



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

THIAGO FERREIRA DE SOUZA

REMODELAMENTO DO VENTRÍCULO DIREITO CAUSADO PELO
USO DE DOXORRUBICINA EM PACIENTES COM CÂNCER DE
MAMA

*RIGHT VENTRICULAR REMODELING AFTER DOXORRUBICIN
THERAPY IN BREAST CANCER PATIENTS*

CAMPINAS

2021

THIAGO FERREIRA DE SOUZA

**REMODELAMENTO DO VENTRÍCULO DIREITO CAUSADO PELO
USO DE DOXORRUBICINA EM PACIENTES COM CÂNCER DE
MAMA**

***RIGHT VENTRICULAR REMODELING AFTER DOXORRUBICIN
THERAPY IN BREAST CANCER PATIENTS***

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área de concentração em Pesquisa Clínica.

Thesis presented to School of Medical Sciences, State University of Campinas – UNICAMP for obtaining the Doctor in Sciences grade. Concentration Area – Clinical Research.

ORIENTADOR: PROF. DR. OTÁVIO RIZZI COELHO FILHO

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO ALUNO THIAGO FERREIRA DE SOUZA, E ORIENTADO PELO PROF. DR. OTÁVIO RIZZI COELHO FILHO.

CAMPINAS

2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

So89r Souza, Thiago Ferreira de, 1983-
Remodelamento do ventrículo direito causado pelo uso de doxorubicina em pacientes com câncer de mama / Thiago Ferreira de Souza. – Campinas, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Otávio Rizzi Coelho Filho.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Ressonância magnética. 2. Antraciclina. 3. Cardiotoxicidade. 4. Remodelação ventricular. 5. Espaço extracelular. I. Coelho-Filho, Otávio Rizzi, 1977-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Right ventricular remodeling after doxorubicin therapy in breast cancer patients

Palavras-chave em inglês:

Magnetic resonance

Anthracyclines

Cardiotoxicity

Ventricular remodeling

Extracellular space

Área de concentração: Pesquisa Clínica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Otávio Rizzi Coelho Filho [Orientador]

Marcondes Cavalcante França Junior

Patricia Moriel

Carlos Eduardo Negrão

Marcus Vinicius Simões

Data de defesa: 04-08-2021

Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0001-6498-1758>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/2269193525012179>

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

THIAGO FERREIRA DE SOUZA

ORIENTADOR: PROF. DR. OTÁVIO RIZZI COELHO FILHO

MEMBROS:

1. PROF. DR. OTÁVIO RIZZI COELHO FILHO

2. PROF. DR. MARCONDES CAVALCANTE FRANÇA JUNIOR

3. PROFA. DRA. PATRICIA MORIEL

4. PROF. DR. CARLOS EDUARDO NEGRÃO

3. PROF. DR. MARCUS VINICIUS SIMÕES

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora
encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

DATA DA DEFESA: 04/08/2021

Dedico esta tese aos meus amores, primeiro à minha esposa Ana Beatriz, que com seu apoio e presença foi essencial nessa jornada, estando ao meu lado a cada passo, aos meus filhos Lucas e Felipe que me transmitem uma força inexplicável que me faz superar os limites e conquistar os objetivos, e aos meus pais Paulo e Ana Lúcia, que com todo o amor que me dedicaram me fizeram a pessoa que sou hoje.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente ao professor Otávio Rizzi Coelho Filho, pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão deste trabalho.

Agradeço também à Universidade Estadual de Campinas, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo suporte financeiro.

Agradeço principalmente às pacientes que, mesmo em um momento de dificuldade, aceitaram participar deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

Introdução: A melhora progressiva do diagnóstico e do tratamento oncológico desde o início do século tem permitido redução significativa da morbidade e mortalidade de vários tipos de neoplasias. O tratamento quimioterápico costuma se basear na utilização de várias drogas combinadas, sendo que muitas delas causam efeitos deletérios também ao indivíduo. Algumas classes de medicamento apresentam efeitos adversos cardiovasculares que provocam alteração da função miocárdica, e por vezes culminam em insuficiência cardíaca grave. O aumento da sobrevida dos pacientes oncológicos tem estendido o tempo de uso dos esquemas quimioterápicos com múltiplas drogas, e tem causado aumento da prevalência da cardiotoxicidade secundária à quimioterapia. Diversos estudos demonstram uma elevada mortalidade secundária a insuficiência cardíaca nesse grupo de pacientes, variando de 30 a 70%, e que um terço deles não irão responder com melhora da função do ventrículo esquerdo ao tratamento clínico medicamentoso para insuficiência cardíaca. Atualmente há poucos estudos que avaliaram os efeitos dessas drogas no remodelamento do ventrículo direito (VD). **Objetivo:** No presente estudo a ressonância magnética foi utilizada para avaliar os efeitos causados pelas antraciclinas, uma das classes de quimioterápico mais utilizados na prática clínica, no remodelamento do VD. **Métodos:** Foram recrutadas vinte e sete pacientes diagnosticadas com neoplasia de mama, com idade média de $51,8 \pm 8,9$ anos e IMC $26,9 \pm 3,6$ kg/m². Elas foram submetidas a ressonância magnética cardíaca (RMC) antes do início da quimioterapia e até três vezes após a mesma. O protocolo da RMC foi realizado para a mensuração dos volumes e função, massa indexada e massa dos cardiomiócitos e fração do volume extracelular do ventrículo esquerdo (VE) e VD. **Resultados:** Anteriormente às antraciclinas, todas as pacientes apresentavam valores normais de fração de ejeção (FE) do VE ($69,4 \pm 3,6\%$) e do VD ($55,6 \pm 9\%$). Após a antraciclina, a FE do VE e do VD reduziram significativamente com nadir de $53,8 \pm 8,4\%$ e $46,3 \pm 6,8\%$ respectivamente (todos $P < 0,001$). Houve redução progressiva da massa indexada dos cardiomiócitos do VD dos valores basais ($13,8 \pm 3,33$ g/m²), atingindo o nadir após 350 dias de seguimento ($8,3 \pm 1,93$ g/m²), com concomitante aumento do volume extracelular (VEC) basal do VD de $0,26 \pm 0,07$ para $0,40 \pm 0,07$ no último período de seguimento. Pacientes com fração de ejeção do ventrículo direito (FEVD) basal abaixo da mediana apresentaram

aumento do risco de disfunção do VE após o tratamento. **Conclusão:** O tratamento com antraciclinas está associado com aumento da fibrose e redução na função sistólica e da massa indexada dos cardiomiócitos do VE e do VD.

Palavras-chave: Ressonância magnética; Antraciclinas; Cardiotoxicidade; Remodelamento cardiovascular; Volume extracelular.

ABSTRACT

Introduction: Neoplastic diseases diagnosis and treatment experience a permanent advance in the last decades, with significantly reduction in mortality and morbidity in different types of cancer. Usually, treatment strategy includes a combination of chemotherapeutic drugs, and some of these drugs have serious adverse effects in cardiovascular system, including ventricular dysfunction and heart failure. As multiple drugs chemotherapy nowadays is more common and longer, cardiotoxicity emerges as a great problem to solve. Data suggests the mortality caused by heart failure in these patients is high, from 30 to 70%, and one third of them will not increase ventricular function with regular heart failure treatment. Until now, few studies focused in the effects of these drugs in right ventricle remodeling. **Objective:** This study aimed investigate the effects of anthracyclines in right ventricle (RV) remodeling using magnetic resonance. **Methods:** Twenty-seven women with breast cancer were recruited, with mean-age of 51.8 ± 8.9 years and a BMI of 26.9 ± 3.6 kg/m², and underwent cardiac magnetic resonance (CMR) prior anthracycline, and up to 3-times after. The CMR protocol included assessment of left ventricle (LV) and RV volumes, function, mass-index, cardiomyocyte mass and extracellular volume fraction. **Results:** Before anthracycline, all subjects had normal LVEF ($69.4 \pm 3.6\%$) and RVEF ($55.6 \pm 9\%$). After anthracycline, LV and RVEF declined significantly to $53.8 \pm 8.4\%$ and $46.3 \pm 6.8\%$ respectively (all, $P < 0.001$). In addition, we observed a progressive decrease in RV cardiomyocyte mass index from baseline (13.8 ± 3.33 g/m²) reaching the minimum value of 8.3 ± 1.93 g/m², with extracellular volume increase. An RVEF under the median at baseline increased the risk of LV dysfunction post-anthracyclines. **Conclusion:** Anthracycline therapy is associated with significant reduction in both LV and RV systolic function and cardiomyocyte mass index and a increase in RV fibrosis.

Key Words: Magnetic resonance; Anthracyclines; Cardiotoxicity; Cardiovascular remodeling; Extracellular volume.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BC	- Breast cancer
BMI	- Body mass index
CAAE	- Certificado de apresentação de apreciação ética
CK	- Creatine kinase
CKMB	- Creatina quinase banda miocárdica
CM	- Cardiomyocyte mass
CMR	- Cardiac magnetic resonance
cTnT	- High-sensitive troponin T
DOX	- Doxorubicina
DTPA	- Ácido dietilenotriaminopentacético
ECV	- Extracellular volume
EF	- Ejection fraction
FE	- Fração de ejeção
FEVD	- Fração de ejeção do ventrículo direito
FOV	- Field of view
GAM	- Generalized additive models with mixed effects
GFR	- Glomerular filtration rate
Hct	- Hematocrit
HER2	- Fator de crescimento epidermal humano 2
HF	- Heart failure
IC	- Insuficiência cardíaca
IMC	- Índice de massa corpórea
IQR	- Inter-quartile range
LGE	- Late gadolinium enhancement
LME	- Linear mixed effects
LV	- Left ventricle
MC	- Massa de cardiomiócitos
MLM	- Modelo linear de efeitos mistos
MOLLI	- Modified Look-Locker imaging
NEX	- Number of excitations
RMC	- Ressonância magnética cardíaca
RV	- Right ventricle
SSFP	- Steady state free precession
SUS	- Sistema único de saúde
TCLE	- Termo de consentimento livre e esclarecido
TE	- Echo time
TR	- Repetition time
UNICAMP	- Universidade Estadual de Campinas
VD	- Ventrículo direito
VE	- Ventrículo esquerdo
VEC	- Volume extracelular
λ_{Gd}	- Coeficiente de partição do gadolínio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1. Sujeitos.....	17
3.2. Critérios de Inclusão.....	18
3.3. Critérios de Exclusão.....	18
3.4. Ressonância Magnética Cardíaca.....	19
3.5. Análise Estatística.....	21
4. RESULTADOS.....	23
ARTIGO SUBMETIDO: CARDIAC MAGNETIC RESONANCE ASSESMENT OF RIGHT VENTRICULAR REMODELING AFTER ANTHRACYCLINE THERAPY.....	24
5. DISCUSSÃO.....	59
5.1. Limitações.....	61
6. CONCLUSÃO.....	62
7. REFERÊNCIAS.....	63
8. ANEXOS.....	69
8.1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	69
8.2. Parecer Consubstanciado do CEP.....	74

1. INTRODUÇÃO

A recente melhora do diagnóstico e tratamento das doenças neoplásicas permitiu redução significativa da mortalidade e morbidade de diversos tipos de neoplasia (1). Entretanto, complicações de longo prazo secundárias ao tratamento oncológico se tornaram um problema emergente nesta população. Pacientes com câncer podem apresentar doença cardiovascular devido a fatores intrínsecos, por consequência do tratamento quimioterápico ou mesmo por um efeito combinado de ambos. Diversos quimioterápicos apresentam efeitos adversos no sistema cardiovascular, e em certos casos podem até mesmo desencadear insuficiência cardíaca (IC) com sintomas clínicos. Até o presente momento, diferentes classes de drogas apresentaram associação com o desenvolvimento de cardiotoxicidade (2-5). A doxorubicina, a daunorubicina, a idarubicina e a epirubicina são derivados das antraciclinas, e estão entre os fármacos mais frequentemente responsáveis por efeitos adversos cardiovasculares irreversíveis. Uma parcela dos pacientes que desenvolve a cardiotoxicidade cursa com graves quadros de cardiomiopatia, por vezes indo à óbito (6). O aumento da prevalência da cardiotoxicidade tem aumentado consideravelmente o interesse em seu estudo, à medida que os esquemas de quimioterapia estão cada vez mais prolongados, utilizando múltiplas drogas, sendo mais agressivos contra a neoplasia, mas sendo também mais suscetíveis a efeitos adversos.

A incidência da cardiotoxicidade está diretamente relacionada com a dose cumulativa de antraciclina administrada por superfície corpórea. Já foi demonstrado que até metade dos pacientes submetidos a tratamento com derivados da antraciclina manifestarão algum grau de disfunção cardíaca (7), sendo que esta pode se desenvolver precocemente ou mesmo depois de anos do fim do tratamento (8). Sabe-se, através de análise retrospectiva (9), que a incidência de IC em pacientes com dose cumulativa de até 400 mg/m² é de 5%, enquanto que naqueles com doses de 550 mg/m², este risco aumenta para 26%, e pode atingir até 48% quando a dose ultrapassa 700mg/m². Além disso esse risco aumenta significativamente em pacientes com doença arterial coronariana, nos hipertensos, nos que se encontram nos extremos de idade, ou quando há a exposição associada da radioterapia. Recentemente foram descritas técnicas não-invasivas de avaliação cardíaca que identificaram o acometimento da cardiotoxicidade antes de sua

manifestação clínica. Pode-se inferir que haja uma subestimação da toxicidade cardíaca, já que a maioria dos estudos clínicos iniciais reportaram apenas a incidência de IC quando clinicamente manifesta. Nosso grupo demonstrou previamente que alterações morfológicas e funcionais do VE ocorrem não apenas devido ao aumento da fibrose intersticial avaliada pelo VEC mas também pela redução do tamanho do cardiomiócito (10, 11), sendo que a redução da massa e da função sistólica do VE estão associadas a biomarcadores de inflamação sistêmica e lesão do miocárdio. Hundley e Jordan levantaram o alerta de que a mudança da fração do VEC pode estar relacionada a um aumento no numerador, com a expansão do VEC, uma alteração do denominador, com a redução da massa e volume dos cardiomiócitos, ou pela associação de ambos (12). Além disso, a associação das antraciclinas com outros quimioterápicos aumenta o risco do desenvolvimento de IC, como é o caso em pacientes com fator de crescimento humano 2 (HER2) positivo, que se beneficiam do uso de anticorpos monoclonais anti-HER2, como o trastuzumabe (13-15).

O efeito das antraciclinas advém de diferentes processos metabólicos e em organelas, com lesão mitocondrial e do retículo sarcoplasmático, alteração da estrutura e função das miofibrilas, do metabolismo do ferro, além de modificar o acoplamento excitação-contração, levar à perda da matriz intercalada com placas de colágeno no interstício, culminando com apoptose e incapacidade de regeneração dos cardiomiócitos e do endotélio coronariano (16-18). Postula-se que a produção excessiva de radicais livres derivados do oxigênio seja o mecanismo que afeta os cardiomiócitos, através do aumento da exposição ao estresse oxidativo celular. O advento da fibrose secundária ao aumento da matriz extracelular, ocorre devido a vacuolização irreversível das células cardíacas que sofreram o processo de peroxidação lipídica de sua membrana celular (19). Outros dados ainda sugerem que a doxorrubicina, um dos quimioterápicos derivados das antracilinas, reduz antioxidantes endógenos que metabolizam radicais livres presentes no sangue (17, 20). Este derivado da antraciclina é padronizado pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e está entre os mais utilizados no Brasil.

Foi demonstrado que a cardiotoxicidade pelas antraciclinas pode não manifestar IC até vários anos após o término do tratamento, sendo que nesse período a disfunção ventricular assintomática é a complicação mais frequente. As

taxas de desenvolvimento de IC variam entre 5% e 26% dependendo da população escolhida e do tempo de seguimento(21).

Apesar de estarem comumente associadas a disfunção do VE, as antraciclinas também acometem o ventrículo direito (VD) (22). Atualmente a disfunção do VD não é considerada para o diagnóstico de cardiotoxicidade, mas emerge como um relevante problema clínico a ser melhor estudado. Dados recentes demonstram a importância clínica e o significado prognóstico da disfunção do VD em pacientes com IC (23-25), porém um número limitado de investigações avaliou o VD em pacientes após terapia com antraciclinas, sendo que muito poucos dados disponíveis analisaram os efeitos tóxicos da quimioterapia diretamente no VD (26). O VD, com sua delgada estrutura e menor massa de miofibrilas em comparação ao VE, também está suscetível ao dano por terapia cardiotóxica, com relatos de estar associado inclusive com piora da motilidade(27) e da função(28-31) do VD identificados durante o tratamento. Estudos que avaliaram pacientes com câncer de mama ou adultos sobreviventes de tumores infantis com a RMC, demonstraram um declínio da função sistólica do VD após a terapia com antraciclinas(28, 30-33). Apesar de diversos artigos analisarem as características teciduais do remodelamento do VE causado pelas antraciclinas, poucos fizeram esta análise no VD.

A radioterapia aplicada no tratamento do câncer de mama também leva a efeitos colaterais cardíacos de longo prazo, com aumento do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares à medida que se aumenta a dose de radiação incidental aplicada no coração(34).

Cardinale e colaboradores demonstraram que a implementação adequada drogas com efeitos anti remodelamento, através da detecção precoce dos efeitos deletérios da quimioterapia, é fundamental na melhora da sobrevida dos pacientes (35). A chance de recuperação total da função cardíaca reduziu em quatro vezes à medida que se dobrou o intervalo de tempo entre o tratamento quimioterápico e o início do tratamento com drogas como inibidor da enzima de conversão e beta bloqueador. O potencial benefício de se identificar o mais breve possível a cardiotoxicidade, antes mesmo do surgimento de qualquer sintoma clínico, reforça a importância da pesquisa ativa de qualquer indício de lesão, para reduzir ao máximo

a janela de tempo entre os tratamentos quimioterápico e a implementação de medicamentos com potencial de prevenir o dono miocárdico.

Diante disso, a utilização de métodos não-invasivos de imagem com capacidade de diagnosticar lesões precoces da estrutura e função miocárdica podem promover um melhor entendimento dos efeitos das antraciclinas, permitindo intervenção mais precoce com redução de IC. Sabe-se que o remodelamento identificado no VE cursa com aumento do VEC e redução da massa dos cardiomiócitos, porém não existem dados demonstrando que se isso ocorre de maneira semelhante no VD, o que permitiria a compreensão das alterações pré-clínicas induzidas pelas antraciclinas no VD.

2. OBJETIVOS

- i. Caracterizar as alterações morfológicas e funcionais do VD pela RMC em uma coorte de pacientes com câncer de mama, tratadas com doxurrucina em dose padrão.
- ii. Quantificar a fibrose intersticial pelo cálculo do VEC utilizando medidas de T1 no VD em uma coorte de pacientes com câncer de mama tratadas com doxurrucina em dose padrão.
- iii. Comparar as alterações das variáveis da RMC obtidas sobre o VD com as observadas no VE.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Sujeitos

O presente projeto seguiu os termos pela Declaração de Helsinki dos Princípios Éticos para Pesquisa Médica envolvendo Seres Humanos - 59ª Assembléia Geral da Associação Médica Mundial (2008). Previamente ao início da pesquisa o projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (CAAE:88952318.1.0000.5405). Durante o recrutamento, realizado em consulta médica de rotina, todas as pacientes receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo I), tiveram a explicação do protocolo proposto da pesquisa, com saneamento de eventuais dúvidas e assinatura de duas vias do TCLE. Foram anexadas cópias dos TCLE nos prontuários das pacientes, para registro da participação das mesmas na pesquisa. A seleção das pacientes seguiu os critérios de inclusão e exclusão detalhados a seguir. Para obtenção dos dados basais, as pacientes foram submetidas a RMC antes do tratamento quimioterápico com doxorubicina. Em seguida realizaram RMC subsequentes ao término do tratamento até três vezes, com mediana de tempo de cada visita de cerca de 5 meses, 8 meses e 14 meses após o final do tratamento (Figura 1).

O protocolo do exame de RMC utilizou sequências disponíveis comercialmente e oferecidas por todos os fabricantes de aparelhos de ressonância magnética conforme detalhado abaixo. Todas as pacientes, antes de cada estudo de RMC, passaram por uma criteriosa análise clínica que envolveu história clínica e exame físico dirigidos, incluindo entrevista clínica, exame físico padronizado e avaliação laboratorial. A avaliação da capacidade funcional foi realizada em todas as visitas clínicas, utilizando critérios da New York Heart Association (NYHA) conforme previamente descrito(36).

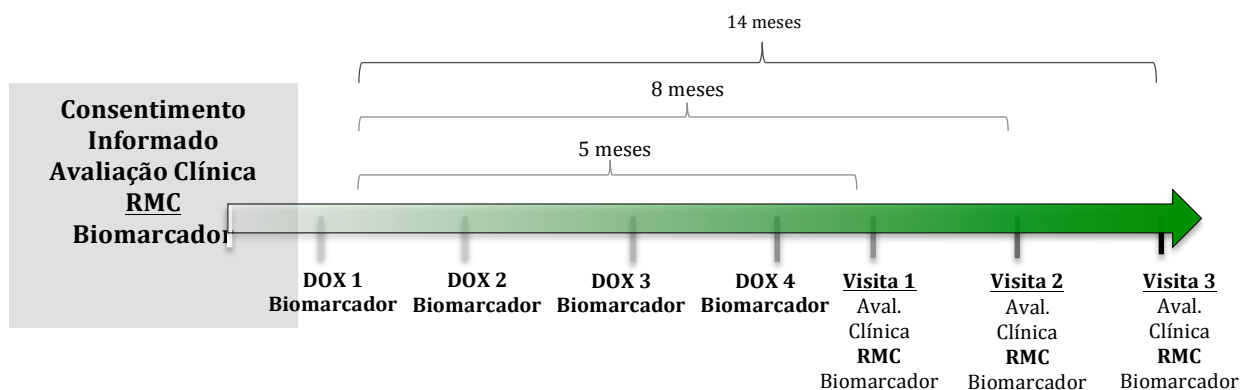


Figura 1: Linha do tempo do estudo inicial.

No mesmo dia dos ciclos de quimioterapia e de cada exame da RMC, foram colhidas amostras de sangue periférico após 12 horas de jejum, para quantificação de glicemia, hemoglobina glicada, triglicérides, colesterol total e frações (Beckman Coulter, AU5800 Beckman Coulter Analyzer, Estados Unidos) e troponina T ultrasensível (Roche, Cobas e601 immunoassay analyzers, Roche Diagnostics, Alemanha). Segundo a rotina do seguimento de pacientes da nossa instituição, todas as pacientes também foram avaliadas para necessidade de tratamento radioterápico e com Trastuzumabe.

3.2. Critérios de Inclusão:

- Casos novos de pacientes com mais de 18 anos, diagnosticadas com câncer de mama, do sexo feminino, encaminhadas para o ambulatório de oncologia mamária do Hospital da Mulher Prof. José Aristodemo Pinnotti da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) com planejamento de tratamento quimioterápico com dose cumulativa de 240 mg/m^2 de doxorubicina, um derivado da antraciclina.

3.3. Critérios de Exclusão

- Pacientes portadores de marcapasso, desfibriladores cardíacos, dispositivos de injeção de insulina, implantes auditivos, válvulas de derivação ventrículo-peritoneal ou cliques metálicos de aneurisma cerebral.

- Pacientes com quadro de insuficiência renal com taxa de filtração glomerular inferior a 40 ml/min/1,73 m².
- Antecedente pessoal de IC congestiva, infarto agudo do miocárdio ou revascularização cardíaca percutânea ou cirúrgica.
- Antecedente pessoal de valvopatia significativa.
- Antecedente pessoal de cardiomiopatias de qualquer etiologia.

3.4. Ressonância Magnética Cardíaca

Os exames de RMC foram adquiridos em equipamento de 3.0 Tesla, modelo Achieva, fabricado pela Philips (Achieva 3.0 Tesla system, Philips Healthcare, Países Baixos), com pacote de aplicação cardíaca e bobina de sinergia com 6 elementos, instalado no Hospital das Clínicas da UNICAMP. As pacientes realizaram o exame em decúbito dorsal horizontal, monitorizadas e sob supervisão direta de um médico com treinamento específico em RMC. As imagens foram adquiridas com sincronização eletrocardiográfica, com protocolo composto por sequências TrueFISP, que visavam determinar os volumes sistólicos e diastólicos, as frações de ejeção, as massas e as espessuras das paredes do VD e do VE, com valores indexados para a superfície corpórea. Foram obtidas também sequências ponderadas em T1 antes e pelo menos 4 vezes após a administração de contraste, com intervalo médio entre 5 a 10 minutos, respeitando a dose máxima cumulativa de 0,2 mmol/kg de gadolínio-DTPA (gadoterato de meglumina, Dotarem, Guerbet, Aulnay-sous-Bois, França). Foi adquirido ainda imagens de realce tardio, seguindo a técnica padrão descrita, com espessura de corte de 8 mm, FOV de 350 x 280 mm, com resolução especial de 1,5 x 1,1 mm, pulso de inversão de recuperação de 180° e tempo de inversão variando de 230 a 300 msec, com flip angle igual a 30°.

O VD foi avaliado utilizando-se novos marcadores de remodelamento miocárdico já utilizados por nosso grupo na avaliação do VE(11), com quantificação da fibrose intersticial através da obtenção do volume extracelular (VEC), e da massa dos cardiomiócitos (MC), que foi estimada pelo produto entre a massa total do VD e a fração do volume extracelular (1 – VEC). O VD foi dividido em seis segmentos padrões na sequência Look-Locker com a intensidade de sinal de cada segmento

relacionada com o tempo e corrigida pelo sinal do sangue na cavidade ventricular (Figura 2).

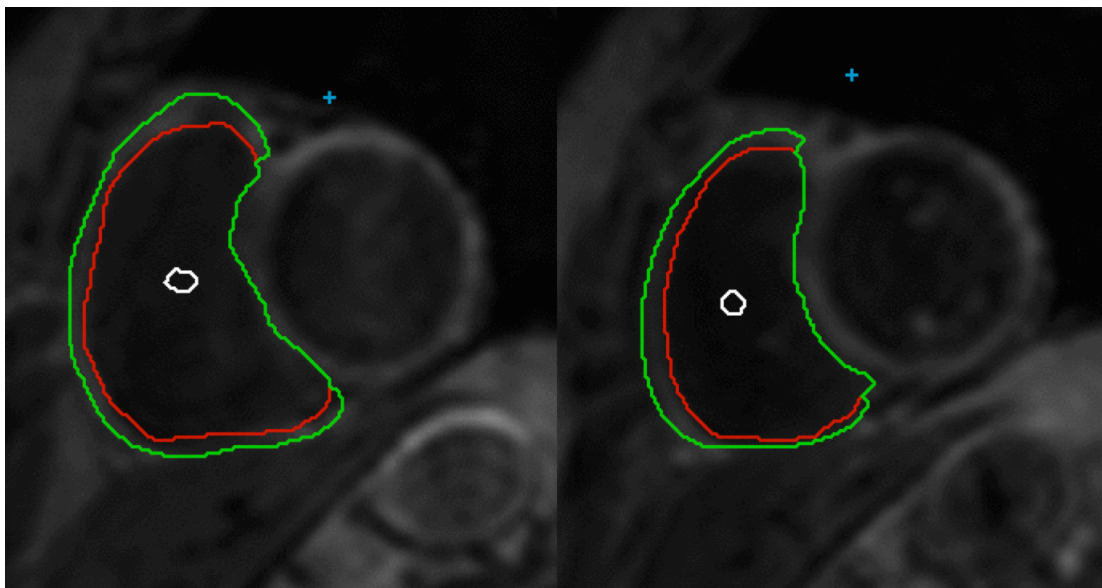


Figura 2: Traçados das bordas do miocárdio do VD e de uma amostra de sangue da cavidade para determinação do volume extracelular.

O programa MASS CMR foi utilizado para análise dos estudos de RMC (Mass Research, Leiden University Medical Center, Leiden, Países Baixos). A quantificação da massa e da função(37) do VE assim como do VD foi realizada com metodologia padrão, através do traçado manual do epicárdio e do endocárdio ao longo de todo o eixo curto (Figura 3) no final da sístole e da diástole, com medidas indexadas pela superfície corporal.

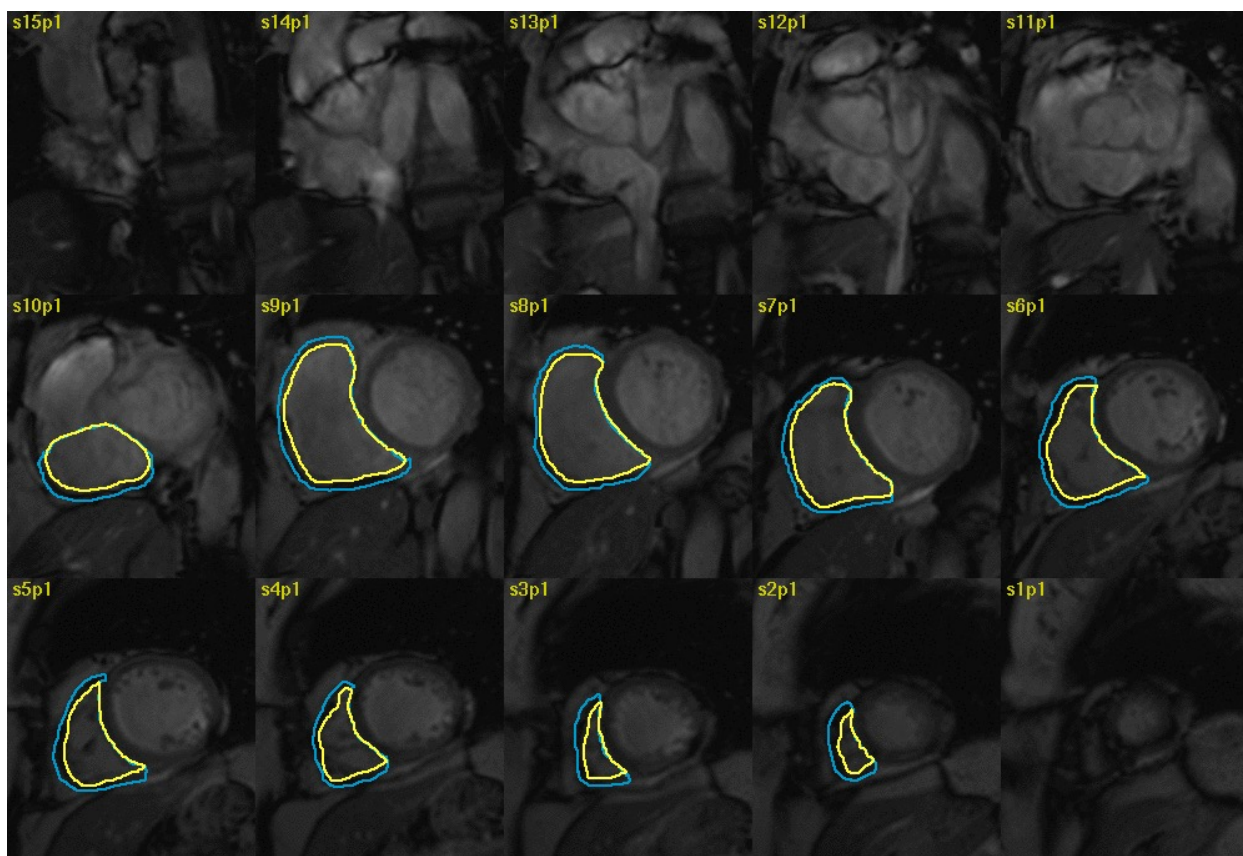


Figura 3: Imagens de ressonância magnética demonstrando os traçados manualmente realizados no ventrículo direito para a quantificação dos volumes e massa.

3.5. Análise estatística

Para avaliação estatística dos resultados foi empregado R (versão 4.03, R Foundation; <http://www.R-project.org/>). A expressão das variáveis contínuas foi através de médias $\pm$ desvio padrão, ou mediana com amplitude interquartil nos casos de distribuição não normal. Tendo em vista que, por conta de dificuldade clínica das pacientes e indisponibilidade do equipamento, os exames de RMC não seguiram o exato cronograma planejado inicialmente, com variação significativa e sobreposição das visitas; o tempo de seguimento foi dividido em quartis a partir do início da quimioterapia de cada paciente (Tabela 1). Para as variáveis que se repetiram ao longo do seguimento recorreu-se ao modelo linear de efeitos mistos (MLM) (pacote *lme4* em R), como a fração de ejeção, volumes e fração extracelular do VE e VD. O MLM incluiu a interceptação aleatória por paciente e período de

seguimento (variável categórica com 5 níveis) como variáveis de efeitos fixos. Foram considerados significativos os valores de p inferiores a 0,05. Foi ainda correlacionada a variação longitudinal entre os dados clínicos e laboratoriais com os exames de RMC, e as variáveis foram logaritmicamente transformadas quando apresentavam desvio significativo da distribuição normal. A ocorrência de disfunção do VE após as antraciclinas foi estratificada pela mediana da FEVD basal e analisada com o método de Kaplan-Meier. A correlação bivariada de medidas independentes foi realizada com o método de Pearson, ou alternativamente com o de Spearman, se indicado.

Tabela 1: Dias entre o início da quimioterapia e as RMC durante o seguimento

	RMC Basal	RMC Visita 1	RMC Visita 2	RMC Visita 3
Dias a partir do início da quimioterapia	-12 – 0	79 – 271	175 – 418	275 - 700
N	27	24	21	21

4. RESULTADOS

Os resultados da presente tese de doutorado serão apresentados no formato do artigo descrito abaixo, que deriva integralmente dos dados obtidos nesse projeto.

Artigo: Cardiac Magnetic Resonance Assesment of Right Ventricular Remodeling After Anthracycline Therapy

O artigo acima descrito foi submetido ao Scientific Reports no dia 30/03/2021 e está em processo de revisão.

Comprovante da submissão do artigo:

SPRINGER NATURE

Editorial System

Otávio Coelho-Filho ▾

Your submissions

Track your submissions

Cardiac Magnetic Resonance Assessment of Right Ventricular Remodeling After Anthracycline Therapy

Corresponding Author: Otávio Rizzi Coelho-Filho

Scientific Reports

d38688cd-7569-4722-9fa8-7ef22f682da0 | v.2.1

 **Editor evaluating revision** 26 Jul 21

The Editor is evaluating your revision and will send it out for further review if required

Cardiac Magnetic Resonance Assessment of Right Ventricular Remodeling After Anthracycline Therapy

Thiago Ferreira de Souza MD^a, Thiago Quinaglia Silva, MD PhD^a, Lígia Antunes-Correa, Ph.D^a, Zsófia D Drobni MD,^b Felipe Osório Costa MD^a, Sergio San Juan Dertkigil MD PhD^a, Wilson Nadruz MD PhD^a, Fabrício Brenelli MD PhD^a, Andrei C Sposito MD PhD^a, José Roberto Mattos-Souza Jr MD PhD^a, Otávio Rizzi Coelho MD PhD^a, Tomas G Neilan, MD MPH^b, Michael Jerosch-Herold PhD^c, Otávio Rizzi Coelho-Filho MD PhD MPH^a

- a. Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brazil
- b. Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA
- c. Noninvasive Cardiovascular Imaging Program and Department of Radiology, Brigham and Women's Hospital, Boston, MA, USA

Running Title: Right Ventricular Remodeling After Anthracycline.

Disclosures (including any relationship with industry): T.F.S., T.Q., L.A.C., Z.D.D., F.O.C., S.S.J.D., W.N., F.B., A.C.S., J.R.M., O.R.C., M.J.H. and O.R.C.F. declare no conflict of interest. Dr. Neilan has been a consultant to and received fees from Parexel Imaging, Intrinsic Imaging, H3-Biomedicine, AbbVie, and Syros Pharmaceuticals, outside of the current work. Dr. Neilan also reports consultant fees from Bristol Myers Squibb for a Scientific Advisory Board focused on myocarditis related to immune checkpoint inhibitors.

Word count: 2417 (not including Abstract, Methods, References and figure legends)

Correspondence to:

Otávio Rizzi Coelho-Filho MD, MPH, PhD.

Assistant Professor of Medicine

Division of Cardiology, Department of Medicine,

State University of Campinas (UNICAMP),

Rua Tessália Viera de Camargo, 126

Campinas - SP - Brasil - CEP 13083-887

Tel: +55 19 996038484, Fax: +55 19 35218788

Email: orcfilho@unicamp.br

Twitter: @Otavio_Coelho_F

Sources of Funding:

Dr. Coelho-Filho is supported by grant (303366/2015-0) from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and by grants from The São Paulo Research Foundation (2015/15402-2, 2016/26209-1 and 2017/03708-5). Dr. Neilan is supported by a gift from A. Curt Greer and Pamela Kohlberg, and grants from the National Institutes of Health/National Heart, Lung, and Blood Institute grants R01HL130539, R01HL137562, K24HL150238, and National Institutes of Health/Harvard Center for AIDS Research grant P30 AI060354.

Structured Abstract:

Background: There are limited data on the effects of anthracyclines on right ventricular (RV) structure, function, and tissue characteristics.

Purpose: The goal of this study was to investigate the effects of anthracyclines on the RV using cardiac magnetic resonance (CMR).

Methods: This was a post-hoc analysis of a prospective study of 27 breast cancer (BC) patients (51.8 ± 8.9 years) using CMR prior, and up to 3-times after anthracyclines ($240\text{mg}/\text{m}^2$) to measure RV volumes and mass, RV extracellular volume (ECV) and cardiomyocyte mass (CM).

Results: Before anthracyclines, LVEF ($69.4 \pm 3.6\%$) and RVEF ($55.6 \pm 9\%$) were normal. The median follow-up after anthracyclines was 399 days (IQR: 310-517). The RVEF reached its nadir ($46.3 \pm 6.8\%$) after 9-months ($P < 0.001$). RV mass-index and RV CM decreased to $13 \pm 2.8\text{g}/\text{m}^2$ and $8.13 \pm 2\text{g}/\text{m}^2$, respectively, at 16-months after anthracyclines. The RV ECV expanded from 0.26 ± 0.07 by 0.14 (53%) to 0.40 ± 0.1 ($P < 0.001$). The RVECV expansion correlated with a decrease in RV mass-index ($r = -0.46$; $P < 0.001$) and the increase in CK-MB. An RV ESV index at baseline above its median predicted an increased risk of LV dysfunction post-anthracyclines.

Conclusions: In BC patients treated with anthracyclines, RV atrophy, systolic dysfunction, and a parallel increase of diffuse interstitial fibrosis indicate a cardiotoxic response on a similar scale as previously seen in the systemic left ventricle.

Keywords: anthracycline, cardiotoxicity, fibrosis, right ventricle, myocardial remodeling, magnetic resonance imaging, gadolinium.

Condensed Abstract (100 words):

This study investigated the effects of anthracyclines on the right ventricle (RV) using cardiac magnetic resonance. Before anthracyclines, left ventricular (LV) ejection fraction (EF) ($69.4 \pm 3.6\%$) and RVEF ($55.6 \pm 9\%$) were normal. The RVEF decreased to $46.3 \pm 6.8\%$ with anthracyclines ($P < 0.001$). The RV mass index also decreased to $13 \pm 2.8 \text{ g/m}^2$ at 16 months after anthracyclines. The LVEF and LV mass index declined over the same period to $58 \pm 6\%$ ($P < 0.001$) and $36 \pm 6 \text{ g/m}^2$ ($P < 0.001$). The RV ECV increased from 0.26 ± 0.07 to 0.40 ± 0.1 ($P < 0.001$), in parallel with a decrease in the RV cardiomyocyte mass. The observed effects of anthracyclines on the RV, a decrease of EF and cardiomyocyte mass, and an increase in RV fibrosis, suggest a pattern of remodeling similar to the LV.

Clinical Perspective:

While characterization of the changes of left ventricular (LV) and aortic vascular function in patients treated with anthracyclines has been extensively demonstrated, few studies have examined the effect of anthracyclines on the RV morphology and function. In the current study we were specifically interested in determining whether tissue remodeling seen in the LV also occurs in the RV. Our findings demonstrate that the adverse remodeling of the RV after anthracyclines include coexistent changes in RV systolic function and mass, as well as expansion of the extracellular space, a marker of interstitial fibrosis. These findings expand the current knowledge of pre-clinical RV abnormalities induced by anthracycline therapy in BC patients.

Abbreviations List:

BC = breast cancer

CK = creatine kinase

CK-MB = creatine kinase myocardial band fraction

CM = cardiomyocyte mass

CMR = cardiovascular magnetic resonance

cTnT = high-sensitive troponin T

ECV = extracellular volume

FOV = field of view

GAM = generalized additive models with mixed effects

GFR = glomerular filtration rate

Hct = hematocrit

HER2 = the antibody human epidermal growth factor receptor 2

HF = heart failure

IQR = inter-quartile range

LGE = late gadolinium enhancement

LME = linear mixed effects

LV = left ventricle

MOLLI = modified Look-Locker imaging

NEX= number of excitations

RV = right ventricle

TE = echo time

TR = repetition time

λ_{Gd} = partition coefficient for gadolinium contrast

Introduction

Anthracyclines are a standard primary therapy for several malignancies. However, the use of anthracyclines is associated with cardiac injury, adverse cardiac remodeling, and cardiac dysfunction leading to clinical heart failure (HF) and death¹. Multiple prior studies²⁻⁵ have provided an in-depth characterization of the changes of left ventricular (LV) and aortic vascular function in patients treated with anthracyclines. Among broad groups of patients with HF, the presence and the extent of right ventricular (RV) dysfunction is a key determinant of outcomes⁶⁻⁸, but there are limited data on the effect of anthracyclines on the RV^{9,10}. In patients treated with anthracyclines, studies using CMR imaging have demonstrated a decline in RV systolic function in adult survivors of childhood cancer^{11,12} and in breast cancer patients¹³⁻¹⁵. However, one of the key strengths of CMR is the ability to apply tissue characterization techniques to improve our understanding of the pathophysiological changes in response to injury. There are a paucity of studies applying such tissue characterization techniques to better understand the effects of anthracyclines on the RV. This is in contrast to several published studies on LV tissue remodeling after anthracyclines²⁻⁵; additionally, several studies^{16,17} have suggested that the RV may be more vulnerable to injury from anthracyclines, and early RV dysfunction may predict anthracycline-induced cardiotoxicity. We were specifically interested in understanding the effects of anthracyclines on the RV fibrosis, as measured by calculation of the extracellular volume (ECV), and on cardiomyocyte mass. Such data would improve the current understanding of pre-clinical RV abnormalities induced by anthracycline therapy in BC patients, and are hypothesis generating for future prospective studies of the long-term effects of anthracycline induced cardio-toxicity.

Methods

Study design

This is a post-hoc analysis of a previously published clinical study applying CMR to characterize the cardiotoxicity with anthracyclines (ClinicalTrials.gov: DOX-0675014600011)² in 27 consecutively recruited female patients with BC enrolled between 2012 and 2015. We previously described² the effects of anthracyclines in this study on the LV. Patients were eligible for enrollment if they had a BC diagnosis and were scheduled to receive adjuvant anthracycline-based therapy (doxorubicin in 4-cycles at 60mg/m², total dose of 240mg/m²). Exclusion criteria were any contraindications to CMR, chronic kidney disease (GFR <40ml/min²), previous myocardial infarction, clinical diagnosis of HF, moderate or severe valvular disease or any other significant cardiac disease. Detailed clinical and medical history, standard anthropometric data, and laboratory evaluation were performed alongside CMR exams. Our local Institutional Review Board approved the study (CAAE: 0675.0.146.000-11, Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP; Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126; Distrito de Barão Geraldo, Campinas – SP, Brazil, CEP: 13083-887; <https://www.prp.unicamp.br/pt-br/contato-2>; Phone/Fax: +55 19 3521.8936). All participants provided written informed consent prior to study enrollment and patients completed the study protocol without suffering adverse events. All methods were carried out in accordance with relevant guidelines and regulations.

Follow-up

Participants underwent clinical assessment and CMR imaging before and up to three times consecutively after anthracycline treatment (median follow-up time points were: 140, 231, and 427 days from initiation of anthracyclines for visits 1, 2, and 3,

respectively, as previously reported ². Time ranges for study visits and CMR exams varied mainly due to patient scheduling and retention issues. Thus, for the longitudinal analysis, we categorized the follow-up times into quartile ranges. In the three patients with HER-2+ breast cancer, trastuzumab was delayed for non-study related reasons and was not administrated until after the last CMR exam.

Biochemical analysis

Blood samples were obtained at baseline and during each anthracycline cycle and before each CMR examination. Glucose, glycated hemoglobin, triglycerides, high and low-density lipoprotein cholesterol (Beckman Coulter, AU5800 Beckman Coulter Analyzer, United States) were obtained at baseline after 12 hours of fasting. CK, CK-MB (Beckman Coulter, AU5800 Beckman Coulter Analyzer, United States) and high-sensitive troponin T (cTnT) (Roche, Cobas e601 immunoassay analyzers, Roche Diagnostics, Germany) were obtained at baseline, before each anthracycline cycle, and before each CMR visit.

Cardiac Magnetic Resonance

Patients were imaged on a 3T CMR scanner (Achieva, Philips Medical Systems, The Netherlands) with a 6-element phased-array surface-coil. The CMR protocol comprised electrocardiographically gated cine imaging with steady-state free precession (repetition time TR= 3.4ms; echo time TE=1.2ms; in-plane spatial resolution=1.5mm) for LV and RV volumes/function, and imaging of late gadolinium enhancement (LGE) for scar assessment as previously described¹⁸. A breath-hold Look-Locker spoiled gradient-echo cine technique¹⁹ was used for T1 measurements in a single mid-ventricular slice with a temporal resolution of 80 ms for pre-contrast T1 and 55ms post-contrast

(TR/TE/flip-angle=5/2.2ms/10°; slice thickness=8mm; 192x128 matrix; FOV= ~340 x 300-340 mm; NEX=1; SENSE=2 parallel imaging acceleration, in-plane resolution of 1.7 x 1.7 mm)²⁰. The Look-Locker sequence used an adiabatic inversion pulse, which by its very nature is relatively insensitive to the B1 amplitude of the radio-frequency pulses and results in excellent inversion profiles. At least 5 T1 datasets were acquired in each patient.

Assessment of biventricular volumes, function, fibrosis by CMR

The CMR images were analyzed with the MASS CMR software (Mass Research, Version 2021, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands, www.lkeb.nl) to measure biventricular mass, volumes and function²¹. The RV and LV walls were contoured on the Look-Locker images and divided into 4 and 6 segments, respectively. Ventricular volumes and mass were indexed by body-surface area. For the RV ECV, only the free wall from the superior to the inferior RV-to-LV insertions points was considered. T1s were determined for each myocardial segment and the LV blood pool by nonlinear least squares fitting to an analytic expression for the inversion recovery and correction for the effects of radiofrequency pulses applied using the method originally developed by Deichman and Haase.²² The myocardial partition coefficient for gadolinium contrast (λ_{Gd}) was determined by myocardial sector by linear least-squares fitting of pre and post-contrast R1's in tissue against R1's in blood. ECV was estimated as λ_{Gd} multiplied by $(1-Hct)$, where Hct represents the patient's blood hematocrit at the time of the CMR examination.²³ We also estimated the LV and RV cardiomyocyte mass (CM) from the product of $(1-ECV)$ and total LV and RV mass, respectively.

Statistical Analyses

Statistical analysis was performed using R (version 4.0.3, R Foundation; <http://www.R-project.org/>). Data are presented as means $\pm$ standard deviation, or median with inter-quartile range (IQR), if not normally distributed. Linear mixed effects (LME) regression models (R-package *lme4*) were used to analyze longitudinal changes of LV and RV volumes indices, EF and ECV in each patient. Measurement variables which did not appear to have a linear dependence on follow-up time (as continuous variable) were analyzed with generalized additive models with mixed effects (GAM), using a cubic-regression spline to represent time²⁴, a random intercept per patient, and an autoregressive model (AR) for errors to account for the correlation of successive measurements within each patient (R-package *mgcv*). Variables were log-transformed as needed when a quantile-quantile plot indicated significant deviation from a normal distribution. The occurrence of LV systolic dysfunction after anthracycline therapy was stratified by the median RVEF or RV ESV index at baseline. Bivariate correlation of independent measurements was assessed with Pearson's method, or alternatively with Spearman's method if indicated. Repeated measures correlation was computed to determine the overall within-individual relationship among paired measures assessed at multiple time points²⁵. Intra and inter-observer variability of the RV ECV was performed at patient and segmental levels in a randomly selected subset of studies (n=10), using inter-class correlation (ICC).²⁶ The subset of studies was re-analyzed blinded to any clinical information by the main reader (TFS) and by another reader (ORCF), both fully trained in CMR and with prior experience in T1 mapping analysis.

Results

Baseline clinical and imaging characteristics of the study population

Baseline characteristics of our study population are shown in Table 1. None of the study participants had diabetes mellitus or history of angina or myocardial infarction. Before anthracyclines, all subjects had normal LVEF ($69.4 \pm 3.6\%$), LV mass index ($51.4 \pm 8 \text{ g/m}^2$) and RV mass index ($18.2 \pm 4 \text{ g/m}^2$)^{27,28}. The mean RVEF at baseline was $55.6 \pm 9\%$, consistent with values reported for healthy normal²⁹ of similar age.

Changes in standard LV and RV morphology and function after anthracycline-based chemotherapy

The median follow-up time after anthracyclines was 399 days (IQR: 310-517) and covered a time span from 79 to 700 days. Measurements for RV and LV volumes, wall mass and systolic function are summarized in Figure 1 and the supplemental online Table 1. The quartile ranges for follow-up time were: [79,146], [146,231], [231,350], and [350,700] days relative to the initiation of anthracycline therapy, corresponding to median follow-up times of 4, 6, 9, and 16 months, respectively. As described previously², the LVEF and LV mass-index decreased from baseline, reaching $53.8 \pm 8.4\%$ at [231,350] days (median 9 months) and $36 \pm 6 \text{ g/m}^2$ at [350,700] days (median 16 months) after chemotherapy respectively ($P < 0.001$; Figure 1, A and B).

The RV end-diastolic volume index did not change after anthracyclines (supplemental online Table 1). In contrast, there was an approximately 25% increase in the RV end-systolic volume index from $20.4 \pm 6 \text{ ml/m}^2$ at baseline to $25.2 \pm 10 \text{ ml/m}^2$ at [146,231] days after anthracycline therapy ($P < 0.011$). This increase in the RV end-

systolic volume occurred with a parallel decline in the RVEF from $55.6\pm 9\%$ to a minimum of $46.3\pm 6.8\%$ at [231,350] days after anthracyclines ($P<0.001$ compared with baseline, Figure 1A). The RV mass index decreased by 28% after anthracyclines, from 18.2 ± 4 g/m² at baseline to 13 ± 2.8 g/m² at a median of 16 months after chemotherapy ($P<0.001$ compared with baseline, Figure 1B), similar to a parallel 30% decrease of LV mass index. The RVEF correlated only weakly (repeated measures correlation coefficient $r=0.23$, $P=0.05$; CI: [-0.012, -0.44] with the LVEF.

Right ventricular extracellular remodeling after anthracycline therapy

Paralleling the longitudinal expansion of ECV in the LV (Figure 2A), the RV ECV also increased from a baseline value of 0.26 ± 0.07 by 0.14 (53%) to 0.40 ± 0.1 in the (350, 700] day period ($P<0.001$ for [350,700] days vs. baseline, Figure 2B). There was no significant correlation between the LV and RV ECV's (rep. meas. $r=0.19$; $p=0.14$). Both the LV and RV cardiomyocyte mass (CM), derived from the product of (1-ECV) and wall mass indices, decreased after chemotherapy, reaching 23.2 ± 4.3 g/m² for the LV and 8.3 ± 1.93 g/m² for the RV, respectively, at [351-700] days after chemotherapy. The RV ECV correlated weakly with the RV mass-to-ED volume (repeated measures correlation coefficient $r=0.33$; $P=0.012$; CI: [-0.54, -0.07]).

Changes in serum biomarkers

Results for the serum biomarkers cTnT and CK-MB are displayed in the online supplement (supplemental online Table 2). As previously reported², the cTnT and CK-MB fraction levels increased from 4.6 ± 1.4 pg/ml and 13.6 ± 6.1 IU/L (baseline) to

21.3±14.4pg/ml and 19.8±11.7 IU/L at [79,146] days after doxorubicin administration, respectively. Thereafter, the cTnT and CK-MB declined to 5.2±1.6pg/ml at [350,700] and 15.8±8.5IU/L at [231,350] days after chemotherapy. While patients with peak cTnT>10pg/ml had a more prominent decrease of LV CM after anthracyclines, this observation was not replicated by RV CM. The repeated measures correlation of RVEF and CK-MB was -0.36 (P=0.005). The change of RV ECV between baseline and the final follow-up CMR study was associated with the simultaneously measured change of CK-MB serum level, as shown in Figure 3A. Furthermore, the longitudinal change of RV ECV was modified by CK-MB levels: patients with higher CK-MB had a larger change of ECV (P<0.001 for interaction of follow-up time and log-transformed CK-MB level), as illustrated in Figure 3B. The change of hs-cTnT between baseline and the final follow-up CMR study was not associated with the change of RV ECV.

Reproducibility analyses of the RV ECV

Reproducibility analyses of the RV ECV was performed in a randomly selected subset of exams (n=10). The inter-class correlation (ICC) of RV ECV at segmental and patient levels were performed for inter-observer and intra observer variability analysis. The ICC coefficient for the inter-observer comparison at the segmental level was 0.795 (CI: 0.678 – 0.873) and at the patient level was 0.784 (CI: 0.373 – 0.94). The ICC for intra-observer comparison of the RV ECV at segmental level was 0.82 (CI: 0.717 – 0.888) and at patient level was 0.927 (CI:0.473-0.953).

Baseline RV function as predictor of left ventricular dysfunction post anthracycline

After anthracycline therapy, 15 (58%) patients showed signs of LV systolic dysfunction (LVEF < 55%; mean decrease of LVEF in group developing LV dysfunction:

18.5 ± 5.3%; min. change 11.5%) on one of the follow-up CMR examinations, i.e. these patients met criteria for LV cardiotoxicity, namely a >10% reduction in LVEF from baseline to <55%, in the absence of heart failure symptoms. Patients with LV systolic dysfunction at follow-up had a lower RVEF at baseline (51.49 ± 7.72 vs. 60.82 ± 8.91 %; P=0.011) and a higher RV ESVi (23.66 ± 6.15 vs. 17.20 ± 4.07 ml/m²; P=0.005). Patients with an RV ESVi above its median at baseline, had an *overall* lower LVEF at *multiple* time points after anthracyclines (P<0.001), though at baseline LVEF was >60% in all patients (Figure 4A). In patients with RV ESVi ≥ median at baseline, LV systolic dysfunction was more likely after anthracyclines (P=0.0028 for effect of RV ESVi ≥ median at baseline, Figure 4B). Similarly, patients with an RVEF below its median at baseline, had an *overall* lower LVEF at *multiple* time points after anthracyclines (P<0.001).

Discussion

This study provides the first evidence of anthracycline-induced adverse myocardial remodeling of the RV manifested by RV atrophy, and expansion of the extracellular volume (ECV). The ECV is a well-validated imaging marker of myocardial fibrosis in the LV and increased following anthracycline therapy; however, has not been used previously to study cardiotoxicity in the RV. The simultaneous increase of ECV and a reduction in total RV wall mass both contributed to a reduction of RV CM, suggesting CM atrophy and/or diffuse CM necrosis. Furthermore, subclinical differences in RV systolic EF and end-systolic volumes at baseline predicted LV systolic dysfunction after anthracyclines. These findings are consistent with recent reports that the RV may be at least as vulnerable to injury from anthracyclines as the LV, and early RV dysfunction may predict anthracycline-induced cardiotoxicity^{16,17}. In addition, the reproducibility analysis for the RV ECV, demonstrated that our measurements were reliable, consistent and reproducible with ICC coefficients > 0.75 .²⁶

A decline in RV systolic function is a robust prognostic marker for adverse outcomes in a variety of clinical scenarios^{8,30-34}. Nevertheless, there are limited data on the effect of anthracyclines on the RV. In the Interagency Registry for Mechanically Assisted Circulatory Support (INTERMACS), 27% of patients presented with chemotherapy-induced cardiomyopathy and these patients had significant and severe reduction of RVEF³⁵. Only a few CMR studies have characterized the occurrence of RV dysfunction after anthracyclines with or without antagonism of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)¹³⁻¹⁵. Groover et al noted, in cohort of 56 BC patients

treated with anthracycline and/or trastuzumab, a significant decrease in RVEF at 4 months, which persisted to 12 months¹³. Nakano and colleagues, studying exclusively HER positive BC patients, reported changes on the RV circumferential strain, which decreased 6-months after the initiation of trastuzumab¹⁴. More recently, Barthur et al. also investigated HER positive BC patients before, and serially after chemotherapy (6, 12, and 18 months), and showed adverse effects on RV structure and function that tended to recover after 18 months¹⁵. Recently Zhao et al.³⁶, reported in a cohort with large B-cell lymphoma, treated with anthracycline-based chemotherapy, that the RVEF decreased significantly from $54.0 \pm 2.8\%$ to $49.8 \pm 2.4\%$ ($P < 0.001$), a change of a similar magnitude as in the present study.

Although criteria for RV cardiotoxicity are not well-defined or agreed upon, it has been proposed that significant reductions of RVEF below the lower limit of normal for the imaging method should be considered³⁶. Since the lower normal limit of RVEF has been defined as 51% for women²⁸, our findings highlight that even moderated exposure to anthracycline may cause a meaningful decline in RV function. Furthermore, an above-median RV ESV index and a below-median RVEF at baseline were both independently associated with a higher risk of LV cardiotoxicity after anthracyclines ($> 10\%$ decline of LV EF and LV EF $< 55\%$). RV dysfunction may even represent an early warning sign of cardiotoxicity following anthracycline therapy. A previous study by Planek et al. of lymphoma patients¹⁶ with an average follow-up period of 6-months found that anthracycline therapy was associated with subclinical RV dysfunction, but not LV dysfunction, at a cumulative dose $\geq 200 \text{ mg/m}^2$. In the present study LV systolic dysfunction was at a nadir around ~ 300 days allowing a more comprehensive evaluation of full impact of anthracyclines on ventricular function than in the study by

Planek et al. A novel finding from this study is that the RV ESVi at baseline is associated with the risk of LV systolic dysfunction after anthracycline therapy, suggesting that RV ESVi baseline status could help in risk stratification for patients undergoing anthracycline therapy.

We observed a relatively weak correlation between the longitudinal changes of EF in the LV and RV. In prior work, RV remodeling and dysfunction was noted at 4-6 months after therapy implementation and lasted until 12-months reflecting or not LV changes in function¹³⁻¹⁵. Experimental models of mice treated with doxorubicin demonstrate that histopathologic modifications in ventricular tissues are analogous, but the degree by which each ventricle is affected may differ, particularly in relation to the level of oxidative stress present³⁷. Our group³⁸, and others³⁹, have also demonstrated that anthracycline-based chemotherapy markedly reduces LV mass, and that this portends a worse prognosis. The mechanisms involved in the decrease in LV mass are thought to be related to cardiomyocyte death and atrophy². It is reasonable to hypothesize that cardiomyocyte death and atrophy play a similar putative role in the RV loss of mass.

Several groups²⁻⁴ have demonstrated the usefulness of CMR T1 mapping in characterizing myocardial tissue remodeling of the LV in patients undergoing cancer therapy, but there are no analogous data for the RV. T1 mapping in the RV is technically more challenging. Nevertheless, studies in patients have demonstrated the value of CMR T1 mapping for detecting diffuse fibrosis in the RV. We note here that the RV ECV at baseline in our study (0.26 ± 0.07) is almost identical to the RV ECV reported for control groups in two independent studies of pulmonary hypertension (0.264 ± 0.042 ⁴⁰, and median 0.271 with IQR = (0.251-0.279)⁴¹). There are limited data from experimental

studies on longitudinal RV ECV changes following anthracycline therapy. In a rabbit model⁴², the ECV increased at both superior and inferior RV insertion regions from 0.28 ± 0.013 and 0.29 ± 0.02 , to 0.39 ± 0.01 and 0.41 ± 0.01 , respectively, 16 weeks after treatment with doxorubicin (1 mg/kg injections twice a week). The T1-based ECV estimates at the RV insertion regions correlated well with the collagen volume fraction ($r = 0.824$, $P < 0.001$)⁴².

Limitations

We have investigated a relatively small uniform cohort of BC patients; consequently, current results may not be applicable to patients with a different malignancy clinical profile. As all recruited patients remained asymptomatic during the entire study, exploratory investigation of the associations of RVEF and RV ECV with symptoms after anthracycline therapy was not feasible. In addition, we highlight that we used a Look-Locker technique for T1 measurements rather than the modified Look-Locker imaging (MOLLI), as this sequence was not available at the time of the study. A generalization or comparison of our results obtained with the Look-Locker gradient echo T1-mapping method, to other more commonly used T1 mapping methods, may not apply. It should nevertheless be noted that MOLLI and Look-Locker T1 measurements showed good agreement⁴³. Other biomarkers of interest, such as NT-proBNP, were not initially planned and were not available. There was a negative correlation between RVEF and CK-MB, and it appears plausible that a similar relationship could be expected between RV EF and hs-cTnT, but which was nevertheless not observed. We note here that CK levels, including of the CK-MB heterodimer, have been reported to be lower⁴⁴ in breast cancer patients, and more so with more advanced cancer stage, which may result

in a larger longer-term effect of anthracyclines on CK-MB levels compared to hs-cTnT. Finally, it is important to acknowledge that the current findings have to be interpreted in the context of a hypothesis generating post-hoc study which requires further, larger and dedicated investigations to confirm the clinical usefulness of RV tissues characterization by CMR T1 mapping following anthracyclines.

Conclusion

Breast cancer patients undergoing anthracycline-therapy experienced significant adverse myocardial remodeling in both ventricles, which are reflected in meaningful reductions in function and mass. Similar to the LV, the RV extracellular volume increased and RV cardiomyocyte mass decreased after anthracycline therapy, expanding the current understanding of RV dysfunction induced in this setting.

Acknowledgements:

The authors would like to thank all the patients who participated in the study and express their gratitude to the CMR research staff at Hospital das Clínicas of the State University of Campinas for their support and dedication.

References

- 1 Swain, S. M. Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *N Engl J Med* **340**, 654; author reply 655 (1999).
- 2 Ferreira de Souza, T. *et al.* Anthracycline Therapy Is Associated With Cardiomyocyte Atrophy and Preclinical Manifestations of Heart Disease. *JACC Cardiovasc Imaging* **11**, 1045-1055, doi:10.1016/j.jcmg.2018.05.012 (2018).
- 3 Neilan, T. G. *et al.* Myocardial extracellular volume by cardiac magnetic resonance imaging in patients treated with anthracycline-based chemotherapy. *Am J Cardiol* **111**, 717-722, doi:10.1016/j.amjcard.2012.11.022 (2013).
- 4 Melendez, G. C. *et al.* Progressive 3-Month Increase in LV Myocardial ECV After Anthracycline-Based Chemotherapy. *JACC. Cardiovascular imaging* **10**, 708-709, doi:10.1016/j.jcmg.2016.06.006 (2017).
- 5 Chaosuwannakit, N. *et al.* Aortic stiffness increases upon receipt of anthracycline chemotherapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **28**, 166-172, doi:10.1200/JCO.2009.23.8527 (2010).
- 6 Meluzin, J. *et al.* Prognostic importance of the right ventricular function assessed by Doppler tissue imaging. *European journal of echocardiography : the journal of the Working Group on Echocardiography of the European Society of Cardiology* **4**, 262-271, doi:10.1016/s1525-2167(02)00171-3 (2003).
- 7 Ghio, S. *et al.* Different correlates but similar prognostic implications for right ventricular dysfunction in heart failure patients with reduced or preserved ejection fraction. *European journal of heart failure* **19**, 873-879, doi:10.1002/ejhf.664 (2017).
- 8 Chrysohoou, C. *et al.* Role of right ventricular systolic function on long-term outcome in patients with newly diagnosed systolic heart failure. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society* **75**, 2176-2181, doi:10.1253/circj.cj-11-0296 (2011).
- 9 Cottin, Y. *et al.* Diastolic or systolic left and right ventricular impairment at moderate doses of anthracycline? A 1-year follow-up study of women. *European journal of nuclear medicine* **23**, 511-516, doi:10.1007/BF00833384 (1996).
- 10 Boczar, K. E. *et al.* Right heart function deteriorates in breast cancer patients undergoing anthracycline-based chemotherapy. *Echo research and practice* **3**, 79-84, doi:10.1530/ERP-16-0020 (2016).
- 11 Ylanen, K. *et al.* Cardiac magnetic resonance imaging in the evaluation of the late effects of anthracyclines among long-term survivors of childhood cancer. *Journal of the American College of Cardiology* **61**, 1539-1547, doi:10.1016/j.jacc.2013.01.019 (2013).
- 12 Oberholzer, K., Kunz, R. P., Dittrich, M. & Thelen, M. [Anthracycline-induced cardiotoxicity: cardiac MRI after treatment for childhood cancer]. *RoFo :*

- Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen und der Nuklearmedizin* **176**, 1245-1250, doi:10.1055/s-2004-813416 (2004).
- 13 Grover, S. *et al.* Left and right ventricular effects of anthracycline and trastuzumab chemotherapy: a prospective study using novel cardiac imaging and biochemical markers. *International journal of cardiology* **168**, 5465-5467, doi:10.1016/j.ijcard.2013.07.246 (2013).
 - 14 Nakano, S. *et al.* Cardiac magnetic resonance imaging-based myocardial strain study for evaluation of cardiotoxicity in breast cancer patients treated with trastuzumab: A pilot study to evaluate the feasibility of the method. *Cardiology journal* **23**, 270-280, doi:10.5603/CJ.a2016.0023 (2016).
 - 15 Barthur, A. *et al.* Longitudinal assessment of right ventricular structure and function by cardiovascular magnetic resonance in breast cancer patients treated with trastuzumab: a prospective observational study. *Journal of cardiovascular magnetic resonance : official journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance* **19**, 44, doi:10.1186/s12968-017-0356-4 (2017).
 - 16 Planek, M. I. C. *et al.* Prediction of doxorubicin cardiotoxicity by early detection of subclinical right ventricular dysfunction. *Cardiooncology* **6**, 10, doi:10.1186/s40959-020-00066-8 (2020).
 - 17 Zhao, R. *et al.* Early Detection and Prediction of Anthracycline-Induced Right Ventricular Cardiotoxicity by 3-Dimensional Echocardiography. *JACC: CardioOncology* **2**, 13-22, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.01.007> (2020).
 - 18 Kim, R. J. *et al.* Relationship of MRI delayed contrast enhancement to irreversible injury, infarct age, and contractile function. *Circulation* **100**, 1992-2002 (1999).
 - 19 Look, D. & Locker, D. Time saving in measurement of NMR and EPR relaxation times. *Rev. Sci. Instrum.* **41**, 250-251 (1970).
 - 20 Neilan, T. G. *et al.* Myocardial extracellular volume fraction from T1 measurements in healthy volunteers and mice: relationship to aging and cardiac dimensions. *JACC Cardiovasc Imaging* **6**, 672-683, doi:10.1016/j.jcmg.2012.09.020 (2013).
 - 21 Rickers, C. *et al.* Utility of cardiac magnetic resonance imaging in the diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* **112**, 855-861 (2005).
 - 22 Deichmann, R. & Haase, A. Quantification of T1 values by SNAPSHOT-FLASH NMR imaging. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **96**, 608-612, doi:[https://doi.org/10.1016/0022-2364\(92\)90347-A](https://doi.org/10.1016/0022-2364(92)90347-A) (1992).
 - 23 Coelho-Filho, O. R. *et al.* Role of transcytolemmal water-exchange in magnetic resonance measurements of diffuse myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. *Circulation. Cardiovascular imaging* **6**, 134-141, doi:10.1161/CIRCIMAGING.112.979815 (2013).
 - 24 Wood, S. N. *Generalized additive models : an introduction with R*. Second edition. edn, (CRC Press, 2017).

- 25 Bland, J. M. & Altman, D. G. Calculating correlation coefficients with repeated observations: Part 2--Correlation between subjects. *Bmj* **310**, 633, doi:10.1136/bmj.310.6980.633 (1995).
- 26 Koo, T. K. & Li, M. Y. A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *J Chiropr Med* **15**, 155-163, doi:10.1016/j.jcm.2016.02.012 (2016).
- 27 Mooij, C. F., de Wit, C. J., Graham, D. A., Powell, A. J. & Geva, T. Reproducibility of MRI measurements of right ventricular size and function in patients with normal and dilated ventricles. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* **28**, 67-73, doi:10.1002/jmri.21407 (2008).
- 28 Kawel-Boehm, N. *et al.* Normal values for cardiovascular magnetic resonance in adults and children. *Journal of cardiovascular magnetic resonance : official journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance* **17**, 29, doi:10.1186/s12968-015-0111-7 (2015).
- 29 Fiechter, M. *et al.* Age-related normal structural and functional ventricular values in cardiac function assessed by magnetic resonance. *BMC Med Imaging* **13**, 6, doi:10.1186/1471-2342-13-6 (2013).
- 30 Fine, N. M. *et al.* Outcome prediction by quantitative right ventricular function assessment in 575 subjects evaluated for pulmonary hypertension. *Circ Cardiovasc Imaging* **6**, 711-721, doi:10.1161/CIRCIMAGING.113.000640 (2013).
- 31 Antoni, M. L. *et al.* Prognostic value of right ventricular function in patients after acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *Circ Cardiovasc Imaging* **3**, 264-271, doi:10.1161/CIRCIMAGING.109.914366 (2010).
- 32 Carluccio, E. *et al.* Prognostic Value of Right Ventricular Dysfunction in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: Superiority of Longitudinal Strain Over Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion. *Circ Cardiovasc Imaging* **11**, e006894, doi:10.1161/CIRCIMAGING.117.006894 (2018).
- 33 Guendouz, S. *et al.* Prognostic significance and normal values of 2D strain to assess right ventricular systolic function in chronic heart failure. *Circ J* **76**, 127-136 (2012).
- 34 Haddad, F., Doyle, R., Murphy, D. J. & Hunt, S. A. Right ventricular function in cardiovascular disease, part II: pathophysiology, clinical importance, and management of right ventricular failure. *Circulation* **117**, 1717-1731, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.653584 (2008).
- 35 Oliveira, G. H. *et al.* Increased need for right ventricular support in patients with chemotherapy-induced cardiomyopathy undergoing mechanical circulatory support: outcomes from the INTERMACS Registry (Interagency Registry for Mechanically Assisted Circulatory Support). *Journal of the American College of Cardiology* **63**, 240-248, doi:10.1016/j.jacc.2013.09.040 (2014).

- 36 Wang, B. *et al.* Speckle tracking echocardiography in the early detection and prediction of anthracycline cardiotoxicity in diffuse large B-cell lymphoma treated with (R)-CHOP regimen. *Echocardiography* **37**, 421-428, doi:10.1111/echo.14622 (2020).
- 37 Anghel, N. *et al.* Acute cardiotoxicity induced by doxorubicin in right ventricle is associated with increase of oxidative stress and apoptosis in rats. *Histol Histopathol* **33**, 365-378, doi:10.14670/HH-11-932 (2018).
- 38 Drafts, B. C. *et al.* Low to moderate dose anthracycline-based chemotherapy is associated with early noninvasive imaging evidence of subclinical cardiovascular disease. *JACC. Cardiovascular imaging* **6**, 877-885, doi:10.1016/j.jcmg.2012.11.017 (2013).
- 39 Armstrong, G. T. *et al.* Screening adult survivors of childhood cancer for cardiomyopathy: comparison of echocardiography and cardiac magnetic resonance imaging. *J Clin Oncol* **30**, 2876-2884 (2012).
- 40 Patel, R. B. *et al.* Diffuse right ventricular fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction and pulmonary hypertension. *ESC heart failure* **7**, 253-263, doi:10.1002/ehf2.12565 (2020).
- 41 Mehta, B. B. *et al.* Detection of elevated right ventricular extracellular volume in pulmonary hypertension using Accelerated and Navigator-Gated Look-Locker Imaging for Cardiac T1 Estimation (ANGIE) cardiovascular magnetic resonance. *Journal of cardiovascular magnetic resonance : official journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance* **17**, 110, doi:10.1186/s12968-015-0209-y (2015).
- 42 Hong, Y. J. *et al.* Early Detection and Serial Monitoring of Anthracycline-Induced Cardiotoxicity Using T1-mapping Cardiac Magnetic Resonance Imaging: An Animal Study. *Scientific reports* **7**, 2663, doi:10.1038/s41598-017-02627-x (2017).
- 43 Nacif, M. S. *et al.* Myocardial T1 mapping with MRI: comparison of look-locker and MOLLI sequences. *J Magn Reson Imaging* **34**, 1367-1373, doi:10.1002/jmri.22753 (2011).
- 44 Pan, H. *et al.* Low serum creatine kinase levels in breast cancer patients: a case-control study. *PloS one* **8**, e62112, doi:10.1371/journal.pone.0062112 (2013).

Figures Titles and Legends:

Figure 1 AB: Baseline and post-anthracycline ejection fraction (LV and RV) and ventricular mass (LV and RV). A: LV EF (left) was significantly lower during all follow-up periods after anthracycline therapy ($P<0.001$); RV EF (right) reached a minimum around [146,231] days after anthracycline initiation ($P=0.002$ vs. pre-DOX), followed by a slight recovery. B: LV and RV ventricular mass index showed steady incremental decreases over the entire follow-up and in all follow-up periods both LV and RV mass index were significantly ($P<0.001$) below their baseline averages (+, $P<0.1$; *, $P<0.05$, **, $P<0.01$, ***, $P<0.001$).

Figure 2: Baseline and post-anthracycline LV and RV of the ECV and cardiomyocyte mass index (CM). A: LV ECV (left) increased from 0.32 ± 0.04 at baseline, by 0.037 (11%), to 0.36 ± 0.04 in the [350,700] day period ($P=0.0035$ for [350,700] days vs. baseline). The RV ECV (right) also increased from the baseline value of 0.26 ± 0.07 by 0.14 (53%) to 0.40 ± 0.1 in the [350,700] day period ($P<0.001$ for [350,700] days vs. baseline). B: LV and RV cardiomyocyte mass decreased steadily after anthracyclines (+, $P<0.1$; *, $P<0.05$, **, $P<0.01$, ***, $P<0.001$).

Figure 3: Changes of RV ECV changes and their association with CK-MB. A: the change of ECV in the RV between the baseline MRI study and the final CMR (Δ ECV) in each patient correlated with the change of CK-MB (Δ CK-MB) a serum biomarker of myocardial injury. B: RV ECV increased approximately linearly with time from anthracycline therapy. The rate of RV ECV expansion over time after anthracycline

therapy ($P < 0.001$ for follow-up-time coefficient estimate) increased in proportion to the serum level of CK-MB activity ($P < 0.001$ for interaction of follow-up time with log-transformed CK-MB level). The longitudinal change of RV ECV was modeled with a linear mixed effects model that included follow-up time (days), log-transformed CK-MB and an interaction term as predictors. The blue and red lines show the predictions from this model for two levels of CK-MB corresponding to the overall mean (blue) of CK-MB and a one standard deviation higher level (red), respectively.

Figure 4: Predictors of LV systolic dysfunction post-anthracycline: **A:** LVEF was within the normal range in all patients at baselines and declined significantly after anthracycline therapy ($P < 0.001$). After anthracyclines, LVEF was significantly lower in patients with higher than median RV ESVi at baseline compared to in patients with an RV ESV index $<$ its median (55%) at baseline (BL). The solid lines represent cubic regression splines for the time from anthracycline therapy initiation, which were estimated with a generalized additive model (GAM) with mixed effects. The model also included RV ESVi at baseline as independent predictor. The effect of an above median RV ESVi at baseline remained significant ($P < 0.001$) when LV ESVi at baseline was added to the model. **B:** The bar graph presents an analysis complementary to A for the proportion of patients with LVEF $<$ 55% during follow-up periods. LV EF $<$ 55% was significantly more frequent during follow-up if RV ESV index $\geq$ median at baseline - the final follow-up period from >350 to 700 days, the proportion reached 75% percent. At baseline, all patients with RV ESVi $<$ median had an LVEF within the normal range. The error bars denote the 95 % confidence intervals and were generated by the bootstrap method with sampling by patient identifier.

Figures:

Figure 1:

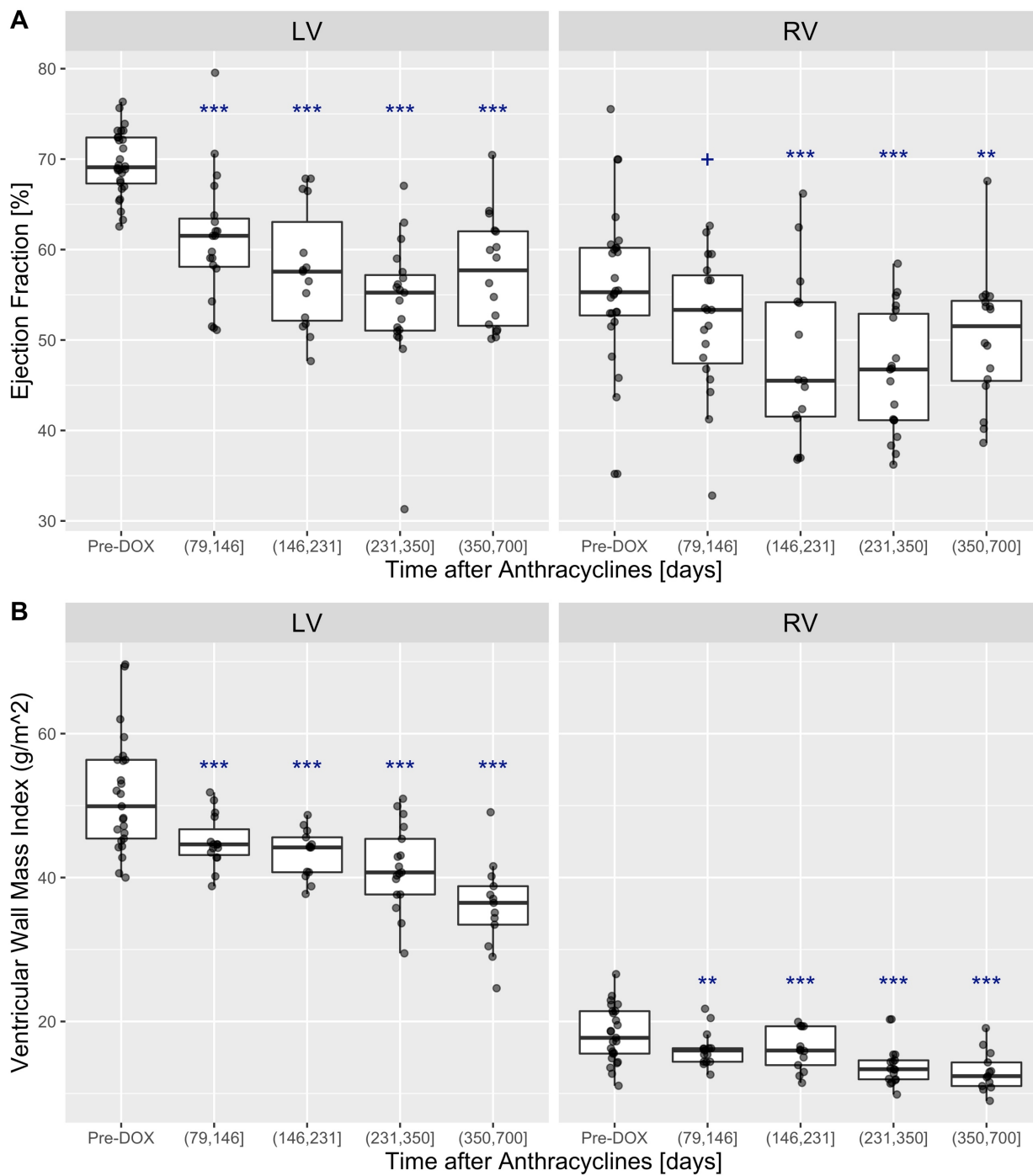


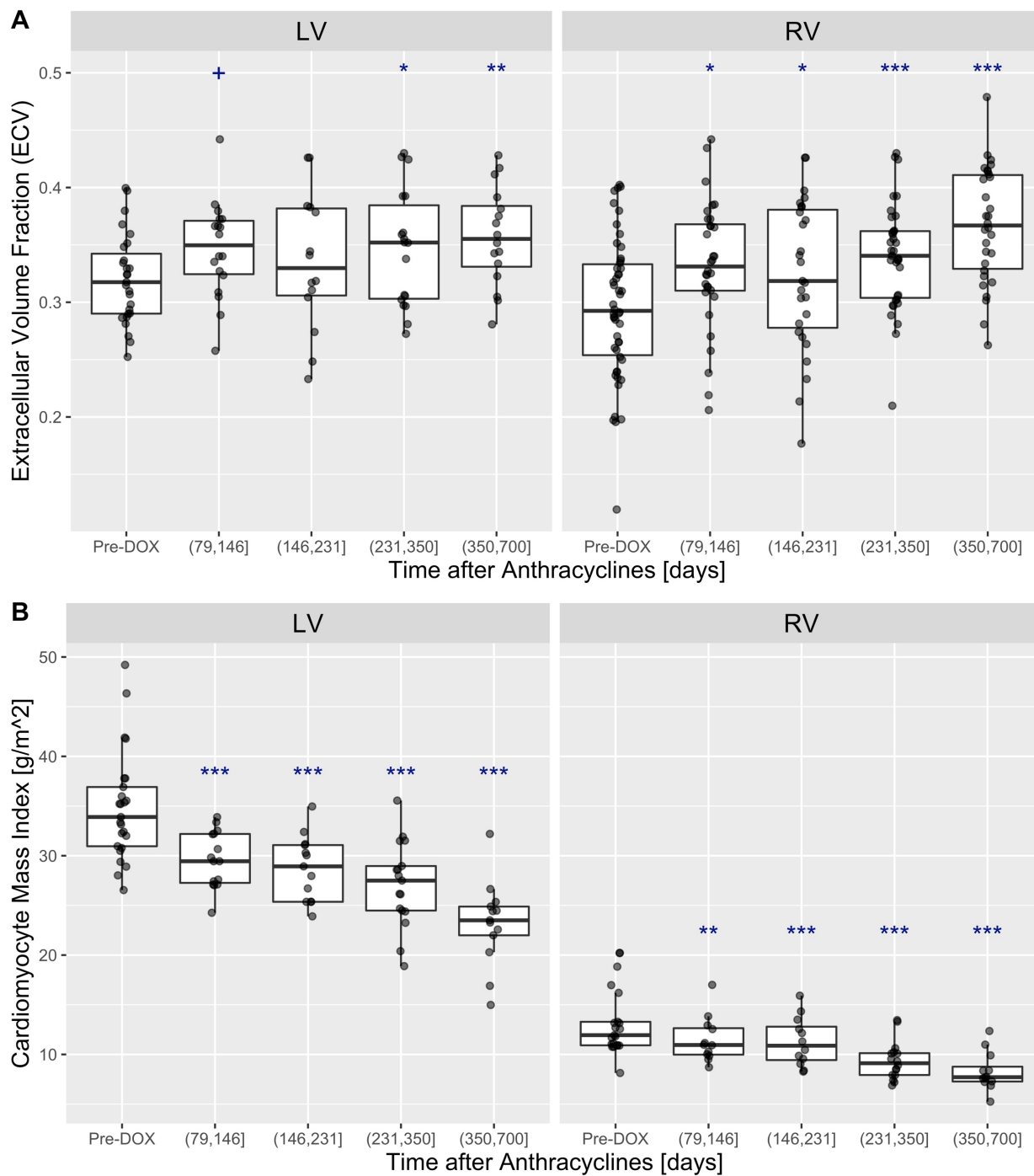
Figure 2:

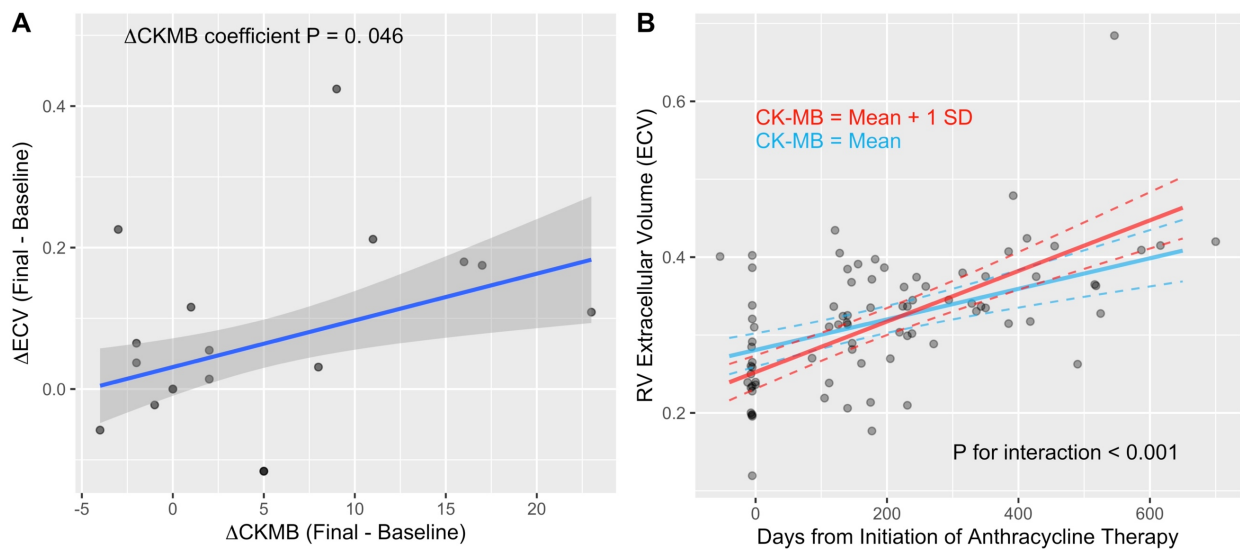
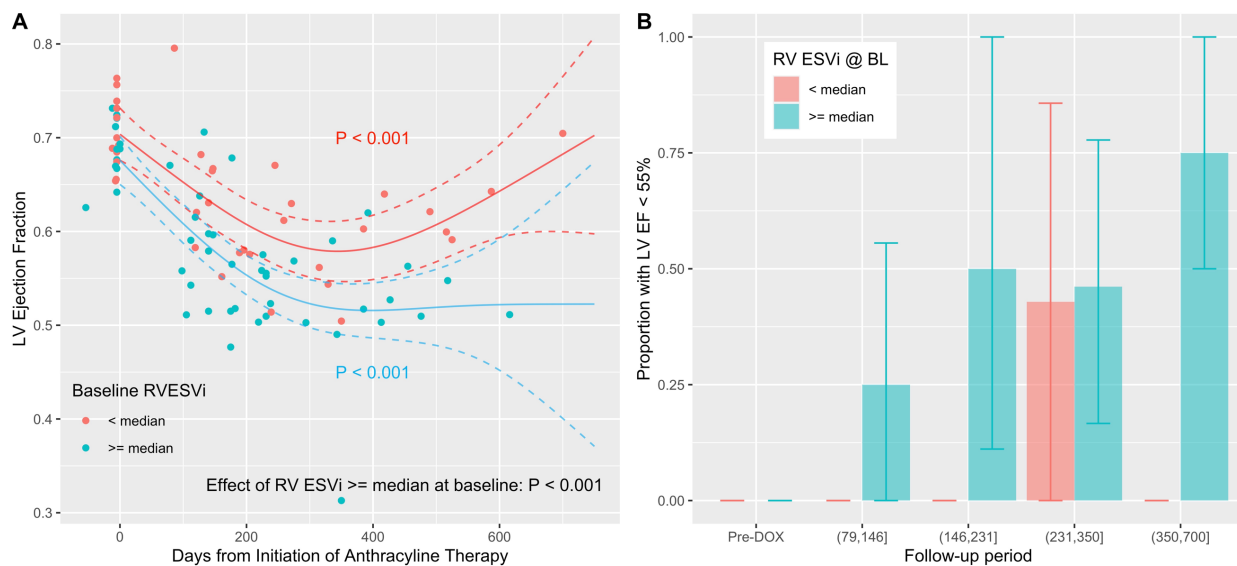
Figure 3:

Figure 4:

Tables:**Table 1. General characteristics**

Demographics and clinical data at baseline	
Age	51.8±8.9
Body mass index, kg/m ²	26.9±3.6
Body surface area, m ²	1.8±0.1
Heart rate	72±11
Hypertension, %, (N)	22.2 (6)
Diabetes, %, (N)	0 (0)
Hyperlipidemia, % (N)	14.8 (4)
Tobacco current use, %, (N)	22.2 (6)
Former smoker, %, (N)	11.1 (3)
Framingham 10-year risk for a CVD event, % (range).	5 (1.4 – 21.1)
The Framingham age adjusted risk increment, % (range).	2.9 (0-17.7)
Medication use	
Angiotensin-converting enzyme inhibitor, %, (N)	14.8 (4)
Aspirin, %, (N)	3.7 (1)
β -Blocker, %, (N)	3.7 (1)
Statin, %, (N)	14.8 (4)
Metformin, %, (N)	0(0)
Insulin, %, (N)	0(0)
Laboratory analyses	
HDL-cholesterol, mg/dL	59±14.9
LDL-cholesterol, mg/dL	144±28
Triglycerides, mg/dL	120±35
CRP levels, mg/L	0.3±0.2
Glucose, mg/dL	89±12.9
Glycated hemoglobin, %	5.5±0.3
White blood cells, 10 ³ /mm ³	6.1±0.9
Glomerular filtration rate, ml/min/1.73 m ²	125± 35

Data are presented as mean $\pm$ SD, n (%) or median (range) when appropriated. CVD= cardiovascular disease.

5. DISCUSSÃO

No presente estudo demonstramos que o tratamento com doxorrubicina foi associado a uma redução significativa na função sistólica do VD, independente do grau de disfunção sistólica observada no VE. Além disso a disfunção do VD esteve fortemente associada ao biomarcador CKMB, um marcador de injúria e estresse miocárdico. Houve também concomitante redução da massa do VD, associada a expansão do volume extracelular (VEC), que é um marcador de fibrose intersticial.

Alterações morfológicas e funcionais no VD tem sido descritas após a exposição a diferentes quimioterápicos. Redução significativa na FEVD ocorreu em 27% dos pacientes com cardiomiopatia induzida pela quimioterapia no INTERMACS (Interagency Registry for Mechanically Assisted Circulatory Support) (38). Outro estudo que utilizou a RMC em pacientes com neoplasia mamária identificou redução progressiva da FE basal do VE e do VD durante 12 meses após o início do tratamento (28). Recentemente, Zhao et al (39) relataram uma redução significativa na FEVD, de $54,0 \pm 2,8\%$ para $49,8 \pm 2,4\%$ ($P < 0.001$) em pacientes com linfoma de grandes células B tratadas com antraciclinas, uma mudança similar a encontrada neste estudo.

Já foi anteriormente relatado por nosso grupo que as antraciclinas promovem o aumento do VEC com redução da massa indexada dos cardiomiócitos no VE (11). Interessantemente no presente estudo confirmamos que alterações semelhantes acontecem no VD por até dois anos após o início da quimioterapia, inclusive de maneira mais intensa quando comparado ao VE, provavelmente relacionada à sua delgada estrutura muscular. O VEC do VE é um fator de risco independente para redução da capacidade física do indivíduo (40), IC e morte súbita, enquanto a redução da massa do VE possui forte fator prognóstico (41). Mas até a presente data não existem estudos que identifiquem as consequências desse mesmo processo no VD.

Um estudo experimental (42) com modelo animal de cardiotoxicidade por antraciclinas analisou o valor diagnóstico do mapa de T1 nas mudanças miocárdicas, com correlação histopatológica. Foi identificado que o VEC nos locais de inserção do VD no VE aumentou significativamente de $0,28 \pm 0,013$ para $0,39 \pm$

0,01 na inserção anterior, e de $0,29 \pm 0,02$ para $0,41 \pm 0,01$ na posterior, com boa correlação com a fração do volume de colágeno identificado nestas regiões pela patologia ($r = 0,824$, $p < 0,001$).

Uma coorte (43) com 102 pacientes com cardiomiopatia não isquêmica submetidos a RMC com mapa de T1 identificou boa correlação entre os valores de T1 no VE e no VD após a administração de contraste ($r = 0,652$, $p < 0,001$), e entre as paredes livre e septal do VD ($r = 0,761$, $p < 0,001$). O grupo de pacientes com disfunção severa do VD (FEVD $< 25\%$) apresentou menores valores de T1 na parede livre ($p = 0,013$) e no septo ($p < 0,001$), e durante os 29 meses de seguimento, valores de T1 pós-contraste inferiores a 350 ms na parede livre do VD se associaram a deterioração da função do VD ($p = 0,026$).

Mais recentemente, Patel e seus colaboradores (44) analisaram, com RMC e mapa de T1, pacientes portadores de IC com fração de ejeção preservada, e sugeriram que a fibrose do VD pode preceder a disfunção sistólica do VD, podendo representar um marcador precoce de acometimento do VD nesse grupo de pacientes.

Os dados do presente estudo sugerem que o aumento do VEC com a redução concomitante da massa do VD contribui para a redução da massa de cardiomiócitos. Pode-se inferir portanto que tanto a expansão do interstício do miocárdio secundário à fibrose, quanto a atrofia do VD, possuem papel importante nos efeitos das antraciclinas no VD.

Corroborando com esta hipótese um estudo experimental que avaliou os efeitos histopatológicos e bioquímicos da doxorubicina em ratos(45). Os pesquisadores identificaram que este quimioterápico provoca um dano em ambos os ventrículos, com aumento das fibras de colágeno no interstício e a ativação da apoptose pela via mitocondrial.

Já foi demonstrado pelo nosso grupo (46) e por outros (47) que as antraciclinas reduzem significativamente a massa do VE, como consequência de atrofia dos cardiomiócitos e apoptose. A diminuição da massa do VD com redução do número e do volume dos cardiomiócitos, também deve ser considerada como principal mecanismo de cardiotoxicidade das antraciclinas.

Apesar dos critérios de cardiotoxicidade do VD não serem ainda bem definidos, tem sido proposto que deve-se considerar a existência de cardiotoxicidade quando há uma redução significativa na FEVD, inferior ao limite da normalidade do método de imagem utilizado(39). Como o limite do normal da FEVD em mulheres é de 51%(48), nossos achados apontam que mesmo a exposição a doses moderadas de antraciclinas podem produzir um declínio significativo da função do VD. Além disso, a FEVD basal inferior à mediana foi associada a maior risco de disfunção do VE após as antraciclinas. Neste contexto, é de interesse salientar que o CKMB pode ser um marcador de lesão miocárdica fortemente relacionado à FEVD basal.

Este estudo fornece informações que podem modificar os padrões atuais da prática clínica. Foi demonstrado previamente que a FEVD tem forte valor prognóstico (49-51), e portanto devemos dar mais atenção para os dados originados do VD durante o acompanhamento de pacientes submetidos ao tratamento com antraciclinas. Além disso, os resultados demonstram que o CKMB pode ser um marcador específico da disfunção sistólica do VD nesse grupo de pacientes.

5.1. Limitações

O presente estudo analisou um grupo homogêneo de pacientes, limitando a generalização dos achados para pacientes com um perfil clínico diferente. Ao longo de todo o seguimento, as pacientes permaneceram assintomáticas, impedindo associações entre o remodelamento do VD com sintomas de disfunção cardíaca após a terapia com antraciclinas. Os exames de RMC aplicaram a sequência Look-Locker para as medidas de T1 ao contrário de sequências mais modernas como a *Modified Look-Locker imaging* (MOLLI), que não estava disponível na época do estudo.

6. CONCLUSÃO

i. A terapia com antraciclinas determina remodelamento ventricular com diminuição significativa da fração de ejeção e da massa indexada dos cardiomiócitos do VD em pacientes com câncer de mama.

ii. A cardiotoxicidade das antraciclinas cursa com aumento do VEC do VD de maneira similar ao VE.

iii. A magnitude da disfunção sistólica do VD ocorreu de maneira independente da disfunção apresentada pelo VE e apresentou forte associação com o biomarcador CKMB e sugere que este possa ser um marcador específico de disfunção nesse grupo de pacientes.

7. REFERÊNCIAS

1. Autier P, Boniol M, La Vecchia C, Vatten L, Gavin A, Hery C, et al. Disparities in breast cancer mortality trends between 30 European countries: retrospective trend analysis of WHO mortality database. *BMJ*. 2010;341:c3620.
2. Yeh ET, Tong AT, Lenihan DJ, Yusuf SW, Swafford J, Champion C, et al. Cardiovascular complications of cancer therapy: diagnosis, pathogenesis, and management. *Circulation*. 2004;109(25):3122-31.
3. Yeh ET, Bickford CL. Cardiovascular complications of cancer therapy: incidence, pathogenesis, diagnosis, and management. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(24):2231-47.
4. Floyd JD, Nguyen DT, Lobins RL, Bashir Q, Doll DC, Perry MC. Cardiotoxicity of cancer therapy. *J Clin Oncol*. 2005;23(30):7685-96.
5. Bates SE, Rosing DR, Fojo T, Piekarz RL. Challenges of evaluating the cardiac effects of anticancer agents. *Clin Cancer Res*. 2006;12(13):3871-4.
6. Swain SM. Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 1999;340(8):654; author reply 5.
7. Lipshultz SE, Colan SD, Gelber RD, Perez-Atayde AR, Sallan SE, Sanders SP. Late cardiac effects of doxorubicin therapy for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Engl J Med*. 1991;324(12):808-15.
8. Steinherz LJ, Steinherz PG, Tan CT, Heller G, Murphy ML. Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing anthracycline therapy. *JAMA*. 1991;266(12):1672-7.
9. Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer*. 2003;97(11):2869-79.
10. de Souza TF, Coelho-Filho OR. Avaliação pela Ressonância Magnética 3.0T do remodelamento cardíaco secundário ao uso de quimioterápicos derivados da antraciclina Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2018.
11. Ferreira de Souza T, Quinaglia ACST, Osorio Costa F, Shah R, Neilan TG, Velloso L, et al. Anthracycline Therapy Is Associated With Cardiomyocyte Atrophy and Preclinical Manifestations of Heart Disease. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2018;11(8):1045-55.

12. Hundley WG, Jordan JH. When Left Ventricular Extracellular Volume Fraction Changes After Anthracyclines: Is it Due to a Change in the Numerator, Denominator, or Both? *JACC Cardiovasc Imaging*. 2018;11(8):1056-8.
13. Ewer MS, O'Shaughnessy JA. Cardiac toxicity of trastuzumab-related regimens in HER2-overexpressing breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2007;7(8):600-7.
14. Perez EA. Cardiac toxicity of ErbB2-targeted therapies: what do we know? *Clin Breast Cancer*. 2008;8 Suppl 3:S114-20.
15. Chien AJ, Rugo HS. The cardiac safety of trastuzumab in the treatment of breast cancer. *Expert Opin Drug Saf*. 2010;9(2):335-46.
16. Meinardi MT, van der Graaf WT, van Veldhuisen DJ, Gietema JA, de Vries EG, Sleijfer DT. Detection of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Cancer Treat Rev*. 1999;25(4):237-47.
17. Li T, Singal PK. Adriamycin-induced early changes in myocardial antioxidant enzymes and their modulation by probucol. *Circulation*. 2000;102(17):2105-10.
18. Seifert CF, Nesser ME, Thompson DF. Dexrazoxane in the prevention of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Ann Pharmacother*. 1994;28(9):1063-72.
19. Elliott P. Pathogenesis of cardiotoxicity induced by anthracyclines. *Semin Oncol*. 2006;33(3 Suppl 8):S2-7.
20. Singal PK, Iliskovic N, Li T, Kumar D. Adriamycin cardiomyopathy: pathophysiology and prevention. *FASEB J*. 1997;11(12):931-6.
21. Felker GM, Thompson RE, Hare JM, Hruban RH, Clemetson DE, Howard DL, et al. Underlying causes and long-term survival in patients with initially unexplained cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2000;342(15):1077-84.
22. Calleja A, Poulin F, Khorolsky C, Shariat M, Bedard PL, Amir E, et al. Right Ventricular Dysfunction in Patients Experiencing Cardiotoxicity during Breast Cancer Therapy. *J Oncol*. 2015;2015:609194.

23. Chrysohoou C, Antoniou CK, Kotrogiannis I, Metallinos G, Aggelis A, Andreou I, et al. Role of right ventricular systolic function on long-term outcome in patients with newly diagnosed systolic heart failure. *Circ J*. 2011;75(9):2176-81.
24. Guendouz S, Rappeneau S, Nahum J, Dubois-Rande JL, Gueret P, Monin JL, et al. Prognostic significance and normal values of 2D strain to assess right ventricular systolic function in chronic heart failure. *Circ J*. 2012;76(1):127-36.
25. Haddad F, Doyle R, Murphy DJ, Hunt SA. Right ventricular function in cardiovascular disease, part II: pathophysiology, clinical importance, and management of right ventricular failure. *Circulation*. 2008;117(13):1717-31.
26. Cottin Y, Touzery C, Coudert B, Richebourg S, Cohen M, Toubreau M, et al. Diastolic or systolic left and right ventricular impairment at moderate doses of anthracycline? A 1-year follow-up study of women. *Eur J Nucl Med*. 1996;23(5):511-6.
27. Barendswaard EC, Prpic H, Van der Wall EE, Camps JA, Keizer HJ, Pauwels EK. Right ventricle wall motion abnormalities in patients treated with chemotherapy. *Clin Nucl Med*. 1991;16(7):513-6.
28. Grover S, Leong DP, Chakrabarty A, Joerg L, Kotasek D, Cheong K, et al. Left and right ventricular effects of anthracycline and trastuzumab chemotherapy: a prospective study using novel cardiac imaging and biochemical markers. *Int J Cardiol*. 2013;168(6):5465-7.
29. Tanindi A, Demirci U, Tacoy G, Buyukberber S, Alsancak Y, Coskun U, et al. Assessment of right ventricular functions during cancer chemotherapy. *Eur J Echocardiogr*. 2011;12(11):834-40.
30. Nakano S, Takahashi M, Kimura F, Senoo T, Saeki T, Ueda S, et al. Cardiac magnetic resonance imaging-based myocardial strain study for evaluation of cardiotoxicity in breast cancer patients treated with trastuzumab: A pilot study to evaluate the feasibility of the method. *Cardiol J*. 2016;23(3):270-80.
31. Barthur A, Brezden-Masley C, Connelly KA, Dhir V, Chan KK, Haq R, et al. Longitudinal assessment of right ventricular structure and function by cardiovascular

magnetic resonance in breast cancer patients treated with trastuzumab: a prospective observational study. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2017;19(1):44.

32. Ylanen K, Poutanen T, Savikurki-Heikkila P, Rinta-Kiikka I, Eerola A, Vettenranta K. Cardiac magnetic resonance imaging in the evaluation of the late effects of anthracyclines among long-term survivors of childhood cancer. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61(14):1539-47.

33. Oberholzer K, Kunz RP, Dittrich M, Thelen M. [Anthracycline-induced cardiotoxicity: cardiac MRI after treatment for childhood cancer]. *Rofo*. 2004;176(9):1245-50.

34. Darby SC, Ewertz M, McGale P, Bennet AM, Blom-Goldman U, Bronnum D, et al. Risk of ischemic heart disease in women after radiotherapy for breast cancer. *N Engl J Med*. 2013;368(11):987-98.

35. Cardinale D, Colombo A, Lamantia G, Colombo N, Civelli M, De Giacomi G, et al. Anthracycline-induced cardiomyopathy: clinical relevance and response to pharmacologic therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(3):213-20.

36. Comit e Coordenador da Diretriz de Insuficiência C, Rohde LEP, Montera MW, Bocchi EA, Clausell NO, Albuquerque DC, et al. *Arq Bras Cardiol*. 2018;111(3):436-539.

37. Rickers C, Wilke NM, Jerosch-Herold M, Casey SA, Panse P, Panse N, et al. Utility of cardiac magnetic resonance imaging in the diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 2005;112(6):855-61.

38. Oliveira GH, Dupont M, Naftel D, Myers SL, Yuan Y, Tang WH, et al. Increased need for right ventricular support in patients with chemotherapy-induced cardiomyopathy undergoing mechanical circulatory support: outcomes from the INTERMACS Registry (Interagency Registry for Mechanically Assisted Circulatory Support). *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(3):240-8.

39. Wang B, Yu Y, Zhang Y, Hao X, Zhao H, Yang S, et al. Speckle tracking echocardiography in the early detection and prediction of anthracycline cardiotoxicity in diffuse large B-cell lymphoma treated with (R)-CHOP regimen. *Echocardiography*. 2020;37(3):421-8.

40. Tham EB, Haykowsky MJ, Chow K, Spavor M, Kaneko S, Khoo NS, et al. Diffuse myocardial fibrosis by T1-mapping in children with subclinical anthracycline cardiotoxicity: relationship to exercise capacity, cumulative dose and remodeling. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2013;15:48.
41. Neilan TG, Coelho-Filho OR, Pena-Herrera D, Shah RV, Jerosch-Herold M, Francis SA, et al. Left ventricular mass in patients with a cardiomyopathy after treatment with anthracyclines. *Am J Cardiol*. 2012;110(11):1679-86.
42. Hong YJ, Park HS, Park JK, Han K, Park CH, Kim TK, et al. Early Detection and Serial Monitoring of Anthracycline-Induced Cardiotoxicity Using T1-mapping Cardiac Magnetic Resonance Imaging: An Animal Study. *Sci Rep*. 2017;7(1):2663.
43. Jellis CL, Yingchoncharoen T, Gai N, Kusunose K, Popovic ZB, Flamm S, et al. Correlation between right ventricular T1 mapping and right ventricular dysfunction in non-ischemic cardiomyopathy. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2018;34(1):55-65.
44. Patel RB, Li E, Benefield BC, Swat SA, Polsinelli VB, Carr JC, et al. Diffuse right ventricular fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction and pulmonary hypertension. *ESC Heart Fail*. 2020;7(1):253-63.
45. Anghel N, Herman H, Balta C, Rosu M, Stan MS, Nita D, et al. Acute cardiotoxicity induced by doxorubicin in right ventricle is associated with increase of oxidative stress and apoptosis in rats. *Histol Histopathol*. 2018;33(4):365-78.
46. Drafts BC, Twomley KM, D'Agostino R, Jr., Lawrence J, Avis N, Ellis LR, et al. Low to moderate dose anthracycline-based chemotherapy is associated with early noninvasive imaging evidence of subclinical cardiovascular disease. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6(8):877-85.
47. Armstrong GT, Plana JC, Zhang N, Srivastava D, Green DM, Ness KK, et al. Screening adult survivors of childhood cancer for cardiomyopathy: comparison of echocardiography and cardiac magnetic resonance imaging. *J Clin Oncol*. 2012;30(23):2876-84.

48. Kawel-Boehm N, Maceira A, Valsangiacomo-Buechel ER, Vogel-Claussen J, Turkbey EB, Williams R, et al. Normal values for cardiovascular magnetic resonance in adults and children. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2015;17:29.
49. Fine NM, Chen L, Bastiansen PM, Frantz RP, Pellikka PA, Oh JK, et al. Outcome prediction by quantitative right ventricular function assessment in 575 subjects evaluated for pulmonary hypertension. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2013;6(5):711-21.
50. Antoni ML, Scherptong RW, Atary JZ, Boersma E, Holman ER, van der Wall EE, et al. Prognostic value of right ventricular function in patients after acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2010;3(3):264-71.
51. Carluccio E, Biagioli P, Alunni G, Murrone A, Zuchi C, Coiro S, et al. Prognostic Value of Right Ventricular Dysfunction in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: Superiority of Longitudinal Strain Over Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2018;11(1):e006894.

8. ANEXOS

8.1. Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU A SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE
A PESQUISA

DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Remodelamento Vascular e do Ventrículo Direito
Causado pelo Uso de Doxorubicina

PESQUISADORES: Prof. Dr. Otavio Rizzi Coelho Filho

CARGO/FUNÇÃO: Professor Doutor, disciplina de Cardiologia, Departamento de Clínica Médica, UNICAMP

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA 109063 / SP

PESQUISADORES: Dr. Thiago Ferreira de Souza

CARGO/FUNÇÃO: Médico assistente do Serviço de Medicina Nuclear do Departamento de Radiologia, UNICAMP

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA 135220 / SP

NÚMERO DO CAAE: 88952318.1.00005404

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :

SEXO : M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

Rubrica do pesquisador..... Rubrica do participante.....

2. RESPONSÁVEL LEGAL

.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

SEXO: M ☐ F ☐ DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD(.....).....

O Sr.(a) está sendo convidado a participar de um estudo de pesquisa médica. O estudo consiste em utilizar os dados clínicos, laboratoriais e derivados da ressonância magnética cardíaca já coletados durante o estudo “Avaliação Pela Ressonância Magnética de 3.0T do Remodelamento Cardíaco Secundário ao Uso de Quimioterápicos Derivados da Antraciclina” para serem submetidos a novas análises de pós-processamento da imagem, além de realizar exames de sangue e um novo estudo de ressonância magnética cardíaca para identificar efeitos do tratamento a longo prazo. A Sra. recebeu tratamento medicamentoso com drogas quimioterápicas que apesar de serem um tratamento muito eficaz e padronizado para vários tipos de câncer, podem causar redução da função de bomba do coração, causando em alguns casos insuficiência cardíaca e falta de ar, mesmo anos após o fim do tratamento. Felizmente a grande maioria dos pacientes que recebem tratamento com quimioterápicos, como o que o Sra. recebeu, não apresentam qualquer tipo de problema no coração, sendo que os problemas sérios no coração são muito raros.

Até o momento pouco se sabe sobre quais são os pacientes que estão com maior ou menor risco de apresentar diminuição da função do coração com o tratamento com quimioterápicos. Mais recentemente a ressonância magnética do coração se mostrou capaz de avaliar a função do coração melhor do qualquer outro método e nesse estudo queremos avaliar se a ressonância magnética consegue avaliar diferentes mudanças no coração e na aorta após tratamento com os remédios quimioterápicos, logo após e depois de alguns anos do fim do tratamento.

Rubrica do pesquisador..... Rubrica do participante.....

Dessa forma o estudo que a Sra. está sendo oferecida a participar envolve a utilização das imagens de ressonância magnética do coração, os resultados dos exames laboratoriais e os dados clínicos já previamente adquiridos durante o estudo anterior, além da realização de mais uma visita para que os mesmos dados possam ser colhidos mais uma única vez, acrescidos ainda de um teste ergoespirométrico. Esse teste consiste em avaliar sua capacidade física durante o esforço em uma bicicleta estacionária, com realização concomitante de eletrocardiograma, ritmo cardíaco, medidas de pressão arterial, entre outros dados metabólicos. Assim teremos mais informação de como o coração e a aorta da Sra. se comportaram com o tratamento de quimioterapia no longo prazo. Parte das imagens adquiridas também será enviada para pesquisadores no exterior, que irão analisar os efeitos da radioterapia no coração, para isso as imagens serão enviadas anonimizadas, para garantir o sigilo dos seus dados. O envio dessas imagens para o exterior também é opcional, podendo você autorizar ou não, sem prejuízo do restante exposto.

Deixamos claro ainda que todo o custo para os deslocamentos ao hospital que forem causados para a realização dos exames da pesquisa serão ressarcidos conforme a Resolução 466/12 do CNS através de reembolso em dinheiro a ser pago no dia de cada comparecimento.

DESCONFORTOS E RISCOS:

RMC: Por utilizar um forte campo magnético, pacientes com implantes metálicos não devem ser submetidos ao exame. O contraste usado na ressonância magnética possui baixa frequência de efeitos colaterais, sendo rara a ocorrência de reações alérgicas, tendo como principal restrição de uso os pacientes com insuficiência renal avançada.

Coleta de material biológico: Algumas vezes pode ocorrer dor por algumas horas no local da coleta. Raramente há inflamação local ou oclusão do vaso.

Teste ergoespirométrico: Apresenta baixo risco, com estudos reportando 1 evento a cada 10.000 exames. O exercício pode ser finalizado no momento que o paciente desejar, e os efeitos adversos mais comuns são mal estar e arritmia.

Rubrica do pesquisador..... Rubrica do participante.....

BENEFÍCIOS:

Ter a função cardíaca avaliada novamente por especialistas, com diferentes

testes, incluindo a tolerância ao esforço, com identificação precoce de disfunção cardíaca, além de quantificar alterações estruturais de longo prazo no miocárdio, correlacionando-as com a clínica. As pacientes com achados positivos serão encaminhadas ao ambulatório especializado do Hospital de Clínicas da UNICAMP para seguimento ambulatorial gratuito.

O seu acompanhamento em nada será modificado. A Sra. terá acesso, a qualquer tempo, às informações sobre o andamento da pesquisa, assim como ao pesquisador para esclarecer eventuais dúvidas que possam surgir. Nesse caso, deverá entrar em contato com o **Dr Thiago Ferreira de Souza (pesquisador responsável) pelos telefones (19-3521-7554 ou 19-99194-1214).** A sua participação é voluntária e a Sra. tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e não permitir mais que seu prontuário faça parte do estudo, sem que isso traga prejuízo à continuidade da assistência médica. As informações que forem obtidas serão confidenciais, sendo utilizadas apenas para fins de pesquisa.

Caso ocorra algum evento adverso na realização dos exames você terá direito a assistência médica gratuita e acompanhamento imediato durante o tempo necessário para resolução do evento, devendo procurar o pesquisador responsável para que tome as medidas cabíveis.

INDENIZAÇÃO:

Você terá a garantia ao direito a indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Consentimento pós – esclarecido: Declaro que, após convenientemente esclarecida pelo investigador e ter entendido o que me foi explicado, consinto participar do presente Protocolo de Pesquisa.

Qualquer dúvida ou esclarecimento entrar em contato com Dr. Thiago Ferreira de Souza pelos seguintes contatos:

Telefone: 19-3521-7554 / 19-99194-1214

Rubrica do pesquisador..... Rubrica do participante.....

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O papel do CEP é avaliar e acompanhar os aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), tem por objetivo desenvolver a regulamentação sobre proteção dos seres humanos envolvidos nas pesquisas. Desempenha um papel coordenador da rede de Comitês de Ética em Pesquisa (CEPs) das instituições, além de assumir a função de órgão consultor na área de ética em pesquisas.

Telefone: (19) 3521 8936

Campinas, _____ de _____ de 20__

Assinatura do participante da pesquisa () ou responsável legal ().

Responsabilidade do Pesquisador:

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma via deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado e pela CONEP, quando pertinente. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

_____ Data: ____/____/____.

(Assinatura do pesquisador)

Rubrica do pesquisador..... Rubrica do participante.....

8.2. Parecer de aprovação consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Remodelamento Vascular e do Ventrículo Direito Causado pelo Uso de Doxorubicina

Pesquisador: THIAGO FERREIRA DE SOUZA

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 88952318.1.0000.5404

Instituição Proponente: FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS - CEP/CHS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.175.702

Apresentação do Projeto:

Parecer de solicitação de emenda ao projeto original.

Justificativa da Emenda: Acreditamos que os dados oriundos dessa análise serão de significativa relevância, pois será possível identificar as alterações estruturais de longo prazo no miocárdio, além do desfecho clínico, e correlacionar com as alterações precoces identificadas pela ressonância magnética cardíaca. O acesso a análises ainda não disponíveis em nosso país, é uma excelente oportunidade de identificar de maneira mais abrangente as consequências cardíacas do tratamento do câncer de mama. A possibilidade da colaboração internacional com intercâmbio de conhecimento, certamente incrementará o desempenho futuro do nosso grupo de pesquisadores, com consequente melhora do acompanhamento das pacientes que serão submetidas a tratamento semelhante.

Objetivo da Pesquisa:

Foram incluídos novos 3 objetivos do estudo:

- iii. Analisar o efeito da radioterapia no miocárdio utilizando marcadores derivados da ressonância magnética.
- iv. Realizar avaliação tardia das pacientes, com um novo estudo de ressonância magnética seguindo os mesmos parâmetros e com avaliação das mesmas variáveis.
- v. Correlacionar as medidas derivadas da ressonância magnética com avaliação clínica, teste de

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.175.702

esforço e marcadores clássicos de lesão miocárdica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Ressonância Magnética Cardíaca: Por utilizar um forte campo magnético, pacientes com implantes metálicos não devem ser submetidos ao exame. O contraste usado na ressonância magnética possui baixa frequência de efeitos colaterais, sendo rara a ocorrência de reações alérgicas, tendo como principal restrição de uso os pacientes com insuficiência renal avançada. Coleta de material biológico: Algumas vezes pode ocorrer dor por algumas horas no local da coleta. Raramente há inflamação local ou oclusão do vaso. Teste ergoespirométrico: Apresenta baixo risco, com estudos reportando 1 evento a cada 10.000 exames. O exercício pode ser finalizado no momento que o paciente desejar, e os efeitos adversos mais comuns são mal estar e arritmia.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma continuação ao projeto, incluindo a realização de imagem de RMcardíaca, reavaliação clínica, laboratorial e pesquisa de disfunção cardíaca através de teste ergoespirométrico; com as participantes já incluídas.

Assim, apresenta um novo TCLE.

A plataforma Brasil ficou um tanto confusa pois insere informações novas e apenas utilização das já coletadas, como se fosse um novo projeto.

A avaliação dos efeitos da radioterapia no miocárdio será realizada por colaboradores internacionais do nosso grupo, liderados pelo Dr. Tomas G. Neilan, Professor Assistente de Medicina na Harvard Medical School, Diretor Clínico do Programa de Cardio-Oncologia do Massachusetts General Hospital.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- TESE_DE_DOUTORADO19.pdf 04/02/2019 : com destaque nas alterações.
- RESEARCH_AGREEMENT.pdf 04/02/2019: um acordo de colaboração para a pesquisa entre o pesquisador e um colaborador (já são colaboradores do grupo de pesquisa), declarando utilização dos dados em conjunto e encrepitação dos dados e resultados.
- TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO_19.pdf 04/02/2019 :

Recomendações:

Pesquisador deve enviar relatório parcial do estudo, em formulário próprio, esclarecendo a atual situação do desse.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.175.702

- Em "DESCONFORTOS E RISCOS: RMC:", deve citar os efeitos colaterais mais comuns da RMC e o incomodo do barulho e confinamento do aparelho.
- Como descrito no TCLE a participante pode realizar os exames mas não concordar com o envio das imagens ao exterior. Se or isso mesmo, deve ser acrescentado no TCLE local para a participante optar se deseja ou não o envio [sim () não()] por exemplo. Caso o envio seja condição necessária para a participação , basta manter a informação.
- Deve constar endereço completo do pesquisador para contato e também do CEP, incluindo horários.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

No documento Carta_resposta_CEP19.pdf 04/02/2019 responde aos questionamentos do parecer anterior (Número do Parecer: 3.092.596 de 25 de Dezembro de 2018) detalhadamente. Também apresenta nesta versão o documento RESEARCH_AGREEMENT.pdf 04/02/2019.

Pesquisador deve enviar relatório parcial do estudo, em formulário próprio.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).
- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.175.702

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa.
- Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.
- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.
- Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".
- O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1257911_E1.pdf	04/02/2019 22:38:45		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	TESE_DE_DOUTORADO19.pdf	04/02/2019 22:38:19	THIAGO FERREIRA DE SOUZA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	RESEARCH_AGREEMENT.pdf	04/02/2019 22:37:20	THIAGO FERREIRA DE SOUZA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Carta_resposta_CEP19.pdf	04/02/2019 22:36:37	THIAGO FERREIRA DE SOUZA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO_19.pdf	04/02/2019 22:35:15	THIAGO FERREIRA DE SOUZA	Aceito
Outros	Cartasolicitacao2.pdf	03/12/2018 21:34:54	THIAGO FERREIRA DE SOUZA	Aceito
Outros	Cartasolicitacao.pdf	03/12/2018 21:33:54	THIAGO FERREIRA DE SOUZA	Aceito
Outros	Autorizacao_Radiologia.pdf	08/10/2018 14:55:02	THIAGO FERREIRA DE SOUZA	Aceito
Outros	Identidadefuncional.pdf	30/04/2018 15:25:33	THIAGO FERREIRA DE SOUZA	Aceito

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.175.702

Folha de Rosto	image20180418145158.pdf	18/04/2018 22:29:51	THIAGO FERREIRA DE SOUZA	Aceito
----------------	-------------------------	------------------------	-----------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 27 de Fevereiro de 2019

Assinado por:

Maria Fernanda Ribeiro Bittar
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br