

Avaliação de Cardiotoxicidade Subclínica Induzida por Doxorubicina em um Modelo de Rato por *Speckle-Tracking*

Assessment of Subclinical Doxorubicin-induced Cardiotoxicity in a Rat Model by Speckle-Tracking Imaging

Yu Kang,* Wei Wang,* Hang Zhao, Zhiqing Qiao, Xuedong Shen, Ben He

Renji Hospital, School of medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, China

* Contribuíram igualmente para o estudo.

Resumo

Fundamento: Apesar dos seus claros benefícios terapêuticos, a cardiotoxicidade induzida pela antraciclina é uma grande preocupação que limita a capacidade de reduzir a morbidade e mortalidade associadas com cânceres. A identificação precoce da cardiotoxicidade induzida por antraciclina é de vital importância para o equilíbrio entre o risco cardíaco e o potencial tratamento do câncer.

Objetivo: Investigar se a análise por *speckle-tracking* pode fornecer uma medida sensível e precisa na detecção de lesão ventricular esquerda induzida por doxorubicina.

Métodos: Ratos Wistar foram divididos em 4 grupos de 8 ratos cada, e doxorubicina foi administrada intraperitonealmente em intervalos semanais de até 4 semanas. Grupo 1: 2,5 mg/kg/semana; Grupo 2: 3 mg/kg/semana; Grupo 3: 3,5 mg/kg/semana; Grupo 4: 4 mg/kg/semana. Foram utilizados 5 ratos adicionais como controles. As imagens ecocardiográficas foram obtidas na linha basal e 1 semana após a última dose do tratamento. Foram analisados o *strain* radial (Srad) e circunferencial (Scirc) e as taxas de *strain* radial (TSrad) e circunferencial (TScirc). Após o experimento, a troponina cardíaca I (cTnI) foi analisada e as amostras cardíacas foram avaliadas histologicamente.

Resultados: Após a exposição à doxorubicina, a FEVE foi significativamente reduzida no grupo 4 ($p = 0,006$), mas permaneceu estável nos outros grupos. Entretanto, após o tratamento, os Srad foram reduzidos nos grupos 2, 3 e 4 ($p < 0,05$). A diminuição dos Srad foi correlacionada com cTnI ($\rho = -0,736$, $p = 0,000$) e os escores de cardiomiopatia ($\rho = -0,797$, $p = 0,000$).

Conclusão: O *strain* radial pode fornecer um índice sensível e não-invasivo na detecção precoce da lesão miocárdica induzida pela doxorubicina. As alterações do *strain* radial apresentaram correlação significativa com lesões miocárdicas e níveis séricos de troponina I cardíaca, indicando que esse parâmetro pode avaliar com precisão a gravidade da cardiotoxicidade. (Arq Bras Cardiol. 2017; 109(2):132-139)

Palavras-chave: Cardiotoxinas; Estresse Oxidativo; Doxorubicina; Ecocardiografia Doppler; Troponina I.

Abstract

Backgrounds: Despite their clear therapeutic benefits, anthracycline-induced cardiotoxicity is a major concern limiting the ability to reduce morbidity and mortality associated with cancers. The early identification of anthracycline-induced cardiotoxicity is of vital importance to assess the cardiac risk against the potential cancer treatment.

Objective: To investigate whether speckle-tracking analysis can provide a sensitive and accurate measurement when detecting doxorubicin-induced left ventricular injury.

Methods: Wistar rats were divided into 4 groups with 8 rats each, given doxorubicin intraperitoneally at weekly intervals for up to 4 weeks. Group 1: 2.5 mg/kg/week; group 2: 3 mg/kg/week; group 3: 3.5mg/kg/week; group 4: 4mg/kg/week. An additional 5 rats were used as controls. Echocardiographic images were obtained at baseline and 1 week after the last dose of treatment. Radial (Srad) and circumferential (Scirc) strains, radial (SRad) and circumferential (SRcirc) strain rates were analyzed. After the experiment, cardiac troponin I (cTnI) was analyzed and the heart samples were histologically evaluated.

Results: After doxorubicin exposure, LVEF was significantly reduced in group 4 ($p = 0.006$), but remained stable in the other groups. However, after treatment, Srad was reduced in groups 2, 3 and 4 (p all < 0.05). The decrease in Srad was correlated with cTnI ($\rho = -0.736$, $p = 0.000$) and cardiomyopathy scores ($\rho = -0.797$, $p = 0.000$).

Conclusion: Radial strain could provide a sensitive and noninvasive index in early detection of doxorubicin-induced myocardial injury. The changes in radial strain had a significant correlation with myocardial lesions and serum cardiac troponin I levels, indicating that this parameter could accurately evaluate cardiotoxicity severity. (Arq Bras Cardiol. 2017; 109(2):132-139)

Keywords: Cardiotoxins; Oxidative Stress; Doxorubicin; Echocardiography, Doppler; Troponin I.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Xuedong Shen e Ben He •

1630 Dongfang Rd, Shanghai, China

E-mail: shenxd@hotmail.com, heben@medmail.com.cn

Artigo recebido em 12/10/2016, revisado em 20/01/2017, aceito em 20/02/2017

DOI: 10.5935/abc.20170097

Introdução

A cardiotoxicidade, que pode ser o resultado do estresse oxidativo cardíaco, é o principal fator limitante da terapia anticancerígena com antraciclina.¹ Técnicas não-invasivas para a identificação de pacientes com alto risco de desenvolver cardiomiopatia induzida por antraciclina são de importância crítica para a prevenção e tratamento dessa complicação. Atualmente, a avaliação de imagem bidimensional por *speckle-tracking* (STI), baseada no rastreamento de detalhes da imagem local quadro a quadro ao longo do ciclo cardíaco, tem sido considerada como um método simples e preciso para a avaliação da mecânica do ventrículo esquerdo.²⁻⁵ Tem sido aplicada para a detecção precoce de lesão miocárdica em cardiopatia isquêmica ou várias cardiomiopatias, tanto em humanos como em modelos animais experimentais, permitindo medidas mais precisas do desempenho sistólico regional do miocárdio.⁶⁻¹⁰

O objetivo desse estudo foi determinar, através de um modelo de rato experimental usando doxorubicina, se o STI poderia fornecer uma medida mais sensível e precisa na detecção de lesão ventricular esquerda.

Métodos

Tratamento de animais

Este protocolo foi aprovado pelo Comitê de Cuidados e Uso de Animais da Universidade Jiaotong de Xangai, e estava em conformidade com o "Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório", publicado pela Academia Nacional de Imprensa. Trinta e sete ratos Wistar machos adultos, pesando $250,4 \pm 4,3$ g, foram alojados em um local com temperatura constante e alimento e água disponíveis livremente. O cálculo do tamanho da amostra foi realizado com base nos seguintes pressupostos: após a exposição à antraciclina, a diferença de valores de *strain* foi de 20% entre os grupos, o desvio padrão dentro do grupo foi de 10%, o poder foi de 0,80, e o nível de significância foi de 0,05. Como resultado, calculamos um tamanho de amostra necessário de 8 ratos em cada grupo de tratamento. Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos de 8 ratos cada, com base no processo publicado por Martin RA et al.,¹¹ com administração de doxorubicina por via intraperitoneal em intervalos semanais de até 4 semanas. Grupo 1: 2,5 mg/kg/semana, dose total de 10 mg/kg; Grupo 2: 3 mg/kg/semana, dose total de 12 mg/kg; Grupo 3: 3,5 mg/kg/semana, dose total de 14 mg/kg; Grupo 4: 4 mg/kg/semana, dose total de 16 mg/kg. Utilizaram-se 5 ratos adicionais como controles, aos quais foi administrada 1 mL de solução salina a 0,9% por via intraperitoneal.

Protocolo ecocardiográfico

As imagens foram obtidas na linha basal e 1 semana após a última dose de tratamento com antraciclina. Os ratos foram anestesiados com uma injeção intraperitoneal de hidrato de cloral a 10% em uma dose de 0,3 mL/Kg. Os ratos foram colocados em decúbito lateral esquerdo e examinados utilizando-se um eco-escâner comercialmente disponível,

Vivid ultrasound cardiovascular system (GE Healthcare Inc., Horten, Noruega), com um transdutor pediátrico com arranjo de fase 10S (11,5MHz) e aplicação cardíaca de alta resolução temporal e espacial. A frequência de transmissão foi de 10 MHz, a profundidade de 2,5 cm e a taxa de quadros foi de 225 quadros por segundo. As imagens bidimensionais (2D) padrão de eixo curto, adquiridas a nível do músculo papilar, foram armazenadas digitalmente para posterior análise *off-line*. As dimensões do ventrículo esquerdo foram medidas utilizando ecocardiografia no modo M no corte de eixo curto do nível papilar médio, e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) foi calculada pelo método de Teicholz.

Utilizou-se o EchoPAC 11.0 (GE Healthcare In, Noruega) para a análise de *strain* radial (Srad), *strain* circunferencial (Scirc), taxa de *strain* radial (TSrad) e circunferencial (TScirc). Este programa de *strain* em 2D monitorou o movimento de refletores fortes que foram observados nas imagens no modo B, quadro a quadro, após segmentar a silhueta ventricular em seis segmentos. A borda endocárdica foi marcada, enquanto a borda externa foi ajustada para se adequar ao contorno epicárdico. O software automaticamente rastreou e calculou o *strain* e a taxa de *strain* nas direções radial e circunferencial ao longo do ciclo cardíaco. O pico sistólico do Srad, Scirc, TSrad e TScirc foi obtido a partir de 6 segmentos a nível dos músculos papilares. Foram calculados os dados de pelo menos três ciclos cardíacos distintos.

Estudo histológico

Uma semana após o fim da administração de doxorubicina, os animais foram sacrificados com uma superdosagem de hidrato de cloral. Foram colhidas amostras de sangue para determinação dos níveis séricos de troponina I cardíaca (cTnI). Os ventrículos esquerdos a nível dos músculos papilares foram fixados em formalina tamponada com fosfato a 10%, embebida em parafina e seccionados com espessura de 5 μ m. Essas seções foram coradas com hematoxilina e eosina. A frequência e a gravidade das lesões miocárdicas induzidas pela doxorubicina foram avaliadas semiquantitativamente por microscopia óptica. As alterações foram classificadas com base no número de miócitos mostrando perda miofibrilar e vacuolização citoplasmática (pontuação de 0 a 3 de acordo com Billingham.¹²) Animais que morreram espontaneamente durante o estudo também foram submetidos à necropsia, mas não foram incluídos na análise dos dados.

Níveis séricos de cTnI

As amostras de sangue foram centrifugadas e as amostras de soro foram congeladas a -80°C até serem analisadas. As concentrações séricas foram determinadas por imunoenensaio (Denley Dragon WellsScan MK 3, Thermo, Finlândia). Os escores de cardiomiopatia foram calculados por um especialista e os níveis de cTnI foram registrados por um técnico, cegado para o processo experimental e dados ecocardiográficos.

Análise estatística

As variáveis contínuas próximas a uma distribuição normal foram expressas como média \pm desvio padrão.

Os dados não-normais, assimétricos, foram expressos como medianas e intervalos interquartis. Utilizou-se o teste K-S para uma amostra para determinar a normalidade dos dados. As diferenças em dados ecocardiográficos antes e após o tratamento, e entre cada grupo, foram determinadas utilizando-se a análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas. Os valores dos níveis de cTnI e os escores de cardiomiopatia entre cada grupo foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis. A análise de Spearman foi utilizada na determinação da correlação entre valores de *strain*, cTnI e cardiomiopatia. Os dados foram analisados através do software SPSS, versão 16.0 (SPSS, Inc, Chicago, IL, EUA). Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Resultados

Toxicidade geral e alterações macro-anatômicas

Um dos ratos do grupo 3 morreu após a terceira dose de doxorubicina. Nenhuma amostra de sangue terminal desse animal estava disponível e, portanto, ele foi excluído do estudo. Na necropsia, foram observadas quantidades excessivas de fluido pericárdico e peritoneal em 4 dos 8 animais do grupo 2, em 6 dos 7 animais do grupo 3 e todos do grupo 4. Também se observou um excesso de fluido no animal que morreu espontaneamente. O acúmulo de fluido não foi encontrado em animais do grupo 1 e nos animais que receberam solução salina.

Funções sistólicas

Não houve diferença significativa na FEVE no início do estudo entre os grupos. Após a exposição à doxorubicina, a FEVE reduziu de $85,50 \pm 1,06\%$ para $82,50 \pm 1,85\%$ ($p = 0,006$) em animais que receberam doxorubicina a 16 mg/kg. No entanto, a FEVE em outros animais que receberam menores doses de doxorubicina não mostrou diferença estatística antes e após o tratamento (Tabela 1).

Análise do strain

Os dados sobre os valores do *strain* e taxa de *strain* em animais nos vários grupos de tratamento foram resumidos na Tabela 1. As características basais dos animais tratados com doxorubicina foram semelhantes às dos controles. Os *strains* radiais foram reduzidos após o tratamento em

animais do grupo 2, grupo 3 e grupo 4 (de $52,1 \pm 5,6\%$ para $43,2 \pm 5,7\%$, $52,5 \pm 5,1\%$ para $38,6 \pm 4,8\%$ e $52,3 \pm 7,3\%$ para $34,6 \pm 7,4\%$ respectivamente, com todos os valores de $p < 0,05$). O *strain* circunferencial foi reduzido de $-17,4 \pm 2,1\%$ para $-14,1 \pm 1,8\%$ no grupo 4 após o tratamento ($p = 0,004$). A redução dos *strains* radiais induzida pela doxorubicina foi relacionada à dose ($p = 0,000$). As taxas de *strain* radial e circunferencial permaneceram estáveis após a exposição, independente das doses de doxorubicina (Tabela 1, Figura 1).

Patologia miocárdica

Os animais tratados com doxorubicina desenvolveram lesões cardíacas que foram identificadas em microscopia óptica. As características dessas lesões, vacuolização citoplasmática e perda miofibrilar, têm sido observadas previamente em modelos animais, bem como em pacientes humanos que receberam quimioterapia com antraciclina.^{13,14} Os dados sobre a incidência e a gravidade das lesões miocárdicas estão resumidos na Tabela 2. A gravidade dessas lesões foi significativamente maior nos grupos 3 e 4 (com 14 mg/kg e 16 mg/kg de doxorubicina, respectivamente) do que naqueles que receberam 12 mg/kg ou 10 mg/kg de doxorubicina. Os corações de todos os grupos controle estavam normais (Figura 2).

Níveis de cTnI

Os níveis de cTnI no grupo de controle e nos grupos 1,2,3,4 foram $7,62$ (3,06) ng/mL, $6,92$ (4,04) ng/mL, $17,03$ (8,46) ng/mL, $22,57$ (12,21) ng/mL e $34,93$ (11,24) ng/mL, respectivamente. Conforme mostrado na Figura 3, os níveis séricos de cTnI no grupo 1 não foram significativamente diferentes daqueles do grupo de controle. No entanto, em comparação com os animais que receberam soro fisiológico, os níveis de cTnI aumentaram significativamente com o aumento das doses cumulativas totais de doxorubicina (Figura 3).

Correlações entre os valores de strain, níveis de cTnI e as lesões histológicas

A diminuição dos valores de *strain* radial exibiu uma clara correlação com a concentração de cTnI (correlação de Spearman $\rho = -0,736$, $p = 0,000$) (Figura 4) e com os escores de cardiomiopatia (correlação de Spearman $\rho = -0,797$, $p = 0,000$) (Figura 5).

Tabela 1 – Índices de *speckle-tracking* e FEVE em ratos tratados com doxorubicina e ratos controle

	Grupo controle			Grupo 1			Grupo 2			Grupo 3			Grupo 4		
	Basal	Depois	Valor de p	Basal	Depois	Valor de p	Basal	Depois	Valor de p	Basal	Depois	Valor de p	Basal	Depois	Valor de p
FEVE (%)	85,4 ± 0,9	84,8 ± 2,9	0,591	86,2 ± 1,9	86,4 ± 2,3	0,890	84,6 ± 3,3	84,3 ± 2,9	0,714	83,9 ± 2,4	83,3 ± 2,3	0,220	85,5 ± 1,2	82,5 ± 1,8*	0,006
Srad (%)	52,2 ± 3,6	52,6 ± 3,1	0,730	51,2 ± 6,8	49,4 ± 5,2	0,061	52,1 ± 5,6	43,2 ± 5,7*	0,000	52,5 ± 5,1	38,6 ± 4,8*	0,000	52,3 ± 7,3	34,6 ± 7,4*	0,000
Scirc (%)	-17,2 ± 3,1	-18,2 ± 4,6	0,551	-16,1 ± 2,0	-17,0 ± 2,2	0,113	-17,2 ± 2,4	-16,7 ± 2,4	0,578	-17,0 ± 2,7	-17,9 ± 2,0	0,634	-17,4 ± 2,1	-14,1 ± 1,8*	0,004
TSrad (sec ⁻¹)	5,7 ± 1,1	5,5 ± 1,2	0,821	5,9 ± 0,8	6,1 ± 1,2	0,617	6,0 ± 0,9	6,0 ± 1,1	0,983	5,6 ± 1,1	5,6 ± 1,1	0,987	5,6 ± 1,0	5,5 ± 1,1	0,786
TScirc(sec ⁻¹)	4,5 ± 0,7	4,9 ± 0,5	0,137	4,5 ± 1,2	4,7 ± 0,9	0,556	4,3 ± 1,0	4,3 ± 0,8	0,571	4,6 ± 0,9	4,3 ± 0,5	0,409	4,7 ± 0,7	4,5 ± 0,7	0,179

FEVE: fração de ejeção do ventrículo esquerdo; Scirc: *strain* circunferencial; Srad: *strain* radial; TScirc: taxa de *strain* circunferencial; TSrad: taxa de *strain* radial.

*: $p < 0,05$ em comparação com o valor basal.

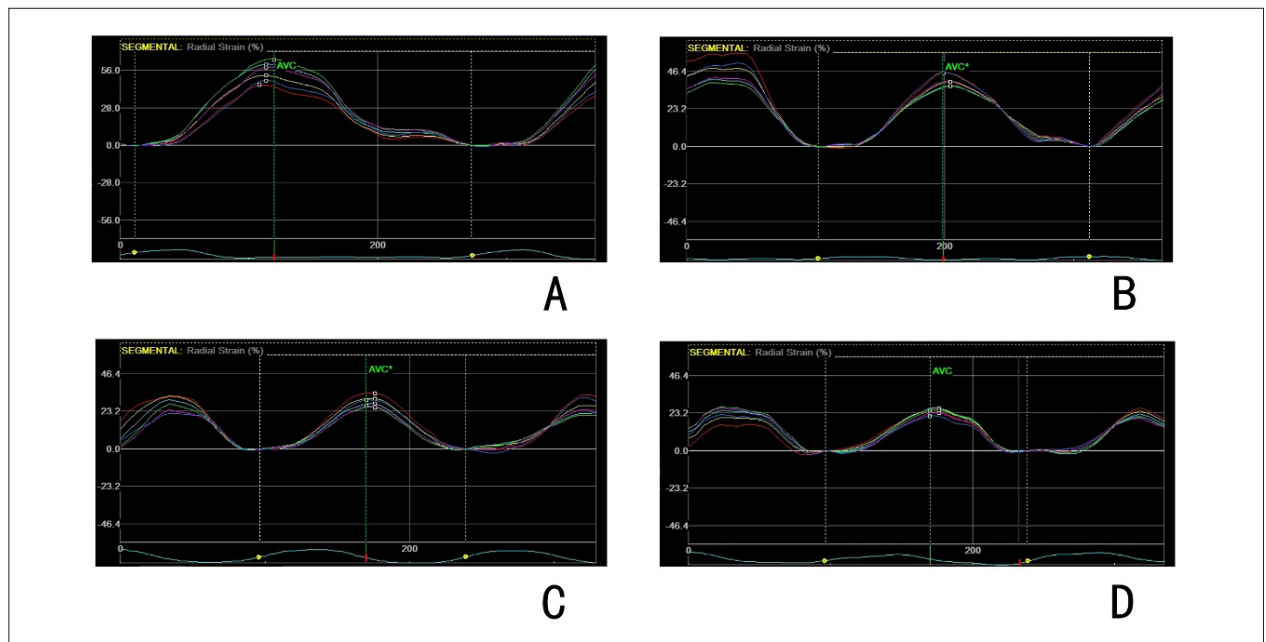


Figura 1 – Curvas de strain radial obtidas a partir do corte de eixo curto de ratos após tratamento com doxorubicina. A: rato do grupo 1, strain radial = 55,23%; B: rato do grupo 2, strain radial = 41,63%; C: rato do grupo 3, strain radial = 29,71%; D: rato do grupo 4, strain radial = 24,95%.

Tabela 2 – Escores de cardiomiopatia em ratos Wistar tratados com doxorubicina durante 4 semanas

Dose de doxorubicina (mg/kg/semana)	Nº. de animais	Escore de cardiomiopatia					
		0	1	1,5	2	2,5	3
4*	8	0	2	3	3	0	0
3,5†	7	2	2	2	1	0	0
3	8	4	2	2	0	0	0
2,5	8	6	2	0	0	0	0
Solução salina controle	5	5	0	0	0	0	0

Os escores de cardiomiopatia são baseados na porcentagem de miócitos que apresentam vacuolização citoplasmática e/ou perda miofibrilar, e são classificados de 0 a 3 da seguinte forma: 0 = sem alterações, 1 ≤ 5%, 1,5 = 5% a 15%, 2,0 = 16% a 25%, 2,5 = 26% a 35% e 3 ≥ 35%.

*: Escores de cardiomiopatia significativamente ($p < 0,05$) maiores do que naqueles que receberam 3 mg/kg/semana ou menos de doxorubicina.

†: Escores de cardiomiopatia foram significativamente ($p < 0,05$) maiores do que naqueles que receberam 2,5 mg/kg/semana ou menos de doxorubicina.

Discussão

A antraciclina continua a ser um agente quimioterápico comumente utilizado. No entanto, a eficácia clínica é prejudicada devido à cardiotoxicidade potencialmente fatal. Um método preciso e não invasivo para o monitoramento precoce da lesão cardíaca é de vital importância para orientar as estratégias preventivas e terapêuticas na redução da cardiotoxicidade. Nesse estudo, propusemos uma nova aplicação da imagem por *speckle-tracking* para a avaliação da lesão miocárdica subclínica após o tratamento com antraciclina. Na prática clínica, o monitoramento da FEVE é a ferramenta diagnóstica clínica mais importante no reconhecimento da disfunção cardíaca.^{15,16} No entanto, esses níveis são um pouco insensíveis na detecção de sinais precoces de estresse cardíaco, lesão miocárdica e alterações na complacência miocárdica.

No presente estudo, apesar de terem sido observadas lesões miocárdicas e elevação dos níveis séricos de cTnI após o tratamento, a FEVE permaneceu estável e dentro do intervalo normal, indicando que a FEVE não é sensível para a detecção precoce de lesão miocárdica.

O *strain* é um parâmetro sem dimensão que representa a deformação de um segmento miocárdico em relação às suas dimensões originais dentro de um período de tempo sistólico. Estudos iniciais relataram que a redução na função ventricular esquerda, causada pela antraciclina, poderia ser avaliada pelos índices de *strain* e taxa de *strain* medidos por Doppler.¹⁷ Com as vantagens da independência de ângulo, a técnica de *speckle-tracking*, uma técnica relativamente nova e mais abrangente, poderia avaliar a deformação miocárdica ventricular esquerda regional e global em três dimensões, fornecendo parâmetros confiáveis e sensíveis

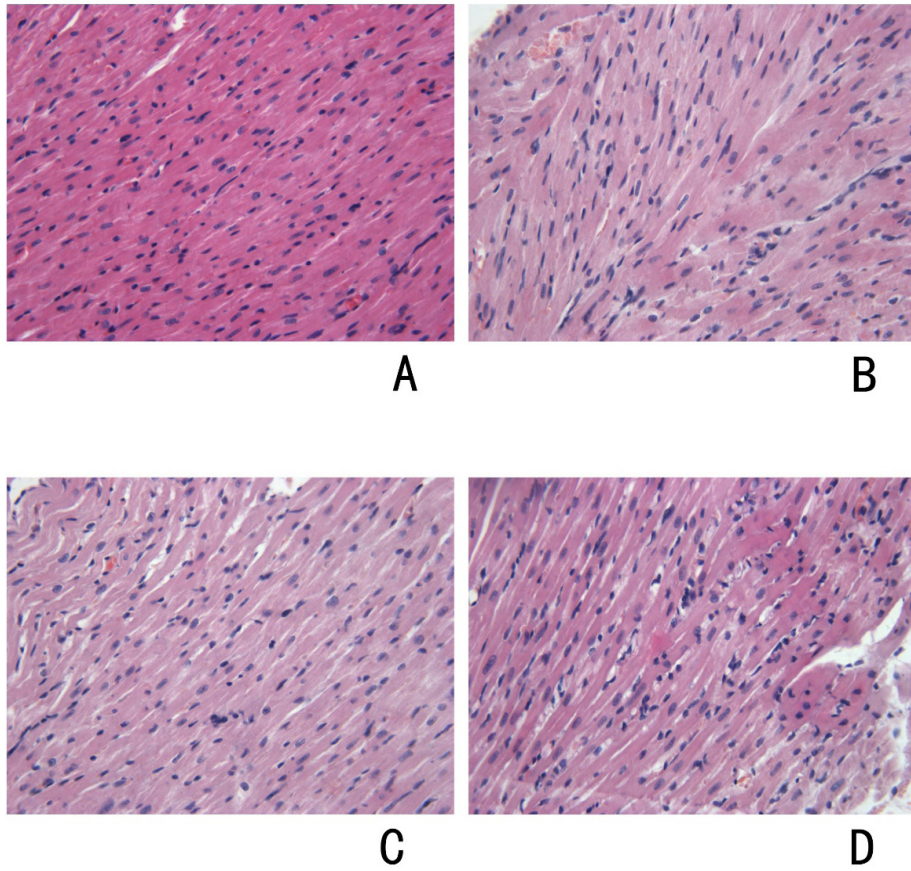


Figura 2 – Alterações miocárdicas após tratamento com doxorubicina vistas sob microscópio óptico ($\times 400$). Vacuolização do citoplasma, perda de miofibrilas mais grave em ratos do grupo 4 (D). A: rato do grupo 1; B: rato do grupo 2; C: rato do grupo 3; D: rato do grupo 4.

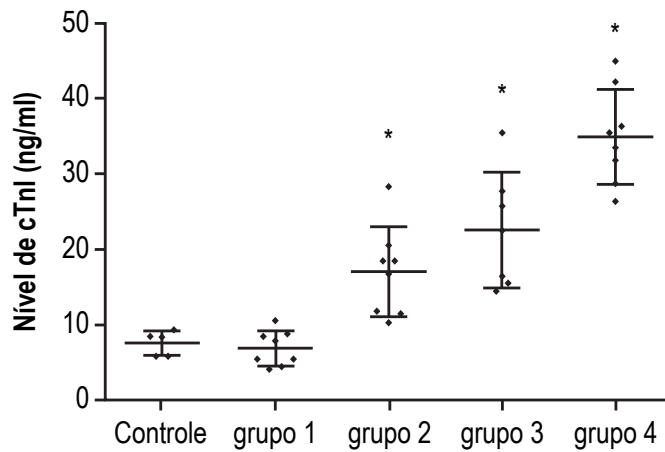


Figura 3 – Diagrama de dispersão dos níveis séricos de cTnI em ratos individuais. *: $p < 0,05$ em comparação com o valor basal.

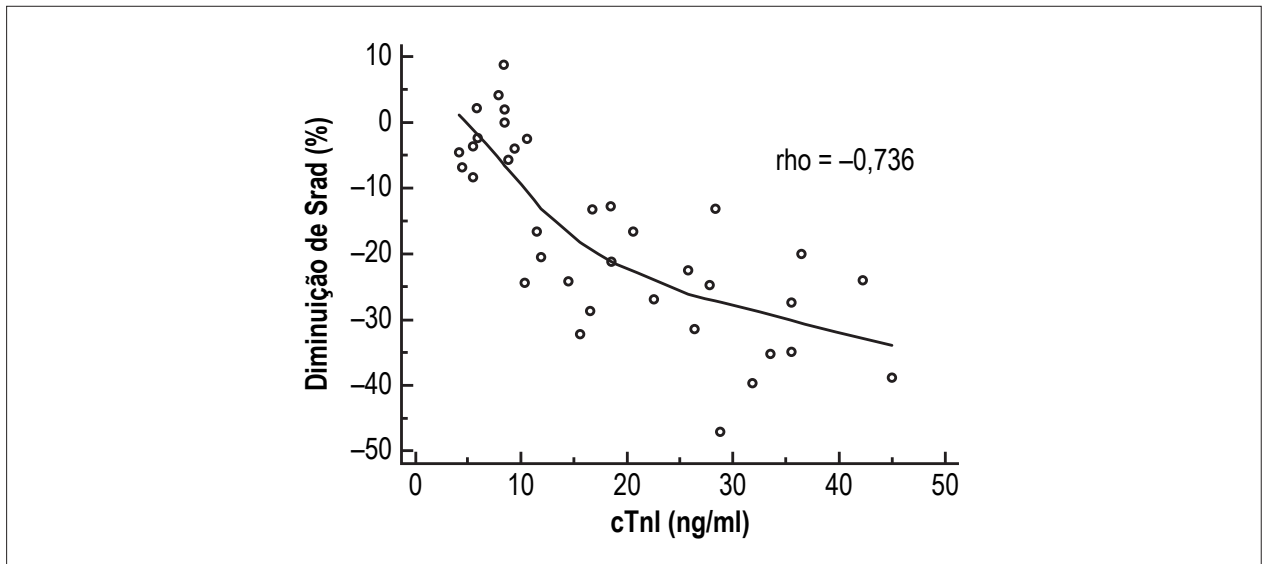


Figura 4 – Correlações entre strains radiais e níveis de cTnI.

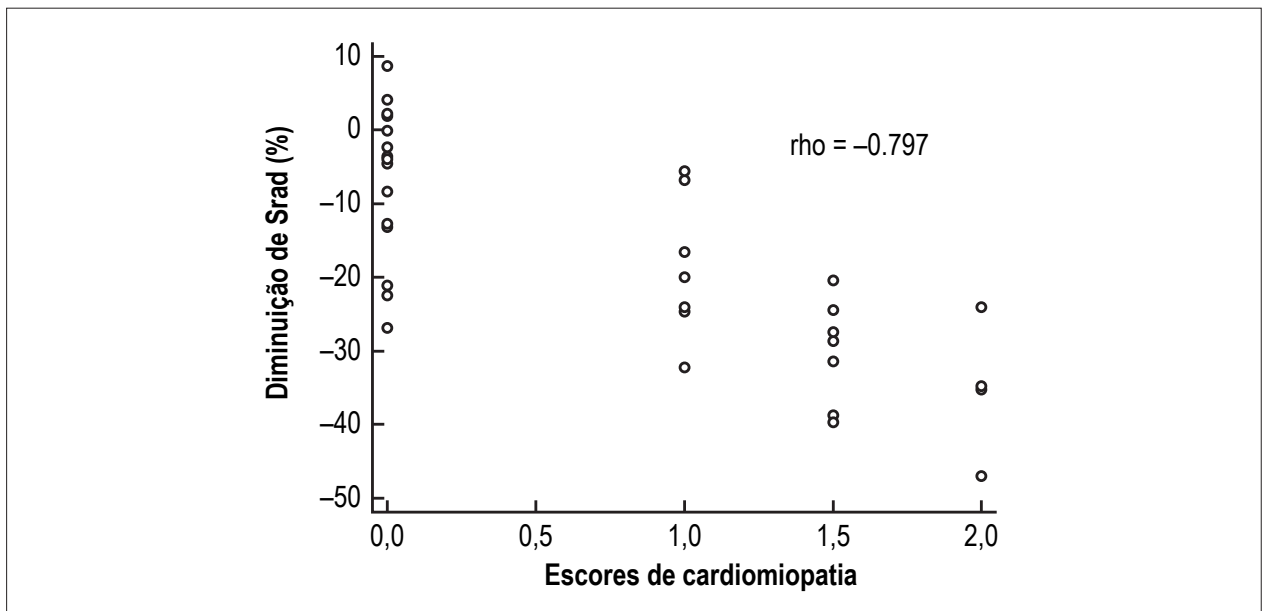


Figura 5 – Correlações entre strains radiais e escores de cardiomiopatia.

para a detecção precoce de lesões cardíacas. Shi et al.¹⁸ descobriram que a análise do *strain* radial baseada em STI podia detectar rejeição aguda de aloenxerto em um modelo de transplante cardíaco de rato, que era mais sensível do que os parâmetros ecocardiográficos convencionais. Em um modelo de rato de coração de atleta, os valores de *strain* baseados no *speckle-tracking* correlacionaram-se bem com os índices de contratilidade privados do loop de pressão-volume.⁸ Estudos anteriores observaram que os *strains* diminuíram significativamente após o tratamento com epirubicina, embora os parâmetros ecocardiográficos convencionais se mantivessem estáveis e dentro da faixa normal.¹⁹

Demonstramos que em nosso modelo animal, o *strain* radial foi mais sensível do que a fração de ejeção do ventrículo esquerdo na avaliação da lesão cardíaca em estágio inicial, o que foi confirmado pelo exame histológico e cTnI sérica. A cardiotoxicidade induzida pela quimioterapia possui padrão regional,^{20,21} o que poderia explicar o aumento da sensibilidade dos valores de *strain* em relação à FEVE na detecção de cardiotoxicidade precoce. Além disso, verificou-se que as alterações de *strain* radial exibiram uma clara correlação com lesões histológicas e elevação dos níveis de cTnI, indicando que o *strain* radial pode avaliar com precisão a gravidade da cardiotoxicidade.

O STI tem uma melhor resolução espacial em comparação com a técnica baseada em Doppler tecidual.²² Em uso clínico, as taxas de quadros > 90 quadros/s geralmente levam a uma avaliação ruim por *speckle-tracking*.²³ No entanto, devido à sua alta frequência cardíaca, maiores taxas de quadros são necessárias em roedores. A frequência do transdutor, a largura e a profundidade do setor, bem como o número de cristais dentro do transdutor, terão um impacto na resolução da linha de varredura, o que por sua vez afetará a qualidade do *speckle-tracking*. Com alta densidade de cristais em uma largura e profundidade de setor muito pequenas, nosso transdutor de 11,5 MHz pode obter boas imagens em altas taxas de quadros sem perda de resolução da linha de varredura.

Limitação

A imagem cardíaca do ventrículo esquerdo em roedores é limitada a alguns cortes ecocardiográficos. Embora seja possível obter um corte apical de 4 câmaras, a parede lateral raramente é visualizada.^{24,25} A qualidade da imagem do corte longitudinal foi ruim e, portanto, não foi possível fornecer dados sobre a função longitudinal.

O tipo de anestesia pode influenciar a frequência cardíaca e a contratilidade miocárdica intrínseca. No entanto, nesse estudo, todos os animais, incluindo os grupos tratados e de controle, foram submetidos ao mesmo procedimento de anestesia para limitar o efeito da anestesia na análise da função cardíaca. A taxa de quadros em relação à duração do ciclo cardíaco utilizada nesse estudo foi inferior à dos estudos realizados em humanos ou em animais grandes. Digno de nota, tivemos taxas de quadros semelhantes às de estudos recentes em um modelo de rato de infarto do miocárdio e rejeição aguda.¹⁸

Referências

1. Barry E, Alvarez JA, Scully RE, Miller TL, Lipshultz SE. Anthracycline-induced cardiotoxicity: course, pathophysiology, prevention and management. *Expert Opin Pharmacother*. 2007;8(8):1039-58.
2. Amundsen BH, Helle-Valle T, Edvardsen T, Torp H, Crosby J, Lyseggen E, et al. Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography: validation against sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;47(4):789-93.
3. Cho GY, Chan J, Leano R, Strudwick M, Marwick TH. Comparison of two-dimensional speckle and tissue velocity based strain and validation with harmonic phase magnetic resonance imaging. *Am J Cardiol*. 2006;97(11):1661-6.
4. Helle-Valle T, Crosby J, Edvardsen T, Lyseggen E, Amundsen BH, Smith HJ, et al. New noninvasive method for assessment of left ventricular rotation: speckle tracking echocardiography. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;112(20):3149-56.
5. Reisner SA, Lysyansky P, Agmon Y, Mutlak D, Lessick J, Friedman Z. Global longitudinal strain: a novel index of left ventricular systolic function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;17(6):630-3.
6. Bachner-Hinzenon N, Shlomo L, Khamis H, Ertracht O, Vered Z, Malka A, et al. Detection of small subendocardial infarction using speckle tracking echocardiography in a rat model. *Echocardiography*. 2016;33(10):1571-8.
7. Bachner-Hinzenon N, Ertracht O, Malka A, Leitman M, Vered Z, Binah O, et al. Layer-specific strain analysis: investigation of regional deformations in a rat model of acute versus chronic myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;303(5):H549-58.
8. Kovács A, Oláh A, Lux Á, Mátyás C, Németh BT, Kellermayer D, et al. Strain and strain rate by speckle-tracking echocardiography correlate with pressure-volume loop-derived contractility indices in a rat model of athlete's heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015;308(7):H743-8.
9. Mor M, Mulla W, Elyagon S, Gabay H, Dror S, Etzion Y, et al. Speckle-tracking echocardiography elucidates the effect of pacing site on left ventricular synchronization in the normal and infarcted rat myocardium. *PLoS One*. 2014;9(6):e99191.
10. Koshizuka R, Ishizu T, Kameda Y, Kawamura R, Seo Y, Aonuma K. Longitudinal Strain Impairment as a Marker of the Progression of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction in a Rat Model. *J Am Soc Echocardiogr*. 2013;26(3):316-23.
11. Martin RA, Daly A, DiFonzo CJ, de la Iglesia FA. Randomization of animals by computer program for toxicity studies. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 1986;6(5-6):143-52.
12. Billingham ME. Role of endomyocardial biopsy in diagnosis and treatment of heart disease. In: Silver MD. (editor). *Cardiovascular pathology*. New York: Churchill Livingstone; 1991. p. 1465-86.

Conclusão

O *strain* radial baseado em imagens de *speckle-tracking* pode fornecer uma estratégia sensível e não-invasiva na detecção precoce de lesão miocárdica induzida por doxorubicina.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Kang Y, Shen X; Obtenção de dados: Kang Y, Wang W, Zhao H, Qiao Z; Análise e interpretação dos dados: Kang Y, Wang W, Zhao H; Análise estatística: Kang Y, Wang W; Obtenção de financiamento, Redação do manuscrito e Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Kang Y; Supervisão: Shen X, He B.

Potencial conflito de interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo foi financiado pelo National Natural Science Foundation of China (Nº 81401411) and Shanghai Natural Science Foundation (Nº 14ZR1425200, 16ZR1420600).

Vinculação acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

13. Ferrans VJ, Sanchez JA, Herman EH. Pathologic anatomy of animal models of anthracycline-induced cardiotoxicity. In: Muggia FM, Green MD, Speyer JL (editors). *Cancer treatment and the heart*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press; 1992. p. 89-113.
14. Ferrans VJ, Sanchez JA, Herman EH. Role of myocardial biopsy in the diagnosis of anthracycline toxicity. (1992). In: Muggia FM, Green MD, Speyer JL (editors). *Cancer treatment and the heart*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press; 1992. p. 198-216.
15. Villani F, Meazza R, Materazzo C. Non-invasive monitoring of cardiac hemodynamic parameters in doxorubicin-treated patients: comparison with echocardiography. . 2006;26(1B):797-801.
16. Walker J, Bhullar N, Fallah-Rad N, Lytwyn M, Golian M, Fang T, et al. Role of three-dimensional echocardiography in breast cancer: comparison with two-dimensional echocardiography, multiple-gated acquisition scans, and cardiac magnetic resonance imaging. . 2010;28(21):3429-36.
17. Piegari E, Di Salvo G, Castaldi B, Vitelli MR, Rodolico G, Golino P, et al. Myocardial strain analysis in a doxorubicin-induced cardiomyopathy model. 2008;34(3):370-8.
18. Shi J, Pan C, Shu X, Sun M, Yang Z, Zhu S, et al. The role of speckle tracking imaging in the noninvasive detection of acute rejection after heterotopic cardiac transplantation in rats. 2011;66(6):779-85.
19. Kang Y, Cheng L, Li L, Chen H, Sun M, Wei Z, et al. Early detection of anthracycline-induced cardiotoxicity using two-dimensional speckle tracking echocardiography. *Cardiol J*. 2013;20:592-599.
20. Ho E, Brown A, Barrett P, Morgan RB, King G, Kennedy MJ, et al. Subclinical anthracycline- and trastuzumab-induced cardiotoxicity in the long-term follow-up of asymptomatic breast cancer survivors: a speckle tracking echocardiographic study. *Heart*. 2010;96(9):701-7.
21. Perel RD, Slaughter RE, Strugnell WE. Subendocardial late gadolinium enhancement in two patients with anthracycline cardiotoxicity following treatment for Ewing's sarcoma. 2006;8(6):789-91.
22. Dandel M, Hetzer R. Echocardiographic strain and strain rate imaging--clinical applications. *Int J Cardiol*. 2009;132(1):11-24.
23. Suffoletto MS, Dohi K, Cannesson M, Saba S, Gorcsan J 3rd. Novel speckle tracking radial strain from routine black-and-white echocardiographic images to quantify dyssynchrony and predict response to cardiac resynchronization therapy. 2006;113(7):960-8.
24. Hirano T, Asanuma T, Azakami R, Okuda K, Ishikura F, Beppu S. Noninvasive quantification of regional ventricular function in rats: assessment of serial change and spatial distribution using ultrasound strain analysis. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18(9):907-12.
25. Neilan TG, Jassal DS, Perez-Sanz TM, Raheer MJ, Pradhan AD, Buys ES, et al. Tissue Doppler imaging predicts left ventricular dysfunction and mortality in a murine model of cardiac injury. *Eur Heart J*. 2006;27(15):1868-75.