100523074 و ژن‌های با تنظیم منفی معنادار شامل CD14، HPS6 و CCDC80 بودند. این

۳-۵. شناسایی خوشه‌های ژنی با روش K-means

Clustering means در سری بیانی GSE286252

نتایج خوشه‌بندی K-means برای مجموعه داده‌های بیانی GSE286252 در شکل ۵ نشان داده شده است. در این تحلیل، ژن‌ها در ۱۶ خوشه مجزا قرار گرفته‌اند. رنگ‌های مختلف در شکل نشان‌دهنده خوشه‌های مختلف هستند.



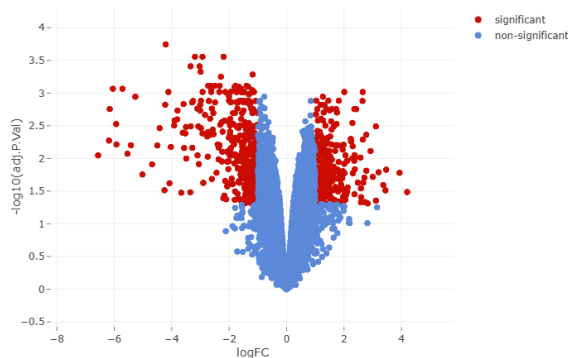
شکل ۵. نمودار خوشه‌بندی K-means برای مجموعه داده‌های بیانی GSE286252.

۳-۶. تحلیل نمودار آتشفشان و تفکیک

ژن‌های معنادار در سری بیانی GSE286252

وضعیت تفکیک ژن‌ها بر اساس تفاوت معنادار بیان نمونه‌های کنترل و تیمار شده با دوکسوروبیسین در سری GSE286252

در شکل ۶ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود ژن‌های بسیار زیادی به صورت معنادار در تعامل میان میکروبیوتا و سمیت قلبی نقش دارند.

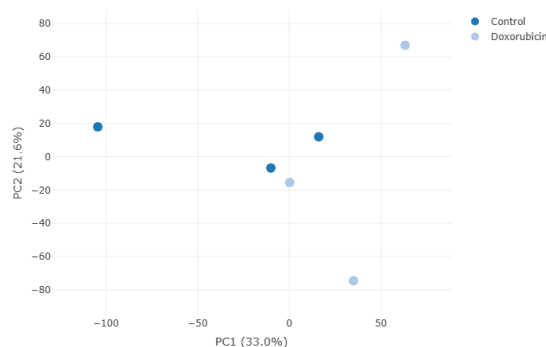


شکل ۶. نمودار آتشفشان برای سری بیانی GSE286252.

۳-۷. تحلیل مولفه‌های اصلی (PCA)

نمونه‌های سری بیانی GSE288168

در مورد پروفایل بیان ژنی GSE288168، بررسی از طریق نمودار PCA نشان داد که نمونه‌های تیمار شده با دوکسوروبیسین و نمونه‌های کنترل به طور نسبی از یکدیگر قابل تمایز هستند (شکل ۷).



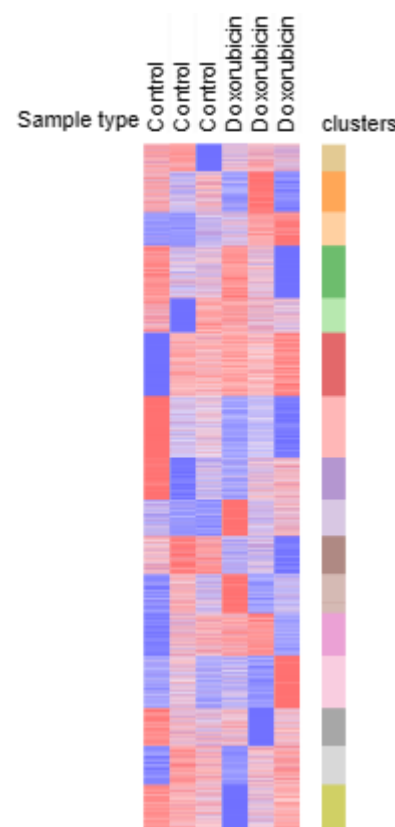
شکل ۷. نمودار مولفه‌های اصلی برای سری بیانی GSE288168.

۳-۸. شناسایی خوشه‌های ژنی با روش K-means

Clustering means در سری بیانی

GSE288168

شکل ۸ خوشه‌بندی بیان ژن نمونه‌های سری GSE288168 با استفاده از روش K-means Clustering را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌گردد ژن‌های مورد مطالعه در ۱۶ خوشه‌ی ژنی خوشه‌بندی شدند.



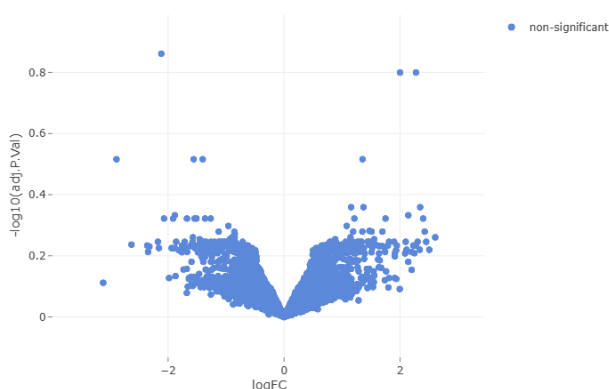
شکل ۸. نمودار خوشه‌بندی برای سری بیانی GSE288168.

۳-۹. تحلیل نمودار آتشفشان و تفکیک

ژن‌های معنادار در سری بیانی GSE288168

همانطور که در شکل ۹ مشاهده می‌شود، تحلیل بیان افتراقی با استفاده از آستانه‌های تعیین شده ($|\text{Log2FC}| \geq 1$ و $\text{FDR} < 0.05$) هیچ ژنی را با تغییر بیان معنادار آماری میان گروه کنترل و گروه تیمار با دوکسوروبیسین نشان نداد. این یافته نشان می‌دهد که اثرات سمی دوکسوروبیسین ممکن است از طریق مکانیسم‌های غیرمستقیم یا در سطوح مختلف تنظیم ژنی (مانند تغییرات اپی‌ژنتیک یا پس‌ترجمه‌ای) اعمال شود و الزاماً با تغییرات قابل تشخیص در سطح بیان mRNA در زمان نمونه‌برداری همراه نباشد.

با این وجود، به منظور بررسی شبکه برهمکنش‌های ژنی و اطمینان از حذف نشدن ژن‌های با اهمیت عملکردی بالقوه، ۲۰ ژن برتر با بالاترین $|\text{Log2FC}|$ (صرف‌نظر از عدم معناداری آماری) به‌عنوان فهرست ژن‌های نامزد (Candidate Gene List) برای تحلیل‌های شبکه‌ای و غنی‌سازی انتخاب شدند. لازم به تأکید است که این ژن‌ها از نظر آماری معنادار نبوده‌اند و به‌عنوان ژن‌های دارای بیان افتراقی معنادار تلقی نمی‌شوند، بلکه صرفاً بر اساس شدت تغییر بیان (Log2FC) به‌عنوان ژن‌های با پتانسیل عملکردی بالا برای بررسی بیشتر در نظر گرفته شدند. برای جلوگیری از سوگیری، این ژن‌ها در تحلیل‌های نهایی ژن‌های مشترک (Venn diagram) با احتیاط وارد شدند و نقش آن‌ها در نتایج نهایی در مقایسه با سایر مجموعه‌های داده که دارای ژن‌های معنادار آماری بودند، به‌صورت ثانویه تفسیر گردید.



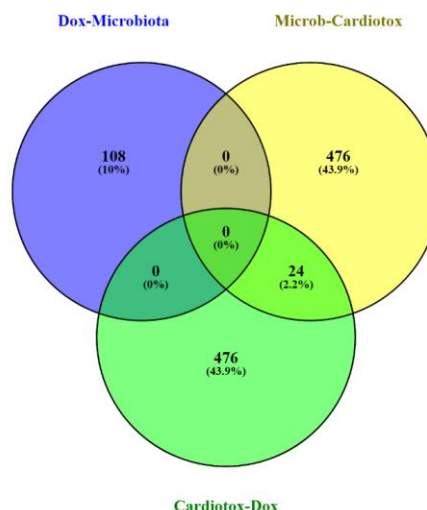
شکل ۹. نمودار آتشفشان برای سری بیانی GSE288168.

۳-۱۰. تحلیل ژن‌های مشترک برای گروه

های ژنی شناسایی شده

تحلیل ژن‌های مشترک میان گروه‌های مختلف با استفاده از نمودار Venn در شکل ۱۰ نشان داده شده است. در این بررسی، ژن‌های مشترکی میان مجموعه‌هایی که پیوند دهنده‌ی دوکسوروبیسین-سمیت قلبی بودند یافت نشد. همچنین، هیچ ژن مشترکی میان مجموعه‌هایی که پیوند دهنده‌ی دوکسوروبیسین-میکروبیوم و پیوند دهنده‌ی دوکسوروبیسین-سمیت قلبی بودند شناسایی نگردید. بررسی مذکور نشان دهنده ۲۴ ژن مشترک میان مجموعه‌هایی است که پیوند دهنده‌ی دوکسوروبیسین-سمیت قلبی و میکروبیوم-سمیت قلبی می‌باشند.

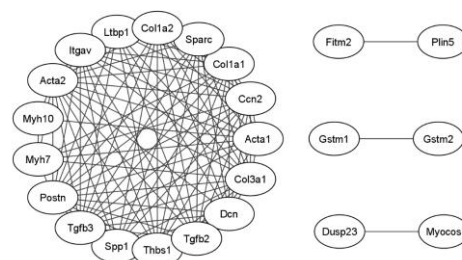
از لحاظ توپولوژیکی، این شبکه شامل ۱۰۸ یال بوده و تعداد متوسط گره‌های مجاور در آن ۱۲/۳ می‌باشد. شاخص درجه متوسط در آن ۶/۳۵ است. ویژگی‌های توپولوژیک ژن‌ها در این شبکه در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس شاخص درجه، بالاترین عدد در این شبکه مربوط به ژن Acta2 با شاخص درجه‌ی ۱۶ می‌باشد، لذا این ژن یک هاب در این شبکه محسوب می‌شود. علاوه بر این ژن، چندین ژن دیگر با شاخص درجه ۱۵ از ژن‌های مهم در عملکردها و فرایندهای مرتبط با سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین می‌باشند. این ژن‌ها شامل Ccn2، Col1a1، Col3a1، و Postn هستند.



شکل ۱۰. دیاگرام ون برای گروه‌های ژنی شناسایی شده در حالت‌های مختلف.

۳-۱۱. شبکه برهم‌کنش پروتئین-پروتئین (PPI) ژن‌های کاندیدای مرتبط با میانجی‌گری میکروبیوم در سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین.

شکل ۱۱، یک شبکه برهم‌کنش پروتئین-پروتئین را برای ژن‌های مرتبط با برهم‌کنش بین دوکسوروبیسین و میکروبیوم و ارتباط آن‌ها با سمیت قلبی را نشان می‌دهد. شبکه دو خوشه عملکردی اصلی را نشان می‌دهد: خوشه چپ (عمدتاً ژن‌های مرتبط با فیروز و رم‌دینگ ماتریکس خارج سلولی تحت تنظیم $TGF-\beta$ ، مانند Col1a1، Tgfb2) و خوشه راست (ژن‌های درگیر در متابولیسم لیپید و پاسخ به استرس اکسیداتیو، مانند Plin5، Gstm1). این شبکه از فرضیه نقش تعدیل‌کننده میکروبیوم روده در سمیت قلبی از طریق تأثیر بر این مسیرها حمایت می‌کند.



شکل ۱۱. شبکه برهم‌کنش‌های ژنی و پروتئینی برای ژن‌های مشترک در محور دوکسوروبیسین-میکروبیوم-سمیت قلبی.

جدول ۲. آنالیز توپولوژی شبکه برهمکنش‌های ژنی

Gene	Average Shortest Path Length	Betweenness Centrality	Closeness Centrality	Degree	Neighborhood Connectivity	Stress	Topological Coefficient
Acta1	1.3125	0.033333	0.761905	11	12.72727	24	0.795455
Acta2	1	0.091376	1	16	12.125	62	0.757813
Ccn2	1.0625	0.021932	0.941176	15	12.8	36	0.8
Col1a1	1.0625	0.021932	0.941176	15	12.8	36	0.8
Col1a2	1.125	0.008043	0.888889	14	13.28571	18	0.830357
Col3a1	1.0625	0.021932	0.941176	15	12.8	36	0.8
Dcn	1.25	0.001591	0.8	12	13.75	4	0.859375
Dusp23	1	0	1	1	1	0	0
Fitm2	1	0	1	1	1	0	0
Gstm1	1	0	1	1	1	0	0
Gstm2	1	0	1	1	1	0	0
Itgav	1.25	0.003535	0.8	12	13.75	8	0.859375
Ltbp1	1.3125	7.58E-04	0.761905	11	14.09091	2	0.880682
Myh10	1.8125	0	0.551724	3	11.33333	0	0.708333
Myh7	1.5625	0.011111	0.64	7	12.85714	8	0.803571
Myocoss	1	0	1	1	1	0	0
Plin5	1	0	1	1	1	0	0
Postn	1.0625	0.021932	0.941176	15	12.8	36	0.8
Sparc	1.3125	0	0.761905	11	14.09091	0	0.880682
Spp1	1.25	0.001591	0.8	12	13.83333	4	0.864583
Tgfb2	1.125	0.008043	0.888889	14	13.28571	18	0.830357
Tgfb3	1.125	0.008043	0.888889	14	13.28571	18	0.830357
Thbs1	1.1875	0.003182	0.842105	13	13.53846	8	0.846154

برای مجموعه‌ی ژنی شناسایی شده در مرحله قبل، تحلیل غنی سازی (Enrichment analysis) در سطح معناداری $p \text{ value} < 1.0e-16$ انجام گردید، که نتایج آن در جدول ۳ نشان داده شده است. در این جدول عبارات حاشیه‌نویسی (Annotation terms) به دست آمده از انواع غنی‌سازی‌ها که بیشترین سطح معناداری (بر اساس شاخص FDR) را نشان می‌دادند آورده شده‌اند. همچنین، فهرست ژن‌هایی که مرتبط با هر غنی‌سازی شناسایی شده‌اند جهت کمک به درک مکانیسم مربوطه، ارائه گردیده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد، از نظر عبارات مرتبط با فرایندهای زیستی، چندین مورد از معنادارترین آیتم‌ها به فرایندهایی اشاره دارند که به رشد و تکوین سیستم گردش خون و رگ‌ها مربوط هستند. علاوه بر آن، در بخش عملکرد نیز آیتم‌هایی مرتبط با این سیستم وجود دارند. از لحاظ اجزاء سلولی، بیشتر

ژن‌های دخیل در شبکه ترسیم شده در بالا، ژن‌هایی هستند که فرایندهای مرتبط با ماتریکس خارج سلولی و ابرساختارهای فیبری و فیبریلی را تنظیم می‌کنند. تحلیل مسیرهای بیوشیمیایی از طریق داده‌های KEGG چندین مسیر را نشان می‌دهد که احتمالاً در بروز سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین با دخالت میکروبیوتای روده نقش دارند. بررسی ارتباط ژن‌های شناسایی شده با بیماری‌ها بر مبنای پایگاه داده‌ی Monarch، دسته‌های مختلف ژنی را نشان می‌دهد که در اختلالات و ناهنجاری‌های مختلف قلب و سیستم عروقی دخالت دارند. همچنین، مطابق با داده‌های پایگاه TISSUES بافت قلب یکی از معنادارترین آیتم‌ها در لیست بافت‌هایی است که ژن‌های شناسایی شده در آن دارای عملکرد می‌باشند.

جدول ۳. تحلیل غنی‌سازی برای شبکه ژنی مشترک میان سمیت قلبی، دوکسوروبیسین میکروبیوتای روده

Annotation category	Term ID	Term description	Observed gene count	Background gene count	Strength	Signal	False discovery rate (FDR)	Matching proteins in the network
GO Process	GO:0001568	Blood vessel development	10	568	1.05	0.96	0.00018	Col1a1, Ltpb1, Ccn2, Itgav, Col1a2, Thbs1, Acta2, Col3a1, Myh10, Tgfb2
	GO:0072359	Circulatory system development	12	993	0.89	0.82	0.00018	Col1a1, Ltpb1, Ccn2, Itgav, Col1a2, Thbs1, Acta2, Col3a1, Myh10, Myh7, Sorbs2, Tgfb2
	GO:0071363	Cellular response to growth factor stimulus	9	498	1.06	0.95	0.00022	Col1a1, Ltpb1, Tgfb3, Sparc, Ccn2, Col1a2, Thbs1, Col3a1, Tgfb2
	GO:0071560	Cellular response to transforming growth factor beta stimulus	6	157	1.39	1.08	0.00047	Col1a1, Ltpb1, Tgfb3, Col1a2, Col3a1, Tgfb2
	GO:0007179	Transforming growth factor beta receptor signaling pathway	5	93	1.54	1.08	0.00076	Ltpb1, Tgfb3, Col1a2, Col3a1, Tgfb2
GO Function	GO:0019838	Growth factor binding	7	144	1.49	1.53	1.47E-05	Col1a1, Ltpb1, Tgfb3, Itgav, Col1a2, Thbs1, Col3a1
	GO:0050840	Extracellular matrix binding	5	59	1.74	1.39	0.00012	Sparc, Itgav, Thbs1, Spp1, Dcn
	GO:0050431	Transforming growth factor beta binding	4	24	2.03	1.42	0.00016	Ltpb1, Tgfb3, Itgav, Thbs1
	GO:0005178	Integrin binding	6	158	1.39	1.16	0.00022	Ccn2, Itgav, Ccn5, Thbs1, Spp1, Col3a1
	GO:0050839	Cell adhesion molecule binding	7	312	1.16	0.95	0.00049	Ccn2, Itgav, Ccn5, Thbs1, Postn, Spp1, Col3a1
GO Component	GO:0048407	Platelet-derived growth factor binding	3	12	2.21	1.11	0.0013	Col1a1, Col1a2, Col3a1
	GO:0031012	Extracellular matrix	13	528	1.2	1.82	1.33E-09	Col1a1, Ltpb1, Tgfb3, Sparc, Ccn2, Ccn5, Col1a2, Thbs1, Fgl2, Postn, Col3a1, Dcn, Tgfb2
	GO:0062023	Collagen-containing extracellular matrix	11	397	1.25	1.81	1.11E-08	Col1a1, Ltpb1, Tgfb3, Sparc, Col1a2, Thbs1, Fgl2, Postn, Col3a1, Dcn, Tgfb2
	GO:0005576	Extracellular region	16	2609	0.6	0.57	0.0002	Col1a1, Ltpb1, Tgfb3, Gstm1, Gstm2, Sparc, Ccn2, Ccn5, Col1a2, Thbs1, Fgl2, Postn, Spp1, Col3a1, Dcn, Tgfb2
	GO:0099512	Supramolecular fiber	11	1064	0.82	0.76	0.0002	Col1a1, Ltpb1, Col1a2, Acta1, Acta2, Ankrd23, Col3a1, Myh10, Dcn, Myh7, Sorbs2, Col1a1, Col1a2, Col3a1
KEGG	GO:0005583	Fibrillar collagen trimer	3	12	2.21	1.29	0.00045	Col1a1, Col1a2, Col3a1
	mmu04512	ECM-receptor interaction	5	86	1.57	1.36	9.36E-05	Col1a1, Itgav, Col1a2, Thbs1, Spp1
	mmu04350	TGF-beta signaling pathway	4	94	1.44	0.9	0.0023	Ltpb1, Tgfb3, Thbs1, Dcn
	mmu04510	Focal adhesion	5	196	1.21	0.83	0.0023	Col1a1, Itgav, Col1a2, Thbs1, Spp1
	mmu04933	AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	4	99	1.41	0.9	0.0023	Col1a1, Tgfb3, Col1a2, Col3a1
Monarch	mmu05146	Amoebiasis	4	102	1.4	0.89	0.0023	Col1a1, Tgfb3, Col1a2, Col3a1
	MP:0000452	Abnormal mouth morphology	9	323	1.25	1.34	1.25E-05	Col1a1, Ltpb1, Tgfb3, Sparc, Ccn2, Itgav, Postn, Dcn, Tgfb2
	MP:0002127	Abnormal cardiovascular system morphology	17	2145	0.71	0.74	1.50E-05	Col1a1, Ltpb1, Tgfb3, Sparc, Ccn2, Itgav, Col1a2, Thbs1, Acta2, Postn, Spp1, Col3a1, Myh10, Fitm2, Myh7, Sorbs2, Tgfb2
	MP:0003743	Abnormal facial morphology	10	522	1.09	1.16	1.50E-05	Col1a1, Ltpb1, Tgfb3, Sparc, Ccn2, Itgav, Acta1, Postn, Dcn, Tgfb2
	MP:0005369	Muscle phenotype	14	1382	0.81	0.85	1.57E-05	Col1a1, Ltpb1, Plin5, Itgav, Col1a2, Acta1, Thbs1, Acta2, Postn, Spp1, Col3a1, Myh10, Myh7, Tgfb2
	MP:0005385	Cardiovascular system	18	2947	0.59	0.59	8.20E-05	Col1a1, Ltpb1, Tgfb3, Sparc,

phenotype								Plin5, Ccn2, Itgav, Col1a2, Thbs1, Acta2, Postn, Spp1, Col3a1, Myh10, Fitm2, Myh7, Sorbs2, Tgfb2
	MP:0005406	Abnormal heart size	10	731	0.94	0.88	0.00015	Col1a1, Sparc, Itgav, Col1a2, Postn, Spp1, Myh10, Myh7, Sorbs2, Tgfb2
	MP:0000266	Abnormal heart morphology	13	1487	0.75	0.7	0.00018	Col1a1, Ltbp1, Sparc, Itgav, Col1a2, Postn, Spp1, Col3a1, Myh10, Fitm2, Myh7, Sorbs2, Tgfb2
TISSUES	BTO:0001593	Osteoblast	9	54	2.03	4.05	7.89E-13	Col1a1, Sparc, Ccn2, Col1a2, Thbs1, Acta2, Postn, Spp1, Dcn
	BTO:0000669	Embryonic cell line	8	109	1.67	2.58	3.60E-09	Col1a1, Sparc, Ccn2, Ccn5, Col1a2, Thbs1, Acta2, Spp1
	BTO:0001486	Skeletal system	11	433	1.21	1.73	1.41E-08	Col1a1, Sparc, Ccn2, Col1a2, Acta1, Thbs1, Acta2, Postn, Spp1, Dcn, Myh7
	BTO:0001958	Embryonic fibroblast cell line	6	49	1.9	2.46	7.36E-08	Col1a1, Sparc, Ccn2, Thbs1, Acta2, Spp1
	BTO:0000088	Cardiovascular system	14	1080	0.92	1.16	8.13E-08	Col1a1, Plin5, Ccn2, Gdpd1, Stard10, Thbs1, Acta2, Sec31b, Ldhd, Postn, Dcn, Fitm2, Myh7, Sorbs2
	BTO:0000562	Heart	11	967	0.86	0.88	3.17E-05	Plin5, Ccn2, Gdpd1, Stard10, Thbs1, Acta2, Sec31b, Postn, Dcn, Fitm2, Myh7

در مطالعه حاضر، برهمکنش‌های ژنی تعیین‌کننده در سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین و ارتباط آن با دیس‌بیوز میکروبی روده با استفاده از رویکرد محاسباتی و شبکه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور از پروفایل‌های بیانی ژنها که در مطالعات مربوطه به دست آمده‌اند برای استخراج فهرست‌های مختلفی از ژن‌ها استفاده گردید. رابطه سه جانبه در محور میکروبیوم-سمیت قلبی-دوکسوروبیسین به سه رابطه دوگانه شامل دوکسوروبیسین-میکروبیوم، دوکسوروبیسین-سمیت قلبی و میکروبیوم-سمیت قلبی تفکیک گردید و ژن‌های موثر در هر یک از این موارد، با جستجو در پایگاه‌های داده بیانی و تحلیل بیوانفورماتیکی این داده‌ها شناسایی گردیدند. فصل مشترک این سه مجموعه فاقد ژن خاصی بود، و علاوه بر آن مجموعه ژنی معناداری که مستقیماً نماینده رابطه میان میکروبیوتا و داروی دوکسوروبیسین باشد شناسایی نشد. با این وجود، ژن‌هایی که در تعاملات دوجانبه دوکسوروبیسین-سمیت قلبی و میکروبیوم-سمیت قلبی شناسایی شدند می‌توانند رابطه غیرمستقیمی که میان دوکسوروبیسین و محیط میکروبی روده وجود دارد را آشکار سازند و نقش احتمالی میکروبیوتا در بروز سمیت قلبی را تشریح نمایند.

تجزیه و تحلیل‌های شبکه‌ای نشان داد که ژن Acta2 می‌تواند به عنوان یک هاب در شبکه برهمکنش ژنی در نظر گرفته شود [۲۳-۲۴]. Acta2 (آکتین آلفا ۲ عضله صاف) یک ژن کدکننده پروتئین اکتین ایزوفرم خاص عضلات صاف است که به عنوان یک بیومارکر کلیدی و عامل عملکردی در فرآیند فیروز بافتی شناخته می‌شود [۲۳-۲۴]. در شرایط فیزیولوژیک، این پروتئین در انقباض سلول‌های عضله صاف عروق و اندام‌های داخلی نقش دارد [۲۳-۲۴]. اما در پاسخ به آسیب بافتی، مانند سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین، بیان آن در فیبروبلاست‌های فعال‌شده به طور چشمگیری افزایش یافته و موجب تمایز آن‌ها به میوفیبروبلاست‌ها می‌شود [۲۳-۲۴]. این سلول‌ها با تولید بیش‌ازحد ماتریکس خارج سلولی (مانند کلاژن) و ایجاد خاصیت انقباضی، مستقیماً در ایجاد فیروز قلبی و اختلال عملکرد انقباضی قلب مشارکت می‌کنند [۲۳-۲۴]. در شبکه تحلیلی مطالعه ما، قرارگیری Acta2 در هسته خوشه ژن‌های مرتبط با مسیر TGF- β و رمدلینگ ماتریکس، بر نقش محوری آن در مکانیسم سمیت قلبی تأکید دارد [۲۳-۲۴]. بنابراین، تنظیم بیان Acta2 می‌تواند به عنوان یک حلقه ارتباطی احتمالی بین دیس‌بیوز میکروبیومی و تشدید آسیب قلبی ناشی از دوکسوروبیسین در نظر گرفته شود [۲۳-۲۴].

در مطالعه حاضر، علاوه بر این ژن، چندین ژن دیگر با شاخص‌های توپولوژیک مطلوب، از ژن‌های مهم در عملکردها و فرآیندهای مرتبط با سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین می‌باشند. این ژن‌ها شامل Ccn2، Col1a1، Col3a1 و Postn هستند.

بر اساس یافته‌های این مطالعه و شواهد موجود در منابع علمی، ارتباط میان دیس‌بیوز میکروبیوتای روده و سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین را می‌توان از طریق یک زنجیره علی‌چندمرحله‌ای تبیین نمود: دوکسوروبیسین با ایجاد آسیب به مخاط روده، تغییر در pH و ایجاد استرس اکسیداتیو در

محیط روده، باعث تغییر ترکیب و تنوع میکروبیوتا می‌شود. این تغییرات منجر به کاهش باکتری‌های مفید تولیدکننده اسیدهای چرب زنجیر کوتاه (مانند بوتیرات) و افزایش باکتری‌های فرصت‌طلب می‌گردد که اصطلاحاً دیس‌بیوز نامیده می‌شود. افزایش نفوذپذیری روده و ورود مواد التهابی به گردش خون متعاقب دیس‌بیوز، یکپارچگی سد اپیتلیال روده مختل شده و نفوذپذیری روده افزایش می‌یابد. این وضعیت که به "روده نشت‌کننده" (Leaky Gut) معروف است، باعث عبور لیپوپلی‌ساکارید (LPS) باکتریایی و سایر محصولات التهابی از دیواره روده به جریان خون سیستمیک می‌شود. LPS و سایر الگومودول‌های باکتریایی وارد گردش خون شده و از طریق اتصال به گیرنده‌های TLR4 (Toll-like receptor 4) در سلول‌های قلبی و فیبروبلاست‌ها، یک آبشار التهابی را فعال می‌کنند. این فعال‌سازی منجر به افزایش بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی از جمله TGF- β (Transforming Growth Factor-beta) می‌شود. افزایش TGF- β به عنوان یک محرک قوی، باعث فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ TGF- β /Smad شده و به دنبال آن، بیان ژن‌های کلیدی فیبروتیک افزایش می‌یابد. از جمله این ژن‌ها، ژن Acta2 است که با افزایش بیان خود، فیبروبلاست‌های قلبی را به میوفیبروبلاست‌های انقباضی و تولیدکننده ماتریکس خارج سلولی تبدیل می‌کند. هم‌زمان، ژن‌های Ccn2 (نقش در رمدلینگ بافتی)، Col1a1 و Col3a1 (کلاژن‌های اصلی تشکیل‌دهنده ماتریکس خارج سلولی)، و Postn (تنظیم‌کننده چسبندگی سلولی) نیز افزایش می‌یابند که در نهایت به تجمع کلاژن، کاهش انعطاف‌پذیری بافت قلب و بروز فیروز قلبی و کاردیومیوپاتی منجر می‌شود. بنابراین، ژن‌های شناسایی‌شده در این مطالعه (به‌ویژه Acta2 و سایر ژن‌های شبکه برهمکنش) در واقع حلقه نهایی این زنجیره علی‌را نشان می‌دهند که میکروبیوتای روده و سمیت قلبی را از طریق مسیر التهابی سیستمیک و فعال‌سازی TGF- β به یکدیگر متصل می‌کند. یافته‌های تحلیل شبکه‌ای ما که نشان‌دهنده قرارگیری این ژن‌ها در خوشه‌های مرتبط با مسیر TGF- β و رمدلینگ ماتریکس است، به‌خوبی از این سازوکار حمایت می‌کند.

در تحلیل عملکردی مجموعه ژن‌های شناسایی شده، نقش این ژن‌ها در ساختار بافتی و رشد و تکوین قلب و سایر بخش‌های سیستم قلبی-عروقی به صورت معنادار، بارز و مشهود می‌باشد. همچنین، مشخص گردید که این ژن‌ها در فرآیندهای زیستی و عملکردی مرتبط با سیستم گردش خون دخیل هستند. مسیرهای بیوشیمیایی و اجزای سلولی مهم در این فرآیندها و ژن‌های موثر در آنها شناسایی گردیدند. به طور عمده، نقش فاکتور رشد و پروتئین‌های تشکیل‌دهنده اتصالات سلولی در فرآیندهای مذکور در همه موارد به صورت معنادار دیده می‌شود. علاوه بر حالت طبیعی، تحلیل ژنتیکی بیماری‌ها نشان داد ژن‌های شناسایی شده در اختلالات و ناهنجاری‌های سیستم گردش خون نیز نقش مهمی دارند.

بر اساس تحلیل‌های صورت گرفته، می‌توان هر یک از ژن‌های مهم در شبکه برهمکنش ژنی ترسیم شده در این مطالعه را به عنوان اهداف دارویی به منظور مقابله با نقش میکروبیوم در سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین

در نظر گرفت. بررسی عملکرد ملکولی هر یک از این ژن‌ها و ارتباط آن با پاتوژن سمیت قلبی و فارماکوژنومیک داروی دوکسوروبیسین به انتخاب مناسب‌ترین هدف دارویی کمک خواهد کرد.

علاوه بر چالش‌های بالینی مرتبط با سمیت قلبی دوکسوروبیسین، نگرانی‌های زیست‌محیطی ناشی از حضور این ترکیب دارویی در اکوسیستم‌های آبی نیز حائز اهمیت است. دوکسوروبیسین و سایر داروهای ضدسرطان از طریق دفع از بدن بیماران، دفع نشدن کامل در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب و تخلیه پساب‌های بیمارستانی وارد محیط‌های آبی می‌شوند. اگرچه غلظت این ترکیبات در منابع آبی معمولاً در سطح نانوگرم تا میکروگرم در لیتر گزارش شده است، اما مواجهه مزمن موجودات آبی با این آلاینده‌های دارویی می‌تواند اثرات سوئی بر سلامت آنها داشته باشد.

یافته‌های این مطالعه که به شناسایی ژن‌های کلیدی در مسیر فیروز قلبی (مانند Acta2, Ccn2 و کلاژن‌ها) پرداخته است، می‌تواند برای مطالعات زیست‌محیطی نیز مفید باشد. با توجه به محافظت‌شدگی تکاملی مسیرهای مولکولی مرتبط با پاسخ به استرس و فیروز در مهره‌داران، ژن‌های معرفی‌شده در این مطالعه می‌توانند به‌عنوان کاندیدهای اولیه برای بررسی اثرات زیست‌محیطی دوکسوروبیسین بر موجودات غیرهدف مانند ماهی‌ها و سایر آبزیان در نظر گرفته شوند. به‌عنوان مثال، اندازه‌گیری تغییرات بیان ژن‌های مشابه در بافت قلب یا آبخش ماهی‌های مواجهه‌یافته با بقایای داروهای ضدسرطان در محیط‌های آبی، می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر اولیه برای پایش زیستی آلودگی‌های دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

بنابراین، رویکرد میان‌رشته‌ای که یافته‌های سمیت‌شناسی دارویی را با مطالعات زیست‌محیطی تلفیق می‌کند، می‌تواند به درک جامع‌تری از خطرات بالقوه این ترکیبات برای سلامت انسان و اکوسیستم‌های طبیعی منجر شود و زمینه‌ساز توسعه استراتژی‌های پیشگیرانه و کاهش‌دهنده خطر در سطح محیط‌زیست گردد.

۴. محدودیت‌های مطالعه و چشم‌انداز آینده

مطالعه حاضر با استفاده از رویکردهای محاسباتی و داده‌های موجود در پایگاه‌های عمومی انجام شده است و بنابراین دارای محدودیت‌هایی است که باید در تفسیر نتایج مدنظر قرار گیرند. نخست آنکه تمامی یافته‌های این پژوهش بر اساس تحلیل‌های بیوانفورماتیکی و شبکه‌ای به‌دست آمده‌اند و فاقد اعتبارسنجی تجربی در محیط‌های آزمایشگاهی یا مدل‌های حیوانی هستند. از این رو، نتایج این مطالعه را نمی‌توان به‌عنوان شواهد قطعی زیستی در نظر گرفت، بلکه باید آنها را به‌عنوان شواهد اولیه و فرضیه‌ساز تلقی کرد که مسیر را برای طراحی مطالعات تجربی آینده هموار می‌سازد. علاوه بر موارد فوق، ناهمگونی بین مجموعه‌های داده از نظر گونه (موش و خوک)، بافت (ژژونوم و قلب) و پلتفرم (ریزآرایه و RNA-seq) یکی دیگر از محدودیت‌های این مطالعه محسوب می‌شود. هرچند با استفاده از رویکرد

ژن‌های مشترک سعی در کاهش اثر این ناهمگونی شده است، اما نمی‌توان احتمال حذف برخی ژن‌های با بیان متفاوت در گونه‌ها را نادیده گرفت. بنابراین نتایج به انسان نیازمند مطالعات تاییدی در مدل‌های انسانی یا نمونه‌های بالینی است. مطالعات پیشنهادی برای آینده عبارتند از:

۱. اندازه‌گیری سطح بیان ژن‌های کلیدی شناسایی‌شده با استفاده از روش‌های Real-Time PCR و Western Blot در بافت قلب مدل‌های حیوانی تیمار شده با دوکسوروبیسین.

۲. بررسی تغییرات ترکیب میکروبیوتای روده در مدل‌های حیوانی سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین با استفاده از توالی‌یابی ۱۶S rRNA و مقایسه آن با تغییرات بیان ژن‌های فیروتیک در قلب.

۳. طراحی مطالعات مداخله‌ای با استفاده از پروبیوتیک‌ها برای بررسی نقش تعدیل‌کنندگی میکروبیوم در کاهش سمیت قلبی.

۴. انجام مطالعات Knockout ژنی (به‌ویژه برای ژن Acta2) در مدل‌های حیوانی به منظور تأیید نقش محوری این ژن در مکانیسم سمیت قلبی.

۵. نتیجه‌گیری

در این مطالعه، با استفاده از رویکردهای محاسباتی و تحلیل شبکه‌ای، ارتباط بالقوه میان دیسبیوز میکروبیوتای روده و سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین از طریق شناسایی ژن‌های مشترک در مسیرهای فیروتیک مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های ما نشان داد که ژن Acta2 به‌عنوان یک هاب مرکزی در شبکه برهمکنش ژنی ظاهر می‌شود و همراه با ژن‌های Ccn2, Col1a1, Col3a1 و Postn در فرآیندهای مرتبط با رمدلینگ ماتریکس خارج سلولی و فیروز قلبی نقش دارند. تحلیل‌های غنی‌سازی عملکردی نیز تأیید کرد که این ژن‌ها به‌طور معناداری در مسیر سیگنالینگ TGF- β و تشکیل ساختارهای فیبری در بافت قلب دخیل هستند.

با این حال، با توجه به ماهیت محاسباتی این مطالعه، یافته‌های حاضر را باید به‌عنوان شواهد اولیه و فرضیه‌ساز در نظر گرفت و نه نتایج قطعی. بر اساس این شواهد، فرضیه زیر مطرح می‌شود که تغییرات میکروبیوتای روده ناشی از دوکسوروبیسین، از طریق افزایش نفوذپذیری روده و ورود عوامل التهابی مانند LPS، منجر به فعال‌سازی مسیر TGF- β و افزایش بیان ژن‌های فیروتیک (به‌ویژه Acta2) در قلب می‌شود و در نهایت به فیروز قلبی و کاردیومیوپاتی منجر می‌گردد.

برای تأیید این فرضیه و تعیین اعتبار ژن‌های معرفی‌شده به‌عنوان اهداف دارویی بالقوه، انجام مطالعات تجربی تکمیلی ضروری است، از جمله:

۱. اندازه‌گیری سطح بیان ژن‌های کلیدی (Acta2, Ccn2, Col1a1, Col3a1 و Postn) در بافت قلب مدل‌های حیوانی تیمار شده با دوکسوروبیسین با استفاده از Real-Time PCR و Western Blot.

۲. بررسی تغییرات ترکیب میکروبیوتای روده و ارتباط آن با شدت فیروز قلبی.

۳. طراحی مطالعات مداخله‌ای (مانند پیوند میکروبیوتای مدفوع یا استفاده از پروبیوتیک‌ها) برای بررسی نقش تعدیل‌کنندگی میکروبیوم در کاهش سمیت قلبی.

در صورت تأیید تجربی، ژن‌های معرفی‌شده در این مطالعه، به‌ویژه Acta2، می‌توانند به‌عنوان کاندیدهای هدف دارویی بالقوه برای مقابله با سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین مورد بررسی بیشتر قرار گیرند. همچنین، این یافته‌ها می‌تواند مبنایی برای مطالعات زیست‌محیطی در زمینه پایش اثرات داروهای ضدسرطان بر موجودات غیرهدف باشد.

تعارض در منافع: از طرف نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی در مقاله گزارش نشده است.

حامی مالی: معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

ملاحظات اخلاقی (کد اخلاق): کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه این مطالعه را تایید کرد (IR.KUMS.REC.1403.022)

۵- تشکر و قدردانی

تشکر و قدردانی: نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

- and compositional alterations with aging in the gut microbiota of patients with heart failure,” PLoS one, 12, e0174099, 2017.
- [8] J.E. Wilkinson, E.A. Franzosa, C. Everett, C. Li, F.B. Hu, D.F. Wirth, M. Song, A.T. Chan, “A framework for microbiome science in public health,” Nature medicine, 27, 766–774, 2021.
- [9] T. Ahrodia, S. Das, S. Bakshi, B. Das, “Structure, functions, and diversity of the healthy human microbiome,” Hum. Microbiome health Dis. Part A, 191, 53, 2022.
- [10] E.D. Coelho, A.M. Santiago, J.P. Arrais, J.L. Oliveira, “Computational methodology for predicting the landscape of the human–microbial interactome region level influence,” Journal of bioinformatics and computational biology, 13, 1550023, 2015.
- [11] H. Shokri Garjan, Y. Omid, M. Poursheikhali Asghari, R. Ferdousi, “In-silico computational approaches to study microbiota impacts on diseases and pharmacotherapy,” Gut pathogens, 15, 10, 2023.
- [12] J.P. Besse, J.F. Latour, J. Garric. “Anticancer drugs in surface waters: what can we say about the occurrence and environmental significance of cytotoxic, genotoxic, and endocrine-disrupting compounds in aquatic ecosystems?,” Environ Int, 39, 1, 2012.
- [13] D. Li, H. Chen, H. Liu, D. Schlenk, J. Mu, S. Lacorte, G.G. Ying, L. Xie. “Anticancer drugs in the aquatic ecosystem: Environmental occurrence, ecotoxicological effect and risk assessment,” Environ Int, 153, 106543, 2021.
- [14] A.C. Johnson, M.D. Jürgens, R.J. Williams, K. Kümmerer, A. Kortenkamp, J.P. Sumpter. “Do cytotoxic chemotherapy drugs discharged into rivers pose a risk to the environment and human health?” J Hydrol, 348,2, 2008.
- [1] P.R. Sutradhar, S. Mitra, A.A. Mimi, “The gut microbiota (microbiome) in cardiovascular disease and its therapeutic regulation,” Frontiers in cellular and infection microbiology, 12, 903570, 2022.
- [2] M. Novakovic, A. Rout, T. Kingsley, R. Kirchoff, A. Singh, V. Verma, R. Kant, R. Chaudhary, “Role of gut microbiota in cardiovascular diseases,” World journal of cardiology, 12,110, 2020.
- [3] K.A. Romano, I. Nemet, P. Prasad Saha, A. Haghikia, X.S. Li, M.L. Mohan, B. Lovano, L. Castel, M. Witkowski, J.A. Buffa, Y. Sun, L. Li, C.M. Menge, I. Demuth, M. König, E. Steinhagen-Thiessen, J.A. DiDonato, A. Deb, F. Bäckhed, W.H.W. Tang, S.V. Naga Prasad, U. Landmesser, D.R. Van Wagoner, S.L. Hazen, “Gut microbiota-generated phenylacetylglutamine and heart failure,” Circulation heart failure, 16, e009972, 2023.
- [4] S.K. Masenga, B. Hamooya, J. Hangoma, V. Hayumbu, L.A. Ertuglu, J. Ishimwe, S. Rahman, M. Saleem, C.L. Laffer, F. Elijovich, “Recent advances in modulation of cardiovascular diseases by the gut microbiota,” Journal of human hypertension, 36, 952–959, 2022.
- [5] V.T. Ivashkin, Y.A. Kashukh, “Impact of L-carnitine and phosphatidylcholine containing products on the proatherogenic metabolite TMAO production and gut microbiome changes in patients with coronary artery disease,” Voprosy pitaniia, 88, 25–33, 2019.
- [6] Y. Fan, L. Liang, X. Tang, J. Zhu, L. Mu, M. Wang, X. Huang, S. Gong, J. Xu, T. Liu, T. Zhang, “Changes in the gut microbiota structure and function in rats with doxorubicin-induced heart failure,” Froniers in cellular and infection microbiology, 13, 1135428, 2023.
- [7] T. Kamo, H. Akazawa, W. Suda, A. Saga-Kamo, Y. Shimizu, H. Yagi, Q. Liu, S. Nomura, A.T. Naito, N. Takeda, “Dysbiosis

- expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies,” *Nucleic Acids Res*, 43, 7, 2015.
- [23] F. Nosrati, J. Grillari, M. Azarnia, M. Nabiuni, R. Moghadasali, L. Karimzadeh, I. Lämmermann, “The expression of fibrosis-related genes is elevated in doxorubicin-induced senescent human dermal fibroblasts, but their secretome does not trigger a paracrine fibrotic response in non-senescent cells,” *Biogerontology*, 24, 293–301, 2023.
- [24] H. Ji, W. Ma, X. Liu, H. Chen, Y. Liu, Z. Ren, D. Yin, A. Cai, Z. Zhang, X. Wang, W. Huang, L. Shi, Y. Tian, Y. Yu, X. Wang, Y. Li, Y. Liu, B. Cai, “IFN- γ reprograms cardiac microvascular endothelial cells to mediate doxorubicin transport and influences the sensitivity of mice to doxorubicin-induced cardiotoxicity,” *Experimental and molecular medicine*, 57, 249–263, 2025.
- [15] S. Sritharan, N. Sivalingam, “A comprehensive review on time-tested anticancer drug doxorubicin,” *Life sciences*, 278, 119527, 2021.
- [16] S.Y. van der Zanden, X. Qiao, J. Neefjes, “New insights into the activities and toxicities of the old anticancer drug doxorubicin,” *The FEBS journal*, 288, 6095–6111, 2021.
- [17] M. Sheibani, Y. Azizi, M. Shayan, S. Nezamoleslami, F. Eslami, M.H. Farjoo, A.R. Dehpour, “Doxorubicin-induced cardiotoxicity: an overview on pre-clinical therapeutic approaches,” *Cardiovascular toxicology*, 22, 292–310, 2022.
- [18] A. Avagimyan, T. Gvianishvili, L. Gogiashvili, L. Kakturskiy, N. Sarrafzadegan, A. Aznauryan, “Chemotherapy, hypothyroidism and oral dysbiosis as a novel risk factor of cardiovascular pathology development,” *Current problems in cardiology*, 48, 101051, 2023.
- [19] M. Russo, A. Della Sala, C.G. Tocchetti, P.E. Porporato, A. Ghigo, “Metabolic aspects of anthracycline cardiotoxicity,” *Current treatment options in oncology*, 22, 18, 2021.
- [20] J. Huang, S. Wei, C. Jiang, Z. Xiao, J. Liu, W. Peng, B. Zhang, W. Li, “Involvement of abnormal gut microbiota composition and function in doxorubicin-induced cardiotoxicity,” *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 808837, 2022.
- [21] R. Huang, Z.-Y. Shen, D. Huang, S.-H. Zhao, L.-X. Dan, P. Wu, Q.-Z. Tang, Z.-G. Ma, “Microbiota-indole-3-propionic acid-heart axis mediates the protection of leflunomide against α PD1-induced cardiotoxicity in mice,” *Nature communications*, 16, 2651, 2025.
- [22] M.E. Ritchie, B. Phipson, D. Wu, Y. Hu, C.W. Law, W. Shi, G.K. Smyth, “Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. limma powers differential



Association of gut microbiota dysbiosis with doxorubicin-induced cardiotoxicity: an in-silico study

Fatemeh Yarmohammadi¹, Ebrahim Barzegari², Mahvash Hesari², Pantea Mohammadi², Mozhan Haji Ghaffari¹

¹Razi Drug Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Medical Biology Research Center, Health Technology Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Received: 2026-07-01

Revised: 2026-08-13

Accepted: 2026-08-19

Abstract

Doxorubicin is one of the most effective chemotherapy agents widely used in the treatment of various malignancies. However, the use of this drug is associated with several side effects such as cardiotoxicity and disruption of the intestinal microbiome balance. The present study aimed to identify possible relationships between intestinal microorganisms, doxorubicin, and its cardiotoxicity. The relationship between the intestinal microbiome and doxorubicin cardiotoxicity was investigated by extracting and identifying important genes in this process. Gene expression data were first normalized and filtered. Then, the distribution of samples and the separation of genes in different experimental groups were examined through PCA plots. Gene clusters related to each other were identified and a list of genes involved in the doxorubicin-microbiome, doxorubicin-cardiotoxicity, and microbiome-cardiotoxicity relationships was extracted. In the next step, common genes were identified, their interaction network was drawn, and functional enrichment analyses were performed for these genes. According to the results, among the final 24 common genes, the Acta2 gene had a central role in the processes related to microbial dysbiosis and doxorubicin-induced cardiotoxicity. Also, the Ccn2, Col1a1, Col3a1, and Postn genes can promote cellular processes in the heart tissue after doxorubicin administration. This study showed that the Acta2 gene can be studied as a candidate drug target to combat doxorubicin-induced cardiotoxicity. Although these findings are derived from computational analyses, experimental validation in *in vitro* and *in vivo* models is required to confirm the results.

Keywords: Cardiotoxicity, Dysbiosis, Doxorubicin

Corresponding Author. Email: yarmohammadif971@gmail.com

How to Cite This Article:

Yarmohammadi F, Barzegari E, Hesari M, Mohammadi P, Haji Ghaffari M. Association of gut microbiota dysbiosis with doxorubicin-induced cardiotoxicity: an in silico study. Nanomeghyas. 2026;():e738953 (In Persian). doi: 10.22034/ns.2026.2093099.1439



This is an open access article under the CC-BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).