

# Avaliação das alterações cardiotoxícas decorrentes do uso da doxorubicina: estudo experimental em ratos

## *Clinical evaluation of the doxorubicin-induced cardiotoxicity: experimental study in rats*

Isabela Martins Melo<sup>1</sup>, Maira Souza de Oliveira<sup>2</sup>, Marília Martins Melo<sup>3</sup>

### RESUMO

A doxorubicina é um dos quimioterápicos mais utilizados no tratamento de tumores sólidos e hematopoiéticos, embora possa causar reações adversas, especialmente cardiomiopatia secundária. Apesar do potencial cardiotoxíco, a doxorubicina ainda é amplamente utilizada devido a sua alta eficácia e baixo custo. Nesse trabalho objetiva-se estudar a sintomatologia associada ao uso da doxorubicina em ratos, para elucidar seus efeitos cardiotoxícos. Dez ratos Wistar machos foram distribuídos em dois grupos: tratado, o qual recebeu 5mg/kg de doxorubicina em 1,0mL de salina, via intraperitoneal a cada sete dias, durante quatro semanas; e controle, o qual recebeu apenas 1,0 mL de salina nas mesmas condições descritas. Realizou-se eletrocardiograma antes dos tratamentos e após quatro semanas, juntamente com ecocardiograma. Os animais do grupo tratado apresentaram apatia, emagrecimento, desidratação e fezes diarreicas com muco, indicando disfunção metabólica decorrente da toxicidade do quimioterápico. Em dois animais, o quadro clínico evoluiu para óbito, 19 dias após início do tratamento. No eletrocardiograma detectou-se aumento na amplitude das ondas P e R, sugerindo sobrecarga atrial e ventricular esquerda, respectivamente. A onda T apresentou amplitude superior à onda R, provavelmente devido a alterações eletrolíticas secundárias ao quadro de desidratação e diarreia. Arritmias atriais e ventriculares, contudo, não foram detectadas. Foi diagnosticada disfunção ventricular nos animais que receberam doxorubicina, quando avaliados por ecocardiografia de deformação miocárdica (velocidade e deslocamento radiais do ventrículo esquerdo). Conclui-se que a doxorubicina provoca cardiotoxicidade dose-dependente com redução progressiva da função ventricular esquerda, a qual pode ser diagnosticada precocemente com a ecocardiografia *strain*.

**Palavras-chave:** Quimioterapia; Eletrocardiografia; Ecocardiografia de Deformação Ventricular; Rato.

### ABSTRACT

*Doxorubicin is one of the most common drugs used in the treatment of solid and hemopoietic tumors; however it causes a dose-dependent adverse effects, mainly cardiomyopathy. Despite the obvious cardiac toxicity potential, doxorubicin is still widely used due to its high efficiency and low cost. Therefore, this research aims to study the symptoms associated with the use of doxorubicin in rats, in order to elucidate its cardiac toxicity. Ten male Wistar rats were distributed into two groups: treated, which received 5mg/kg of doxorubicin in 1.0 mL saline intraperitoneal weekly, for four weeks, and control, which received only 1.0 mL of saline under the same conditions described. Electrocardiography was performed before treatment and after four weeks when echocardiography was done as well. The treated group showed apathy, weight loss, dehydration and diarrheal stools with mucus, indicating metabolic dysfunction due to the toxicity of chemotherapy. Two animals died, 19 days after the beginning of the experiment. The electrocardiogram detected an increase in*

<sup>1</sup> Acadêmica do 4º período, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, MG – Brasil.

<sup>2</sup> Doutoranda, University of Wisconsin-Madison (USA).

<sup>3</sup> Prof. Associada, PhD, DCCV, Laboratório de Toxicologia, UFMG. Belo Horizonte, MG – Brasil.

#### *Instituição:*

Depto. Clínica e Cirurgia, Escola de Veterinária da UFMG  
Belo Horizonte, MG – Brasil

#### *Endereço para correspondência:*

Marília Martins Melo  
Av. Antônio Carlos, 6627  
Bairro: Pampulha  
CEP: 31270-901  
Belo Horizonte, MG – Brasil  
E-mail: mariliamm@ufmg.br

*the amplitude of P, R and S waves, suggesting atrial and ventricular overload, respectively. The greater amplitude of the T-wave when compared to the R wave occurred probably due to electrolyte alterations caused by dehydration and diarrhea. Nevertheless, atrial and ventricular arrhythmias were not detected. Ventricular dysfunction was diagnosed in animals that received doxorubicin when evaluated by strain echocardiography (left ventricular radial velocity and displacement). It was concluded that doxorubicin causes a dose-dependent cardiotoxicity, with a progressive left ventricular dysfunction which may be early detected using the strain echocardiography.*

**Key words:** Chemotherapy; Electrocardiography; Strain Echocardiography; Rat.

## INTRODUÇÃO

A doxorubicina é considerada um dos agentes mais ativos disponíveis para o tratamento quimioterápico de alguns tumores sólidos e hematopoiéticos e também parte importante como adjuvante no tratamento de neoplasias em estágios precoces. Todavia, sua eficácia está associada a inúmeras reações adversas, dentre as quais as cardiomiopatias secundárias são as mais significativas.<sup>1</sup>

Nesse contexto, redução progressiva da função ventricular esquerda, observada pela diminuição nas frações de encurtamento e de ejeção, medidas pelo modo M do exame ecocardiográfico, é observada em proporção significativa dos pacientes submetidos ao tratamento com doxorubicina, apresentando também, elevado risco de desenvolvimento de insuficiência cardíaca congestiva.<sup>2-3</sup>

No atual momento, os mecanismos que causam a cardiotoxicidade da doxorubicina ainda não foram completamente elucidados.<sup>4</sup> No entanto, foi sugerido que a produção de espécies reativas de oxigênio, desequilíbrio de cálcio e apoptose de cardiomiócitos são consideradas condições de cardiotoxicidade.<sup>5-7</sup>

Apesar do seu evidente potencial cardiotoxíco, a doxorubicina é amplamente utilizada em pacientes oncológicos devido à sua alta eficácia e custo relativamente baixo, quando comparado a outros quimioterápicos. Portanto, o monitoramento dos pacientes em quimioterapia com a doxorubicina se torna essencial, para um diagnóstico precoce de disfunção cardíaca.

A ecocardiografia tem papel preponderante no diagnóstico e monitoramento de doenças cardíacas, constituindo técnica não invasiva e segura devido à sua característica não-ionizante.<sup>8,9</sup> A fração de ejeção do ventrículo esquerdo é a medida mais comumente usada para avaliar a função sistólica do coração, bem

estabelecida, com forte prognóstico e implicações terapêuticas; no entanto, pode não ser satisfatória em todos os casos.<sup>9</sup> Nesse sentido, outras medidas de contratilidade do miocárdio podem fornecer informações adicionais valiosas, como o grau de deformação ventricular (ecocardiografia *strain*).<sup>9-10</sup> A ecocardiografia *strain* permite a avaliação quantitativa regional da função sistólica miocárdica, sendo seus valores mais precisos por não apresentarem as limitações do método Doppler, como a influência do movimento cardíaco global e de estruturas adjacentes e a dependência do ângulo de incidência.<sup>9</sup>

Diante deste contexto, objetivou-se avaliar as alterações cardíacas decorrentes do uso da doxorubicina utilizando o rato como modelo experimental.

## MÉTODOS

O presente estudo seguiu as normas definidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA, 176/2010).

Dez ratos *Wistar albinus* machos, como peso médio de 165 gramas foram distribuídos em dois grupos (G): grupo tratado (GI), o qual recebeu 5mg/kg de doxorubicina diluídos em 1,0mL de salina, via intraperitoneal a cada sete dias, durante quatro semanas; e grupo controle (GII), o qual recebeu apenas 1,0mL de salina nas mesmas condições descritas. Os animais foram mantidos em biotério, com temperatura controlada (20°C - 24°C), expostos a ciclos alternados de luz/escuridão (12h/12h) e receberam ração comercial (Rat Chow®) e água *ad libitum*.

O eletrocardiograma (ECG-PC, TEB) e ecocardiograma (Vevo 2100, Visual Sonics) foram realizados antes dos tratamentos (tempo zero) e ao final do período experimental (quatro semanas após). Os traçados de ECG foram realizados durante 10 minutos, com velocidade de 50 mm/s e sensibilidade 2N. Os animais foram previamente anestesiados (isofluorano 2,5%) e posicionados em decúbito dorsal. Foram avaliados frequência cardíaca, ritmo cardíaco e medidas das ondas e intervalos.

O ecocardiograma foi realizado nos modos bidimensional (2-D), modo-M, Doppler e *strain*, com os ratos previamente anestesiados (isoflurano 2.5%) e posicionados em decúbito dorsal sobre uma plataforma ligeiramente inclinada (entre 45° e 90°) e segui-

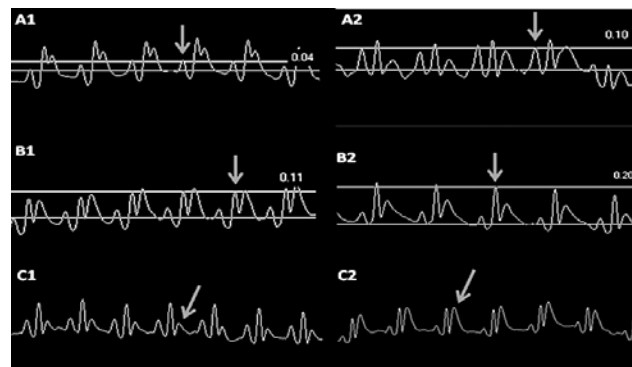
ram as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia. A função cardíaca foi avaliada pelo modo-M (fração de ejeção e fração de encurtamento) e *strain* (deformação, velocidade e deslocamento, tanto em corte longitudinal quanto transversal), sendo obtidas seis medidas de cada variável.

## RESULTADOS

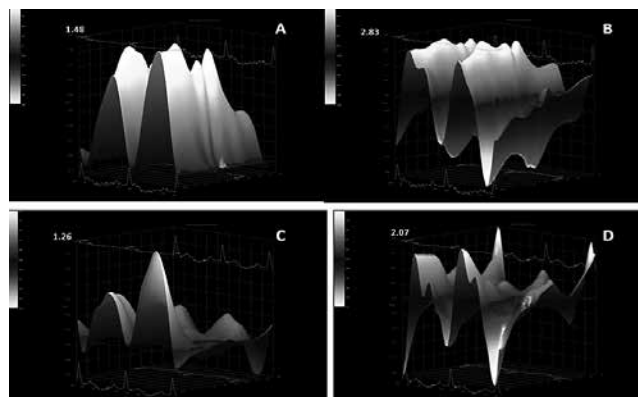
Os animais do grupo tratado apresentaram apatia, emagrecimento progressivo, desidratação e fezes diarreicas com muco, indicando disfunção metabólica decorrente da toxicidade do quimioterápico. Em dois animais o quadro clínico evoluiu para óbito, 19 dias após início do tratamento.

No ECG (Figura 1) detectou-se aumento na amplitude das ondas P e R sugerindo sobrecarga atrial e ventricular esquerda, respectivamente. Também foi observada onda T com amplitude superior à onda R, provavelmente devido a alterações eletrolíticas secundárias ao quadro de desidratação e diarreia. Arritmias atriais e ventriculares, contudo, não foram detectadas.

Foi diagnosticada disfunção ventricular nos animais que receberam doxorrubicina, quando avaliados pelo método *strain*. Esses animais apresentaram menores valores para os índices de velocidade e deslocamento radiais do ventrículo esquerdo, quando comparados ao grupo controle (Figura 2). A avaliação pelo modo-M não detectou diferença entre os grupos.



**Figura 1** - Traçados electrocardiográficos dos animais do grupo tratado com doxorrubicina. Os traçados à esquerda do painel foram obtidos no tempo zero e os à direita, ao final do experimento. Nota-se aumento na amplitude de onda P (de 0,04 mV [A1] para 0,10 mV [A2]), de onda R (de 0,11 mV [B1] para 0,20 mV [B2]) e de onda T (amplitude superior à da onda R [C2] o que não era detectado para o mesmo animal no início do experimento [C1]).



**Figura 2** - Imagens ecocardiográficas de deformação miocárdica obtidas de ratos Wistar. Notar diminuição do deslocamento radial entre um animal controle (A) e um do grupo tratado com doxorrubicina (C). Padrão semelhante pode ser notado para variável velocidade radial a qual se apresentava elevada em animal controle (B), porém diminuída em animal que recebeu doxorrubicina (D).

## DISCUSSÃO

Apesar de o efeito cardiotoxíco da doxorubicina ser amplamente conhecido, os animais avaliados no presente estudo também apresentaram reações adversas de caráter sistêmico, como apatia, emagrecimento progressivo, desidratação, diarreia e óbito. Uma vez que todos os animais foram mantidos nas mesmas condições ambientais e de regime alimentar e que no grupo controle os animais apresentaram ganho de peso e permaneceram vivos ao longo de todo período experimental, pode-se atribuir à doxorubicina a ocorrência dos efeitos adversos relatados. Reações colaterais como as observadas, notadamente a expressiva perda de peso e a ocorrência de óbito, também foram relatadas por outros pesquisadores, corroborando os resultados encontrados.<sup>11</sup>

O efeito cardiotoxíco da doxorubicina pode ser identificado pela ecocardiografia *strain*, por meio da qual observou-se diminuição nas medidas de velocidade e deslocamento radiais do ventrículo esquerdo, durante ciclos cardíacos consecutivos. Contudo, os mesmos animais, quando avaliados pelo modo-M, apresentaram medidas de fração de ejeção e encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo semelhantes ao grupo controle. Assim, a ecocardiografia *strain* se mostrou uma ferramenta diagnóstica de grande valor, uma vez que possibilitou detectar a disfunção ventricular precocemente, ou seja, quando as medidas do modo-M ainda se apresentavam normais. Ao contrário do observado na presente pesquisa, há estudos nos quais foram relatadas medidas de fração de ejeção e de encurtamento diminuídas, decorrentes da administração de doxorubicina.<sup>2,3,11</sup> Dessa forma, pode-se inferir que o grau de cardiotoxicidade nos animais estudados não foi tão elevado, o que explicaria a ausência de alterações no modo-M. Tal hipótese é embasada pela ausência de arritmias atriais e ventriculares, as quais também são relatadas na literatura.<sup>11</sup>

Além do grau de toxicidade, outro fator que pode justificar a ausência de arritmias é o tempo de monitoramento eletrocardiográfico. Como as arritmias são de ocorrência intermitente, avaliações de longo prazo, como as realizadas com Holter (na rotina clínica) ou telemetria (em ensaios experimentais), podem detectar alterações não identificadas em traçados de rotina. Na presente pesquisa,

porém, os animais foram avaliados por ECG convencional. Contudo, buscou-se minimizar tal efeito aumentando o período de registro, sendo feito o monitoramento durante 10 minutos consecutivos. Apesar da ausência de arritmias, uma importante alteração detectada foi o aumento de amplitude da onda T, normalmente atribuído à ocorrência de desequilíbrio eletrolítico, mais precisamente hiperpotassemia, e que é relatado na literatura para o mesmo modelo experimental.<sup>11</sup> Considerando-se a amostra avaliada, o grau avançado de desidratação dos animais e a ocorrência de diarreia justificariam o achado eletrocardiográfico.

Em resumo, os animais que receberam doxorubicina apresentaram importantes alterações adversas, tanto metabólicas quanto cardiovasculares, que podem ser justificadas pela administração da droga, uma vez que os animais do grupo controle permaneceram saudáveis e clinicamente estáveis durante todo período experimental.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que a doxorubicina provoca cardiotoxicidade dose-dependente que pode resultar em insuficiência cardíaca e redução progressiva da função ventricular esquerda, a qual pode ser diagnosticada precocemente com a ecocardiografia *strain*.

## REFERÊNCIAS

1. Albini A, Pennesi G, Donatelli F, *et al.* Cardiotoxicity of anticancer drugs: the need for cardio-oncology and cardio-oncological prevention. *J Natl Cancer Inst.* 2012; 102:14-25.
2. Testore F, Milanese S, Ceste M, de Conciliis E, *et al.* Cardioprotective effect of dexrazoxane in patients with breast cancer treated with anthracyclines in adjuvant setting: a 10-year single institution experience. *Am J Cardiovasc.* 2008; 8: 257-63.
3. Aapro M, Bernard-Marty C, Brain EG, *et al.* Anthracycline cardiotoxicity in the elderly cancer patient: a SIOG expert position paper. *Ann Oncol.* 2011; 22:257-67.
4. Gianni L, Herman EH, Lipshultz SE, *et al.* Anthracycline cardiotoxicity: from Bench to Bedside. *J Clin Oncol.* 2008; 26: 3777-84.
5. Wold LE, Aberle NS, Ren J. Doxorubicin induced cardiomyocyte dysfunction via p38 MAP kinase-dependent oxidative stress mechanism. *Cancer Detec Prev.* 2005; 29:294-9.
6. Tan X, Wang DB, Lu X, *et al.* Doxorubicin induces apoptosis in H9c2 cardiomyocytes: role of overexpressed eukaryotic translation initiation factor 5A. *Biol Pharmaceut Bull.* 2010; 33:1666-72.

7. Zhang Y, Kang YM, Tian C, *et al.* Overexpression of Nrdp1 in the heart exacerbates doxorubicin-induced cardiac dysfunction in mice. *PLoS ONE.* 2011; 6:e21104.
  8. Triantafyllou AK, Karabinos E, Kalkandi H, *et al.* Clinical implications of the echocardiographic assessment of left ventricular long axis function. *Clin Res Cardiol.* 2009; 98:521-32.
  9. Sahlen A, Winter R. How should we measure global and regional left ventricular systolic function? *J Echocardiogr.* 2011; 9:41-50.
  10. Motoki H, Nakatani S, Abe H, *et al.* Heterogeneous contraction of the left ventricle demonstrated by 2-dimensional strain imaging. *J Echocardiogr.* 2010; 8:33-9.
  11. Hazari MS, Haykal-Coates N, Winsett DW, *et al.* Continuous electrocardiogram reveals differences in the short-term cardiotoxic response of Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats to doxorubicin. *Toxicol Sci.* 2009; 110:224-24.
-